LUCAS ANTONIO STEMPKOWSKI

PRÁTICAS CULTURAIS NO MANEJO DO MOSAICO-COMUM DO TRIGO NO BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pósgraduação em Produção Vegetal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, Área de Concentração: Proteção de Plantas e Agroecologia.

Orientador: Fábio Nascimento da Silva

Coorientador: Douglas Lau

Ficha catalográfica elaborada pelo(a) autor(a), com auxílio do programa de geração automática da Biblioteca Setorial do CAV/UDESC

Stempkowski, Lucas Antonio

Práticas culturais no manejo do mosaico-comum do trigo no Brasil / Lucas Antonio Stempkowski. -- 2019.

Orientador: Fábio Nascimento da Silva Coorientador: Douglas Lau Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2019.

1. Triticum aestivum. 2. Polymyxa graminis. 3. Wheat stripe mosaic virus. 4. Nutrição vegetal. 5. Gama de hospedeiros. I. Silva, Fábio Nascimento da . II. Lau, Douglas. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal. IV. Titulo.

LUCAS ANTONIO STEMPKOWSKI

PRÁTICAS CULTURAIS NO MANEJO DO MOSAICO-COMUM DO TRIGO NO BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal, Área de Concentração: Proteção de Plantas e Agroecologia.

Banca examinadora:

Membro da Banca	Assinatura
Dr. FABIO NASCIMENTO DA SILVA - UDESC/Lages-SC (presidente)	alid or silet
Dr. GENEI ANTONIO DALMAGO – EMBRAPA TRIGO/passo Fundo-RS (membro externo)	Dung
Dr. RICARDO TREZZI CASA - UDESC/Lages-SC (membro interno)	RATE.
Dr. AMAURI BOGO - UDESC/Lages-SC (suplente interno)	
Dr. Thor Vinícius Martins Fajardo - EMBRAPA uva e vinho/ Bento Gonsalves- RS (suplente externo)	
Avaliação Final - Parecer da Banca: (X) Aprovado () Aprovado mediante correções, a serem apresentadas em 60 dias) () Reprovado	// (prazo máximo de

Dedico aos meus pais Valdecir e Marli. Obrigado por sempre me apoiarem! Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar força, sabedoria e resiliência para enfrentar os momentos difíceis.

Aos meus pais Valdecir e Marli e aos meus irmãos Giovani e Heloisa pelo amor, carinho e apoio em todos os momentos.

À minha namorada Suélen pelo amor, paciência, incentivo, companheirismo, por estar sempre disposta a me ouvir e tornar meus dias melhores.

Ao professor e orientador Dr. Fábio Nascimento da Silva por todos os ensinamentos, conselhos, paciência, incentivo, dedicação, pelas oportunidades e orientação, assim como, sua amizade.

Ao pesquisador da Embrapa Trigo e coorientador Dr. Douglas Lau pelas oportunidades, ensinamentos, paciência, conversas, amizade, disponibilidade, auxilio na condução dos experimentos e pela orientação desde o estágio final da graduação.

Aos meus colegas de mestrado e de laboratório Fernando, Juliana, Mônica, Eduardo, Amanda e Matheus pelas experiências compartilhadas e por todos os momentos de alegria.

Aos meus amigos e colegas de UDESC Fábio, Pablo, Dináh, Lothar, Miqueloto e Juliano pela amizade e pelos momentos de alegria.

Aos colegas do laboratório de Entomologia e Virologia da Embrapa Trigo pela amizade.

À equipe da Embrapa Trigo: Odirlei Dalla Costa, Décio Pelizzaro, Edson Roberto Costenaro, Elisson Stephanio Savi Pauletti, Elias do Amarante, Vânia Bianchin e Maria Elaine Moreira Solagna pela grandiosa colaboração para que este trabalho se fizesse possível e pela amizade que irei guardar por toda vida.

Ao pesquisador da Embrapa Trigo Dr. Paulo Roberto Valle da Silva Pereira por ter me dado a oportunidade de estagiar na Embrapa Trigo e iniciar meus primeiros estudos na área de Virologia Vegetal.

Aos pesquisadores da Embrapa Trigo Dr. Genei Antonio Dalmago, MSc. Anderson Santi e MSc. Osmar Rodrigues pela colaboração e parceria na condução do trabalho.

Ao pesquisador da Embrapa Trigo Dr. José Maurício Cunha Fernandes pelo auxílio com as análises estatísticas.

Ao professor e pesquisador da UDESC Dr. Ricardo Trezzi Casa e ao fitopatologista da Biotrigo Genética Dr. Paulo Kuhnem, pela colaboração e amizade.

À UDESC, ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e a todos os professores pelo ensino de qualidade e por poder usufruir da estrutura da universidade.

À Embrapa Trigo por abrir suas portas para que estudantes possam conduzir estudos em colaboração e usufruir de sua estrutura.

Ao Programa de Monitoria de Pós-Graduação (PROMOP) pela concessão da bolsa em 2017 e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa em 2018.

Aos amigos, familiares e a todos anônimos que em algum momento prestaram auxílio para a minha formação.

Aos membros da banca pelas contribuições ao presente trabalho.

Muito obrigado

"Viva como se fosse morrer amanhã, aprenda como se fosse viver eternamente."

- Ghandi

RESUMO

STEMPKOWSKI, Lucas Antonio. **Práticas culturais no manejo do mosaico-comum do trigo no Brasil.** 2019. 122 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) — Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Lages, 2019.

A doença chamada de mosaico-comum do trigo é uma das principais viroses que ocorre na cultura do trigo no Brasil. Por décadas essa doença foi atribuída ao Soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV), sendo recentemente relatado o vírus Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) como agente causal da doença. A epidemiologia desta virose é relacionada ao solo, sendo relatado que a transmissão do vírus ocorre por intermédio do protozoário *Polymyxa graminis*. Esse protozoário produz esporos de repouso com período de viabilidade de até dez anos. Esta característica dificulta o manejo da doença uma vez que apenas o controle genético é eficiente e o potencial de dano em cultivares suscetíveis ultrapassa 50%. O presente estudo foi dividido em dois capítulos com o objetivo de estudar práticas culturais como a fertilização nitrogenada e a rotação/sucessão de culturas, ambas citadas como possíveis alternativas para redução dos danos do mosaico-comum. Os experimentos foram conduzidos no município de Passo Fundo, RS, Brasil, na sede da Embrapa Trigo durante as safras de 2017 e 2018. No capítulo 1, foram abordados os efeitos de doses de nitrogênio em cobertura (0, 30, 60 e 90 kg ha⁻¹) sobre o desenvolvimento da doença e sobre características agronômicas em uma cultivar suscetível (BRS Guamirim) e outra resistente (Embrapa 16). Estes efeitos foram avaliados em diferentes condições de ambiente, caracterizados por semeaduras em épocas diferentes em cada ano (14 de junho e 07 de julho em 2017; 08 de junho e 13 de julho em 2018). O fornecimento de nitrogênio não teve efeito sobre a incidência e severidade de mosaico-comum nas cultivares. A cultivar resistente geralmente alcançou maior desempenho produtivo com as maiores doses de N, mas esta mesma resposta depende do nível de incidência na cultivar suscetível. A cultivar resistente foi a mais produtiva, mas com incidência abaixo de 30% a cultivar suscetível alcançou produtividade equivalente a cultivar resistente com retorno financeiro positivo. No capítulo 2, foi verificado o efeito de sistemas de rotação/sucessão de culturas com 0, 1, 2 e 3 anos sem trigo, utilizando as espécies de inverno em rotação com o trigo: aveia-preta, aveiabranca, ervilhaca e cevada; e as espécies de verão em sucessão ao trigo: soja, sorgo e feijão sobre a incidência e severidade de mosaico-comum e sobre a produtividade de grãos em três cultivares de trigo BRS Parrudo (resistente), BRS Reponte (moderadamente resistente) e BRS Guamirim (suscetível). A incidência de mosaico-comum foi significativamente menor nos sistemas com 2 e 3 anos sem trigo, ao mesmo tempo que a produtividade de grãos das três cultivares foram maiores nestes sistemas. A adubação nitrogenada compensou os danos a produtividade de uma cultivar suscetível quando a incidência de mosaico-comum foi inferior a 30%, equivalendo-se a produtividade de uma cultivar resistente. Um período de rotação/sucessão de culturas de 2 e 3 anos com aveia-branca, aveia-preta e ervilhaca em rotação com trigo; e com soja, sorgo e feijão em sucessão com trigo foi eficiente na redução da incidência de mosaico-comum e dos danos a produtividade de cultivares de trigo.

Palavras-chave: *Triticum aestivum. Polymyxa graminis.* Wheat stripe mosaic virus. Nutrição vegetal. Gama de hospedeiros. Rotação de culturas.

ABSTRACT

STEMPKOWSKI, Lucas Antonio. Cultural practices for managing the soil-borne wheat mosaic disease in Brazil. 2019. 122 p. Dissertation (Master's degree in Plant Production) – State University of Santa Catarina. Postgraduate Program in Plant Production, Lages, 2019.

Soil-borne wheat mosaic disease (SBWMD) is one of the major viral disease that occurs in the wheat crop in Brazil. For decades, this disease has been attributed to Soil-borne wheat mosaic virus (SBWMV), and Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) has recently been reported as the causal agent of the disease. The epidemiology of this virus is related to the soil, being reported that the transmission of the virus occurs through the protozoan Polymyxa graminis. This protozoan produces rest spores with viability period of up to ten years. This characteristic makes it difficult to manage the disease since only the genetic control is efficient and the damage potential in susceptible cultivars exceeds 50%. The present study was divided into two chapters with the objective of study cultural practices such as nitrogen fertilization and crop rotation/succession, both of which are cited as possible alternatives for the reduction of SBWMD damage. The experiments were conducted in the municipality of Passo Fundo, RS, Brazil, at the headquarters of Embrapa Wheat during the harvests of 2017 and 2018. In Chapter 1, the effects of nitrogen doses in coverage (0, 30, 60 and 90 kg ha⁻¹) on the development of the disease and on agronomic characteristics in a susceptible cultivar (BRS Guamirim) and another resistant one (Embrapa 16). These effects were evaluated in different environmental conditions, characterized by sowing at different times in each year (June 14 and July 7 in 2017, June 8 and July 13 in 2018). The nitrogen supply had no effect on the incidence and severity of SBWMD in the cultivars. Resistant cultivar generally achieved higher productive performance with higher N doses, but this same response depends on the incidence level in the susceptible cultivar. Resistant cultivar was the most productive, but with incidence below 30% the susceptible cultivar reached productivity equivalent to resistant cultivar with positive financial return. In Chapter 2, the effect of rotation/succession systems of 0, 1, 2 and 3 year wheat-free crops was verified using the winter wheat rotation species: black oats, white oats, vetches and barley; and summer species in succession to wheat: soybean, sorghum and beans on the incidence and severity of SBWMD and on grain yield in three wheat cultivars BRS Parrudo (resistant), BRS Reponte (moderately resistant) and BRS Guamirim (susceptible). SBWMD incidence was significantly lower in systems with 2 and 3 years without wheat, while the grain yield of the three cultivars were higher in these systems. Nitrogen fertilization compensated for damages to yield of a susceptible cultivar when SBWMD incidence was less than 30%, equivalent to the yield of a resistant cultivar. A period of rotation/succession of 2 and 3 year cultures with white oats, black oats and vetches in rotation with wheat; and with soybean, sorghum and beans in succession with wheat was efficient in reducing SBWMD incidence and damage to yield of wheat cultivars.

Keywords: *Triticum aestivum. Polymyxa graminis.* Wheat stripe mosaic virus. Plant nutrition. Host range. Crop rotation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Representação diagramática da organização genômica e estratégia de tradução do <i>Beet necrotic yellow vein virus</i> (BNYVV) e <i>Beet soil-borne mosaic virus</i> (BSBMV). O RNA 1 e RNA 2 possuem organização similar entre os benyvírus. A representação diagramática indica os sítios de clivagem da replicase (seta vermelha e triângulo preto), um códon de terminação vazado (estrela verde), na extremidade 5' a estrutura G(CH ₃) ₇ PPP (cap) (círculo preto) e na extremidade 3' a cauda poli A (An). Mtr, metiltransferase; Hel, helicase; Pro, protease; Pol, RNA polimerase; RTD, domínio de leitura vazado; sub, subgenômico; CRP, proteína rica em cisteína; TGB, bloco triplo de genes; ncRNA, RNAs não codificadores, p25, p31, p26, N e p4.6, proteínas
Figura 2 -	- Caracterização dos estágios ontogenéticos do trigo duplo-anel (A) e espigueta terminal (B)
Figura 3 –	Precipitação pluvial (mm), lâmina de irrigação (mm), temperatura do ar (°C) e temperatura do solo a 10 cm de profundidade (°C) diárias, durante a condução do experimento em 2017 (A) e 2018 (B)
Figura 4 –	Classificação de plantas (A) e espigas (B) da cultivar de trigo BRS Guamirim conforme o grau se severidade de mosaico-comum e perfil eletroforético em gel de agarose 1% do fragmento de ~641 pb correspondente a proteína capsídial (CP) do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) amplificado das cultivares de trigo Embrapa 16 e BRS Guamirim (C) por reação de RT-PCR
Figura 5 –	Valores médios do índice de doença e incidência em parcela (PLOT) referente ao efeito principal 'cultivar' nas épocas de semeadura 1 (A, 14 de junho) e 2 (B, 07 de julho) em 2017 e nas épocas de semeadura 1 (C, 08 de junho) e 2 (D, 13 de julho) em 2018.
Figura 6 –	Valores médios do índice de doença e incidência em parcela (PLOT) referente ao efeito principal 'nitrogênio' nas épocas de semeadura 1 (A, 14 de junho) e 2 (B, 07 de julho) em 2017 e nas épocas de semeadura 1 (C, 08 de junho) e 2 (D, 13 de julho) em 2018.
Figura 7 –	Relação entre produtividade de grãos (kg ha ⁻¹) e fertilização nitrogenada (0, 30, 60 e 90 kg N ha ⁻¹) para as cultivares de trigo Embrapa 16 e BRS Guamirim semeadas em duas épocas em 2017 (A – Época 1, 14 de junho; B – Época 2, 07 de julho) e 2018 (C – Época 1, 8 de junho; D – Época 2, 13 de julho)
Figura 8 –	Resultado da interação entre os fatores cultivares x doses de nitrogênio para as variáveis peso de mil grãos (PMG), grãos por espiga (GE) e índice de colheita (IC). A, corresponde ao PMG na época 1 (EP1, 14 de junho) e B, corresponde a GE na época 2 (EP2, 07 de julho) em 2017. C e D, correspondem ao PMG e IC na época 2 (EP2, 13 de julho) em 2018.
Figura 9 -	- Dados meteorológicos de precipitação (mm), temperatura média do ar (°C) e temperatura do solo (°C) a 10 cm de profundidade diárias, entre os meses de junho a outubro de 2017 (A) e 2018 (B)

de	ibuição de incidência do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) em monocultura trigo e em cinco sistemas de rotação de culturas para as cultivares BRS amirim, BRS Parrudo e BRS Reponte em dois anos: 2017 (A) e 2018 (B) 88
obse	tribuição de frequências para as classes de severidade de mosaico-comum ervadas em monocultura e quatro sistemas de rotação de culturas e três tivares de trigo
espe nas mos outr cv. avei pon RT-	ecção natural do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) em trigo e em outras écies cultivadas em solo infestado por <i>P. graminis</i> . A, Sintomas observados cultivares de trigo utilizadas no experimento. A caixa abaixo das imagens stra o perfil eletroforético da reação de RT-PCR para detecção do WhSMV. B, ras espécies de cereais de inverno: cevada cv. BRS Korbel (B1), aveia-preta BRS Neblina (B2), centeio cv. BRS Serrano (B3), arroz cv. Epagri 109 (B4), ia-branca cv. URS Guapa (B5) e triticale linhagem PFT 1802. Os retângulos tilhados indicam a presença de sintomas. Perfil eletroforético das reações de -PCR para detecção do WhSMV em raiz e parte aérea das espécies presentes sistemas de rotação [C] e espécies alternativas [D]
_	ores médios para a produtividade de grãos (PG) e peso de mil grãos (PMG) na ra 2018 para a interação Sistemas de rotação de culturas x cultivares 94

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização das datas de semeadura e dos estádios fenológicos duplo anel e espigueta terminal das cultivares de trigo Embrapa 16 e BRS Guamirim em 2017 e 2018.
Tabela 2 – Valores médios do peso de mil grãos (PMG), número de espigas/m² (EM), número de grãos por espiga (GE), número de grãos/m² (GM), índice de colheita (IC) de biomassa total (BIO) de duas cultivares de trigo (Embrapa 16 e BRS Guamirim submetidas a quatro doses de nitrogênio (0, 30, 60 e 90 kg N ha¹¹) em duas épocas de semeadura (Época 1, 14 de junho; Época 2, 07 de julho) no ano 2017
Tabela 3 – Valores médios do peso de mil grãos (PMG), número de espigas/m² (EM), número de grãos por espiga (GE), número de grãos/m² (GM), índice de colheita (IC) e biomassa total (BIO) de duas cultivares de trigo (Embrapa 16 e BRS Guamirim submetidas a quatro doses de nitrogênio (0, 30, 60 e 90 kg N ha¹¹) em duas épocas de semeadura (Época 1, 08 de junho; Época 2, 13 de julho) no ano 2018
Tabela 4 – Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis das cultivares de trigo Embrapa 16 (A, EP1¹ e C, EP2) e BRS Guamirim (B, EP1 e D, EP2) no ano 2017
Tabela 5 – Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis das cultivares de trigo Embrapa 16 (A, EP1¹ e C, EP2 e BRS Guamirim (B, EP1 e D, EP2) no ano 2018
Tabela 6 – Espécies vegetais utilizadas para de rotação de culturas, sequências e abreviaturas usadas para designar os diferentes sistemas de rotação de culturas (tratamentos estabelecidos em um ensaio de rotação de culturas
Tabela 7 – Análise do modelo linear de Poisson para os preditores da incidência do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV)
Tabela 8 – Valores médios da produtividade de grãos (PG), peso de mil grãos (PMG), peso de hectolítro (PH) e índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) de trêcultivares de trigo sob cinco sistemas de rotação de rotação de culturas95
Tabela 9 – Coeficientes de correlação de Pearson para a relação entre a incidência do Whea stripe mosaic virus (WhSMV) e produtividade de grãos (PG), peso de mil grãos (PMG), peso hectolítrico (PH) e índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1 MOSAICO-COMUM DO TRIGO	27
2.1.1 Histórico	27
2.1.2 A doença	28
2.1.3 O vetor	30
2.2 FAMÍLIA Benyviridae	32
2.3 ADUBAÇÃO NITROGENADA	35
2.4 ROTAÇÃO DE CULTURAS	38
3 CAPÍTULO 1 – EFEITOS DA FERTILIZAÇÃO NITROGENADA SOBRE	
MOSAICO-COMUM DO TRIGO EM CULTIVARES RESISTENTE E SUSCETÍV	VEL
3.1 RESUMO	
3.2 INTRODUÇÃO	
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	
3.3.1 Caracterização do local do experimento	
3.3.2 Genótipos de trigo	
3.3.3 Delineamento experimental e tratamentos	
3.3.4 Manejo da cultura	
3.3.5 Incidência, severidade e índice de doença	
3.3.6.1 Coleta do material vegetal	<i>4</i> 8
3.3.6.2 Detecção do vírus por meio de RT-PCR	
3.3.6.3 Detecção do vetor	50
3.3.7 Produtividade de grãos e seus componentes	50
3.3.8 Biomassa total e índice de colheita	50
3.3.9 Análise estatística	51
3.4 RESULTADOS	51
3.4.1 Condições meteorológicas	
3.4.2 Sintomas e confirmação da etiologia da doença	
3.4.3 Índice de doença e incidência	
3.4.4 Produtividade de grãos	
3.4.5 Componentes da produtividade de grãos	58
3.4.6 Biomassa total (BIO) e índice de colheita (IC)	
3.4.7 Análises de correlação	
3.5 DISCUSSÃO	
3.7 CONCLUSÕES	
4 CAPÍTULO 2 – EFEITOS DE SISTEMAS DE ROTAÇÃO E SUCESSÃO	
CULTURAS SOBRE O MOSAICO-COMUM DO TRIGO	
4.1 RESUMO	75
4.2 INTRODUÇÃO	77
4.3 MATERIAL E MÉTODOS	
4.3.1 Caracterização do local do experimento	
4.3.2 Cultivares de trigo	
4.3.3 Delineamento experimental e tratamentos	
4.3.5 Manejo da Cultura	
4.3.6 Determinação da incidência e severidade de mosaico-comum do trigodo	81

4.3.7 Detecção molecular do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) e <i>Polymyxa grami</i>	
4.3.7.1 Preparo das amostras	82
4.3.7.2 Determinação dos possíveis hospedeiros do WhSMV e P. graminis	. 82
4.3.7.3 Extração de RNA e RT-PCR	. 83
4.3.7.4 Extração de DNA e PCR	83
4.3.11 Índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI)	. 84
4.3.12 Produtividade de grãos	. 84
4.3.13 Análise estatística	. 84
4.4 RESULTADOS	
4.4.1 Condições meteorológicas	. 85
4.4.2 Incidência, severidade e distribuição da doença	
4.4.2 Sintomatologia e detecção do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) e Polymy	
graminis em amostras de campo	. 91
4.4.3 Produtividade de grãos, componentes da produtividade e índice de vegetação p	por
diferença normalizada (NDVI)	. 94
4.4.4 Relação entre a incidência do WhSMV e PG, PMG, PH e NDVI	. 97
4.5 DISCUSSÃO	
4.6 CONCLUSÕES	102
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	
6 REFERÊNCIAS	
7 APÊNDICE	

1 INTRODUÇÃO GERAL

Na região Sul do Brasil, as condições meteorológicas decorrentes do clima subtropical frequentemente são favoráveis ao desenvolvimento de doenças e impõe um ambiente desafiador para a produção de cereais de inverno, especialmente o trigo. As doenças causadas por fungos, bactérias e vírus reduzem a produtividade de grãos, impedindo que o potencial produtivo seja alcançado, provocando instabilidade a viabilidade econômica da cultura.

A virose conhecida como mosaico-comum do trigo ocorre nas principais regiões produtoras de trigo do sul do país e a expansão de áreas tritícolas com ocorrência da doença tem sido significativa nos últimos anos (Douglas Lau, comunicação pessoal). A importância econômica do mosaico-comum no Brasil resulta dos efeitos sobre a produção de plantas infectadas e da dificuldade de controle. A caracterização da reação de cultivares atualmente indicadas para o cultivo de trigo em áreas de risco de mosaico evidencia redução do potencial produtivo em até 50% em cultivares suscetíveis (LAU et al., 2014a; 2014b; 2016a; 2016b; 2017).

A presença do plasmodioforomiceto *Polymyxa graminis* Ledingham colonizando raízes de plantas com sintomas de mosaico-comum, tem apontado este microrganismo como possível vetor (CAETANO, 1978; VALENTE et al., 2019). *Polymyxa graminis* é habitante natural do solo e já conhecido como vetor de muitas espécies virais de importância econômica no mundo (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003; KÜHNE, 2009). Os vírus podem estar presentes em todos os estágios do ciclo biológico do vetor e persistir nos seus esporos de repouso no solo por muitos anos (TAMADA; KONDO, 2013).

Esta peculiaridade dificulta o manejo da doença, porque o controle químico do vetor não está disponível (TAMADA; KONDO, 2013) e são raras as informações sobre outras práticasuy de manejo. Atualmente, a resistência genética têm sido a principal medida indicada para redução dos danos causados pelo mosaico-comum do trigo (LAU et al., 2014, 2016a). Contudo, a durabilidade da resistência é afetada pelo potencial evolutivo do patógeno e pela pressão de seleção. No Brasil, é constantemente demandado por agricultores e técnicos, estudos que busquem alternativas de manejo para viabilizar o cultivo de trigo em áreas de risco. Práticas agronômicas como o incremento na disponibilidade de nutrientes, rotação de culturas e tratamento de sementes podem ser benéficas.

Plantas adequadamente nutridas possuem maior capacidade de tolerância ou resistência aos patógenos, porque a capacidade da planta expressar estes e outros mecanismos de defesa é

particularmente influenciada pelos nutrientes minerais (BHADURI; RAKSHIT; CHAKRABORTY, 2014). Como os vírus são patógenos consumidores que competem com seu hospedeiro por recursos e, normalmente exaurem os nutrientes das células hospedeiras (AALTO; DECAESTECKER; PULKKINEN, 2015; SMITH, 2007), o aumento no suprimento de nutrientes pode compensar o impacto da infecção viral. Entre os elementos que compõe as células, o nitrogênio (N) é o segundo em abundância (VREDE et al., 2002).

O N é o elemento mais importante para o crescimento das plantas e é vasta a literatura que descreve seu papel sobre as doenças de plantas cultivadas (DORDAS, 2008; MARSCHNER, 2012). No caso dos vírus, sua replicação depende exclusivamente da célula hospedeira e é limitada pela disponibilidade de nutrientes, em que, geralmente, a taxa máxima de replicação viral ocorre sob condições ótimas de crescimento e desenvolvimento da planta hospedeira (STERNER e ELSER, 2002; AGRIOS, 2005; HULL, 2013). O crescimento acelerado das plantas promovido pelo fornecimento de N pode superar a multiplicação viral e reduzir, em algum nível, a expressão dos sintomas e o impacto sobre a produtividade das plantas (KOMMEDAHL, 1984). Contudo, o efeito do N sobre a infecção viral é variável de acordo com o vírus e espécie hospedeira (SMITH, 2007, 2014).

A rotação de culturas pode ter vários efeitos sobre patógenos de solo. O conjunto de espécies de plantas que se desenvolvem em uma área tem efeitos sobre a estrutura físico-química-biológica do solo. O desenvolvimento do sistema radicular e seus exsudatos e biomassa da parte área, posteriormente, incorporadas ao solo promovem alteração da porosidade, do teor de matéria orgânica, da disponibilidade de nutrientes e da microbiota (LARKIN, 2015). Solos com boa porosidade, férteis e uma rica microbiota podem criar condições menos favoráveis as populações de *P. graminis* e mais favoráveis ao desenvolvimento das plantas hospedeiras.

Outro efeito do cultivo de várias espécies é a redução espaço-temporal de plantas hospedeiras ao vetor e ao vírus propiciando redução de inóculo na área. É relatado que plantas não hospedeiras ao vírus, podem ter as raízes colonizadas por indivíduos de *P. graminis* portando a partícula viral, mas os novos zoósporos liberados são incapazes de transmitir o vírus a espécies suscetíveis (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003). *Polymyxa graminis* já foi encontrado infectando uma ampla gama de espécies de gramíneas selvagens e cultivadas ao redor do mundo (LEGRÉVE et al., 2000). Apesar disso, no Brasil além da cevada, triticale e do trigo (DALBOSCO; SCHONS; PRESTES, 2002) outros hospedeiros de *P. graminis* são desconhecidos. Para o vírus também pouco se conhece sobre os hospedeiros.

Enquanto as melhores perspectivas de manejo de viroses transmitidas por vetores encontrados no solo têm se baseado no desenvolvimento de cultivares resistentes, a rotação de culturas é uma prática cultural que pode trazer benefícios se bem planejada. E, apesar do N ser utilizado em larga escala na cultura do trigo, o manejo correto deste elemento para sustentabilidade da agricultura e controle de doenças tem recebido pouca atenção.

Neste cenário, este trabalho foi proposto com o objetivo de estudar o efeito de práticas culturais, como a adubação nitrogenada e a rotação de culturas, usualmente utilizadas nos sistemas de produção de trigo no Brasil, sobre a incidência e severidade do mosaico-comum e sobre a produtividade de grãos de trigo. Detalha-se de que forma estas práticas interferem no ciclo da doença e na relação: desenvolvimento das plantas vs. desenvolvimento da doença, considerando cultivares com diferentes níveis de resistência.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MOSAICO-COMUM DO TRIGO

2.1.1 Histórico

No Brasil, a partir do final da década de 1960, uma doença do trigo que se caracteriza por sintomas de mosaico nas folhas tornou-se uma preocupação para os triticultores da região Sul do país em função dos prejuízos que causava (CAETANO et al., 1971; 1978; PRESTES et al., 1972).

Hipotetizava-se que a doença era de etiologia viral e a transmissão estava associada ao solo. Coincidentemente, foi observado nas raízes de plantas com sintomas de mosaico um microrganismo habitante de solo, *Polymyxa graminis* (CAETANO et al., 1971; PIEROBOM et al., 1972). Esse plasmodioforomiceto é relatado como vetor da espécie viral *Soil-borne wheat mosaic virus* (SBWMV) que causa mosaico em trigo nos Estados Unidos e em outros países (ESTES; BRAKKE, 1966; RAO, 1968, KÜHNE, 2009).

Estudos realizados naquela época baseados na sintomatologia das cultivares, propriedades biológicas do vírus como a transmissão, gama de hospedeiro e a morfologia da partícula viral, indicavam que o agente patogênico correspondia, de fato, a espécie viral SBWMV (CAETANO et al., 1978). Esta espécie viral foi descrita pela primeira vez em 1923 infectando trigo nos Estados Unidos (McKINEY, 1925) e, foi atribuída como agente etiológico da doença no Brasil em 1978 (CAETANO et al., 1978).

O Wheat spindle streak mosaic virus (WSSMV), classificado no gênero Bymovirus e, da mesma forma, transmitido por P. graminis (WYLIE et al., 2017), também foi citado associado aos sintomas de mosaico-comum do trigo na região Sul do Brasil (CAETANO, 1998; SCHONS; OLIVEIRA; TOLEDO, 2011). Apesar da constatação, testes sorológicos e moleculares, baseados em ferramentas de diagnóstico oriundas de outros países, apresentaram resultados contraditórios e inconclusivos, quanto à confirmação dos agentes etiológicos associados à doença (CARMINATTI et al., 2011).

Casos em que múltiplos agentes etiológicos podem estar envolvidos em uma patologia e, quando não há conhecimento prévio do agente causal, a ferramenta de sequenciamento de nova geração (do inglês *Next Generation Sequencing* – NGS) têm sido muito utilizada para a caracterização de novas espécies virais no mundo (ROOSSINCK; MARTIN; ROUMAGNAC, 2015).

Com a utilização desta tecnologia, pesquisadores brasileiros recentemente identificaram a associação de uma nova espécie viral a plantas de trigo com sintomas de mosaico-comum, tentativamente denominada como Wheat stripe mosaic virus (WhSMV), um novo membro da família *Benyviridae*. Plantas infectadas por WhSMV também estavam associadas a *P. graminis*, sugerindo que esse plasmodioforomiceto também esteja associado a transmissão da nova espécie viral caracterizada no Brasil (VALENTE et al., 2019).

Assim, explicam-se as dificuldades de diagnóstico sorológico e molecular da etiologia da virose, embora não possa ser refutada a hipótese de que outros agentes causais também causem mosaico em trigo no Brasil. Sobretudo, pelos recorrentes relatos de reação diferencial de genótipos de trigo cultivados em distintas regiões (D. Lau, comunicação pessoal).

2.1.2 A doença

O mosaico-comum do trigo ocorre principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e na região sul do Paraná (CAETANO, 1982; LAU et al., 2016a). O vírus é transmitido naturalmente às plantas quando da colonização do sistema radicular pelo vetor *P. graminis*. O trigo é a principal espécie hospedeira do vírus, mas outras espécies de gramíneas como: a cevada, o centeio e o triticale também são relatadas como hospedeiras no Brasil (CAETANO, 1982; DALBOSCO; SCHONS; PRESTES, 2002). Experimentalmente, algumas espécies da família Chenopodiaceae podem ser infectadas (CAETANO, 1982).

Estudos aprofundados sobre a epidemiologia do mosaico-comum do trigo são incipientes no Brasil, embora, trabalhos realizados por pesquisadores estrangeiros remetem informações que aparentemente são válidas para as condições sul brasileiras (CAETANO, 1982). De acordo com estes estudos, os fatores que exercem maior influência sobre a transmissão natural do vírus pelo vetor estão voltados às condições de temperatura do solo, entre 15 e 18 °C, e umidade do solo próxima ou acima da capacidade de campo (HIMMEL et al., 1992; CHEN; WILSON, 1995; CADLE-DAVIDSON; BERGSTROM, 2004).

O sintoma característico da virose é a presença de mosaico genótipo-específico nas folhas. Algumas cultivares mais suscetíveis são frequentemente raquíticas e enrosetadas, apresentam área foliar reduzida e perfilhamento excessivo, além do sistema radicular menos desenvolvido (BARBOSA et al., 2001; CADLE-DAVIDSON et al., 2006). No campo, reboleiras de plantas sintomáticas costumam ser observadas nas áreas mais baixas e úmidas que propiciam ambiente favorável para o movimento dos zoósporos do vetor viral *P. graminis*,

embora, em condições de intensa e frequente precipitação pluvial plantas sintomáticas podem ser observadas em qualquer parte do campo (CADLE-DAVIDSON et al., 2006).

A severidade dos sintomas e os danos à produtividade do trigo são mais pronunciados quando a temperatura média diária se mantém abaixo de 20 °C. O efeito da temperatura está associado ao movimento do vírus da raiz (local de infecção primária) para a parte aérea da planta, assim, a infecção sistêmica das plantas está positivamente correlacionada com temperaturas mais amenas (CADLE-DAVIDSON et al., 2006; MYERS et al., 1993). Além disso, plântulas infectadas precocemente tendem a apresentar sintomas mais severos (SOUZA et al., 2005). A redução do potencial produtivo de cultivares brasileiras suscetíveis ao vírus pode superar 50 % (CAETANO, 1982; LAU et al., 2014a; 2014b; 2016a; 2016b; 2017a) e, adicionalmente, plantas infectadas produzem grãos de menor qualidade para panificação (DALBOSCO; SCHONS; PRESTES, 2002).

Embora condições favoráveis à infecção e ao desenvolvimento da doença possam ocorrer somente em estádios mais avançados do ciclo do trigo, a observação de sintomas de mosaico-comum em plantas infectadas tardiamente é pouco evidente. Sobretudo, nestas condições, a reprodução do vetor e a replicação do vírus nos tecidos de plantas assintomáticas pode agregar inóculo ao solo para safras seguintes (CAETANO, 1982).

Atualmente, a resistência genética têm sido a única medida efetiva e economicamente viável indicada para manejo do mosaico-comum do trigo após o estabelecimento do inóculo no campo (BARBOSA et al., 2001). No sul do Brasil, das 95 cultivares de trigo indicadas para cultivo na safra 2018 nas regiões de cultivo I (fria e úmida) e II (moderadamente quente e úmida), apenas 6 (BRS 220, BRS Bela Joia, BRS Parrudo, Jadeíte 11, LG Cromo, LG Prisma e ORS Vintecinco) são caracterizadas como resistentes (REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2018, p. 55-65).

A cultivar Embrapa 16 é a principal fonte de resistência ao mosaico-comum do trigo no Brasil. A caracterização da resistência desta cultivar, sugere a presença de dois genes com efeito dominante que regulam a resistência ao vírus do mosaico-comum do trigo (BARBOSA et al., 2001). Os mecanismos de resistência ao WhSMV ainda precisam ser esclarecidos. No caso do SBWMV, a resistência de cultivares de trigo americanas ocorre nas raízes, restringindo o movimento do vírus do sistema radicular para a parte aérea (MYERS, et al., 1993). Nesse caso, a avaliação da resistência por meio da inoculação mecânica das folhas não se traduz em resistência de campo, pois a resistência parece ser direcionada contra o movimento raiz-parte aérea e não o movimento sistêmico na parte aérea.

Todavia, patógenos com alto potencial evolutivo são capazes de suplantar rapidamente as fontes de resistência implantadas em sistemas agrícolas (McDONALD; LINDE, 2002). De maneira geral, os vírus com genoma de RNA apresentam alta variabilidade genética. A variação genética observada em espécies virais é explicada pelos mecanismos de evolução como a mutação e a recombinação genética/rearranjo do genoma (GARCÍA-ARENAL; FRAILE; MALPICA, 2001; HOLMES, 2009). Através destes mecanismos, pode haver o surgimento de novas estirpes virais capazes de infectar e causar danos significativos em cultivares anteriormente caracterizadas como resistentes.

Considerando que os vírus descritos até o momento no Brasil causando mosaico na cultura do trigo possuem genoma composto por RNA, e que não existe uma cultivar comercial imune a esta virose, o manejo baseado apenas nas fontes de resistência das cultivares se torna incerto a longo prazo.

2.1.3 O vetor

O plasmodioforomiceto *P. graminis* foi descrito no Canadá em 1939 infectando o trigo, a cevada e o arroz (LEDINGHAM, 1939). Os plasmodioforomicetos pertencem a classe Phytomyxea, um grupo monofilético de Eucariotos composto por parasitas de plantas biotróficos obrigatórios (NEUHAUSER et al., 2011).

P. graminis é habitante natural do solo e parasita intracelular de raízes de ampla gama de espécies de gramíneas cultivadas em todo o mundo, incluindo a cevada (Hordeum vulgare L.), arroz (Oryza sativa L.), centeio (Secale cereale L.), sorgo (Sorghum bicolor (L.) Moench), milheto (Pennisetum glaucum (L.) R. Br.), milho (Zea mays L.), triticale (Triticum secale Wittmack) e o trigo (ADAMS; JACQUIER, 1994; LEGRÉVE et al., 2000; DALBOSCO et al., 2002). Outras espécies de gramíneas sem importância econômica como Agropyron repens (L.) Beauv., Bromus inermis Leyss., Bromus tectorurn L. e Hordeum jubatum L. são relatadas como hospedeiras de P. graminis (BARR, 1979).

O ciclo biológico deste microrganismo é complexo e composto por duas fases: esporangial e esporagênica. Na fase esporangial (ciclo primário), ocorre a formação de zoósporos secundários e; na fase esporogênica (ciclo secundário), são produzidos zoósporos primários via a formação de esporos de resistência (NEUHAUSER et al., 2011). O processo de penetração do zoósporo no citoplasma das células das raízes ocorre pelo encistamento, seguido do desenvolvimento de uma estrutura tubular que auxilia na transferência do conteúdo do zoósporo para dentro da célula (TAMADA; KONDO, 2013).

Anteriormente à infecção, o ciclo biológico de *P. graminis* inicia quando um zoósporo primário emerge a partir de um esporo de repouso presente no solo (NEUHAUSER et al., 2011). A ativação do esporo de resistência é induzida na presença de um hospedeiro suscetível e água livre no perfil do solo (capacidade de campo) (CAMPBELL, 1996). A temperatura do solo também é considerada um fator importante para o desenvolvimento de *P. graminis*, mas a amplitude térmica ótima requerida é variável de acordo com a origem do isolado.

Análises de sequências da região ITS (*Internal transcribed spacer*) do DNA ribossomal revelaram alta diversidade genética entre isolados de *P. graminis* de diversas partes do mundo (WARD; ADAMS, 1998; LEGRÉVE et al., 2002; WARD et al., 2004), propondo classificar a espécie em cinco ribotipos: I (f. sp. *temperata*), II (f. sp. *tepida*), III (f. sp. *tropicalis*), IV (f. sp. *subtropicalis*), e V (f. sp. *colombiana*) que estão correlacionados com diferenças no requerimento de temperatura e com a gama de hospedeiros (WARD; ADAMS, 1998; LEGRÈVE et al., 2002; WARD et al., 2004). A temperatura ótima requerida para os ribotipos I e II está entre 15 e 20 °C, para os demais ribotipos, entre 27 e 30 °C (LEGRÈVE et al., 2002).

Embora não seja considerado um patógeno de plantas, o que torna *P. graminis* um microrganismo de importância econômica mundial para a agricultura é a eficiência na transmissão de inúmeras espécies de vírus que pertencem a pelo menos quatro gêneros: *Furovirus*, *Pecluvirus*, *Benyvirus* e *Bymovirus*. Espécies dentro desses gêneros podem causar danos severos a produtividade, especialmente, de cereais como a cevada, arroz e trigo (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003; KÜHNE, 2009; TAMADA; KONDO, 2013).

A aquisição e transmissão do vírus por *P. graminis* não é precisamente conhecida. É suposto que esse processo ocorra com a transferência do conteúdo do zoósporo para o citoplasma da célula hospedeira no momento da infecção, ou, no estágio plasmodial, em que, uma fina membrana está entre o citoplasma do vetor e do hospedeiro (TAMADA; KONDO, 2013). A interação específica entre vírus e *P. graminis* ainda apresenta muitas lacunas. Além disso, vírus classificados em diferentes famílias podem ter diferentes mecanismos de interação com o vetor (DRISKEL et al., 2004).

Os vírus podem estar presentes em todos os estágios do ciclo biológico do vetor e, na ausência de hospedeiros suscetíveis, persistir no solo por mais de dez anos em associação com os esporos de resistência. Estas características peculiares do complexo vírus-vetor vêm causando danos severos na produção de alimentos ao redor do mundo. Uma vez estabelecido em uma área agrícola, o inóculo permanece na área e o cultivo de espécies suscetíveis é impraticável, visto que, não existe, até o momento, controle químico eficiente para o vetor (KÜHNE, 2009; TAMADA; KONDO, 2013).

No Brasil, *P. graminis* é conhecido como vetor do agente causal do mosaico-comum do trigo e do *Rice stripe necrosis virus* (RSNV), relatado em cultivos de arroz no estado do Rio Grande do Sul (MACIEL et al., 2006). Atualmente, a expansão de áreas de cultivo de trigo apresentando sintomas de mosaico-comum vem sendo observada em importantes regiões produtoras do sul do Brasil (dados não publicados). Além disso, em condições desfavoráveis, os esporos de repouso podem se manter viáveis no solo em associação com o vírus por tempo indeterminado (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003)

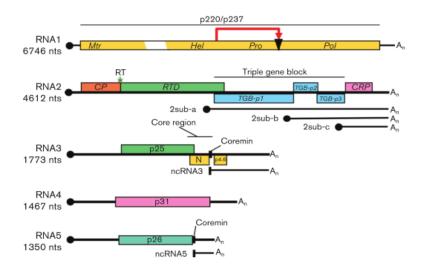
Portanto, é crescente a demanda da assistência técnica e de produtores rurais por alternativas de manejo que viabilizem o cultivo de trigo em áreas infestadas. Além disso, conhecer quais espécies, além do trigo e do triticale (REIS et al., 1985; DALBOSCO; SCHONS; PRESTES, 2002), cultivadas ou não, são hospedeiras do vetor e do vírus no Brasil é fundamental. Especialmente, para a modelagem de sistemas de rotação de culturas que é uma prática cultural que têm potencial para redução da incidência e severidade de doenças transmitidas por *P. graminis* (KOEHLER et al., 1952; REIS et al., 1985; BASTIN et al., 1989).

2.2 FAMÍLIA Benyviridae

A família *Benyviridae* é composta por espécies virais que infectam plantas. Os membros desta família caracterizam-se por apresentar genoma bipartido (RNA 1 e RNA 2) ou multiparticulado (RNAs 1, 2, 3, 4 e até 5), com segmentos de RNA de fita simples e senso positivo, separadamente encapsidados em partículas alongadas com simetria helicoidal em forma de bastonete. Os segmentos do genoma possuem na região 5' terminal uma guanina modificada com um grupo metil (CH₃) ligado ao carbono 7, juntamente com três fosfatos livres [G(CH₃)₇PPP] e, na extremidade 3', cauda poli A (GILMER et al., 2017).

Atualmente, apenas o gênero *Benyvirus* compõem a família *Benyviridae*, na qual, a espécie viral *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) é o membro tipo. No gênero *Benyvirus* também estão classificadas as espécies *Beet soil-borne mosaic virus* (BSBMV), *Burdock mottle virus* (BdMV) e *Rice stripe necrosis virus* (RSNV). Espécies tentativas: Mangifera indica latente virus (MILV) e Hubei Beny-like virus 1 são relacionadas ao gênero e classificadas dentro da família *Benyviridae* (GILMER et al., 2017). BNYVV e BSBMV são transmitidos por *Polymyxa betae* Keskin e RSNV por *P. graminis* (KANYUKA et al., 2003; TAMADA; KONDO, 2013). BDMV não possui vetor conhecido (GILMER et al., 2017).

Figura 1 – Representação diagramática da organização genômica e estratégia de tradução do *Beet necrotic yellow vein virus* (BNYVV) e *Beet soil-borne mosaic virus* (BSBMV). O RNA 1 e RNA 2 possuem organização similar entre os benyvírus. A representação diagramática indica os sítios de clivagem da replicase (seta vermelha e triângulo preto), um códon de terminação vazado (estrela verde), na extremidade 5' a estrutura G(CH₃)₇PPP (cap) (círculo preto) e na extremidade 3' a cauda poli A (An). Mtr, metiltransferase; Hel, helicase; Pro, protease; Pol, RNA polimerase; RTD, domínio de leitura vazado; sub, subgenômico; CRP, proteína rica em cisteína; TGB, bloco triplo de genes; ncRNA, RNAs não codificadores, p25, p31, p26, N e p4.6, proteínas.



FONTE: Gilmer et al. (2017).

O BNYVV possui genoma multiparticulado com quatro segmentos de RNA, embora algumas estirpes possuam cinco (TAMADA et al., 1999). Isolados de BSBMV contém 4 segmentos de RNA (HEIDEL et al., 1997), enquanto RSNV e BdMV contém somente dois segmentos genômicos (LOZANO; MORALES, 2009; KONDO et al., 2013). O RNA 1 e RNA 2 dos benyvírus apresentam organização genômica similar (Figura 1), embora diferenças na sequência de nucleotídeos são suficientes para permitir a distinção entre espécies (GILMER et al., 2017). O RNA 1 possui uma única ORF (*Open reading frame*) que codifica a proteína associada a replicação (CHIBA et al., 2008; GILMER et al., 2017). Esta proteína sofre clivagem proteolítica após a tradução, e, além do domínio de RdRp (RNA-dependente RNA polymerase), são encontrados domínios de metiltransferase (MetT), protease (Prot) e helicase (Hel) (GILMER et al., 2017; LAUFER et al., 2018).

O RNA 2 contém seis ORFs. A primeira ORF codifica a proteína capsidial (21-23 kDa) e possui um códon de parada que pode ser traduzido pelo ribossomo e produzir uma segunda

proteína (*readthrough protein* – RT) associada com a transmissão pelo vetor (TAMADA; KUSUME, 1991). Na sequência, três OFRs sobrepostas formam o grupamento chamado de "bloco triplo de genes" (TGB1-3) e codificam proteínas de 42, 13 e 15 kDa associadas ao movimento célula-a-célula. Próximo a região 3' do RNA 2 a sexta ORF codifica uma proteína rica em cisteína, com atividade de supressão do silenciamento gênico (CHIBA et al., 2008, 2013; GILMER et al., 2017). Embora os RNAs 1 e 2 sejam suficientes para a replicação de BNYVV (GILMER et al., 2017), as proteínas codificadas pelos RNAs 3 e 5 atuam principalmente na patogenicidade dos isolados (CHIBA et al., 2008). Adicionalmente, as proteínas codificadas pelo RNA 3 e RNA 4 estão, respectivamente, associadas ao movimento do vírus a longa distância e a transmissão natural pelo vetor de ambas espécies BNYVV e BSBMV (CHIBA et al., 2008; RATTI et al., 2009; D'ALONZO et al., 2012; FLOBINUS et al., 2016).

Os critérios para distinção de espécies dentro do gênero *Benyvirus* incluem: identidade da sequência de aminoácidos da proteína capsidial menor que 90%, relação sorológica distante e distinta gama de hospedeiros (GILMER et al., 2017). BNYVV e BSBMV são encontrados naturalmente infectando espécies de plantas da família *Amaranthaceae*, especialmente, *Beta vulgaris* L. BNYVV é responsável por causar a doença conhecida como "rizomania", uma das doenças de maior importância econômica da cultura da beterraba açucareira no mundo (FLOBINUS et al., 2018; YILMAZ et al., 2018a; YILMAZ et al., 2018b), enquanto BSBMV causa o mosaico da beterraba e é restrito a algumas regiões dos Estados Unidos (HEIDEL et al., 1997). O RSNV ocorre na África e nas Américas do Sul e Central, infectando poáceas, originalmente o arroz (GILMER et al., 2017). Os sintomas característicos da doença incluem, estrias cloróticas e necrose sistêmica nas folhas, nanismo e mal formação de órgãos e, em alguns casos, morte precoce de plântulas (LOZANO; MORALES, 2009). BdMV foi descrito no Japão, infectando uma espécie de bardana comestível (*Arctium lappa* L., *Asteraceae*) (KONDO et al., 2013). No Brasil, o BNYVV (REZENDE et al., 2015) e o RSNV (MACIEL et al., 2006) foram reportados recentemente.

A nova espécie proposta WhSMV caracterizada em trigo no Brasil, possui genoma com apenas dois segmentos (RNA 1 e RNA 2) e organização similar às outras espécies virais pertencentes a família *Benyviridae*. As análises filogenéticas sugerem que o WhSMV não pertence ao gênero *Benyvirus*. A caracterização do WhSMV ocorreu originalmente em trigo e, outras espécies hospedeiras ainda não são conhecidas (VALENTE et al., 2019).

2.3 ADUBAÇÃO NITROGENADA

O nitrogênio (N) é considerado uma das principais forças motrizes para o incremento da produtividade das culturas (LI et al., 2017). Este nutriente é essencial, participa de uma série de rotas metabólicas-chave no metabolismo das plantas, é constituinte de importantes biomoléculas como: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, clorofila, ATP, NADH, NADPH e enzimas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Além da importância das fontes nutricionais sobre a definição da produtividade das culturas, todos os nutrientes essenciais exercem alguma influência sobre o desenvolvimento de doenças (HUBER; HANEKLAUS, 2007).

Na cultura do trigo, o N é o elemento mais absorvido e exportado, exerce forte influência na definição da produtividade e qualidade dos grãos (PRANDO et al., 2013; SANGOI et al., 2007). Estima-se que para cada tonelada de grãos de trigo produzida sejam necessários 35 kg de N (ABRÃO; CANAL, 1982). Os efeitos do N sobre a incidência e severidade de doenças estão amplamente descritos na literatura (HUBER; HANEKLAUS, 2007; KAPLAN; BERGMAN, 1985; KOMMEDAHL, 1984; MARSCHNER, 2012) e são substancialmente variáveis (DORDAS, 2008). Existem diversos relatos do efeito do N no desenvolvimento de doenças que são inconsistentes e contraditórios e, as causas específicas destas inconsistências não são bem compreendidas (HUBER; WATSON, 1974; MARSCHNER, 2012).

As plantas assimilam o N na forma de amônio (NH₄⁺) e nitrato (NO₃⁻) (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000). A preferência das plantas por cada uma das formas de N difere de acordo com a espécie (HUBER; WATSON, 1974). A eficiência de absorção de NH₄⁺ e NO₃⁻ para cada planta é mesma e ocorre de acordo com a proporção que estes estão disponíveis no solo (RUSSEL, 1961). A forma assimilada por cada espécie vegetal afeta o desenvolvimento de patógenos, tanto quanto, ou mais significativamente do que a quantidade assimilada (KOMMEDAHL, 1984).

A reação diferencial da aplicação de N sobre as doenças de plantas é, também, dependente do agente causal. Patógenos obrigatórios como *Puccinia graminis* Pers. e *Erysiphe graminis* Speer., sob altas taxas de fornecimento de N para a cultura do trigo, apresentaram incremento na severidade de infecção (DORDAS, 2008). Já a incidência e severidade do maldo-pé do trigo, causado por um patógeno necrotrófico, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* Walker, reduziu com o aumento progressivo de doses de N, variando entre 0 e 74 kg N ha-1 (BRENNAN, 1992).

Todavia, os efeitos do N sobre a severidade de doenças considerando a relação parasitária patógeno-hospedeiro não segue uma regra. Por exemplo, a infecção por *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* na cultura da cebola (*Allium cepa* L.) é fortemente dependente da disponibilidade de N e a severidade da mancha foliar causada por este patógeno é crescente com a maior disponibilidade do nutriente (GENT; SCHWARTZ, 2005). Na cultura do arroz, doses crescentes de N também favoreceram a severidade de doenças foliares de etiologia fúngica como mancha parda causada por *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subr. & Jain (CORNÉLIO et al., 2007) e a brusone causada por *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc (MUKHERJEE et al., 2005). É importante levar em consideração que o favorecimento do desenvolvimento de patógenos com o aumento da disponibilidade de N não está relacionado com maiores níveis de danos nas culturas. Estudos encontraram que plantas de arroz e de trigo, mesmo com maior severidade de brusone (CORNÉLIO et al., 2007) e de ferrugem (DEVADAS et al., 2014), respetivamente, em consequência da maior disponibilidade de N, alcançaram produtividade superior a plantas sadias que não receberam N em cobertura.

Embora muitas doenças sejam afetadas pela disponibilidade de N, supõem-se que este impacto depende da interação específica entre hospedeiro-patógeno, da forma (NH₄⁺ ou NO₃⁻) e, por último, da quantidade de N disponibilizada (HUBER; WATSON, 1974; KOMMEDAHL, 1984; DORDAS, 2008). Adicionalmente, o estádio fenológico de aplicação de N nas culturas é relatado como ponto-chave sobre o papel do nutriente objetivando reduzir a severidade de doenças em plantas cultivadas (KOMMEDAHL, 1984).

A interação tripla entre nutrição-hospedeiro-patógeno tem mostrado uma série de efeitos sobre a expressão de patógenos de etiologia viral (KAPLAN; BERGMAN, 1985; LACROIX et al., 2014, 2017; WHITAKER et al., 2015). Os vírus sequestram a maquinaria celular das plantas e metabólitos ricos em nutrientes para completar seu ciclo epidemiológico (HULL, 2014; LACROIX et al., 2017), assim, a infecção e a replicação de vírus, bem como, a severidade da doença em um hospedeiro infectado, são influenciadas pela alteração no suprimento de recursos essenciais à vida, porém o efeito da disponibilidade de nutrientes nas interações vírus-planta hospedeira ainda não está compreendido (SMITH, 2014).

Sabe-se que a resposta do hospedeiro a invasão de patógenos está intimamente relacionada com a produção de moléculas orgânicas e inorgânicas necessárias para o pleno funcionamento metabólico da planta. Muitas dessas moléculas dependem fortemente da oferta de nutrientes que exercem influência sobre a replicação viral nos tecidos do hospedeiro (SMITH et al., 2005; SMITH, 2014). Estudos tem demonstrado que a nutrição da planta hospedeira pode influenciar significativamente a replicação de vírus, uma vez que, condições ótimas para o

desenvolvimento das plantas tendem a favorecer o acúmulo viral nas células (HULL, 2014). Se o fornecimento de nutrientes aumenta a replicação do vírus, o benefício da adição de nutrientes é superado. Por outro lado, a oferta abundante de recursos ao hospedeiro poderia mitigar os impactos negativos do patógeno (WHITAKER et al., 2015).

O fornecimento de N para plantas infectadas por vírus pode alterar a epidemiologia viral indiretamente através de mudanças no fenótipo do hospedeiro (LACROIX et al, 2017). Frequentemente, o efeito do N sobre a severidade de doenças está mais associado com alterações morfofisiológicas do hospedeiro, do que diretamente sobre o patógeno (KOMMEDAHL, 1984).

Whitaker et al. (2015) compararam os efeitos diretos e indiretos da limitação de nutrientes no acúmulo do *Barley yellow dwarf virus* – PAV (BYDV-PAV) nos tecidos de *Bromus hordeaceus*. Os autores encontraram que o título viral foi correlacionado com a biomassa da planta, mas não com o N. Plantas com maior biomassa, estimuladas pelo acréscimo de N, apresentaram menor título viral, enquanto naquelas com menor biomassa o título foi maior. A teoria ecológica estequiométrica prevê que o sucesso da replicação do vírus no hospedeiro deve ser afetado em razão da alta relação carbono:nitrogênio (C:N) nos tecidos vegetais do hospedeiro, como resultado da insuficiência de compostos nitrogenados (aminoácidos) para a produção de partículas virais (STERNER; ELSER, 2002). Contudo, o estado nutricional do hospedeiro pode afetar diretamente o vírus (BECK; LEVANDER, 2000). A concentração dos diferentes nutrientes afeta a regulação da expressão gênica (DE CATERINA; MADONNA, 2004), o que também teria efeito sobre a infecção viral.

A interação patógeno-hospedeiro-nutriente é complexa, e compreender estas relações ecológicas se torna de extrema importância, uma vez que, a nutrição das culturas está ligada às práticas de adubação. Com o entendimento da interação tripla entre planta, adubação mineral e patógeno, as práticas de adubação poderiam ser efetivamente modificadas para contribuir com a redução dos danos as culturas, aumentar a eficiência de produção e a qualidade dos produtos (HUBER; HANEKLAUS, 2007). Como visto, a manipulação da disponibilidade de recursos ao hospedeiro poderia se tornar uma ferramenta potencialmente importante no manejo de doenças de culturas agrícolas (SMITH, 2007, 2014), como, por exemplo, as doenças virais na cultura do trigo.

2.4 ROTAÇÃO DE CULTURAS

A rotação de culturas é uma prática muito antiga e possui importância significativa para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas. A monocultura praticada de forma generalizada tem incrementado os custos de produção e reduzido a produtividade das culturas, em vista do aumento significativo de problemas de ordem biótica (pragas, doenças) e abiótica (degradação da qualidade química, física e biológica do solo) (SANTOS; REIS, 2001).

Conceitualmente, a rotação de culturas consiste na alternância de espécies com diferentes características (tipo de sistema radicular, suscetibilidade à doenças, requerimentos nutricionais e produção de biomassa, por exemplo) ao longo dos anos em uma determinada área agrícola seguindo uma sequência previamente estabelecida (FLORENTÍN et al., 2010). O objetivo principal da rotação de culturas é contribuir para a produção sustentável e rentável das culturas agrícolas, através da conservação dos atributos químicos, físicos e biológicos do solo (FLORENTÍN et al., 2010).

A rotação de culturas é considerada uma das principais práticas culturais para controle de patógenos de plantas (SANTOS; REIS, 2001), especialmente para aqueles que possuem relação de parasitismo necrotrófica, sobrevivem e se multiplicam como saprófitas nos restos culturais, não possuem ampla gama de hospedeiros e estruturas de resistência (REIS et al., 2011). A completa erradicação de um patógeno não é alcançada pela rotação de culturas, mas a densidade populacional dos microrganismos patogênicos pode ser reduzida a níveis em que o dano à produtividade das culturas seja insignificante (CURL, 1963; REIS et al., 2011).

A rotação de culturas pode reduzir a população patogênica e a severidade de doenças por três mecanismos principais: (i) interrompendo o ciclo biológico pela ausência do substrato; (ii) alterando características físicas, químicas ou biológicas do solo e estimulando a atividade e diversidade da microbiota do solo, tornando o ambiente menos favorável ao desenvolvimento e sobrevivência de patógenos; e (iii) pela inibição direta de patógenos através da produção de compostos inibitórios ou tóxicos nas raízes ou resíduos de plantas, ou pelo estímulo a antagonistas microbianos específicos que suprimem diretamente o inóculo (LARKIN; HONEYCUTT, 2006; REIS et al., 2011).

A seleção de culturas para um esquema de rotação afeta a composição e a quantidade de resíduos de plantas sob o solo após a colheita e, por sua vez, influencia diretamente a sobrevivência de patógenos e a microbiota do solo (WAHBI et al., 2016). A monocultura oferece aos organismos patogênicos meios de continuar seu ciclo biológico ininterruptamente pelo fato de haver sempre uma fonte nutricional disponível para sua perpetuação (REIS et al.,

2011). Com a alternância de espécies botanicamente diferenciadas ao longo dos anos, os recursos para patógenos que necessitam da fase saprofítica para sobreviver se tornam escassos à medida que ocorre a mineralização dos resíduos vegetais, aumentando a competição intraespecífica e interespecífica com microrganismos nativos do solo, conduzindo a inanição patogênica devido à indisponibilidade de uma fonte nutricional (REIS et al., 2011).

Um dos mais importantes benefícios da rotação de culturas está na manutenção e incremento da matéria orgânica (MO) dos solos (ABAWI; WIDMER, 2000). Os solos agricultáveis mais produtivos contém 3-6% de matéria orgânica (BENNETT et al., 2010). A MO é um dos indicadores primários de qualidade e saúde do solo (WRIGHT; FALLOON; HEDDERLEY, 2017). Os benefícios da MO incluem a melhoria da estrutura física do solo (aeração, infiltração de água) (BERTOL et al., 2004; TORMENA et al., 2004), resistência a mudança de pH, maior disponibilidade de nutrientes para as plantas e incremento da atividade e diversidade microbiana (ABAWI; WIDMER, 2000).

A melhoria da estrutura física do solo está fortemente correlacionada com a atividade microbiana e a decomposição dos resíduos vegetais (LARKIN, 2015). Além disso, a presença de ampla diversidade de espécies de microrganismos no solo influenciam grande número de processos como: aquisição e ciclagem de nutrientes, formação dos solos, que tem efeitos diretos na fertilidade dos solos e, consequentemente na produtividade das plantas (KENNEDY et al., 2006; VAN DER HEIJDEN et al., 2008; CARDOSO et al., 2013; WAHBI et al., 2016). Em geral, estes atributos estimulam o desenvolvimento da supressividade do solo a patógenos, pois o incremento da diversidade e atividade dos microrganismos do solo reduz a habilidade de patógenos se desenvolverem e infectarem plantas devido ao incremento da competição e interações entre ambos (LARKIN, 2015).

Embora a rotação de culturas seja menos efetiva para patógenos como *Rhizoctonia* solani J.G. Kühn, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary e *Pythium* spp. que possuem ampla gama de hospedeiros e estruturas de sobrevivência (KRUPINSKI et al., 2002; REIS et al., 2011), estudos tem demonstrado que por meio de um sistema de rotação bem estabelecido a densidade populacional destes patógenos pode ser reduzida (HOPKINS et al., 2004). Os resíduos culturais podem reduzir a severidade de doenças através do seu efeito sobre a nitrificação, a qual, em geral, determina a forma de N disponível no solo. Resíduos culturais que estimulam a oxidação de NH₄⁺ a NO₃⁻ tendem a reduzir a severidade de doenças causadas por *Fusarium* sp. e *R. solani* (KOMMEDAHL, 1984). Possivelmente, a forma do N disponível no solo exerce efeito significante sobre patógenos de solo.

Polymyxa graminis é um plasmodioforomiceto que, embora não seja considerado um patógeno de plantas, possui estruturas de repouso similar aos oomicetos, ampla gama de hospedeiros e é vetor de importantes espécies de vírus em todo o mundo (KANYUKA et al., 2004; KÜHNE, 2009). No Brasil, P. graminis é conhecido como vetor do vírus que causa a doença conhecida como mosaico-comum do trigo e seu manejo é basicamente baseado no uso da resistência genética (BARBOSA et al., 2001). Atualmente, a expansão de áreas de cultivo de trigo apresentando sintomas de mosaico-comum vem sendo observada em importantes regiões produtoras do sul do Brasil (dados não publicados). É crescente a demanda da assistência técnica e de produtores rurais por alternativas de manejo, além da resistência genética, que viabilizem o cultivo de trigo em áreas infestadas.

Pesquisadores têm relatado que em áreas com histórico da doença a rotação do trigo com culturas como aveia, tremoço, linho e ervilhaca, foi possível reduzir a incidência, a severidade e, consequentemente, os danos causados pelo vírus do mosaico-comum do trigo se comparados com a monocultura do cereal (REIS et al., 1985). É desconhecido se o efeito da rotação de culturas foi sobre o vetor ou sobre o vírus. Como hipótese, acredita-se que o efeito mais pronunciado da rotação de culturas ocorre sobre a associação vetor-vírus, uma vez que, quando isolados virulíferos do vetor se desenvolveram em raízes de plantas hospedeiras resistentes ao vírus, os zoósporos liberados não continham ou transmitiam o vírus (BASTIN et al., 1989; KANYUKA et al., 2003). O efeito da rotação de culturas sobre aspectos voltados ao favorecimento do desenvolvimento e produtividade das plantas também deve ser considerado, uma vez que, efeitos indiretos advindos do hospedeiro, são relatados inibindo o desenvolvimento de patógenos (HORNBY, 1983).

Para obter êxito no manejo do mosaico-comum pela rotação de culturas a modelagem do sistema deve levar em consideração o conhecimento prévio das espécies hospedeiras do vetor e do vírus e as características agronômicas de cada espécie para que o sistema seja eficiente na redução dos danos ocasionados pelo mosaico-comum e, viável técnica e economicamente para o agricultor. Optar por espécies com diferentes tipos de sistema radicular e requerimentos nutricionais pode favorecer a melhoria dos atributos físicos, químicos e biológicos do solo, melhorando o desenvolvimento das plantas e aumentando a produtividade das culturas de interesse com redução dos custos de produção.

3 CAPÍTULO 1 – EFEITOS DA FERTILIZAÇÃO NITROGENADA SOBRE O MOSAICO-COMUM DO TRIGO EM CULTIVARES RESISTENTE E SUSCETÍVEL

3.1 RESUMO

O mosaico-comum do trigo é uma das mais importantes doenças virais da cultura do trigo no Brasil. O cultivo de genótipos suscetíveis em áreas com inóculo e sob condições favoráveis à doença pode limitar a produtividade de grãos. O manejo desta doença é principalmente através de cultivares resistentes. Aspectos nutricionais podem mitigar os danos das doenças à produtividade das culturas em alguns casos. O nitrogênio (N) é um dos elementos que mais interfere na produtividade do trigo. Experimentos de campo foram conduzidos em 2017 e 2018 para verificar o efeito do fornecimento de doses crescentes de N sobre o mosaico-comum do trigo em cultivares suscetível e resistente e o retorno produtivo. O arranjo experimental foi de parcelas subdivididas onde foram testadas as cultivares em parcelas principais (BRS Guamirim - suscetível e Embrapa 16 - resistente) e doses de N em subparcelas (0, 30, 60, 90 kg ha⁻¹) aplicadas em cobertura. Em cada ano o experimento foi semeando em duas épocas. Dados de incidência, severidade, peso de mil grãos (PMG), número de espigas/m² (EM) e grãos/m² (GM), número de grãos por espiga (GE), produtividade de grãos (PG), índice de colheita e biomassa total (BIO) foram registrados. O N não teve efeito significativo sobre a incidência e severidade para as duas cultivares nos dois anos de estudo. BRS Guamirim apresentou maiores níveis da doença em relação a Embrapa 16 em ambos os anos. Em 2018, a incidência foi superior em virtude do maior volume de precipitação. A resposta produtiva das cultivares com o aumento da disponibilidade de N foi dependente do nível de incidência de mosaico-comum na cultivar suscetível, mas não na cultivar resistente que, geralmente, apresentou maior produtividade de grãos. GM e BIO foram as variáveis mais afetadas pela disponibilidade de nitrogênio e mais correlacionadas com a PG. Correlações negativas foram vistas entre variáveis produtivas e variáveis fitopatológicas especialmente para a cultivar suscetível, com magnitude variável em cada ano e época de semeadura de acordo com a pressão da doença. A doença reduziu a produtividade de grãos na cultivar suscetível e o efeito de compensação dos danos pela aplicação de N foi possível até o nível de 30% de incidência.

Palavras-chave: *Polymyxa graminis*. Wheat stripe mosaic virus. *Triticum aestivum*. Nitrogênio.

3.2 INTRODUÇÃO

O potencial produtivo do trigo depende de fatores genéticos e de sua interação com fatores bióticos e abióticos somado ao manejo agronômico da cultura. Entre os fatores bióticos, as doenças constituem a principal ameaça a sustentabilidade da triticultura no Sul do Brasil, uma vez que, reduzem a produtividade das cultivares e oneram os custos de produção.

O mosaico-comum do trigo tem limitado a produtividade de cultivares suscetíveis em até 50% e constitui-se como uma das principais doenças de etiologia viral que causa danos a cultura do trigo no Brasil (BARBOSA et al., 2001; LAU, 2014). O agente etiológico dessa doença até então era atribuído ao furovírus *Soil-borne wheat mosaic virus* (SBWMV) (CAETANO et al., 1978). Entretanto, estudos recentes demonstraram que uma nova espécie pertencente à família *Benyviridae* e tentativamente nomeada como Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) é o agente causal do mosaico-comum no Brasil (VALENTE et al., 2018). Plantas infectadas por esse vírus também estavam infectadas por *Polymyxa graminis*, sugerindo que este protozoário seja o vetor do WhSMV. O vetor viral *P. graminis* ocorre naturalmente nos solos e é encontrado infectando raízes de gramíneas (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003).

As espécies virais transmitidas por *P. graminis* são dificilmente controladas, uma vez que, o controle químico não é uma realidade para doenças virais e a natureza do vetor dificulta seu manejo e, assim, as fontes de resistência são as únicas alternativas economicamente viáveis (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003; BRAGARD et al., 2013; TAMADA; KONDO, 2013). Em parte, a sustentabilidade da agricultura é dependente das fontes de resistência das plantas cultivadas (BHADURI; RAKSHIT; CHAKRABORTY, 2014), mas a durabilidade destas fontes é variável de acordo com o potencial evolutivo dos patógenos e do uso sucessivo do mesmo genótipo (pressão de seleção).

O fornecimento de nutrientes permite mitigar o impacto negativo das doenças até certo ponto (BHADURI; RAKSHIT; CHAKRABORTY, 2014). O nitrogênio (N) é um dos elementos que exerce maior influência sobre o crescimento, desenvolvimento e produtividade das culturas (LI et al., 2017). Em adição, todos os nutrientes essenciais têm algum impacto sobre a dinâmica de interação patógeno hospedeiro (BHADURI; RAKSHIT; CHAKRABORTY, 2014). A contribuição do N na resistência ou mitigação dos impactos das doenças sobre a produtividade das culturas é amplamente variável, especialmente, de acordo com o patógeno, espécie hospedeira ou cultivar, forma do N e a quantidade fornecida para as plantas.

O uso do N na cultura do trigo tem sido uma das principais e mais importantes práticas de manejo para aumentar a produtividade e a qualidade de grãos de trigo (PRANDO et al., 2013b; ROSSI et al., 2013; SANGOI et al., 2007). Neste contexto, considerando a importância do mosaico-comum para cultura do trigo no Brasil e a importância do manejo do nitrogênio nesta cultura, pesquisas que buscam investigar práticas de produção que tem potencial para mitigar os danos da doença sobre a produtividade de grãos são altamente justificáveis. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito de níveis crescentes de N sobre a incidência e severidade de infecção do WhSMV e sobre a produtividade de grãos de plantas infectadas em cultivares resistente e suscetível.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Caracterização do local do experimento

O experimento foi conduzido à campo durante as safras de inverno de 2017 e 2018, em área experimental pertencente à Embrapa Trigo (Passo Fundo, Rio Grande do Sul) com histórico de ocorrência do mosaico-comum do trigo. A área está localizada próximo (200 metros) à Estação Climatológica Principal de Passo Fundo (28°15'S; 52°24'O e altitude de 684 m). O clima local é subtropical (Cfa, de acordo com a classificação climática de Köppen), com chuvas bem distribuídas durante o ano e temperatura média do ar no mês mais quente (janeiro) superior a 22 °C. No mês mais frio (junho), a temperatura média do ar é de 13,2 °C e a do solo a 10 cm é próxima a 14 °C. O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico, possui boa drenagem, porosidade, coloração vermelho-escura e textura média. A área experimental apresentava solo manejado sem aração, em sistema de plantio direto, com monocultura de trigo no inverno e de soja no verão. No ano de 2018, previamente a semeadura do trigo, a área foi manejada com grade de discos leve com o objetivo de uniformizar o inóculo de *P. graminis* no solo da área experimental, devido a um ajuste de logística operacional na disposição das parcelas em relação ao ano de 2017.

3.3.2 Genótipos de trigo

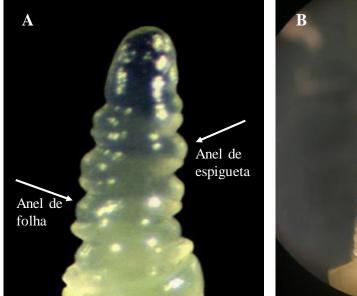
Duas cultivares de trigo (Embrapa 16 e BRS Guamirim), desenvolvidas pela Embrapa Trigo (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Trigo) foram utilizadas neste trabalho. Embrapa 16 é resistente ao mosaico-comum do trigo

(BARBOSA et al., 2001), enquanto BRS Guamirim é suscetível à doença (SCHEEREN et al., 2007).

3.3.3 Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento experimental foi de blocos completos ao acaso, em esquema de parcelas subdivididas. Nas parcelas principais foram alocadas duas cultivares de trigo (Embrapa 16 e BRS Guamirim) e em subparcelas quatro doses de nitrogênio (N) aplicadas em cobertura (0, 30, 60 e 90 kg ha⁻¹). Cada dose de N foi designada como um nível de tratamento (N0, N30, N60 e N90), e para cada combinação cultivar *vs.* dose de N houveram três repetições. Para verificar o efeito do ambiente sobre a incidência e severidade da doença, foram utilizadas duas épocas de semeadura em cada ano avaliado denotadas como EP1 (época 1) e EP2 (época 2). O fertilizante nitrogenado foi aplicado em cobertura como grânulos de ureia (45% N), em dois estádios fenológicos: 50% em duplo-anel (DA) e 50% em espigueta terminal (ET), exceto para a testemunha, sem N em cobertura (N0). Os estádios de DA e ET (Figura 2) foram determinados baseando-se no grau de evolução do ápice de crescimento da planta de trigo (NERSON et al., 1980). Para isso, a partir de 15 dias após a emergência (DAE), plântulas de trigo foram coletadas a cada dois dias de forma aleatória em cada subparcela e dissecadas em laboratório com auxílio de uma lupa para avaliação do ápice de crescimento.

Figura 2 – Caracterização dos estágios ontogenéticos do trigo duplo-anel (A) e espigueta terminal (B).





Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

As datas de semeadura de cada uma das épocas e dos estágios fenológicos de aplicação de N das cultivares em 2017 e 2018 estão caracterizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização das datas de semeadura e dos estádios fenológicos duplo anel e espigueta terminal das cultivares de trigo Embrapa 16 e BRS Guamirim em 2017 e 2018.

Ano 2017										
	Semeadura ¹	Duj	Espigueta terminal							
		Embrapa 16	BRS Guamirim	Embrapa 16	BRS Guamirim					
Época 1	14 jun. 26 jul.		21 jul.	9 ago.	3 ago.					
Época 2	7 jul.	14 ago.	7 ago.	1 set.	24 ago.					
Ano 2018										
Época 1	8 jun.	26 jul.	13 jul.	19 ago.	30 jul.					
Época 2	13 jul.	27 ago.	16 ago.	14 set.	2 set.					

¹A data de semeadura foi a mesma para as duas cultivares em ambas as épocas e anos avaliados. Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

3.3.4 Manejo da cultura

A semeadura do trigo foi efetuada mecanicamente com auxílio de uma semeadora de parcelas, com densidade de 400 sementes aptas/m². Cada subparcela foi composta por 9 linhas com 5 m de comprimento, espaçadas à 0,17 m entre si. As sementes foram previamente tratadas com triadimenol (0,45 g de i.a. kg⁻¹) + imidacloprido (0,72 g de i.a. kg⁻¹). A fertilização de base foi realizada dois dias antes da semeadura, aplicando-se ao solo 300 kg ha⁻¹ da fórmula 5-25-25 (N-P-K), totalizando: 15 kg ha⁻¹ de N e 75 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e K₂O, respectivamente. O manejo de plantas daninhas em pré-semeadura foi realizado com a aplicação de paraquate (400 g i.a. ha⁻¹). Em pós-emergência, as plantas daninhas foram manejadas através de capina localizada. Pulverizações com fungicidas e inseticidas foram realizadas da emergência das plântulas até a maturação fisiológica, perante monitoramento do campo experimental e utilizando a indicação estabelecida pela Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale (2018).

Dados de temperatura média do solo, do ar e precipitação pluvial foram fornecidos pela Estação Climatológica Principal da Embrapa Trigo, integrada a rede do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/), durante todo período do experimento. Em 2017, devido à baixa ocorrência de precipitação pluviométrica, as parcelas receberam irrigação (sistema de irrigação por aspersão do tipo convencional) com o objetivo de favorecer a ocorrência de mosaico-comum do trigo. A lâmina

média aplicada foi de 15 mm a cada 4 dias, entre o período de 27 de junho à 31 de agosto em 2017.

3.3.5 Incidência, severidade e índice de doença

Em 2017, no estádio fenológico AT (antese - 50 % das plantas com as anteras extrusadas) e, em 2018 nos estádios fenológicos DA, ET e AT, foram removidas amostras de plantas (~60 plantas) de um comprimento de 1,0 m de linhas pareadas, marcado previamente em cada subparcela. As plantas foram encaminhadas ao laboratório e avaliadas individualmente. A incidência do mosaico-comum do trigo foi calculada pela proporção de plantas sintomáticas em relação ao total avaliado em cada amostra. A severidade do mosaico comum foi determinada atribuindo-se notas (1 a 5) para cada planta de acordo com a escala de severidade de Lau et.al. (2016a) modificada, em que, cada nota se refere a: 1 = ausência de sintomas de mosaico comum; 2 = plantas com sintomas pouco evidentes; 3 = plantas com sintomas evidentes, sem aparente comprometimento do desenvolvimento; 4 = plantas com sintomas típicos de mosaico, apresentando estrias amareladas nas folhas e colmos, sem redução evidente da estatura e das espigas; e 5 = plantas com sintomas de mosaico nas folhas e nas hastes, e com comprometimento do crescimento normal, redução da estatura e do desenvolvimento das espigas. O índice de doença foi estimado de acordo com equação de Mckinney (1923): $ID\% = 100 \sum [((f \times v))/((n \times x))]$, em que: ID% - índice de doença; f número de plantas com a mesma nota; v - nota observada; n - número total de plantas avaliadas e; x - nota máxima da escala. No estádio de AT, foi estimada a incidência total de plantas em cada parcela por meio de avaliação visual.

3.3.6 Detecção molecular do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) e Polymyxa graminis

3.3.6.1 Coleta do material vegetal

Amostras de plantas das cultivares Embrapa 16 e BRS Guamirim exibindo sintomas típicos de mosaico-comum foram coletadas na área experimental no ano de 2018 para confirmação da etiologia dos sintomas e da presença do vetor *P. graminis*. As amostras, devidamente identificadas, foram transportadas até o laboratório e separadas em raiz e parte aérea (folhas e colmos). As raízes foram lavadas com água corrente e desinfestadas por imersão em solução com água destilada e hipoclorito de sódio 0,2% por dois minutos, seguido por três

enxágues com água destilada estéril. Folhas e colmos, após coletados foram colocados em sacos de papel previamente identificados e imersos imediatamente em nitrogênio líquido. As amostras foram armazenadas em ultrafreezer (-80 °C) até seu processamento.

3.3.6.2 Detecção do vírus por meio de RT-PCR

Com auxílio de almofariz e pistilo, folhas e colmos de trigo foram macerados em nitrogênio líquido, e o RNA total foi extraído de aproximadamente 100 mg de tecido vegetal utilizando o reagente Tri (Sigma Aldrich), de acordo com as especificações do fabricante. Posteriormente, a qualidade do RNA total extraído foi verificada utilizando espectrofotômetro (Nanodrop modelo 2000, Thermo Fisher Scientific Inc). A síntese do DNA complementar (cDNA) foi realizada com o kit ImProm-IITM Reverse Trascription System (Promega), conforme as instruções do fabricante, utilizando ~1 µg do RNA total extraído e o iniciador Oligo dT. O par de iniciadores Beny CP-F (5'- AAG TGT CGC AAG CTT CGC G-3') e Beny CP-R (5'- ATC GCA CCG ACG TAA GAA CT-'3) (VALENTE et al., 2019), foi utilizado para amplificar um fragmento de 641 pb da região codificadora da proteína capsidial do WhSMV. A reação de PCR foi realizada com um volume total de 25 µl contendo: 1µl de cDNA (~ 1 μg), 2,5 μl de tampão de reação GoTaq Flexi (Promega), 0,5 μl de dNTPs (10 μM), 0,5 μl de cada iniciador Beny CP-F/Beny CP-R(10 mM), 1,5 µl de MgCl₂ (25 mM), 0,12 µl da enzima GoTaq polimerase (Promega) e água ultra-pura para completar o volume final da reação. A amplificação foi realizada utilizando um termociclador modelo Veriti 96-Well (Applied Biosystems) em que, inicialmente, a mistura foi desnaturada a 94 °C por 2 minutos, seguindo por 35 ciclos (desnaturação por 2 minutos a 94°C; anelamento por 1 minuto a 54 °C e extensão por 1 minuto a 72 °C) e extensão final por 10 minutos a 72 °C. Uma planta de trigo infectada por WhSMV e uma planta sadia livre de vírus foram utilizadas como controle positivo e negativo da reação de PCR, respectivamente. Os produtos amplificados foram corados com GelRed (Biotium), submetidos a eletroforese em gel de agarose 1%, visualizados sob luz ultravioleta e fotografados após corrida eletroforética a 80 V por uma hora. O marcador molecular DNA ladder 250 pb (Promega) foi utilizado para determinar o tamanho dos fragmentos dos produtos amplificados.

3.3.6.3 Detecção do vetor

As raízes de trigo foram maceradas em nitrogênio líquido, e o DNA total foi extraído conforme protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987). A qualidade do DNA foi verificada conforme descrito no item anterior. O par de iniciadores Pgfwd2 (5'-GGA AGG ATC ATT AGC GTT GAA T-3') e Pxrev7 (5'-GAG GCA TGC TTC CGA GGG CTC T-3') (WARD; ADAMS, 1998), foi usado para amplificar um fragmento de 270-330 pb compreendendo a parte do gene nuclear ribossomal 5.8S e a região ITS1 de *P. graminis*. A reação de PCR foi realizada com um volume total de 25 μl contendo: 5 μl de DNA (~ 1 μg). 2,5 μl de tampão de reação Go*Taq* Flexi (Promega), 0,5 μl de dNTPs (10 μM), 0,5 μl de cada iniciador Pgfwd2/ Pxrev7 (10 mM), 1,5 μl de MgCl₂ (25 mM), 0,12 μl da enzima Go*Taq* polimerase (Promega) e água ultra-pura para completar o volume final da reação. A amplificação foi realizada utilizando um termociclador modelo Veriti 96-Well (Applied Biosystems), de acordo com o protocolo descrito por Tyagi et al. (2016). Uma amostra de raiz infectada por *P. graminis* e uma amostra livre de *P. graminis* foram usadas como controle positivo e negativo da reação de PCR, respectivamente. A análise dos produtos da reação de PCR foi realizada conforme descrita no item anterior.

3.3.7 Produtividade de grãos e seus componentes

Os componentes de rendimento como: número de espigas por metro quadrado (EM), número de grãos por espiga (NGE), peso de mil grãos (PMG), número de grãos por metro quadrado (GM) e a produtividade de grãos (PG) foram mensurados a partir de uma área colhida de 3,2 m² de plantas em cada subparcela. Para mensuração do PMG e PG, a umidade dos grãos foi corrigida para 13%. A PG foi estimada em kg ha⁻¹.

3.3.8 Biomassa total e índice de colheita

Na maturação de colheita, 1 m² de área de plantas foi amostrado em cada subparcela e as plantas foram separadas em lâminas foliares, colmos, palha da espiga e grãos. Posteriormente, essas diferentes partes da planta foram secas em estufa de circulação de ar à 70°C até atingirem massa constante. Foi determinada a biomassa total (BIO) e utilizando a razão entre a massa de grãos e a massa seca total da amostra o índice de colheita (IC) foi calculado.

3.3.9 Análise estatística

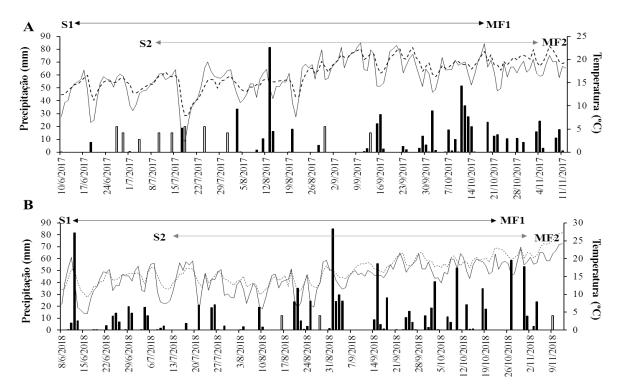
As análises estatísticas foram realizadas com o pacote estatístico ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2013) implementado no *software* R versão 3.4.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Os dados foram analisados separadamente para cada ano e época de semeadura, sendo que cada época foi considerada como um experimento individual. Para determinação dos efeitos dos fatores e suas interações, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA). A normalidade dos resíduos foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett. Os dados referentes às variáveis incidência e índice de doença foram *log* transformados quando necessário para atender aos pressupostos estatísticos da ANOVA. As diferenças entre os tratamentos foram determinadas utilizando o teste de Tukey (p<0,05). O pacote estatístico 'agricolae' (MENDIBURU, 2017) foi utilizado para realizar o teste de correlação de Pearson e determinar o coeficiente de correlação entre as variáveis analisadas.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Condições meteorológicas

Durante a condução do experimento, o volume de precipitação pluvial total acumulado em 2018 superou em 300 mm o volume total acumulado em 2017 (1058 mm *vs.* 757,8 mm). As temperaturas médias do ar e do solo (10 cm de profundidade) foram mais baixas em 2018 comparadas a 2017 (Figura 3). Além do maior volume de precipitação pluvial acumulado em 2018, os eventos de precipitação pluvial foram melhor distribuídos durante o período do experimento comparado ao ano 2017 (Figura 3).

Figura 3 – Precipitação pluvial (mm), lâmina de irrigação (mm), temperatura do ar (°C) e temperatura do solo a 10 cm de profundidade (°C) diárias, durante a condução do experimento em 2017 (A) e 2018 (B).



S1 e S2 correspondem à semeadura das cultivares na primeira época de semeadura (EP1, 14 de junho em 2017 e 8 de junho em 2018) e na segunda época de semeadura (EP2, 7 de junho em 2017 e 13 de julho em 2018), respectivamente e; MF1 e MF2 correspondem à maturação fisiológica aproximada das cultivares na EP1 e EP2, respectivamente. Barras escuras correspondem a precipitação pluvial diária (mm); barras claras, lâmina de irrigação (mm); linha pontilhada, temperatura média diária do solo à 10 cm de profundidade (°C) e; linha contínua, temperatura média diária do ar (°C)

Fonte: Elaborada pelo autor (2018) a partir de dados disponíveis no site do Laboratório de Agrometeorologia da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS (http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/agromet.php).

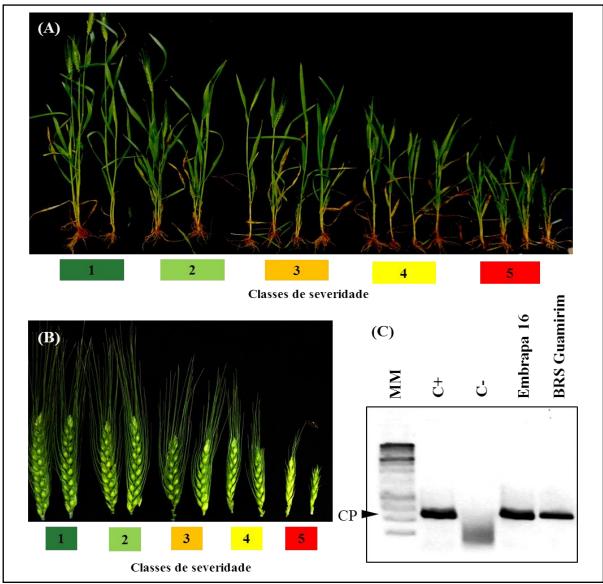
A maior escassez de precipitação de pluvial ocorreu no período entre 10 de junho e 31 de julho de 2017 (Figura 3A), que coincide com a semeadura, emergência e estádios iniciais de desenvolvimento do trigo nas duas épocas de semeadura (EP1 e EP2), com uma lâmina registrada de apenas 29 mm. No mesmo período de 2018, a lâmina registrada foi de 274 mm. As condições meteorológicas e a temperatura do solo indicam que o ano de 2018 apresentou as condições mais favoráveis ao plasmodioforomiceto *P. graminis* e, consequentemente ao desenvolvimento do mosaico-comum do trigo.

3.4.2 Sintomas e confirmação da etiologia da doença

A cultivar suscetível BRS Guamirim apresentou sintomas de mosaico mais intensos e severos, com redução evidente no tamanho das plantas e espigas (Figura 4A e 4B). Sintomas

frequentemente tênues, com estrias esbranquiçadas foram comuns na cultivar resistente Embrapa 16. Das amostras de plantas das cultivares de trigo Embrapa 16 e BRS Guamirim coletadas na área do experimento, foi possível amplificar o fragmento de 641 pb (Figura 4C), correspondente a proteína capsidial do WhSMV. Este resultado valida o experimento e demonstra que o WhSMV está associado aos sintomas observados em ambas as cultivares de trigo. O vetor *P. graminis* não foi detectado nas amostras de raízes das plantas sintomáticas (dados não mostrados).

Figura 4 – Classificação de plantas (A) e espigas (B) da cultivar de trigo BRS Guamirim conforme escala de severidade de mosaico-comum e perfil eletroforético em gel de agarose 1% do fragmento de ~641 pb correspondente a proteína capsidial (CP) do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) amplificado das cultivares de trigo Embrapa 16 e BRS Guamirim (C) por reação de RT-PCR.



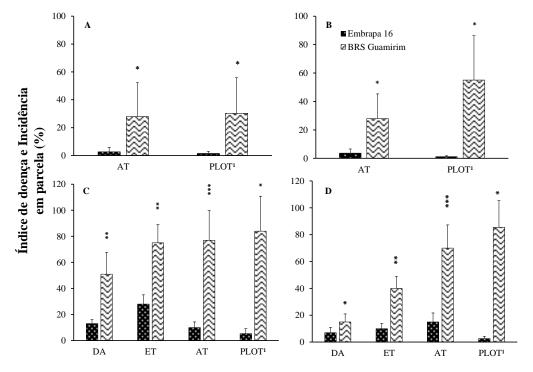
As classes de severidade correspondem à: 1 = ausência de sintomas de mosaico comum; 2 = plantas com sintomas pouco evidentes; 3 = plantas com sintomas evidentes, sem aparente comprometimento do desenvolvimento; 4 = plantas com sintomas típicos de mosaico, apresentando estrias amareladas nas folhas e colmos, sem redução evidente da estatura e das espigas; e 5 = plantas com sintomas de mosaico nas folhas e nas hastes, e com comprometimento do crescimento normal, redução da estatura e do desenvolvimento das espigas. MM, marcador molecular DNA ladder 1Kb. C+, controle positivo da reação de RT-PCR com planta de trigo infectada pelo WhSMV. C-, controle negativo da reação de RT-PCR com uma planta sadia. CP, fragmento de ~641 pb referente a proteína capsídial do WhSMV.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019

3.4.3 Índice de doença e incidência

O índice de doença e a incidência de plantas com sintomas na parcela foram variáveis entre as épocas de semeadura e anos avaliados, com valores mais altos observados em 2018 devido aos maiores volumes de chuva que favoreceram a infecção (Figura 5 e 6). Houve efeito significativo do fator principal cultivar sobre o índice de doença e sobre a incidência de plantas em parcelas nas épocas de semeadura e anos avaliados, mas não foi observado efeito significativo do fator nitrogênio (N) sobre estas variáveis (Figuras 5 e 6; Apêndice A e B).

Figura 5 – Valores médios do índice de doença e incidência em parcela (PLOT) referente ao efeito principal 'cultivar' nas épocas de semeadura 1 (A, 14 de junho) e 2 (B, 07 de julho) em 2017 e nas épocas de semeadura 1 (C, 08 de junho) e 2 (D, 13 de julho) em 2018.



Diferença significativa entre cultivares a: *p = 0.05; **p = 0.001 e ***p = 0.0001. ¹PLOT refere-se a estimativa visual de incidência total de plantas sintomáticas na parcela; DA: estágio de duplo-anel; ET: estágio de espigueta terminal; AT: estágio de antese. Em 2017, o índice de doença foi mensurado apenas na antese (AT). Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

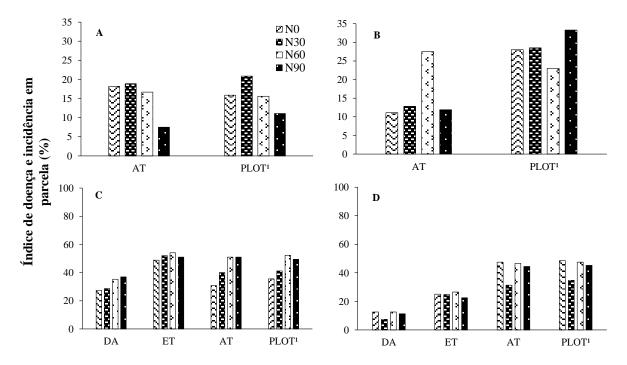
A cultivar BRS Guamirim apresentou valores de ID e incidência significativamente superior a cultivar Embrapa 16 em todas as avaliações nos dois anos de estudo (Figura 5). Em 2017, os valores médios de índice de doença na antese (ID) e incidência (PLOT) observados na cv. suscetível foram 28 e 30% na época 1 (EP1) e, 28 e 55% na época 2 (EP2), respectivamente (Figura 5A e B). Enquanto para a cv. resistente Embrapa 16 os valores médios de ID e

incidência foram, respectivamente, 2,6 e 1,5% na EP1 e, 3,6 e 1,2% na EP2 (Figura 5A e B). Na EP1 em 2018, o ID calculado nos estágios DA, ET e AT foram, respectivamente, 51, 75 e 76% para BRS Guamirim e, respectivamente, 13, 28 e 10% para Embrapa 16 (Figura 5C). Na EP2, o ID calculado nos estágios DA, ET e AT foram, respectivamente, 15, 39 e 70% para BRS Guamirim e, respectivamente, 7, 10 e 15% para Embrapa 16 (Figura 5D).

A mensuração da incidência e severidade de mosaico-comum em diferentes estádios fenológicos das cultivares de trigo em 2018, permitiu utilizar o ID calculado como parâmetro para fazer inferências indiretas sobre a progressão da doença na cultivar suscetível. Na EP1, o ID no estágio de DA foi considerado elevado (51%) para a primeira avaliação apenas 25 dias após a emergência, comparado ao mesmo estádio na EP2 (15%). Entretanto, na AT, os valores máximos de ID foram próximos (76% EP1 e 70% EP2) (Figura 5C e D), indicando que houve uma progressão mais acentuada da doença na EP2, e que na EP1 os valores de ID foram elevados desde início do ciclo da cv. BRS Guamirim.

Como um resultado da mensuração pontual da incidência e severidade em diferentes estádios fenológicos, observa-se uma tendência para maiores valores de ID observados na AT, indicando a AT deve ser o ponto mais adequado para avaliação da incidência e severidade de mosaico-comum. A incidência de plantas na parcela, na EP1 e EP2 para a cv. BRS Guamirim foi equivalente (84 e 85,4%, respectivamente), mas muito maior comparada a cv. Embrapa 16 (5,2 e 2,6%, respectivamente) (Figura 5C e D).

Figura 6 – Valores médios do índice de doença e incidência em parcela (PLOT) referente ao efeito principal 'nitrogênio' nas épocas de semeadura 1 (A, 14 de junho) e 2 (B, 07 de julho) em 2017 e nas épocas de semeadura 1 (C, 08 de junho) e 2 (D, 13 de julho) em 2018.



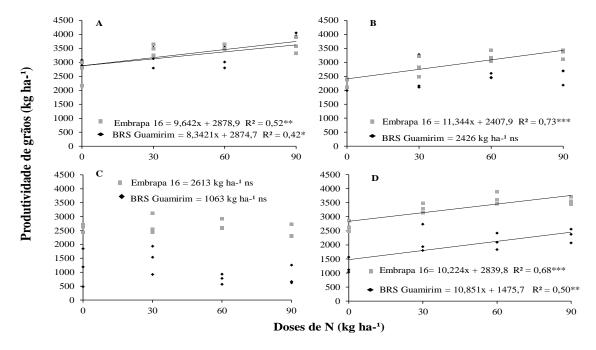
¹PLOT refere-se a estimativa visual de incidência de plantas com sintomas na parcela; DA: estádio de duplo-anel; ET: estádio de espigueta terminal; AT: estádio de antese. Em 2017, o índice de doença foi mensurado apenas na antese (AT).

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

3.4.4 Produtividade de grãos

O efeito da fertilização nitrogenada sobre a produtividade das cultivares apresentou variação de acordo com a época de semeadura nos dois anos avaliados (Figura 7). Na EP1 em 2017, as cultivares responderam de forma equivalente a fertilização nitrogenada e alcançaram a maior produtividade com a maior dose de N (3770 kg ha⁻¹ para BRS Guamirim e 3599 kg ha⁻¹ para Embrapa 16) (Figura 7A). Não houve diferença significativa entre a produtividade de grãos (PG) das cultivares, mas a PG média entre a doses de N foi maior para a cv. resistente Embrapa 16 (+63 kg ha⁻¹). Na EP2 do mesmo ano, a cv. Embrapa 16 apresentou incremento na produtividade de grãos de 11,3 kg para cada kg de N aplicado e atingiu produtividade máxima de 3038 kg ha⁻¹ com a maior dose de N, mas na cv. BRS Guamirim não houve resposta (PG média de 2427 kg ha⁻¹) (Figura 7B). Entre a PG média das duas cultivares, a cv. Embrapa 16 (2918 kg ha⁻¹) foi significativamente superior a BRS Guamirim (2427 kg ha⁻¹) em 492 kg ha⁻¹.

Figura 7 – Relação entre produtividade de grãos (kg ha⁻¹) e fertilização nitrogenada (0, 30, 60 e 90 kg N ha⁻¹) para as cultivares de trigo Embrapa 16 e BRS Guamirim semeadas em duas épocas em 2017 (A – Época 1, 14 de junho; B – Época 2, 07 de julho) e 2018 (C – Época 1, 8 de junho; D – Época 2, 13 de julho).



Significante à: *p = 0,05; **p = 0,001 e ***p = 0,0001; ns: não significativo

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Em 2018, na época 1, ambas cultivares não responderam a fertilização nitrogenada, mas a produtividade média apresentada pela cv. Embrapa 16 (2613 kg ha⁻¹) foi superior em 1550 kg ha⁻¹ comparada a produtividade média da cv. BRS Guamirim (1063 kg ha⁻¹) (Figura 7C). Esta resposta deve-se a maior intensidade do mosaico-comum em 2018, onde as condições ambientais foram favoráveis. Similar à EP1 em 2017, houve incremento significativo equivalente na PG das duas cultivares na EP2 em 2018, mas a produtividade máxima alcançada pela cultivar Embrapa 16 (3572 kg ha⁻¹) foi significativamente superior a BRS Guamirim (2338 kg ha⁻¹), alcançando diferença de 1234 kg ha⁻¹ (Figura 7D).

3.4.5 Componentes da produtividade de grãos

Na EP1 em 2017, as variáveis peso de mil grãos (PMG) e número de espigas por metro quadrado (EM) foram afetadas pelo fator principal cultivar (C), enquanto o fator principal nitrogênio (N) afetou apenas a variável número de grãos por metro quadrado (GM). A interação entre os fatores (C x N) foi significativa para o PMG (Apêndice A). A cv. BRS Guamirim

apresentou PMG maior nos níveis N0, N30 e N60, mas esse efeito foi revertido no maior nível de N (N90), onde a cv. Embrapa 16 apresentou valores de PMG similares a BRS Guamirim (Figura 8A) indicando efeito positivo do N sobre esta característica. Na média das doses de nitrogênio, a cv. BRS Guamirim apresentou maior PMG (32,1 g vs. 30,4 g), mas menor EM (339 vs. 453) em comparação a Embrapa 16 (Tabela 2). Houve efeito positivo da fertilização nitrogenada sobre a variável GM, com incremento significativo (+30,6%) sob a maior dose de N (N90) seguido por N60 (+20,6%), comparado a N0 (Tabela 1). As demais variáveis não apresentaram variação significativa entre os fatores (Apêndice A).

O PMG foi afetado pelo fator cultivar na EP2 em 2017. Adicionalmente, a variável GM foi afetada pelos dois fatores principais (Apêndice A). A cv. BRS Guamirim apresentou PMG superior (32,4 g vs. 28,0 g), mas significativamente menor GM (6518 vs. 9035) em relação à cv. Embrapa 16 (Tabela 2). Similar a EP1, a variável GM apresentou incremento significativo sob N90 e N60 (+31% e +26%, respectivamente) (Tabela 2). Houve interação significativa para a variável GE (Apêndice A) e, demonstrou que a cv. Embrapa 16 respondeu positivamente a aplicação de N com incremento significativo nos níveis N90 (+35,3%) e N60 (+26,6%) comparados a N0, apresentando valores significativamente maiores em relação a cv. BRS Guamirim que não respondeu a aplicação de N (Figura 8B).

Em 2018, as variáveis PMG, GE e GM foram afetadas pelo fator principal cultivar, mas não houve efeito significativo do fator N sobre qualquer variável na EP1 (Apêndice B). A cv. Embrapa 16 apresentou valores significativamente maiores de GE (19,2 *vs.* 9,2) e GM (8576 *vs.* 3087), mas menor PMG (26,6 g *vs.* 29,3 g) comparada a cv. BRS Guamirim (Tabela 3). O PMG, EM, GE e GM não diferiram entre os níveis do fator nitrogênio e apresentaram os valores médios: 27,9 g, 400, 14,2, 5832, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 2 – Valores médios do peso de mil grãos (PMG), número de espigas/m² (EM), número de grãos por espiga (GE), número de grãos/m² (GM), índice de colheita (IC) e biomassa total (BIO) de duas cultivares de trigo (Embrapa 16 e BRS Guamirim) submetidas a quatro doses de nitrogênio (0, 30, 60 e 90 kg N ha¹) em duas épocas de semeadura (Época 1, 14 de junho; Época 2, 07 de julho) no ano 2017.

Efeitos principais	PMG	EM	GE	GM	IC	BIO
	(g -1)				(%)	(kg ha ⁻¹)
Época 1						
Cultivares (C)						
1. Embrapa 16	30,4b1	453a	20,9a	9476a	39,4a	7305a
2. BRS Guamirim	32,1a	339b	26,2a	8814a	46,7a	6078a
Nitrogênio (N)						
1. N0	31,1a	360a	21,8a	7790b	42,4a	5727b
2. N30	31,4a	390a	24,2a	9210ab	43,8a	6640ab
3. N60	31,0a	425a	22,8a	9400a	41,4a	7093a
4. N90	31,5a	408a	25,4a	10179a	44,6a	7306a
Época 2						
Cultivares (C)						
1. Embrapa 16	28,0b	496a	18,3a	9035a	40,1a	6299a
2. BRS Guamirim	32,4a	420a	15,7a	6518b	40,9a	5178b
Nitrogênio (N)						
1. N0	30,0a	424a	15,5a	6550b	39,7a	4915b
2. N30	30,5a	454a	17,0a	7709ab	41,1a	5669ab
3. N60	30,5a	491a	16,8a	8268a	42,0a	5914a
4. N90	29,8a	465a	18,5a	8582a	39,2a	6454a

¹Dentro das colunas e para o mesmo fator, médias seguidas pela mesma letra não diferem significantemente ao nível de 5% de probabilidade indicado pelo teste de Tukey.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Na EP2 do ano 2018, as variáveis PMG, EM, GE e GM foram afetadas pelos efeitos principais dos fatores. A cv. BRS Guamirim apresentou maior PMG (29,6 g⁻¹ vs. 27,6 g⁻¹), mas menor EM (398 vs. 544), GE (14,4 vs. 19,1) e GM (5688 vs. 10408) comparada a cv. Embrapa 16 (Tabela 3). Na ausência de N em cobertura, as cultivares apresentaram menor GM comparado aos outros níveis do fator N que não apresentaram diferença entre si (Tabela 3). Houve efeito significativo da interação entre os fatores (C x N) para a variável PMG (Apêndice B). Na ausência de N em cobertura (N0), o PMG foi similar entre as cultivares e houve acréscimo com a aplicação de N em cobertura para a cv. BRS Guamirim, mas não diferiu entre

os níveis N30, N60 e N90 (Figura 8C). Esta resposta não foi observada para a cv. Embrapa 16 onde o efeito no N foi nulo e o PMG significativamente inferior a BRS Guamirim (Figura 8C).

Tabela 3 – Valores médios do peso de mil grãos (PMG), número de espigas/m² (EM), número de grãos por espiga (GE), número de grãos/m² (GM), índice de colheita (IC) e biomassa total (BIO) de duas cultivares de trigo (Embrapa 16 e BRS Guamirim) submetidas a quatro doses de nitrogênio (0, 30, 60 e 90 kg N ha¹) em duas épocas de semeadura (Época 1, 08 de junho; Época 2, 13 de julho) no ano 2018.

Efeitos principais	PMG	EM	GE	GM	IC	BIO
	(g^{-1})				(%)	(kg ha ⁻¹)
Época 1						
Cultivares (C)						
1. Embrapa 16	26,6b1	454a	19,2a	8576a	32,8a	6950a
2. BRS Guamirim	29,3a	345a	9,2b	3087b	26,0a	3404b
Nitrogênio (N)						
1. N0	28,2a	374a	14,8a	5823a	32,6a	4808a
2. N30	29,6a	393a	15,4a	6187a	32,6a	5480a
3. N60	26,8a	418a	13,7a	5773a	26,8ab	5164a
4. N90	27,1a	412a	13,0a	5544a	25,7b	5256a
Época 2						
Cultivares (C)						
1. Embrapa 16	27,6b	544a	19,1a	10408a	36,2a	7952a
2. BRS Guamirim	29,6a	398b	14,4b	5688b	33,5a	5039b
Nitrogênio (N)						
1. NO	26,4b	443a	14,2a	6341b	33,5a	4911c
2. N30	29,3a	463a	17,5a	8240a	35,4a	6648b
3. N60	29,1a	492a	17,5a	8750a	36,0a	6921ab
4. N90	29,5a	487a	17,9a	8861a	34,4a	7501a

¹Dentro das colunas e para o mesmo fator, médias seguidas pela mesma letra não diferem significantemente ao nível de 5% de probabilidade indicado pelo teste de Tukey. Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

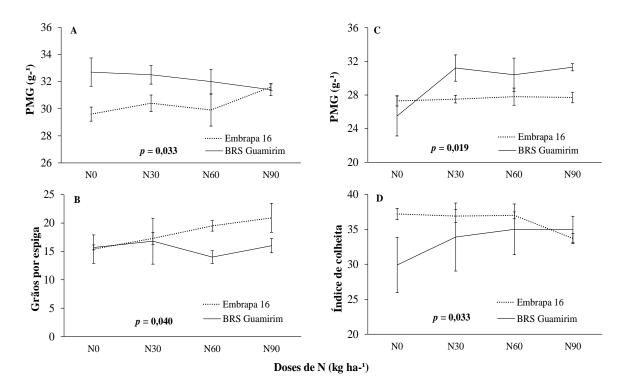
3.4.6 Biomassa total (BIO) e índice de colheita (IC)

Em 2017, a biomassa total foi significativamente afetada pelo fator principal N nas duas épocas de semeadura, EP1 e EP2 (Apêndice A), apresentando maiores valores em N90 (+28% e +31%, respectivamente) e em N60 (+23% e +20%, respectivamente), comparados a N0 (Tabela 2). Não houve efeito significativo do N sobre o IC em 2017 e os valores médios

observados foram 43,0 e 40,0 na EP1 e EP2, respectivamente. Na EP2, a variável BIO foi significativamente superior (+20%) para a cv. Embrapa 16, mas na EP1 não foram observadas diferenças entre as cultivares (Tabela 2). Não houve variação significativa entre as cultivares para o IC em 2017.

Em 2018 houve efeito significativo do fator principal cultivar para a variável BIO nas duas épocas de semeadura, mas o efeito do fator principal N foi observado apenas na EP2 (Apêndice B). Nas duas épocas de semeadura, a cv. Embrapa 16 apresentou maior produção de biomassa (BIO), sendo na EP1 uma vez superior à cv. BRS Guamirim (6950 kg ha⁻¹ vs. 3404 kg ha⁻¹) e na EP2 50% superior (7952 kg ha⁻¹ vs. 5039 kg ha⁻¹) (Tabela 3). A BIO não diferiu entre os níveis do fator N na EP1 e apresentou média de 5177 kg ha⁻¹. Na EP2 o rendimento biológico (BIO) alcançou maior valor com o maior nível de N (7501 kg ha⁻¹ sob N90) (Tabela 3). Não houve efeito significativo do fator cultivar sobre o IC em qualquer das épocas estudadas nos dois anos (Tabela 2 e 3; Apêndice A e B). O efeito do fator principal N sobre IC foi significativo apenas na EP1 em 2018 (Apêndice B) com o valor mais baixo (25,7) observado sob N90 (Tabela 3). Houve interação entre os fatores principais na EP2 em 2018, indicando que o fornecimento de N não alterou o IC de colheita nas cultivares, mas sob N0 Embrapa 16 foi superior a BRS Guamirim (Figura 8D).

Figura 8 – Resultado da interação entre os fatores cultivares vs. doses de nitrogênio para as variáveis peso de mil grãos (PMG), grãos por espiga (GE) e índice de colheita (IC). A, corresponde ao PMG na época 1 (EP1, 14 de junho) e B, corresponde a GE na época 2 (EP2, 07 de julho) em 2017. C e D, correspondem ao PMG e IC na época 2 (EP2, 13 de julho) em 2018.



Barras de erros indicam o desvio padrão amostral.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

3.4.7 Análises de correlação

Através da análise de correlação de Pearson, uma matriz de correlação entre todas as variáveis foi gerada individualmente para cada cultivar e para cada época de semeadura nos dois anos de estudo (Tabelas 4 e 5). Parte dos componentes da produtividade foi positivamente correlacionados entre si e com a PG. Entretanto, na maior parte das épocas de semeadura, para ambas as cultivares, o número de grãos por metro quadrado (GM), biomassa total (BIO) e o número de grãos por espiga (GE) foram as variáveis que mais contribuíram positivamente com a PG (Tabelas 4 e 5).

Na safra 2018, em que a intensidade de mosaico-comum foi maior, o PMG e o IC foram altamente correlacionados com a PG para a cv. BRS Guamirim (Tabela 5B e C), mas não para cv. Embrapa 16 (Tabela 4A e C). De forma geral, em 2018 os componentes da produtividade foram mais correlacionados entre si, especialmente para cv. BRS Guamirim, possivelmente pela maior amplitude de variação nestas características em função da maior pressão da doença

(Tabelas 4 e 5). Embora muitas destas características tenham sido significativamente correlacionadas, elas não fornecem informação direta sobre a relação entre as variáveis. Correlações com a PG, sugerem que a incidência de parcela (PLOT) e o ID tem efeitos redutores sobre a PG para a cv. BRS Guamirim, com magnitude e significância maior em condições de elevada pressão da doença. Para a cv. Embrapa 16 a relação entre a doença e a PG não teve efeito significativo, sobretudo, tendências negativas foram observadas em 2018 (Tabelas 4 e 5).

Tabela 4 – Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis: incidência de plantas em parcela (PLOT), índice de doença na antese (ID AT), produtividade de grãos (PG), índice de colheita (IC), peso de mil grãos (PMG), número de espigas/m² (EM), número de grãos/m² (GM), número de grãos/espiga (GE) e biomassa total (BIO) das cultivares de trigo Embrapa 16 (A= primeira época de semeadura; C=segunda época de semeadura) e BRS Guamirim (B= primeira época de semeadura; D=segunda época de semeadura) na safra 2017.

Variáveis	PLOT1	ID ANT	PG	IC	PMG	EM	GM	GE	BIO
PLOT	1,00								A
ID ANT	0,23	1,00							
PG	0,04	0,29	1,00						
IC	0,44	-0,40	0,30	1,00					
PMG	0,08	-0,25	0,50	0,35	1,00				
EM	0,04	0,59*	0,73**	-0,09	0,12	1,00			
GM	0,03	0,39	0,97***	0,25	0,28	0,77**	1,00		
GE	0,03	-0,12	0,62*	0,54	0,35	-0,05	0,59*	1,00	
BIO	-0,07	0,44	0,96***	0,02	0,40	0,79**	0,95***	0,49	1,00
PLOT	1,00								В
ID ANT	0,82**	1,00							
PG	-0,67*	-0,65*	1,00						
IC	-0,17	-0,34	0,25	1,00					
PMG	-0,17	-0,27	-0,33	0,04	1,00				
EM	-0,47	-0,25	0,72**	-0,34	-0,40	1,00			
GM	-0,59*	-0,55	0,99***	0,22	-0,48	0,75**	1,00		
GE	-0,05	-0,34	0,21	0,81**	-0,07	-0,50	0,20	1,00	
BIO	-0,55	-0,43	0,84***	-0,32	-0,37	0,91***	0,84***	-0,26	1,00
PLOT	1,00								С
ID ANT	-0,27	1,00							
PG	0,36	-0,21	1,00						
IC	0,07	-0,36	0,81**	1,00					
PMG	0,22	-0,41	0,82**	0,74**	1,00				
EM	-0,16	-0,10	0,29	0,01	0,33	1,00			
GM	0,37	-0,17	0,99***	0,80**	0,76**	0,36	1,00		
GE	0,46	-0,07	0,75**	0,74**	0,49	-0,39	0,78**	1,00	
BIO	0,49	-0,07	0,92***	0,52	0,72**	0,40	0,92***	0,61*	1,00
PLOT	1,00								D
ID ANT	0,26	1,00							
PG	-0,59	-0,20	1,00						
IC	-0,72	-0,01	0,40	1,00					
PMG	-0,74**	-0,19	0,21	0,61*	1,00				
EM	-0,05	0,26	0,44	-0,29	-0,24	1,00			
GM	-0,33	-0,14	0,93***	0,17	-0,16	0,54	1,00		
GE	-0,28	-0,38	0,47	0,51	0,10	-0,52	0,44	1,00	
BIO	-0,15	-0,23	0,77**	-0,28	-0,15	0,66*	0,84***	0,13	1,00

Significante à: *p = 0.05, **p = 0.001, ***p = 0.0001

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Tabela 5 – Matriz de correlação de Pearson entre as variáveis: incidência de plantas em parcela (PLOT), índice de doença no estádio de duplo anel (ID DA), índice de doença no estádio de espigueta terminal (ID ET), índice de doença no estádio de antese (ID AT), produtividade de grãos (PG), índice de colheita (IC), peso de mil grãos (PMG), número de espigas/m² (EM), número de grãos/m² (GM), número de grãos/espiga (GE) e biomassa total (BIO) das cultivares de trigo Embrapa 16 (A= primeira época de semeadura; C=segunda época de semeadura) e BRS Guamirim (B= primeira época de semeadura; D=segunda época de semeadura) na safra 2018.

Variáveis	PLOT	ID DA	ID ET	ID ANT	PG	IC	PMG	EM	GM	GE	BIO
PLOT	1,00										A
ID DA	-0,45	1,00									
ID ET	-0,16	-0,52	1,00								
ID ANT	0,02	0,14	-0,27	1,00							
PG	0,52	-0,55	0,14	-0,48	1,00						
IC	0,27	-0,59*	0,61*	-0,39	0,79**	1,00					
PMG	-0,05	-0,32	0,56	-0,53	0,23	0,33	1,00				
EM	-0,43	0,46	-0,43	0,27	-0,72**	-0,83**	-0,07	1,00			
GM	0,51	-0,25	-0,26	-0,06	0,72**	0,46	-0,50	-0,59*	1,00		
GE	0,52	-0,41	0,13	-0,18	0,80**	0,71**	-0,21	-0,91***	0,86***	1,00	
BIO	0,32	0,17	-0,80**	-0,02	0,13	-0,50	-0,22	0,32	0,29	-0,02	1,00
PLOT	1,00										В
ID DA	0,86***	1,00									
ID ET	0,79**	0,61*	1,00								
ID ANT	0,83***	0,62*	0,91***	1,00							
PG	-0,79**	-0,62*	-0,55	-0,69*	1,00						
IC	-0,75**	-0,63*	-0,65*	-0,82**	0,95***	1,00					
PMG	-0,53	-0,26	-0,39	-0,49	0,85***	0,73**	1,00				
EM	-0,12	-0,08	0,02	0,05	-0,17	-0,27	-0,02	1,00			
GM	-0,79**	-0,60*	-0,57	-0,71**	1,00***	0,96***	0,81**	-0,19	1,00		
GE	-0,60*	-0,47	-0,45	-0,59*	0,94***	0,93***	0,75**	-0,45	0,95***	1,00	
BIO	-0,65*	-0,43	-0,36	-0,44	0,92***	0,76**	0,90***	-0,09	0,90***	0,84***	1,00
PLOT	1,00										С
ID DA	0,02	1,00									
ID ET	0,39	0,05	1,00								
ID ANT	-0,33	0,25	-0,34	1,00							
PG	0,05	-0,63	0,34	-0,48	1,00						
IC	0,18	0,27	-0,33	0,15	-0,27	1,00					
PMG	0,12	0,29	0,80**	-0,32	0,35	-0,11	1,00				
EM	-0,16	-0,28	0,22	-0,27	0,69*	-0,32	0,33	1,00			
GM	0,02	-0,71**	0,21	-0,44	0,98***	-0,26	0,18	0,67*	1,00		
GE	0,20	-0,69*	0,08	-0,33	0,66*	-0,02	-0,06	-0,06	0,70*	1,00	
BIO	-0,02	-0,63*	0,41	-0,48	0,95***	-0,56	0,34	0,71**	0,93***	0,56	1,00
PLOT	1,00										D
ID DA	0,46	1,00									
ID ET	0,47	0,32	1,00								
ID ANT	0,86***	0,52	0,3	1,00							
PG	-0,58*	0,02	-0,39	-0,34	1,00						
										continua	

continua

IC	-0,58*	-0,13	-0,42	-0,27	0,83***	1,00					
PMG	-0,36	-0,02	-0,08	-0,3	0,86***	0,71**	1,00				
EM	0,13	-0,3	-0,14	-0,01	-0,15	-0,2	-0,06	1,00			
GM	-0,59*	0,07	-0,45	-0,32	0,98***	0,82**	0,76**	-0,19	1,00		
GE	-0,55	0,18	-0,3	-0,26	0,89***	0,76**	0,66*	-0,56	0,92***	1,00	
BIO	-0,44	0,14	-0,26	-0,31	0,95***	0,62*	0,86***	-0,12	0,92***	0,82***	1,00

Significante à: *p = 0.05, **p = 0.001, ***p = 0.0001. ¹EP1 e EP2 primeira e segunda épocas de semeadura, respectivamente. Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

3.5 DISCUSSÃO

O manejo do nitrogênio (N) na cultura do trigo tem sido uma das principais e mais importantes práticas utilizadas para aumentar a produtividade e a qualidade de grãos de trigo (SANGOI et al., 2007; PRANDO et al., 2013; ROSSI et al., 2013). Muitos estudos têm relatado que aplicação de N em plantas altera a dinâmica de interação patógeno-hospedeiro (HUBER; WATSON, 1974; SHANER; FINNEY, 1977; KOMMEDAHL, 1984; ÁDÁM et al., 1987; BAIN et al., 1998; REID; ZHU; MA, 2001; NEUMANN et al., 2004; HUBER; HANEKLAUS, 2007; MARSCHNER, 2012; VERESOGLOU et al., 2013; LACROIX; SEABLOOM; BORER, 2014, 2017; MILLER et al., 2015; WHITAKER; RÚA; MITCHELL, 2015). No entanto, há menos relatos publicados sobre os efeitos do N sobre as doenças relacionando-as com os efeitos do N sobre a produtividade das plantas (BRENNAN, 1992; CANADAY; WYATT, 1992; CORNÉLIO et al., 2007; DEVADAS et al., 2014; SALGADO; LINDSEY; PAUL, 2017), especialmente, tratando-se de doenças de etiologia viral (RIEDELL, 1999; WHITWORTH; NOLTE; MCINTOSH, 2006; LOSINDILO, 2015).

Neste trabalho foram apresentados os resultados de dois anos de estudo, documentando a resposta agronômica (produtividade de grãos, componentes da produtividade, biomassa total e índice de colheita) resultante da interação de diferentes doses de N aplicadas em cobertura e da incidência e severidade do mosaico-comum do trigo, em cultivares resistente (Embrapa 16) e suscetível (BRS Guamirim). Os resultados fornecem evidências de como a produtividade do trigo é influenciada pelo fornecimento de N em diferentes cenários com níveis variados de incidência e severidade de mosaico-comum.

Em 2018, a incidência de mosaico-comum foi mais expressiva. Isso ocorreu devido aos maiores volumes de precipitação pluvial que favoreceram o vetor e, consequentemente, a infecção pelo vírus. A presença de água livre no perfil do solo ocasionada por chuvas frequentes é um dos fatores chaves que propiciam a ocorrência de epidemias virais transmitidas por *P. graminis* (KANYUKA et al., 2003; KÜHNE, 2009). No geral, em todos os cenários (épocas

estudadas nos dois anos), a incidência de plantas com mosaico-comum na antese (AT) para Embrapa 16 (resistente ao mosaico-comum) não ultrapassou 6% (Figura 5). Enquanto para BRS Guamirim, houveram cenários considerados de baixa (30%), média (30-60%) e alta (+60%) incidência de mosaico-comum.

Nas condições deste estudo, o fornecimento de N em cobertura não teve efeito significativo sobre a incidência de mosaico-comum nas cultivares resistente e suscetível (Apêndice A e B). O N não afetou a ocorrência do mosaico-comum, talvez, porque o vírus poderia ter infectado as plantas antes da primeira aplicação de N em cobertura (~30 dias após a emergência). Esta mesma observação foi feita para o *Maize streak virus* (MSV; *Mastrevirus*, *Geminiviridae*) em milho (*Zea mays* L.) na África (BLAKSON et al., 2018). Uma percepção comum pelos produtores de trigo é que, quando cultivares infectadas pelo vírus recebem N em algum nível, os sintomas de mosaico-comum podem ser atenuados. Tal efeito pode ocorrer se o N adicional proporcionar melhor desenvolvimento e aparência geral da planta. Entretanto, nas condições deste estudo, este comportamento não foi observado.

As diferenças de incidência e severidade entre as cultivares, foram devidas as suas características genéticas intrínsecas e sugerem que o fornecimento de N em qualquer nível não altera a resistência/suscetibilidade à infecção porque a incidência e severidade foram similares nas plantas com e sem N em cobertura (Figura 5). Entretanto, estes resultados não fornecem evidências sobre o título viral nas cultivares. É conhecido que fatores nutricionais importantes para o crescimento, desenvolvimento e produtividade das culturas, igualmente favorecem a multiplicação viral que é depende de compostos celulares ricos em nutrientes (HUBER; HANEKLAUS, 2007; DORDAS, 2008). Mesmo com o possível efeito positivo sobre a replicação viral, esse resultado não necessariamente se traduz em maior severidade (BHADURI; RAKSHIT; CHAKRABORTY, 2014; SCHUMANN; VASHISTH; SPANN, 2017). Assim, estudos adicionais deveriam ser realizados para verificar o efeito do fornecimento de N sobre o título viral nas cultivares resistente e suscetível.

A produtividade de grãos das cultivares foi influenciada positivamente pelo fornecimento de N, em concordância com resultados alcançados por outros autores (BENIN et al., 2012; RODRIGUES et al., 2007; SANGOI et al., 2007; SILVA et al., 2014). Entretanto, a capacidade de resposta foi dependente do nível de incidência de mosaico-comum na cultivar suscetível e influenciado por fatores ambientais em ambas cultivares. Em um cenário de baixa incidência na época 1 (EP1) em 2017, a produtividade de grãos (PG) da cultivar BRS Guamirim não diferiu da cultivar Embrapa 16 sendo que ambas responderam de forma equivalente à adubação nitrogenada (Figura 7A). A partir de uma produtividade base próxima de 2800 kg ha

¹, na ausência de aplicação de N, apresentaram incremento médio na PG de aproximadamente 9 kg kg⁻¹ de N ha⁻¹ aplicado (Figura 7A). Esse resultado sugere que com um nível de incidência de 30%, a cultivar suscetível foi capaz de responder ao N e manter o mesmo patamar produtivo que a cultivar resistente. Já nas parcelas que BRS Guamirim obteve nível de incidência maior (75%), diferenças na PG se manifestaram alcançando até 514 kg ha⁻¹(Figura 7A).

Na época 2 (EP2) de 2017, a incidência de mosaico-comum em BRS Guamirim atingiu a média de 50% (Figura 5B). Neste nível de doença, houve diferença significativa na PG média das cultivares (492 kg ha⁻¹) e na capacidade de responder a adubação nitrogenada (Figura 7). Enquanto Embrapa 16, com baixa incidência (Figura 5B), manteve níveis de resposta similar ao da primeira época, com produtividade base de 2400 kg ha⁻¹ sob N0 e aumento de produtividade de grãos de 11 kg kg⁻¹ N ha⁻¹ fornecido. A cultivar BRS Guamirim não respondeu a adubação nitrogenada (Figura 7B).

Na EP1 de 2018, com incidência média de 84% em parcelas de BRS Guamirim, a produtividade média da cultivar foi 1063 kg ha⁻¹ contra 2600 kg ha⁻¹ de Embrapa 16 (Figura 7C). Nesse caso, ambas cultivares não apresentaram resposta significativa ao fornecimento de N, mesmo Embrapa 16 apresentando baixa incidência e severidade de mosaico-comum (Figuras 5C e 7C). Por outro lado, na EP2 de 2018 as duas cultivares reagiram positivamente ao fornecimento de N na mesma razão (aumento na PG de 10 kg kg⁻¹ N ha⁻¹) (Figura 7D), mesmo com BRS Guamirim apresentando incidência média elevada ao redor de 85% (Figura 5D). Entretanto, a produtividade base da cultivar BRS Guamirim partiu de apenas 1500 kg ha⁻¹ contra 2800 kg ha⁻¹ de Embrapa 16 (Figura 7C).

Entre os componentes da produtividade e indicadores fisiológicos, o número de grãos por metro quadrado (GM) e a biomassa total (BIO) foram os mais influenciados pelo N e que mais contribuíram para a PG das cultivares. Isso contraria a afirmação de que o índice de colheita é o fator chave por impulsionar o potencial genético de PG de trigo (COX et al.,1988). Mas está de acordo com outros estudos brasileiros que encontraram forte associação da produtividade biológica e dos grãos por unidade de área com a PG de trigo (RODRIGUES et al., 2007; ARENHARDT et al., 2015). A associação entre GM, BIO e a PG, sugere que a oferta de fotoassimilados para o enchimento dos grãos somada as reservas nos órgãos vegetativos foram suficientes para atender a demanda dos grãos em desenvolvimento (RODRIGUES et al., 2007), indicando que a capacidade de partição não foi afetada pela infecção viral.

A ausência de resposta da cultivar resistente na EP1 em 2018 mesmo com níveis de incidência semelhantes a EP2 do mesmo ano sugere que a doença não pode ser atribuída como principal fator para este resultado. A interação entre ambiente e o uso do nitrogênio pelo trigo

resulta em variações na capacidade de resposta das plantas (BENIN et al., 2012). Os maiores volumes de precipitação pluvial ocorridos em 2018, associados a falta de radiação solar, criaram condições conducentes para a ocorrência do mosaico-comum do trigo. Estas mesmas condições ambientais afetam a resposta das plantas ao fornecimento de N, uma vez que nestas circunstâncias, espera-se maior lixiviação e denitrificação do N no solo (CANADAY; WYATT, 1992).

Esta mesma situação poderia explicar parcialmente a ausência de resposta na cultivar BRS Guamirim na EP1 em 2018, já que com o mesmo nível de incidência na EP2 a cultivar suscetível respondeu a adubação nitrogenada. No entanto, condições mais conducentes observadas na EP1 favoreceram a infecção nos estádios iniciais de desenvolvimento das plantas, desencadeando níveis de incidência e severidade elevados precocemente nesta cultivar (Figura 5). Ao contrário os níveis de incidência e severidade na EP2 foram mais baixos nos estágios iniciais, sugerindo que a infecção foi progressivamente mais lenta e condicionou a reposta positiva da cultivar a fertilização nitrogenada.

Isso sugere que as condições ambientais somadas à infecção viral precoce foram determinantes para alterar a capacidade da cultivar suscetível responder ao N. Em espécies virais em que o ponto primário de infecção é o sistema radicular, a multiplicação do vírus nas raízes reduz significativamente o fluxo de aminoácidos e compostos nitrogenados para a parte aérea e, da mesma forma, ocorre a redução do fluxo descendente de fotoassimilados pelo floema (KAPLAN; BERGMAN, 1985). Com isso, ocorre a redução na taxa de crescimento das plantas e na taxa de absorção de nutrientes da solução do solo, implicando em baixas produtividades e ineficiência agronômica (KAPLAN; BERGMAN, 1985).

Como visto, a relação entre nutrientes e patógenos é complexa e influenciada por vários fatores como espécies hospedeira e/ou cultivar, momento da infecção e condições ambientais (KAPLAN; BERGMAN, 1985). Entretanto, alguns estudos encontraram diferentes respostas sobre os mais diversos patossistemas e concluíram que essa relação é patossistema-específica e pode ser variável de acordo com o nível de resistência de cultivares (DORDAS, 2008). Por exemplo, no patossistema trigo - *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* o fornecimento de N incrementou a severidade da doença em cultivares suscetível e moderadamente resistente, mas não na cultivar resistente, entretanto, ocorreu aumento na produtividade de grãos das cultivares (DEVADAS et al., 2014). A podridão mole causada pela bactéria *Pseudomonas marginalis* Brown foi maior com o fornecimento de N, mas isso foi verdadeiro apenas para uma cultivar de brócolis suscetível, sem efeito qualquer em cultivar resistente. Mesmo assim, o fornecimento

de N resultou em aumento na produtividade da cultivar suscetível (CANADAY; WYATT, 1992).

Da mesma forma, a severidade da brusone (*Pyricularia grisea* Sacc) do arroz em uma cultivar suscetível foi maior à medida que o fornecimento de N aumentou, apesar disso, a produtividade de grãos também foi maior (CORNÉLIO et al., 2007). No arroz, a infecção pelo *Rice yellow mosaic virus* (RYMV) em cultivares suscetível e moderadamente resistente apresentou níveis de doença superiores em parcelas sem fornecimento de N e menor produtividade de grãos. Em contraste, a adição de N em qualquer nível do fertilizante reduziu a severidade da doença nestas cultivares e aumentou a produtividade de grãos, mas manteve os níveis de doença estáveis em uma cultivar resistente (LOSINDILO, 2015).

Por outro lado, o incremento de N influenciou a produtividade total de batata, mas não reduziu significativamente os danos a produtividade causados pela infecção do *Potato virus Y* (PVY) (WHITWORTH; NOLTE; MCINTOSH, 2006). A mesma situação foi observada em trigo e aveia infectadas pelo *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) (RIEDELL, 1999). Entretanto, os resultados destes autores foram obtidos comparando plantas sadias com inoculadas pelos vírus, ou seja, diferentemente do que ocorre no campo através da infecção natural dos patógenos onde, geralmente, há diferentes níveis de incidência e diferentes momentos de infecção para as plantas, que conduz a níveis variados de severidade na população total. Nesse caso, mesmo que plantas infectadas possam não responder efetivamente a adubação, a população de plantas não afetada pode se beneficiar da maior disponibilidade de N, radiação solar, água e demais recursos para se desenvolver e de alguma forma reduzir os prejuízos causados pela infecção viral (WHITWORTH; NOLTE; MCINTOSH, 2006). Este efeito populacional deve estar associado a resposta produtiva da cultivar suscetível no presente estudo.

Um ponto importante que deve ser levado em consideração é o custo da aplicação de N frente ao seu retorno. Em 2017, no cenário em que a cultivar suscetível foi responsiva ao N (Figura 7A), considerando o preço médio da saca de trigo (60 kg) praticado no RS (R\$ 30,00), o custo do kg de N (R\$ 2,90) e o ganho produtivo na EP1 (8 kg kg⁻¹ N ha⁻¹) obteve-se a receita líquida de R\$ 114,30/ha. Já em 2018, o preço médio da saca de trigo praticado no RS foi maior (R\$ 38,00) que em 2017, entretanto o custo do kg de N também foi mais elevado (R\$ 3,50). Dessa forma, com o ganho produtivo observado de 10 kg kg⁻¹ N ha⁻¹ na EP2, obteve-se a receita líquida de R\$ 300,00/ha. Nas duas situações a utilização do N foi viável economicamente. Mas, no cenário observado na EP2 em 2018, embora o uso do N tenha influenciado a produtividade total com receita líquida positiva em relação ao custo de adubação, considerando todos os custos

de produção apenas houve redução dos prejuízos, uma vez que, a PG foi muito inferior a cultivar resistente.

Note-se que dos quatro cenários (épocas estudadas) a cultivar resistente apresentou-se como melhor opção em três (EP2 2017 e EP1 e EP2 2018) ou, pelo menos apresentou rendimentos superiores a cultivar suscetível. Vários estudos relatam que doenças de etiologia viral possuem alto potencial de dano sobre a produtividade das culturas (RIEDELL, 1999; WHITWORTH; NOLTE; MCINTOSH, 2006) e que estes danos se acentuam de acordo com o nível de suscetibilidade da cultivar (LAU et al., 2017a; 2017b).

Devido à complexidade do patossistema, este trabalho não contou com parcelas livres da doença para que se pudesse verificar a reposta das cultivares ao fornecimento de N e filtrar os efeitos da infecção viral estimando os danos em cada nível de fornecimento de N nas duas cultivares. Entretanto, baseando-se nas diferenças entre as cultivares, evidencia-se que o dano é substancialmente superior na cultivar suscetível e que acima de 30% de incidência o fornecimento de N não produziu um aumento correspondentemente significativo na produtividade. Correlações negativas entre as medidas da doença, PG e características agronômicas confirmam que os efeitos da doença foram maiores na cultivar suscetível independente do fornecimento de N, embora tendências negativas sugerem que em algum nível a infecção pelo WhSMV ocasionou danos na cultivar resistente.

De acordo com os resultados obtidos por Lau et al., (2014a; 2014b; 2016a; 2016b; 2017) em estudos de caracterização da reação de cultivares ao mosaico-comum do trigo, o potencial produtivo da cultivar suscetível em 2018 foi comprometido em mais de 50% comparado a PG da cultivar resistente, independente da resposta das cultivares ao fornecimento de N em cobertura. Vale destacar, que além da reação diferencial das cultivares ao mosaico-comum, elas apresentam diferenças de potencial produtivo (GOMES et al., 1994; SCHEEREN et al., 2007). Nesse caso, hipoteticamente em uma linhagem isogênica da cultivar BRS Guamirim, apenas com um gene de resistência ao mosaico-comum do trigo, as diferenças na PG poderiam ser mais acentuadas, visto esta cultivar expressa maior potencial produtivo (SCHEEREN et al., 2007).

Para uma perspectiva de manejo, um grande desafio da utilização do N para compensar os danos do mosaico-comum é sua natureza esporádica e imprevisível. Como visto, diferentes cenários podem ocorrer a cada ano e mesmo entre semeaduras mais precoces e tardias em um mesmo ano agrícola, tornando difícil adequar esta prática em materiais suscetíveis. Os resultados aqui apresentados sugerem que priorizar o uso de cultivares resistentes em áreas vulneráveis a infecção pelo WhSMV é ainda a melhor opção. O fornecimento de N não foi

capaz de reduzir a intensidade da doença nas cultivares, mas houve mitigação dos danos na cultivar suscetível em dois cenários. No entanto, explorar essa relação positiva entre o fornecimento de N e a mitigação dos danos é complexo e arriscado, uma vez que, é difícil prever o nível de incidência que irá ocorrer em um campo de cultivo devido aos fatores ambientais que exercem influência sobre a infecção do vetor e, consequentemente, sobre a transmissão viral (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003; KÜHNE, 2009).

Em adição, estas considerações baseiam-se em comparativos da resposta de uma cultivar suscetível e outra resistente e, como visto, a resistência/suscetibilidade inerente de ambas conduzem a diferentes níveis de doença que afetam a resposta ao fornecimento de N. Como perspectiva de estudos futuros, deve-se considerar o uso de cultivares que exibem sintomas de mosaico-comum, mas que a infecção não tenha forte efeito no seu desenvolvimento. Algumas cultivares que se enquadram nesta categoria, e que poderiam ser utilizadas em tais estudos, são TEC Vigore e BRS Reponte.

3.7 CONCLUSÕES

O fornecimento de N não altera a ocorrência e intensidade do mosaico-comum do trigo nas cultivares Embrapa 16 e BRS Guamirim.

Com limiar de incidência abaixo de 30% a resposta a adubação e a produtividade total da cultivar suscetível é equivalente a cultivar resistente.

O fornecimento de N influencia a produtividade total da cultivar suscetível, mas não reduz totalmente os danos causados pela infecção viral acima do limiar de 30% de incidência.

A biomassa total e o número de grãos por metro quadrado são as variáveis que mais contribuem para a produtividade de grãos.

A utilização de cultivares resistentes é a estratégia de manejo do mosaico-comum mais segura.

4 CAPÍTULO 2 – EFEITOS DE SISTEMAS DE ROTAÇÃO E SUCESSÃO DE CULTURAS SOBRE O MOSAICO-COMUM DO TRIGO

4.1 RESUMO

O Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) está associado ao mosaico-comum do trigo no Brasil. A transmissão deste vírus está relacionada ao protozoário Polymyxa graminis que pode manter a partícula viral viável por longos períodos no solo em associação com seus esporos de repouso. Apenas a resistência genética tem sido indicada para o manejo desta doença. Outra estratégia de manejo do mosaico-comum do trigo no Brasil que tem sido proposta é a rotação de culturas. Em um experimento de longa duração, estabelecido há 38 anos, que historicamente têm se registrado a presença de mosaico-comum, foram avaliados em dois anos de estudo (2017 e 2018) os efeitos de cinco sistemas de rotação de culturas: S1 (monocultura – trigo/soja), S2 (1 ano de rotação - trigo/soja - aveia-preta/sorgo), S3 (1 ano de rotação - trigo/soja - aveiabranca/soja), S4 (2 anos de rotação – trigo/soja – ervilhaca/sorgo – aveia-branca/soja) e S5 (3 anos de rotação – nabo-trigo/soja – aveia-preta/sorgo – cevada/soja – aveia-preta/feijão) sobre a incidência de mosaico-comum e sobre a produtividade de grãos nas cultivares de trigo BRS Parrudo (resistente), BRS Reponte (moderadamente resistente) e BRS Guamirim (suscetível). Foi utilizando o delineamento em parcelas subdivididas com sistemas em parcelas principais e cultivares em subparcelas. Em 2017 baixos volumes de precipitação pluvial conduziram a valores insignificantes de incidência, impossibilitando estimar os efeitos dos sistemas sobre esta variável. A produtividade das cultivares foi maior no S4 e entre as cultivares BRS Reponte foi a mais produtiva. Na safra 2018, volumes de precipitação pluvial foram maiores e conduziram a valores de incidência significativamente diferentes entre os sistemas de rotação de culturas, sendo os menores valores vistos no S4 e S5 e maiores sob monocultura. Novamente a produtividade entre as cultivares foi maior para BRS Reponte, mas o maior benefício da rotação de culturas foi observado para BRS Parrudo e BRS Guamirim, com incrementos de produtividade na ordem de 80% no S4 e S5 em relação a monocultura. Correlação negativa entre a produtividade de grãos (PG) e incidência para as cultivares BRS Guamirim e BRS Reponte indicam que a doença é determinante nas diferenças entre PG nestas cultivares. Análises moleculares confirmaram a infecção pelo WhSMV nas cultivares. Entre as espécies que compõem os sistemas de rotação de culturas o WhSMV foi detectado apenas nas raízes de cevada, mas não na parte aérea. Espécies alternativas como o centeio e o triticale também foram positivas para a infecção do WhSMV. A rotação de culturas reduz a incidência do mosaicocomum e concomitantemente conduz a incrementos na produtividade de grãos, mas estes efeitos são mais pronunciados em anos favoráveis ao desenvolvimento da doença. Neste trabalho, relata-se pela primeira vez a cevada, centeio e triticale como hospedeiros do WhSMV.

Palavras-chave: Wheat stripe mosaic virus. *Polymyxa graminis*. Controle cultural. Gama de hospedeiros. Produtividade. *Triticum aestivum*.

4.2 INTRODUÇÃO

As doenças de etiologia viral constituem-se como fatores limitantes do potencial produtivo da cultura do trigo no Brasil. O nanismo amarelo da cevada causado pelas espécies *Barley yellow dwarf virus* – *PAV* (BYDV-PAV, *Luteovirus, Luteoviridae*) e *Cereal yellow dwarf virus* – *RPV* (CYDV-RPV, *Polerovirus, Luteoviridae*; CAETANO, 1972; MAR et al., 2013); e o mosaico-comum do trigo causado pelo Wheat stripe mosaic virus (WhSMV, sem gênero, *Benyviridae*; VALENTE et al., 2019) constituem-se como principais viroses e causam danos significativos (LAU, 2014). A etiologia do mosaico-comum do trigo esteve primariamente atribuída ao *Soil-borne wheat mosaic virus* (SBWMV, *Furovirus, Virgaviridae*, CAETANO, 1972), mas o conjunto de evidências (forma da partícula, gama de hospedeiros, forma de transmissão e associação constante com plantas de trigo sintomáticas) sugerem que o WhSMV, recentemente caracterizado, é o agente etiológico da doença (VALENTE et al, 2019).

A epidemiologia e a relação entre vírus-vetor interferem na escolha de medidas de controle para reduzir a incidência de doenças virais em campos de cultivo (DIETZGEN et al., 2016). O controle genético é a alternativa mais eficiente e economicamente viável para redução dos danos causados pelas viroses que infectam o trigo no Brasil (LAU, 2014; LAU et al., 2016a). Para o nanismo amarelo que é transmitido por diferentes espécies de afídeos, a integração de medidas como erradicação de plantas hospedeiras e o controle químico dos afídeos vetores através do tratamento de sementes e pulverização em parte aérea com inseticidas, pode ser eficiente na redução da incidência do nanismo amarelo da cevada (LAU, 2014). Diferentemente, o mosaico-comum do trigo tem sua epidemiologia voltada ao solo, a presença do protozoário *Polymyxa graminis* em raízes de plantas de trigo infectadas pelo WhSMV sugerem que este seja o vetor deste vírus (VALENTE et al., 2019).

Os vírus são parasitas obrigatórios e dependem dos seus hospedeiros vivos para sobreviverem (HULL, 2014). Sobretudo, os vírus transmitidos por *P. graminis* representam um grupo de importância particular (KÜHNE, 2009). A associação característica do vírus com os esporos de repouso do vetor permite que o vírus persista em campos infestados (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003; KÜHNE, 2009). A ausência de medidas de controle eficientes e a ampla gama de hospedeiros relatada para o vetor, ampliam a complexidade deste patossistema (LEGRÉVE et al., 2000; TAMADA; KONDO, 2013).

Práticas de manejo que promovem a supressividade dos solos, como por exemplo, a rotação de culturas, têm efeitos positivos no manejo de patógenos de solo através de vários

mecanismos, incluindo o incremento da diversidade, atividade e população da comunidade microbiana no solo que resulta na supressão de microrganismos patogênicos (LARKIN, 2015). No Brasil, a adoção da rotação de culturas pelos triticultores tem se mostrado eficiente na redução da incidência de várias doenças fúngicas e a redução dos danos por elas causados (SANTOS et al., 1996, 2000).

Embora os mecanismos de resistência das cultivares de trigo brasileiras ao WhSMV ainda precisem ser elucidados, é relatado para outras espécies virais transmitidas por *P. graminis* no mundo que a resistência ocorre nas raízes restringindo a multiplicação e/ou o movimento viral até a parte aérea (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003). Estas informações têm implicações na sequência de espécies cultivadas em um campo infestado. Estudos demonstraram que quando isolados virulíferos do vetor se desenvolveram em raízes de plantas hospedeiras resistentes ao vírus, os zoósporos liberados não continham ou transmitiam o vírus (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003). Nesse caso a rotação de culturas com espécies não suscetíveis ao vírus e ao vetor, poderia ter efeito redutor na população de *P. graminis* virulífera e, assim, impacto positivo na redução da incidência da doença (CHEN; WILSON, 1995).

Nesse contexto, o presente trabalho tem o objetivo de responder quatro perguntas principais: (1) Existem diferenças na incidência e severidade de mosaico entre os sistemas de rotação/sucessão de culturas? Caso existam estas diferenças (2) Quais os reflexos na produtividade de grãos? (3) Quais os principais fatores associados às diferenças? (4) Qual a sequência de culturas que pode ser usada em sistemas de rotação/sucessão e indicada para o manejo do mosaico comum do trigo no Brasil?

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Caracterização do local do experimento

Este estudo foi realizado à campo nos anos de 2017 e 2018, em um experimento de longa duração estabelecido em 1980 na estação experimental da Embrapa Trigo, localizada no município de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil (28°14'12.85" S; 52°24'33.41" O, altitude 661 m). O clima local é classificado como subtropical (Cfa, de acordo com a classificação climática de Köppen), com precipitação média anual de 1.800 mm. As temperaturas médias anuais do ar são de 13,2° C (mínima) e 23,6° C (máxima); e do solo próxima a 19° C. O solo da área experimental é caracterizado como Latossolo Vermelho Distrófico típico, possui boa drenagem, porosidade, coloração vermelho-escura e textura média. Estudos realizados no

passado, relatam a ocorrência da virose denominada mosaico- comum do trigo, bem como, a presença do vetor viral, *P. graminis*, na área deste experimento (REIS et al., 1985; REIS et al., 1991).

4.3.2 Cultivares de trigo

Três cultivares de trigo (BRS Parrudo, BRS Reponte e BRS Guamirim), desenvolvidas pela Embrapa Trigo (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Trigo) foram utilizadas neste estudo. Estas cultivares possuem ciclo precoce (média de 127 – 135 dias da emergência à maturação fisiológica) e potencial produtivo semelhante. O nível de resistência ao mosaico-comum do trigo difere entre as cultivares sendo BRS Parrudo resistente, BRS Reponte moderadamente resistente e BRS Guamirim suscetível (SCHEEREN et al., 2007; 2014a; 2014b).

4.3.3 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi composto por cinco sistemas de rotação de culturas, caracterizados na Tabela 5, com espécies de inverno em rotação de culturas com o trigo e de verão em sucessão com as culturas de inverno. As espécies utilizadas em rotação com o trigo incluíram: cevada (*Hordeum vulgare* L.), aveia preta (*Avena strigosa* L.), aveia branca (*Avena sativa* L.), ervilhaca (*Vicia sativa* L.) e nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.). No verão, as culturas inseridas no sistema foram, soja (*Glycine max* L.), sorgo (*Sorghum bicolor*) e feijão (*Phaseolus vulgaris* L.).

Tabela 6 – Espécies vegetais utilizadas para rotação/sucessão de culturas, sequências e abreviaturas usadas para designar os diferentes sistemas de rotação/sucessão de culturas (tratamentos) estabelecidos em um ensaio de sistemas de cultivo.

Anos do rotaçãol	Cod³	Sistemas de rotação/sucessão de culturas²				
Anos de rotação ¹		inverno/verão	inverno/verão	inverno/verão	inverno/verão	
0	S 1	T/S	T/S	T/S	T/S	
1	S2	AB/S	T/S	AP/So	T/S	
1	S3	AP/So	T/S	AB/S	T/S	
2	S4	T/S	Erv/So	AB/S	T/S	
3	S5	AP/So	Ce/S	AP/Fe	N-T/S	

¹Sequência de anos sem trigo. ²T: trigo; AP: aveia-preta; AB: aveia-branca; Ce: cevada; Erv: ervilhaca; N: nabo forrageiro; S: soja; So: sorgo; Fe: feijão. ³Códigos para cada sistema de rotação/sucessão de culturas. Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Os sistemas com um ano de rotação apresentam a mesma sequência de espécies de inverno/verão, entretanto, a cada ano o experimento conta com parcelas de trigo semeadas posterior ao cultivo de duas gramíneas (AP/So) e posterior à uma gramínea e uma leguminosa (AB/S). As espécies vegetais inseridas nos sistemas de rotação de culturas foram selecionadas, primariamente, de acordo com a adaptação as condições de solo e clima da região, potencial de rendimento econômico para o produtor e devido ao potencial efeito positivo sobre as propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, com o intuito de reduzir os problemas ocasionados por doenças e podridões radiculares que estavam em evidência na época de instalação do experimento.

As parcelas experimentais possuíam área de 120 m² (20 m x 6 m) e foram subdivididas em três subparcelas de 40 m² (20 m x 2 m), em que, foram semeadas as três cultivares de trigo: BRS Parrudo, BRS Reponte e BRS Guamirim. O experimento foi arranjado em blocos completos ao acaso com quatro repetições, com esquemas de rotação/sucessão de culturas nas parcelas principais e cultivares de trigo em subparcelas.

4.3.5 Manejo da Cultura

A semeadura do trigo foi efetuada com auxílio de uma semeadora de parcelas. A densidade de semeadura foi ajustada de acordo com o percentual de germinação de modo a atingir uma população-alvo de aproximadamente 300 plantas/m². O mesmo espaçamento entre linhas (0,17 m) foi utilizado para os três genótipos de trigo. Em 2017, a semeadura do trigo foi efetuada no dia 22 de junho e em 2018 no dia 21 de junho. Em ambos os anos, as sementes foram previamente tratadas com piraclostrobina (0,05 g de i.a. kg-1) +tiofanato metílico (0,45 g de i.a. kg-1) e fipronil (0,5 g de i.a. kg-1). No ano de 2017, para a fertilização de base utilizouse 250 kg ha-1 da fórmula 5-25-25 (N-P-K), totalizando 12,5 kg ha-1 de N e 62,5 kg ha-1 de P₂O₅ e K₂O, respectivamente. Em 2018, consistiu de 250 kg ha-1 da fórmula 10-20-20 (N-P-K), totalizando 25 kg ha-1 de N e 50 kg ha-1 de P₂O₅ e K₂O, respectivamente. Próximo ao estádio de duplo anel (DA), realizou-se a aplicação de 80 kg ha-1 de N na forma de ureia nas parcelas com trigo.

O manejo de plantas daninhas em pré-semeadura foi realizado em dois momentos, inicialmente com a aplicação de glifosato (1,44 kg i.a. ha⁻¹) e novamente após sete dias com a aplicação de paraquat (0,6 kg i.a. ha⁻¹). Posteriormente à emergência das plântulas, herbicidas, fungicidas e inseticidas foram pulverizados, de acordo com as indicações para a cultura do trigo, perante monitoramento do campo experimental, para evitar o efeito de outras pragas.

No esquema com três anos de rotação de culturas (Tabela 5) o nabo forrageiro é semeado logo após a cultura de verão (feijão), para manter a cobertura verde no solo e contribuir com a ciclagem de nutrientes, especialmente o nitrogênio. Aproximadamente duas semanas antes da semeadura do trigo, as parcelas com nabo forrageiro foram manejadas com herbicida (glifosato, 1,44 kg i.a. ha⁻¹).

Dados de temperatura média do solo, temperatura média do ar e precipitação pluvial, foram fornecidos pela Estação Climatológica Principal da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, integrada à rede do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/), durante todo período do experimento.

4.3.6 Determinação da incidência e severidade de mosaico-comum do trigo

Em 2017, a incidência de mosaico-comum foi determinada no estádio 75 (grão-leitoso) da escala de Zadoks et al. (1974). Em virtude da baixa pressão da doença naquele ano, a avaliação foi efetuada pelo caminhamento em cada lado da subparcela por dois avaliadores e realizada a contagem de plantas sintomáticas. Em 2018, a incidência de mosaico-comum foi avaliada no estádio 37 (extremidade da folha bandeira visível) da escala de Zadoks et. al. (1974) em cinco pontos amostrais de cada subparcela. Cada ponto amostral correspondeu a um metro linear onde foi efetuada a contagem do número de plantas sintomáticas. A incidência de mosaico comum foi calculada através da equação: IC (%) = (NPS/NTP)*100 onde: IC (%) representa a incidência; NPS representa o número de plantas sintomáticas e NTP representa o número total de plantas avaliadas. A severidade foi determinada atribuindo-se notas a cada metro linear avaliado com base em uma escala de notas (1 a 5) utilizada pela Embrapa Trigo (LAU et al., 2016), em que cada nota corresponde a 1 = ausência de sintomas de mosaicocomum; 2 = plantas raramente com sintomas, sendo estes pouco evidentes; 3 = plantas frequentemente com sintomas evidentes, sem aparente comprometimento do desenvolvimento; 4 = plantas com sintomas típicos de mosaico, apresentando estrias amareladas nas folhas e colmos, sem redução da estatura e das espigas; e 5 = plantas com sintomas de mosaico nas folhas e nas hastes, com comprometimento do crescimento normal, redução da estatura e do desenvolvimento das espigas.

4.3.7 Detecção molecular do Wheat stripe mosaic vírus (WhSMV) e Polymyxa graminis

4.3.7.1 Preparo das amostras

Plantas sintomáticas das três cultivares foram coletadas da área do experimento em 2018 para efetuar a confirmação do agente causal dos sintomas de mosaico por RT-PCR e a detecção do vetor por PCR convencional. Foi utilizado como material vegetal uma amostra composta por raízes de 10 plantas para cada cultivar. As raízes foram lavadas cuidadosamente em água corrente e desinfestadas em hipoclorito de sódio (2,5% v/v). Com auxílio de almofariz e pistilo, as amostras foram maceradas em nitrogênio líquido e, posteriormente, armazenadas em ultrafreezer (-80 °C) até a extração do material genético.

4.3.7.2 Determinação dos possíveis hospedeiros do WhSMV e P. graminis

Em um experimento adicional, as espécies de inverno utilizadas em rotação de culturas com o trigo no experimento de longa duração, foram semeadas (exceto o nabo), propositalmente, em uma área com histórico de infestação por *P. graminis* e de alta intensidade de ocorrência de mosaico-comum, a fim de determinar quais espécies são naturalmente hospedeiras do vetor e do vírus. A semeadura destas espécies foi propositalmente em uma área com alta quantidade de inóculo, para aumentar as chances de ocorrer a infecção.

Para isso, linhas de 0,5 m de comprimento foram semeadas com aproximadamente 70-80 sementes em duas repetições. Adicionalmente, outras espécies de inverno como centeio (Secale cereale, cv. BRS Serrano); triticale (Triticosecale Wittmack, linhagem PFT 1802); e de verão como o arroz (Oryza sativa, cv. Epagri 109 e cv. SCS 121 CL) foram incluídas. As plantas foram monitoradas periodicamente para observação da ocorrência de sintomas. Aos 90 dias após a emergência (DAE), independente da presença de sintomas, amostras compostas de 10 plantas foram coletadas, separadas em raiz e parte aérea e armazenadas a -80 °C até o processamento. Antes da armazenagem, as raízes foram lavadas em água e desinfestadas em solução com hipoclorito de sódio (2,5% v/v), seguido por triplo enxágue com água destilada estéril. Amostras assintomáticas de plantas de soja (Glycine max) e azevém (Lolium multiflorum) que cresciam espontaneamente na área também foram coletadas. Com auxílio de almofariz e pistilo as amostras foram maceradas em nitrogênio líquido e, posteriormente, armazenadas em ultrafreezer (-80 °C) até a extração do material genético. A detecção do WhSMV foi realizada por RT-PCR em amostras de raiz e parte aérea (folhas e colmos). Amostras de raízes foram utilizadas para detecção de P. graminis por PCR convencional.

4.3.7.3 Extração de RNA e RT-PCR

O RNA total foi extraído de aproximadamente 100 mg de tecido vegetal utilizando o reagente Tri (Sigma Aldrich), de acordo com as especificações do fabricante. Posteriormente, a qualidade do RNA total extraído foi verificada utilizando espectrofotômetro (Nanodrop modelo 2000, Thermo Fisher Scientific Inc). A síntese do DNA complementar (cDNA) foi realizada com o kit ImProm-IITM Reverse Trascription System (Promega), conforme as instruções do fabricante, utilizando ~1 µg do RNA total extraído e o iniciador Oligo dT. O par de iniciadores Beny CP-F (5'- AAG TGT CGC AAG CTT CGC G-3') e Beny CP-R (5'- ATC GCA CCG ACG TAA GAA CT-'3) (VALENTE et al., 2019), foi utilizado para amplificar um fragmento de 641 pb da região codificadora da proteína capsidial do WhSMV. A reação de PCR foi realizada com um volume total de 25 μl contendo: 1μl de cDNA (~ 1 μg), 2,5 μl de tampão de reação 10X, 0,5 µl de dNTPs (10 µM), 0,5 µl de cada iniciador Beny CP-F/ Beny CP-R(10 mM), 0,75 μl de MgCl₂ (25 mM), 0,1 μl da enzima PlatinumTM Taq DNA Polymerase (Invitrogen) e água ultra-pura para completar o volume final da reação. A amplificação foi realizada utilizando um termociclador modelo Veriti 96-Well (Applied Biosystems) em que, inicialmente, a mistura foi desnaturada a 94 °C por 2 minutos, seguindo por 35 ciclos (desnaturação por 2 minutos a 94°C; anelamento por 1 minuto a 54 °C e extensão por 1 minuto a 72 °C) e extensão final por 10 minutos a 72 °C. Uma planta de trigo infectada por WhSMV e uma planta livre de vírus foram utilizadas como controle positivo e negativo da reação de PCR, respectivamente. Os produtos amplificados foram corados com GelRed (Biotium), submetidos a eletroforese em gel de agarose 1%, visualizados sob luz ultravioleta e fotografados após corrida eletroforética a 80 V por uma hora. O marcador molecular DNA ladder 250 pb (Promega) foi utilizado para determinar o tamanho dos fragmentos dos produtos amplificados.

4.3.7.4 Extração de DNA e PCR

O DNA total foi extraído conforme protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987). A qualidade do DNA foi verificada conforme descrito no item anterior. O par de iniciadores Pgfwd2 (5'-GGA AGG ATC ATT AGC GTT GAA T-3') e Pxrev7 (5'-GAG GCA TGC TTC CGA GGG CTC T-3') (WARD; ADAMS, 1998) foi usado para amplificar um fragmento de 270 -330 pb compreendendo a parte do gene nuclear ribossomal 5.8S e a região ITS1 de *P. graminis*. A reação de PCR foi realizada com um volume total de 25 μl contendo: 5 μl de DNA

(~ 1 μg). 2,5 μl de tampão de reação 10X, 0,5 μl de dNTPs (10 μM), 0,5 μl de cada iniciador Pgfwd2/ Pxrev7 (10 mM), 0,75 μl de MgCl₂ (25 mM), 0,1 μl da enzima PlatinumTM *Taq* DNA Polymerase (Invitrogen) e água ultra-pura para completar o volume final da reação. A amplificação foi realizada utilizando um termociclador modelo Veriti 96-Well (Applied Biosystems), de acordo com o protocolo descrito por Tyagi et al. (2016). Uma amostra de raiz infectada por *P. graminis* e uma amostra livre de *P. graminis* foram usadas como controle positivo e negativo da reação de PCR, respectivamente. A análise dos produtos da reação de PCR foi realizada conforme descrito no item anterior.

4.3.11 Índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI)

O método empregado para a quantificação do NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*) segue protocolo do Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo – CIMMYT (PIETRAGLIA: VEJA, 2012). As leituras foram realizadas na safra 2018, no estágio 44 (início do emborrachamento) da escala de Zadoks et al., (1974). Utilizou-se o equipamento GreenSeeker® (NTech) posicionando o leitor óptico a altura de 0,8 m à 1 m em relação à altura do dossel da cultura e, as leituras foram efetuadas por meio do deslocamento sobre as linhas centrais de cada subparcela.

4.3.12 Produtividade de grãos

A colheita das parcelas foi efetuada mecanicamente com colhedora de parcelas Wintersteiger[®]. Após os grãos atingirem a maturação de colheita. Nas duas safras e para cada combinação cultivar + sistema de rotação de culturas foi determinada a produtividade de grãos (PG) e o peso de mil grãos (PMG), ambos corrigidos a 13% de umidade conforme preconizado por Brasil (2009), e o peso médio do hectolitro (PH). A produtividade de grãos colhidos foi estimada em kg ha⁻¹.

4.3.13 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R versão 3.4.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Os dados do número de plantas sintomáticas foram testados para diferenças utilizando um Modelo de Regressão Generalizado com distribuição de Poisson. Os sistemas de rotação de culturas foram considerados efeitos

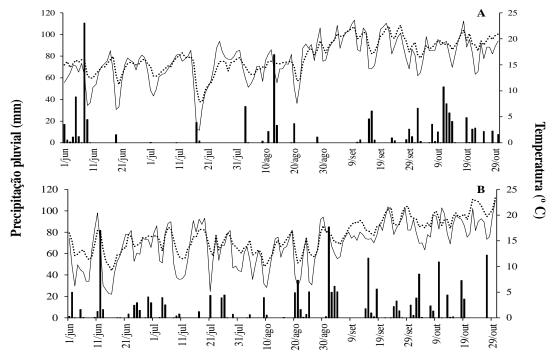
fixos principais e o sistema 1 (monocultura) foi considerado como grupo referência e os outros sistemas foram comparados a ele. As cultivares foram consideradas preditores categóricos da doença e inseridas no modelo para explicar as diferenças entre cv. BRS Parrudo, cv. BRS Reponte e cv. BRS Guamirim para a suscetibilidade ao WhSMV. Outras variáveis de importância experimental como blocos e amostragens foram inseridas no modelo como fatores de efeito aleatório. ANOVA foi utilizada para determinar os efeitos dos sistemas de rotação de culturas e cultivares de trigo sobre o NDVI, PH, PMS e produtividade de grãos. Os dados foram avaliados para normalidade de resíduos e homogeneidade de variâncias e transformações não foram requeridas. As médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey (p<0,05). O coeficiente de correlação entre as variáveis foi determinado através do coeficiente de correlação de Pearson, e a significância do teste mensurada pelo teste t. As análises de variância, teste de médias e correlação foram efetuadas com o pacote estatístico "agricolae" (MENDIBURU, 2017).

4.4 RESULTADOS

4.4.1 Condições meteorológicas

Em ambos os anos, 2017 e 2018, junho foi o mês mais frio em Passo Fundo, com temperatura média do ar em torno de 12,5 °C. A temperatura média do solo (10 cm de profundidade) em junho foi de 14,6 °C em 2017 e 13,6 °C em 2018. Entre o período de junho a outubro, a temperatura média do solo (10 cm de profundidade) mais elevada em 2017 foi 20,2 °C em setembro e em 2018 foi 19,9 °C no mês de outubro (Figura 9).

Figura 9 – Dados meteorológicos de precipitação pluvial (mm), temperatura média do ar (°C) e temperatura do solo (°C) a 10 cm de profundidade diárias, entre os meses de junho a outubro de 2017 (A) e 2018 (B).



Barras representam a precipitação pluvial diária. Linha contínua corresponde a temperatura média diária do ar. Linha pontilhada corresponde a temperatura média do solo (10 cm de profundidade). Fonte: Elaborada pelo autor, 2019, a partir de dados disponíveis no site do Laboratório de Agrometeorologia da

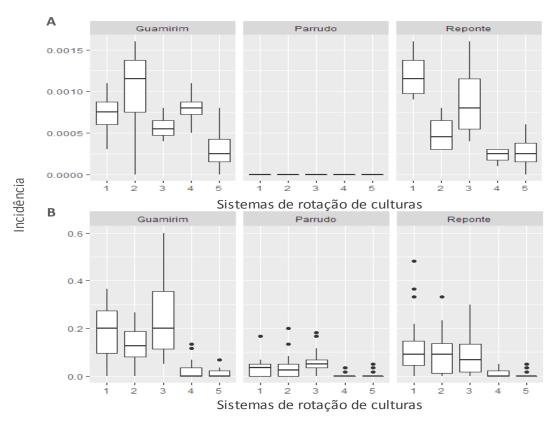
Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS (http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/agromet.php).

Os padrões de precipitação pluvial, ao longo do período entre junho e outubro, foram contrastantes entre os anos de 2017 e 2018. Em 2017, o período entre 11 de junho e 31 de julho (período próximo à semeadura e aos estádios iniciais de desenvolvimento da cultura do trigo) foi marcado por volumes de precipitação pluviais escassos com apenas 29 mm. A partir de agosto os recolhimentos pluviométricos foram mais uniformes, embora, entre 20 de agosto e 9 de setembro novamente as chuvas foram escassas. Em 2018, os volumes de precipitação entre junho e outubro foram maiores do que os observados em 2017. Nos meses de junho, setembro e outubro os volumes acumulados foram 33 (200,5 mm), 54 (305,5 mm) e 108 % (319, 5 mm) acima da média histórica, respectivamente. Nos meses de julho e agosto, desvios negativos de precipitação pluvial de 33 (107,5 mm) e 35% (120,8 mm), respectivamente, foram registrados (Figura 9). As condições ambientais, especialmente os maiores volumes de precipitação pluvial, indicam o ano de 2018 foi mais favorável a ocorrência do mosaico-comum do trigo.

4.4.2 Incidência, severidade e distribuição da doença

A incidência do mosaico-comum foi variável para os dois anos avaliados, para os sistemas de rotação de culturas e entre as cultivares (Figura 10). Não houve significância para qualquer variável preditora do modelo estatístico para o conjunto de dados de 2017 (Tabela 7), possivelmente, devido aos baixos níveis de incidência observados naquele ano que variaram entre zero (BRS Parrudo, em todos os sistemas de rotação de culturas) e 0,12% (BRS Reponte, em monocultura) (Figura 10A). A incidência de mosaico-comum foi maior em 2018 e variou entre zero (BRS Parrudo, 2 anos de rotação) e 61% (BRS Guamirim, 1 ano - AB/S) (Figura 10B). Os sistemas de rotação de culturas explicaram a maior parte da variação do modelo (Tabela 7).

Figura 10 – Distribuição de incidência do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) em monocultura de trigo e em cinco sistemas de rotação de culturas para as cultivares BRS Guamirim, BRS Parrudo e BRS Reponte em dois anos: 2017 (A) e 2018 (B).



Sistemas de rotação de culturas: 1-Monocultura de trigo; 2- Um ano de rotação, após aveia-preta no inverno e sorgo no verão (1 ano - AP/So); 3- Um ano de rotação após aveia-branca no inverno e soja no verão (1 ano - AB/S); 4- Dois anos de rotação; 5- Três anos de rotação. A caixa retangular representa a amplitude interquartílica, sendo o limite inferior da caixa o primeiro quartil, a linha central a mediana e o limite superior o terceiro quartil. As barras correspondem ao limite inferior e superior dos dados. Os pontos fora do limite superior dos dados representam os valores discrepantes ou *outliers*.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Tabela 7 – Análise do modelo linear de Poisson para os preditores da incidência do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV).

	Análise de estimativas de máxima verossimilhança			milhança	
Parâmetro	Estimativa	Erro Padrão	Valor de z	Pr (> z)1
Intercepto - WhSMV 2017	-2.296	1,674	-1,371	0,170	
Bloco 1 - Bloco 2	-0.185	1,841	-0,101	0,920	
Bloco 1 - Bloco 3	0.030	1,741	0,017	0,986	
Bloco 1 - Bloco 4	0.130	1,700	0,076	0,939	
Sistema 1 - Sistema 2	-0.266	1,730	-0,154	0,878	
Sistema 1 - Sistema 3	-0.266	1,730	-0,154	0,878	
Sistema 1 - Sistema 4	-0.630	1,933	-0,326	0,744	
Sistema 1 - Sistema 5	-0.117	2,338	-0,499	0,618	
Cv. Guamirim - Cv. Parrudo	-2.059	1,537	-0,001	0,999	
Cv. Guamirim - Cv. Reponte	-0.092	1,242	-0,074	0,941	
Intercepto - WhSMV 2018	2.732	0,090	30,073	<0,0001	***
Bloco 1 - Bloco 2	0.011	0,076	0,152	0,879	
Bloco 1 - Bloco 3	-0.146	0,079	-0,1855	0,063	
Bloco 1 - Bloco 4	-0.110	0,078	-1,409	0,158	
Sistema 1 - Sistema 2	-0.268	0,072	-3,698	0,00021	***
Sistema 1 - Sistema 3	0.038	0,067	0,569	0,569	
Sistema 1 - Sistema 4	-2.318	0,159	-14,508	<0,0001	***
Sistema 1 - Sistema 5	-2.712	0,191	-14,146	<0,0001	***
Cv. Guamirim - Cv. Parrudo	-1.366	0,083	-16,367	<0,0001	***
Cv. Guamirim - Cv. Reponte	-0.541	0,062	-8,720	<0,0001	***
Amostragem	-0.067	0,019	-3,413	0,00064	***

Significante à ***p = 0.0001.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

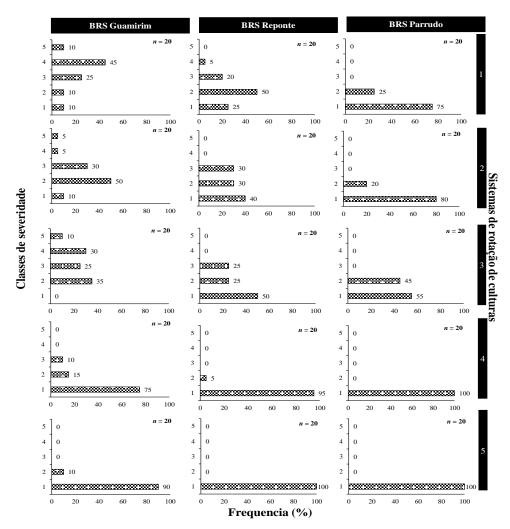
Em relação ao sistema 1 (monocultura), apenas o sistema 3 (1 ano – AB/S) não foi significativamente diferente (e=0,038; p=0,569) desse sistema. Os valores estimados para os demais sistemas foram negativos e indicam que a incidência média de mosaico-comum entre as cultivares foi 23 (e=-0,268; p=0,00021), 90 (e=-2,318; p=<0,0001) e 93% (e=-2,712; p=<0,0001) menor nos sistemas 2 (1 ano – AP/So), 4 (2 anos) e 5 (3 anos), respectivamente, em relação monocultura de trigo (Tabela 6; Figura 10).

'BRS Guamirim', considerada como grupo referência para a variável cultivar, foi um preditor significativo da incidência com maiores níveis de incidência comparada as demais cultivares. A incidência média das cultivares em 2018 foi 12, 7 e 3% para BRS Guamirim, BRS Reponte e BRS Parrudo, respectivamente. A incidência foi 74% menor para BRS Parrudo (e=1,366; p<0,0001) e 42% menor para BRS Reponte (e=-0,541; p<0,0001) em relação à referência BRS Guamirim (Tabela 6; Figura 10B). A distribuição da doença foi uniforme entre os blocos

(o efeito aleatório de bloco não apontou significância). Por outro lado, a variável amostragem inserida no modelo para o conjunto de dados de 2018 foi significativa e indica que existe variação significativa na distribuição da doença dentro de cada unidade experimental.

A severidade de mosaico-comum foi variável de acordo com o sistema de rotação de culturas e a cultivar (Figura 11). A classe de severidade 1 foi predominante em todos os sistemas de rotação de culturas para a cultivar resistente BRS Parrudo e, variou entre 55, no sistema 3, a 100% de frequência, nos sistemas 4 e 5. Para BRS Reponte e BRS Guamirim, a classe de severidade 1 predominou apenas nos sistemas 4 (95 e 75% de frequência, respectivamente) e 5 (100 e 90 % de frequência, respectivamente). Nos sistemas 1, 2 e 3 as classes de severidade com maior frequência para BRS Reponte foram 2 e 3, sendo que, juntas somaram 70, 60 e 50% de frequência, respectivamente. Em monocultura de trigo, a cultivar BRS Guamirim apresentou frequência acumulada de 55% para as classes de severidade 4 e 5, havendo redução para 10% no sistema 2 e, aumentando novamente para 40% no sistema 3. Com o aumento do período de rotação (sem trigo) a severidade de mosaico-comum diminuiu, em maior ou menor nível, de acordo com o nível de resistência da cultivar.

Figura 11 – Distribuição de frequências para as classes de severidade de mosaico-comum observadas em monocultura e quatro sistemas de rotação de culturas e três cultivares de trigo.



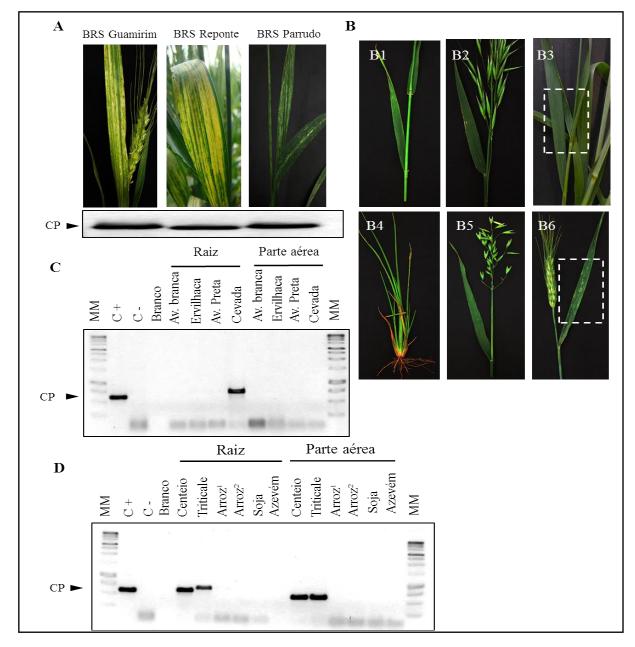
Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

4.4.2 Sintomatologia e detecção do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) e *Polymyxa* graminis em amostras de campo

Entre as cultivares de trigo, sintomas típicos de mosaico, com estrias de coloração amarelada nas cultivares BRS Guamirim e BRS Reponte, e mosaico esbranquiçado na cultivar BRS Parrudo, foram frequentemente observados (Figura 12A). Adicionalmente, plantas da cv. BRS Guamirim severamente infectadas apresentavam porte reduzido e perfilhamento excessivo. O vírus WhSMV foi detectado nas três cultivares de trigo, através da amplificação por RT-PCR do fragmento de 641 pb correspondente a proteína capsidial, confirmando a infecção viral nos três genótipos (Figura 12A).

As espécies de inverno que compõem os sistemas de rotação de cultura com o trigo, semeadas na área com alta pressão de inóculo, não apresentaram qualquer sintoma. Entretanto, o WhSMV foi detectado em tecidos do sistema radicular da cevada, mas não na parte aérea (Figura 12D). As outras espécies testadas não estavam infectadas por WhSMV (Figura 12C e D), indicando não serem hospedeiras desse vírus. Entre as espécies adicionais testadas, o centeio e o triticale apresentaram sintomas da infecção viral (Figura 12B, B3, centeio e B6, triticale). Em centeio, os sintomas foram muito sutis, apenas alguns contrastes entre tons de verde escuro e verde claro nas folhas puderam ser observados (Figura 12B3). Já em triticale sintomas foram mais evidentes, apresentando estrias longitudinais amareladas nas folhas e colmos (Figura 12B6). A infecção pelo WhSMV foi confirmada por RT-PCR para as duas espécies tanto em raiz quanto em parte aérea (Figura 12D). O vetor *P. graminis* foi detectado somente nas raízes de aveia-branca cv. URS Guapa e centeio cv. BRS Serrano (dados não mostrados). A não detecção do vetor não configura na ausência do mesmo, sendo que o seu diagnóstico depende da utilização de raízes que estejam infectadas, o que não é uma tarefa fácil. Além disso, a detecção do vírus suporta a presença do vetor.

Figura 12 – Infecção natural do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) em trigo e em outras espécies cultivadas em solo infestado por *Polymyxa graminis*. A, Sintomas observados nas cultivares de trigo utilizadas no experimento. A caixa abaixo das imagens mostra o perfil eletroforético da reação de RT-PCR para detecção do WhSMV. B, outras espécies de cereais de inverno: cevada cv. BRS Korbel (B1), aveia-preta cv. BRS Neblina (B2), centeio cv. BRS Serrano (B3), arroz cv. Epagri 109 (B4), aveia-branca cv. URS Guapa (B5) e triticale linhagem PFT 1802. Os retângulos pontilhados indicam a presença de sintomas. Perfil eletroforético das reações de RT-PCR para detecção do WhSMV em raiz e parte aérea das espécies presentes nos sistemas de rotação [C] e espécies alternativas [D].



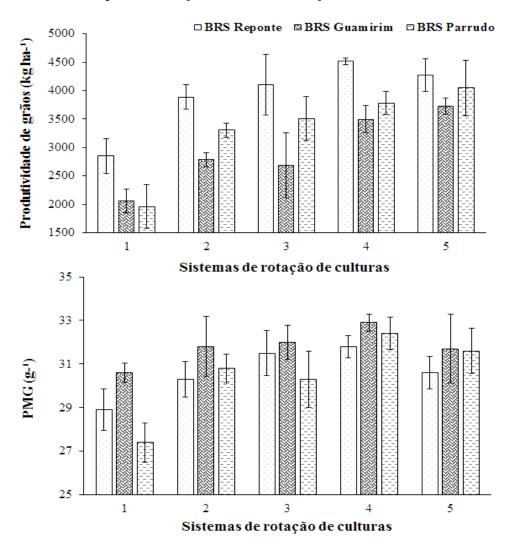
MM, marcador molecular 1Kb. C+, controle positivo da reação de RT-PCR com planta de trigo infectada pelo WhSMV. C-, controle negativo da reação de RT-PCR com uma planta sadia. Branco, controle da reação apenas com água (*RNAse free*). CP, fragmento de ~641 pb referente a proteína capsídial do WhSMV. ¹cv. CS 121 CL. ²Epagri 109

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

4.4.3 Produtividade de grãos, componentes da produtividade e índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI)

Os sistemas de rotação de culturas e cultivares afetaram a produtividade de grãos (PG), o peso de mil grãos (PMG), o peso do hectolítro (PH) e NDVI nos anos 2017 e 2018. Houve efeito significativo da interação sistemas de rotação/sucessão de culturas x cultivares (S x C) para as variáveis PG e PMG em 2018 (Figura 13). Em ambos os anos, a PG foi mais baixa em sistema de monocultura de trigo (S1) e houve incremento significativo na PG com o aumento do período de rotação de culturas, com exceção do S5 em 2017. A magnitude do incremento na PG foi variável de acordo com o ano e, em 2018, diferiu entre cultivares (Tabela 8).

Figura 13 – Valores médios para a produtividade de grãos (PG) e peso de mil grãos (PMG) na safra 2018 para a interação Sistemas de rotação de culturas x cultivares.



Barras de erros indicam o desvio padrão amostral (p = 0.05). Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Tabela 8 – Valores médios da produtividade de grãos (PG), peso de mil grãos (PMG), peso do hectolítro (PH) e índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) de três cultivares de trigo sob cinco sistemas de rotação de rotação de culturas.

Efeitos principais	PG	PMG	PH	NDVI
	(kg ha-1)	(g)	(kg hl-1)	
Safra 2017				
Sistema				
S1 - Monocultura	2566b1	32,0b	77,3a	-
S2 - 1 ano de rotação (AP/So)	2701ab	33,4a	77,1a	-
S3 - 1 ano de rotação (AB/S)	2878ab	32,3ab	76,3a	-
S4 - 2 anos de rotação	3055a	32,6ab	77,9a	-
S5 - 3 anos de rotação	2594b	32,3ab	73,4b	-
Cultivar				
1.BRS Parrudo	2482b	31,44b	74,6c	-
2.BRS Reponte	3362a	32,7a	78,4a	-
3.BRS Guamirim	2434b	33,4a	76,3b	-
Safra 2018				
Sistema				
S1 - Monocultura	2291c	29,0c	76,3a	795b
S2 - 1 ano de rotação (AP/So)	3325b	30,1b	75,6a	800b
S3 - 1 ano de rotação (AB/S)	3434ab	31,3ab	78,4a	818b
S4 - 2 anos de rotação	4018a	32,3a	77,7a	819b
S5 - 3 anos de rotação	3929ab	31,3ab	78,0a	857a
Cultivar				
1.BRS Parrudo	3320b	30,5b	74,8c	823a
2.BRS Reponte	3926a	30,6b	79,4a	818ab
3.BRS Guamirim	2949b	31,8a	77,4b	812b

 1 Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey à p=0.05. Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Na safra 2017, a maior resposta de PG das cultivares ocorreu no S4 com incremento significativo médio de +18% em relação à monocultura (S1, 2566 kg ha⁻¹) e ao S5 (2594 kg ha⁻¹), enquanto os demais sistemas apresentaram incremento de + 12 (S3) e + 5% (S2), mas não diferiram dos demais sistemas (Tabela 8). Em 2018, na média global das cultivares, a PG foi +75 e +71% maior no S4 e S5, respectivamente, quando comparado ao S1 de monocultura de trigo (2291 kg ha⁻¹), uma resposta maior em relação ao S3 (+50%) e S2 (+45%) (Tabela 8).

A cultivar BRS Parrudo apresentou a maior resposta aos sistemas de rotação de culturas quando comparada as cultivares BRS Guamirim e BRS Reponte (Figura 13). Assim, a PG foi +106% para BRS Parrudo, quando o S1 (1961 kg ha⁻¹) e S4 (4046 kg ha⁻¹) foram comparados. A segunda maior resposta foi observada para a cv. BRS Guamirim, em que, incrementos de

+81 e +68% foram observados nos sistemas de rotação S5 e S4, respectivamente, em comparação a monocultura de trigo (2057 kg ha⁻¹) (Figura 13). Para BRS Reponte, a PG não foi significativamente diferente entre os sistemas de rotação de culturas, entretanto, houve diferenças significativas de todos os sistemas em relação à monocultura de trigo (S1), com incremento médio na PG de +46% (Figura 13).

Em ambos os anos, a produtividade da cv. BRS Reponte foi superior a BRS Guamirim e BRS Parrudo, com diferenças de maior magnitude em relação à cv. BRS Guamirim. Em 2017, a PG foi +38 e +35% para BRS Reponte comparado a cv. BRS Guamirim (2434 kg ha⁻¹) e BRS Parrudo (2482 kg ha⁻¹), respectivamente. Em 2018, a diferença entre a PG da cv. BRS Reponte e BRS Parrudo reduziu para 18%, enquanto que para BRS Guamirim a magnitude foi de 33%. Sobretudo, a produtividade média das cvs. BRS Parrudo e BRS Guamirim, não diferiram em ambos os anos (Tabela 8).

O PMG em 2017 teve maiores valores no S2, com +4% (33,4) de incremento em relação a monocultura de trigo (32,0), não havendo diferenças entre os demais sistemas (Tabela 8). Em 2018, a interação entre S x C mostrou valores significativamente maiores no PMG no S1, S2 e S3 para BRS Guamirim, sobretudo, no S4 e S5 esse efeito foi revertido e as cultivares apresentaram valores de PMG similares (Figura 13). Similar a PG em 2018, o PMG foi maior (+ 11%), na média das cultivares, no S4 em comparação ao S1 (29,0 g) (Tabela 8). Seguindo pela cultivar BRS Parrudo, em 2018, o PMG flutuou de 27,5 g (S1) a 32,4 g (S4), um incremento relativamente maior comparado ao BRS Reponte, em que os valores flutuaram de 29,0 g (S1) a 32,7 (S4) e a para BRS Guamirim (30,6 g para S1 e 32,8 g para o S4) (Figura 13).

Para o PH, os sistemas de rotação de culturas tiveram efeito significativo em 2017, mas não em 2018. O sistema com três anos de rotação de culturas (S5), apresentou valores de PH abaixo (-5%) dos demais sistemas de rotação que não apresentaram diferenças significantes entre si. Em 2018, o PH variou de 78,4 (S3) a 76,3 (S1) (Tabela 8). Em ambos os anos, maiores valores de PH foram observados para cv. BRS Reponte, seguido por BRS Guamirim e, finalmente, por BRS Parrudo (Tabela 8). Em relação ao NDVI, entre os sistemas de rotação de culturas há uma tendência de incremento com o aumento do período de rotação de culturas, entretanto, os valores de NDVI no S5 foram significativamente superiores aos demais, com maior magnitude (+7%) em relação a monocultura de trigo (Tabela 8). Na média dos sistemas de rotação de culturas, BRS Parrudo (823) apresentou valores significativamente maiores de BRS Guamirim (812), sobretudo, as duas cultivares não diferiram de BRS Reponte (818) (Tabela 8).

4.4.4 Relação entre a incidência do WhSMV e PG, PMG, PH e NDVI

Em 2017, correlações significativas foram verificadas para a variável PMG, em que, para BRS Reponte, o PMG foi afetado negativamente (-0,51) pela incidência da doença, entretanto, para BRS Guamirim (0,62), houve o efeito contrário (Tabela 9). Não houve correlação significativa entre a incidência da doença e a PG em 2017, entretanto, tendências negativas foram observadas (Tabela 9). Houve forte correlação negativa entre a PG e a incidência da doença na safra 2018 para as cultivares BRS Reponte (-0,67) e BRS Guamirim (-0,65) (Tabela 9). Para BRS Parrudo, relação negativa foi observada entre a PG e PMG e a incidência da doença, embora significativa apenas para a última variável. A incidência de mosaico-comum afetou significantemente os valores de NDVI para as cultivares BRS Parrudo (-0,58) e BRS Guamirim (-0,54), demonstrado pelos coeficientes negativos da análise (Tabela 9).

Tabela 9 – Coeficientes de correlação de Pearson para a relação entre a incidência do Wheat stripe mosaic virus (WhSMV) e produtividade de grãos (PG), peso de mil grãos (PMG), peso hectolítrico (PH) e índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI).

Variáveis	BRS Parrudo	BRS Reponte	BRS Guamirim
Safra 2017			
PG	-	-0,37	-0,18
PMG	-	-0,51*	0,62**
PH	-	0,12	0,26
NDVI	-	-	-
Safra 2018			
PG	-0,21	-0,67**	-0,65**
PMG	-0,44*	-0,40	-0,26
PH	-0,08	-0,14	-0,41
NDVI	-0,58**	-0,43	-0,54*

Significante a: *p = 0.05, **p = 0.001, ***p = 0.0001.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

4.5 DISCUSSÃO

Este trabalho foi realizado em um experimento de longa duração iniciado nos anos 1980 na sede da Embrapa Trigo em uma área que historicamente era cultivada sob dupla monocultura trigo-soja. Neste mesmo experimento, em 1983, pesquisadores encontraram as primeiras evidências do efeito positivo dos sistemas de rotação de culturas sobre a redução a incidência do mosaico-comum do trigo (REIS et al., 1985). Os autores observaram em dois sistemas diferentes com três anos de rotação com a sequência de culturas inverno-verão: colza-soja,

linho-soja, tremoço-milho, trigo-soja e, outro sistema que substituía o linho no segundo ano por cevada, que a intensidade (índice que considera a incidência e severidade) de mosaico-comum foi 70 e 54% inferior em relação a monocultura. Novamente, em 1987 e 1990, pesquisadores encontraram resultados semelhantes, com menores níveis da doença sob rotação de culturas por três anos (REIS et al., 1991). Nos anos estudados, os autores citam que a intensidade da doença esteve associada a volumes de precipitação pluvial acima da média (+300 mm entre junho e julho), o que condicionou o encharcamento do solo por períodos prolongados na fase inicial do desenvolvimento do trigo. Os autores não citaram hipóteses para explicar o efeito da rotação de culturas sobre a redução na intensidade de mosaico-comum.

De acordo com os relatórios históricos do experimento (dados não publicados), adicionalmente aos anos supracitados, apenas 1984 houve registro da incidência de mosaicocomum nas parcelas do experimento, embora não tenha sido mensurada. Coincidentemente, no mês de julho e agosto daquele ano, o volume de precipitação acumulado ultrapassou 200 mm nos dois meses. No período entre 1991 e 2016, de acordo com os dados do Laboratório de Agrometeorologia da Embrapa Trigo (2018), em pelo menos 14 anos, volumes de precipitação pluvial acima da média histórica foram registrados em junho ou julho. Embora os registros de produtividade de grãos de trigo não estejam disponíveis em cada um dos anos, impossibilitando uma análise histórica mais apurada, baseando-se nos resultados de Reis e seus colaboradores (1985; 1991) e nas condições conducentes a ocorrência da doença em alguns dos anos deste período, tem-se a hipótese que as diferenças de incidência da doença e produtividade de grãos poderiam ter sido consideráveis entre os sistemas de rotação de culturas. Em 2011, novamente registros informais de plantas da cultivar BRS Guamirim com sintomas de mosaico-comum no experimento foram realizados (Elisson Pauletti, comunicação pessoal). Os volumes de precipitação pluvial registrados em junho (226 mm) e julho (340 mm) foram extremamente elevados em 2011.

No presente estudo, as condições meteorológicas logo após a semeadura do trigo em 2018 (temperatura do solo e elevada precipitação pluvial) foram mais conducentes para o desenvolvimento da doença do que em 2017 (Figura 9), causando assim, maiores níveis de incidência. Vale destacar que os efeitos de sistemas de rotação de culturas sobre a incidência de doenças são frequentemente mais pronunciados em anos de intensa e frequente precipitação pluvial (SANTOS et al., 1996). De acordo com um modelo de previsão para o SBWMV, o potencial matricial e a temperatura do solo explicam a maior variação na transmissão viral por *P. graminis* (CADLE-DAVIDSON; BERGSTROM, 2004). Os autores citam que a umidade do solo próxima à capacidade de campo (- 20 KPa) e temperatura do solo entre 8 e 20 °C favorecem

a atividade do vetor, sendo que, a temperatura ótima requerida é 15 °C e, ainda, um período de 24 horas logo após a emergência das plântulas com condições favoráveis é suficiente para a infecção.

Os resultados observados em 2018 mostram que a incidência de mosaico-comum do trigo é significativamente inferior após um período de três anos de rotação (S5) com uma sequência inverno/verão de aveia-preta/sorgo – cevada/soja – aveia-preta/feijão – trigo/soja, corroborando com os resultados obtidos por Reis et al. (1985; 1991) no mesmo experimento. Além disso, este trabalho mostrou que o sistema com dois anos sem trigo (S4) também se apresentou como eficaz na redução da incidência da doença com a sequência inverno/verão: ervilhaca/sorgo – aveia-branca/soja – trigo/soja. Somado a isso, este trabalho fornece evidências que diferentes espécies podem ser utilizadas em um esquema de rotação/sucessão de culturas para redução da incidência de mosaico-comum, uma vez que, nos estudos realizados por REIS et al. (1985; 1991), as espécies que compunham os sistemas de rotação/sucessão de culturas eram, além da soja e da cevada, linho, colza, tremoço e milho. Outro estudo também encontrou que a infecção das espécies *Barley yellow mosaic virus* e *Barley mild mosaic virus* (transmitidas por *P. graminis*) em cevada foi consistentemente inferior sob um sistema com período de três anos de rotação com diferentes espécies em relação à monocultura (RUBIES-AUTONELL et al., 1995).

Uma das explicações para a redução da incidência de mosaico-comum nos sistemas com dois e três anos de rotação de culturas, parece estar relacionada com as espécies hospedeiras do WhSMV e a população virulífera de *P. graminis*. Estudos têm relatado que quando isolados virulíferos de *P. graminis* colonizam raízes de plantas não hospedeiras, ocorre a multiplicação do vetor, porém, sem a presença da partícula viral que impossibilita a transmissão viral quando os zoósporos liberados infectam novas plantas (KANYUKA; WARD; ADAMS, 2003). Um estudo na França verificou que o cultivo de cultivares resistentes por um período de oito anos em solo infestado por SBWMV reduziu a significativamente a incidência da doença em comparação ao cultivo contínuo de uma cultivar suscetível (GITTON et al., 1995). Dessa forma, o cultivo de espécies resistentes ou não hospedeiras pode reduzir ou impossibilitar a multiplicação viral e aumentar a população de *P. graminis* livre de vírus.

Entre as espécies em rotação com o trigo no presente trabalho, apenas a cevada (cv. BRS Korbel) apresentou resultado positivo para infecção pelo WhSMV e encontra-se inserida no sistema com três anos sem trigo. A cevada foi um hospedeiro assintomático, sendo que a detecção do vírus foi possível somente no sistema radicular e, por esse motivo, tem-se a hipótese que a multiplicação viral poder ter sido limitada não havendo incremento significativo

do inóculo. Ainda, a cultura seguinte do sistema (aveia-preta) pode ter um efeito compensatório, uma vez que, não foi confirmada como hospedeira do WhSMV. O WhSMV foi detectado nas três cultivares de trigo, no entanto, mais estudos são necessários para suportar a hipótese que o nível de resistência pode restringir a multiplicação do vírus em cultivares brasileiras e contribuir para a redução do inóculo. Entre as espécies alternativas, resultados positivos de RT-PCR para o WhSMV em centeio (cv. BRS Serrano) e triticale (linhagem PFT 1802), em adição a cevada, confirmam o primeiro relato destas espécies como hospedeiras do WhSMV. No centeio e no triticale a detecção do vírus ocorreu, tanto nas raízes, quanto na parte aérea, estes resultados indicam que estas espécies não são alternativas viáveis para um sistema de rotação de culturas objetivando a redução da incidência de mosaico-comum, embora, estudos com outras cultivares devem ser realizados.

Neste estudo, o vetor foi detectado apenas em aveia-branca (cv. URS Guapa) e em centeio (cv. BRS Serrano). Dalbosco et al., (2002) detectaram a presença de esporos de *P. graminis* em trigo, cevada e triticale, mas não em aveia-branca, aveia-preta, milhã (*Digitaria* sp.) e papuã (*Brachiaria* sp.). Os autores citaram que sintomas de mosaico-comum foram frequentes em trigo e triticale, e sugeriram que em cevada a presença do vetor, mas a ausência de sintomas poderia estar relacionada a resistência da espécie. O presente trabalho sugere que para o WhSMV ocorre algum tipo de resistência na translocação do vírus para a parte aérea, uma vez que, a infecção na raiz foi positiva, mas não na parte aérea.

Polymyxa graminis também é relatado infectando arroz (Oryza sativa L.), centeio (Secale cereale L.), sorgo (Sorghum bicolor (L.) Moench), milheto (Pennisetum glaucum (L.) R. Br.), milho (Zea mays L.), triticale (Triticum secale Wittmack) e o trigo (ADAMS; JACQUIER, 1994; LEGRÉVE et al., 2000). Outras espécies de gramíneas sem importância econômica como Agropyron repens (L.) Beauv., Bromus inermis Leyss., Bromus tectorurn L. e Hordeum jubatum L. são relatadas como hospedeiras de P. graminis (BARR, 1979). Estudos adicionais para verificar se estas espécies são potenciais hospedeiras do WhSMV devem ser realizados.

Em 2017 a PG, PMG e PH foram afetadas pelos sistemas de rotação de culturas e cultivares, entretanto, esse efeito não esteve correlacionado com o mosaico-comum do trigo, uma vez que, a incidência em 2017 foi insignificante. Dessa forma, sugere-se que as diferenças estão relacionadas com variações intrínsecas entre sistemas e cultivares. Na safra 2018, todas as variáveis foram afetadas pelos sistemas de rotação de culturas e cultivares. A PG foi inferior sob monocultura (S1) para todas as cultivares e aumentou com o passar dos anos sem trigo, atingindo maiores valores com dois (S4) e três (S5) anos sem trigo. Somado a isso, a incidência

de mosaico-comum que apresentou valores maiores sob monocultura (S1) e um ano de rotação (S2 e S3) foi negativamente correlacionada com a PG de BRS Guamirim e BRS Reponte, mas não significativamente com BRS Parrudo. Estas evidências indicam que danos à produtividade de grãos foram determinadas em parte pela ocorrência de mosaico- comum (REIS et al., 1985, 1991). Outros estudos também citam que com o aumento do período sem a cultura alvo ocorrem reduções significativas na incidência de doenças e aumento na produtividade (SANTOS et al., 2000, 1996; WRIGHT; FALLOON; HEDDERLEY, 2017).

Esperava-se, de acordo com a redução da incidência com dois (S4) e três (S5) anos de rotação, que a cultivar suscetível (BRS Guamirim) apresentasse o maior retorno produtivo com o maior período sem trigo. Entretanto, o maior retorno foi observado para a cultivar resistente (BRS Parrudo). BRS Reponte teve o menor retorno produtivo com o aumento do período sem trigo em relação à monocultura, mas foi a mais produtiva nos dois anos de estudo, uma vez que, mantém níveis regulares de produtividade mesmo na presença da doença (LAU et al., 2017). O PMG foi inferior sob monocultura nos dois anos e maior para BRS Guamirim que naturalmente possui elevado PMG (SCHEREEN et al., 2007). Similar ao presente estudo o efeito dos sistemas de rotação sobre o PH varia entre safras, não apresentando uma consistência (SANTOS et al., 1996).

Os resultados de dois anos de ensaio descritos neste trabalham representam o ponto atual de um sistema estabelecido há quase 40 anos. As informações historicamente obtidas indicam que nessa área, desde do início do estabelecimento do ensaio, ocorria mosaico-comum. Não é possível precisar a sua distribuição. A partir de um relato epidemiológico do ano de 1983, extremamente favorável a transmissão do vírus, evidencia-se que havia quantidade de inóculo suficiente para comprometer a produção de trigo em quase 90% e que quando os anos eram favoráveis, essa doença era um dos principais fatores afetando a produtividade. Também já em 1983 evidenciavam-se as diferenças significativas entre os sistemas de rotação.

Se os sistemas de rotação tiveram um efeito cumulativo (progressivo), ou se as diferenças entre os sistemas se estabilizaram em algum momento é difícil precisar. Com o presente trabalho não se pode responder com certeza quantos anos após estabelecido um sistema de rotação, há uma redução significativa da doença. Também é difícil precisar qual é o efeito da fator mosaico-comum e qual é o efeito de outros fatores oriundos dos sistemas de rotação sobre a produtividade. O fato é que as mensurações precisas feitas neste trabalho estão de acordo com as observações de que há diferença na incidência de mosaico nos diferentes sistemas de rotação, sendo que a incidência diminui à medida que o tempo de rotação sem trigo aumenta. Outro ponto: em anos mais favoráveis ao mosaico-comum do trigo, as diferenças de

produtividade entre os sistemas de rotação se acentuam o que sugere que esse fator tenha efeito significativo.

4.6 CONCLUSÕES

A rotação de culturas com dois e três anos utilizando espécies de inverno como aveiapreta, aveia-branca e ervilhaca foi eficiente na redução da incidência de mosaico-comum nas cultivares de trigo.

A produtividade de grãos das cultivares aumentou à medida que o período sem trigo foi maior.

A produtividade de grãos esteve negativamente associada com a incidência de mosaicocomum nas cultivares BRS Reponte e BRS Guamirim.

As diferenças na incidência e produtividade de grãos das cultivares entre os sistemas se acentuam em anos mais favoráveis a ocorrência de mosaico-comum do trigo.

Centeio, triticale e cevada são hospedeiros do Wheat stripe mosaic virus, não sendo indicadas para comporem sistemas de rotação de culturas para manejo do mosaico-comum do trigo.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho abordou a utilização de práticas culturais como a adubação nitrogenada e rotação de culturas como alternativa para redução da incidência e dos danos causados pelo mosaico-comum do trigo.

O manejo da adubação nitrogenada na cultura do trigo possui papel crucial para alcançar altas produtividades de grãos. Associado a isso, é crescente a demanda por estudos que demonstrem o papel dos nutrientes sobre o desenvolvimento de doenças, uma vez que, o manejo da adubação pode reduzir os impactos negativos dos patógenos sobre a produtividade das culturas. São raros os trabalhos que demonstram os mecanismos pelos quais os nutrientes afetam o desenvolvimento de doenças de etiologia viral. Este trabalho demonstrou que o fornecimento de nitrogênio não alterou a ocorrência do mosaico-comum do trigo tanto em uma cultivar suscetível quanto na resistente, mas foi capaz de mitigar os danos à produtividade da cultivar suscetível até um limiar de incidência. É importante verificar em trabalhos futuros, se os resultados observados neste trabalho se consolidam utilizando outros materiais genéticos, especialmente materiais moderadamente resistentes. Além disso, diferentes fontes e formas de nitrogênio poderiam ter diferentes efeitos sobre esta doença.

A rotação de culturas, uma prática cultural imprescindível para a sustentabilidade dos sistemas agrícolas, mostrou-se eficiente na redução da incidência do mosaico-comum do trigo e no aumento da produtividade de grãos. Esses resultados foram observados em um experimento pré-estabelecido hà 38 anos. Nesse sentido, novos estudos devem buscar verificar se estes efeitos se confirmam quando a rotação de culturas é recém estabelecida como prática de manejo do mosaico-comum. Além disso, quantificar a população do vetor nos diferentes sistemas de manejo permitiria inferir o tempo pelo qual sua população poderia ser reduzida com a utilização da rotação de culturas. Conhecer possíveis plantas hospedeiras do vírus também é fundamental para o planejamento adequado e eficiente de um sistema de rotação para manejo do mosaico-comum e deve ser mais explorado abrangendo mais cultivares/espécies cultivadas ou daninhas.

6 REFERÊNCIAS

AALTO, S. L.; DECAESTECKER, E.; PULKKINEN, K. A three-way perspective of stoichiometric changes on host–parasite interactions. **Trends in Parasitology**, v. 31, n. 7, p. 333–340, 1 jul. 2015.

ABAWI, G. S.; WIDMER, T. L. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. v. 15, p. 37–47, 2000.

ABRÃO, J. J. R.; CANAL, I.N. Adubação e calagem na cultura do linho (*Linun usitatissimum* L.). In: FECOTRIGO (Cruz Alta, RS). **Contribuição do Centro de Experimentação e Pesquisa a I Reunião Estadual da Pesquisa e Assistência Técnica do linho.** Cruz Alta, 1982. p. 19-44.

ÁDÁM, A. et al. Effect of nitrogen nutrition on the concentration of viruses, phospholipids and galactolipids of barley leaves infected with barley stripe mosaic virus (BSMV). **Annals of Applied Biology**, v. 110, n. 2, p. 313–319, 1987.

ADAMS, M. J.; JACQUIER, C. Infection of cereals and grasses by isolates of Polymyxa graminis (Plasmodiophorales). **Annals of Applied Biology**, v. 125, n. 1, p. 53–60, 1994. AGRIOS, N.G. **Plant Pathology**. 5^a ed., Elsevier-Academic Press, p. 635, 2005.

ARENHARDT, E. G. et al. The nitrogen supply in wheat cultivation dependent on weather conditions and succession system in southern Brazil. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 48, p. 4322–4330, 2015.

BAIN, R. A. et al. Effect of nitrogen on interactions between ryegrass mosaic virus (RMV) and Lolium species in mixed swards. **Annals of Applied Biology**, v. 132, n. 2, p. 313–324, 1998.

BARBOSA, M. M. et al. Genetic control of resistance to soilborne wheat mosaic virus in Brazilian cultivars of *Triticum aestivum* L. Thell. **Euphytica**, v. 122, n. 2, p. 417–422, 2001.

BARR, D. J. S. Morphology and host range of *Polymyxa graminis*, *Polymyxa betae*, and *Ligniera pilorum* from Ontario and some other areas. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 1, n. 2, p. 85–94, 1979.

BASTIN, V. .; BOUTE, C. .; MARAITE, H. lnoculum potential and host range of *Polymyxa graminis*. **Bulletin OEPP/EPPO**, v. 19, p. 541–546, 1989.

BECK, M. A.; LEVANDER, O. A. Host Nutritional Status and Its Effect on a Viral Pathogen. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 182, n. s1, p. S93–S96, set. 2000.

BENNETT, L. T. et al. Agriculture, Ecosystems and Environment Examining links between soil management, soil health, and public benefits in agricultural landscapes: An Australian perspective. "Agriculture, Ecosystems and Environment", v. 139, n. 1–2, p. 1–12, 2010.

BERTOL, I. et al. A. Propriedades físicas do solo sob preparo convencional e semeadura direta em rotação e sucessão de culturas, comparadas às do campo nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 1, p. 155-163, 2004.

BHADURI, D.; RAKSHIT, R.; CHAKRABORTY, K. Primary and secondary nutrients-a boon to defense system against plant diseases. **International Journal of Bio-resource and Stress Management**, v. 5, n. 3, p. 461–466, 2014.

BRAGARD, C. et al. Status and Prospects of Plant Virus Control Through Interference with Vector Transmission. **Annual Review of Phytopathology**, v. 51, n. 1, p. 177-201, 2013.

BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 365–372, 2000.

BRENNAN, R. F. Effect of superphosphate and nitrogen on yield and take-all of wheat. **Fertilizer Research**, v. 31, n. 1, p. 43–49, 1992.

CADLE-DAVIDSON, L. et al. Identification of small grains genotypes resistant to soilborne wheat mosaic virus. **Plant Disease**, v. 90, n. 8, p. 1039–1044, 2006.

CADLE-DAVIDSON, L.; BERGSTROM, G. C. The effects of postplanting environment on the incidence of soilborne viral diseases in winter cereals. **Phytopathology**, v. 94, n. 5, p. 527–534, maio 2004.

CAETANO, V. R. **O impacto das doenças do trigo transmitidas por vetores**. Correio Agrícola v. 1, p. 16–19, 1998.

CAETANO, V. R. Mosaico do trigo transmitido pelo solo "wheat soilborne mosaic virus" Tobamovirus. In: OSÓRIO, E. A. (Ed.). **Trigo no Brasil.** Campinas: Fundação Cargill, v.2, 1982. p.563-570.

CAETANO, V. R; KITAJIMA, E. W.; COSTA, A. S. Ocorrência e estudos eletronomicroscópicos do vírus do mosaico do trigo, transmitido pelo solo, no estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 3, p. 39-46, 1978.

CAETANO, V. R. Estudo sobre o vírus do nanismo amarelo da cevada, em trigo, no Rio Grande do Sul. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1972.

CAETANO, V.R., PIEROBOM, C.R., LUZZARDI, C.G. & PRESTES, A.M. Mosaico do trigo começa a causar problema. Indicação da Pesquisa XIII. Inst. **Pesq. Agropec. Sul**, DNPEA, Minist. Agric. (mimeog.). 2 p. 1971.

CANADAY, C. H.; WYATT, J. E. Effects of Nitrogen Fertilization on Bacterial Soft Rot in Two Broccoli Cultivars, One Resistant and One Susceptible to the Disease. **Plant Disease**, v. 76, n. 10, p. 989–991, 1992.

CARDOSO, E. J. B. N. et al. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? **Scientia Agricola**, v. 70, n. 4, p. 274–289, 2013.

CARMINATTI, A. J.; MAR, T. B.; LAU, D.; BIANCHIN, V.; PEREIRA, P. R. V. D. S. **Avaliação de métodos para diagnose de vírus que causam mosaico em trigo no Brasil.** VII Mostra de Iniciação Científica da Embrapa Trigo: Documentos online 133 2011.

CHEN, J.; WILSON, T. Taxonomy of rigid rod-shaped viruses transmitted by fungi. **Agronomie. EDP Sciences**, v. 15, p. 421–426, 1995.

CHIBA, S. et al. Identification of amino acids of the beet necrotic yellow vein virus p25 protein required for induction of the resistance response in leaves of Beta vulgaris plants. **Journal of General Virology**, v. 89, n. 5, p. 1314–1323, 2008.

CHIBA, S. et al. The Benyvirus RNA Silencing Suppressor Is Essential for Long-Distance Movement, Requires Both Zinc-Finger and NoLS Basic Residues but Not a Nucleolar Localization for Its Silencing-Suppression Activity. **Molecular Plant-Microbe Interactions MPMI**, v. 26, n. 2, p. 168–181, 2013.

CORNÉLIO, V. M. D. O. et al. Efeito de doses e épocas de aplicação de nitrogênio na incidência de doenças, produção e qualidade sanitária das sementes de arroz. **Ciências agrotec.**, v. 31, n. 1, p. 47–52, 2007.

COX, T. S.; SHROYER, J. P.; BEM-HUI, L.; SEARS, R. G.; MARTIN, T. J. Genetic improvement in agronomic traits of hard red winter wheat cultivars from 1919 to 1987. **Crop Science**, Madison, v. 28, n. 5, p. 756-760, 1988.

CURL, E. A. Control of plant diseases by crop rotation. **The botanical review**, v. 29, n. 4, p. 413–479, 1963.

D'ALONZO, M. et al. Beet soil-borne mosaic virus RNA-4 encodes a 32 kDa protein involved in symptom expression and in virus transmission through Polymyxa betae. **Virology**, v. 423, p. 187–194, 2012.

DALBOSCO, M.; SCHONS, J.; PRESTES, A. M. Incidência e índice de doença do mosaico do trigo em cereais de inverno e em gramíneas de verão, associados ao Polymyxa graminis. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 48–52, 2002.

DE CATERINA, R.; MADONNA, R. Nutrients and gene expression. In: SIMOPOULOS, A.P.; ORDOVAS, J.M.(Eds). Nutrigenetics and nutrigenomics. **World Review of Nutrition and Dietetics**. v. 93, p. 99–133, 2005.

DE SOUZA, R. et al. Atividade isoenzimática em plantas detrigo infectadas com o vírus SBWMV. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 40, n. 9, p. 845–852, 2005.

DEVADAS, R. et al. Effect of stripe rust on the yield response of wheat to nitrogen. **The Crop Journal**, v. 2, n. 4, p. 201–206, 2014.

DIETZGEN, R. G.; MANN, K. S.; JOHNSON, K. N. Plant virus—insect vector interactions: current and potential future research directions. **Viruses**, v. 8, n. 11, p. 303, 2016.

DORDAS, C. Review article role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. **Agron. Sustain. Dev.**, v. 28, p. 33–46, 2008.

DOYLE, J.J.; DOYLE J.L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical bulletin**. Irvine, v.19, p.11–15, 1987.

DRISKEL, B. A. et al. Soilborne wheat mosaic virus movement protein and RNA and Wheat spindle streak mosaic virus coat protein accumulate inside resting rpores of their vector, *Polymyxa graminis*. v. 17, n. 7, p. 739–748, 2004.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portuguese). R package version 1.2.0. 2018. https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt

FLOBINUS, A. et al. A viral noncoding RNA complements a weakened viral rna silencing suppressor and promotes efficient systemic host infection. **Viruses**, v. 8, n. 10, p. 1–12, 2016.

FLOBINUS, A. et al. Beet necrotic yellow vein virus noncoding RNA production depends on a $5'\rightarrow 3'$ Xrn exoribonuclease activity. **Viruses**, v. 10, n. 3, p. 1–20, 2018.

FLORENTÍN, M. A. et al. Green manure / cover crops and crop rotation in Conservation Agriculture on small farms. Rome: FAO, 2010. v. 12.

GARCÍA-ARENAL, F.; FRAILE, A.; MALPICA, J. M. Variability and genetic structure of plant virus populations. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, n. 1, p. 157–186, set. 2001.

GENT, DAVID H; SCHWARTZ, H. F. Effect of Nitrogen Fertilization and seed contamination on epiphytic populations of Xanthomonas axonopodis pv. allii and development of Xanthomonas leaf blight of onion plant health progress plant health progress. **Plant Management Network**, v. 6, n. 1, 2005.

GILMER, D.; RATTI, C.; ICTV Report Consortium, ICTV Virus Taxonomy Profile : *Benyviridae*. **Journal of General Virology**, v. 98, p. 1571–1572, 2017.

GITTON, F.; DUCROT, O.; LOCHIN, S.; DIDELOT, D. Studies on the various factors influencing the occurrence of wheat mosaic diseases with an emphasis on the vector *Polymyxa graminis*. **Agronomie**, EDP Sciences, v. 15, n. 7/8, p. 512-513, 1995.

GOMES, E. P. et al. EMBRAPA 16: uma nova opção para os triticultores do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 1994. 14 p. (Embrapa-CNPT. Documentos, 18)

HEIDEL, G. B. et al. Characteristics of Beet soilborne mosaic virus, a furo-like virus infecting sugar beet. **Plant Disease**, v. 81, n. 9, p. 1070–1076, 1997.

HIMMEL, P. T. et al. Effects of soil water status on infection of soft red winter wheat by soilborne wheat mosaic virus. **Canadiam Journal of Plant Pathology**, v. 14, n. 2, p. 147–151, 1992.

HOLMES, E. C. The Evolutionary Genetics of Emerging Viruses. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 40, n. 1, p. 353–372, dez. 2009.

HOPKINS, B. G. et al. Cropping sequence and rotation impact on potato production and soil condition. Idaho Potato Conference. Anais...2004

HORNBY, D. Suppressive Soils. **Annual Review of Phytopathology**, v. 21, n. 1, p. 65–85, 1983.

HUBER, D. M.; HANEKLAUS, S. Managing nutrition to control plant disease. **Landbauforsch Volkenrode**, v. 4, n. 57, p. 313–322, 2007.

HUBER, D. M.; WATSON, R. D. Nitrogen form and plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, v. 12, n. 9, p. 139–165, 1974.

HULL, R. Matthews" Plant Virology. 5 ed. New York. Academic Press, 2014.

KANYUKA, K. et al. A controlled environment test for resistance to Soil-borne cereal mosaic virus (SBCMV) and its use to determine the mode of inheritance of resistance in wheat cv. Cadenza and for screening *Triticum monococcum* genotypes for sources of SBCMV resistance. **Plant Pathology**, v. 53, n. 2, p. 154–160, 2004.

KANYUKA, K.; WARD, E.; ADAMS, M. J. *Polymyxa graminis* and the cereal viruses it transmits: A research challenge. **Molecular Plant Pathology**, v. 4, n. 5, p. 393–406, 2003.

KAPLAN, R. C.; BERGMAN, E. L. Virus infection and nutrient elemental content of the host plant: A review. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 16, n. 5, p. 439–465, 1985.

KENNEDY, A. C.; STUBBS, T. L. Soil microbial communities as indicators of soil health. **Annals of Arid Zone**, v. 45, n. 3–4, p. 287–308, 2006.

KOEHLER, B.; BEVER, W. M.; BENNETT, O. T. Soil-borne wheat mosaic. Bull. 556 Ill. **Agric. Exp**. p. 566-599, 1952.

KOMMEDAHL, T. Interaction of nitrogen use and plant disease control. In: **Nitrogen in Crop Production**. Minnesota: University of Minnesota, 1984. p. 461–472.

KONDO, H. et al. Characterization of burdock mottle virus, a novel member of the genus Benyvirus, and the identification of benyvirus-related sequences in the plant and insect genomes. **Virus Research**, v. 177, p. 75–86, 2013.

KRUPINSKI, J. M. et al. Managing plant disease risk in diversified cropping systems. **Agronomy Journal**, v. 94, n. 2, p. 198–209, 2002.

KÜHNE, T. Soil-borne viruses affecting cereals-known for long but still a threat. **Virus Research**, v. 141, n. 2, p. 174–183, 2009.

LACROIX, C.; SEABLOOM, E. W.; BORER, E. T. Environmental nutrient supply alters prevalence and weakens competitive interactions among coinfecting viruses. **New Phytologist**, v. 204, n. 2, p. 424–433, 2014.

LACROIX, C.; SEABLOOM, E. W.; BORER, E. T. Environmental nutrient supply directly alters plant traits but indirectly determines virus growth rate. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. NOV, p. 1–16, 2017.

LARKIN, R. P. Soil health paradigms and implications for disease management. **Annual Review of Phytopathology**, v. 53, n. 1, p. 199–221, 2015.

LARKIN, R. P.; HONEYCUTT, C. W. Effects of different 3-year cropping systems on soil microbial communities and Rhizoctonia diseases of potato. **Phytopathology**, v. 96, p. 68–79, 2006.

LAU, D.; PEREIRA, P. R. V. da S.; CASTRO, R. L. de; STEMPKOWSKI, L. A. **Ensaio estadual de cultivares de trigo do Rio Grande do Sul 2016 - reação ao mosaico comum.** In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 11.; FÓRUM NACIONAL DE TRIGO, 2017, Cascavel. Resumos expandidos... Cascavel: Coodetec, 2017a. p. 216-220.

LAU, D.; PEREIRA, P. R. V. da S.; CASTRO, R. L. de; STEMPKOWSKI, L. A. Ensaio estadual de cultivares de trigo do Rio Grande do Sul 2016 - reação ao BYDV-PAV. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 11.; FÓRUM NACIONAL DE TRIGO, 2017, Cascavel. Resumos expandidos... Cascavel: Coodetec, 2017b. p. 211-215.

LAU, D.; PEREIRA, P. R. V. da S.; CASTRO, R. L. de. Sinal amarelo. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 17, n. 206, p. 36-39, jul. 2016a.

LAU, D.; PEREIRA, P. R. V. da S.; CASTRO, R. L. de **Reação cultivares de trigo ao mosaico comum - EECT/RS-2015**. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 10., 2016, Londrina. Anais... Londrina: Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 2016b. 5 p. 1 CD-ROM.

LAU, D. Trigo: viroses no ataque. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, v. 15, n. 185, p. 32-36, out. 2014.

LAU, D.; PEREIRA, P. R. V. da S.; CASTRO, R. L. de **Ensaio estadual de cultivares de trigo do Rio Grande do Sul 2014 - reação ao mosaico comum**. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 8.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 9., 2014, Canela; REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 9.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 10., 2015, Passo Fundo. Anais... Passo Fundo: Biotrigo Genética: Embrapa Trigo, 2014a.

LAU, D.; PEREIRA, P. R. V. da S.; CASTRO, R. L. de **Ensaio estadual de cultivares de trigo do Rio Grande do Sul 2013 - reação ao mosaico comum**. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 8.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 9., 2014, Canela; REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 9.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 10., 2015, Passo Fundo. Anais... Passo Fundo: Biotrigo Genética: Embrapa Trigo, 2014b.

LAUFER, M. et al. Biological properties of Beet soil-borne mosaic virus and Beet necrotic yellow vein virus cDNA clones produced by isothermal in vitro recombination: Insights for reassortant appearance. **Virology**, v. 518, n. January, p. 25–33, 2018.

LEDINGHAM, G. A. Studies on *Polymyxa graminis*, n. Gen. N. Sp., a plasmodiophoraceous root parasite of wheat. **Canadian Journal of Research**. Ottawa, v. 17, p. 40-51,1939.

LEGRÉVE, A. et al. Host range of tropical and sub-tropical isolates of *Polymyxa graminis*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 4, n. 106, p. 379–389, 2000.

LEGRÉVE, A.; DELFOSSE, P.; MARAITE, H. Phylogenetic analysis of *Polymyxa* species based on nuclear 5 n 8S and internal transcribed spacers ribosomal DNA sequences. **Mycological Research**, v. 106, n. 2, p. 138–147, 2002.

LI, H.; HU, B.; CHU, C. Nitrogen use efficiency in crops: lessons from Arabidopsis and rice. **Journal of Experimental Botany**, v. 68, n. 10, p. 2477–2488, 2017.

LOSINDILO, M. Effect of nitrogen fertilizers on development of *Rice yellow mottle virus* (RYMV) and yield of rice (*Oriza sativa* L.). 2015. Dissertation (Master in Crop Science) – University of Agriculture, Morogoro, Tanzania, 2015.

LOZANO, I.; MORALES, F. Molecular characterisation of *Rice stripe necrosis virus* as a new species of the genus *Benyvirus*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 124, n. 4, p. 673–680, 2009.

MACIEL, J. L. N. et al. Ocorrência do vírus *Rice stripe necrosis virus* em lavouras de arroz do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 6, p. 209, 2006.

MARSCHNER, M. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 3rd Editio ed. [s.l.] Academic Press, 2012.

MAR, T. B.; LAU, D.; SCHONS, J.; LAU, E. Y.; NHANI JUNIOR, A. Molecular identification based on coat protein sequences of the *Barley yellow dwarf virus* from Brazil. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 70, n. 6, p. 428-434, 2013.

MENDIBURU, F. de. agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.2-8. 2017. https://CRAN.R-project.org/package=agricolae.

MILLER, Z. J. et al. Effects of soil nitrogen and atmospheric carbon dioxide on *Wheat streak mosaic virus* and its vector (*Aceria tosichella* Kiefer). **Plant Disease**, v. 99, n. 12, p. 1803–1807, 2015.

McDONALD, B. A.; LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, v. 124, n. 2, p. 163-180, 2002.

McKINNEY, H.H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, p.195-217, 1923.

McKINNEY, H.H. A mosaic disease of winter wheat and winter rye. U.S. **Dept. Agric. Bull**. v. 1361, p. 10, 1925.

MUKHERJEE, A.K.; MOHAPATRA, N.K.; SURIYA RAO, A.V.; NAYAK, P. Effect of nitrogen fertilization on the expression of slow–blasting resistance in rice. **J Agr Sci**, v. 93 p.143-385, 2005.

MYERS, L. D. et al. Temperature-influenced virus movement of resistance do Soil borne wheat mosaic virus in hard red winter wheat (*Triticum aestivum*). **Phytopathology**, v. 83, p. 548–551, 1993.

NERSON, H.; SYBONY, M.; PINTHUS, M. J. A scale for assessment of the developmental stages of the wheat (*Triticum aestivum* L.) spike. **Ann. Bot**., v. 45, p. 203-204, 1980.

NEUHAUSER, S.; KIRCHMAIR, M.; GLEASON, F. H. The ecological potentials of Phytomyxea ("" plasmodiophorids") in aquatic food webs. **Hydrobiologia**, v. 659, n. 1, p. 23–35, 2011.

NEUMANN, S. et al. Nitrogen per unit leaf area affects the upper asymptote of *Puccinia striiformis* f . sp . *tritici* epidemics in winter wheat. **Plant Pathology**, v. 53, n. 6, p. 725–732, 2004.

PENNAZIO, S; ROGGERO, P. Mineral nutrition and systemic virus infections in plants. **Phytopathol. Mediterr**, v. 36, p. 54-66, 1997.

PIEROBOM, C.R.; LUZZARDI, G.C.; CAETANO, V.R. Ocorrência de *Polymyxa graminis* Led. em trigo no Rio Grandedo Sul. Res. 5° Cong. Soc. Bras. Fitopatologia (Fortaleza). 1972.

PIETRAGALLA, J.; VEJA, A. M. **Normalized difference vegetation index**. In: PASK, A.; PIETRAGALLA, J.; MULLAN, D.; REYNOLDS, M. H. (Eds.) Physiological Breeding II: a field guide to wheat phenotyping. Mexico: CIMMYT, 2012. p. 37-40.

PRANDO, A. M. et al. Características produtivas do trigo em função de fontes e doses de nitrogênio. **Agropec. Trop**, v. 43, n. 1, p. 34–41, 2013.

PRESTES, A.M. et al. Levantamento da ocorrência de mosaico do trigo no Rio Grande do Sul em 1971. Res. 5º Cong. Soc, Bras. Fitopatologia (Fortaleza). 1972.

RAO, A.S.; BRAKKE, M.K. Relation of soil-borne wheat mosaic virus and its fungal vector, *Polymyxa graminis*. **Phytopathology**, v. 59, p. 581-587, 1969.

RATTI, C. et al. Beet soil-borne mosaic virus RNA-3 is replicated and encapsidated in the presence of BNYVV RNA-1 and -2 and allows long distance movement in *Beta macrocarpa*. **Virology**, v. 385, p. 392–399, 2009.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/. 2018.

REID, L. M.; ZHU, X.; MA, B. L. Crop rotation and nitrogen effects on maize susceptibility to gibberella (*Fusarium graminearum*) ear rot. **Plant and Soil**, v. 237, n. 1, p. 1–14, 2001.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BIANCHIN, V. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 3, p. 85–91, set. 2011.

REIS, E. M.; SANTOS, H. P. dos; LHAMBY, J. C. B. Efeito de rotação de culturas no controle de podridões radiculares, de mosaico comum e no rendimento de grãos de trigo, no período de 1983 a 1990, em Passo Fundo, RS. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 16., 1991, Dourados. Resumos... Dourados: EMBRAPA-UEPAE Dourados, 1991. p. 95.

REIS, E. M.; SANTOS, H.P. dos.; PERREIRA, L.R. Rotação de culturas IV: Efeitos sobre o mosaico e doenças radiculares do trigo em 1983. **Fitopatologia Brasileira**, v. 10, p. 637-642, 1985.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 11., 2018, Cascavel. **Informações técnicas para trigo e triticale - safra 2018.** Cascavel: Comissão de Pesquisa de Trigo e Triticale. 2018. 258 p.

REZENDE, J. A. M. et al. First Report of *Beet necrotic yellow vein virus* on Red Table Beet in Brazil. **Plant Disease**, v. 99, n. 3, p. 423–423, 13 mar. 2015.

RODRIGUES, O. et al. Fifty years of wheat breeding in Southern Brazil: Yield improvement and associated changes. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 6, p. 817–825, 2007.

RIEDELL, W. E. Nutrient solution nitrogen form and *Barley yellow dwarf virus disease* tolerance in oat and wheat. **Journal of Plant Nutrition**, v. 22, n. 10, p. 1577–1587, 1999.

ROOSSINCK, M. J.; MARTIN, D. P.; ROUMAGNAC, P. Plant Virus Metagenomics: Advances in Virus Discovery. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 716–727, 2015.

ROSSI, E. S. et al. Agronomics characterites of wheat cultivars in response to urea treaded with urease inhibitor in coverage. **Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science**, v. 6, n. 3, p. 39–46, 2013.

RUBIES-AUTONELL, C.; TODERI, G.; MARENGHI, A.; VALLEGA, V. Effects of soil tillage and crop rotation on BaYMV and BaMMV mixed infection. **Agronomie**, EDP Sciences, v. 15, n. 7/8, p. 511, 1995.

RUSSEL, E.W. **Soil conditions and plant growth**. 9.ed. New York: John Willey & Sons, 1961. 688p.

SALGADO, J. D.; LINDSEY, L. E.; PAUL, P. A. Effects of row spacing and nitrogen rate on wheat grain yield and profitability as influenced by diseases. **Plant Disease**, v. 101, n. 12, p. 1998–2011, 2017.

SANGOI, L. et al. Características agronômicas de cultivares de trigo em resposta à época da adubação nitrogenada de cobertura. **Ciência Rural**, v. 37, n. 6, p. 1564–1570, 2007.

SANTOS, H. P. DOS; REIS, E. M. **Rotação de culturas em plantio direto**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. 212 p.

SANTOS, H. P. DOS et al. Efeito de manejos de solo e de rotação de culturas de inverno no rendimento e doenças de trigo. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 35, n. 12, p. 2355–2361, 2000.

SANTOS, H. P. DOS. et al. Efeito da rotação de culturas sobre o trigo em sistema plantio direto em Guarapuava, PR. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 259–267, 1996.

SCHEEREN, P. L. et al. BRS Guamirim: cultivar de trigo da classe pão, precoce e de baixa estatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 42, n. 2, p. 293-296, 2007.

SCHEEREN, P. L. et al. **BRS Reponte: cultivar de trigo de alta produtividade e ampla adaptação**. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 8.; SEMINÁRIO TÉCNICO DE TRIGO, 9., 2014, Canela. Desafios para o trigo brasileiro: construindo uma nova identidade: anais. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2014a. 6 p.

SCHEEREN, P. L. et al. BRS: parrudo. Arista, Embrapa Trigo, n. 1. p. 5-7, 2014b.

SCHONS, J.; OLIVEIRA, C.; TOLEDO, K. G. Primeiro relato do Wheat spindle streak mosaic virus em plantas de trigo no Brasil. CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA. Bento Gonçalvez: Tropical Plant Pathology. 36 2011.

SCHUMANN, A. W.; VASHISTH, T.; SPANN, T. M. Mineral Nutrition Contributes to Plant Disease and Pest Resistance. [s.l: s.n.]. Disponível em: http://edis.ifas.ufl.edu.. Acesso em: 29 dez. 2018.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The Effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, v. 77, n. 8, p. 1051–1056, 1977.

SMITH, V. Host resource supplies influence the dynamics and outcome of infectious disease. **Integrative and Comparative Biology**, v. 47, n. 2, p. 310–316, 2007.

SMITH, V. H. Nutrient supply differentially alters the dynamics of co-infecting phytoviruses. **The New phytologist**, v. 204, n. 2, p. 265–7, 2014.

SMITH, V. H.; JONES, T. P.; SMITH, M. S. Host nutrition and infectious disease: An ecological view. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 3, n. 5, p. 268–274, 2005.

STERNER, R.; ELSER, J. J. Ecological Stoichiometry: The Biology of Elements from Molecules to the Biosphere. Princeton: Princeton University Press, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 5. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954 p.

TAMADA, T. et al. RNA 3 Deletion mutants of *Beet necrotic yellow vein virus* do not cause rhizomania disease in sugar beets. **Phytopathology**, v. 89, n. 11, p. 1000–1006, 1999.

TAMADA, T.; KONDO, H. Biological and genetic diversity of plasmodiophorid-transmitted viruses and their vectors. **J Gen Plant Pathol**, v. 79, n. 5, p. 307–320, 2013.

TAMADA, T.; KUSUME, T. Evidence that the 75K readthrough protein of beet necrotic yellow vein virus RNA-2 is essential for transmission by the fungus *Polymyxa betae*. **Journal of General Virology**, v. 72, n. 7, p. 1497–1504, 1991.

TORMENA, C. A. et al. Propriedades físicas e taxa de estratificação de carbono orgânico num Latossolo Vermelho após dez anos sob dois sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 28, n. 6, p. 1023-1031, 2004.

TYAGI, S. et al. The Development of simple methods for the maintenance and quantification of *Polymyxa graminis*. **Indian Journal of Microbiology**, v. 56, n. 4, p. 482–490, 2016.

VALENTE, J. B. et al. A novel putative member of the family *Benyviridae* is associated with soilborne wheat mosaic disease in Brazil. **Plant Pathology**, v. 68, n. 3, p. 588–600, 2019.

VAN DER HEIJDEN, M. G. A.; BARDGETT, R. D.; VAN STRAALEN, N. M. . The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. **Ecology Letters**, v. 11, n. 3, p. 296–310, 2008.

VERESOGLOU, S. D. et al. Fertilization affects severity of disease caused by fungal plant pathogens. **Plant Pathology**, v. 62, n. 5, p. 961–969, 2013.

VREDE, K. et al. Elemental composition (C, N, P) and cell volume of exponentially growing and nutrient-limited bacterioplankton. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 68, n. 6, p. 2965–71, 2002.

WAHBI, S. et al. Impact of wheat/faba bean mixed cropping or rotation systems on soil microbial functionalities. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. September, p. 1–9, 2016.

WARD, E. et al. The use of conventional and quantitative real-time PCR assays for. **New Phytologist**, p. 875–885, 2004.

WARD, E.; ADAMS, M. J. Analysis of ribosomal DNA sequences of Polymyxa species and related fungi and the development of genus- and species-specific PCR primers. **Mycological Research**, v. 102, n. 8, p. 965–974, 1998.

WHITAKER, B. K.; RÚA, M. A.; MITCHELL, C. E. Viral pathogen production in a wild grass host driven by host growth and soil nitrogen. **New Phytologist**, v. 207, n. 3, p. 760–768, 2015.

WHITWORTH, J.; NOLTE, P.; MCINTOSH, C. Effect of *Potato virus Y* on yield of three potato cultivars grown under different nitrogen levels. **Plant Disease**, v. 90, n. 1, p. 73–76, 2006.

WRIGHT, P. J.; FALLOON, R. E.; HEDDERLEY, D. A long-term vegetable crop rotation study to determine effects on soil microbial communities and soilborne diseases of potato and onion. **Crop and Horticultural Science**, v. 45, n. 1, p. 29–54, 2017.

YILMAZ, N. D. K. et al. Distribution of resistance-breaking isolates of beet necrotic yellow vein virus differing in virulence in sugar beet fields in Turkey. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v. 68, n. 6, p. 546–554, 2018.

YILMAZ, N. D. K.; ARLI-SOKMEN, M.; KAYA, R. p25 pathogenicity factor deletion mutants of *Beet necrotic yellow vein virus* occurring in sugar beet fields in Turkey. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 125, n. 1, p. 89–98, 2018.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages ofcereals. **Weed Research**, Oxford, v. 14, p. 415-421, 1974.

7 APÊNDICE

Apêndice A – Quadrados médios da incidência de parcela (IC Plot), índice de doença na antese (ID AT), peso de mil grãos (PMG), índice de colheita (IC), número de espigas/m² (EM), número de grãos por espiga (GE), número de grãos/m² (GM) e biomassa total (BIO) de cultivares de trigo sob quatro níveis de fertilização nitrogenada em duas épocas de semeadura distintas em 2017.

Fonte de variação	Gl	Quadrados médios								
		IC Plot	ID AT	PMG	IC	EM	GE	GM	BIO	
		(%)	(%)	(g - 1)	(%)				(kg ha-1)	
Época 1										
Bloco	2	1,4	194,4	0,29	38,4	822	3,0	458266	195837	
Cultivar (C)	1	51,0*	1895,4*	18,51*	315,2	77650**	169,2	2631188	9033571	
Erro A	2	1,5	187,0	0,19	18,7	738	11,8	1238487	530817	
Nitrogênio (N)	3	1,8	169,6	0,33	12,6	4560	15,0	5949291**	2944667*	
C x N	3	0,7	171,0	2,83*	2,4	4481	0,3	1762210	762789	
Erro B	12	1,6	397,5	0,69	5,1	3109	6,3	783048	588220	
Total	23									
Época 2										
Bloco	2	4,5	1,04	1,8	25,6	3526	8,5	1161773	355785	
Cultivar (C)	1	66,3*	25,0*	115,8*	3,4	35108	41,0	38001210*	7543836**	
Erro A	2	3,3	0,48	1,6	10,3	2201	5,1	579612	44256	
Nitrogênio (N)	3	1,2	0,92	0,9	10,5	4629	8,5	4798014**	3454044**	
C x N	3	0,51	0,16	2,3	23,9	2594	12,8*	924648	94652	
Erro B	12	0,92	0,50	2,2	6,2	3042	3,3	552237	244973	
Total	23									

Significante à: *p = 0.05, **p = 0.001, ***p = 0.0001.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.

Apêndice B - Quadrados médios da incidência de parcela (IC Plot), índice de doença no estágio de duplo-anel (ID DA), índice de doença no estágio de espigueta terminal (ID ET), índice de doença no estágio de antese (ID AT), peso de mil grãos (PMG), índice de colheita (IC), número de espigas/m² (EM), número de grãos por espiga (GE), número de grãos/m² (GM) e biomassa total (BIO) de cultivares de trigo sob quatro níveis de fertilização nitrogenada em duas épocas de semeadura distintas em 2018.

Fonte de variação	Gl	Quadrados médios									
		IC Plot	ID DA	ID ET	ID AT	PMG	IC	EM	GE	GM	BIO
		(%)	(%)			(g - 1)	(%)				(kg ha-1)
Época 1											
Bloco	2	0,089	0,5259*	21,4	0,2870*	5,091	37,590	95	27,43	2452166	790473
Cultivar (C)	1	48,726*	10,4015**	13235,2**	26,0731***	44,119*	273,531	70730	594,85*	180767900**	75436089**
Erro A	2	2,062	0,0126	86,3	0,0141	0,448	27,312	15085	21,89	814057	202303
Nitrogênio (N)	3	0,486	0,1738	29,2	0,5221	9,659	82,756*	2446	6,85	425114	468194
C x N	3	0,204	0,0747	286,4	0,2457	3,480	26,450	3746	26,32	2307587	352618
Erro B	12	0,230	0,1420	129,4	0,1985	3,642	16,265	3023	9,81	871470	356029
Total	23										
Época 2											
Bloco	2	0,2059	1,22	19,1	0,1321*	0,6107	10,643	5437	12,154	232505	94572
Cultivar (C)	1	13,1694**	423,72*	5401,3**	14,9603***	25,0513*	45,713	128791**	130,430*	133635906**	50905997***
Erro A	2	0,0203	7,48	52,9	0,0049	0,6677	19,498	391	2,556	804693	50270
Nitrogênio (N)	3	0,1527	36,95	16,5	0,2527	13,0979**	7,598	3059	18,049	8208702***	7450070***
CxN	3	0,2496	53,44	55,2	0,2496	10,4218*	18,955*	2132	2,822	343990	436342
Erro B	12	0,0814	21,68	59,6	0,1200	2,1591	4,669	1480	5,808	545777	221016
Total	23										

Significante à: *p = 0.05, **p = 0.001, ***p = 0.0001.

Fonte: Elaborada pelo autor, 2019.