

## EXPRESSÃO HISTOQUÍMICA TEMPORAL DE CULTIVARES DE TRIGO DE DISTINTA REAÇÃO À FERRUGEM-DA-FOLHA

Data de aceite: 16/03/2020

### Vitória Floss da Veiga

Curso de Ciências Biológicas, Universidade de Passo Fundo – RS. Bolsista Pibic CNPq/Embrapa Trigo.

### Mariana Biff

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo - RS. Bolsista Apoio Técnico CNPq/Embrapa Trigo.

### Sandra Patussi Brammer

Pesquisadora, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS.

**RESUMO:** A ferrugem-da-folha, causada pelo fungo *Puccinia triticina*, é uma doença importante para a triticultura do Sul do Brasil. Nesse contexto, buscamos compreender através de análises histoquímicas, a expressão temporal das cultivares de trigo Toropi (resistente) e IAC 13-Lorena (suscetível) à ferrugem-da-folha. A análise foi realizada na folha bandeira e na fase de espigamento das plantas, sendo determinados quatro tempos pré e após as inoculações do patógeno: 0, 24, 48 e 72 horas. Os compostos histoquímicos utilizados e a relação com as estruturas histológicas e resposta da planta foram: fluroglucina

(ligninas), Sudan III (lipídeos totais), cloreto férrico (compostos fenólicos) e cloreto de alumínio (flavonoides). Para cada cultivar foram avaliadas oito repetições, sendo que os cortes histológicos foram analisados em microscopia óptica e de fluorescência. As análises foram comparativas frente aos tempos de inoculações de cada cultivar e por síntese dos compostos, através dos seguintes critérios: (=) igual/semelhante, (\*) fraco, (\*\*) médio, (\*\*\*) forte. Os resultados obtidos evidenciaram a presença e intensidades diferenciadas para os compostos histoquímicos em ambas as cultivares: para as ligninas, apenas Toropi mostrou-se diferenciado nas 72h; para Sudan III a cultivar IAC 13-Lorena se mostrou mais evidenciada nas 24 e 48 h; para fenóis, Toropi evidenciou maior intensidade nas 48 e 72h; flavonoides ambas as cultivares tiveram intensidades expressivas nas 24 e 48h. Diante do que já foi evidenciado serão necessários novos estudos, com outros intervalos pós-inoculação, para maior compreensão da expressão temporal frente à resistência/suscetibilidade à ferrugem-da-folha.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Triticum aestivum*, *Puccinia triticina*; Ligninas; Lipídios; Flavonoides; Fenóis.

## TEMPORAL HISTOCHEMICAL EXPRESSION OF WHEAT CULTIVARS WITH DISTINCT REACTION OF LEAF RUST

**ABSTRACT:** Leaf rust, caused by the fungus *Puccinia triticina*, is an important disease for the triticulture of southern Brazil. In this context, we seek to understand through histochemical analysis the temporal expression of Toropi (resistant) and IAC 13-Lorena (susceptible) wheat cultivars to leaf rust. The analysis was performed at the planting stage. Four times were determined for leaf collection, before and after inoculation of the pathogen: 0, 24, 48, 72 hours. The histochemical compounds used and the relationship with the histological structures and response of the plant were: fluroglucin (lignins), Sudan III (total lipids), ferric chloride (phenolic compounds) and aluminum chloride (flavonoids). For each cultivar, eight replicates were evaluated, and the histochemical sections were analyzed by light microscopy and fluorescence. The analyzes were comparative to the reaction time of each cultivar and by histochemical compound and through the following criteria: (=) equal / similar, (\*) weak, (\*\*) medium, (\*\*\*) strong. The results obtained evidenced the presence of the histochemical compounds in the histochemical composition of the leaves. The results obtained evidenced the presence and differentiated intensities for histochemical compounds in both cultivars: for lignins, only Toropi was differentiated in 72h; for Sudan III the cultivar IAC 13-Lorena, was more evidenced in the 24 and 48 h; for phenols, Toropi showed greater intensity in 48 and 72h; flavonoids, both cultivars had expressive intensities at 24 and 48h. In the light of what has already been demonstrated, new studies with other post-inoculation schedules will be necessary for a better understanding of the temporal expression in relation to resistance/susceptibility to leaf rust.

**KEYWORDS:** *Triticum aestivum*, *Puccinia triticina*; Lignins; Lipids; Flavonoids; Phenolic compound.

### 1 | INTRODUÇÃO

A ferrugem-da-folha no trigo é ocasionada pelo basidiomiceto *Puccinia triticina* Erikss. Parasita obrigatório exige que o hospedeiro permaneça vivo em razão de desenvolver seu ciclo de vida. Sendo classificado como biotrófico, devido ao mecanismo que utiliza para retirar os nutrientes de células vivas do hospedeiro (Niks, 1990). Em condições de temperatura e umidade propícias, os propágulos do patógeno se disseminam através das correntes de ar, contaminando toda a lavoura. O contato com os uredósporos do fungo, que se instalam e ocupam as regiões intercelulares, chegam até o mesofilo e ocasionam a síntese e acúmulo pronunciado de metabolitos secundários. Essa patologia interfere negativamente na qualidade do grão e na produtividade final da cultura de trigo, sendo considerada uma das doenças foliares mais destrutivas do trigo no mundo (Chamam et al., 2013).

A interação planta-patógeno é a divergência entre o hospedeiro e o patógeno, onde ambos reagem para preservar sua subsistência, em que as células vegetais irão utilizar de metabolitos secundários, que são produzidos constitutivamente, e se aglomeram no meio intracelular e são armazenados de forma segura em compartimentos celulares (Singh et al., 2011).

A cultivar Toropi, lançada em 1965, vem mantendo a resistência por mais de 50 anos, sob as condições de elevada pressão de inóculo. Apresenta Resistência de Planta Adulta (RPA), a qual é tipicamente não específica à raça e caracterizada pelo fenótipo suscetível. O progresso da infecção é lento, atingindo uma proporção muito baixa da área foliar desde as primeiras folhas até a folha bandeira (Wesp-Guterres et al., 2013). Em contrapartida, IAC 13-Lorena, cultivar lançada no Brasil em 1977, foi desenvolvida no Instituto Agrônomo de Campinas. É altamente suscetível às principais raças do fungo *P. triticina*.

No entanto, ainda não está totalmente elucidado os tempos e como ocorrem as expressões mais significativas dos genes de resistência/suscetibilidade à doença. Como estratégia para a compreensão da ativação de tais genes, pode-se analisar e determinar componentes histoquímicos associados à resistência e suscetibilidade à ferrugem-da-folha. A histoquímica consiste na determinação da natureza das substâncias químicas presentes nos tecidos e da sua localização. Dentre estes destacam-se os compostos, Sudan III, para indicar a presença de lipídios totais; floroglucina em HCL a 20%, para ligninas; cloreto férrico 10%, para compostos fenólicos e cloreto de alumínio, para flavonoides.

O objetivo do estudo foi quantificar os metabolismos secundários envolvidos na defesa das plantas de trigo, frente à ferrugem-da-folha, e avaliar, por meio de análises de microscopia, as distintas estruturas celulares após a interação *P. triticina*-Toropi e *P. triticina*-IAC 13-Lorena em diferentes momentos pré e pós-inoculação.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Embrapa Trigo, localizada na latitude de 28° 15' 46"S, na longitude 52° 24'24"W e altitude de 684 m, na cidade de Passo Fundo, Rio Grande do Sul. As cultivares Toropi, IAC 13-Lorena e Morocco (controle de suscetibilidade) foram semeadas em baldes plásticos com capacidade de 8 kg, contendo solo de mato, substrato Macplant® Horta 01 e vermiculita (proporção 1:1:1). A densidade da semeadura foi de sete sementes por balde com três repetições. As plantas foram mantidas em câmara de crescimento específicas até o estágio 10.1, conforme a escala de Large (1954). As condições ambientais foram 14 horas de luz e 10 horas de escuro, com 80% de umidade relativa e 20 °C de temperatura.

No Laboratório de Ferrugens, multiplicou-se, inicialmente, os inóculos das raças B60 (nomenclatura americana: TFK RP), B59 (MFT MT), B57 (TFT MT), B55 (MFT MT) e B34 (MCK RS) de *P. triticina*, que serviram de material biológico para as inoculações e avaliações fitopatológicas. Para esta etapa foram usadas plantas de trigo da cultivar BRS Umbu, por ser a cultivar padrão para a obtenção de inóculo. Nas coletas, utilizou-se um aparelho de ar comprimido, a qual foram aspiradas todas as pústulas, sendo os esporos mantidos em frascos bem vedados na geladeira e devidamente identificados, até o momento do uso.

As inoculações foram realizadas na folha bandeira da espiga principal e seguiram os protocolos estabelecidos pelo Laboratório das Ferrugens. Com o auxílio do equipamento de ar comprimido, foram aspergidos os esporos oriundos de uma mistura das cinco raças, suspensas em óleo mineral Soltrol na proporção 1:1. As plantas foram mantidas em câmara escura, durante 21 horas, em temperatura controlada de 20 °C e 100% de umidade. Posteriormente, foram transferidas para casa-de-vegetação com fotoperíodo de 12h, temperatura em torno de 20 °C e umidade elevada, visando ao desenvolvimento da doença. A confirmação da severidade da doença foi realizada em todas as plantas, 14 dias posterior à inoculação por meio da escala de Roelfs (1985).

As coletas das folhas aconteceram em quatro tempos diferentes: 0 hora (pré-inoculação), 24, 48 e 72 horas (pós-inoculação). As análises histoquímicas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia – área de citogenética. As folhas, coletadas manualmente e com auxílio de uma tesoura, foram mantidas em água destilada em temperatura ambiente para a preparação imediata das lâminas citológicas e análises histoquímicas. Com auxílio de navalha de aço inoxidável, foram feitos pequenos cortes nas folhas. Os corantes empregados foram: Sudan III (para a detecção de lipídios totais), floroglucina em HCL a 20% (ligninas); cloreto férrico 10% (compostos fenólicos) e cloreto de alumínio (flavonoides). Os cortes do tecido foliar foram mergulhados no corante e permaneceram submersos nos tempos adequados, conforme as recomendações de Santos (2016). Para a detecção dos lipídios totais, os cortes ficaram submersos por 60 minutos, sinalizando em vermelho positivo a presença do composto. Para flavonoides e fenóis, os cortes ficaram submersos em cloreto de alumínio e cloreto férrico, respectivamente, por 30 minutos, sendo que as cores indicativas dos compostos são, respectivamente, amarelo-esverdeado e verde intenso/preto. Para detecção das ligninas, os cortes ficaram submersos em floroglucina por 2 minutos e o corante se fazia positivo na presença da cor rosa. As lâminas foram montadas e analisadas em microscópio óptico para detecção de lipídios totais, ligninas e compostos fenólicos e em microscópio de fluorescência para detecção de flavonoides.

Os cortes histológicos foram fotografados visando dar destaque para os

principais vasos condutores, xilema e floema, observando-se também o conjunto de células do parênquima e esclerênquima. As imagens coletadas nas análises foram identificadas, agrupadas e comparadas frente aos diferentes horários e entre as cultivares resistente e suscetível. Como ponto de referência para esses comparativos, foram usados os cortes realizados em tempo 0 (zero) na ausência da interação com o patógeno. Para quantificar as reações utilizamos a escala com os seguintes critérios: (=) igual/semelhante, (\*) fraco, (\*\*) médio e (\*\*\*) forte. Posteriormente, esses símbolos foram transformados em valores para a geração dos histogramas, descritos a seguir: (=) nota 0, (\*) nota 1, (\*\*) nota 2 e (\*\*\*) nota 3.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações realizadas no tempo 0 (zero), foram usadas como base comparativa para julgar as subseqüentes horas após inoculação, visto que as folhas foram coletadas antes de ocorrer a inoculação com a mistura das raças. Por tanto determinamos o padrão de nota zero, para todos os compostos histoquímicos estudados nessa condição no presente trabalho.

Sabe-se que a germinação dos esporos leva em torno de seis horas para germinar no tecido foliar (Singh, 2011) e conseqüentemente a expressão dos genes tem início quando os uredósporos do fungo entram em contato com o tecido vegetal e colonizam a região intracelular produzindo haustórios, que retiram nutrientes diretamente da célula viva, desencadeando o mecanismo de reconhecimento e induzindo a resistência (Mysore, K.S.; Ryu, 2004), inibindo o progresso da doença no tecido foliar nas primeiras horas após a infecção (Wesp-Guterres et al., 2013). Após as 24 horas da inoculação, no mesófilo, uma célula especializada se expande formando o haustório (HARDER; HABER, 1992).

A resistência ao patógeno pode ser descrita pela habilidade da planta em interromper o crescimento do fungo sob a lâmina foliar e é tipicamente não específica à raça, caracterizada pelo fenótipo suscetível. Contudo o progresso da infecção é lento, atingindo uma proporção muito baixa da área foliar desde as primeiras folhas até a folha bandeira (Wesp-Guterres et al., 2013).

Os compostos fenólicos, como os fenóis, são produtos oriundos do metabolismo secundário das plantas e está correlacionado à defesa da planta, evitando o ataque e o crescimento das pústulas do fungo, pois são substâncias adstringentes e tóxicas (Bruneton, 1999). O composto esteve presente significativamente nas análises de ambas as cultivares, sinalizando sua presença nas cores verde e preta.

Na cultivar Toropi, a presença dos compostos fenólicos foi visualmente significativa e a intensidade do composto amplificou gradualmente com o passar das horas analisadas. Após 24 horas, o tom de verde sinalizado no tecido intensificou

tornando-se relativamente mais escuro. Também foi possível notar a presença de alguns pontos pretos no entorno das células do parênquima clorofiliano e no conjunto de células que formam a epiderme abaxial e adaxial da folha, justificando a nota 1 (um) na intensidade. Nas 48 horas a intensidade da cor verde não teve alteração, porém os pontos pretos se evidenciaram e ocuparam mais espaço no tecido, alterando a nota de intensidade para dois pontos. Em 72 horas, o tom que antes era verde intensificou significativamente e passou a se expressar na cor marrom-esverdeado. Os espaços com a sinalização preta passaram a se localizar principalmente na parede celular do esclerênquima, por este motivo, aumentou para três pontos sua intensidade de coloração.

Considerando a cultivar IAC 13-Lorena, nas 24 horas ocorreram alterações na região das células do parênquima clorofiliano e a visualização de pontos pretos pouco vigorosos, recebendo nota 1(um) de intensidade. Em 48 horas, manteve sua intensidade de cor, permanecendo com nota. Em 72 horas, a cor que representa a presença dos fenóis, passou a se expressar pela coloração marrom-esverdeada e nas regiões no parênquima clorofilianos, onde ocorreu a expansão dos pontos pretos, alterando a nota para dois pontos de intensidade.

Os flavonoides exercem diversas funções dentro do metabolismo das plantas, como por exemplo defender as plantas do estresse oxidativo. Fazem parte do grupo dos compostos fenólicos e são identificados como metabolitos secundários hidrossolúveis, que estão presentes em quase todos os órgãos das plantas com diferentes concentrações (Chamam et al., 2013). As concentrações podem ser alteradas por fatores como, por exemplo, raios UV, estações do ano, estresse hídrico, patógenos e poluentes (Nijveldt et al., 2001).

A detecção de flavonoides, mostrou-se presente na coloração amarela-esverdeada. Nas observações realizadas com a cultivar Toropi, a intensidade de coloração iniciou em 24 horas, se mostrando presentes nas células que formam a epiderme adaxial e abaxial do tecido, também foi possível notar alterações nas células da bainha do feixe vascular e ao longo da sua extensão, resultando em um ponto de intensidade. Em 48 horas, não foram encontradas alterações visíveis na intensidade, sendo assim a nota se manteve. Em 72 horas, a cor amarela-esverdeada, esteve predominante, além das regiões já citadas anteriormente, nas células do parênquima clorofiliano, recebendo a pontuação dois de intensidade.

Entretanto, na cultivar IAC 13-Lorena, o composto reagiu de forma diferenciada quanto à presença dos flavonoides nos seus tecidos. Nas 24 horas, não foram visualizadas nenhuma alteração significativa na coloração expressada no tecido, recebendo nota zero. Em 48 horas a coloração no tecido se intensificou significativamente e passou a se expressar com vigor, aumentando a sua pontuação para dois. Nas análises em 72 horas, a síntese dos flavonoides se manteve estável,

estando presente nas células do parênquima clorofiliano e extensão da bainha do feixe vascular, permanecendo com a pontuação dois.

Os uredósporos em contato com folha do trigo se instalam e ocupam os meios intracelulares. Esse processo provoca alteração das paredes celulares do tecido vegetal e, como consequência, acaba por ocasionar a síntese e acumulação de ligninas (Singh et al., 2011). A lignina é considerada como resistente a agentes patogênicos e interfere na redução da digestibilidade da matéria seca (Da Silva et al., 2012), podendo contribuir indiretamente na redução dos danos às membranas celulares.

Na detecção da presença de lignina, buscamos visualizar a coloração rosa. Em Toropi, a presença de lignina aumentou progressivamente na intensidade da cor. Em 24 horas, a tonalidade da cor rosa intensificou, sinalizando as regiões do esclerênquima e o conjunto de células que formam a bainha do feixe e contornam a região vascular, alteando para nota 1 (um) de intensidade. Em 48 horas, a presença das ligninas se mostrou mais intensa, evidenciando as células do esclerênquima da região da epiderme abaxial das folhas, além dos locais já comentados nos horários anteriores, aumentando para dois de intensidade. Novamente, em 72 horas após inoculação do patógeno, a intensidade da cor rosa ficou evidente em todas células que formam a extensão da bainha do feixe, local onde estão presentes as fibras e os feixes vasculares da folha; dessa maneira pontuando na intensidade três.

Em IAC 13-Lorena, as análises feitas a partir das 24 horas a intensidade da coloração no tecido se intensificou alteando para 1 (um) a expressão do composto. Em 48 horas, a intensidade de coloração elevou recebendo nota dois de intensidade. A avaliação ocorrida em 72 hora não mostrou nenhuma alteração notória, mantendo a classificação da intensidade em dois pontos.

Tecidos vegetais são compostos por células, que são constituídas por parede celular e vacúolos constituídos por moléculas como ácidos orgânicos, carboidratos, lipídios e fenóis (Hu; Rijkenberg, 1998). Com frequência os lipídios estão sendo associados à proteção de plantas contra herbívoros e patógenos (Bowers et al., 2015), pois a infecção por patógenos danifica e altera a parede celular e a membrana associada, onde o transporte de lipídios seria necessário para fazer a restauração dos tecidos (Casassola et al., 2015). Esse composto é procedente do metabolismo primário e estão presentes principalmente na cutícula da folha do trigo.

A detecção de lipídios totais se confirma na coloração vermelho positivo e resultou nas subseqüentes pontuações. Na cultivar Toropi, a presença desse composto histoquímico não se mostrou significativa nas 24 horas, recebendo assim a pontuação de intensidade zero. Nas observações das 48 horas, foram possíveis notar alterações no padrão de intensidade da coloração, que resultaram no primeiro sinal visível de intensidade, localizados principalmente nas células que compõem

a epiderme, no esclerênquima e nas células da bainha do feixe vascular e na sua extensão, classificando a intensidade em nota 2 (dois). Em 72 horas, a alteração da intensidade do composto no tecido foi significativa, porém permanecendo no mesmo locais citados nos tempos anteriores. Alterando para três pontos de intensidade.

A presença dos lipídios na cultivar Toropi não foi expressiva inicialmente e se mostrou sensível somente nas 72 horas. Entretanto, estudos feitos por Casassola et al., (2015) através de uma abordagem diferente sobre a relação dos lipídios na defesas das plantas, avaliaram a expressão de 15 genes relacionados com o processo de defesa na cultivar Toropi. Dentre eles, está o gene da proteína precursora de transferência de lipídio não-específica tipo I (LTP).

Se comparado com a cultivar IAC 13-Lorena, que evidenciou expressões significativas entre horários observados, se mostrando sensível a doença. Nas análises de 24 horas a coloração passou a se intensificar com vigor, principalmente nas células que formam a epiderme, onde a cutícula está presente. Em 48 horas, as mudanças na coloração no tecido não foram notórias, permanecendo assim com a mesma nota do tópico anterior. Em 72 horas, as expressões tiveram um salto expressivo, se mostrando com maior intensidade perante aos horários vistos anteriormente, recebendo nota três de intensidade.

Na resistência quantitativa ou parcial há uma variação no grau de resistência, indo de plantas altamente resistentes como no caso da cultivar Toropi até altamente suscetíveis como IAC 13-Lorena. Tem-se como exemplo, o gene de resistência *Yr36* que confere resistência à ferrugem amarela do trigo e codifica uma proteína com um domínio quinase ligado a um domínio lipídico (Fukuoka et al., 2009). Evidenciando que a presença dos lipídios está relacionada com a proteção e resistência das planas de trigo.

Destaca-se, portanto, que devido à ativação do metabolismo primário e secundário das plantas de trigo como forma de proteção ao ataque do patógeno, quanto maior foi a intensidade de coloração, maior foi a síntese do composto observado. Isso foi visto na cultivar Toropi (resistente à ferrugem-da-folha) que apresentou pontuações menores, se comparada com IAC 13-Lorena. Evidenciou-se que a cultivar IAC-13 Lorena foi mais sensível ao patógeno, reagindo com mais intensidade aos corantes, principalmente ao teor de lipídios e flavonoides na composição no tecido foliar.

#### 4 | CONCLUSÕES

Diante ao trabalho realizado, verificamos que a interação planta-patógeno, (trigo-*P. triticna*), afetou a síntese dos compostos histoquímicos ao decorrer do tempo nas cultivares Toropi e IAC 13-Lorena. As colorações indicativas da presença



dos compostos, iniciaram a intensificação predominantem nas primeiras 24 horas e com maior alteração da intensidade em 48 horas, no qual a cultivar IAC 13-Lorena, se mostrou mais suscetível devido à maior síntese de metabolitos primários e secundários, para sua proteção ao ataque, evidenciando a suscetibilidade ao patógeno. Predominando nos compostos: Sudan III nas 24 e 48 horas e cloreto de alumínio nas 48 horas. A cultivar Toropi evidenciou nos compostos: floroglucina nas 72 horas, cloreto férrico nas 48 e 72 horas e cloreto de alumínio nas 24 horas.

## REFERÊNCIAS

- BOWERS, W.S.; EVANS, P.H.; VENABLE, D.L.; BECERRA, J.X. Interactions between chemical and mechanical defenses in the plant genus *Bursera* and their implications for herbivores. In: Martin, L. **Integrative and comparative biology**. 4.ed. Oxford University Press, 2015. v.41, p.865-876.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosy: phytochemistry medicinal plants**. 2ed. Intercept, 1999. 1119 p.
- CASASSOLA, A.; BRAMMER, S.P.; CHAVES, M. S. MARTINELLI J. A.; STEFANATO, F.; BOYD, L. A. Changes in gene expression profiles related to adult leaf rust resistance in wheat cv. Toropi. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 89 p. 49-54, 2015.
- CHAMAM, A.; SANGUIN, H.; BELLVERT, F.; MEIFFREN, G.; COMTE, G.; WISNIEWSKI-DYÉ, F.; BERTRAND, C.; PRIGENT-COMBARET, C. Plant secondary metabolite profiling evidences strain dependent effect in the *Azospirillum- Oryza sativa* association. **Phytochemistry**, v. 87, p. 65-77, 2013.
- DA SILVA P. R.; BRAMMER S.P.; GUERRA D; MILACH S.C.; BARCELLOS A.L.; BAGGIO M.I.B. Monosomic and molecular mapping of adult plant leaf rust resistance genes in the Brazilian wheat cultivar Toropi. **Genetics and Molecular Research**, v.11, p.2823-2834, 2012.
- FUKUOKA, S.; SAKA, N.; KOGA, H.; ONO, K.; SHIMIZU, T.; EBANA, K.; HAYASHI, N.; TAKAHASHI, A.; HIROCHIKA, H.; OKUNO, K.; YANO, M. Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice. **Science**, v.325, p.998-1001, 2009.
- HARDER, D.E.; HABER, S. Genetics and inheritance in oat. In: Marshall & Shaner. **Oat science and technology**. American Society of Agronomy, p. 125, 1992
- HU, G.; RIJKENBERG, F.H. Scanning electron microscopy of early infection structure formation by *Puccinia recondita* f. sp. *Tritici* on and in susceptible and resistant wheat lines. **Mycological Research**, v.102, p.391-399, 1998.
- LARGE, E.C. Growth stages in cereals: Illustration of the Feekes scale. **Plant Pathology** 4.ed. Mission: British Society for Plant Pathology, 1954. v. 3, p.128-129.
- MYSORE, K.S.; RYU, C.M. Resistance to non-hosts: how much do we know? In: **Trends in Plant Science** 2.ed.Elsevier, 2004. v. 9, p. 97-104.
- NIJVELDT, R.J.; NOOD, E.V.; HOORN D.V.; BOELEN P.G.; NORREN, K.V.; LEEUWEN P.V. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **Journal Clinical Nutrition**, v.74, p.418-425, 2001.
- NIKS, R.E. Effect of germ tube length on the fate of sporelings of *Puccinia hordei* in susceptible and resistance barley. **Phytopathology**, v.80, p.57-60, 1990.

ROELFS, A.P. Epidemiology in North America. IN: ROELFS & BUSHNELL, (eds.) **The cereal rusts**, v. 2, Diseases, distribution, epidemiology, and control. Academic Press. 1985. p. 403-434.

SANTOS, J. **Divergência genética em aveia-branca com base na expressão fenotípica, marcadores moleculares e reação à brusone**. 2016. 123 f. Dissertação (Mestrado em Produção e Proteção de Plantas) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

SINGH, R. P., HUERTA-ESPINO, J., BHAVANI, S., HERRERA-FOESSEL, S.A., SINGH, D., SINGH, P. K., VELU, G., MASON, R. E., JIN, Y., NJAU, P., CROSSA, J. Race non-specific resistance to rust diseases. **Euphytica**, v.179, 175–186, 2011.

WESP-GUTERRES, C.; MARTINELLI, J. A.; GRAICHEN, F. A. S.; CHAVES, M. S. Histopathology of durable adult plant resistance to leaf rust in the Brazilian wheat variety Toropi. **European Journal of Plant Pathology**, v. 137, p.181-196, 2013.

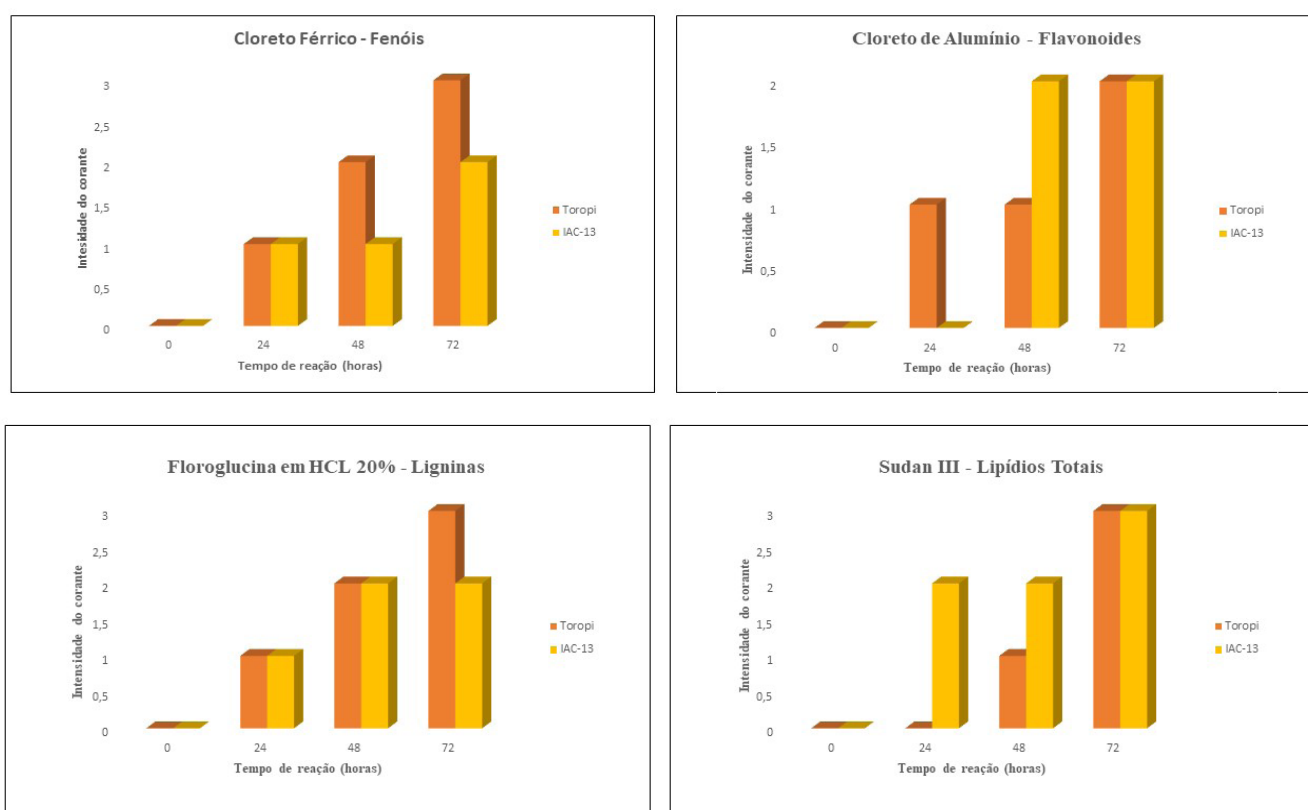


Figura 1. Intensidades de compostos histoquímicos expressados em quatro momentos, pré e pós-inoculação com *Puccinia triticina*, nas cultivares de trigo Toropi e IAC 13-Lorena.

Nota: Horário (0) indica pré-inoculação e (24), (48) e (72) indicam pós-inoculação com a mistura de raças de *Puccinia triticina*, na fase de espigamento do trigo.