

MELHORAMENTO GENÉTICO VEGETAL

AVALIAÇÃO DE LINHAGENS DE TRIGO PROVENIENTES DE CRUZAMENTOS INTERESPECÍFICOS EM DOIS LOCAIS NO ESTADO DE SÃO PAULO E EM LABORATÓRIO (¹)

MARY TÚLIA VARGAS LOBATO (²); CARLOS EDUARDO DE OLIVEIRA CAMARGO (^{3,7});
ANTONIO WILSON PENTEADO FERREIRA FILHO (³); BENEDITO DE CAMARGO BARROS (⁴);
JAIRO LOPES DE CASTRO (⁵); PAULO BOLLER GALLO (⁶)

RESUMO

Avaliaram-se 18 linhagens semi-anãs, provenientes de cruzamento interespecífico entre trigo comum e trigo duro e duas cultivares-controle (IAC-24 e IAC-370). As linhagens foram avaliadas em quatro ensaios, com quatro repetições em Capão Bonito, condição de sequeiro e solo ácido e em Mococa, condição de irrigação e solo corrigido, em 2003 e 2004, em relação à produção de grãos, altura das plantas e resistência à ferrugem-da-folha. A tolerância à toxicidade ao alumínio foi avaliada em soluções nutritivas contendo 0, 2, 4, 6, 8 e 10 mg L⁻¹, em laboratório. Em Capão Bonito, a linhagem 14 foi imune a *Puccinia recondita f. sp. tritici*, agente causal da ferrugem-da-folha, e destacou-se em relação à produção de grãos e à tolerância ao alumínio. Nos quatro ensaios, as cultivares IAC-24 e IAC-370 e as linhagens 5, 9, 10, 12, 13, 18, 19 e 20 foram moderadamente resistentes ao agente causal dessa ferrugem. A linhagem 14 pela resistência ao agente causal da ferrugem-da-folha em todos os ensaios, poderá ser utilizada como fonte genética para esta característica. Todos os genótipos foram tolerantes à toxicidade de alumínio, por ocorrer crescimento da raiz primária após o tratamento com 10 mg L⁻¹ de Al³⁺, com exceção da cultivar Anahuac sensível a 2 mg L⁻¹ de Al³⁺, e da IAC-370, além da linhagem 13, sensíveis a 4 mg L⁻¹ de Al³⁺. Produção de grãos, em condição de sequeiro e de solo ácido, e porte da planta foram afetados de forma semelhante pela toxicidade de alumínio.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L., *T. durum* L., produção de grãos, altura das plantas, ferrugem-da-folha, tolerância ao alumínio.

(¹) Trabalho parcialmente financiado pelo CNPq. Apresentado no 3º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, realizado em Gramado, RS, em 2005. Recebido para publicação em 12 de maio de 2005 e aceito em 28 de agosto de 2006.

(²) Pós-Graduanda de Mestrado em Agricultura Tropical, área de concentração em Melhoramento Genético Vegetal do Instituto Agronômico (IAC), Campinas (SP). Bolsista da CAPES.

(³) Instituto Agronômico (IAC), Centro de Análise e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio de Grãos e Fibras, Caixa Postal 28, 13012-970 Campinas (SP). E-mail: ccamargo@iac.sp.gov.br

(⁴) Centro Experimental do Instituto Biológico (IB), Caixa Postal 70, 13001-970 Campinas (SP).

(⁵) Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Sudoeste Paulista, Caixa Postal 62, 18300-970 Capão Bonito (SP).

(⁶) Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Nordeste Paulista, Caixa Postal 58, 13730-970 Mococa (SP).

(⁷) Com bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq.

ABSTRACT

EVALUATION OF WHEAT INBRED LINES ORIGINATED FROM INTERESPECIFIC CROSSES IN TWO LOCATIONS IN THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL, AND IN THE LABORATORY

Eighteen semidwarf type wheat inbred lines, originated from interespecific cross between bread and durum wheat and two control cultivars (IAC-24 and IAC-370), were evaluated in four trials, with four replications, carried out at Capão Bonito, in acid soil without lime application and upland condition, and at Mococa, acid soil with lime application and sprinkler irrigation condition, in 2003 and 2004, in relation to grain yield, plant height and resistance to leaf rust. The tolerance to Al^{3+} toxicity was evaluated in nutrient solutions containing 0, 2, 4, 6, 8 and 10 mg L^{-1} , in the laboratory. The inbred line 14, in Capão Bonito, was immune to the *Puccinia recondita f. sp. tritici*, causal agent of leaf rust and was superior for grain yield and tolerance to aluminum toxicity. In the four trials, the cultivars IAC-24 and IAC-370 and the inbred lines 5, 9, 10, 12, 13, 18, 19 and 20 showed moderate resistance to the causal agent of this rust. The inbred line 14 due to the resistance to the causal agent of leaf rust in all trials could be used considered a source of genetic for this character. In general, genotypes were tolerant to aluminum toxicity because they showed root growth after treatment in solution containing 10 mg L^{-1} , except for the cultivar Anahuac sensitive to 2 mg L^{-1} of Al^{3+} , and the cultivar IAC-370 and the line 13, sensitive to 4 mg L^{-1} of Al^{3+} . Grain yield in acid soil without lime application in upland condition and plant height were affected in the same way by aluminum toxicity.

Key words: *Triticum aestivum* L., *T. durum* L., grain yield, plant height, leaf rust, tolerance to aluminum.

1. INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é de extrema importância na alimentação da população do Brasil e do mundo. O Brasil ainda não é auto-suficiente na sua produção, necessitando importar grande quantidade de grãos desse cereal (AGRANUAL, 2004). Para que esse fato não ocorra, entre outras medidas, são necessárias a expansão da área cultivada e redução do custo de produção.

O melhoramento de trigo visando à obtenção de cultivares mais produtivas e com porte mais baixo, resistentes às principais doenças e tolerantes à toxicidade de alumínio, proporcionará aumento da lucratividade do agricultor e uma redução do custo da lavoura abrindo possibilidades de expansão da cultura.

O porte semi-anão pode proporcionar menor porcentagem de acamamento e maior facilidade de colheita. Já foram selecionadas fontes de nanismo eficientes para utilização em programas de melhoramento, realizando-se cruzamentos entre cultivares de porte baixo, introduzidas do México, com cultivares nacionais de porte alto (CAMARGO 1984 a, b). Correlações entre produção de grãos e altura de plantas obtidas em ensaios de linhagens diaplóides em diferentes locais do Estado de São Paulo mostraram tendência de plantas semi-anãs mais altas serem as mais produtivas (SALOMON et al., 2003; CAMARGO et al., 2003).

Com relação às doenças do trigo, a ferrugem-da-folha, causada pelo fungo *Puccinia recondita f. sp. tritici* é uma das mais comuns e importantes. Seu

aparecimento está condicionado, além da presença da fonte de inóculo, às condições favoráveis de ambiente, e seus sintomas ocorrem na fase de perfilhamento do trigo, podendo se estender até o fim do ciclo da cultura (PICININI e PRESTES, 1985). Muitos trabalhos realizados, no exterior e no Brasil, atestam a grande freqüência da ferrugem-da-folha do trigo, causando queda na produção de grãos (CAMARGO et al., 2003; 2001; REIS et al., 2000; KHAN et al., 1997; GOULART e PAIVA, 1992). Portanto, a incorporação de resistência a essa doença é de grande importância no desenvolvimento de novas cultivares. Alguns genótipos de trigo duro (*Triticum durum* L.), nas condições brasileiras, são fontes adequadas de resistência a essa doença em cruzamentos com variedades de trigo comum, embora sejam suscetíveis ao Al^{3+} (CAMARGO et al., 1995).

Outro aspecto de importância a destacar diz respeito à triticultura brasileira se instalar predominantemente em solos ácidos, quase sempre exigindo sua correção. Nessas condições, devido à toxicidade de alumínio, há ocorrência de "crestamento" nas plantas, inviabilizando ou reduzindo a produção desse cereal. A tolerância à toxicidade de alumínio é um fator relevante para garantir o crescimento satisfatório do sistema radicular, no que diz respeito à absorção de água do solo em profundidades maiores, considerando que o trigo é cultivado em condição de sequeiro. Verificam-se em trabalhos que a tolerância à toxicidade de alumínio em solução nutritiva, em laboratório, tem associação positiva com a produção de grãos em solos ácidos (MISTRO et al., 2001; SALOMON et al., 2003).

Este trabalho teve como objetivo avaliar linhagens de trigo, obtidas através de cruzamentos interespecíficos quanto à produção de grãos, altura das plantas, resistência à ferrugem-da-folha e tolerância à toxicidade de alumínio, em experimentos instalados em dois locais do Estado de São Paulo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram instalados quatro experimentos, em dois locais, em 2003 e 2004. No Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Sudoeste Paulista em Capão Bonito - SP (latitude 24° 00' S, longitude 48° 22' W e altitude 702 m), zona tritícola B, o ensaio foi instalado em solo ácido, sem correção do solo com calcário e em condição de sequeiro. O outro experimento foi instalado no Pólo Regional de Desenvolvimento dos Agronegócios do Nordeste Paulista em Mococa - SP (latitude 21° 28' S, longitude 47° 01' W e altitude 665 m), zona tritícola H, solo corrigido com calcário e com irrigação por aspersão. Foram avaliadas 18 linhagens originárias de cruzamentos interespecíficos envolvendo *Triticum aestivum* L. e *T. durum* L., as quais foram selecionadas para as características do trigo comum. Foram utilizadas as cultivares-controle IAC-24 e IAC-370 (tolerante e sensível à toxicidade de Al⁺³, respectivamente). A origem dos genótipos está relacionada na tabela 1.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com quatro repetições, sendo cada parcela formada de seis linhas de 3 m de comprimento, espaçadas de 0,20 m. A semeadura foi feita utilizando-se 80 sementes viáveis por metro de sulco, equivalendo a 1.440 sementes por parcela, com área útil de colheita de 3,6 m². A adubação nos dois locais foi feita baseada na análise de solo e na tabela utilizada pelo IAC - Instituto Agronômico (2002).

Foram avaliadas as seguintes características em cada parcela:

Produção de grãos: considerou-se a produção total de grãos obtida nas linhas de cada parcela e transformou-se em kg ha⁻¹.

Altura das plantas: mediu-se no campo, na época de maturação, o comprimento do colmo, em centímetros, do nível do solo ao ápice da espiga, sem as aristas, levando-se em consideração a média de diferentes pontos em cada parcela.

Ferrugem-da-folha: avaliação dessa doença causada por *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, efetuada por meio de observação geral, em cada parcela, em pelo menos duas repetições de cada experimento, nas

folhas superiores das plantas, no estádio do início da maturação, em condições naturais de infecção, usando-se a escala modificada de Cobb, segundo MEHTA (1993). Essa escala vai de zero a 100% de área foliar infectada, complementada pelo tipo de reação: S = suscetível (uredosporo grande, coalescente, sem necrose e sem clorose); MS = moderadamente suscetível (uredosporo médio); M = intermediária (diversos tipos de reação); MR = moderadamente resistente (uredosporo pequeno); R = resistente (uredosporo minúsculo, rodeado de áreas necróticas).

A produção de grãos e altura das plantas de cada ensaio foram submetidas à análise de variância individual e conjunta. O teste de Tukey, ao nível de 5% foi empregado para comparação dos genótipos em cada ensaio. Foi também empregado para a comparação dos genótipos dentro de cada local, usando-se como estimativa do desvio-padrão residual, o quadrado médio da interação genótipo x anos da análise de variância, conforme sugerido por GOMES (2000).

Para determinação da tolerância à toxicidade de alumínio, foi realizado um experimento empregando soluções nutritivas em condições de laboratório. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com parcelas subdivididas, compostas por diferentes concentrações de alumínio e, as subparcelas, pelos genótipos utilizados de trigo. Utilizaram-se quatro repetições para cada solução tratamento. Para cada repetição, sementes dos 20 genótipos e das cultivares-controle BH-1146 (tolerante) e Anahuac (sensível) foram lavadas com solução de hipoclorito de sódio a 10% e colocadas para germinar em placas de Petri por 72 horas, na geladeira. Foram selecionadas sete sementes uniformes de cada genótipo e colocadas sobre telas de náilon, que foram postas em contato com soluções nutritivas completas. As plântulas desenvolveram-se nessas condições por 48 horas. Após esse período, as telas foram transferidas para as soluções-tratamento nutritivas (com um décimo da concentração da solução nutritiva completa), contendo 0, 2, 4, 6, 8 e 10 mg L⁻¹ de alumínio, na forma de Al₂(SO₄)₃ 18 H₂O, respectivamente. O pH das soluções-tratamento e das soluções completas foi ajustado para 4,0. As soluções foram mantidas sob luz fluorescente, em banho-maria com temperatura de 25 ± 1 °C, continuamente arejadas, em sua totalidade. As plântulas permaneceram nas soluções-tratamento por 48 horas, depois deste tempo foram transferidas de volta para as soluções nutritivas completas onde cresceram por mais 72 horas.

Na análise dos dados, considerou-se a média do comprimento da raiz primária central de cinco plântulas de cada genótipo, após 72 horas de crescimento nas soluções nutritivas completas sem alumínio, que se seguiu de 48 horas de crescimento nas soluções de tratamento contendo seis diferentes concentrações de alumínio (CAMARGO, 1981). Foram consideradas tolerantes as plantas com raízes que cresceram após o tratamento com uma determinada concentração de alumínio e consideradas sensíveis, as que não tiveram crescimento radicular pós-tratamento (CAMARGO, 1981; CAMARGO et al., 2001; MOORE et al., 1976).

Foram estimadas as seguintes correlações simples considerando as médias dos genótipos avaliados separadamente em Capão Bonito e Mococa, em 2003 e 2004: produção de grãos com altura das plantas, e produção de grãos e altura das plantas com os crescimentos médios das raízes dos genótipos, após tratamento em soluções nutritivas contendo diferentes concentrações de alumínio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas análises conjuntas de variância para produções médias dos genótipos dos experimentos de Capão Bonito, os efeitos de anos e da interação genótipos x anos foram significativos e não significativos para genótipos. Nos ensaios de Mococa, houve efeitos significativos para genótipos, anos e para a interação genótipos x anos. Essas interações significativas comprovam que na maioria dos genótipos avaliados nos dois locais houve comportamento diferente para a produção de grãos em função do ano considerado (Tabela 1). Resultados semelhantes foram observados por SALOMON et al. (2003) em experimentos realizados em Capão Bonito em 1999-2000, com outros genótipos. Por outro lado, CAMARGO et al. (2003) avaliaram que as produções de grãos dos genótipos de trigo não variaram em função dos anos nos ensaios semeados em Capão Bonito, no período de 1997-1999. Por esse motivo, as comparações foram feitas nos dois locais, ano a ano.

As produções médias de grãos dos diferentes genótipos avaliados em Capão Bonito foram maiores em 2003 em relação a 2004, devido provavelmente às maiores precipitações pluviais ocorridas em 2003. As produções de grãos dos ensaios instalados em Mococa foram bastante altas quando comparadas com as de Capão Bonito, no mesmo período, devido à maior fertilidade do solo de Mococa e ao emprego de irrigação por aspersão. Esses dados concordam com os obtidos por CAMARGO et al., (2006), usando

linhagens diaplóides que tiveram maior produção de grãos em Tatuí (irrigação por aspersão e solo corrigido) em relação a Capão Bonito (sequeiro e solo ácido).

Os coeficientes de variação calculados para cada um dos ensaios instalados em Capão Bonito bem como, quando, esses ensaios foram analisados em conjunto foram altos (Tabela 1) indicando, portanto, a ocorrência de grandes erros experimentais. Este fato pode ser explicado em virtude de o local estudado ter um solo originalmente ácido, nunca corrigido por calagem e, portanto, não uniforme com variações, principalmente nos teores de alumínio e de bases (CAMARGO et al., 1997). Apesar disso, essa área experimental tem sido de grande utilidade para os trabalhos de melhoramento genético do trigo do IAC, onde são selecionadas linhagens, tolerantes à toxicidade de alumínio. Mesmo com a redução da precisão dos experimentos, os dados obtidos têm permitido com sucesso a separação dos genótipos mais produtivos, tolerantes à toxicidade de alumínio dos menos produtivos e sensíveis a essa toxicidade (CAMARGO et al., 1997 e 2005; SALOMON et al., 2003).

Em Capão Bonito, em 2003, a produção de grãos variou entre 753 e 1.976 kg ha⁻¹. A cultivar IAC-370 e as linhagens 3, 6, 12, 14, 18 e 20 foram as mais produtivas, com produções médias variando de 1.625 a 1.976 kg ha⁻¹, diferenciando somente da linhagem 13 com a menor produção (753 kg ha⁻¹). Em 2004, a linhagem 14 (1.302 kg ha⁻¹) destacou-se pela produtividade, não diferindo dos genótipos 1, 12, 18, 19 e 20 (816 a 1.229 kg ha⁻¹). A linhagem com a menor produção foi a 15 (490 kg ha⁻¹), diferindo apenas dos genótipos 1, 12 e 14.

No ensaio de Mococa de 2003, quando se compararam as médias de produção de grãos, verificou-se que a linhagem mais produtiva foi a 16 (5.973 kg ha⁻¹), diferindo dos genótipos 2, 3, 5, 6, 12, 13, 14 e 20, com produções de grãos de 4.040 a 4.917 kg ha⁻¹. Em 2004, a linhagem 19 foi a mais produtiva (5.563 kg ha⁻¹), diferindo significativamente, a 5%, das linhagens 3, 4, 5, 7, 8, 9, 11 e 20 (3.681 a 4.306 kg ha⁻¹) (Tabela 1).

Através da análise de variância conjunta para altura das plantas nos ensaios de Capão Bonito e Mococa, observaram-se efeitos significativos para genótipos e para a interação genótipos x anos. O efeito de anos foi somente significativo para os ensaios de Capão Bonito (Tabela 2). Todos os genótipos tiveram porte semi-anão. Em Capão Bonito, as linhagens 14 (84 cm) e 20 (84 cm) foram as mais altas em 2003, diferindo apenas das linhagens 9, 11, 13, 15, 16 e 17 (65-68 cm), as mais baixas. Em 2004, nesse mesmo local, os genótipos 1, 14 e 20 com 76 cm tiveram as maiores alturas das plantas, não diferindo dos genótipos 2, 5, 12 e 13, porém diferindo dos demais que exibiram as plantas mais baixas (Tabela 2).

Tabela 1. Testes de médias e análises da variância individuais e conjuntas (anos) para a variável produção média de grãos, dos 20 genótipos de trigo avaliados nos Ensaios de Novas Linhagens provenientes de cruzamentos interespecíficos, instalados em Capão Bonito e Mococa, em 2003 e 2004

Genótipos	Origem	Capão Bonito**						Mococa**						
		2003	2004	Média	2003	2004	Média	2003	2004	Média	kg ha ⁻¹			
1	H.639	IAS-51/4/SON64/Y50E//GTO/3*CIANO = IAC-24	1361 ab	1226 ab	1293	5112 a-e	4882 ab	4997						
2	-	BOW//NAC/VEE/3/BY//COC = IAC-370	1667 a	642 c	1155	4915 b-f	4486 a-c	4701						
3	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	1625 a	632 c	1128	4872 c-f	4222 bc	4547						
4	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	1514 ab	594 c	1054	5054 a-e	4264 bc	4659						
5	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	1601 ab	740 bc	1170	4917 b-f	4118 bc	4518						
6	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	1719 a	701 c	1210	4835 d-f	4507 a-c	4671						
7	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	1406 ab	788 bc	1097	5007 a-f	4181 bc	4594						
8	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	1420 ab	691 c	1056	5098 a-e	4271 bc	4684						
9	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	1347 ab	622 c	984	5090 a-e	4306 bc	4698						
10	H.18861	IAC-209/IAC-24//IAC-1003	1236 ab	753 bc	995	5827 a-c	4590 a-c	5209						
11	H.18877	F3.71/TRM//CNO79/3/IAC-24/4/IAC-1003	1469 ab	583 c	1026	5070 a-e	3681 c	4375						
12	H.18875	IAC-60/IAC-1003	1691 a	1229 ab	1460	4630 ef	4944 ab	4787						
13	H.18875	IAC-60/IAC-1003	753 b	799 bc	776	4779 d-f	4549 a-c	4664						
14	H.18875	IAC-60/IAC-1003	1976 a	1302 a	1639	4765 d-f	4653 a-c	4709						
15	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	1399 ab	490 c	944	5852 ab	4674 a-c	5263						
16	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	1472 ab	604 c	1038	5973 a	4840 a-c	5407						
17	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	1559 ab	601 c	1080	5563 a-e	4694 a-c	5129						
18	H.18754	FCT"S"/3/GOV/AZ//MUS"S"/4/BUC"S"/5/IAC-1003	1639 a	955 a-c	1297	5842 a-c	4569 a-c	5206						
19	H.18754	FCT"S"/3/GOV/AZ//MUS"S"/4/BUC"S"/5/IAC-1003	1351 ab	878 a-c	1115	5677 a-d	5563 a	5620						
20	H.18899	BH-1146//(WIN"S"/AA"S")/3/IAC-287	1684 a	816 a-c	1250	4040 f	4208 bc	4124						
	F (Repetições)	10,93*	1,99	-	3,25*	2,46	-							
	F (Genótipos)	2,24*	5,92*	1,69	7,12*	3,13*	2,27*							
	F (Anos)	-	-	120,16*	-	-	33,11*							
	F (GxA)	-	-	1,70*	-	-	2,68*							
	d.m.s. (Tukey 5%)	859	500	835	976	1163	1421							
	C.V. %	21,89	24,33	27,65	7,22	9,82	8,84							

* Significativo ao nível de 5%, pelo teste F. ** Médias identificadas com a mesma letra não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2. Testes de médias e análises da variância individuais e conjuntas (anos) para a variável altura das plantas, dos 20 genótipos de trigo avaliados nos Ensaios de Novas Linhagens provenientes de cruzamentos interespécicos, instalados em Capão Bonito e Mococa, em 2003 e 2004

Genótipos	Origem	Capão Bonito**						Mococa**	
		2003	2004	Média	2003	2004	Média		
		cm							
1	H.639	IAS-51/4/SON64/Y50E//GTO/3*CIANO = IAC-24	71 ab	76 a	74	77 bc	83 b-d	80	
2	-	BOW//NAC/VEE/3/BY/COC = IAC-370	75 ab	70 a-d	73	87 a	83 b-d	85	
3	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"//SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	74 ab	60 de	67	81 a-c	80 b-d	80	
4	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"//SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	69 ab	58 e	63	81 a-c	82 b-d	81	
5	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"//SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	76 ab	65 a-e	71	82 a-c	84 a-d	83	
6	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"//SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	73 ab	61 de	67	83 a-c	84 a-d	83	
7	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"//SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	71 ab	64 b-e	68	76 c	77 d	77	
8	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"//SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	70 ab	59 de	64	83 a-c	84 a-d	83	
9	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"//SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	66 b	61 de	64	79 a-c	79 b-d	79	
10	H.18861	IAC-209/IAC-24//IAC-1003	69 ab	63 c-e	66	79 a-c	80 b-d	80	
11	H.18877	F3.71/TRM // CNO79/3/IAC-24/4/ IAC-1003	66 b	61 de	64	83 a-c	79 b-d	81	
12	H.18875	IAC-60/IAC-1003	78 ab	74 a-c	76	85 ab	89 ab	87	
13	H.18875	IAC-60/IAC-1003	66 b	75 ab	71	86 a	87 a-d	86	
14	H.18875	IAC-60/IAC-1003	84 a	76 a	80	85 ab	88 a-c	86	
15	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	66 b	58 e	62	81 a-c	78 cd	80	
16	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	65 b	58 e	61	82 a-c	77 d	80	
17	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	68 b	56 e	62	81 a-c	81 b-d	81	
18	H.18754	FCT"S"/3/GOV/AZ//MUS"S"/4/BUC"S"/5/IAC-1003	73 ab	61 de	67	86 a	94 a	90	
19	H.18754	FCT"S"/3/GOV/AZ//MUS"S"/4/BUC"S"/5/IAC-1003	78 ab	58 e	68	85 ab	80 b-d	82	
20	H.18899	BH-1146//(WIN"S"/AA"S")/3/IAC-287	84 a	76 a	80	85 ab	79 b-d	82	
	F (Repetições)	2,23	2,28	-	4,36*	1,24	-		
	F (Genótipos)	3,19*	9,43*	3,35*	3,09*	4,35*	2,93*		
	F (Anos)	-	-	29,53*	-	-	0,0		
	F (GxA)	-	-	2,36*	-	-	1,81*		
	d.m.s. (Tukey 5%)	16	12	18	9	11	11		
	C.V. %	8,70	7,35	8,39	4,25	5,04	4,84		

* Significativo ao nível de 5%, pelo teste F. ** Médias identificadas com a mesma letra não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Nos ensaios de Mococa, as alturas das plantas variaram entre 76 e 87 cm em 2003 e entre 77 e 94 cm em 2004. Comparando-se as médias das alturas das plantas no ensaio de 2003, pode-se observar nos genótipos 2, 13 e 17 (86-87 cm) maior altura, diferindo dos genótipos 1 (77 cm) e 7 (76 cm) que foram os mais baixos. Em 2004, a linhagem 18 (94 cm) foi a mais alta, não diferindo, das linhagens 5, 6, 8, 12, 13 e 14. As linhagens 7 e 16 (77 cm), as mais baixas, somente diferiram das linhagens os 12, 14 e 18, com alturas das plantas, variando de 88 a 94 cm.

Os graus médios de infecção da ferrugem-da-folha, nos genótipos avaliados, nos ensaios de Capão Bonito e Mococa, em 2003 e 2004, são apresentados na tabela 3. A ferrugem-da-folha ocorreu naturalmente em intensidades relativamente elevadas, em ambos os locais e anos, permitindo boa diferenciação do comportamento entre os genótipos. Pode-se observar que, em Capão Bonito, a porcentagem da área foliar recoberta pelas pústulas variou entre 0 e 40% e 0 e 35% em 2003 e 2004, respectivamente. Variabilidade semelhante também foi observada em Mococa onde índices da doença, sobre diferentes genótipos, variaram de 0 a 30% e de traço a 35%, nos mesmos anos considerados.

De maneira geral, na avaliação, foram observadas pústulas tipo suscetível, porém considerando a severidade da doença, ou seja, a porcentagem de área foliar lesionada (MEHTA, 1993), verificou-se que a linhagem 14 foi resistente, com traço da ferrugem-da-folha somente no ensaio de Mococa, em 2004, com apenas algumas pústulas do tipo de reação de suscetibilidade. Nos demais, nessa linhagem observou-se resistência completa, não havendo sintomas, enquanto genótipos suscetíveis atingiram índices médios superiores a 30%, também com pústulas do tipo de reação de suscetibilidade. Esse tipo de resistência é interessante para um programa de melhoramento pela possibilidade de transferência do alelo de resistência, podendo esse genótipo ser utilizado para cruzamentos com cultivares suscetíveis. As linhagens 3, 4, 6, 7, 8, 11, 15, 16 e 17 foram suscetíveis, tendo entre 26% e 50% de área foliar infectada em pelo menos um ensaio, não sendo, portanto, genótipos adequados para cultivo em locais com condições favoráveis ao desenvolvimento da ferrugem-da-folha. Nos genótipos 1, 2, 5, 9, 10, 12, 13, 18, 19 e 20, observaram-se índices de severidade entre 6% e 25%, sendo considerados moderadamente resistentes. Levando-se em conta que as avaliações foram realizadas em estádios próximos ao de grão leitoso, estádio 11.2 da escala Feeckes-Large (MEHTA, 1993) e que esses níveis só foram atingidos nesse estádio, é possível que tal tipo de resistência envolva combinação patógeno-hospedeiro em que a ferrugem se desenvolve mais lentamente e não atinja altos graus de severidade. Essa resistência é de interesse do melhorista para lançamento

de novas cultivares, pois apesar de ocorrer a doença, não chega a causar grandes problemas para a lavoura.

Como se pode observar na tabela 4, a cultivar Anahuac, controle para sensibilidade, não teve crescimento radicular a 2 mg L⁻¹ de Al³⁺. A cultivar IAC-370 e a linhagem 13 foram sensíveis a 4 mg L⁻¹ de Al³⁺; os demais genótipos, dentre eles, as cultivares BH-1146 (controle tolerante) e IAC-24 foram tolerantes a 10 mg L⁻¹ de Al³⁺.

As correlações simples entre as produções médias de grãos de Capão Bonito e os comprimentos médios das raízes dos vinte genótipos em soluções nutritivas, para as diferentes concentrações de alumínio foram significativas e positivas (Tabela 5). Esses resultados concordaram com os obtidos por CAMARGO et al. (2003) e SALOMON et al. (2003) e sugerem que os genótipos mais produtivos foram mais adaptados às condições de solo ácido e cultivo de sequeiro revelando-se também tolerantes à toxicidade de Al³⁺, quando avaliados em soluções nutritivas no laboratório. Considerando ainda os dados de Capão Bonito (Tabela 6) verificou-se que as correlações simples entre as alturas médias das plantas e os comprimentos médios das raízes dos vinte genótipos em soluções nutritivas contendo Al³⁺ foram positivas e significativas, apenas quando consideradas as concentrações de 6, 8 e 10 mg L⁻¹ de Al³⁺; a correlação simples entre as médias das alturas das plantas e das produções de grãos dos vinte genótipos foi positiva e significativa (0,69*). Portanto, nas condições de sequeiro e solo ácido, nas plantas mais produtivas, houve tendência ao porte semi-anão mais alto e tolerância à toxicidade de alumínio. Em solos com alumínio tóxico as linhagens sensíveis a esse elemento têm crescimento (porte) reduzido.

Nos ensaios de Mococa, as correlações entre as médias das produções de grãos e das alturas das plantas com os comprimentos médios radiculares dos vinte genótipos nas diferentes concentrações de Al³⁺ não foram significativas (Tabelas 5 e 6). A correlação simples entre a média das alturas das plantas e das produções de grãos dos vinte genótipos foi de -0,01. Esses resultados sugerem que os genótipos mais adaptados (mais produtivos) às condições de solo corrigido e com irrigação por aspersão independem do grau de tolerância à toxicidade de Al³⁺, em soluções nutritivas, concordando com CAMARGO et al. (2003). Esse fato ocorre, talvez, devido às raízes das plantas de trigo em solo irrigado e corrigido permanecer na camada arável do solo, não necessitando buscar água em camadas mais profundas, onde o solo não foi corrigido, evitando assim o efeito da toxicidade de Al³⁺. Nas condições de Mococa não houve tendência das plantas mais altas serem as mais produtivas e tolerantes à toxicidade de alumínio.

Tabela 3. Graus médios de infecção de ferrugem-da-folha⁽¹⁾ dos 20 genótipos de trigo avaliados nos Ensaios de Novas Linhagens provenientes de cruzamentos interespécíficos, instalados em Capão Bonito e Mococa, nos anos de 2003 e 2004

Genótipos	Origem	Capão Bonito			Mococa		
		2003	2004	Média	2003	2004	Média
1	H.639	IAC-51/4/SON64/Y50E//GTO/3*CIANO = IAC-24	8S	20S	14S	15S	13S
2	-	BOW//NAC/VEE/3/BJY/COC = IAC-370	5S	20S	13S	15S	15S
3	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	40S	30S	35S	25S	30S
4	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	13S	30S	22S	25S	15S
5	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	20S	20S	20S	20S	25S
6	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	40S	20S	30S	15S	35S
7	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	35S	25S	30S	15S	25S
8	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	35S	35S	35S	30S	30S
9	H.18856	Maya"S"/SPRW"S"/SAP"S"/3/BUC"S"/4/IAC-225/5/IAC-1003	25S	25S	25S	20S	20S
10	H.18861	IAC-209/IAC-24//IAC-1003	8S	10S	9S	15S	13S
11	H.18877	F3.71/TRM//CN079/3/IAC-24/4/IAC-1003	25S	20S	23S	20S	35S
12	H.18875	IAC-60/IAC-1003	13S	15S	14S	10S	5S
13	H.18875	IAC-60/IAC-1003	tS	8S	5S	8S	7S
14	H.18875	IAC-60/IAC-1003	0	0	0	0	tS
15	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	25S	25S	25S	25S	30S
16	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	30S	25S	28S	25S	30S
17	H.18720	BH-1146/IRN-165-73//ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	25S	10S	18S	25S	30S
18	H.18754	FCT"S"/3/GOV/AZ//MUS"S"/4/BUC"S"/5/IAC-1003	5S	10S	18S	18S	15S
19	H.18754	FCT"S"/3/GOV/AZ//MUS"S"/4/BUC"S"/5/IAC-1003	8S	8S	8S	15S	10S
20	H.18899	BH-1146//(WIN"S"/AA"S")/3/IAC-287	8S	15S	12S	25S	10S

⁽¹⁾ Avaliação de ferrugem-da-folha foi feita segundo Mehta (1993) : 0 = imune; t a 5% de área infectada = resistente; 6% a 25% = moderadamente resistente; 26% a 50% = suscetível, e 51% a 99% = altamente suscetível; t = traço (apenas algumas pústulas); S = tipo de reação de suscetibilidade.

Tabela 4. Comprimento médio das raízes⁽¹⁾ dos 20 genótipos de trigo avaliados nos Ensaios de Novas Linhagens provenientes de cruzamentos interespecíficos, após 72 horas de crescimento em solução completa, após tratamento em soluções contendo diferentes concentrações de alumínio

Genótipos	Origem	Concentração de alumínio (mg L ⁻¹)						
		0	2	4	6	8	10	
1	H.639	IAC-51/4/SON64/Y50E//GTO/3*CIANO = IAC-24	43,7	45,2	37,1	30,9	29,1	21,4
2	-	BOW//NAC/VEE/3/BjY/COC = IAC-370	66,8	8,6	0,0	0,0	0,0	0,0
3	H.18856	Maya "S" / SPRW "S" // SAP "S" / 3 / BUC "S" / 4 / IAC-225 / 5 / IAC-1003	65,9	26,9	15,3	6,6	3,7	1,0
4	H.18856	Maya "S" / SPRW "S" // SAP "S" / 3 / BUC "S" / 4 / IAC-225 / 5 / IAC-1003	61,0	29,5	11,9	4,0	3,2	1,0
5	H.18856	Maya "S" / SPRW "S" // SAP "S" / 3 / BUC "S" / 4 / IAC-225 / 5 / IAC-1003	69,3	27,2	13,7	5,4	2,1	0,8
6	H.18856	Maya "S" / SPRW "S" // SAP "S" / 3 / BUC "S" / 4 / IAC-225 / 5 / IAC-1003	65,8	22,3	10,8	6,7	1,6	0,6
7	H.18856	Maya "S" / SPRW "S" // SAP "S" / 3 / BUC "S" / 4 / IAC-225 / 5 / IAC-1003	66,7	26,9	14,9	6,3	2,5	1,1
8	H.18856	Maya "S" / SPRW "S" // SAP "S" / 3 / BUC "S" / 4 / IAC-225 / 5 / IAC-1003	67,7	25,0	9,0	5,7	2,7	0,7
9	H.18856	Maya "S" / SPRW "S" // SAP "S" / 3 / BUC "S" / 4 / IAC-225 / 5 / IAC-1003	64,4	24,7	12,6	7,2	1,6	0,3
10	H.18861	IAC-209/IAC-24//IAC-1003	55,5	34,4	23,4	10,5	2,8	1,1
11	H.18877	F3.71/TRM // CNO79/3/IAC-24/4/ IAC-1003	62,2	27,5	10,6	4,5	3,2	1,0
12	H.18875	IAC-60/IAC-1003	68,4	40,2	35,0	23,6	15,7	13,8
13	H.18875	IAC-60/IAC-1003	56,9	2,4	0,0	0,0	0,0	0,0
14	H.18875	IAC-60/IAC-1003	64,9	43,6	31,3	27,9	16,7	9,9
15	H.18720	BH-1146/IRN-165-73// ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	67,1	32,0	24,4	14,7	8,5	4,2
16	H.18720	BH-1146/IRN-165-73// ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	65,1	32,4	24,6	11,9	4,8	0,5
17	H.18720	BH-1146/IRN-165-73// ALD2-CMH77A917/3/IAC-1003	66,0	29,9	19,0	12,7	6,4	1,5
18	H.18754	FCT "S" / 3 / GOV / AZ / MUS "S" / 4 / BUC "S" / 5 / IAC-1003	65,4	34,3	29,4	10,2	4,3	5,0
19	H.18754	FCT "S" / 3 / GOV / AZ / MUS "S" / 4 / BUC "S" / 5 / IAC-1003	56,8	35,5	17,7	6,7	2,5	0,8
20	H.18899	BH-1146//(WIN"S" / AA"S")/3/IAC-287	64,3	39,6	34,6	18,2	10,4	5,0
	BH-1146	Anáhuac	68,7	65,5	48,9	45,2	42,2	34,9
			62,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

(1) Avaliação feita usando a média de 5 plântulas em 4 repetições.

Tabela 5. Estimativas das correlações simples entre as produções médias de grãos e os comprimentos médios das raízes dos vinte genótipos, nas diferentes concentrações de alumínio, nos Ensaios de Novas Linhagens, provenientes de cruzamentos interespecíficos, instalados em Capão Bonito e Mococa, nos anos de 2003 e 2004

Concentrações de Al ³⁺	Capão Bonito 2003-2004	Mococa 2003-2004
2	0,63*	0,23
4	0,63*	0,23
6	0,70*	0,13
8	0,61*	0,06
10	0,64*	0,06

Tabela 6. Estimativas das correlações simples entre as alturas médias das plantas e os comprimentos médios das raízes dos vinte genótipos, nas diferentes concentrações de alumínio, nos Ensaios de Novas Linhagens, provenientes de cruzamentos interespecíficos, instalados em Capão Bonito e Mococa, nos anos de 2003 e 2004

Concentrações de Al ³⁺	Capão Bonito 2003-2004	Mococa 2003-2004
2	0,26	-0,11
4	0,40	0,05
6	0,52*	0,07
8	0,52*	0,04
10	0,55*	0,18

4. CONCLUSÕES

1. O emprego de cruzamentos interespecíficos foi eficiente, originando após vários ciclos de seleção, genótipos com características agronômicas desejáveis.

2. Em condições de sequeiro e solo ácido, a linhagem 14 destacou-se pela resistência completa ao agente causal da ferrugem-da-folha e tolerância à toxicidade de alumínio em soluções nutritivas, o que também ocorreu em relação à produção de grãos.

3. As cultivares IAC-24, IAC-370 e as linhagens 5, 9, 10, 12, 13, 18, 19 e 20 foram moderadamente resistentes à ferrugem-da-folha, nos dois locais.

4. A linhagem 14, pela resistência à ferrugem-da-folha em todos os ensaios, poderá ser utilizada como fonte de resistência genética dessa característica, em hibridações, em programas de melhoramento.

5. Todos os genótipos foram tolerantes à toxicidade de alumínio por terem crescimento da raiz primária após tratamento com 10 mg L⁻¹ de alumínio, exceto a cultivar Anahuac, sensível a 2 mg L⁻¹, da IAC-370 e da linhagem 13, sensíveis a 4 mg L⁻¹.

6. A produção de grãos, em condição de sequeiro e solo ácido, e o porte das plantas foram afetados de forma semelhante pela toxicidade de alumínio.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro ao projeto e ao CNPq e CAPES pela concessão de bolsas.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL, 2004. **Consultoria e Agroinformativos**. Anuário da Agricultura Brasileira, 2004. p. 479-486

CAMARGO, C.E.O. Melhoramento do trigo. I. Hereditariedade da tolerância à toxicidade do alumínio. **Bragantia**, Campinas, v.40, n.1, p.33-45, 1981.

CAMARGO, C.E.O. Melhoramento do trigo. IX. Estudo genético de fontes de nanismo. **Bragantia**, Campinas, v. 43, n.2, p.591-603, 1984 a.

CAMARGO, C.E.O. Melhoramento do trigo. X. Estimativas da herdabilidade e correlações entre tolerância à toxicidade de alumínio e produção de grãos com outros caracteres agronômicos em trigo. **Bragantia**, Campinas, v. 43, n.2, p.615-628, 1984 b.

CAMARGO, C.E.O.; FELICIO, J.C.; TULMANN NETO, A.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; PETTINELLI JÚNIOR, A.; CASTRO, J. L. Melhoramento do trigo: XXVIII. Novos genótipos obtidos por seleções em população segregante interespecífica submetida à irradiação gama. **Bragantia**, Campinas, v. 54, n.1, p.51-65, 1995.

CAMARGO, C.E.O.; FELICIO, J.C.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; BARROS, B.C.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; PETTINELLI JÚNIOR, A. Comportamento agronômico de linhagens de trigo no Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n.1, p.35-44, 2001.

CAMARGO, C.E.O.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; FELICIO, J.C.; RAMOS, L.C.S.; PETTINELLI-JÚNIOR, A.; FOLTRAN, D.E.; CASTRO, J.L.; LOBATO, M.T.V. Linhagens diaplóides de trigo: desempenho agronômico em dois locais do Estado de São Paulo e tolerância à toxicidade de alumínio em laboratório. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n.2, p.253-268, 2006.

CAMARGO, C.E.O.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; RAMOS, L.C.S.; PETTINELLI JÚNIOR, A.; CASTRO, J.L.; FELÍCIO, J. C.; SALOMON, M.V.; MISTRO, J. C. Comportamento de linhagens diaplóides de trigo em dois locais do Estado de São Paulo. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n.2, p.217-226, 2003.

CAMARGO, C.E.O.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; TULMANN NETO, A.; PETTINELLI JÚNIOR, A.; CASTRO, J.L.; FELÍCIO, J.C.; MISTRO, J.C.; SALOMON, M.V. Avaliação de linhagens de trigo originárias de hibridação com e sem irradiação gama. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.1: 61-74, 2005.

CAMARGO, C.E.O.; TULMANN NETO, A.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; FELÍCIO, J.C.; CASTRO, J.L.; PETTINELLI JÚNIOR, A. Novos genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) obtidos por irradiação gama. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.54, n.3: 195-202, 1997.

INSTITUTO AGRONÔMICO. **Recomendações da Comissão Técnica de Trigo para 2002**. 3.ed.atual. Campinas: Instituto Agronômico, 2002. 92p. (Série Tecnológica APTA, Boletim Técnico IAC, 167)

GOMES, F. P. **Curso de Estatística Experimental**. 14 ed. Piracicaba: Livraria Nobel, 2000. 477p.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Controle das ferrugens do trigo com fungicidas triazóis em dose normal e em metade da dose isolados ou em mistura ao mancozeb. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.1, p.80-83, 1992.

KHAN, M. A.; TREVATHAN, L. E.; ROBBINS, J. T. Quantitative relationship between leaf rust and wheat yield in Mississippi. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, n.7, p. 769-772, 1997.

MEHTA, Y. R. Manejo integrado de enfermedades del trigo. Santa Cruz de la Sierra: Imprenta Landivar, S. R. L., 1993. 314 p.,

MISTRO, J.C.; CAMARGO, C.E.O.; PETTINELLI JÚNIOR, A. Avaliação de genótipos de trigo, de diferentes origens, em relação à toxicidade de alumínio. **Bragantia**, Campinas, v.60, n.3, p.177-184, 2001.

MOORE, D.P.; KRONSTAD, W.E.; METZGER, R.J. Screening wheat for aluminum tolerance. In: WRIGHT, M.J. (Ed.). WORKSHOP ON PLANT ADAPTATION TO MINERAL STRESS IN PROBLEM SOILS. Beltsville, Maryland, 1976. **Proceedings...** Ithaca: Cornell University, 1976. p. 287-295

PICININI, E.C.; PRESTES, A. M. Fungos: prejuízo certo na lavoura. **A Granja**, julho, 1985.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; HOFFMAN, L.; MENDES, E. M. Effect of leaf rust on wheat grain yield. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, n.1, p.67-71, 2000.

SALOMON, M.V.; CAMARGO, C.E.O.; FERREIRA FILHO, A. W. P.; PETTINELLI JÚNIOR, A.; CASTRO, J. L. Desempenho de linhagens de trigo obtidas via cultura de anteras quanto à tolerância ao alumínio, produção de grãos e altura de plantas. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.2, p.189-198, 2003.