

ANA CLAUDIA KLOSOWSKI

ESCALA DIAGRAMÁTICA, SEGREGAÇÃO DA RESISTÊNCIA EM PROGÊNIES DE
CANA-DE-AÇÚCAR E REAÇÃO DE CULTIVARES À FERRUGEM ALARANJADA
(*Puccinia kuehnii*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. João Carlos Bessalok Filho.
Co-orientadoras: Prof^a. Dr^a. Louise Larissa May De Mio e Prof^a. Dr^a. Lucimeris Ruaro.

CURITIBA

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL

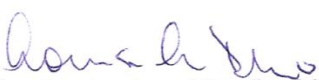


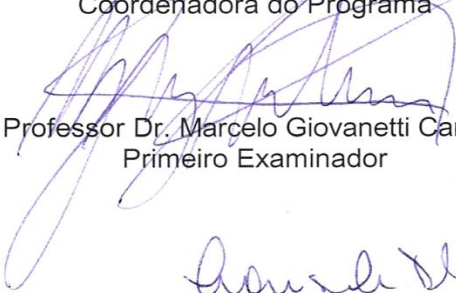
PARECER


Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pela candidata **ANA CLAUDIA KLOSOWSKI**, sob o título “**ESCALA DIAGRAMÁTICA, SEGREGAÇÃO DA RESISTÊNCIA EM PROGÊNIES DE CANA-DE-AÇÚCAR E REAÇÃO DE CULTIVARES À FERRUGEM ALARANJADA (*Puccinia kuehni*)**”, para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação.

Curitiba, 12 de Julho de 2012.


Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Coordenadora do Programa


Professor Dr. Marcelo Giovanetti Canteri
Primeiro Examinador


Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Segunda Examinadora


Professor Dr. João Carlos Bespalhok Filho
Presidente da Banca e Orientador

Á Deus.

Por estar sempre ao meu lado, guiando meu caminho.

**Aos meus pais, Adelmo e Beatriz, às minhas irmãs, Ana Barbara e Ana Beatriz e ao meu
namorado Julio.**

Pelo amor e apoio em todos os momentos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, que sempre guia meus passos, protegendo, dando força e confortando meu coração nos momentos difíceis.

À minha mãe, Beatriz, por ter me incentivado a ingressar no Mestrado e por sempre me dar apoio e amor nos momentos que mais precisei.

Ao meu pai, Adelmo, por sempre acreditar em mim, me apoiar a desenvolver pesquisa e demonstrar orgulho da minha trajetória.

Às minhas irmãs, Ana Barbara e Ana Beatriz, pela amizade, confiança e por demonstrarem entusiasmo pelo meu trabalho.

Ao meu namorado, Julio, pela ajuda nos trabalhos, companheirismo, amor e compreensão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. João Carlos Bernaldo Filho, pela oportunidade de iniciar o Mestrado, por seus ensinamentos, sua confiança e amizade.

À minhas co-orientadoras, Profa. Dra. Larissa May De Mío e Profa. Dra. Lucimeris Ruaro, pela orientação indispensável, pela acolhida e amizade e pelos ensinamentos que muito contribuíram para a minha formação profissional.

A todos os meus professores da Pós-Graduação, em especial, ao Prof. Dr. Átila Francisco Mógor, pela amizade e incentivo à pesquisa desde a época da graduação, ao Prof. Dr. Edelclaiton Daros e Prof. Dr. Ricardo Augusto de Oliveira, pelo auxílio e contribuição neste trabalho.

À secretária, Lucimara Antunes, pelo auxílio, disposição e dedicação sempre.

Aos amigos e colegas da Pós-Graduação, pela ótima convivência, companheirismo e por compartilharem de momentos difíceis e de boas risadas no decorrer deste curso.

Aos meus amigos e familiares, pela amizade e apoio.

Aos técnicos da Estação Experimental de Paranaíba, da Universidade Federal do Paraná, e principalmente ao Eng. Agr. Reginaldo Batista Fragozo, pelo apoio e contribuição neste trabalho.

Aos técnicos e funcionários do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, em especial à Maria Emília Kudla e Virgínia Tenorio de Carvalho, pelo apoio prestado.

Ao REUNI pela concessão de bolsa de estudos no período de setembro de 2010 a janeiro de 2012.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos no período de fevereiro a julho de 2012.

À FUNPAR, pelo suporte financeiro nas viagens realizadas para execução dos experimentos.

À Universidade Federal do Paraná e Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Produção Vegetal, pela oportunidade de realização do Mestrado.

E a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho, acreditaram em mim e torceram pelo meu sucesso.

“Não sabendo que era impossível, foi lá e fez.”

Jean Cocteau

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar e a ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*) é uma doença de importância recente na cultura que já causou danos de 40% na produção em cultivares susceptíveis. Os estudos sobre o comportamento da doença no Brasil ainda são incipientes. Diante disso, os objetivos desse trabalho foram: (i) elaborar e validar uma escala diagramática para avaliação da ferrugem alaranjada; (ii) analisar o padrão da herança da resistência à *P. kuehnii* em famílias oriundas de cruzamentos entre genitores com diferentes reações à doença; (iii) avaliar a reação de 28 cultivares à ferrugem alaranjada, estabelecer a data mais adequada para os programas de melhoramento avaliarem reação de cultivares e verificar os períodos de incubação e latência e a incidência e severidade na cultivar padrão susceptível, em condições controladas. Para elaboração da escala, foram coletadas 120 folhas de uma cultivar susceptível e selecionou-se a maior e a menor severidade encontradas como extremos da escala. Os níveis intermediários foram calculados de acordo com a lei de Weber-Fechner. Para análise da herança da resistência, foi avaliada a severidade de oitenta plantas de oito famílias resultantes de dois cruzamentos entre genótipos resistentes, quatro cruzamentos entre genótipos resistentes e susceptíveis, e dois cruzamentos entre genótipos susceptíveis. Para avaliar a reação das cultivares, foi estimada a severidade em uma avaliação em cana-planta e quatro avaliações em cana-soca, a partir das quais se calculou a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD). Inoculou-se plantas da cultivar padrão susceptível em casa-de-vegetação e avaliações de incidência e severidade foram feitas até os 20 dias após a inoculação (DAI). A escala diagramática foi proposta com nove níveis de severidade: 0,06; 0,14; 0,36; 0,89; 2,17; 5,18; 11,87; 24,92 e 45,00%. Ela foi adequada para avaliar a severidade da doença para todos os avaliadores, que obtiveram um coeficiente de determinação (R^2) médio de 0,91. Além disso, com auxílio da escala, aproximadamente 92% das estimativas dos avaliadores estiveram na faixa de 5% para mais ou para menos do valor da severidade real. Dentre as progênies avaliadas, uma apresentou comportamento condizente com a hipótese de um gene de efeito maior, sugerindo que a resistência à ferrugem alaranjada pode ser controlada por um gene maior e por vários genes menores agindo quantitativamente. Pela ocorrência da segregação transgressiva, mesmo nos cruzamentos entre dois genótipos susceptíveis, originaram-se indivíduos resistentes à doença. Na avaliação da reação de cultivares, 14 dentre as 28 cultivares apresentaram susceptibilidade à ferrugem alaranjada. Estas foram diferenciadas em quatro grupos, sendo a RB72454 a mais susceptível. A avaliação em maio foi a que mais se correlacionou com a AACPD, sendo a data mais adequada para os programas de melhoramento avaliarem reação de cultivares à ferrugem alaranjada, na região norte do Paraná. Os períodos de incubação e latência na cultivar susceptível foram de sete e dez dias, respectivamente. A incidência correspondeu a 88,7% das folhas e a severidade, a 62 pústulas na área de 5 cm² das folhas, aos 20 DAI. As folhas +3 e +1 foram adequadas para avaliação de componentes monocíclicos.

Palavras-chave: Avaliação de doenças. Epidemiologia. Herança da resistência. Níveis de susceptibilidade. Incubação. Latência.

ABSTRACT

Brazil is the world's largest producer of sugarcane. The orange rust (*Puccinia kuehnii*) has already caused damage of 40% in production of susceptible cultivars. Studies about the behavior of the orange rust in Brazil are still incipient. Therefore, the aims of this study were: (i) to elaborate and validate a diagrammatic scale for orange rust; (ii) to analyze the pattern of inheritance of resistance to orange rust in sugarcane families originated from crosses between parents with different reaction to disease; (iii) to assess the reaction of 28 cultivars to orange rust, to establish the most appropriate date for the breeding programs assess the reaction of cultivars and to verify the incubation and latency periods and to determine the incidence and severity in the susceptible standard cultivar under controlled conditions. For the design of the scale, 120 sugarcane leaves were collected of a susceptible cultivar and the highest and the lowest severity founded were selected as extremes of scale. The intermediate levels were calculated according to the law of Weber-Fechner. To analyze the inheritance of resistance, the severity of eighty plants of eight families resulting from crosses between two resistant genotypes, four crosses between resistant and susceptible genotypes and two crosses between susceptible genotypes were assessed. To assess the reaction of cultivars, the severity was estimated in an assessment in plant cane and four assessments in ratoon crops, from which were calculated the area under the disease progress curve (AUDPC). Plants of susceptible standard cultivar were inoculated at greenhouse and the plants were assessed until 20 days after inoculation (DAI). The scale was proposed with nine levels of severity: 0.06; 0.14; 0.36; 0.89; 2.17; 5.18; 11.87; 24.92 and 45.00%. The validation was accomplished by eight appraisers who estimated the severity of 120 leaves, with and without the proposed diagrammatic scale. The scale was efficient to evaluate the severity of this disease, for all the appraisers, who had an average coefficient of determination (R^2) of 0.91. Moreover, with use of the scale, approximately 92% of the estimates of the appraisers had been in the range of 5% for more or less of the value of real severity. Among the progenies, only one cross showed a pattern consistent with the hypothesis, suggesting that the resistance to rust may be controlled by a major gene and several genes acting quantitatively. There was occurrence of transgressive segregation, because even in crosses between two susceptible genotypes, originated individuals resistant to disease. Of the assessed cultivars, 14 showed some degree of susceptibility of orange rust. These are divided into four groups and the RB72454 were more susceptible than others. The assessment in May, was the date that most correlated with AUDPC, being the most appropriate date for breeding programs assessing susceptibility of cultivars to orange rust in the Northern Paraná State. The incubation and latency periods in the susceptible standard cultivar were seven and ten days, respectively. At 20 DAI, the incidence and severity were near to 90% and 65 pustules, respectively. The leaves +3 and +1 may be recommended for assessing monocycle components.

Key-words: Diseases assessment. Epidemiology. Inheritance of resistance. Susceptibility levels. Incubation. Latency.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	15
2.1.1 Características Gerais.....	15
2.2 DOENÇAS NA CANA-DE-AÇÚCAR.....	16
2.3 FERRUGENS DA CANA-DE-AÇÚCAR	16
2.3 FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	19
2.4 AVALIAÇÃO DE DOENÇAS	24
2.5 HERANÇA DA RESISTÊNCIA ÀS FERRUGENS DA CANA-DE-AÇÚCAR.....	25
3 PROPOSTA E VALIDAÇÃO DE ESCALA PARA A FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR	28
3.1 INTRODUÇÃO	29
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	31
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
3.4 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
4 HERANÇA DA RESISTÊNCIA À FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR	37
4.1 INTRODUÇÃO	38
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	39
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.4 CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS.....	46
5 REAÇÃO DE CULTIVARES À FERRUGEM ALARANJADA E RECOMENDAÇÃO DE ÉPOCA DE AVALIAÇÃO AOS PROGRAMAS DE MELHORAMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR	48
5.1 INTRODUÇÃO	49
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	51
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
5.4 CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS.....	61

6 CONCLUSÃO GERAL	66
REFERÊNCIAS	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 - Coeficientes lineares (a), angulares (b) e de correlação (R^2), obtidos nas regressões entre severidade real e estimada da doença, a partir de folhas de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.) com sintomas de ferrugem alaranjada causada pelo fungo <i>Puccinia kuehnii</i> , em avaliações sem auxílio de escala e com o uso da escala elaborada para a ferrugem alaranjada.....	32
Tabela 3.2 - Desvio máximo em valor absoluto (D.M.V.A.), valores na faixa de variação de 10% (valores = $x \pm 10$) e valores na faixa de variação de 5% (valores = $x \pm 5$) das estimativas dos avaliadores em relação ao valor de severidade real de folhas de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.) com sintomas de ferrugem alaranjada causada pelo fungo <i>Puccinia kuehnii</i> , sem auxílio de escala e com o uso da escala elaborada para a ferrugem alaranjada.....	33
Tabela 4.1 - Teste de qui-quadrado, seguindo a hipótese de Dougrois et al. (1996), das famílias avaliadas quanto à reação à ferrugem alaranjada, causada pelo fungo <i>Puccinia kuehnii</i> , pertencente ao Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA).....	41
Tabela 5.1 - Médias de severidade da ferrugem alaranjada (<i>Puccinia kuehnii</i>), em cana-planta e cana-soca, e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), em cana-soca, de cultivares de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.) plantadas no Estado do Paraná.....	53
Tabela 5.2 - Correlação de Pearson entre os resíduos de cada data de avaliação da severidade da ferrugem alaranjada (<i>Puccinia kuehnii</i>), em cana-planta e cana-soca, e da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), em cana-soca.....	54
Tabela 5.3 - Incidência (% de folhas com sintomas em relação ao nº total de folhas) e severidade (nº de pústulas na área de 5 cm ²) da ferrugem alaranjada (<i>Puccinia kuehnii</i>) nas diferentes folhas da cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.), cultivar RB72454, em três datas de avaliação em casa-de-vegetação.....	57

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 - Diferenças entre a ferrugem alaranjada e a ferrugem marrom. (A) Pústulas <i>Puccinia melanocephala</i> e <i>Puccinia kuehnii</i> . Foto: Lucimeris Ruaro (2010) (B) Urediniósporos de <i>P. melanocephala</i> e (C) urediniósporos de <i>P. kuehnii</i> (D) Equinulações de <i>P. melanocephala</i> e (E) equinulações de <i>P. kuehnii</i> . Fonte: Ordóñez, Sánchez e Kafure (2010).....	17
Figura 2.2 - (A) Sintomas da ferrugem alaranjada na folha. (B) Morfologia de urediniósporos de <i>Puccinia kuehnii</i> . (C) Urediniósporos de <i>P. kuehnii</i> em processo de germinação. Fonte: O autor (2011).....	19
Figura 2.3 - Ciclo de vida do fungo <i>Puccinia kuehnii</i> . Fonte: Modificado pelo autor (2012).....	20
Figura 2.4 - (A) Folha mostrando lesão que contém teliósporo de <i>Puccinia kuehnii</i> . (B) Lesão esbranquiçada de teliósporo de <i>P. kuehnii</i> . Fonte: Magarey (2000).....	21
Figura 3.1 - A) Sintomas da ferrugem alaranjada, causada pelo fungo <i>Puccinia kuehnii</i> , em folhas de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.); B) Sintomas da ferrugem marrom, causada pelo fungo <i>Puccinia melanocephala</i> , em folhas de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.).....	29
Figura 3.2 - Escala diagramática para avaliação de severidade da ferrugem alaranjada, causada pelo fungo <i>Puccinia kuehnii</i> em folhas de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.). Valores em porcentagem de área foliar lesionada.....	31
Figura 4.1 - Distribuição de frequência dos genótipos avaliados nas oito progênies de cana-de-açúcar, nas classes de resistência e susceptibilidade à ferrugem alaranjada (<i>Puccinia kuehnii</i>).....	40
Figura 5.1 - Dendrograma resultante da análise de agrupamento de 14 genótipos de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.) com base em valores médios de severidade da ferrugem alaranjada (<i>Puccinia kuehnii</i>), nas avaliações em cana-planta, dez meses, e cana-soca, três, cinco, sete e nove meses.....	55
Figura 5.2 - Severidade da ferrugem alaranjada (<i>Puccinia kuehnii</i>) em folhas de cana-de-açúcar (<i>Saccharum</i> spp.), da cultivar RB72454, aos 20 dias após a inoculação.....	59

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cana-de-açúcar é produzida em 121 países, sendo 88% da produção mundial concentrada nos 15 maiores produtores. O Brasil é líder na produção da cultura, seguido da Índia, China, Tailândia e México, correspondendo sozinho a 42% da produção mundial (FAO, 2010). A produção nacional na última safra (2011/2012) correspondeu a 571.439.300 t, proveniente de uma área plantada de mais de oito milhões de hectares. Neste contexto, o Paraná contribui com aproximadamente 7% da produção, caracterizando-se como quarto maior produtor nacional de cana-de-açúcar, atrás de São Paulo (54%), Minas Gerais (9%) e Goiás (8%) (CONAB, 2012).

Um dos fatores que limita a produtividade da cana-de-açúcar é a ocorrência de doenças. A maioria das doenças da cana-de-açúcar é controlada por resistência genética (TOKESHI e RAGO, 2005), ressaltando a importância da atuação dos programas de melhoramento em incorporar resistência nas principais cultivares ou selecionar genótipos promissores que contenham essa resistência. Entretanto, normalmente a resistência a doenças nessa cultura tem caráter quantitativo, o que significa que as cultivares podem apresentar certo grau de susceptibilidade no campo (ROSSETO e SANTIAGO, 2005).

A ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E.J. Butler, tem importância recente na cultura, pois apesar de ser uma doença antiga na Ásia e Austrália, até o ano 2000 não havia causado danos à produção da cana-de-açúcar. Neste ano, os danos na Austrália chegaram a 40% da produção (MAGAREY *et al.*, 2001). No Brasil, o fungo chegou em 2009 (BARBASSO *et al.*, 2010), causando preocupação dentre os produtores e os melhoristas da cultura, especialmente porque uma importante cultivar, RB72454, ainda muito plantada, principalmente no Estado do Paraná (20% da área), e também muito utilizada nos programas de cruzamentos da cana, se apresentou bastante susceptível à doença no campo. Outras cultivares importantes também são consideradas susceptíveis à ferrugem alaranjada, como a SP89-1115, a SP84-2025 (MAPA, 2010) e a SP81-3250 (MINCHIO, CANTERI e ROCHA, 2011).

Além de algumas cultivares importantes serem susceptíveis à ferrugem alaranjada, outras cultivares comerciais e clones de programas de melhoramento podem apresentar uma susceptibilidade intermediária à doença, causando dúvida sobre o comportamento das mesmas no decorrer das estações do ano e do seu estágio fenológico.

Para se estudar uma doença nova no país, algumas pesquisas primárias se tornam necessárias para o conhecimento do comportamento do patógeno nas condições e cultivares locais. Primeiramente, para se desenvolver medidas de controle e se estudar variáveis epidemiológicas de uma doença é importante a sua quantificação (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 1996). Desde que a ferrugem alaranjada chegou ao Brasil, a avaliação da sua severidade vem sendo feita com a escala diagramática de Amorim *et al.* (1987), desenvolvida para a ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala* Syd. et P. Syd.). Visto as diferenças no padrão de sintomas das duas doenças, o uso desta escala pode comprometer a exatidão das estimativas (KLOSOWSKI *et al.*, 2012).

Outro aspecto fundamental a se estudar, especialmente numa doença controlada pelo uso de cultivares resistentes, é o modo de transferência dessa resistência nos cruzamentos. Os trabalhos estudando a herança da resistência à ferrugem alaranjada são escassos e, portanto, não se tem nenhuma informação sobre o comportamento de progênies oriundas de genitores susceptíveis à doença. Com esse conhecimento, poder-se-á sugerir se cultivares como a RB72454, importante genitora de novas cultivares e muito susceptível à ferrugem alaranjada, pode permanecer nos programas de cruzamentos. Quando trabalharam com a herança da resistência à ferrugem marrom, Hogarth, Ryan e Taylor (1993) rejeitaram os cruzamentos entre pais susceptíveis à doença em seu programa de melhoramento, concluindo que genitores susceptíveis eram improváveis de produzir uma progênie resistente.

O conhecimento da reação de cultivares à ferrugem alaranjada também se constitui numa informação importante tanto aos canavicultores como aos melhoristas. Para aqueles, o estudo sugere o que plantar em seus canaviais. Para estes, indica a manutenção ou eliminação de cultivares em seus programas. Este estudo se torna essencial para entender o comportamento da doença ao longo do tempo e classificar cultivares quanto aos diferentes graus de susceptibilidade à ferrugem alaranjada. Desde a chegada da doença no Brasil, em 2009 (BARBASSO *et al.*, 2010), pouco se conhece sobre a reação das cultivares brasileiras à ferrugem alaranjada e, tampouco, sobre o comportamento das mesmas em relação à doença no decorrer das estações. Além disso, caracterizar os períodos de incubação e latência e severidade da doença no monociclo para uma cultivar susceptível é um passo importante para comparar cultivares e inferir sobre a possível ocorrência de resistência quantitativa.

Com base no contexto descrito, os objetivos deste estudo foram: (i) elaborar e validar uma escala diagramática para avaliação de severidade da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar; (ii) analisar o padrão da herança da resistência à *P. kuehni*, em famílias oriundas de cruzamentos entre genitores com diferentes reações à doença; (iii) avaliar a reação de 28

cultivares, plantadas no Estado do Paraná, à ferrugem alaranjada, estabelecer a data mais adequada para os programas de melhoramento avaliarem a reação de cultivares, verificar períodos de incubação e latência e determinar incidência e severidade da ferrugem alaranjada nas folhas da cultivar padrão susceptível, em condições controladas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTURA DA CANA-DE-AÇÚCAR

2.1.1 Características Gerais

A cana-de-açúcar é uma das mais importantes espécies cultivadas em todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, com uma área maior que 23 milhões de hectares distribuídos em 121 países (FAO, 2010). O cenário mundial encontra-se favorável ao comércio dos seus principais produtos, açúcar e etanol, e isso estimula o desenvolvimento do setor sucroalcooleiro.

A cana é uma planta da família Poaceae e sua origem é ainda discutida na literatura. A teoria mais aceita atualmente é que a cana é originária da Nova Guiné e ilhas vizinhas e que foi levada para o sul da Ásia (FAUCONNIER e BASSEREAU, 1975). A planta foi trazida para o Brasil pelos portugueses na primeira década do século XVI. Primeiramente a cultura se desenvolveu com sucesso no nordeste brasileiro, tornando o Brasil o maior produtor e exportador de cana-de-açúcar nos séculos XVI e XVII (PEREIRA, 1977).

Atualmente, o Brasil conta com uma área plantada de 8.368.000 ha, que representa 35% da área plantada com cana-de-açúcar no mundo. A maior quantidade de canaviais se concentra no interior de São Paulo, que representa 51,66% da área plantada de cana no Brasil, seguido por Minas Gerais (8,87%), Goiás (8,10%), Paraná (7,30%) e Mato Grosso do Sul (5,74%), sendo que a cana é produzida em 22 estados brasileiros (CONAB, 2012).

Segundo o último levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2012 – Levantamento da cana-de-açúcar-abril/2012), a lavoura de cana-de-açúcar continua em expansão no Brasil. Os progressivos aumentos de área são encontrados no Mato Grosso do Sul (12,5%), Goiás (7,9%), Espírito Santo (7,35%), Mato Grosso (5,5%), Bahia (5,3%), e Minas Gerais (3,5%). Além do aumento da área cultivada, nos últimos dois anos, novas usinas entraram em funcionamento, sendo três em Minas Gerais, duas em São Paulo, duas em Goiás e nos Estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Rio de Janeiro, uma em cada (CONAB, 2012).

2.2 DOENÇAS NA CANA-DE-AÇÚCAR

Entre vários fatores limitantes à produção da cana-de-açúcar, destacam-se a ocorrência e a severidade de doenças, que se constituem na principal justificativa para a substituição de cultivares, devido ao decréscimo de produtividade provocado por elas (SANTOS, 2004).

De acordo com Landell *et al.* (2003), o início das pesquisas fitossanitárias com a cana-de-açúcar está associado ao surgimento da Gomose no séc. XIX, do Mosaico, em 1922, do Carvão, em 1947 e a expansão para áreas de cerrado a partir de 1975, com o advento do Programa Nacional do Álcool - PROALCOOL, criado pelo governo federal (Decreto 76593 de 14/11/1975).

Existem 216 doenças na cana-de-açúcar relatadas no mundo. Destas, 58 foram relatadas no Brasil até o ano de 1998, causadas por fungos, bactérias, vírus e micoplasmas (SANGUINO, 1998). Atualmente, 10 doenças podem ser consideradas de importância para os produtores e para os programas de melhoramento da cana no Brasil. São elas: escaldadura das folhas; raquitismo das soqueiras; mosaico; carvão da cana; estria vermelha; mancha parda; ferrugem marrom; podridão vermelha; podridão abacaxi e ferrugem alaranjada (CANAVIALIS, 2010).

2.3 FERRUGENS DA CANA-DE-AÇÚCAR

Dois tipos de ferrugem podem ocorrer na cana-de-açúcar, ambas doenças causadas por fungos do gênero *Puccinia*: a ferrugem marrom, causada por *P. melanocephala* Syd. et *P. Syd.*, e a ferrugem alaranjada, causada por *P. kuehnii* (W. Krüger) E.J. Butler.

A ferrugem marrom chegou ao Brasil em 1986, após oito anos da sua chegada aos países do Caribe e da América Central, vinda da África por correntes aéreas (SANGUINO *et al.*, 1987; SORDI *et al.*, 1988). Como 90% dos canaviais brasileiros eram plantados com cultivares resistentes, essa doença não provocou uma séria epidemia na sua chegada, considerando, no entanto, que ela pode causar perdas de até 50% da produção em cultivares susceptíveis e estas perdas podem ser significativas mesmo quando forem utilizadas cultivares com resistência intermediária (GIGLIOTI *et al.* 1999).

O primeiro registro da ferrugem alaranjada foi feito em 1890, por Krüger, na Ilha de Java. Somente em 1914, quando Butler encontrou os teliósporos do fungo é que o denominou *P. kuehnii* (RYAN e EGAN, 1989). Apesar de ser uma doença antiga da cana-de-açúcar, presente nos países do sudeste da Ásia e Oceania, não havia causado nenhum impacto econômico. Entretanto, no ano 2000, acredita-se que uma nova raça do patógeno desenvolveu-se nos canaviais da Austrália, atingindo a variedade Q124, antes considerada resistente à doença, que representava 45% da área plantada naquele país (MAGAREY *et al.*, 2001). Com isso, houve queda de 24% da produção, em toneladas de pol por hectare (TPH), gerando prejuízos na ordem de 210 milhões de dólares australianos (MAGAREY *et al.*, 2001).

Após isso, ocorrências foram registradas nos Estados Unidos (Flórida) (COMSTOCK *et al.*, 2008), Costa Rica (CHAVARRIA *et al.*, 2009) e Guatemala (OVALLE *et al.*, 2008), em 2007, Nicarágua (CHAVARRIA *et al.*, 2009) e Panamá (FLORES *et al.*, 2009), em 2008 e México (FLORES *et al.*, 2009), em 2009.

No Brasil, a primeira ocorrência notificada foi em Araraquara, no Estado de São Paulo, no dia 07 de dezembro de 2009. O foco foi detectado primeiramente em uma área experimental com diferentes cultivares de cana-de-açúcar (BARBASSO *et al.*, 2010).

No final de janeiro do ano de 2010, foi registrada a ocorrência da doença em Paranacity, no Estado do Paraná (PMGCA/UFPR/RIDESA, 2011). Atualmente, ela já está presente nos Estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul (CTC, 2011), Rio Grande do Norte e Alagoas (MONTEIRO, CRUZ e BARBOSA, 2012).

Antes de a ferrugem alaranjada chegar ao Brasil, algumas cultivares brasileiras foram testadas na Austrália quanto a sua reação à ferrugem alaranjada, e a cultivar RB72454 se apresentou susceptível à doença (MAGAREY, 2007). Esse fato aumentou o risco de danos no Brasil, pois além dessa cultivar ainda ser bastante plantada, representando uma área de mais de 250 mil hectares no país e, aproximadamente, 120 mil hectares no Paraná (RIDESA, 2012), ela é utilizada como genitora de muitos novos genótipos (RIDESA, 2010).

Primeiramente, é muito importante saber diferenciar a ferrugem alaranjada da ferrugem marrom. As diferenças, apesar de minuciosas, podem ser observadas tanto nos sintomas e época de ocorrência, quanto nas estruturas do agente causal (MAGAREY, 2000; VIRTUDAZO, NOJIMA e KAKISHIMA, 2001; INFANTE *et al.*, 2009)

Quanto às diferenças epidemiológicas, Magarey (2000) comentou que, a ferrugem alaranjada ocorre durante o verão úmido, atacando plantas na metade do ciclo até a maturação, o que também foi observado por Fragoso *et al.* (2011), em trabalho desenvolvido

no Brasil, quando afirmou que a maior incidência da doença ocorre na planta adulta. Em contrapartida, a ferrugem marrom ocorre em estações úmidas com temperaturas mais amenas na primavera e ataca plantas mais jovens (IDO *et al.*, 2006). Croft, Magarey e Whittle (2000) observaram que chuvas favorecem o desenvolvimento da ferrugem alaranjada, mas inibem o desenvolvimento da ferrugem marrom. No Brasil, pesquisas comparando a epidemiologia das duas doenças são escassas.

Em relação aos sintomas, as pústulas da ferrugem alaranjada tem coloração mais laranja, são menores e ovais, estando agrupadas na maioria das vezes. Já a ferrugem marrom se manifesta como pústulas marrom escuras, maiores e com formato alongado (Figura 2.1). (MAGAREY, 2000; INFANTE *et al.*, 2009; KLOSOWSKI *et al.*, 2012). As pústulas da ferrugem alaranjada são mais frequentes na base e meio das folhas e o terço apical apresenta poucos sintomas (MINCHIO, CANTERI e ROCHA, 2001). As lesões da ferrugem marrom tem distribuição aleatória, mais frequente do meio para a ponta das folhas (CDA, 2010).

Os urediniósporos de *P. kuehnii* são papilados e de tamanho maior que os de *P. melanocephala*. Além disso, os mesmos contém equinulações maiores e de distribuição mais irregular em relação ao que ocorre no urediniósporo da ferrugem marrom (Figura 2.1) (MAGAREY, 2000). Isso está de acordo com o observado por Virtudazo, Nojima e Kakishima (2001), em trabalho realizado com isolados coletados no Japão e nas Filipinas.

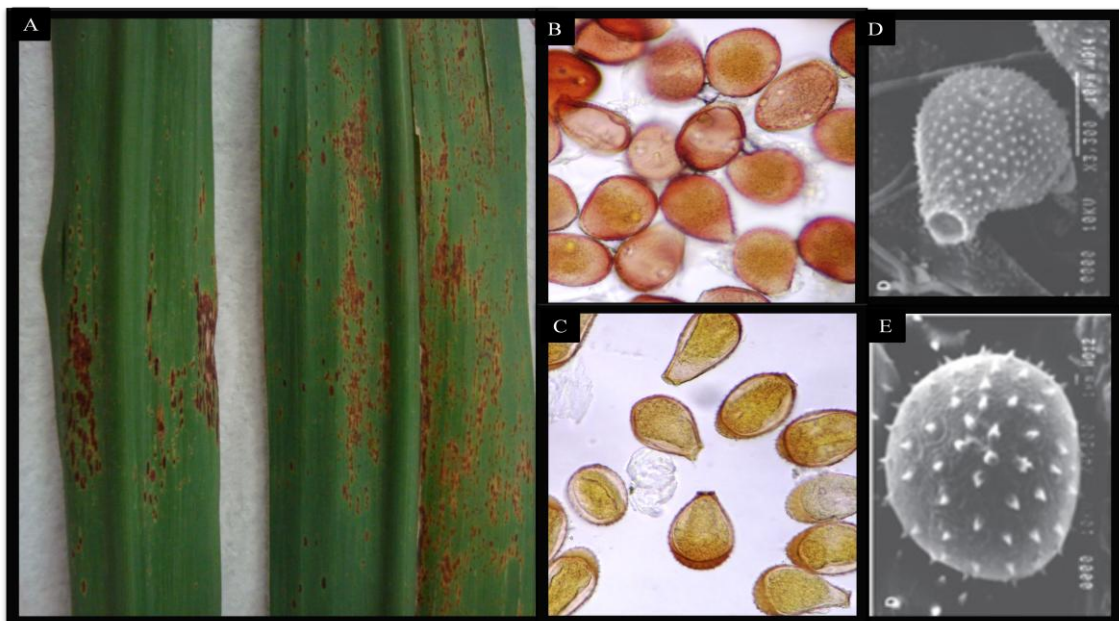


Figura 2.1 – Diferenças entre a ferrugem alaranjada e a ferrugem marrom. (A) Pústulas de *Puccinia melanocephala* (à esquerda) e *Puccinia kuehnii* (à direita). (B) Urediniósporos de *P. melanocephala* e (C) urediniósporos de *P. kuehnii*. (D) Equinulações de *P. melanocephala* e (E) equinulações de *P. kuehnii*.

Foto: (A) Lucimeris Ruaro (2010)

Fonte: (B), (C), (D) e (E) Ordóñez, Sánchez e Kafure (2010)

Outra ferramenta para diferenciar as duas ferrugens da cana-de-açúcar é a biologia molecular. Glynn *et al.* (2010) desenvolveram PCR convencional e PCR em tempo real para detectar *P. melanocephala* e *P. kuehnii* e conseguiram detectá-los antes mesmo do desenvolvimento dos sintomas, através de condições otimizadas do PCR em tempo real, alertando sobre cultivares que estavam sendo consideradas resistentes as doenças. Para isso foram desenhados primers espécie-específicos, localizados na região ITS1 e ITS2, tanto para a PCR convencional como para PCR em tempo real. A especificidade dos primers também foi testada para outros patógenos da cana-de-açúcar e ferrugens de outros hospedeiros, não havendo anelamento com o DNA de nenhum destes organismos.

2.3 FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR

A ferrugem alaranjada é causada pelo fungo *P. kuehnii*, que pertence à Divisão Basidiomycota, da Classe Pucciniomycetes, Ordem Pucciniales, da Família Pucciniaceae (INDEX FUNGORUM, 2012).

É um fungo filamentoso, biotrófico e possui uma baixa gama de hospedeiros, atacando principalmente plantas do gênero *Saccharum*, ao qual pertence a cana-de-açúcar, sendo hospedeiras deste fungo as espécies *S. arundinaceum*, *S. narenga*, *S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. robustum*, *S. barberi*, *S. sinense*, *S. edule*, além de *Sclerostachya fusca* (VIRTUDAZO, NOJIMA e KAKISHIMA, 2001). Hospedeiros alternativos estão relacionados com o ciclo da relação patógeno-hospedeiro, atuando como local de sobrevivência. No caso da cana-de-açúcar, o tecido susceptível encontra-se disponível o ano todo, não havendo, portanto, descontinuidade no ciclo do hospedeiro (AMORIM e PASCHOLATI, 2011). No entanto, o estudo destes hospedeiros pode ser importante para se entender o ciclo de vida do patógeno (PETERSEN, 1974).

A infecção ocorre através dos urediniósporos e o principal agente de disseminação é o vento, que permite a rápida dispersão do fungo a longas distâncias. Além do vento, a proliferação do fungo pode ocorrer através de ferramentas, gotas de água, roupas dos trabalhadores e mudas contaminadas (ESH, 2010).

A infecção é favorecida em condições de alta umidade relativa, temperaturas elevadas no verão (MAGAREY, 2000; OVALLE *et al.*, 2009) e alternância de calor e frio no outono (MAGAREY, 2000). Os esporos podem germinar em uma ampla faixa de temperatura (10 a

34 °C) e umidade relativa acima de 90% (HSIEH e FANG, 1983) sendo condições ótimas para germinação, temperaturas entre 22 e 24 °C e umidade relativa entre 98% e 99% (MAGAREY, NEILSEN e MAGNANINI, 2004). Martins (2010), trabalhando na Flórida, observou que a temperatura ótima para a germinação do urediniósporo de *P. kuehnii* é 20 °C, quando ocorre maior crescimento do tubo germinativo, e a condição que propicia a infecção da ferrugem alaranjada *in vivo* é de, no mínimo, oito horas de molhamento foliar e uma temperatura de 20 a 25 °C. Em trabalho realizado no Brasil, Minchio, Canteri e Rocha (2011) observaram que a temperatura ótima para germinação dos urediniósporos de *P. kuehnii* foi 21 °C, quando se teve um período de incubação de 14 horas. Com base nestas informações, Neubauer *et al.* (2011) desenvolveram o mapeamento espaço-temporal de zonas de risco da ferrugem alaranjada no Brasil. A favorabilidade para ocorrência da doença foi estimada considerando temperaturas entre 17 e 24 °C e umidade acima de 95%. Para a região centro-sul do Brasil, os meses de janeiro a abril e outubro a dezembro apresentaram maiores médias diárias de horas favoráveis ao desenvolvimento da ferrugem alaranjada. E para o litoral nordestino, essa maior favorabilidade foi encontrada de maio a setembro.

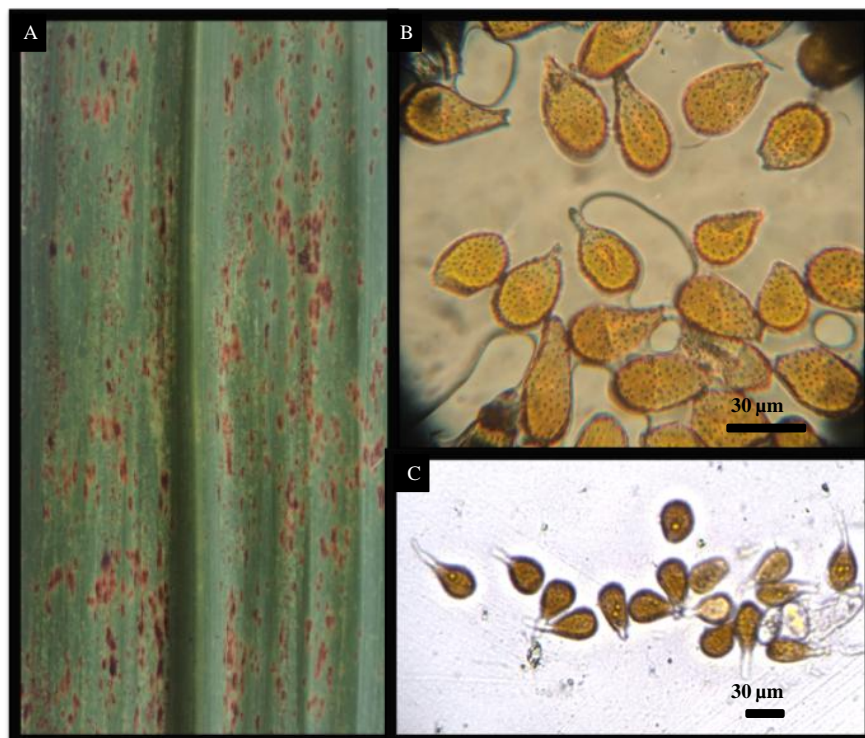


Figura 2.2 – (A) Sintomas da ferrugem alaranjada na folha. (B) Morfologia de urediniósporos de *Puccinia kuehnii*. (C) Urediniósporos de *P. kuehnii* em processo de germinação.

Fonte: O autor (2011)

Diferente de outras ferrugens, como *Puccinia graminis*, que apresenta um ciclo da vida longo e complexo, com até cinco estruturas diferentes (espermogônio, écio, uredíneo, télio e basídio) (PETERSEN, 1974), o fungo *P. kuehnii* tem apenas o seu estado anamorfo conhecido. Neste caso, o patógeno tem um ciclo curto assexual, como está representado na Figura 2.3. Os teliósporos (Figura 2.4) são raramente encontrados e nenhum relato do mesmo foi feito no Brasil. As estruturas de espermogônio e écio são ainda desconhecidas (RYAN e EGAN, 1989).

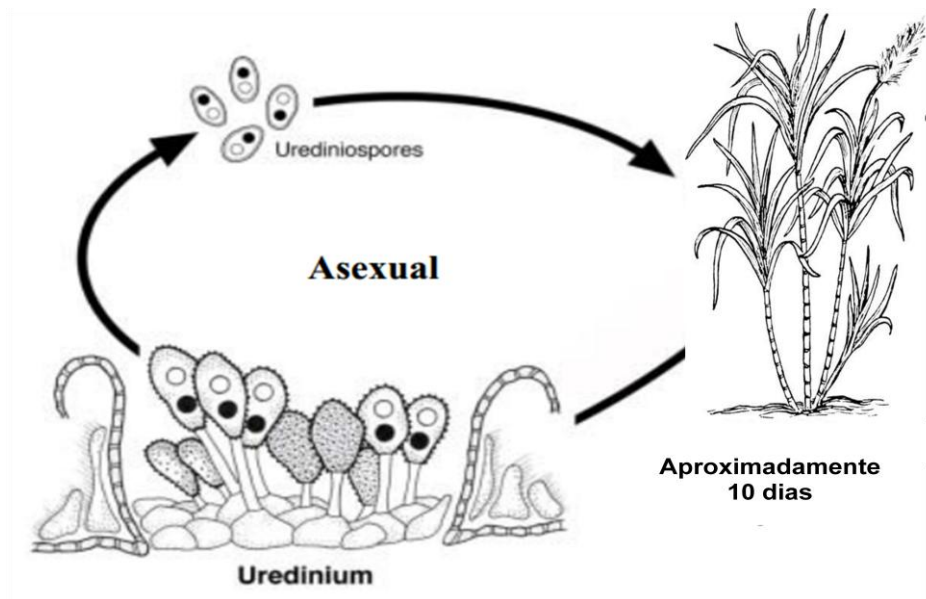


Figura 2.3 - Ciclo de vida do fungo *Puccinia kuehnii*.
Fonte: Modificado pelo autor (2012)

O fungo irá interferir na fotossíntese, comprometendo o desenvolvimento e produtividade da planta, resultando em menor acúmulo de sacarose (ZHAO *et al.*, 2011).

Os primeiros sintomas se apresentam como pequenas pontuações cloróticas, denominadas “flecks”, que são melhor observadas colocando-se a folha contra a luz. Então, manchas alaranjadas começam a aparecer nas duas superfícies da folha. Essas manchas evoluem gradativamente para lesões salientes, chamadas pústulas, com coloração alaranjada a castanho-alaranjada (MAGAREY, 2000).

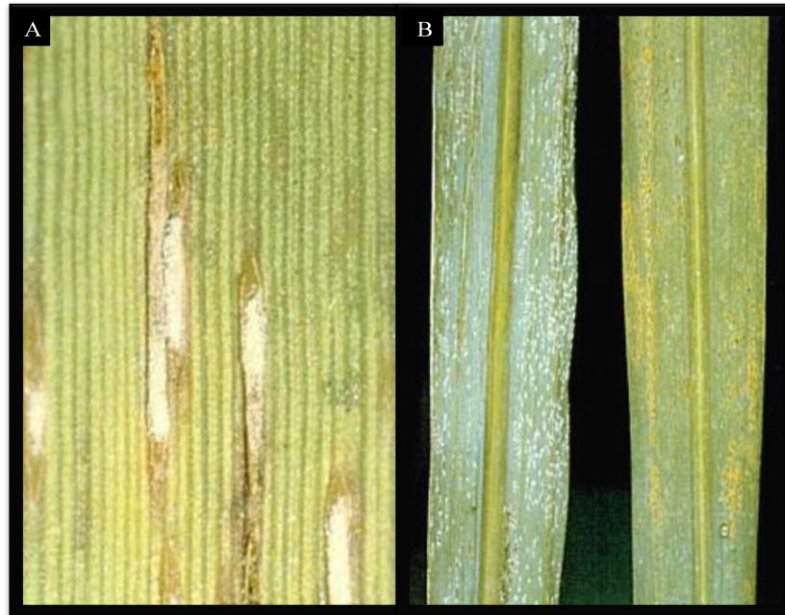


Figura 2.4 – (A) Folha mostrando lesão que contém teliósporo de *Puccinia kuehnii*. (B) Lesão esbranquiçada de teliósporo de *P. kuehnii*.
Fonte: Magarey (2000)

É comum ocorrer a coalescência das pústulas e, em altas severidades, necrose das folhas, que geralmente ocorre a partir da borda. Dependendo da susceptibilidade da cultivar e da época de ocorrência da doença, a planta pode ter seu crescimento retardado, ocorrer morte de perfilhos, formação de colmos finos e encurtamento dos entre-nós (KOIKE, 1988). No primeiro ano de ocorrência da ferrugem alaranjada no Brasil, especialistas em tecnologia do Centro de Tecnologia Canaveira (CTC) estimaram danos variando de 15 a 30% na produção agrícola (em toneladas de cana por hectare) e de até 20% na produção industrial (em toneladas de açúcar por hectare) nas cultivares mais susceptíveis (ROSSINI, 2011).

A grande preocupação do Estado do Paraná é que 20% da sua área é plantada com a cultivar RB72454, altamente susceptível à doença, e mais 7%, é plantada com a cultivar SP81-3250 (RIDESA, 2012), que tem se mostrado susceptível à doença no campo (MINCHIO, CANTERI e ROCHA, 2011). Em todo o país, o percentual de lavouras plantadas com cultivares susceptíveis é de 11% e, em São Paulo é de 8% (PROCANA BRASIL, 2010).

O controle mais eficiente e economicamente viável da ferrugem alaranjada é o uso de cultivares resistentes (MAGAREY, 2000). Portanto, é importante se prevenir com uma boa diversidade de cultivares nos canaviais e, principalmente, nos viveiros. Nos canaviais, é importante que não se tenha mais que 15% plantado com a mesma cultivar (MAPA, 2010).

As cultivares susceptíveis serão substituídas (MAPA, 2010), mas ainda precisa-se realizar estudos detalhados nas cultivares intermediárias, para conhecer sua reação diante da doença em diversas condições ambientais e de manejo.

Além disso, novas cultivares devem estar sempre sendo avaliadas quanto ao seu valor e risco, pois mesmo com o desenvolvimento de trabalhos que atestem resistência nas cultivares nacionais atuais, genótipos resistentes podem se tornar susceptíveis no tempo devido à variabilidade da população do patógeno (MAGAREY *et al.*, 2001 e BRAITHWAITE *et al.*, 2009). Na Austrália, pesquisas de filogenia com isolados de *P. kuehni* foram realizadas, onde comparou-se 28 isolados provenientes de herbários feitos com plantas de campos comerciais, selvagens e de jardins, coletados da Austrália, Papua Nova Guiné, Indonésia e China (BRAITHWAITE *et al.* 2009). Foram encontrados três grupos filogenéticos compatíveis a *P. kuehni*, sendo que todos os isolados de campos comerciais da Austrália pertenciam ao mesmo grupo (grupo I), e isolados de canas selvagens e de jardins de Papua Nova Guiné e da Indonésia pertenciam aos outros grupos (grupos II e III). Com base nisso, deve-se ressaltar a existência de variabilidade entre isolados de *P. kuehni*, capazes de causar doença em diferentes tipos de plantas. Glynn *et al.* (2010) observaram variabilidade em isolados de *P. kuehni* coletados em diferentes regiões do mundo, sendo encontrados dois alelos na região ITS1, 183A e 183G. O alelo 183A foi encontrado em todas as amostras analisadas, e o 183G, apenas nas amostras do oriente. Os autores comentam sobre a possibilidade de chegada do alelo 183G ao acidente, através da dispersão por correntes aéreas vindas do oriente e também do transporte de materiais infectados pelo homem. Outras investigações sobre filogenia e polimorfismo foram realizadas e encontrou-se alto polimorfismo entre isolados de *P. kuehni* (VIRTUDAZO; NAKAMURA; KAKISHIMA, 2001a, 2001b). Isso significa que é possível a ocorrência de raças do patógeno e que a resistência das cultivares brasileiras pode mudar futuramente.

Além disso, não se pode extrapolar informações de cultivares resistentes à ferrugem marrom para a ferrugem alaranjada, visto às divergências já encontradas no campo neste aspecto. Ovalle *et al.* (2008) relataram o aparecimento da ferrugem alaranjada na cultivar CP72-2086, que é considerada resistente à ferrugem marrom, na Guatemala. No Brasil, outra evidência foi encontrada com a cultivar RB72454, que também é resistente à ferrugem marrom (RIDESA, 2010), e apresenta alta susceptibilidade à ferrugem alaranjada (MAPA, 2010).

Outra forma de controle é o controle químico. Nos surtos relatados, o uso de fungicidas tem obtido bons resultados (ESH, 2010), porém o custo é muito elevado, o que põe

em dúvida a sua viabilidade econômica (STAIER, MAGAREY e WILLCOX, 2003). No entanto, o Brasil já apresenta três produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle da ferrugem alaranjada, todos compostos de uma mistura entre uma estrobirulina e um triazol (MAPA, 2012), sendo uma opção aos produtores até que se substituam todas as cultivares susceptíveis por cultivares resistentes à doença.

2.4 AVALIAÇÃO DE DOENÇAS

A avaliação da intensidade de uma doença (incidência ou severidade) é muito importante para que se desenvolvam medidas de controle e se estude os seus aspectos epidemiológicos (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 1996), como a caracterização quantitativa de epidemias, os estudos aplicados de prognósticos, a comparação de práticas de manejo de doenças, a validação de modelos de previsão e a estimativa de danos ocasionados pela doença (KRANZ, 1988; CAMPBELL e MADDEN, 1990). Como os sintomas da ferrugem alaranjada aparecem em forma de lesões no limbo foliar, a intensidade da doença pode ser expressa pela determinação da severidade, ou seja, porcentagem ou proporção de área foliar lesionada em relação à área foliar total (AMORIM e BERGAMIN FILHO, 2011).

Um método eficiente de quantificação de doença deve propiciar resultados acurados, precisos e reprodutíveis. A acurácia representa o grau de proximidade entre a estimativa e a quantidade real de doença. A precisão refere-se à variação ou repetibilidade nas avaliações da doença. A reprodutibilidade refere-se à ausência de variação em estimativas quando a mesma amostra de doença é avaliada por diferentes avaliadores (CAMPBELL e MADDEN, 1990). Como a quantificação da severidade das doenças é estimada visualmente, está sujeita a grande subjetividade, pois o avaliador pode atribuir qualquer valor de zero a 100% para a superfície foliar ocupada por sintomas e, isso, pode induzir graves erros seja na avaliação da resistência de cultivares, seja na tomada de decisão de controle, sendo assim necessária a adoção de critérios precisos na quantificação de doenças (LENZ *et al.*, 2009).

O uso de escalas orienta a estimativa visual dos avaliadores, tornando a avaliação mais precisa e acurada, e, apesar de não substituir a experiência e o conhecimento de sintomas característicos de uma determinada doença, pode melhorar a eficiência do avaliador inexperiente, bem como de avaliadores experientes, pois fornece um ponto de referência para comparação (CAMPBELL e MADDEN, 1990). As escalas diagramáticas devem ser de fácil

uso, aplicáveis em diferentes condições e produzir resultados reprodutíveis, além de apresentarem níveis suficientes que representem todos os estádios de desenvolvimento da doença, em diferentes estádios fenológicos da planta (BERGAMIN FILHO e AMORIM, 1996).

Na elaboração de escalas diagramáticas devem ser considerados importantes aspectos. Primeiramente, o limite superior da escala deve corresponder à intensidade máxima de doença observada no campo. A determinação da severidade real da doença no campo e sua representação na escala devem ter alta precisão, e as subdivisões da escala devem respeitar as limitações da acuidade visual humana, definidas pela lei de Weber-Fechner, na qual a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade do estímulo (HORSEFALL e BARRAT, 1945).

Após a elaboração, as escalas devem ser testadas por diferentes indivíduos a fim de comprovar a sua eficiência na estimativa da severidade (KRANZ, 1988). Por isso, após a elaboração de uma escala deve ser feita a sua validação, submetendo amostras com sintomas a avaliadores que irão estimar sua severidade sem, e, posteriormente, com auxílio da escala, para que se verifique seu desempenho em ambas as situações, medindo-se acurácia e precisão das estimativas.

Desde que a ferrugem alaranjada chegou ao Brasil, sua severidade é estimada com auxílio da escala diagramática de Amorim *et al.* (1987), desenvolvida para a ferrugem marrom. Devido às diferenças entre o padrão dos sintomas das duas doenças, a acurácia e precisão destas estimativas podem estar comprometidas.

2.5 HERANÇA DA RESISTÊNCIA ÀS FERRUGENS DA CANA-DE-AÇÚCAR

A ferrugem alaranjada é controlada, principalmente, pelo uso de variedades resistentes à doença (MAGAREY, 2000). Para tanto, deve-se encontrar, nas cultivares existentes, fontes de resistência para serem utilizadas nos cruzamentos para obtenção de novas possíveis variedades.

Os relatos na literatura sobre a herança da resistência no patossistema cana-de-açúcar-*P. kuehnii* são escassos. No entanto, existem trabalhos realizados para estudar a herança da resistência a outras doenças da cana-de-açúcar e a maioria deles estão relacionados à ferrugem marrom (*P. melanocephala*). Apesar de várias pesquisas terem sido realizadas a fim de se

entender a herança da resistência à *P. melanocephala*, os resultados obtidos nestes estudos não são conclusivos. A herança da resistência à ferrugem marrom tem sido estudada desde o ano de 1981, com o trabalho pioneiro de Tai, Miller e Dean (1981). Neste trabalho, os autores sugeriram que a resistência é parcialmente dominante e é influenciada por vários genes de efeito maior, agindo de forma quantitativa. Além disso, sugerem que o componente materno é muito maior que o componente paterno e, indicaram que grande parte da variação é devido ao efeito genético não aditivo e ao ambiente. Gonzalez *et al.* (1987) afirmaram que a herança da resistência da cana-de-açúcar à ferrugem marrom é complexa, mas parece haver uma segregação transgressiva, observada nos cruzamentos biparentais, e um efeito materno, observado na distribuição da população segregante oriunda de um cruzamento recíproco. Além disso, sugeriram que a herdabilidade da resistência é de nível intermediário ($h^2 = 0,40 \pm 0,12$).

Em contrapartida, Sordi, Arizono e Matsuoka (1988), trabalhando nos programas de cruzamentos brasileiros, sugeriram que a resistência à *P. melanocephala* é um caráter de alta herdabilidade, portanto é muito importante o conhecimento da reação dos genitores para se obter uma progênie predominantemente resistente à doença. Além disso, sugeriram a ocorrência de um efeito materno quando afirmaram que genitores resistentes tendem a originar progênies resistentes principalmente quando atuam como mãe nos cruzamentos.

Hogarth, Ryan e Taylor (1993) também sugeriram que a herdabilidade da resistência à ferrugem marrom é alta e que 90% da variância genética é aditiva. Portanto, cruzando pais resistentes espera-se uma progênie predominantemente resistente, assim como, quando forem cruzados genitores susceptíveis, torna-se bastante improvável que se origine uma progênie resistente. Por isso, no seu programa de melhoramento foram rejeitados cruzamentos entre pais susceptíveis à doença.

Relatando pela primeira vez uma herança monogênica para resistência a doenças em cana-de-açúcar, Daugrois *et al.* (1996) sugeriram uma segregação 3:1 (resistente:susceptível (R:S)) nos cruzamentos entre genitores resistentes, indicando a existência de um gene de efeito dominante controlando a resistência. Este gene estaria localizado a 10 cM do marcador CDRS29. Além disso, sugeriu-se a presença de um QRL (locos de resistência quantitativa) para explicar as diferentes classes presentes dentro da população susceptível e a grande associação do marcador em todas as medidas.

Ramdoyal *et al.* (1996) e Ramdoyal *et al.* (2000) confirmaram a hipótese de Daugrois *et al.* (1996) observando uma segregação na proporção 3:1 (R:S) quando as progênies foram separadas em duas classes (resistente e susceptível). Também sugeriram uma via monogênica,

com forte componente genético atuando na resistência à *P. melanocephala*, de caráter dominante e forte efeito materno. Além disso, sugeriram que outros genes menores podem estar envolvidos, originando diferentes níveis de susceptibilidade à ferrugem marrom.

Moura (2004) também afirma que a resistência completa é controlada por um gene de efeito maior de caráter dominante e genes de efeito menor são responsáveis pela distribuição de indivíduos nas classes de susceptibilidade. Também observou a ocorrência de efeito materno e segregação transgressiva.

No entanto, mesmo os trabalhos mais recentes continuam a afirmar que a herança da resistência à ferrugem marrom é muito complexa (RAMDOYAL *et al*, 2000; MOURA, 2004), assim como a herança de qualquer caráter ligado à cana-de-açúcar (TAI, MILLER e DEAN, 1981). Portanto, muitos trabalhos relacionados a este assunto são necessários para se ter um melhor entendimento de como estes caracteres são transmitidos através das gerações.

CAPÍTULO I

PROPOSTA E VALIDAÇÃO DE ESCALA PARA A FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR

3 Proposta e validação de escala para a ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar

Ana C. Klosowski¹; Lucimeris Ruaro¹; João C. Bessalho Filho¹; Louise L. May De Mio¹

¹Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, CEP 81531-990, Curitiba, PR, Brasil.

Autor para correspondência: Ana C. Klosowski, e-mail: ana_clkkl@yahoo.com.br

Resumo

Para avaliar a severidade da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar (*Puccinia kuehnii*), objetivou-se, neste trabalho, elaborar e validar uma escala diagramática. Para elaboração da escala foram coletadas 120 folhas de uma cultivar susceptível à doença e selecionou-se a maior e a menor severidade encontradas como extremos da escala. Os níveis intermediários foram calculados de acordo com a lei de Weber-Fechner. A escala foi proposta com nove níveis de severidade: 0,06; 0,14; 0,36; 0,89; 2,17; 5,18; 11,87; 24,92 e 45,00%, no terço médio de folhas de cana-de-açúcar. A validação foi realizada por oito avaliadores que estimaram a severidade de 120 folhas sem e, posteriormente, com o auxílio da escala. A escala foi eficiente para avaliar a severidade da doença para todos os avaliadores, que obtiveram um coeficiente de determinação (R^2) médio de 0,91, além de não cometerem erros constantes e sistemáticos quando usaram a escala. Além disso, com auxílio da escala, aproximadamente 92% das estimativas dos avaliadores estiveram na faixa de 5% para mais ou para menos do valor de severidade real, o que os classifica como excelentes quando se adota os critérios utilizados nos programas de computadores para treinamento de avaliadores de severidade de doenças.

Palavras-chave: *Saccharum* spp., *Puccinia kuehnii*, patometria, severidade.

Proposition and validation of diagrammatic scale for assessment of orange rust of sugarcane

Abstract

To quantify the orange rust of sugarcane (*Puccinia kuehnii*), the aim of this work was to elaborate and validate a diagrammatic scale. For the design of scale, 120 sugarcane leaves were collected of a susceptible cultivar and the highest and the lowest severity founded were selected as extremes of scale. The intermediate levels were calculated according to the law of Weber-Fechner. The scale was proposed with nine levels of severity: 0,06; 0,14; 0,36; 0,89; 2,17; 5,18; 11,87; 24,92 and 45,00% in the sugarcane leaf. The validation was accomplished by eight appraisers who estimated the severity of 120 leaves, with and without the proposed

diagrammatic scale. The scale was efficient to evaluate the severity of this disease, for all the appraisers, who had an average coefficient of determination (R^2) of 0,91 and they did not constitute constant and systematic errors when they use the scale. Moreover, with use of the scale, approximately 92% of the estimates of the appraisers had been in the range of 5% for more or less of the value of real severity, which classifies them as excellent when it adopts the criteria used in the programs of computers for training of appraisers of severity of diseases.

Keywords: *Saccharum* spp., *Puccinia kuehnii*, pathometry, severity.

3.1 INTRODUÇÃO

A ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E.J. Butler, foi detectada em dezembro de 2009 no Estado de São Paulo (Barbasso et al., 2010) e, já está presente em outras áreas produtoras da cana-de-açúcar, como o Paraná, Espírito Santo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul (CTC, 2011). Devido ao grande prejuízo que causou nos canaviais australianos no ano de 2000, chegando a diminuir a produção em 24% em toneladas de pol por hectare (TPH) (Magarey et al., 2001), e ao rápido avanço no território nacional, a doença chegou causando grande alarde dentre os produtores da cultura no Brasil.

Os sintomas da doença se caracterizam pela formação de pústulas pequenas e ovais de cor alaranjada a castanho-alaranjada, no limbo foliar, que, mesmo em condições de menores severidades, tendem a apresentar um padrão coalescido, ou seja, as lesões se agrupam. Essa é a principal diferença da ferrugem alaranjada em relação à ferrugem marrom (*Puccinia melanocephala* Syd. et P. Syd.), na qual as lesões, que são maiores e mais arredondadas, só coalescem em altas severidades. A diferença entre os sintomas das duas doenças pode ser observada na figura 3.1.

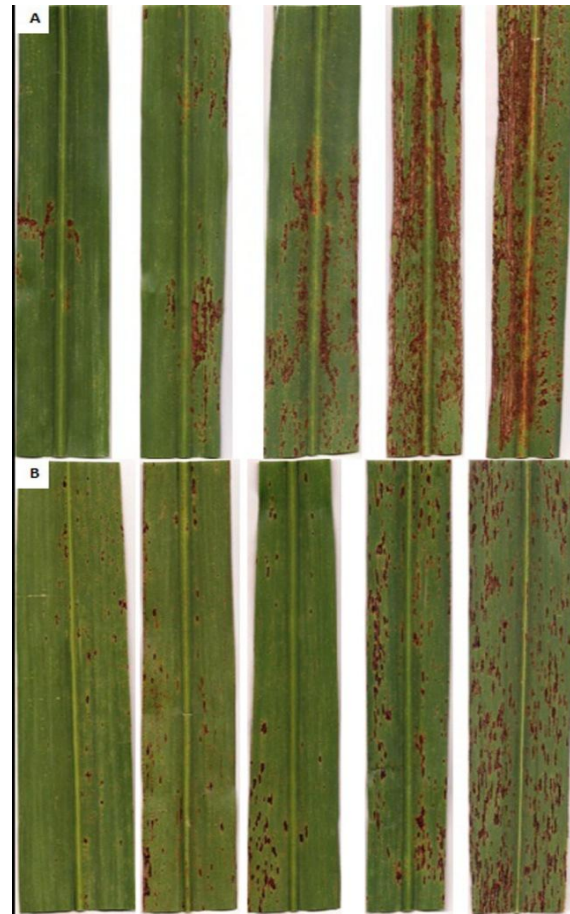


Figura 3.1. A) Sintomas da ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Puccinia kuehnii*, em folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.); B) Sintomas da ferrugem marrom, causada pelo fungo *Puccinia melanocephala*, em folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.).

A quantificação de doenças é importante para que se desenvolvam medidas de controle e se estude as suas variáveis epidemiológicas (Bergamin Filho & Amorim, 1996). Como os sintomas da ferrugem alaranjada aparecem em forma de lesões no limbo foliar, a melhor maneira de estimar a sua severidade é calculando-se a porcentagem de área foliar que apresenta os sintomas da doença em relação à área foliar total.

Essa quantificação de severidade é normalmente subjetiva, pois é estimada visualmente e pode variar entre os avaliadores. A escala diagramática pode diminuir essa subjetividade, aumentando a acurácia e a precisão das estimativas dentre os diferentes avaliadores, como já demonstrado em outros patossistemas (Martins et al., 2004; Kowata et al., 2008; Salgado et al., 2009; Sachs et al., 2011). No entanto, esta escala deve ser de fácil uso, aplicada a diferentes condições e idades da planta e produzir resultados reprodutíveis.

Este trabalho teve como objetivo elaborar e validar uma escala diagramática para a ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 120 folhas de cana-de-açúcar da variedade RB72454 (susceptível à ferrugem alaranjada) com diferentes níveis de severidade da doença, provenientes da Estação Experimental da UFPR, em Paranaíba-PR. Para a elaboração da escala, primeiramente determinou-se uma área foliar padrão correspondente ao terço médio da folha e selecionou-se a maior e menor severidade, em porcentagem, encontradas no campo, como extremos da escala. Então, determinaram-se os níveis intermediários de acordo com a lei de Weber-Fechner de acuidade visual (Horsfall & Barratt, 1945). Para determinação da severidade real, um segmento de 25 cm da folha foi escaneado, com auxílio de uma impressora multifuncional 4280 HP. Estas folhas foram impressas e as lesões foram copiadas com uma caneta de tinta permanente em um papel de transparência, para posterior medição da área total de lesões em cada folha. Essa medição foi realizada no equipamento Winrhizo v.4.0, Regent Systems, Quebec, (Canadá), acoplado a um scanner, utilizando definição de 400 dpi. A área total de cada folha também foi medida com auxílio do mesmo equipamento. Com esses dados foi calculada a severidade real de cada folha.

Foram selecionados oito avaliadores, dentre os quais, quatro com experiência na avaliação de doenças utilizando escalas diagramáticas e quatro sem experiência, que receberam treinamento prévio em programa de computador para treinamento de avaliadores de severidade de doenças. Primeiramente, todos estes avaliadores estimaram a severidade da doença, em porcentagem, para cada uma das 120 folhas, organizadas de forma aleatória quanto à severidade, sem o uso da escala. Então receberam a escala diagramática elaborada para a ferrugem alaranjada para auxiliar na nova avaliação de severidade em todas as folhas.

A acurácia e a precisão das estimativas visuais dos avaliadores foram determinadas por regressão linear simples, considerando a severidade real como variável independente e a severidade estimada como variável dependente. A acurácia das estimativas foi determinada pelo teste t , aplicado ao intercepto da regressão linear (a), para verificar se foi significativamente diferente de 0, e ao coeficiente angular da reta (b), para testar se foi significativamente diferente de 1, ao nível de 5% de probabilidade. Valores de intercepto significativamente diferentes de 0 indicam a presença de desvios constantes, enquanto valores de coeficiente angular da reta que desviam significativamente de 1 indicam a presença de desvios sistemáticos.

A precisão das estimativas foi avaliada pelo coeficiente de determinação da regressão (R^2) e pela variância dos erros absolutos (severidade estimada menos severidade real). Para fins de avaliação dos resíduos, foram adotados os critérios utilizados nos programas de

computador para treinamento de avaliadores de severidade de doenças, como Distrain (Tomerlin & Howell, 1988), Disease.Pro (Nutter Jr. & Worawitlikit, 1989) e Helmap (Canteri et al., 1999), os quais classificam como excelente um avaliador cujos erros sejam menores que 5% e, bom aquele cujos erros não ultrapassem 10%. Além disso, comparou-se o desvio máximo que cada avaliador cometeu, indicando, em valor absoluto, a diferença da sua estimativa mais distante do valor real da severidade.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escala diagramática elaborada neste trabalho foi eficiente para avaliar a severidade da ferrugem alaranjada para todos os avaliadores, atingindo um R^2 médio de 0,91, e pode ser indicada para utilização em programas de melhoramento e em estudos epidemiológicos da doença.

A escala proposta apresenta nove níveis de severidade e tem como limite inferior e superior os valores de 0,06% e 45% de área lesionada, respectivamente (figura 3.2).

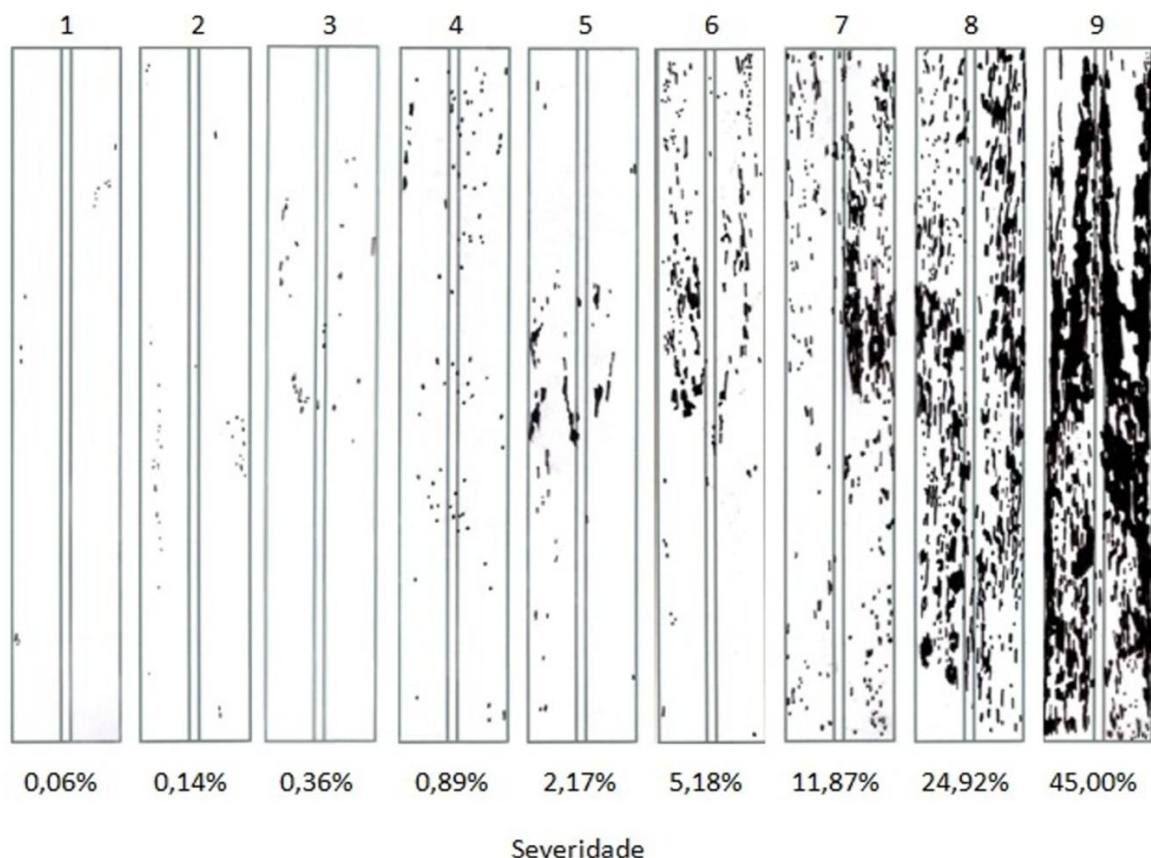


Figura 3.2. Escala diagramática para avaliação de severidade da ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Puccinia kuehnii* em folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). Valores em porcentagem de área foliar lesionada.

Os valores do intercepto foram diferentes de 0 ($p \leq 5$) para 50% dos avaliadores, na avaliação sem o uso da escala (tabela 3.1). Já, com o uso da escala, todos os avaliadores obtiveram valores de intercepto estatisticamente iguais a 0 ($p \leq 5$), o que significa que nenhum avaliador cometeu desvios constantes. Na avaliação sem escala, para cada 1% de incremento da severidade real da doença, houve 2,96% de incremento na estimativa feita pelos avaliadores sem experiência e, 1,56% na estimativa feita pelos avaliadores com experiência.

Tabela 3.1. Coeficientes lineares (a), angulares (b) e de correlação (R^2), obtidos nas regressões entre severidade real e estimada da doença, a partir de folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) com sintomas de ferrugem alaranjada causada pelo fungo *Puccinia kuehni*, em avaliações sem auxílio de escala e com o uso da escala elaborada para a ferrugem alaranjada.

Avaliação	Coeficientes	Avaliadores								Média		
		1	2	3	4	5	6	7	8	Sem experiência	Com experiência	Geral
Sem escala	a	4,86*	2,41*	1,21	3,37*	-0,11	-0,88	-0,39	6,84*	2,96*	1,56*	4,60*
	b	1,34	0,94	0,83	1,13	1,1	1,15	0,47	1,66	1,06	1,1	1,08
	R^2	0,87	0,85	0,69	0,9	0,88	0,79	0,79	0,83	0,83	0,82	0,82
Escala da ferrugem alaranjada	a	1,53	1,1	1,71	0,98	-0,64	0,17	0,66	0,75	1,58	0,24	0,91
	b	1,04	0,95	0,83	0,76	0,99	0,8	0,92	0,76	0,9	0,87	0,88
	R^2	0,94	0,93	0,92	0,92	0,93	0,88	0,87	0,9	0,93	0,89	0,91

*significativo a 5% de probabilidade.

Os valores do coeficiente angular da reta não diferiram de 1 ($p \leq 5$) para todos os avaliadores, tanto na avaliação sem escala, quanto na avaliação com a escala (tabela 3.1). Isso indica a ausência de desvios sistemáticos.

Quanto à precisão dos avaliadores, as estimativas visuais de severidade, na avaliação sem o uso de escala, explicaram 69 a 90% (R^2) da variação na medida da severidade real da doença, sendo a média dos avaliadores sem experiência de 83% e, dos com experiência, de 82% (tabela 3.1). Na avaliação com auxílio da escala, as estimativas visuais de severidade explicaram 87 a 94% (R^2) da variação na medida da severidade real, sendo a média geral dos avaliadores igual a 91% (tabela 3.1). A média dos avaliadores com experiência foi de 89% e, dos sem experiência, foi de 93%. Neste caso, 75% dos avaliadores apresentaram um coeficiente de determinação (R^2) maior que 90%, o que é bastante desejado na validação de uma escala diagramática. Portanto, os avaliadores conseguiram uma precisão muito alta com

o uso da escala elaborada neste trabalho, o que pode ser explicado pela identificação dos sintomas encontrados nas folhas com o padrão daqueles apresentados nesta escala.

As diferenças entre os valores estimados visualmente e os valores reais de severidade (resíduos), nas avaliações sem e com escala, concentraram-se na faixa de 10% para mais ou para menos (tabela 3.2), sendo que menos de 5 e 1% das estimativas estiveram fora dessa faixa na avaliação sem escala e com a escala da ferrugem alaranjada, respectivamente.

Tabela 3.2. Desvio máximo em valor absoluto (D.M.V.A.), valores na faixa de variação de 10% (valores = $x \pm 10$) e valores na faixa de variação de 5% (valores = $x \pm 5$) das estimativas dos avaliadores em relação ao valor de severidade real de folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) com sintomas de ferrugem alaranjada causada pelo fungo *Puccinia kuehnii*, sem auxílio de escala e com o uso da escala elaborada para a ferrugem alaranjada.

Avaliação	Parâmetros	Avaliadores								Média		
		1	2	3	4	5	6	7	8	Sem experiência	Com experiência	Geral
Sem escala	D.M.V.A.	12,38	14,9	23,44	12,95	11,55	16,75	9,26	21,5	15,92	14,77	15,34
	% Valores = $x \pm 10$	95,89	97,26	94,52	98,63	95,89	91,78	100	86,3	96,58	93,49	95,03
	% Valores = $x \pm 5$	75,34	86,3	78,08	87,67	83,56	76,71	86,3	50,68	81,85	74,31	78,08
Escala da ferrugem alaranjada	D.M.V.A.	7	7,75	7,76	5,9	7,4	10,2	11,1	9,52	7,1	9,56	8,33
	% Valores = $x \pm 10$	100	100	100	100	100	98,63	98,63	100	100	99,32	99,66
	% Valores = $x \pm 5$	94,52	94,52	89,04	94,52	87,67	93,15	95,89	94,52	91,39	90,41	91,78

Na avaliação sem a escala, 96,58% das estimativas dos avaliadores sem experiência ficou dentro da faixa de variação de 10%, enquanto que para os avaliadores com experiência, esse valor foi de 93,49% (tabela 3.2). Com o uso da escala os resultados foram melhores, sendo que todas as estimativas dos avaliadores sem experiência estiveram na faixa de variação de 10% e apenas duas estimativas, uma do avaliador 6 e outra do avaliador 7, ficaram fora dessa faixa de erro para os avaliadores com experiência. Com o uso da escala, os valores dentro da faixa de variação de 5% também foram maiores, o que indica que as estimativas dos avaliadores foram mais próximas ao valor real da severidade quando eles tiveram auxílio da escala.

O desvio máximo da severidade real em valor absoluto também baixou com o uso da escala, correspondendo a um desvio máximo 55% menor para os avaliadores sem experiência e, 35% menor para os avaliadores com experiência, em relação à avaliação sem escala.

Os dados obtidos na regressão dos avaliadores sem experiência demonstraram que o treinamento foi efetivo para aumentar sua acurácia e precisão, sendo que em vários parâmetros, estes mostraram maior habilidade em avaliar a doença que os avaliadores com experiência. Isso é justificável pelo fato de o treinamento ter sido realizado com folhas e sintomas semelhantes à ferrugem alaranjada na cana-de-açúcar, e a experiência dos avaliadores, muitas vezes, estar relacionada a doenças e culturas muito diferentes desta. No entanto, ambas as classes apresentaram resultados satisfatórios na validação das escalas.

As observações de Nutter & Schultz (1995) quanto à variação na habilidade entre indivíduos para discriminar níveis de doença pode explicar a diferença entre os avaliadores nas estimativas de severidade das ferrugens da cana-de-açúcar. Mesmo com o uso de uma escala, fatores inerentes ao indivíduo como cansaço, fadiga, humor, entre outros, podem influenciar a acurácia e precisão da estimativa.

3.4 CONCLUSÃO

A escala diagramática proposta para ferrugem alaranjada mostrou-se adequada à avaliação de severidade desta doença, permitindo quantificar os sintomas de forma mais acurada e precisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barbasso D, Jordão H, Maccheroni W, Boldini J, Bressiani J, Sanguino A (2010) First Report of *Puccinia kuehnii*, Causal Agent of Orange Rust of Sugarcane, in Brazil. Plant disease 94:1170.

Bergamin Filho A, Amorim L (1996) Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. São Paulo SP. Agronômica Ceres.

Canteri MG, Dalla-Pria M, Nascimento MA (1999) Helmap – software para seleção e treinamento de avaliadores de severidade de doenças das culturas do milho e da cana-de-açúcar. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa. CD-ROM.

CTC – Centro de Tecnologia Canavieira (2011) Mapa das ocorrências da ferrugem alaranjada. Disponível em:
http://www.ctcanavieira.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=507:ferrug

em-alaranjada-da-cana-de-acucar-mapa-deocorrencias&catid=3:destaque&Itemid=1460>.

Acesso em: 20 de outubro de 2011.

Horsfall JG, Barratt RW (1945) An improved grading system for measuring plant disease. *Phytopathology* 35:655.

Kowata LS, May De Mio LL, Dalla-Pria M, Santos HAA (2008) Escala diagramática para avaliar severidade de míldio na soja. *Scientia Agraria* 9:105-110.

Magarey RC, Willcox T, Croft B, Cordingley A (2001) Orange rust, a major pathogen affecting crops of Q124 in Queensland in 2000. *Proceedings of Australian Society of Sugar Cane Technology* 23:274-280.

Martins MC, Guerzoni RA, Câmara GMS, Mattiazzi P, Lourença SA, Amorim L (2004) Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. *Fitopatologia Brasileira* 29:179-184.

Nutter Jr. FW, Worawitlikit O (1989) Disease.Pro: a computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. *Phytopathology* 79:11135.

Nutter Jr. FW, Schultz PM (1995) Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology* 17:174-184.

Sachs PJD, Neves CSVJ, Canteri MG, Sachs LG (2011) Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha branca em milho. *Summa Phytopathologica* 37:202-204.

Salgado M, Pozza EA, Lima LM, Pereira RTG, Pfenning LH (2009) Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha de Phoma do cafeeiro. *Tropical Plant Pathology* 34:422-427.

Tomerlin JR, Howell TA (1988) Distrain: a computer program for training people to estimate disease severity on cereal leaves. *Plant Disease* 72:455-459.

CAPÍTULO II

HERANÇA DA RESISTÊNCIA À FERRUGEM ALARANJADA DA CANA-DE-AÇÚCAR

4 Herança da resistência à ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar Inheritance of resistance to orange rust of sugarcane

Ana Claudia Klosowski^I João Carlos Bernaldo Filho^{II} Lucimeris Ruaro^{II} Louise
Larissa May De Mio^{II}

^IDepartamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, 81531-990, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: ana_clk@yahoo.com.br. Autor para correspondência.

^{II}Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo analisar o padrão da herança da resistência à ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar (*Puccinia kuehnii*) em famílias oriundas de cruzamentos entre genitores com diferentes reações à doença. Foram analisadas oitenta plantas de oito famílias resultantes de dois cruzamentos entre genótipos resistentes, quatro cruzamentos entre genótipos resistentes e susceptíveis, e dois cruzamentos entre genótipos susceptíveis. Avaliou-se presença e ausência da doença nas progênies e também estimou-se a área foliar afetada com auxílio de uma escala diagramática. Os dados foram submetidos ao teste de qui-quadrado para verificar a hipótese de um gene de efeito maior controlando a resistência. Dentre as progênies avaliadas apenas uma apresentou comportamento condizente com a hipótese de um gene de efeito maior, sugerindo que a resistência à ferrugem alaranjada pode ser controlada por um gene maior e por vários genes menores agindo quantitativamente. Os genitores levemente susceptíveis originaram uma progênie predominantemente resistente. Houve ocorrência de segregação transgressiva, pois mesmo nos cruzamentos entre dois genótipos susceptíveis, originaram-se indivíduos resistentes à doença. Portanto, genitores susceptíveis à ferrugem alaranjada não devem ser eliminados dos programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar.

Palavras-chave: *Puccinia kuehnii*, segregação, progênies, genitores susceptíveis.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the pattern of inheritance of resistance to orange rust (*Puccinia kuehnii*) in sugarcane families originated from crosses between parents with different reaction to disease. Eighty plants of eight families resulting from crosses between two resistant genotypes, four crosses between resistant and susceptible genotypes and two crosses between susceptible genotypes were analyzed. The progenies were assessed as to its severity with a diagrammatic scale and data were submitted to chi-square test to verify the

hypothesis of a gene of major effect controlling resistance. Among the progenies, only one showed a pattern consistent with the hypothesis, suggesting that the resistance to rust may be controlled by one major gene and several genes acting quantitatively. The parents slightly susceptible resulted in a predominantly resistant progeny. There was occurrence of transgressive segregation, because even in crosses between two highly susceptible genotypes, originated individuals resistant to disease. Therefore, parents susceptible to orange rust should not be eliminated from sugarcane breeding programs.

Key words: *Puccinia kuehnii*, segregation, progenies, susceptible genitors.

4.1 INTRODUÇÃO

A ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar, causada pelo fungo *Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E.J. Butler, tem grande importância nos países produtores da cultura, causando perdas econômicas nas cultivares susceptíveis. Seus sintomas se caracterizam por pústulas alaranjadas a marrom alaranjadas no limbo foliar e, dependendo da susceptibilidade da cultivar e da época de ocorrência da doença, a planta pode ter seu crescimento retardado, ocorrer morte de perfilhos, formação de colmos finos e encurtamento dos entre-nós (KOIKE, 1988).

A doença foi relatada pela primeira vez no Brasil em dezembro de 2009, no estado de São Paulo (BARBASSO et al., 2010). Atualmente, já está presente também nos Estados do Paraná, Espírito Santo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul (CTC, 2011). No primeiro ano de ocorrência da ferrugem alaranjada no Brasil, foram observados danos variando de 15 a 30% na produção agrícola (toneladas de cana por hectare) e de até 20% na produção industrial (toneladas de açúcar por hectare) nas cultivares mais susceptíveis (ROSSINI, 2011).

Além de ocasionar perdas aos produtores, a ferrugem alaranjada tem grande relevância nos programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar, pois ocorre em genótipos que são usados como genitores nos cruzamentos para geração de novas cultivares, como a RB72454, que é genitora de 23 cultivares comerciais (RIDESA, 2010).

Assim como as demais doenças da cana-de-açúcar, a ferrugem alaranjada é controlada, principalmente, utilizando-se cultivares resistentes (MAGAREY, 2000). Por isso, nas fases de seleção de um programa de melhoramento, genótipos susceptíveis à doença tendem a ser descartados.

Devido a isso, o conhecimento da herança da resistência genética à *P. kuehnii* é de extrema importância na busca de resistência duradoura, e, irá auxiliar os melhoristas sobre a

manutenção ou eliminação de cruzamentos envolvendo uma ou ambas cultivares susceptíveis à doença.

Relatos sobre a herança da resistência à ferrugem alaranjada são escassos na literatura e pesquisas envolvendo a herança da resistência para outras doenças da cana são complexas e normalmente, não conclusivas. Vários estudos foram realizados com a ferrugem marrom, causada pelo fungo *Puccinia melanocephala* Syd. & P. Syd (TAI et al., 1981; GONZALEZ et al. 1987; SORDI et al., 1988; HOGARTH et al., 1993; DAUGROIS et al., 1996; RAMDOYAL et al., 2000; MOURA, 2004). Os trabalhos mais recentes sugerem que a resistência é controlada por um gene principal de efeito dominante e por genes menores agindo de forma quantitativa e foi sugerida a hipótese de segregação 3:1 (R:S) no cruzamento entre cultivares resistentes à doença (DAUGROIS et al., 1996).

A fim de testar a hipótese de que a resistência à ferrugem alaranjada é controlada por um gene principal de efeito dominante e entender a transmissão genética da resistência, o objetivo deste estudo foi analisar o padrão da herança da resistência à *P. kuehni* em famílias oriundas de cruzamentos entre genitores com diferentes reações à doença.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

As progênies de cana-de-açúcar avaliadas foram selecionadas dentro de campos previamente instalados que fazem parte do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA). A seleção foi feita conforme o conhecimento da reação dos genitores à doença. Os campos estavam em primeira fase de seleção (T1) das séries de cruzamentos dos anos de 2008, 2009 e 2010, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), que são constituídas de 149, 209 e 344 cruzamentos, dos quais avaliou-se 2, 4 e 2 cruzamentos, respectivamente. Dependendo da série a que pertencem, as plantas avaliadas estavam no estágio de cana-planta, primeira cana-soca ou segunda cana-soca, como segue na tabela 1, tendo nove meses (séries 2008 e 2009) e 13 meses de idade (série 2010). A reação dos genitores à ferrugem alaranjada foi estabelecida em duas avaliações destes genitores no campo, atribuindo-se uma nota segundo a sua susceptibilidade à doença, utilizando-se a escala diagramática elaborada para a ferrugem alaranjada (KLOSOWSKI et al., 2012). A nota 0 classificou o genitor como resistente (ausência de sintomas); notas de 1 a 3 (até 0,36% de área lesionada), classificaram como levemente susceptível; notas de 4 a 6 (até 5,18% de área lesionada), como susceptível e, notas de 7 a 9 (acima de 5,18% de área lesionada), como altamente susceptível. A classificação segue na tabela 1. Com base nisso, foram avaliados dois cruzamentos entre genótipos resistentes, quatro cruzamentos entre genótipos resistentes e susceptíveis, sendo

dois genótipos envolvidos em cruzamentos recíprocos para avaliar o efeito materno, e dois cruzamentos entre genótipos susceptíveis.

O campo foi instalado em unidade conveniada à UFPR/RIDESA, em Colorado (22°50' S, 51°54' W, 400 m) no estado do Paraná. O espaçamento entre plântulas dentro da linha de plantio foi de 0,5 m e, entre linhas, de 1,4 m. Os cruzamentos foram realizados na Estação de Florescimento e Cruzamento da Serra do Ouro (EFCO), pertencente à Universidade Federal de Alagoas, localizada no município de Murici, no estado de Alagoas. Essa estação é um dos únicos locais do Brasil onde ocorre o florescimento satisfatório, regular e com boa fecundidade da maioria das espécies e híbridos da cana-de-açúcar (PMGCA, 1997).

A avaliação foi realizada em março de 2012, época de grande incidência da ferrugem alaranjada na região do estudo, no norte do Paraná. A nota foi dada segundo a porcentagem de área lesionada da folha +3 utilizando a escala diagramática desenvolvida para a ferrugem alaranjada (KLOSOWSKI et al., 2012). Cada família tinha, em média, 210 plantas, das quais foram avaliadas 80, amostradas de forma aleatória, pertencentes a duas parcelas do mesmo cruzamento. A avaliação foi realizada por um único avaliador, para evitar subjetividade das estimativas de notas, e foi concluída em três dias.

As notas atribuídas a cada indivíduo avaliado foram utilizadas na construção de histogramas que representam a distribuição das frequências nas diferentes classes de susceptibilidade.

A hipótese de que a resistência à ferrugem alaranjada é herdada por apenas um gene principal foi testada utilizando o teste de qui-quadrado, no programa Genes (CRUZ, 2001). Para tanto, assumiu-se que os indivíduos que não apresentaram a doença (nota 0) formariam a classe resistente e, aqueles que apresentaram, independente da severidade (notas de 1 a 9), formariam a classes susceptível.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição dos indivíduos nas diferentes classes fenotípicas de resistência e susceptibilidade à ferrugem alaranjada está apresentada em histogramas de frequência (Figura 1), onde se observa um comportamento variado da progênie conforme a susceptibilidade dos seus genitores.

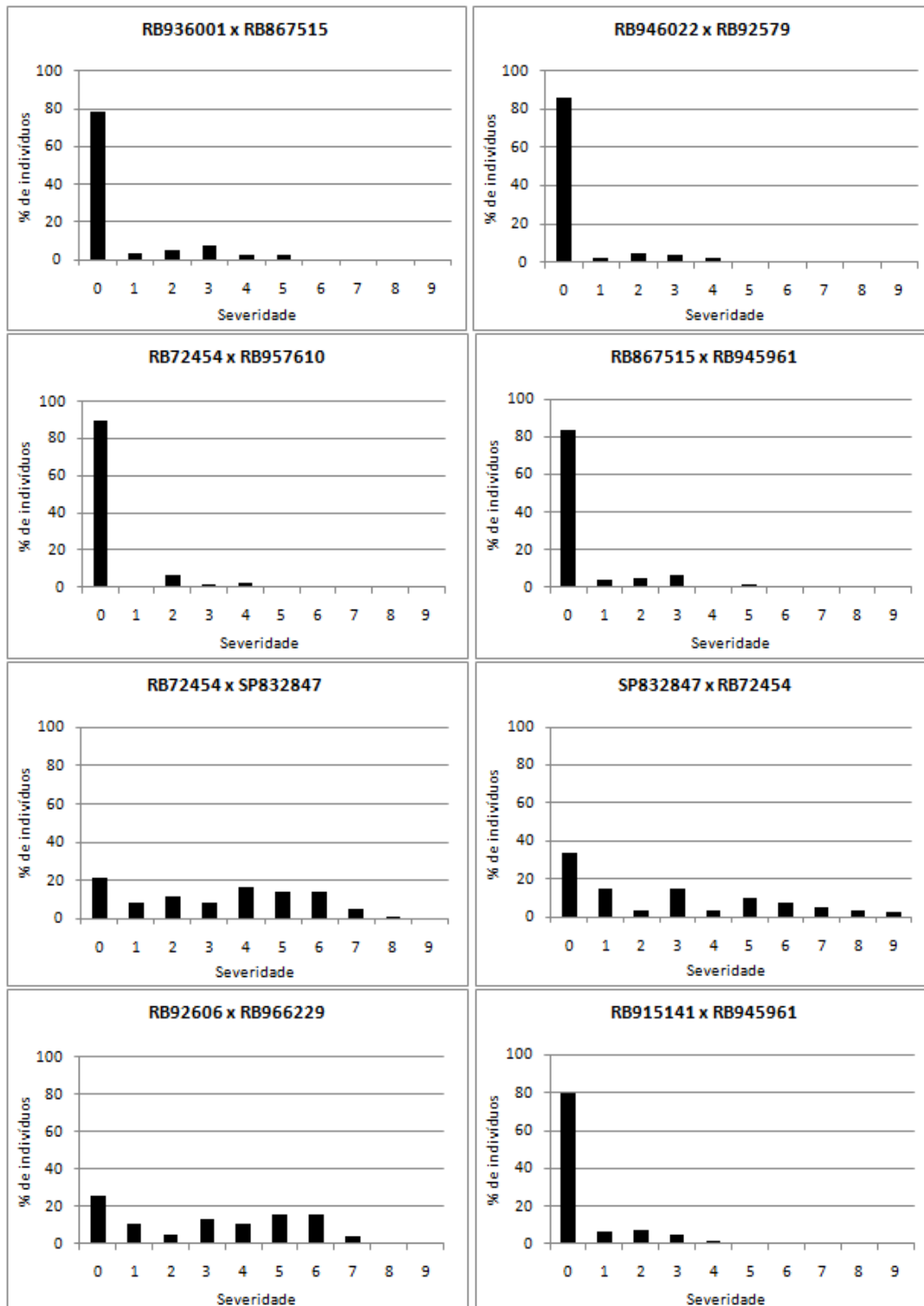


Figura 4.1 - Distribuição de frequência dos genótipos avaliados nas oito progênes de cana-de-açúcar, nas classes de resistência e susceptibilidade à ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*).

Dentre as oito progênes avaliadas, apenas uma esteve de acordo com a hipótese de DAUGROIS et al. (1996) (Tabela 1) que sugere um possível gene principal para resistência à ferrugem marrom, causada pelo fungo *P. melanocephala*.

Tabela 4.1 - Teste de qui-quadrado, seguindo a hipótese de Dougrois et al. (1996), das famílias avaliadas quanto à reação à ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Puccinia kuehni*, pertencente ao Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA).

Famílias	Classe dos genitores	Nota dos genitores	Série	Estágio	Razão esperada	Razão observada	χ^2	Probabilidade (%)
RB936001xRB867515	R x R	0x0	2009	Planta	3:1	3,71:1	0,60	43,86
RB946022xRB92579	R x R	0x0	2009	Planta	3:1	6,27:1	5,40	2,01
RB72454xRB957610	S x R	7x0	2008	Soca	1:1	9:1	51,20	0,00
RB867515xRB945961	R x S	0x3	2008	Soca	1:1	5,15:1	26,45	0,00
RB72454xSP83-2847	S x R	7x0	2009	Planta	1:1	1:3,71	8,45	0,36
SP83-2847xRB72454	R x S	0x7	2009	Planta	1:1	1:1,96	36,45	0,00
RB92606xRB966229	S x S	5x4	2010	Planta	1:15	1:2,81	51,12	0,00
RB915141xRB945961	S x S	3x3	2010	Planta	1:15	4:1	742,61	0,00

Qui-quadrado (χ^2) = 3,84 ao nível de 5% de significância.

No teste de qui-quadrado, apenas o cruzamento RB936001 x RB867515 ($\chi^2=0,60$; $p=43,86\%$) não se desviou da hipótese testada correspondendo a um padrão de segregação 3:1, o que sugere que pode haver um gene maior controlando a resistência à ferrugem alaranjada. O outro cruzamento envolvendo dois genitores resistentes (RB946022 x RB92579) não foi condizente com a hipótese, apesar de a progênie apresentar um desvio na frequência de indivíduos para a resistência.

Os cruzamentos envolvendo as cultivares RB72454 e SP83-2847 sugerem a ocorrência de um efeito materno por parte da cultivar resistente SP83-2847, pois quando ela atuou como mãe observou-se na progênie uma proporção de 1:1,96 (R:S) e quando ela atuou como pai, houve maior proporção de indivíduos susceptíveis (1:3,71)(R:S). RAMDOYAL et al. (2000) também sugeriram a ocorrência de um efeito materno quando trabalharam com a herança da resistência à ferrugem marrom, onde observaram que no cruzamento recíproco entre uma cultivar resistente, R 570, e outra altamente susceptível, M 1030/71, 24% das progênies foram classificadas como altamente susceptíveis quando M 1030/71 foi usada como genitor feminino, comparado com apenas 3% quando a cultivar R570 atuou como mãe. MOURA (2004), trabalhando também com a ferrugem marrom, sugeriu a ocorrência de um efeito materno por parte da cultivar RB72454, resistente à doença, pois quando esta atuou como mãe no cruzamento com a cultivar suscetível RB855595, observou-se uma proporção de 2,11:1 (R:S), e quando forneceu pólen, apenas 1,89:1 (R:S).

O cruzamento entre as cultivares susceptíveis RB92606 e RB966229, apesar de não estar de acordo com a hipótese 1:15, apresentou uma maior quantidade de indivíduos susceptíveis, numa proporção de 1:2,85 (R:S). No entanto, 20 indivíduos tiveram reações diferentes de seus pais, sugerindo a ocorrência de segregação transgressiva. O que, na prática, indica que mesmo no cruzamento entre duas cultivares susceptíveis à ferrugem alaranjada, pode-se encontrar indivíduos resistentes à doença. TAI et al. (1981) sugeriram a ocorrência de segregação transgressiva para a susceptibilidade em seu trabalho com a herança da resistência à ferrugem marrom, quando observaram que o cruzamento entre dois genótipos resistentes originava uma progênie altamente susceptível. Ainda trabalhando com a ferrugem marrom, GONZALEZ et al. (1987) observaram a ocorrência de segregação transgressiva tanto para a susceptibilidade como para a resistência, sugerindo que o cruzamento entre genótipos susceptíveis pode originar indivíduos resistentes. MOURA (2004) também afirmou a ocorrência de segregação transgressiva para a resistência à ferrugem marrom, quando observou indivíduos resistentes resultantes de cruzamentos entre parentais susceptíveis.

Já o cruzamento RB915141 x RB945961, classificado, no estudo, como um cruzamento entre duas cultivares susceptíveis, apresentou um resultado inesperado, com desvio de frequência para a resistência e uma proporção de 4:1 (R:S). Tal resultado pode ser decorrente da leve susceptibilidade dessas cultivares à doença, que receberam nota 3 quanto à severidade no campo, diferente das cultivares RB966229, RB92606 e RB72454, que receberam nota 4, 5, e 7, respectivamente. Portanto, apesar das cinco cultivares serem suscetíveis à doença, o maior ou menor grau de susceptibilidade parece influenciar na reação da progênie formada. Em decorrência disso, sugere-se formar uma nova classe de cruzamentos, entre cultivares intermediárias ou levemente susceptíveis, para que se possa entender melhor essa herança da resistência.

RAMDOYAL et al. (2000) afirmaram que conforme a estação, um clone classificado como levemente susceptível à *P. melanocephala* (M695), se comportou como resistente, apresentando menores taxa de infecção que aquela aceitável para o genitor resistente testado (R570). E, quando estas duas cultivares foram cruzadas (M695 x R570), a progênie resultante apresentou uma proporção 4,5:1 (R:S), ficando próxima daquela esperada segundo a hipótese de DAUGROIS et al. (1996), para o cruzamento entre duas cultivares resistentes. Com base nisso, sugere-se que as cultivares RB915141 e RB945961, levemente susceptíveis à ferrugem alaranjada, dependendo da estação podem se comportar como cultivares resistentes e, por isso, a progênie resultante apresentou um desvio de frequência para a resistência.

Essa hipótese também explica o comportamento encontrado na progênie resultante do cruzamento RB867515 x RB945961, onde a proporção foi de 5,15:1 (R:S), caracterizando uma progênie predominantemente resistente. Sugere-se novamente que a cultivar RB945961, levemente susceptível à *P. kuehni*, dependendo da estação, pode se comportar como uma cultivar resistente.

Os cruzamentos envolvendo uma cultivar susceptível e uma resistente, não estiveram de acordo com a hipótese testada 1:1 e também, não apresentaram um padrão semelhante entre si de segregação nas progênies. No cruzamento RB72454 x RB957610, no qual a cultivar que atua como mãe é altamente susceptível à *P. kuehni*, a progênie resultante apresentou um desvio de frequência para a resistência e uma proporção de 9:1 (R:S). Já quando a mesma cultivar susceptível, atuando novamente como mãe, foi cruzada com outra cultivar resistente (SP83-2847), a progênie resultante apresentou desvio de frequência para a susceptibilidade, e, uma proporção de 1:3,71 (R:S). A variação no comportamento da progênie não foi determinada pelo grau de susceptibilidade do genótipo pai à ferrugem no campo, pois, neste caso, os dois são classificados como resistentes à doença.

O cruzamento RB936001 x RB867515 esteve de acordo com a razão esperada (3:1) que determina um gene principal com efeito dominante para a resistência. Os demais resultados tenderam a rejeitar a hipótese testada. Com base nisso, sugere-se que a ferrugem alaranjada pode ser controlada por um gene principal e vários genes com efeitos menores atuando de forma quantitativa.

É importante salientar que a resistência poligênica, que foi apontada pela maioria dos cruzamentos estudados, é comum entre as gramíneas, principalmente relacionada a doenças causadas por ferrugens. Como exemplos já descritos na literatura tem-se os patossistemas milho-*Puccinia sorghi* (KIM e BREWBAKER, 1977), Trigo-*Puccinia triticina* (BROERS e JACOBS, 1989), cevada-*Puccinia hordei* (PARLEVLIET, 1978), aveia-*Puccinia coronata* f. sp. *avenae* (WESP et al., 2008).

Segundo TAI et al. (1981), a poliploidia da cana-de-açúcar pode ser a causa da segregação complexa, pois vários outros relatos de herança de resistência de doenças e qualquer outro caráter em cana foram complexas (TAI et al., 1981; HOGARTH et al., 1993; RAMDOYAL et al., 2000).

Apesar dos trabalhos mais recentes aceitarem que a herança da resistência à ferrugem marrom é controlada por um gene principal com efeito dominante (DAUGROIS et al., 1996; RAMDOYAL et al., 2000; MOURA, 2004), os resultados obtidos nos estudos dessa área foram complexos e diversos. Em trabalho pioneiro, TAI et al. (1981) sugeriram que a

resistência à *P. melanocephala* é parcialmente dominante e influenciada por vários genes de efeito maior atuando quantitativamente. GONZALEZ et al. (1987) afirmaram que a herança é complexa e a herdabilidade é intermediária. SORDI et al. (1988) já sugeriram que a resistência à ferrugem marrom é um caráter de alta herdabilidade e para obtenção de indivíduos resistentes deve-se cruzar genitores resistentes. HOGARTH et al. (1993) também afirmaram ser este um fator de alta herdabilidade. DAUGROIS et al (1996) sugeriram a presença de um gene maior de efeito dominante, assim como RAMDOYAL et al. (2000), quando afirmaram que a resistência é controlada por um forte componente genético de caráter dominante. MOURA (2004) confirma a hipótese de um gene principal com efeito dominante. Em decorrência disso, deve-se esperar que vários estudos com a ferrugem alaranjada também sejam necessários para que se possa afirmar seguramente de que forma ocorre a herança da resistência à *P. kuehni*.

Deve-se deixar claro que trabalhos visando determinar o controle genético da resistência à ferrugem alaranjada devem ser conduzidos de forma mais específica, considerando todas as plantas de cada família e envolvendo estudos sob condições controladas. Neste trabalho pioneiro, pretendeu-se, principalmente, observar o comportamento da progênie oriunda do cruzamento entre genitores susceptíveis e sugerir como pode ocorrer a herança da resistência à doença. Portanto, com as condições descritas neste experimento, pode-se afirmar que, mesmo no cruzamento entre duas cultivares susceptíveis à *P. kuehni*, surgem indivíduos resistentes à doença, e, portanto esses cruzamentos não devem ser extintos dos programas de melhoramento. Recorrendo-se a genealogia da cultivar RB867515, que tem um comportamento resistente à ferrugem alaranjada no campo, observa-se que esta cultivar é filha da RB72454, altamente susceptível à doença no campo. Isso se constitui em mais uma evidência de que genitores susceptíveis podem gerar filhos resistentes.

4.4 CONCLUSÕES

Com as condições descritas neste experimento, sugere-se que a resistência à ferrugem alaranjada é controlada por um gene principal e por vários genes menores agindo de forma quantitativa e, pela ocorrência da segregação transgressiva, é possível se obter indivíduos resistentes à doença mesmo dentro de famílias oriundas do cruzamento entre dois genótipos susceptíveis. No entanto, novos experimentos devem ser conduzidos visando o melhor entendimento dessa herança complexa.

REFERÊNCIAS

- BARBASSO, D. et al. First report of *Puccinia kuehnii*, causal agent of orange rust of sugarcane, in Brazil. **Plant disease**, v.94, p.1170, 2010.
- BROERS, L.H.M.; JACOBS, T. The inheritance of host plant effect on latency period of wheat leaf rust in spring wheat. II. Number of segregation factors and evidence for transgressive segregation in F3 and F5 generations. **Euphytica**, v.24, p.207-214, 1989.
- CRUZ, C.D. Teste de qui-quadrado. In: CRUZ C.D. (Ed). **Programa Genes: Aplicativo Computacional em Genética e Estatística**. Viçosa: UFV, 2001. p.571-579.
- CTC – Centro de Tecnologia Canavieira. **Mapa das ocorrências da ferrugem alaranjada**. São Paulo, 2011. Acesso em: 14 de dez. 2011. Online. Disponível em: <http://www.ctcanavieira.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=507:ferrugem-alaranjada-da-cana-de-acucar-mapa-deocorrencias&catid=3:destaque&Itemid=1460>.
- DAUGROIS, J.H. et al. A putative major genes for rust resistance linked with a RFLP marker in sugarcane cultivar ‘R570’. **Theoretical and applied genetics**, v.92, p.1059-1064, 1996.
- GONZALEZ, V. et al. Genética de la reacción de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) a *Puccinia melanocephala*, causante de la roya. **Agronomía Tropical**, v.37, p.99-116, 1987.
- HOGARTH, D.M. et al. Quantitative inheritance of rust resistance in sugarcane. **Field Crops Research**, v.34, p.187-193, 1993.
- KIM, S.K.; BREWBAKER, J.L. Inheritance of general resistance in maize to *Puccinia sorghi*. **Crop Science**, v.17, p.456-461, 1977.
- KLOSOWSKI, A.C. et al. Proposta e validação de escalas para ferrugens em cana-de-açúcar, Jaguariúna, SP, 2012. In: XXXV Congresso Paulista de Fitopatologia, 2012, Jaguariúna, SP. **Summa Phytopathologica**. Botucatu : Associação Paulista de Fitopatologia, 2012. v.38 (suplemento). Cd-rom.
- KOIKE, H. L. **Sugar-Cane Diseases**. A Guide for Field Identification. Roma: FAO, 1988.
- MAGAREY, R.C. Orange rust. In: Rott, P. et al. (eds) **A guide to sugarcane diseases**. Montpellier: La Librairie du Cirad, 2000. p.121-125.
- MOURA, G.L. **Análise da herança da resistência da cana-de-açúcar à ferrugem (*Puccinia melanocephala* H. & P. Syd)**. 2004. 45p. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução) – Curso de Pós-Graduação em Genética e Evolução, Universidade Federal de São Carlos.
- PARLEVLIET, J.E. Further evidence of polygenic inheritance of partial resistance in barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. **Euphytica**, v.27, p.369-379, 1978.

- PMGCA - Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar. **Relatório anual 1999**. Araras, UFSCar/CCA/DBV, 2000. 39p.
- RAMDOYAL, K. et al. The genetics of rust resistance in sugarcane seedling populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v.100, p.557-563, 2000.
- RIDESA – Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro. Catálogo Nacional de Variedades “RB” de Cana-de-açúcar. Curitiba, 2010. 136 p.
- ROSSINI, C. Ferrugem Alaranjada: perigo aos canaviais. **Revista Canavieiros: Pragas e Doenças**, 04 de jan. 2011. Acessado em 24 de mai. 2011. Online. Disponível em <http://www.revistacanavieiros.com.br/mostra_noticia.asp?id=2642>.
- SORDI, R.A. et al. Indicadores de herdabilidade e avaliação da resistência de clones RB à ferrugem da cana-de-açúcar. **Brasil açucareiro**, v.106, p.18-23, 1988.
- TAI, P.Y.P. et al. Inheritance of resistance to rust in sugarcane. **Field Crops Research**, v.4, p.261-268, 1981.
- WESP, C.L. et al. Herança da resistência quantitativa à ferrugem da folha em linhagens recombinantes de aveia branca. **Tropical Plant Pathology**, v.33, p.138-147, 2008.

CAPÍTULO III

REAÇÃO DE CULTIVARES À FERRUGEM ALARANJADA E RECOMENDAÇÃO DE
ÉPOCA DE AVALIAÇÃO AOS PROGRAMAS DE MELHORAMENTO DA CANA-DE-
AÇÚCAR

5 Reação de cultivares à ferrugem alaranjada e recomendação de época de avaliação aos programas de melhoramento da cana-de-açúcar

Reaction of commercial cultivars to orange rust and recommendation of assessment date to sugarcane breeding programs

Ana Claudia Klosowski^I João Carlos Bessalho Filho^{II} Lucimeris Ruaro^{II} Reginaldo Batista Fragoso^I Louise Larissa May De Mio^{II}

^IDepartamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, 81531-990, Curitiba, PR, Brasil. E-mail: ana_clkl@yahoo.com.br. Autor para correspondência.

^{II}Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

RESUMO

A ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar (*Puccinia kuehnii*) já causou danos de 40% na produção de cultivares susceptíveis. Por ser recente no Brasil, informações sobre a reação das cultivares locais à doença são escassas. Com base nisso, os objetivos deste estudo foram avaliar a reação de 28 cultivares de cana-de-açúcar à ferrugem alaranjada em campo, estabelecendo a data mais adequada para os programas de melhoramento avaliarem reação de suas cultivares e verificar os períodos de incubação e latência, e determinar incidência e severidade na cultivar padrão susceptível, em condições controladas ideais para o desenvolvimento da doença. Para avaliar reação de cultivares, avaliações de severidade foram feitas em cana-planta, aos dez meses, e em cana-soca, aos três, cinco, sete e nove meses. A partir dos dados de severidade das diferentes datas em cana-soca calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Para estabelecer a data mais adequada de avaliação, calculou-se a correlação de Pearson entre os resíduos de cada data de avaliação com os da AACPD. Para estudo em condições controladas, a cultivar RB72454 foi inoculada e avaliações diárias foram realizadas até o aparecimento de pústulas. A incidência e severidade foram avaliadas até 20 dias após a inoculação (DAI). Das cultivares avaliadas, 14 mostraram algum grau de susceptibilidade à ferrugem alaranjada. Houve diferença entre as cultivares em todas as avaliações. A análise de agrupamento discriminou os genótipos em quatro grupos de susceptibilidade. A avaliação em maio, aos nove meses da cana-soca, foi a que mais se correlacionou com a AACPD, sendo a data mais adequada para avaliação de susceptibilidade de cultivares à ferrugem alaranjada, na região norte do Estado do Paraná. O período de incubação e latência na cultivar padrão susceptível foi de sete e dez dias, respectivamente. Aos 20 DAI, a incidência e a severidade foram próximas a 90% das folhas e 62 pústulas contabilizadas na área de 5 cm², respectivamente. As folhas +3 e +1 podem ser recomendadas para avaliação de componentes monocíclicos da ferrugem alaranjada.

Palavras-chave: *Puccinia kuehnii*, níveis de susceptibilidade, data de avaliação, incubação, latência.

ABSTRACT

The orange rust of sugarcane (*Puccinia kuehnii*) has caused damages of 40% of production in susceptible cultivars. The information about the reaction of local cultivars to disease are incipient because the orange rust has recently arrived in Brazil. The aims of this study were to assess the reaction of 28 sugarcane cultivars to orange rust, to establish the most appropriate date for the breeding programs assess the reaction of cultivars, to verify the incubation and latency periods and to determine the incidence and severity in the susceptible standard cultivar under controlled conditions. To assess the reaction of cultivars, the severity was assessed in plant cane, at ten months, and ratoon crops, at three, five, seven and nine months. The area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated from data of severity in ratoon crops. To establish the most appropriate date of assessment, the Pearson correlation was calculated between the residues of each assessment date and the AUDPC. To study under controlled conditions, the cultivar RB72454 was inoculated and daily assessments were performed until the appearance of pustules. The incidence and severity were assessed until 20 days after the inoculation (DAI). Of the cultivars, 14 showed some degree of susceptibility of orange rust. There are differences between cultivar in all assessments. Cluster analysis discriminated the genotypes into four groups of susceptibility. The assessment in May was the most correlated with AUDPC, being the most appropriate date for assessing susceptibility of cultivars to orange rust, in the northern region of Paraná State. The incubation and latency periods in the susceptible standard cultivar were seven and ten days, respectively. At 20 DAI, the incidence and severity were near to 90% and 65 pustules, respectively. The leaves +3 and +1 may be recommended for assessing monocycle components.

Key words: *Puccinia kuehnii*, susceptibility levels, assessment date, incubation, latency.

5.1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). Atualmente, conta com uma área plantada de mais de oito milhões de hectares e a produção nacional na última safra, 2011/2012, foi de mais de 570 milhões de toneladas (CONAB, 2012).

Entre vários fatores limitantes à produção da cultura, destacam-se a ocorrência e a severidade de doenças, que se constituem no principal motivo para a substituição de cultivares devido ao decréscimo de produtividade provocado por elas (SANTOS, 2004).

O conhecimento da reação de cultivares a uma determinada doença é importante para orientar os produtores quanto ao que plantar em sua propriedade, pois a utilização de cultivares resistentes se constitui na medida de controle mais recomendada para as principais doenças da cana-de-açúcar (TOKESHI e RAGO, 2005).

A ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar, causada pelo fungo *Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E.J. Butler, foi relatada no Brasil pela primeira vez no ano de 2009, no município de Araraquara, Estado de São Paulo (BARBASSO et al., 2010). Por ser recente no país, os trabalhos sobre a reação das cultivares brasileiras à doença são escassos.

Os sintomas da ferrugem alaranjada se manifestam na forma de pústulas alaranjadas a castanho-alaranjadas no limbo foliar, e, dessa forma, o fungo irá interferir na fotossíntese, comprometendo o desenvolvimento e produtividade da planta e resultando em menor acúmulo de sacarose nos colmos (ZHAO et al., 2011). As pústulas podem estar distribuídas por toda a superfície foliar, porém tendem a estar mais freqüentes na base e meio das folhas (MINCHIO et al., 2011).

Em cultivares susceptíveis, já foram observados danos de 40% na produção da cana devido a ocorrência da doença (MAGAREY et al., 2001), por isso cultivares altamente susceptíveis à ferrugem alaranjada tendem a ser eliminadas dos canaviais e dos programas de melhoramento genético da cultura. No entanto, o comportamento das cultivares de susceptibilidade intermediária à doença deve ser estudado a fim de avaliar a viabilidade do seu plantio e a sua manutenção em programas de melhoramento, se estas apresentarem características produtivas satisfatórias.

Normalmente, a resistência a doenças na cana-de-açúcar tem caráter quantitativo (ROSSETO e SANTIAGO, 2005). A resistência quantitativa é um tipo de resistência parcial, na qual o hospedeiro pode apresentar reação de susceptibilidade, mas verifica-se uma baixa taxa de desenvolvimento da doença (PARLEVLIET, 1979). A baixa taxa de desenvolvimento é resultante da combinação de vários fatores, como baixa freqüência de infecção, período latente longo, pústulas pequenas e período infeccioso curto (OHM e SHANER, 1976; SZTEJMBERG e WAHL, 1976; MARTIN et al. 1979). Decorrente disso, primeiramente é importante conhecer o comportamento de uma cultivar padrão susceptível para que se tenha um parâmetro de comparação a fim de estabelecer níveis de resistência quantitativa. A resistência quantitativa já foi relatada para gramíneas como aveia, arroz, cevada e trigo (LUKE et al., 1972; JOHNSON e WILCOXSON, 1978; KUHN et al., 1978; MALAVOLTA et al., 1995; PEARCE e VAN SANFORD, 1996).

O objetivo de um programa de melhoramento é selecionar genótipos produtivos, adaptados aos diferentes ambientes de produção e com resistência ou tolerância a doenças (MATSUOKA et al., 2005). O sucesso dos processos de seleção depende de vários fatores, dentre os quais a instalação de experimentos com boa precisão experimental, a escolha correta dos caracteres e épocas de avaliação (GAZAFFI et al., 2010). Por isso é importante que se estabeleça uma época de avaliação da ferrugem alaranjada para os programas de melhoramento que proporcione respostas representativas da susceptibilidade das cultivares.

Com base no contexto descrito, este trabalho teve como objetivos avaliar a reação de 28 cultivares plantadas no Estado do Paraná à ferrugem alaranjada, em campo, estabelecendo a data mais adequada para os programas de melhoramento avaliarem susceptibilidade de cultivares; e verificar períodos de incubação e latência e determinar incidência e severidade da ferrugem alaranjada nas folhas da cultivar padrão susceptível, em condições controladas ideais para o desenvolvimento da doença.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação da reação de cultivares em campo

O experimento foi conduzido em campo na Estação Experimental da Universidade Federal do Paraná (UFPR), no município de Paranavaí-PR, sob condições de infecção natural do patógeno. A Estação está situada entre as coordenadas 23° 05' de latitude Sul e 52° 26' de longitude Oeste, com altitude média de 470 m. O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico, com relevo suave ondulado. O local apresenta clima tipo Cfa, subtropical, com temperatura média no mês mais frio de 18 °C e temperatura média no mês mais quente de 22 °C, conforme a classificação de Köppen.

O experimento foi conduzido em bloco único por cultivar, devido à homogeneidade da área, compostos de seis linhas de 10 m de comprimento, espaçadas por 1,40 m, sendo as quatro linhas centrais consideradas como parcela útil. Dentro da parcela útil, cada linha foi considerada uma repetição, totalizando quatro repetições por cultivar. A unidade experimental correspondeu a cinco plantas avaliadas em cada linha.

As cultivares avaliadas foram: RB785148, RB835486, RB835054, RB855035, RB855036, RB855453, RB855156, RB865230, RB925211, RB925345, RB946903, RB956911, RB966928, RB986419, RB72454, RB835089, RB845210, RB845257, RB845197, RB855536, RB855546, RB855113, RB867515, RB925268, RB928064, RB835744, RB92579 e RB966229.

Para verificar possíveis níveis de resistência de planta adulta, as avaliações de severidade foram realizadas em vários estádios, avaliando-se a folha +1, que corresponde à folha fotossintetizante mais ativa da planta (SILVA et al., 2008). A primeira avaliação foi realizada aos nove meses da cana-planta, em meados de julho/2011, anteriormente ao primeiro corte. Após este período foram realizadas avaliações aos três (novembro/2011), cinco (janeiro/2012), sete (março/2012) e nove meses (maio/2012) da cana-soca. A severidade foi estimada com auxílio da escala diagramática proposta por KLOSOWSKI et al. (2012).

Análise de dados

A partir dos dados de severidade das cultivares nas diferentes datas de avaliação em cana-soca calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), somando-se as áreas trapezoidais (CAMPBELL e MADDEN, 1990). Verificou-se se os dados de severidade e AACPD atendiam aos pressupostos da análise de variância através do método BOX COX (BOX e COX, 1964), que sugeriu a transformação raiz cúbica de $(x+0,01)$, para os dados de AACPD, e 1/raiz quadrada de $(x+0,1)$, para os dados de severidade em cana-planta e cana-soca. Então os dados transformados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, usando o software SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2000).

A fim de saber a época mais adequada de avaliação para os programas de melhoramento, que melhor reflete a susceptibilidade das cultivares, fez-se a correlação de Pearson entre os resíduos de cada data de avaliação com os da AACPD (STEEL et al., 1977). A correlação foi feita entre os resíduos para não se considerar os efeitos das cultivares.

Foi também realizada uma análise multivariada de agrupamento com o objetivo de agrupar genótipos semelhantes quando à sua susceptibilidade à ferrugem alaranjada. Para a formação dos grupos, adotou-se como medida de dissimilaridade a distância euclidiana, e para identificar e reunir grupos homogêneos, utilizou-se o método da Média Aritmética Não-ponderada (UPGMA), que utiliza a distância média do grupo e apresenta os agrupamentos na forma de dendrograma (JOHNSON e WICHERN, 1998).

Avaliação da cultivar padrão susceptível em condições controladas

Foi realizado o plantio de 16 mini-toletes contendo uma gema da cultivar RB72454, provenientes da Estação Experimental de Paranavaí, em vasos com capacidade de 4 litros, contendo solo, no mês de março de 2011. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação situada no Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba-PR, a uma temperatura de $25\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ com a irrigação ocorrendo duas vezes por dia.

O preparo da suspensão foi realizado com urediniósporos de *P. kuehni*, retirados de folhas da cultivar RB72454, provenientes da Estação Experimental de Paranaíba, com auxílio de pincéis. Adicionou-se uma gota de espalhante adesivo, Tween 20 (polioxietilenosorbitano) (Amresco, Solon OH, EUA) a cada 1000 mL de suspensão e ajustou-se a concentração final para 1×10^5 esporos viáveis/mL, por meio do uso de um hemacitômetro (câmara de Neubauer, Optik Labor, Germany).

Quando as plantas estavam com 30 dias, a inoculação foi feita pulverizando-se 25 mL da suspensão por planta, de um modo uniforme para que atingisse todas as folhas. Após a inoculação, as plantas foram cobertas com plástico umedecido, hermeticamente preso ao vaso com elástico de borracha para que não houvesse troca de umidade com o ambiente, simulando uma câmara úmida, que permaneceu por 24 horas. A folha +1 foi marcada com barbante para se identificar a posição das folhas no decorrer das avaliações. As plantas foram avaliadas diariamente até o aparecimento das lesões.

Os parâmetros avaliados foram o período de incubação (período de tempo entre a inoculação e o aparecimento de sintomas em 50% das plantas avaliadas) e latência (período de tempo entre a inoculação e a esporulação das lesões em 50% das plantas avaliadas), a incidência (número de folhas com lesão em relação ao total de folhas) e a severidade (número de pústulas na área de 5 cm²). Após o aparecimento das lesões, foi marcada a área de 5 cm² em todas as folhas de todas as plantas, com o objetivo de se contar pústulas nessas áreas. A posição das áreas marcadas variou conforme a folha da planta, pois a incidência das lesões variou nas diferentes folhas. Portanto, nas folhas mais velhas, +4 e +3, a área marcada esteve no terço basal da folha. Já nas folhas +2 e +1, a área marcada estava posicionada no terço médio da folha, enquanto nas folhas mais novas, 0 e -1, marcou-se a área no terço apical da folha. As avaliações destes parâmetros foram realizadas a cada cinco dias, sendo que a primeira avaliação ocorreu no dia em que aparecerem as primeiras pústulas. Foram realizadas três avaliações.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da reação de cultivares em campo

Dentre as 28 cultivares de cana-de-açúcar avaliadas, 14 apresentaram algum grau de susceptibilidade à ferrugem alaranjada. O restante foi considerado resistente à doença. As cultivares foram comparadas quanto ao nível de susceptibilidade à *P. kuehni*, conforme a severidade da doença nas avaliações em cana-planta e cana-soca e a AACPD (tabela 5.1).

A média da severidade em cana-planta, aos dez meses, variou de 0 a 9,37%; em cana-soca variou de 0 a 3,07%, aos três meses; de 0 a 6,017%, aos cinco meses; de 0 a 8,607%, aos sete meses; e de 0,002 a 29,6%, aos nove meses de idade (tabela 5.1). A média dos valores de AACPD da severidade em cana-soca variou de 0,072 a 1785,5. Houve diferença significativa entre as médias das cultivares em todas as datas, mas considera-se que a AACPD se constitui no critério de diferenciação mais seguro, pois é calculada a partir de vários pontos de avaliação e, portanto, permite uma avaliação mais estável, sendo menos afetado pelo tempo de análise e flutuações ambientais (CAMPBELL e MADDEN, 1990).

Tabela 5.1. Médias de severidade da ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*), em cana-planta e cana-soca, e Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), em cana-soca, de cultivares de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) plantadas no Estado do Paraná.

Cultivar	Cana-planta		Cana-soca			AACPD em cana-soca
	10 meses (Jul/11)	3 meses (Nov/11)	5 meses (Jan/12)	7 meses (Mar/12)	9 meses (Mai/12)	
RB72454	9,370 a	0,117 d	4,052 a	8,607 a	29,600 a	10,202 a
RB956911	0,000 f	0,440 c	6,017 a	0,050 b	0,610 c	2,134 b
RB925345	0,016 f	2,522 a	1,690 b	1,080 b	0,532 c	1,341 c
RB835486	0,441 c	3,070 a	0,422 c	0,495 d	0,090 d	0,659 d
RB855035	0,041 e	1,112 b	0,900 b	0,052 d	0,345 c	0,534 d
RB925211	0,650 c	0,031 e	0,215 d	0,245 d	1,770 b	0,515 d
RB845197	1,230 b	0,878 b	0,435 e	0,127 d	1,225 b	0,460 d
RB785148	0,225 d	0,018 e	0,085 e	0,272 c	1,635 b	0,456 d
RB966229	0,083 e	0,840 b	0,737 b	0,035 d	0,137 d	0,393 d
RB855156	0,066 e	0,003 f	0,062 e	0,060 d	0,027 e	0,044 e
RB986419	0,000 f	0,000 f	0,000 f	0,001 e	0,021 e	0,005 f
RB835054	0,002 f	0,000 f	0,000 f	0,000 e	0,013 e	0,004f
RB835036	0,000 f	0,000 f	0,000 f	0,000 e	0,006 e	0,001 f
RB865230	0,016 f	0,000 f	0,000 f	0,000 e	0,002 e	4,11x10 ⁻⁴ f
CV(%)	13,69	8,78	10,42	14,85	11,31	12,64

Dados originais, sem transformação; médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Pelos dados de AACPD obtidos, a cultivar RB72454 foi considerada como a mais susceptível à doença (tabela 5.1). As demais cultivares foram diferenciadas em cinco classes de susceptibilidade. A cultivar RB956911 se mostrou como a segunda cultivar mais susceptível à doença, dentre as cultivares avaliadas. No entanto, sua AACPD (373,6) foi muito inferior àquela calculada para a RB72454 (1785,5), o que ressalta a alta susceptibilidade desta cultivar à ferrugem alaranjada. Um terceiro nível de susceptibilidade foi representado pela cultivar RB925345, que apresentou uma AACPD de 234,69. As cultivares RB835486, RB855035, RB925211, RB845197, RB785148 e RB966229 foram diferenciadas num quarto nível de susceptibilidade, sendo que a sua AACPD variou de 68,93 a 115,45. A cultivar RB855156 constituiu um quinto nível de susceptibilidade, com uma AACPD de 7,84, e, a última classe, que representou o menor nível de susceptibilidade à ferrugem alaranjada, foi formada pela cultivares RB986419, RB835054, RB835036 e RB865230. Estas cultivares apresentaram uma AACPD variando de 0,072 a 0,88.

Apesar de a AACPD ser o melhor critério de diferenciação das cultivares, deve-se considerar que para sua obtenção, um período de tempo relativamente longo para avaliações é requerido, o que, na prática, nem sempre é possível. A fim de simplificar esse trabalho, buscou-se a data de avaliação que mais se correlacionou com a AACPD (tabela 5.2).

Tabela 5.2. Correlação de Pearson entre os resíduos de cada data de avaliação da severidade da ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*), em cana-planta e cana-soca, e da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), em cana-soca.

Avaliações	Correlação de Pearson (valor de <i>p</i>)					
	AACPD	Cana-planta 10 meses (jul/2011)	Cana-soca 3 meses (nov/2011)	Cana-soca 5 meses (jan/2012)	Cana-soca 7 meses (mar/2012)	Cana-soca 9 meses (mai/2012)
AACPD	1,0000	0,0003 (0,9978)	0,3140 (0,0184)	0,2753 (0,0399)	0,0082 (0,9520)	0,6419 (9,72x10 ⁻⁸)

*nível de significância de $p < 0,05$.

As avaliações feitas em cana-planta, aos dez meses, em meados de julho, e, em cana-soca, aos sete meses, em março, não apresentaram correlação significativa com a AACPD, ao nível de 5% de probabilidade.

As avaliações em cana-soca, aos três e cinco meses, no mês de novembro e janeiro, respectivamente, apresentaram uma correlação significativa com a AACPD. No entanto, essa correlação foi baixa.

Na região do estudo, a avaliação em cana-soca, aos nove meses, que ocorreu em maio, teve a melhor correlação com a AACPD (0,6419; $p=9,72 \times 10^{-8}$), o que estabelece que dentre as épocas de avaliação pontuais testadas, esta é a mais adequada para classificar cultivares quanto a sua susceptibilidade à ferrugem alaranjada na região norte do Estado do Paraná.

O dendrograma referente à análise de agrupamento da variável severidade nas diferentes datas de avaliação está representado na figura 5.1. Os 14 genótipos susceptíveis foram distribuídos em quatro grupos. O ponto de corte adotado foi a distância euclidiana de 25%, onde se observaram os maiores saltos.

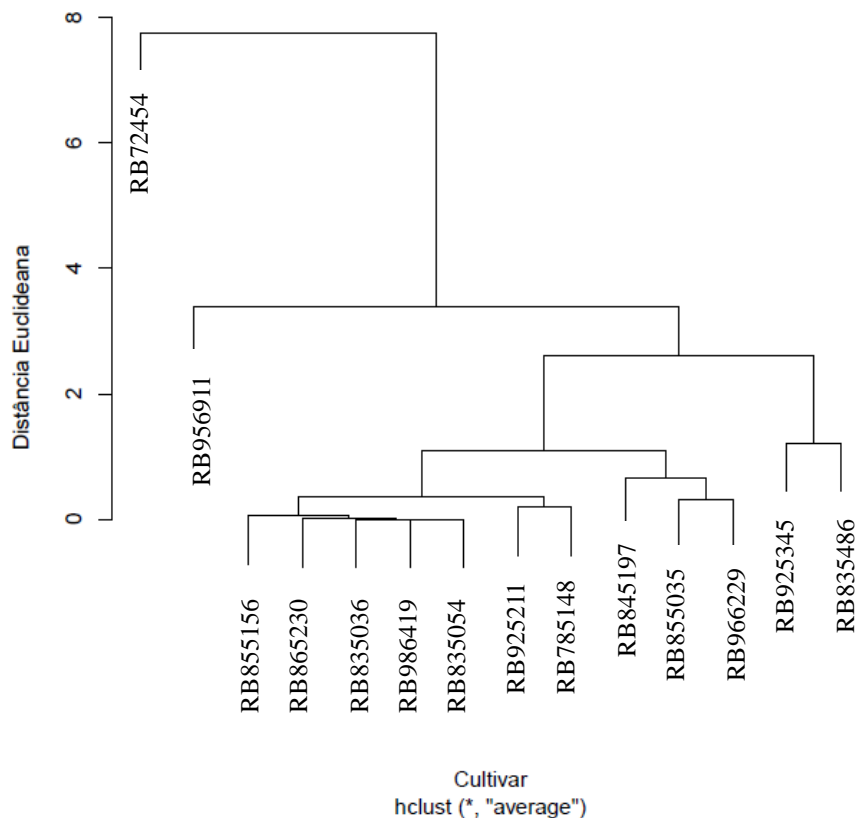


Figura 5.1 – Dendrograma resultante da análise de agrupamento de 14 genótipos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) com base em valores médios de severidade da ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehni*), nas avaliações em cana-planta, dez meses, e cana-soca, três, cinco, sete e nove meses.

O grupo I foi formado pela cultivar RB72454, considerada a mais susceptível à doença (figura 5.1). O grupo II foi constituído pela cultivar RB956911. O terceiro grupo foi formado pelas cultivares RB925345 e RB835486 e, as demais cultivares formaram um quarto grupo. Com base nesse agrupamento, sugere-se que o quarto grupo foi constituído das cultivares com maior resistência quantitativa à ferrugem alaranjada. Sugere-se que as cultivares que

formaram os grupos II e III, tem resistência parcial menor, apresentando maior susceptibilidade. A cultivar RB72454 é a mais susceptível à doença dentre as cultivares avaliadas, fato esse facilmente observado no campo. No entanto, estudos mais aprofundados, envolvendo diferentes ciclos de avaliação são necessários para se inferir com maior segurança sobre a resistência quantitativa destas cultivares.

As cultivares consideradas resistentes à *P. kuehnii* também podem ser divididas em dois grupos. Um grupo é formado por aquelas cultivares que não apresentaram nenhum sintoma da doença no decorrer das avaliações. Outro grupo é formado pelas cultivares nas quais encontrou-se algum sintoma na forma de pústula em determinada avaliação, porém em intensidade insignificante para estimativa de severidade. Estas cultivares foram: RB946903, RB855536, RB855453. Para as cultivares classificadas como resistentes, há de se considerar a possibilidade de manifestação da doença em condições de maior pressão do inóculo. FEDERIZZI e STUTHMAN (1998), trabalhando com a ferrugem da folha da aveia (*Puccinia coronata* f. sp. *avenae*), comentaram que em lugares com grande pressão do inóculo do patógeno na América do Sul, é observada a quebra da resistência de cultivares, favorecida pelo grande tamanho da população do patógeno e a alta taxa de mutação.

Trabalhos avaliando a reação de cultivares de cana-de-açúcar à ferrugem alaranjada no Brasil ainda são escassos. Em trabalho desenvolvido por RUAS et al. (2010), no município de Jaboticabal-SP, testando a reação de algumas cultivares à doença, classificou-se a cultivar RB72454 como susceptível à ferrugem alaranjada e a RB867515 como resistente, resultado que corrobora o encontrado neste trabalho. ARAÚJO et al. (2010), avaliando a favorabilidade genotípica para ocorrência da ferrugem alaranjada, no município de Valparaíso-SP, afirmaram que as cultivares RB72454, RB855156 e RB925211 foram susceptíveis à doença, assim como encontrou-se neste trabalho desenvolvido em Paranaíba-PR. No entanto, os autores também afirmam terem encontrado sintomas da doença na cultivar RB92579, a qual se mostrou resistente neste trabalho. Possivelmente, essa reação de susceptibilidade da cultivar RB92579 foi devida à maior pressão de inóculo presente no trabalho desenvolvido em Valparaíso, pois entre cada parcela experimental foi incluído um sulco de cinco metros de comprimento da cultivar susceptível CV14, que atuou como doadora de esporos. Portanto, o aparecimento da doença nesta cultivar está condicionado à pressão do inóculo que é exercida sobre ela.

O comportamento diferenciado das cultivares no decorrer das avaliações sugere que o progresso da doença não está apenas relacionado ao estágio fenológico e à época do ano, mas é altamente dependente da interação entre genótipo x ambiente. Com uma alta severidade, a cultivar RB72454 pode ser considerada um padrão susceptível à ferrugem alaranjada. Seu

comportamento segue aquilo determinado por MAGAREY (2000), quando afirmou que a maiores severidades da doença ocorrem a partir do meio do ciclo da cultura até a sua maturação. As outras cultivares, por terem uma susceptibilidade intermediária à *P. kuehni*, não apresentaram um comportamento típico no decorrer das estações.

Avaliação da cultivar padrão susceptível em condições controladas

Sete dias após a inoculação (DAI), verificou-se o aparecimento de “flecks” nas plantas da cultivar RB72454, que se caracterizam como pontuações cloróticas antecedentes ao aparecimento das pústulas. Os “flecks” se constituíram nos primeiros sintomas e seu aparecimento em mais de 50% das plantas avaliadas determinou o período de incubação da doença, que foi de sete dias para a cultivar susceptível sob condições ideais para o desenvolvimento da doença.

No 10º dia foi observado o aparecimento das pústulas em mais de 50% das plantas avaliadas. A esporulação também ocorreu aos 10 DAI, ou seja, as lesões já apareceram esporulando, caracterizando o período de latência para a cultivar susceptível sob condições ideais para o desenvolvimento da doença. Neste mesmo dia de aparecimento das pústulas, foi realizada a primeira avaliação de incidência e severidade da doença.

Na primeira avaliação, a incidência foi de 56%, ou seja, aproximadamente metade das folhas de cada planta apresentou lesões (tabela 5.3). Destas, merecem destaque a folha +2, e 0, que apresentaram pústulas em aproximadamente 80% das plantas avaliadas, seguidas da folha +1, que apresentou pústulas em aproximadamente 70% das plantas avaliadas.

Tabela 5.3 – Incidência (% de folhas com sintomas em relação ao nº total de folhas) e severidade (nº de pústulas na área de 5 cm²) da ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehni*) nas diferentes folhas da cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), cultivar RB72454, em três datas de avaliação em casa-de-vegetação.

Avaliação	Incidência (%)	Severidade (nº de pústulas)						Média
		Folha						
		+4	+3	+2	+1	0	-1	
10 DAI	56,0 (±3,8)	12,8 (±6,2)	14,2 (±9,8)	11,7 (±4,3)	12,8 (±8,0)	42,5 (±9,9)	5,4 (±4,5)	16,6 (±5,5)
15 DAI	85,6 (±2,4)	33,3 (±11,9)	49,5 (±19,6)	42,7 (±15,8)	50,3 (±27,7)	100,9 (±13,9)	14,6 (±8,4)	48,5 (±12,2)
20 DAI	88,7 (±3,4)	37,8 (±13,3)	73,7 (±19,3)	57,5 (±19,7)	68,1 (±29,3)	120,9 (±18,1)	15,7 (±9,2)	62,3 (±15,2)

DAI = dias após a inoculação.

Valores de severidade em negrito foram estimados com base em tamanho de lesões; demais valores foram contados.

Na segunda avaliação, a incidência da doença aumentou para 85,6% (tabela 5.3). Isso indica que houve um aumento de 34,5% de folhas doentes nos cinco dias decorrentes entre as avaliações.

Na terceira avaliação, a incidência absoluta esteve menor que aquela encontrada na segunda avaliação. Isso pode ser explicado pelo modo de crescimento da cana-de-açúcar, pois, no momento da inoculação, havia uma média de cinco folhas abertas nas plantas. No decorrer das avaliações, folhas novas foram emitidas a partir do cartucho, sendo que na terceira avaliação, a média de folhas por planta foi de sete folhas. A folha -1, que estava no cartucho no momento da inoculação, apresentou sintomas em aproximadamente 19% das plantas e a folha -2, que foi emitida mais tarde, não apresentou sintomas em nenhuma planta no período avaliado. Neste período do monociclo, os sintomas são decorrentes dos contatos efetivos dos urediniósporos com o tecido da planta. No entanto, é provável que a folha -2 e as demais folhas que estavam no cartucho no momento da inoculação, venham a apresentar sintomas decorrentes dos ciclos secundários do patógeno. Por esse motivo, a incidência absoluta se torna um parâmetro pouco expressivo, de modo que, considerando-se uma incidência relativa ao número de folhas que estavam passíveis de receber o inóculo, pode-se considerar que esta foi de 88,7% (tabela 5.3). Isso representa que aproximadamente 3% de folhas que não apresentavam sintomas aos 15 DAI, passaram a apresentá-los aos 20 DAI.

As pústulas inicialmente eram pequenas e foram se tornando maiores com o passar do tempo. A maior incidência de pústulas foi observada na parte abaxial da folha, encontrando-se, no entanto, algumas pústulas também na parte adaxial, o que está de acordo com o encontrado por MAGAREY (2000) e MARTINS (2010). Embora não se tenha conhecimento exato sobre a penetração deste fungo, a maior quantidade de estômatos presente na face abaxial da folha da cana-de-açúcar (JAMES, 2004) pode indicar que a infecção ocorra por meio destes.

Na primeira avaliação, o número médio de pústulas encontradas na área demarcada foi de aproximadamente 16 pústulas (tabela 5.3). Devendo-se dar destaque à folha 0, que apresentou uma média de 42 pústulas contabilizadas. Na segunda avaliação, foi observado um aumento significativo na severidade da doença. O número médio de pústulas contabilizadas por folha foi de aproximadamente 48. A mesma tendência foi seguida, indicando a folha 0 como a mais severamente atacada pela doença. Portanto, o número de lesões aumentou de forma significativa nos cinco dias decorridos.

Na última avaliação, realizada aos 20 DAI, o método de contagem de pústulas se tornou bastante difícil, pelo fato de as lesões terem coalescido, o que dificultou a identificação

de cada uma isoladamente (figura 5.2). Apenas nas folhas +4 e -1 conseguiu-se fazer a contagem, pois estas folhas estavam menos atacadas e, portanto suas pústulas não haviam coalescido. Nas demais, estimou-se um número próximo ao real, com base no tamanho das pústulas observado nas folhas com lesões não agrupadas. Desse modo, estimou-se que havia uma média de 62 pústulas por folha.

A folha 0 apresentou maior número de pústulas em todas as avaliações. Sugere-se que no momento da inoculação pode ter havido um acúmulo da suspensão em contato com esta folha, que não estava totalmente aberta, com parte dela ainda enrolada no cartucho, e, portanto, pode ter retido mais o inóculo que as demais folhas.



Figura 5.2 – Severidade da ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*) em folhas de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), da cultivar RB72454, aos 20 dias após a inoculação.

A coalescência das pústulas aos 20 DAI merece destaque, pois em trabalho semelhante desenvolvido na Flórida, MARTINS (2010), inoculando a cultivar CL 85-1040 com uma suspensão na concentração de 1×10^5 urediniósporos.mL⁻¹, realizou a avaliação de severidade de *P. kuehnii*, através de contagem das pústulas, até observar sua estabilidade, o que ocorreu aproximadamente 30 dias após a inoculação. Nesse período avaliado, os dados apresentados assim como as fotos dos sintomas, tornam evidente a baixa severidade da doença com relação ao que foi encontrado neste trabalho. Estas constatações levam a concluir que o

desenvolvimento da doença está condicionado a diversos fatores, dentre eles pode-se mencionar a cultivar de cana-de-açúcar e sua susceptibilidade a doença, o inóculo e sua agressividade, além das condições de temperatura e umidade propícias ao desenvolvimento da doença. No campo, as condições edafoclimáticas e de manejo também podem contribuir para a determinação do comportamento da interação final entre patógeno e hospedeiro.

Para melhor entendimento dos componentes monocíclicos da ferrugem alaranjada, devem-se fazer avaliações diárias de severidade. As folhas +3 e/ou +1 podem ser recomendadas para este fim, pois se comportaram de forma semelhante em relação à doença e apresentaram incrementos de severidade próximos no decorrer das avaliações, se mostrando adequadas na avaliação do monociclo da ferrugem alaranjada.

5.4 CONCLUSÕES

Dentre as cultivares avaliadas, 14 foram consideradas susceptíveis à doença. Devido às diferenças no grau de susceptibilidade das cultivares, sugere-se a presença de resistência quantitativa. Dessa forma, pode-se dividi-las em quatro grupos, sendo que a única cultivar considerada altamente susceptível à doença foi a RB72454, que se apresenta como padrão susceptível à ferrugem alaranjada.

A avaliação realizada no mês de maio, aos nove meses de idade da cana-soca, foi a data que apresentou resultados mais correlacionados com a AACPD, sugerindo-se que esta data é a mais adequada para os programas de melhoramento avaliarem a reação de cultivares à ferrugem alaranjada na região norte do Estado do Paraná.

Em condições controladas, os períodos de incubação e latência do fungo *P. kuehni* na cultivar padrão susceptível foram de sete e dez dias, respectivamente. Aos 20 DAI, a incidência da doença foi de aproximadamente 90% das folhas, contendo em média 62 pústulas na área demarcada de 5 cm² por folha, sendo que as lesões já estavam coalescidas na maioria das folhas. As folhas +3 e +1 são adequadas para avaliação dos componentes monocíclicos da ferrugem alaranjada.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, K.L. et al. Monitoramento da favorabilidade genotípica para ocorrência da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar no Brasil, Valparaíso, SP, 2010. In: XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2011, Bento Gonçalves, RS. **Tropical Plant Pathology**, Brasília: Associação Brasileira de Fitopatologia, 2011. v.36 (suplemento). p.839. Cd-rom.

- BARBASSO, D. et al. First report of *Puccinia kuehnii*, causal agent of orange rust of sugarcane, in Brazil. **Plant Disease**, v.94, p.1170, 2010. Disponível em: <<http://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-94-9-1170C>>. Acesso em: 25 de out. 2011.
- BOX, G.E.P.; COX, D.R. An analysis transformation. **Journal of the Royal Statistical Society**, Série B, v.26, p.211-252, 1964. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/10.2307/2984418>>. Acesso em: 10 de jun. 2012.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 1990. 532p.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Cana-de-açúcar: Primeiro levantamento abril, 2012**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_04_10_09_19_04_boletim_de_cana.pdf>. Acesso em: 25 de abr. 2012.
- FEDERIZZI, L.C.; STUTHMAN, D. Porque os genes maiores para resistência à ferrugem da folha tem pouca durabilidade no Brasil. In: **Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa em Aveia**, 18., 1998, Londrina, PR. Resumos. Londrina: IAPAR, 1998. p.1-2.
- FERREIRA, D.F. **Manual do sistema Sisvar para análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2000. 66 p.
- GAZAFFI, R. et al. Melhoramento Genético e Mapeamento da Cana-de-açúcar. In: CORTEZ, L.A.B. **Bioetanol de Cana-de-açúcar - P&D para produtividade e sustentabilidade**. 1.ed. São Paulo: Blucher, 2010. p.333-343.
- JAMES, G.L. An introduction to sugarcane. In: JAMES, G.L. **Sugarcane**. 2.ed. v.1. Oxford: Blackwell Science, 2004. p.1-19.
- JOHNSON, R.; WILCOXSON, R.D. Components of slow-rusting in barley infected with *Puccinia hordei*. **Phytopathology**, v.68, p.1470-1474, 1978. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1978Articles/Phyto68n10_1470.PDF>. Acesso em: 25 de mai. 2012.
- JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W. **Applied multivariate statistical analysis**. 4.ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1998. 816p.
- KLOSOWSKI, A.C. et al. Proposta e validação de escalas para ferrugens em cana-de-açúcar, Curitiba, PR, 2011. In: XXXV Congresso Paulista de Fitopatologia, 2012, Jaguariúna, SP. **Summa Phytopathologica**. Botucatu: Associação Paulista de Fitopatologia, 2012. v.38 (suplemento). Cd-rom.

- KUHN, R.C. et al. Slow leaf-rusting resistance in wheat against twenty-two isolates of *Puccinia recondita*. **Phytopathology**, v.68, p.651-656, 1978. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1978Articles/Phyto68n04_651.pdf>. Acesso em: 21 de mai. 2012.
- LUKE, H.H. et al. Horizontal resistance of red rustproof oats to crown rust. **Phytopathology**, v.62, p.414-417, 1972. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1972Articles/Phyto62n04_414.PDF>. Acesso em: 17 de abr. 2012.
- MAGAREY, R.C. Orange rust. In: ROTT, P. et al. **A guide to sugarcane diseases**. Montpellier: La Librairie du Cirad, 2000. p.121-125.
- MAGAREY, R.C. et al. Orange rust, a major pathogen affecting crops of Q124 in Queensland in 2000. **Proceedings of Australian Society of Sugar Cane Technology**, v.23, p.274-280, 2001. Disponível em: <<http://www.cabdirect.org/abstracts/20013057195.html;jsessionid=9BD46389B907D6A31AA2ABBF0AB55E81>>. Acesso em: 25 de nov. 2010.
- MALAVOLTA, V.M.A. et al. Determinação de níveis de resistência parcial à brusone em cinco genótipos de arroz. **Summa Phytopathologica**, v.21, p.117-123, 1995. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-54052008000200017&script=sci_arttext>. Acesso em: 12 de jun. 2012.
- MARTIN, C. D. et al. Quantitation of slow rusting in seedling and adult spring wheat. **Canadian Journal of Botany**, v.57, p.1550-1556, 1979. Disponível em: <<http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/b79-193?journalCode=cjb1>>. Acesso em: 21 de mai. 2012.
- MARTINS, T.D. **Aspectos epidemiológicos da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar**. 2010. 65p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Curso de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.
- MATSUOKA, S. et al. Melhoramento da cana-de-açúcar. In: BORÉM A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2005. p.205-251.
- MINCHIO, C.A. et al. Germinação de uredósporos de *Puccinia kuehnii* submetidos à diferentes temperaturas e tempos de incubação. **Summa Phytopathologica**, v.37, p.211-214, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sp/v37n4/a10v37n4.pdf>>. Acesso em: 14 de fev. 2012.
- OHM, J. W.; SHANER, G. E. Three components of slow leaf rusting at different growth stages in wheat. **Phytopathology**, v.66, p.1356-1360, 1976. Disponível em:

- <http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1976Articles/Phyto66n11_1356.PDF>. Acesso em: 08 de mar. 2012.
- PARLEVLIE, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, v.17, p.203-222, 1979. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.py.17.090179.001223>>. Acesso em: 21 de nov. 2010.
- PEARCE, W.L., VAN SANFORD, D.A. Partial resistance to powdery mildew in soft red winter wheat. **Plant Disease**, v.80, p.1359-1362, 1996. Disponível em: <<http://openagricola.nal.usda.gov/Record/IND20550387>>. Acesso em: 12 de abr. 2012.
- ROSSETO, R.; SANTIAGO, A.D. **Doenças da cana-de-açúcar**. Agência de Informação EMBRAPA: Cana-de-açúcar, 2005. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_55_711200516718.html>. Acesso em: 15 de abr. 2011.
- RUAS, A.R. et al. Reação de genótipos de cana-de-açúcar à ferrugem alaranjada, Araraquara, SP, 2010. In: XLIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2010, Cuiabá, MT. **Tropical Plant Pathology**. Brasília: Associação Brasileira de Fitopatologia, 2010. v.34 (suplemento). Cd-rom.
- SANTOS, A.S. **Doenças causadas por fungos e bactérias em cana-de-açúcar**. Comunicado Técnico. Campinas: EMBRAPA, 2004. Disponível em: <http://ag20.cnptia.embrapa.br/Repositorio/santos1_000xf38vwn02wyiv80soht9h8s4br2p.pdf>. Acesso em: 16 de abr. 2011.
- SILVA, E.G. et al. Ocorrência de fitoplasma associado à síndrome do amarelecimento foliar da cana-de-açúcar em três regiões do Estado de São Paulo. **Tropical Plant Pathology**, v.33, p.453-456, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1982-56762008000600009&script=sci_arttext>. Acesso em: 01 de mai. 2012.
- STEEL, R.G.D. et al. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 3.ed. Boston: McGraw Hill, 1996. 666p.
- SZTEJMBERG, A.; WAHL, I. Mechanisms and stability of slow stem rusting resistance in *Avena sterilis*. **Phytopathology**, v.66, p.74-80, 1976. Disponível em: <http://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1976Articles/Phyto66n01_74.PDF>. Acesso em: 05 de fev. 2012.
- TOKESHI, H.; RAGO, A. Doenças da cana-de-açúcar (híbridos de *Saccharum* spp.). In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2. Cap. 21, p.185-196.

ZHAO, D. et al. Orange rust effects on leaf photosynthesis and related characters of sugarcane. **Plant Disease**, v.95, p.640-647, 2011. Disponível em: <<http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS-10-10-0762>>. Acesso em: 11 de jan. 2012

6 CONCLUSÃO GERAL

A escala diagramática elaborada para a ferrugem alaranjada foi adequada para avaliação de severidade da doença, proporcionando estimativas acuradas, caracterizadas pela ausência de desvios constantes e sistemáticos, e precisas, tendo um incremento de 0,82 para 0,91 no valor médio do R^2 , e de 78,08% para 91,78%, na porcentagem de estimativas dentro da faixa de variação de 5%, quando se usou a escala em relação à avaliação sem escala.

Com as condições descritas no trabalho, sugere-se que a resistência à ferrugem alaranjada é controlada por um gene maior e vários genes menores agindo de forma quantitativa e, pela ocorrência da segregação transgressiva, é possível se obter indivíduos resistentes à doença mesmo dentro de famílias oriundas do cruzamento entre dois genótipos susceptíveis. No entanto, novos experimentos devem ser conduzidos visando o melhor entendimento dessa herança complexa.

Dentre as 28 cultivares avaliadas quanto a sua reação à ferrugem alaranjada, 14 foram consideradas susceptíveis à doença. Estas podem ser separadas em quatro grupos conforme o grau de susceptibilidade, sugerindo-se a ocorrência de resistência quantitativa. A única cultivar considerada altamente susceptível à doença foi a RB72454, que se apresenta como padrão susceptível à ferrugem alaranjada.

A avaliação realizada no mês de maio, aos nove meses de idade da cana-soca, foi a data que apresentou resultados mais correlacionados com a AACPD, sugerindo-se que esta data é adequada para se avaliar a reação de cultivares à ferrugem alaranjada na região norte do Paraná.

Em condições controladas, os períodos de incubação e latência do fungo *P. kuehni* na cultivar padrão susceptível foram de sete e dez dias, respectivamente. Aos 20 DAI, a incidência da doença foi de aproximadamente 90% das folhas, contendo em média 62 pústulas/folha na área demarcada de 5 cm², sendo que as lesões já estavam coalescidas na maioria das folhas. As folhas +3 e +1 foram adequadas para avaliação dos componentes monocíclicos da ferrugem alaranjada.

REFERÊNCIAS

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CARDOSO, C.; MORAES, V.A.; FERNANDES, C.R. Metodologia de avaliação da ferrugem da cana-de-açúcar (*Puccinia melanocephala*). **Boletim Técnico Copersucar**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 13-16, 1987.

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Fenologia, patometria e quantificação de danos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4Ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 59-98.

AMORIM, L.; PASCHOLATI, S.F. Ciclo de relações patógeno-hospedeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4Ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 59-98.

BARBASSO, D.; JORDÃO, H.; MACCHERONI, W.; BOLDINI, J.; BRESSIANI, J.; SANGUINO, A. First report of *Puccinia kuehnii*, causal agent of orange rust of sugarcane, in Brazil. **Plant disease**, Saint Paul, v. 94, n. 9, p. 1170, 2010.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1996.

BRAITHWAITE, K.S.; CROFT, B.J.; MAGAREY, R.C.; SCHARASCHKIN, T. Phylogenetic placement of the sugarcane orange rust pathogen *Puccinia kuehnii* in a historical and regional context. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, v. 38, n. 4, p. 380-388, 2009.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 1990.

CANAVALIS. **Doenças: o perigo está à espreita**, 2010. Disponível em: <http://www.canavialis.com.br/newsletter/CanaVialis_Results_Report_9Edicao.pdf>. Acesso em: 21/09/2011.

CDA – COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar**, 2010. Informativo técnico. Disponível em: <<http://www.cda.sp.gov.br/arquivos/ferrugem-alaranjada.pdf>>. Acesso em: 24/10/2010.

CHAVARRÍA, E.; SUBIRÓS, F.; VEGA, J.; RALDA, G.; GLYNN, N.C.; COMSTOCK, J.C.; CASTLEBURY, L.A. First report of orange rust of sugarcane caused by *Puccinia kuehnii* in Costa Rica and Nicaragua. **Plant disease**, Saint Paul, v. 93, n. 4, p. 425, 2009.

COMSTOCK, J.C.; SOOD, S.G.; GLYNN, N.C.; SHINE Jr, J.M.; McKEMY, J.M.; CASTLEBURY, L.A. First report of *Puccinia kuehnii*, causal agent of orange rust of sugarcane, in the United States and Western Hemisphere. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 92, n. 1, p. 175, 2008.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Cana-de-açúcar: Primeiro levantamento abril**, 2012. Disponível em: <

http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_04_10_09_19_04_boletim_de_cana.pdf>. Acesso em: 25/04/2012.

CROFT, B.; MAGAREY, M.; WHITTLE, P. Disease management. In: HOGARTH, M.; ALLSOPP, P. **Manual of canegrowing**, Bureau of Sugar Experiment Stations, Brisbane, 2000. p. 263-289.

CTC – Centro de Tecnologia Canavieira. **Mapa das ocorrências da ferrugem alaranjada**. São Paulo, 2011. Disponível em: <http://www.ctcanavieira.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=507:ferrugem-alaranjada-da-cana-de-acucar-mapa-deocorrencias&catid=3:destaque&Itemid=1460>. Acesso em: 14/12/2011.

DAUGROIS, J.H.; GRIVET, L.; ROQUES, D.; HOARAU, J.Y.; LOMBARD, H.; GLASZMANN, J.C.; D'HONT, A. A putative major genes for rust resistance linked with a RFLP marker in sugarcane cultivar 'R570'. **Theoretical and applied genetics**, Heidelberg, v. 92, n. 8, p. 1059-1064, 1996.

ESH, A.M.H. Etiology, epidemiology and management of fungal diseases of sugarcane. In: ARYA, A.; PERELLÓ, A.E. **Management of fungal plant pathogens**. London: CABI, 2010.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Base de dados Faostat – Agriculture, 2010**. Roma, 2010. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>>. Acesso em: 20/05/2012.

FAUCONNIER, R.E.; BASSEREAU, D. **La caña de azúcar**. Barcelona: Blume, 1975.

FLORES, R. C.; LOYO, J.R.; OJEDA, R.A.; RANGEL, O.C.A.; CERÓN, F.A.; MÁRQUEZ, W.; GUERRA-MORENO, A.S.; HERNANDEZ-IBARRA, H.M.; GONZÁLEZ, R.E.; CASTLEBERRY, L.A.; DIXON, L.J.; GLYNN, N.C.; COMSTOCK, J.C.; FLYNN, J.; AMADOR, J. First report of orange rust of sugarcane caused by *Puccinia kuehnii* in Mexico, El Salvador and Panama. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, n. 12, p. 1347, 2009.

FRAGOSO, R.B.; KLOSOWSKI, A.C.; BESPALHOK FILHO, J.C.; RUARO, L.; OLIVEIRA, R.A. Severidade e incidência da ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*) da cana-de-açúcar em genótipos com diferentes épocas de corte. In: XXXIV Congresso Paulista de Fitopatologia, Campinas, SP, 2011. **Summa Phytopathologica**: Botucatu: Associação Paulista de Fitopatologia, 2012. v. 37 (suplemento). CD-ROM.

GIGLIOTI, E.A.; ZAVAGLIA, L.; MENEZES, L.L.; DE MOURA G.L.; MATSUOKA, S. **Resistência e tolerância à ferrugem da cana-de-açúcar: o caso da RB835486**. Araras: Universidade Federal de São Carlos, 1999.

GLYNN, N.C.; DIXON, L.J.; CASTLEBURY, L.A.; SZABO, L.J.; COMSTOCK, J.C. PCR assays for the sugarcane rust pathogens *Puccinia kuehnii* and *P. melanocephala* and detection of a SNP associated with geographical distribution in *P. kuehnii*. **Plant Pathology**, Saint Paul, v. 59, n. 4, p. 703-711, 2010.

GONZALEZ, V.R.; MANZANO, A.C.; ORDOSGOITTI, A.F.; SALAZAR, P. Genética de la reacción de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) a *Puccinia melanocephala*, causante de la roya. **Agronomía Tropical**, Venezuela, v. 37, n. 1-3, p. 99-116, 1987.

HOGARTH, D.M.; RYAN, C.C.; TAYLOR, P.W.J. Quantitative inheritance of rust resistance in sugarcane. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 34, n. 2, p. 187-193, 1993.

HORSFALL, J.G.; BARRATT, R.W. An improved grading system for measuring plant disease. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 35, n. 8, p. 655, 1945.

HSIEH, W.H.; FANG, J.G. The uredospore production of *Puccinia melanocephala* and *Puccinia kuehnii* in sugarcane. **Plant Protection Bull**, Roma, v. 25, n. 4, p. 239-244, 1983.

IDO, O.T.; LIMA-NETO, V.C.; DAROS, E.; POSSAMAI, J.C.; ZAMBON, J.L.C.; WEBER, H.; OLIVEIRA, R.A. Incidência e severidade da ferrugem em clones de cana-de-açúcar no Estado do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 3, p.159-163, 2006.

INDEX FUNGORUM. *Puccinia kuehnii*. 2012. Disponível em: <<http://www.indexfungorum.org/names/NamesRecord.asp?RecordID=243512>>. Acesso em: 16/05/2012.

INFANTE, D.; MARTINEZ, B.; GONZALEZ, E.; GONZALEZ, N. *Puccinia kuehnii* (Kruger) Butler y *Puccinia melanocephala* H. Sydow y P. Sydow. en el cultivo de la caña de azúcar. **Revista Protección Vegetal**, La Habana, v. 24, n. 1, p. 22-28, 2009.

KLOSOWSKI, A.C.; MAY DE MIO, L.L.; RUARO, L.; BESPALHOK FILHO, J.C. Proposta e validação de escalas para ferrugens em cana-de-açúcar. In: XXXV Congresso Paulista de Fitopatologia, 2012, Jaguariúna, SP. **Summa Phytopathologica**. Botucatu: Associação Paulista de Fitopatologia, 2012. v.38 (suplemento). Cd-rom.

KOIKE, H. L. **Sugar-Cane Diseases: A Guide for Field Identification**, Roma: FAO, 1988.

KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. **Experimental techniques in plant disease epidemiology**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. p. 35-50.

LANDELL, M.G.A.; CAMPANA, M.P.; FIGUEIREDO, P.; SILVA, M.A. **Programa de melhoramento genético: estratégias para o desenvolvimento de novas variedades de cana-de-açúcar**. In: LANDELL M.G.A.; VASCONCELOS, A.C.M.; DINARDO-MIRANDA, L.L. (Coords.) (Workshop), 2, Programa Cana IAC: Instituto Agrônomo de Campinas, p. 7-10, 2003.

LENZ, G.; COSTA, I.D.; BALARDIN, R.S.; MARQUES, L.N.; ARRUÉ, A.; STEFANELO, M.S.; ZEMOLIN, Z.R. Elaboração e validação de escala diagramática para quantificação da mancha de isariopsis da videira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p. 2301-2308, 2009.

MAGAREY, R.C. Orange rust. In: ROTT, P.; BAILEY, R.A.; COMSTOCK, J.C.; CROFT, B.J.; GIRARD, J.C.; SAUMTALLY, A.S. **A guide to sugarcane diseases**. Montpellier: La Librairie du Cirad, 2000. p. 121-125.

MAGAREY, R.C.; WILLCOX, T.; CROFT, B.; CORDINGLEY, A. Orange rust, a major pathogen affecting crops of Q124 in Queensland in 2000. **Proceedings of Australian Society of Sugar Cane Technology**, Queensland, v. 23, p. 274-280, 2001.

MAGAREY, R.C.; NEILSEN, W.A.; MAGNANINI, A.J. **Environmental requirements for spore germination in the three sugarcane leaf pathogens**. Conference of the Australasian Society of Sugar Cane Technologists held at Brisbane, Queensland, 2004, p. 1-7.

MAGAREY, R. C. Sugarcane orange rust, a threat to other countries and its impact on Australian sugar production. In: XL CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, Palestras, Maringá, PR, 2007. **Tropical Plant Pathology**: Brasília, Sociedade Brasileira de Fitopatologia, v. 32 (suplemento), 2007.

MAPA – MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Ferrugem alaranjada (*Puccinia kuehnii*)**, 2010. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/MAIS%20DESTAQUES/Ferrugem%20Alaranjada.pdf>. Acesso em: 16/10/2010.

MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**, 2012. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 22/03/2012.

MARTINS, T.D. **Aspectos epidemiológicos da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar**. 65p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Curso de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010.

MINCHIO, C.A.; CANTERI, M.G.; ROCHA, J.A. Germinação de uredósporos de *Puccinia kuehnii* submetidos à diferentes temperaturas e tempos de incubação. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 4, p. 211-214, 2011.

MONTEIRO, J.H.A.; CRUZ, M. M.; BARBOSA, G.V.S. Primeiro relato da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar (*Puccinia kuehnii*) no nordeste do Brasil. In: XLV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Manaus, AM, 2012. **Tropical Plant Pathology**, Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, v.37 (suplemento), 2012.

MOURA, G.L. **Análise da herança da resistência da cana-de-açúcar à ferrugem (*Puccinia melanocephala* H. & P. Syd)**. 45p. Dissertação (Mestrado em Genética e Evolução) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

NEUBAUER, R.A.; SANCHES, P.R.B.; GILIO, T.A.S.; FAGUNDES, C.; BASSAN, B.E.; RODERO, D.P.; RODERO, D.C.P.; ARAÚJO, K.L.; GIGLIOTI, E.A.; CANTERI, M.G. Mapeamento espaço-temporal de zonas de risco para ocorrência da ferrugem alaranjada da cana-de-açúcar (*Puccinia kuehnii*) no Brasil. In: XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Bento Gonçalves, RS, 2011. **Tropical Plant Pathology**, Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, v.36 (suplemento), 2011.

ORDÓÑEZ, M.C.; SÁNCHEZ, J.C.A.; KAFURE, J.I.V. Métodos de diferenciación en campo y laboratorio de los agentes causales de la Roya Café (*Puccinia melanocephala*) y Roya Naranja (*Puccinia kuehnii*) en la caña de azúcar. **Cenicaña**: Carta trimestral, n. 3 y 4, 2010. Disponível em: <http://www.cenicana.org/publicaciones/carta_trimestral/ct2010/ct3y4_10/ct3y4_10_p30-36.php>. Acesso em: 12/01/2011.

OVALLE, W.; COMSTOCK, J.C.; GLYNN, N.C.; CASTLEBURY, L.A. First report of *Puccinia kuehnii*, causal agent of orange rust of sugarcane, in Guatemala. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 92, n. 6 p. 973, 2008.

OVALLE, W.; OROZCO, H.; QUEMÉ, J.; MELGAR, M.; GARCIA, S. La roya naranja en Guatemala y estrategias para su manejo. **Sugar Journal**, Santiago de Cali, v. 72, n. 3, p.18-23, 2009.

PEREIRA, W. **Cana, café e laranja**: história econômica de Nova Iguaçu. Rio de Janeiro: Fundação Getúlio Vargas/SEEC, 1977.

PETERSEN, R.H. The rust fungus life cycle. **Botanical Review**, Lancaster, v. 4, n. 40, p. 453-513, 1974.

PMGCA/UFPR/RIDESA. **Relatório técnico**, 2010. Curitiba: RIDESA, 2011.

PROCANA BRASIL. Paraná registra foco de ferrugem alaranjada. **Jornal da cana**, 22 de jan. 2010. Notícia. Disponível em: <<http://www.jornalcana.com.br/noticia/Jornal-Cana/17894+Parana-registra-foco-de-ferrugem-alaranjada>>. Acesso em: 15/09/2010.

RAMDOYAL, K.; SULLIVAN, S.; MEDAN, H.; BADALOO, G.; SAUMTALLY, S.; DOMAINGUE, R. Trends in the inheritance of rust (*Puccinia melanocephala* H. & P. Syd) in sugar cane. **Sugar cane**, Kent, v. 3, p. 19-23, 1996.

RAMDOYAL, K.; SULLIVAN, S.; LIM SHIN SHONG, L.C.Y.; BADALOO, G.H.; SAUMTALLY, S.; DOMAINGUE, R. The genetics of rust resistance in sugarcane seedling populations. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 100, n. 3-4, p. 557-563, 2000.

RIDESA – Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro. **Catálogo Nacional de Variedades “RB” de Cana-de-açúcar**. Curitiba, 2010.

RIDESA – Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro. **Censo Varietal 2011**. Rio Largo, 2012.

ROSSETO, R.; SANTIAGO, A.D. **Doenças da cana-de-açúcar**. Agência de Informação EMBRAPA: Cana-de-açúcar, 2005. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_55_711200516718.html>. Acesso em: 15/04/2011.

ROSSINI, C. Ferrugem Alaranjada: perigo aos canaviais. **Revista Canavieiros**: Pragas e Doenças, 04 de jan. 2011. Entrevista. Disponível em <http://www.revistacanavieiros.com.br/mostra_noticia.asp?id=2642>. Acesso em: 24/05/2011.

RYAN, C. C.; EGAN, B. T. Rust. In: RICAUD, C.; EGAN, B. T.; GILLASPIE JUNIOR, A. G.; HUGHES, C. G. **Diseases of sugarcane**. Amsterdam: Elsevier, 1989. p. 189-210.

SANGUINO, A.; CARDOSO, C.O.M.; CAMPOS, J.D.P.; AMORIM, L.; SILVA, M.M. Constatação da ferrugem da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. **Summa Phytopatologica**, São Paulo, v. 13, n. 1/2, p. 44, 1987.

SANGUINO, A. Situação atual da pesquisa em doenças da cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 90-91, 1998.

SANTOS, A.S. Doenças causadas por fungos e bactérias em cana-de-açúcar. **Comunicado Técnico**. Campinas, EMBRAPA, 2004. Disponível em: <http://ag20.cnptia.embrapa.br/Repositorio/santos1_000fx38vwn02wyiv80soht9h8s4br2p.pdf>. Acesso em: 16/04/2011.

SORDI, R.A.; MATSUOKA, S.; MASUDA, Y.; AGUILLERA, M.M. Sugarcane rust: a new problem in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 4, p. 313-316, 1988.

SORDI, R.A.; ARIZONO, H.; MATSUOKA, S. Indicadores de herdabilidade e avaliação da resistência de clones RB à ferrugem da cana-de-açúcar. **Brasil açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 2, p. 18-23, 1988.

STAIER, T.; MAGAREY, R.; WILLCOX, T.G. Control of orange rust in sugarcane with fungicides. **Conference of the Australian Society of Sugar Cane Technologists**. Queensland, 2003. p. 31. (CD ROM).

TAI, P.Y.P.; MILLER, J.D.; DEAN, J.L. Inheritance of resistance to rust in sugarcane. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 4, p. 261-268, 1981.

TOKESHI, H.; RAGO, A. Doenças da cana-de-açúcar (híbridos de *Saccharum* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2. Cap. 21, p.185-196.

VIRTUDAZO, E.V.; NAKAMURA, H.; KAKISHIMA, M. Ribosomal DNA-ITS sequence polymorphism in the sugarcane rust, *Puccinia kuehnii*. **Mycoscience**, Tokyo, v. 42, p. 447-453, 2001a.

_____. Phylogenetic analysis of sugarcane rusts based on sequences of ITS, 5.8 S rDNA and D1/D2 regions of LSU rDNA. **Journal of General Plant Pathology**, Tokyo, v. 67, p. 28-36, 2001b.

VIRTUDAZO, E.V.; NOJIMA, H.; KAKISHIMA, M. Taxonomy of *Puccinia* species causing rust diseases on sugarcane. **Mycoscience**, Japan, v. 42, p. 167-175, 2001.

ZHAO, D.; GLYNN, N.C.; GLAZ, B.; COMSTOCK, J.C.; SOOD, S. Orange rust effects on leaf photosynthesis and related characters of sugarcane. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 95, n. 6, p. 640-647, 2011.