Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

**Variabilidade patogênica de *Puccinia melanocephala*
e *Ustilago scitaminea* no Estado de São Paulo**

Alejandro Mario Rago

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2005

Alejandro Mario Rago
Engenheiro Agrônomo

**Variabilidade patogênica de *Puccinia melanocephala*
e *Ustilago scitaminea* no Estado de São Paulo**

Orientador:
Prof. Dr. **NELSON SIDNEI MASSOLA JUNIOR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2005

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Rago, Alejandro Mario

Variabilidade patogênica de *Puccinia melanocephala* e *Ustilago scitaminea* no Estado de São Paulo / Alejandro Mario Rago. - - Piracicaba, 2005.
42 p.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.

1. Cana-de-açúcar 2. Carvão (doença de planta) 3. Ferrugem (doença de planta)
4. Patogenicidade I. Título

CDD 633.61

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus filhos Valentín, Catalina e Tomás.

Quero agradecer às seguintes instituições e pessoas que tornaram possível os meus estudos no Brasil:

- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e Universidade de São Paulo;
- Departamento de Fitopatologia, Entomologia e Zoologia Agrícola da ESALQ, professores e pessoal de apoio;
- Centro de Tecnologia Canavieira, Piracicaba, e todo seu pessoal de apoio de Fitossanidade;
- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina;
- Chacra Experimental Agrícola, Salta, Argentina;
- GAtec, Piracicaba;
- Nelson Sidnei Massola Jr., orientador e amigo;
- Marcos Virgilio Casagrande, grande amigo e conselheiro;
- Jorge Mariotti, Roberto Sopena, Enrique Ullivarri e Martín Acreche, amigos e colegas do INTA – Famaillá, Tucumán, Argentina;
- Ricardo Ullivarri, Sebastian Bacigalupo, Erica Montanari e Germán Serino, amigos e colegas da Chacra Experimental Agrícola, Col. Santa Rosa, Salta, Argentina;
- Adriana Marinelli, Guillermo March, Sergio Lenardón, José Ornaghi e Graciela Boito, da Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina; amigos e primeiros grandes mestres na pesquisa;
- Meus amigos da turma de mestrado, especialmente Fabrício e Isolda, e do Laboratório de Micologia, Cassiara, Hugo, Sylvia e Gleiber;
- Meus amigos da Argentina, Maria e Julio, Anita e Daniel, Maria del Carmen, Los Centurion, Cecília e Carlos, Erica e Manuel, Gachi e Seba;
- Meus amigos “feitos” no Brasil, Ivone e Giancarlo, Gabriela e Dori, por nossa curta, mas grande amizade;
- E a minha família, a pequena, Vale, Cata, Toti e Teté, por estar incondicionalmente a meu lado, e a grande, Mamá e Papá, Moni e Juan Carlos, Fede e Ceci, Tía Tita, Leni e Gonza, Lu e ao “monte” de sobrinhos, que de longe apoiaram e ajudaram a fazer meus estudos;
- A Deus, por tudo mencionado acima.

SUMÁRIO

LISTAS DE FIGURAS	7
RESUMO	8
ABSTRACT	9
RESUMEN	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 DESENVOLVIMENTO	13
2.1 Revisão Bibliográfica	13
2.1.1 A ferrugem	13
2.1.1.1 Importância econômica	13
2.1.1.2 Resistência genética	14
2.1.1.3 Variabilidade patogênica	15
2.1.2 O carvão	16
2.1.2.1 Importância econômica	16
2.1.2.2 Resistência genética	17
2.1.2.3 Variabilidade patogênica	18
2.2 Material e Métodos	19
2.2.1 Caracterização da variabilidade patogênica de <i>Puccinia melanocephala</i>	19
2.2.1.1 Populações utilizadas	19
2.2.1.2 Variedades utilizadas	19
2.2.1.3 Inoculações	20
2.2.1.4 Avaliações	20
2.2.2 Caracterização da variabilidade patogênica de <i>Ustilago scitaminea</i>	20
2.2.2.1 Populações utilizadas	21
2.2.2.2 Variedades utilizadas	21
2.2.2.3 Inoculações	21
2.2.2.4 Plantio no campo	22
2.2.2.5 Delineamento experimental	22
2.2.2.6 Avaliações	22
2.3 Resultados e Discussão	23
2.3.1 Caracterização da variabilidade patogênica de <i>Puccinia. melanocephala</i>	23

	6
2.3.2 Caracterização da variabilidade patogênica de <i>Ustilago scitaminea</i>	27
3 CONCLUSÕES	35
REFERÊNCIAS	36

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Incidência da ferrugem (número de pústulas/cm²) gerada por diferentes populações de *P. melanocephala* nas variedades SP70-1143 (suscetível), SP91-1397 (intermediária) e R570 (resistente).....25
- Figura 2 – Severidade da ferrugem (porcentagem de área foliar afetada) gerada por diferentes populações de *P. melanocephala* nas variedades SP70-1143 (suscetível), SP91-1397 (intermediária) e R570 (resistente)26
- Figura 3 – Curvas de progresso da doença das diferentes populações de *U. scitaminea* avaliadas nas variedades SP84-2066 e Co42132
- Figura 4 – Incidência (porcentagem de touceiras doentes) gerada por diferentes populações de *U. scitaminea* avaliadas nas variedades SP84-2066 e Co42130
- Figura 5 – Períodos latentes resultantes das inoculações de diferentes populações de *U. scitaminea* nas variedades SP84-2066 e Co42131
- Figura 6 – Valores de área abaixo da curva de progresso da doença (AUDPC) gerados por diferentes populações de *U. scitaminea*, avaliados nas variedades SP84-2066 e Co42132

RESUMO

Variabilidade patogênica de *Puccinia melanocephala* e *Ustilago scitaminea* no Estado de São Paulo

A ferrugem e o carvão estão entre as principais doenças da cana-de-açúcar, visto que são consideradas em todos os Programas de Melhoramento Genético (PMG), tanto na seleção de genitores resistentes quanto no comportamento das progênies. Quando a cultura está distribuída em grandes extensões tornam-se importante conhecer a amplitude da variação patogênica na população dos agentes causais. Diante a importância de obter variedades com resistência efetiva e duradoura, o objetivo do presente estudo foi verificar a ocorrência e caracterizar, no Estado de São Paulo, a variabilidade patogênica de *Puccinia melanocephala* e *Ustilago scitaminea*. Coletaram-se 12 populações de cada patógeno em 3 regiões canavieiras, Piracicaba, Jaú e Ribeirão Preto. Para os experimentos de ferrugem usaram-se 3 variedades de comportamento conhecido frente à doença, SP70-1143, SP91-1397 e R570, suscetível, intermediária e resistente, respectivamente. Plantas com 20 dias de desenvolvimento foram inoculadas com suspensões de 10^4 esporos viáveis/mL de cada população, e colocadas em câmara de crescimento a 20 °C e 12 h de fotoperíodo. Após 14 dias foram avaliados os sintomas na folha +1, quantificando severidade medida em porcentagem de área foliar afetada e incidência, medida em número de pústulas/cm². Para carvão utilizaram-se 3 variedades de reação conhecida, SP84-2066, suscetível, Co421 intermediária e SP71-8210 resistente. Inocularam-se gemas de cada variedade com suspensões de $1,7 \times 10^6$ esporos viáveis/mL das populações. Após do desenvolvimento em casa de vegetação, as plantas foram transplantadas no campo instalando-se um ensaio em delineamento de blocos casualizados com 4 repetições. As avaliações foram realizadas a cada 14 dias durante o ciclo de cana-planta, determinando-se a incidência da doença segundo as porcentagens acumuladas de touceiras doentes por parcelas, obtendo-se também a área abaixo da curva de progresso da doença. Para ferrugem verificou-se que houve diferenças significativas de agressividade entre as populações estudadas. Duas populações de Jaú, J3 e J4, destacaram-se pela maior agressividade em todas as variedades. Além disso, as populações de Jaú mostraram também virulência diferenciada em relação às demais populações. As populações de *U. scitaminea* apresentaram diferentes níveis de agressividade, porém não houve alterações de virulência entre as populações estudadas. Segundo os parâmetros observados, uma população de Piracicaba e duas de Jaú comportaram-se como as mais agressivas. Dessa forma, ficou comprovada que, tanto para *P. melanocephala* como para *U. scitaminea*, existe uma considerável variabilidade patogênica entre as populações destes agentes causais no Estado de São Paulo, Brasil. Os PMG que submetem os materiais a inoculações artificiais com esporos de ferrugem e carvão em alguma etapa do programa necessitam considerar a variação na agressividade dos patógenos determinada neste estudo.

Palavras-chaves: Ferrugem; Carvão; Cana-de-açúcar; Patogenicidade

ABSTRACT

Pathogenic variability of *Puccinia melanocephala* and *Ustilago scitaminea* in the State of São Paulo

Rust and smut are among the most important diseases of sugarcane, being considered in every breeding program both in parent selection as well as in evaluating progeny behavior. When the crop is distributed to large extensions, it becomes very important to know the amplitude of the pathogenic variation in the population of the causal agent. Considering the importance of obtaining varieties with effective and long lasting resistance, the objective of the present study was to verify the occurrence, in the state of São Paulo, of pathogenic variability in *Puccinia melanocephala* and *Ustilago scitaminea*. Twelve populations of each pathogen were collected from three sugarcane producing regions: Piracicaba, Jaú and Ribeirão Preto. For the rust experiments three varieties of known behavior to the disease were used, SP70-1143, SP91-1397 and R570, susceptible, intermediate, and resistant, respectively. Twenty day-old plants were inoculated with 10^4 viable spores/mL suspensions of each population, and incubated at 20 °C with 12 h photoperiod. Fourteen days later, symptoms were evaluated in the leaf +1, quantifying severity as the percentage of the leaf area affected and incidence as the number of pustules/cm². For smut, three varieties with known response to the disease were used, SP84-2066, susceptible, Co421, intermediate and SP71-8210, resistant. Buds of each variety were inoculated with $1,7 \times 10^6$ viable spores/mL of each population. After growth in the greenhouse the plants were transplanted to the field in a random block trial with 4 repetitions. Disease was monitored every fourteen days during the plant cane cycle, determining the incidence according to the accumulated percentage of diseased stools per plot, also obtaining the area below the disease progression curve. For rust, it was observed that the populations showed different levels of aggressiveness. Two populations from Jaú, named J3 and J4, behaved as the most aggressive in the three varieties. Moreover, populations from Jaú showed different virulence among studied populations. The populations of *U. scitaminea* showed distinct aggressiveness levels, however it was not observed changes in the virulence among tested populations. According to the evaluated parameters, one population from Piracicaba and two from Jaú behaved as the most aggressive ones. Thus, it was showed that a considerable pathogenic variability exists among Brazilian populations of both pathogens. The sugarcane breeding programs that perform artificial inoculations with rust and smut spores at some stage in the program must take into consideration the variability in the aggressiveness of the pathogens determined in this study.

Keywords: Rust; Smut; Sugarcane; Pathogenicity

RESUMEN

Variabilidad patogénica de *Puccinia melanocephala* y *Ustilago scitaminea* en el Estado de São Paulo

La roya y el carbón están entre las principales enfermedades de la caña de azúcar, siendo consideradas en todos los Programas de Mejoramiento Genético (PMG), tanto en la selección de progenitores resistentes cuanto en el comportamiento de las progenies. Cuando el cultivo está distribuido en grandes extensiones se torna importante conocer la amplitud de la variación patogénica en la población de los agentes causales. Frente a la importancia de obtener variedades con resistencia efectiva y estable, el objetivo del presente estudio fue verificar la ocurrencia y caracterizar en el Estado de São Paulo, la variabilidad patogénica de *Puccinia melanocephala* e *Ustilago scitaminea*. Se colectaron 12 poblaciones de cada patógeno en 3 regiones cañeras, Piracicaba, Jaú y Ribeirão Preto. Para los experimentos de roya se usaron 3 variedades de comportamiento conocido frente a la enfermedad, SP70-1143, SP91-1397 y R570, susceptible, intermediaria y resistente, respectivamente. Plantas con 20 días de desarrollo fueron inoculadas con suspensiones de 10^4 esporas viables/mL de cada población, y colocadas en cámara de crecimiento a 20 °C y 12 h de fotoperíodo. Después de 14 días fueron evaluados los síntomas en la hoja +1, cuantificando severidad, medida en porcentaje de área foliar afectada e incidencia, medida en número de pústulas/cm². Para carbón se usaron 3 variedades de reacción conocida, SP84-2066, susceptible, Co421 intermediaria e SP71-8210 resistente. Se inocularon yemas de cada variedad con suspensiones de $1,7 \times 10^6$ esporas viables/mL de cada población. Después de un tiempo de crecimiento en invernáculo, las plantas fueron transplantadas en el campo instalándose un ensayo en delineamiento de bloques al azar con 4 repeticiones. Las evaluaciones fueron realizadas cada 14 días durante el ciclo de caña planta, determinándose la incidencia de la enfermedad según los porcentajes acumulados de cepas enfermas por parcelas, obteniéndose también el área bajo la curva de progreso de la enfermedad. Para roya se verificó que hubo diferencias significativas de agresividad entre las poblaciones estudiadas. Dos poblaciones de Jaú, J3 y J4, se destacaron por la mayor agresividad en todas las variedades. Además, las poblaciones de Jaú mostraron también virulencia diferenciada en relación a las demás poblaciones. Las poblaciones de *U. scitaminea* presentaron diferentes niveles de agresividad, aunque no hubo alteraciones de virulencia entre las poblaciones estudiadas. De esta forma, quedó comprobada que, tanto para *P. melanocephala* como para *U. scitaminea*, existe una considerable variabilidad patogénica entre las poblaciones de estos agentes causales en el Estado de São Paulo, Brasil. Los PMG que someten los clones a inoculaciones artificiales con esporas de roya y carbón en alguna etapa del Programa, necesitan considerar la variación en la agresividad de los patógenos determinada en este estudio.

Palabras claves: Roya; Carbón; Caña de azúcar; Patogenicidad.

1 INTRODUÇÃO

A agroindústria do açúcar e álcool, que envolve o agronegócio da cana-de-açúcar é uma das principais atividades econômicas para o Brasil, gerando aproximadamente R\$ 11,5 bilhões ao ano, e mais de um milhão de empregos diretos e outros quatro milhões indiretos. O Estado de São Paulo reúne 400 mil empregos diretos no setor e o agronegócio da cana-de-açúcar é responsável por 35% do Produto Interno Bruto – PIB do Estado (UNICA, 2005).

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, com 5,3 milhões de hectares, que produzem em torno de 260 milhões de toneladas de cana, gerando 10 bilhões de litros de álcool e 16 milhões de toneladas de açúcar. O Estado de São Paulo é responsável por quase 60% desta produção (UNICA, 2005).

Nos diferentes ambientes onde é cultivada a cana-de-açúcar, a cultura é submetida às mais diversas condições e é exposta a uma ampla variedade de fatores, capazes de reduzir sua produtividade, sendo as doenças um deles.

Os Programas de Melhoramento Genético (PMG) de cana-de-açúcar abastecem o agronegócio com novas variedades que, além de uma maior produtividade, conferem resistência às principais doenças (ANTOINE, 1961; IRVINE, 1982; BERGAMIN FILHO et al., 1987; FERREIRA; COMSTOCK, 1989, TOKESHI; RAGO, 2005). A maioria dos PMG incorpora no plano de cruzamentos, progenitores resistentes às doenças para conferir tolerância na progênie. Além disso, nos protocolos de seleção de novas variedades são feitas avaliações para testar o comportamento dos clones frente a presença dos patógenos, entre eles os agentes causais da ferrugem e do carvão (BENDA, 1987; WALKER, 1987). No entanto, nos últimos anos, tem sido freqüente o aumento na incidência/severidade da ferrugem e do carvão em determinadas regiões do Estado de São Paulo, após curtos períodos do lançamento de alguns genótipos considerados resistentes dando indícios de falhas no processo de seleção ou da existência de variantes mais agressivos do patógeno no campo (CASAGRANDE¹, informação pessoal).

¹ CASAGRANDE, M.V. Centro de Tecnologia Canavieira, Piracicaba, SP. Fev / 2004.

A ocorrência de variantes mais agressivos de fitopatógenos que conseguem atacar variedades resistentes é muito freqüente em outros patossistemas. Porém, no caso da ferrugem e do carvão da cana, não existe informação sobre a existência de variabilidade patogênica dos agentes dessas doenças em condições de cultivos comerciais no Brasil.

Em países como o Brasil, onde a cana é cultivada em grandes extensões e, portanto, sujeita às mais variadas combinações entre populações do patógeno e condições edafoclimáticas, torna-se extremamente importante conhecer a amplitude da variação patogênica nas populações dos agentes causais. Essa informação é de fundamental importância para que os programas de melhoramento não corram o risco de lançar variedades consideradas resistentes e que, na presença de variantes mais agressivos do patógeno, se comportem como suscetíveis.

Diante a importância de se obter variedades com resistência efetiva e duradoura, o objetivo do presente estudo foi verificar a ocorrência e caracterizar, no Estado de São Paulo, a variabilidade patogênica de *Puccinia melanocephala* e *Ustilago scitaminea*, agentes causais da ferrugem e do carvão da cana, respectivamente.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 A ferrugem

A ferrugem da cana-de-açúcar é causada por *Puccinia melanocephala* H. & P. Sydow, fungo da Divisão Basidiomycota, Classe Teliomycetes, Ordem Uredinales, Família Puccinaceae (HAUKSWORTH et al, 1995), que parasita os tecidos foliares. As folhas atacadas exibem pústulas salientes, sintomas típicos das ferrugens, com rompimento da epiderme. Estas apresentam coloração amarelada a marrom-escuro em função da massa de urediniósporos presente (TOKESHI; RAGO, 2005).

2.1.1.1 Importância econômica

A ferrugem já provocou severas epifitias em diferentes áreas canavieiras do mundo obrigando a uma rápida substituição das variedades suscetíveis por outras resistentes. Na Índia registraram-se epifitias nas décadas de 50 e 60, sendo as principais variedades afetadas Co475, CoS51 e Co876, que foram descartadas do plantio comercial (RYAN; EGAN, 1989).

A variedade B4362, suscetível à ferrugem, que foi amplamente plantada na Angola e Camarões, foi eliminada no final da década de 60 pelas grandes perdas provocadas pela doença (RYAN; EGAN, 1989). Essa mesma variedade, que estava amplamente distribuída na América Central e países do Caribe, proporcionou o hospedeiro ideal para o aparecimento da ferrugem no Continente Americano em 1978 (PRESSLEY; PERDOMO; AYAT, 1978). Desde então a ferrugem tem sido considerada uma das doenças mais importantes da cana-de-açúcar (PURDY; LIU; DEAN, 1983; PURDY; KRUPA; DEAN, 1985). Sua aparição nas Américas produziu significativos danos que foram relatados em numerosos estudos (RAID; COMSTOCK, 2000). Em Cuba e no México registraram-se perdas de até 50% em produção de açúcar em 1980/81. Esta situação originou uma rápida substituição da variedade B4362 por outras variedades com resistência (KOIKE, et al., 1979; LIU, 1979; PRESSLEY; PERDOMO;

AYAT, 1978). Nos Estados Unidos em variedades suscetíveis registraram-se perdas entre 10 e 40%, atribuídos a efeitos sobre a diminuição no número e a biomassa dos colmos (COMSTOCK; WU; SCHNELL, 1992). As variedades mais afetadas foram CL41-223 e CP63-588, as quais que tiveram que ser substituídas (DEAN; PURDY, 1984). Na Austrália o aparecimento da ferrugem também é relatado em 1978 afetando a variedade mais cultivada, Q90, atingindo perdas de mais de 10% de produtividade, o que originou um rápido declínio na superfície plantada (RYAN; EGAN, 1989).

A ferrugem é uma das doenças de mais recente aparecimento na cultura da cana-de-açúcar no Brasil. Foi relatada no município de Capivari, Estado de São Paulo, no ano de 1986 (COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE CANA, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. - COPERSUCAR, 1986). Nas condições de Brasil foram verificadas perdas de até 47% na produtividade (SANGUINO; CARDOSO, 1989) para variedades suscetíveis. Matsuoka (1993) estimou que as perdas podem ultrapassar 60% em variedades suscetíveis sob condições favoráveis à doença e até 25% em variedades com resistência intermediária a moderada. Em estudos mais recentes determinaram-se reduções na produtividade de 7 e 10 toneladas por hectare para dois anos de análise (SILVA et al., 2001).

São também consideradas significativas as perdas indiretas pela ferrugem quando nos PMG são eliminados clones de boas características agrônômicas, mas com alta suscetibilidade à ferrugem (RYAN; EGAN, 1989, RAID; COMSTOCK, 2000; TOKESHI; RAGO, 2005).

2.1.1.2 Resistência genética

A obtenção de plantas resistentes é a única medida econômica de controle da ferrugem (EGAN, 1964, COMSTOCK; RAID, 1994). A herdabilidade da resistência à doença é alta, indicando que a eliminação de parentais suscetíveis é uma boa estratégia no processo de desenvolvimento de variedades resistentes (RYAN; EGAN, 1989; COMSTOCK; SHINE; RAID, 1992; COMSTOCK; RAID, 1994; TAI et al., 1998; HOGARTH; RYAN; TAYLOR, 1993).

Comstock; Ferreira; Tew, (1983) obtiveram valores de herdabilidade de 0,84 e 0,73 em dois anos de estudos, indicando uma relativa facilidade para obter progênies resistentes nos PMG.

Diversos trabalhos têm mostrado que a resistência à ferrugem em cana-de-açúcar é governada por um ou poucos genes de efeito maior (DAUGROIS et al, 1996, ASNAGHI et al., 2000; ASNAGHI et al, 2001). Porém, outros estudos revelaram que, além desses genes de efeito maior, existem outros, de efeito menor, atuando de maneira quantitativa (RAMDOYAL et al., 1996; RAMDOYAL et al., 2000). Dessa forma, a resistência à ferrugem em cana parece ser conferida pela somatória desses efeitos, sendo a parcela principal determinada pelos genes de efeito maior.

2.1.1.3 Variabilidade patogênica

Baseando-se na premissa de que um ou poucos genes estariam envolvidos com a resistência da cana à ferrugem, torna-se de fundamental importância conhecer a variação genética que ocorre em populações do agente causal, uma vez que essa resistência é passível de ser superada por certas populações do patógeno. Um estudo para verificar a ocorrência de raças fisiológicas de *P. melanocephala* foi conduzido na Austrália por Taylor (1992), utilizando isolados do fungo coletados durante 9 anos. Apesar da constante variação na severidade da ferrugem naquele país, o autor não encontrou evidência da existência de diferentes raças fisiológicas. Dessa forma, essas variações na manifestação da doença foram atribuídas às mudanças nas condições ambientais e não ao surgimento de novas raças.

Entretanto, Srinivasan; Muthaiyan (1965), baseando-se em reações diferenciais de algumas variedades, determinaram a existência de 6 raças do fungo na Índia. Da mesma forma, nos EUA, a existência de raças patogênicas foi determinada pela ocorrência de alterações nas reações de variedades resistentes após alguns anos de seu lançamento. Estudos publicados recentemente indicam a existência de 4 raças patogênicas, o que indicaria, junto a observações de campo, que variantes patogênicos estão surgindo nas áreas canavieiras (SHINE; COMSTOCK; DEAN, 2005).

2.1.2 O carvão

O carvão da cana-de-açúcar é causado por *Ustilago scitaminea*, um fungo da Divisão Basidiomycota, Classe Ustomycetes, Ordem Ustilaginales, Família Ustilaginaceae (HAUKSWORTH et al, 1995). Recentemente o nome de *Sporisorium scitamineum* foi sugerido para o fungo modificando a atual denominação (PIEPENBRING; STOLL; OBERWINKLER, 2002), mas como criou controvérsia nos patologistas do mundo todo, mantém-se ainda a antiga denominação.

U. scitaminea parasita os tecidos meristemáticos do hospedeiro, originando o “chicote”, sinal típico presente nas plantas com carvão. Essa estrutura é uma alteração na morfologia do colmo e se apresenta afilada e recoberta com uma massa negra de teliosporos do fungo. A presença dos chicotes permite a diagnose segura da doença (TOKESHI; RAGO, 2005).

2.1.2.1 Importância econômica

O carvão é uma das principais doenças da cana-de-açúcar, visto que é considerada em todos os programas de melhoramento genético, tanto na seleção de genitores resistentes, como no comportamento das progênes (COMSTOCK; FERREIRA; TEW, 1983). A doença, desde seu primeiro relato na África do Sul em 1877, foi se alastrando pelas regiões canavieiras do mundo, causando importantes epidemias (FERREIRA; COMSTOCK, 1989). A sua ocorrência esteve restrita ao hemisfério oriental até seu aparecimento na Argentina em 1940, onde se iniciou a disseminação pela América (COMSTOCK; FERREIRA; TEW, 1983).

Os danos relatados pela doença atingem níveis de 50% de redução de produtividade (ANTOINE, 1961), sendo registrados danos de até 73% em soqueiras (LEE-LOVICK, 1978). Essa diminuição é provocada pela eliminação, redução no diâmetro e desenvolvimento dos colmos, redução de perfilhos industrializáveis e perdas do teor de sacarose pelo aumento de fibra e conseqüente menor extração de açúcar (LEE-LOVICK, 1978; FERREIRA; COMSTOCK, 1989, CASAGRANDE, 1998).

O carvão foi relatado no Brasil em 1946 causando epidemias severas sobre as variedades POJ36 e POJ213 no município de Assis, Estado de São Paulo. Desde então

sua disseminação foi rápida atingindo outros Estados. Na década de 80 ocorreu a maior epifítia registrada no país causando prejuízos enormes sobre a variedade NA56-79, que ocupava cerca de 50% da área canavieira, registrando-se incidências de até 80% nas áreas comerciais (BERGAMIN FILHO et al., 1987; CASAGRANDE, 1998). Num estudo realizado sobre essa variedade, o número de chicotes por hectare passou de 0,62 para 6025 de 1981 para 1987 (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). Uma estimativa dos danos causados pelo carvão, realizada com 18 variedades, durante 4 ciclos da cultura, revelou que cada incremento de 1% na área sob a curva de progresso da doença provoca 0,86% de dano (CASAGRANDE, 1998; CASAGRANDE; AMORIM; SANGUINO, 1998).

Além dos danos diretos na produção, que acarretam severos prejuízos ao setor sucroalcooleiro, o carvão provoca a restrição do uso de variedades suscetíveis altamente produtivas além da eliminação de grande número de clones ricos e produtivos nos PMG devido à suscetibilidade à doença (CASAGRANDE, 1998).

2.1.2.2 Resistência genética

Alguns trabalhos têm revelado que a herdabilidade à resistência ao carvão é alta (LADD; HEINZ; MEYER, 1974; WU et al., 1977; SORDI et al., 1988; CHAO et al., 1990) possibilitando um eficiente controle genético da doença (BURNER; GRISHAM; LEGENDRE, 1993). Dessa forma, a simples eliminação dos genitores suscetíveis dos PMG tem contribuído para a diminuição do carvão na maioria dos países canavieiros do mundo (FERREIRA; COMSTOCK, 1989). Nos EUA, na Florida, foi uma medida suficiente para reduzir drasticamente os níveis de doença nos clones em seleção (MILLER, 1979). O mesmo aconteceu na Louisiana onde obtiveram progênies com maiores níveis de resistência a partir de genitores resistentes (CHAO et al., 1990) e no Hawaii a mesma estratégia foi usada diminuindo os níveis de suscetibilidade nas progênies de 64 para 11% em 5 anos (COMSTOCK; FERREIRA; TEW, 1983). Em Marrocos, igual metodologia contribuiu a manter a doença abaixo do limiar econômico de dano (ABDELMAJID, 2003).

2.1.2.3 Variabilidade patogênica

Alterações na patogenicidade de *U. scitaminea* podem provocar mudanças nas reações das variedades ao carvão (COMSTOCK; FERREIRA; TEW, 1983). Diferentes raças têm sido relatadas no Hawaii, Brasil, Paquistão, Filipinas e Taiwan (FERREIRA; COMSTOCK, 1989; COMSTOCK, 2000). No Hawaii, só a raça A era conhecida até 1976, a qual não atacava as variedades H50-7209 e H59-3775, que ocupavam mais de 60% da área canavieira. Mas, em 1976 uma segunda raça (B) foi detectada atacando essas duas variedades e provocando uma severa epifítia nos anos seguintes (COMSTOCK; FERREIRA; TEW, 1983).

Em Taiwan, Leu; Teng (1972) acharam duas raças, cada uma específica para as variedades NCo310 e F134, que são usadas para diferenciação das mesmas.

Na Argentina Hirschhorn; Astiz-Gasso (1988) inocularam 3 isolados desse fungo em variedades resistentes, parcialmente resistentes e suscetíveis, encontrando diferentes níveis de patogenicidade. Concluíram que essas 3 populações representam formas fisiológicas do fungo, com variabilidade entre elas. Sugerem que os clones CP48-103, CP65-357, Tuc68-18, Tuc69-105, Tuc67-27 e POJ2878 podem ser usados como hospedeiros diferenciais para separar diferentes formas fisiológicas do patógeno.

Abo; Okusanya (1996) verificaram o comportamento de 12 isolados de *U. scitaminea*, provenientes de 9 diferentes localidades da Nigéria, quanto ao crescimento em meios de cultivo e sobre 5 variedades de cana, inoculadas em casa-de-vegetação. Os resultados indicaram que havia provavelmente duas diferentes raças do patógeno entre os isolados estudados, às quais os autores denominaram genericamente raças "X" e "Y".

Um extenso estudo visando detectar variabilidade genética no agente do carvão foi conduzido por Grisham; Hogart (2001). Um conjunto de 11 variedades, com diferentes respostas ao carvão, foi avaliado durante 7 anos, em 14 diferentes localidades situadas em 10 países. Encontrou-se alguma variabilidade patogênica entre as diferentes populações de *U. scitaminea*, porém somente em Taiwan houve fortes indícios da existência de raças do patógeno. Nesse país, as respostas de variedades altamente suscetíveis ou resistentes variaram de uma localidade para outra.

No trabalho de Braithwaite et al. (2004) foram analisadas, por técnicas moleculares, as variações genéticas de 38 isolados, oriundos de 13 países, revelando baixa variabilidade entre eles. Porém foram identificados grupos divergentes de isolados no Sudeste Asiático, os quais apresentam diferentes níveis de virulência sobre variedades da Austrália.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Caracterização da variabilidade patogênica de *P. melanocephala*

Os ensaios referentes à caracterização da variabilidade patogênica de *P. melanocephala* foram conduzidos por meio de inoculações em condições controladas, para impedir os efeitos de contaminações entre as populações que foram utilizadas.

2.2.1.1 Populações utilizadas

As populações utilizadas foram coletadas em usinas sócias do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC), situadas em diferentes regiões produtoras de cana-de-açúcar do Estado de São Paulo, tais como Ribeirão Preto, Piracicaba e Jaú. Folhas de cana atacadas pela ferrugem foram coletadas e colocadas dentro de mangas plásticas. Posteriormente, no laboratório, os esporos de ferrugem foram coletados com bomba de vácuo e armazenados em freezer a -20 °C sendo previamente desidratados em sílica-gel segundo Garcia et al. (2005). Foram empregados doze diferentes populações do patógeno nos ensaios, sendo quatro provenientes de cada região amostrada. As populações do patógeno avaliadas foram chamadas de P para as populações provenientes de Piracicaba, RP para as populações de Ribeirão Preto e de J para as de Jaú.

2.2.1.2 Variedades utilizadas

Foram utilizadas as variedades SP70-1143 de reação suscetível, SP91-1397 como intermediária e R570 como resistente. Gemas individuais de cada variedade

foram plantadas em vasos plásticos com substrato Plantmax estéril e mantidas em casa de vegetação, no CTC, até o momento das inoculações.

2.2.1.3 Inoculações

Para cada população armazenada foi preparada uma suspensão de urediniósporos em água destilada esterilizada, contendo 10^4 esporos viáveis/mL. A determinação da viabilidade dos esporos foi realizada por meio de plaqueamento dos mesmos em Agar-Água. O método de inoculação empregado foi por pincelamento da suspensão de esporos sobre a fase abaxial da lâmina foliar de plantas com 20 dias de desenvolvimento (AUTREY; MOUTIA; SAUMTALLY, 1996). Após a inoculação, ficaram em câmara úmida por 48 horas em câmara de crescimento (BOD) sob condições de 21°C e 12 horas de fotoperíodo. Após esse período, a câmara úmida foi removida e as plantas permaneceram em BOD por um total de quinze dias até manifestação dos sintomas.

2.2.1.4 Avaliações

Foi avaliada a severidade da doença na folha +1, utilizando-se a escala diagramática descrita por Amorim et al. (1987). Também foi avaliada a incidência, baseando-se no número de pústulas por cm^2 , tomando-se cinco leituras de 1 cm^2 sobre a folha +1. Foram usadas dez repetições para cada combinação entre população do patógeno e variedade. As medias de cada variável foram comparadas pelo teste de Tuckey ao nível de 5% de probabilidade. Para efetuar a análise estatística, os dados de severidade e incidência foram transformados em raiz quadrada dos valores.

2.2.2 Caracterização da variabilidade patogênica de *U. scitaminea*

A variabilidade patogênica de *U. scitaminea* foi estudada mediante a inoculação de diferentes populações desse patógeno em variedades de cana-de-açúcar de comportamento conhecido, observando-se a reação desses genótipos em condições de campo.

2.2.2.1 Populações utilizadas

As populações foram coletadas em três regiões produtoras de cana do Estado de São Paulo, Piracicaba, Jaú e Ribeirão Preto. De cada área foram coletados de 10 a 20 chicotes de 4 variedades diferentes, considerando-se cada uma como uma população. Após a coleta foram embrulhados em papel de jornal, levados ao laboratório e secos à temperatura ambiente, para posteriormente realizar a extração dos teliósporos, que foi feita mediante raspagem dos chicotes. A massa de teliósporos assim obtida foi peneirada para a retirada de resíduos vegetais e armazenada segundo Mata (1975), para posterior utilização.

2.2.2.2 Variedades utilizadas

Foram utilizadas as variedades SP71-8210, de reação resistente, SP84-2066 caracterizada como suscetível e Co421 de reação intermediária ao carvão. As plantas de cada variedade foram obtidas de uma única gema cultivadas em substrato Plantmax estéril.

2.2.2.3 Inoculações

As inoculações dos teliósporos do carvão nas plantas seguiram a metodologia utilizada pela COPERSUCAR, para seleção de genótipos em seu programa de melhoramento (COPERSUCAR, 1995). Para cada uma das populações obtidas foi preparada uma suspensão de teliósporos em água destilada, com concentrações de $1,7 \times 10^6$ esporos viáveis/mL. A viabilidade foi calculada mediante testes de germinação em Ágar-Água, realizados previamente com amostras dos teliósporos armazenados.

Gemas de cada variedade foram plantadas superficialmente em substrato Plantmax, contido em bandejas plásticas de 28 células de 200 mL. Após o plantio, as suspensões de teliósporos foram aspergidas sobre as gemas, que foram então recobertas com uma fina camada de substrato, mantendo as bandejas em câmara úmida, a 25-30 °C. Após 72 horas a câmara úmida foi retirada e as plantas permaneceram em casa de vegetação por 70 dias.

2.2.2.4 Plantio no campo

Plantas de mesmo porte de cada uma das 3 variedades, inoculadas com as 12 populações, foram plantadas a uma distância de 0,5m entre plantas e 1,5m entre linhas. Esse plantio foi realizado em área experimental do CTC, situado no município de Piracicaba.

2.2.2.5 Delineamento experimental

O delineamento foi o de blocos completos casualizados. Cada tratamento foi constituído pela combinação entre as 3 variedades e as 12 populações do patógeno obtendo-se assim 36 tratamentos. Além disso, adicionou-se mais uma testemunha não inoculada, totalizando 39 parcelas por bloco. Foram utilizadas 4 repetições. Cada parcela experimental foi constituída por uma linha de 12,5m, contendo 25 plantas. Dessa forma, cada uma das populações foi inoculada em 100 plantas de cada variedade, totalizando 3.900 plantas totais no experimento.

2.2.2.6 Avaliações

O material plantado no campo foi avaliado durante o ciclo de cana planta, seguindo-se metodologia empregada por Casagrande (1998). A avaliação se baseou na incidência de touceiras doentes, registrada a cada 14 dias em inspeções no campo. Durante essas inspeções, as touceiras doentes foram marcadas com fitas plásticas coloridas, permitindo estabelecer uma curva de progresso da doença no final do ciclo de avaliações. As populações do patógeno avaliadas foram chamadas de P para as populações provenientes de Piracicaba, RP para as populações de Ribeirão Preto e de J para as de Jaú. As análises realizadas levaram em conta a área sob a curva de progresso da doença, (AUDPC), calculada através da form. (1).

$$\text{AUDPC} = \frac{\sum (y_i + y_{i+1})}{2 d_{t1} n} \quad (1)$$

Onde y_i e y_{i+1} são os valores de incidência observados em duas avaliações consecutivas, d_{t1} o intervalo entre as avaliações e n a duração do período de avaliação, e também da incidência final da doença. As medias de cada variável foram comparadas pelo teste de Tuckey ao nível de 5% de probabilidade.

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Caracterização da variabilidade patogênica de *Puccinia melanocephala*

A análise da variável incidência, avaliada por meio do número de pústulas/cm², revelou diferenças de patogenicidade entre as populações de *P. melanocephala*, para as 3 variedades inoculadas (Figura 1).

Para a variedade suscetível (SP70-1143), duas populações de Jaú, J3 e J4, se destacaram por proporcionarem maior incidência quando comparadas às demais, que apresentaram o mesmo nível de patogenicidade. Para a variedade de reação intermediária (SP91-1397), houve maior variação na incidência entre as diferentes populações, destacando-se como a mais agressiva a J3. Na variedade resistente (R570), somente as populações de Jaú causaram doença destacando-se novamente as J3 e J4 como as que causaram maior incidência.

A variável severidade (Figura 2) mostrou tendência semelhante à incidência. As populações J3 e J4 novamente se destacaram por apresentarem maior agressividade nas variedades SP70-1143 e R570, com nível de severidade bem maior que as demais populações. Na variedade SP91-1397, revelaram-se como mais agressivas as populações J3 e RP1, seguidas por J2, J4 e P1.

De modo geral, considerando as variáveis incidência e severidade, ficou evidente a ocorrência de variações na patogenicidade entre as populações de *P. melanocephala* estudadas. Houve destaque para as populações provenientes de Jaú, principalmente J3 e J4, pelo maior nível de doença que proporcionaram nas 3 variedades inoculadas.

A resistência da cana à ferrugem é considerada, por alguns autores, como sendo qualitativamente herdada (TAI; MILLER; DEAN, 1981). Outros autores consideram que é governada por um ou poucos genes de efeito maior (DAUGROIS et al., 1981; ASNAGHI et al., 2000; ASNAGHI et al., 2001). Finalmente, existem ainda autores que

defendem a teoria de que existem variedades que possuem genes de efeito maior, atuando qualitativamente, associados a outros genes de efeito menor, que atuam quantitativamente na reação à ferrugem (RAMDOYAL et al., 1996; RAMDOYAL et al., 2000).

Analisando-se as Figuras 1 e 2, percebe-se que, para as variedades SP70-1143 e SP91-1397, não ocorreram inversões significativas nas reações dessas 2 variedades em função da inoculação com as diferentes populações do patógeno. Dessa forma, considerando-se apenas estas duas variedades, podemos afirmar que, para elas, a reação à ferrugem parece ser governada de maneira quantitativa e, nesse caso, as diferentes populações de *P. melanocephala* avaliadas diferiram na agressividade e não na virulência.

Entretanto, quando consideramos a variedade R570, cuja resistência é considerada por alguns autores (DAUGROIS et al., 1996; ASNAGHI et al., 2000) como sendo governada qualitativamente, houve indícios de que as variações na patogenicidade entre as populações do patógeno ocorreram, também, devido às diferenças na virulência. Somente as populações provenientes de Jaú causaram doença nesta variedade, sugerindo que foram capazes de vencer a resistência governada pelo gene de efeito maior presente. Mesmo após esta quebra da resistência vertical, a variedade mostrou baixos índices de doença, indicando que ela possui também outros genes de efeito quantitativo, conforme sugerido por Ramdoyal et al. (1996) e Ramdoyal et al. (2000). As diferenças observadas nas incidências e severidades de ferrugem entre as 4 populações de Jaú nesta variedade, refletem a diferenças de agressividade entre elas, fato que ficou bem caracterizada também nas variedades SP70-1143 e SP91-1397.

Figura 1 – Incidência da ferrugem (número de pústulas/cm²) gerada por diferentes populações de *P. melanocephala* nas variedades SP70-1143 (suscetível), SP91-1397 (intermediária) e R570 (resistente). (Letras iguais acima das barras indicam ausência de diferenças significativas entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade)

Figura 2 – Severidade da ferrugem (porcentagem de área foliar afetada) gerada por diferentes populações de *P. melanocephala* nas variedades SP70-1143 (suscetível), SP91-1397 (intermediária) e R570 (resistente). (Letras iguais acima das barras indicam ausência de diferenças significativas entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade)

Assim, analisando-se todas as populações do patógeno avaliadas, podemos considerar que existiram variações marcantes na patogenicidade entre elas, variações estas conferidas por diferenças, tanto na virulência quanto na agressividade. As populações provenientes de Jaú parecem constituir uma raça fisiológica capaz de vencer a resistência vertical presente na variedade R570.

Alguns estudos já foram conduzidos com o intuito de se avaliar a variabilidade patogênica de *P. melanocephala* em regiões canavieiras do mundo. Na Austrália, Taylor (1992) detectou significativas diferenças na severidade de ferrugem, proporcionadas pelas diversas populações do patógeno. Entretanto, a ausência de interações entre as variedades e populações do patógeno levou o autor a atribuir estas diferenças às mudanças nas condições ambientais entre os locais dos ensaios. Por outro lado, alguns estudos baseados tanto na reação diferencial de variedades quanto nos efeitos do patógeno sobre parâmetros de produção, indicaram a existência de raças fisiológicas nos Estados Unidos (EGAN, 1979; DEAN; PURDY, 1984; SHINE; COMSTOCK; DEAN, 2005).

Em função dos resultados aqui obtidos ficou evidente a necessidade de estudos mais específicos, com isolados monopustulares, para investigar com maior critério a existência de raças fisiológicas de *P. melanocephala* no território nacional.

2.3.2 Caracterização da variabilidade patogênica de *Ustilago scitaminea*

A variedade SP81-8210, de reação resistente ao carvão, não apresentou sintomas da doença durante todo o tempo que durou o levantamento das informações. Assim, os resultados referentes à essa variedade não serão apresentados neste trabalho.

Todas as populações de *U. scitaminea* avaliadas se comportaram como patogênicas nas variedades SP84-2066 e Co421, obtendo-se curvas de progresso da doença que se apresentam na Figura 3.

Figura 3 – Curvas de progresso da doença das diferentes populações de *U. scitaminea* avaliadas nas variedades SP84-2066 e Co421

Apesar da variedade Co421 ser considerada como de reação intermediária ao carvão, esta apresentou valores de incidência final maiores que os da variedade SP84-2066, considerada suscetível. Pela análise dos resultados da variedade Co421 na Figura 3, fica evidente que tal variedade vinha se comportando como mais resistente que a SP84-2066, para todas as populações do patógeno até o 186º dia após a inoculação. Após esse dia houve um acréscimo significativo na incidência de carvão para todas as populações avaliadas. A explicação para este fato é a ocorrência de chuvas após essa data, o que provocou mudanças na fisiologia desta variedade, que passou a perfilhar mais e, dessa forma, tornou-se mais suscetível à doença

(BERGAMIN FILHO; AMORIM, 2000). Esta alteração na reação de variedades às doenças por influência de fatores ambientais é um fato característico de patossistemas governados quantitativamente (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996).

Por meio de uma simples análise dessas curvas de progresso de carvão apresentadas na Figura 3 já é possível perceber que existem diferenças na patogenicidade entre as populações de *U. scitaminea* avaliadas, reveladas por diferenças nas incidências finais, tipo e inclinação da curva, e intervalo entre inoculação e emissão dos chicotes (período latente).

A análise da incidência final de carvão (Figura 4) revelou que, para a variedade SP84-2066, a população P2 foi a mais agressiva, atingindo 9,6% de touceiras doentes, seguida pelas J2, com 8%, e J3, com 7,2%. Nessa variedade, as populações RP2 e J4 foram as menos agressivas, causando incidência de 0,8%. Para a variedade Co421 a análise estatística não revelou diferenças significativas entre as populações para a variável incidência final, contudo, observando-se somente as tendências, P4 e J3 se mostraram como mais agressivas nesta variedade, proporcionando incidência de 24%. As populações RP2 e RP4 foram menos agressivas, com 10% de incidência final.

O período latente é uma variável que pode ser utilizada para caracterizar a reação do hospedeiro a uma doença. Os genótipos que apresentam períodos latentes menores são considerados mais suscetíveis. Porém, o uso do período latente para caracterizar a agressividade do patógeno também é válido (AMORIM, 1997). Nesse caso, isolados do patógeno que proporcionarem menor período latente, numa mesma variedade do hospedeiro, podem ser considerados como mais agressivos.

Baseando-se no período latente (Figura 5) das 12 populações nas duas variedades de cana-de-açúcar, foi possível observar que P2, RP1, RP4, J2 e J3 foram mais agressivas na variedade SP84-2066, com período latente de 116 dias. As populações RP2 e J1 foram as menos agressivas segundo esta variável, com período latente de 158 dias. Para a variedade Co421 os períodos latentes foram maiores em relação à variedade SP84-2066, indicando maior resistência quando se considera somente esta variável. O menor período latente (144 dias) na variedade Co421 foi proporcionado pelas populações P2 e J2 e, portanto, estas foram consideradas mais agressivas nesta variedade. A menos agressiva foi a P3, com um período latente de 214 dias.

Figura 4 - Incidência (porcentagem de touceiras doentes) gerada por diferentes populações de *U. scitaminea* avaliadas nas variedades SP84-2066 e Co421 (Letras iguais acima das barras indicam ausência de diferenças significativas entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade)

Figura 5 - Períodos latentes resultantes das inoculações de diferentes populações de *U. scitaminea* nas variedades SP84-2066 e Co421

A variável área abaixo da curva de progresso da doença (AUDPC) é, muitas vezes, considerada como adequada para avaliação da reação de genótipos do hospedeiro e da agressividade de isolados dos patógenos, por integrar diversos aspectos da epidemia, como incidência, coeficiente angular da curva e período latente (SHANER; FINNEY, 1977).

A AUDPC revelou também diferenças marcantes na patogenicidade entre as populações (Figura 6), seguindo tendência semelhante à observada para incidência final. Considerando esta variável, para a variedade SP84-2066, a população P2 foi a mais agressiva, seguida por J3 e P3, com a J4 como a menos agressiva. Na variedade

Co421, P4 se destacou pela maior agressividade, seguida pela J2. Nessa variedade, a RP2 foi a população menos agressiva.

Figura 6 - Valores de área abaixo da curva de progresso da doença (AUDPC) gerados por diferentes populações de *U. scitaminea*, avaliadas nas variedades SP84-2066 e Co421 (Letras iguais acima das barras indicam ausência de diferenças significativas entre si pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade)

Os resultados aqui apresentados revelaram que as diferentes populações de *U. scitaminea* do Estado de São Paulo apresentaram significativa variabilidade patogênica. As duas variedades de cana inoculadas apresentaram reações distintas à doença, gerando valores diferentes de incidências finais, AUDPC e período latente. A variedade SP84-2066, reconhecida como suscetível ao carvão, apresentou menor período latente

que a variedade Co421, considerada intermediária. Entretanto, esta última apresentou maiores incidências finais da doença para as diversas populações. Muito embora tenha sido possível identificar diferenças nas reações de ambas as variedades, não ocorreram inversões significativas nessas reações entre as diferentes populações do patógeno, sugerindo que a reação ao carvão é governada quantitativamente. Dessa forma, essas alterações na patogenicidade refletem variabilidade na agressividade e não na virulência das populações estudadas.

Esta variabilidade do agente causal do carvão já havia sido detectada por diversos autores, em diferentes partes do mundo. Entretanto, este assunto tem sido abordado, no mundo todo, sem critérios claros e bem definidos, necessários para estudos desta natureza, como por exemplo, por meio de variedades diferenciadoras. Esta ausência de metodologia clara para estudo de populações de *U. scitaminea* é perfeitamente compreensível quando se considera que o carvão é uma doença de difícil reprodução de sintomas. Além disso, os resultados obtidos em experimentos com essa doença são difíceis de serem reproduzidos com frequência, dificultando as comparações com trabalhos de outras localidades. Mesmo assim, os relatos da ocorrência de especialização até o nível de raça fisiológica permeiam a literatura mundial.

Dentro deste contexto, Grisham e Hogart (2001), utilizando 11 variedades, avaliaram a variabilidade de *U. scitaminea* em diversos países. Estes autores encontraram diferenças na patogenicidade entre as populações estudadas, porém, em Taiwan encontraram indícios de ocorrência de raças de patógeno devido à inversão de reação de algumas variedades. Nesse país e também no Hawaii e na Nigéria os resultados das pesquisas apontam para a existência de duas raças, com virulências distintas (LEU; TENG, 1972; COMSTOCK; FERREIRA; TEW, 1983; ABO; OKUSANYA, 1996). Na Argentina Hirschhorn; Astiz-Gasso (1988) revelaram a existência de três populações com patogenicidade distintas, que os autores chamaram de “formas fisiológicas”. Inclusive, chegaram até mesmo a sugerir uma série de clones que poderiam ser usados como diferenciadores dessas três populações.

Os resultados deste trabalho concordam com os da literatura no que se refere à existência de variabilidade patogênica em *U. scitaminea*. Porém, sugerem que não há

variação na virulência, mas somente na agressividade entre essas populações do Estado de São Paulo.

Da mesma forma como ocorreu para a ferrugem, onde ficou evidente que as populações de Jaú apresentaram virulência e agressividade diferenciadas, para o carvão também foi possível relacionar aspectos da agressividade à origem das populações do patógeno. Com exceção do período latente, as outras variáveis analisadas sugerem que as populações de Piracicaba e Jaú foram mais agressivas quando comparadas às de Ribeirão Preto. De modo geral, pode-se afirmar que, segundo as variáveis observadas, as populações P2, J2 e J3 foram bastante agressivas em ambas as variedades. A população P4 se destacou, também, pela alta agressividade à variedade Co421. As populações RP2 e RP4 foram pouco agressivas nas duas variedades.

Os PMG que submetem os materiais à inoculações, em qualquer etapa do programa, deveriam considerar essas diferenças na agressividade encontradas entre as populações do Estado de São Paulo. Sugere-se o uso de uma população com nível elevado de agressividade, do contrário, a resistência de determinados genótipos pode estar sendo superestimada.

3 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

- As populações de *Puccinia melanocephala* do Estado de São Paulo apresentam variabilidade na agressividade e na virulência à cana-de-açúcar.
- *Ustilago scitaminea* apresenta diferentes níveis de agressividade no Estado de São Paulo.
- Os Programas de Melhoramento Genético da cana-de-açúcar devem considerar esta variabilidade para desenvolver variedades com resistência mais efetiva e duradoura à ferrugem e ao carvão.

REFERÊNCIAS

ABDELMAJID, N. Selection of resistant varieties: the main method of control of smut caused by *Ustilago scitaminea*. **Sugar Cane International**, Kent, v. 3, p. 8-12, 2003.

ABO, M.E.; OKUSANYA, B.A. Incidence and variability reaction of sugarcane smut (*Ustilago scitaminea* Syd.) isolates in greenhouse and laboratory tests in Nigeria. **Discovery and Innovation**, Nairobi, v. 8, p. 227-231, 1996.

AMORIM, L. Colonização e reprodução. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 1997. cap. 16, p. 309-324.

AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; SANGUINO, A.; CARDOSO, C.O.N.; MORAES, V.A.; FERNANDES, C.R. Metodologia de avaliação da ferrugem da cana-de-açúcar (*Puccinia melanocephala*). **Boletim Técnico Copersucar**, Piracicaba, p.13-16, nov. 1987.

ANTOINE, R. Smut. In: MARTIN, J.P.; ABBOTT, E.V.; HUGHES, C.G. (Ed.). **Sugarcane diseases of the world**. Amsterdam: Elsevier, 1961. v.1, p. 326-353.

ASNAGHI, C.; D'HONT, A.; GLASZMANN, J.C.; ROTT, P. Resistance of sugarcane cultivar R570 to *Puccinia melanocephala* isolates from different geographic locations. **Plant Disease**, St. Paul, v. 85, n. 3, p. 282-286, 2001.

ASNAGHI, C.; PAULET, F.; KAYE, C.; GRIVET, L.; DEU, M.; GLASZMANN, J.C.; D'HONT, A. Application of synteny across Poaceae to determine the map location of a sugarcane rust resistance gene. **Theoretical and Applied Genetics**, Dordrecht, v. 101, p. 962-969, 2000.

AUTREY, L.J.C.; MOUTIA, Y.; SAUMTALLY, S. Screening of seedlings against rust, inoculation treatment and assessment by video image analysis. **Sugar Cane**, Kent, v. 1, p. 4-10, 1996.

BENDA, G.T.A. Breeding for disease resistance. In: COPERSUCAR INTERNATIONAL SUGARCANE BREEDING WORKSHOP. 1987, Piracicaba. **Proceeding...** Piracicaba: Copersucar. 1987. p. 161-179.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico**. São Paulo: Ceres, 1996. 299 p.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Doenças com período de incubação variável em função da fenologia do hospedeiro. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília. v. 27, p. 561-565. 2000.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L.; CARDOSO, C.O.N.; SANGUINO, A.; IRVINE, J.E.; SILVA, W.M. Carvão da cana-de-açúcar e sua epidemiologia. **Boletim Técnico Copersucar** (Ed. especial), Piracicaba. p. 1-23, 1987.

BRAITHWAITE, K.S., BAKKEREN, G., CROFT, B.J., BRUMBLEY, S.M. Genetic variation in a worldwide collection of the sugarcane smut fungus *Ustilago scitaminea*. In: AUSTRALIAN SOCIETY SUGAR CANE TECHNOLOGIST CONGRESS, 2004, Mackay, **Proceedings...** Mackay: AuSSCT, 2004. v. 26. p. 224-232.

BURNER, D.M.; GRISHAM, M.P.; LEGENDRE, B.L. Resistance of sugarcane relatives injected with *Ustilago scitaminea*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 77, p. 1221-1223, 1993.

CASAGRANDE, M.V. **Avaliação da incidência da doença e estimativa de danos ocasionados pelo carvão (*Ustilago scitaminea* Sydow) em variedades de cana-de-açúcar**. 1998. 86 p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

CASAGRANDE, M.V.; AMORIM, L.; SANGUINO, A. Relação entre incidência de carvão e danos em diferentes estádios de desenvolvimento da cana-de-açúcar. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 374-378, 1998.

CHAO, C.P.; HOY, J.W. SAXTON, A.M.; MARTIN, F.A. Heredability of resistance and repeatability of clone reactions to sugarcane smut in Louisiana. **Phytopathology**, St. Paul. v. 80, p.622-626, 1990.

COMSTOCK, J.C. Smut. In: ROTT, P.; BAILEY, R.A.; COMSTOCK, J.C.; CROFT, B.J.; SALEM SAUMTALLY, A. (Ed.). **A guide to sugarcane diseases**. Montpellier: CIRAD – ISSCT, 2000. p. 181-185.

COMSTOCK, J.C.; RAID, R.N. Sugarcane common rust. In: **Current Trends in Sugarcane Pathology (Prof. K.S. Bhargava Festschrift)**, RAO, G.P.; GILLASPIE JR., A.G.; UPADHYAYA, P.P.; BERGAMIN FILHO, A.; AGNIHOTRI, V.P.; CHEN, C.T. (Ed.), New Delhi: International Books and Periodical Supply Service, 1994. p. 1-10.

COMSTOCK, J.C.; FERREIRA, S.A.; TEW, T.L. Hawaii's approach to control of sugarcane smut. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, p. 452-457, 1983.

COMSTOCK, J.C.; SHINE, J.M.; RAID, R.N. Effect of rust on sugarcane growth and biomass. **Plant Disease**, St. Paul, v. 76, p. 175-177, 1992.

COMSTOCK, J.C.; WU, K.K.; SCHNELL, R.J. Heritability of resistance to sugar cane rust. **Sugar Cane**, Kent, v. 6, p. 7-10, 1992.

COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE CANA, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Avaliação de diferentes métodos de inoculação do carvão da cana-de-açúcar (*Ustilago scitaminea* Sydow). In: **Relatório Anual 1994/95**. Centro de Tecnologia Copersucar, Piracicaba, 1995. 19 p.

COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE CANA, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Ferrugem da cana-de-açúcar e sua constatação no município de Capivari. **Boletim Técnico Copersucar**. Centro de Tecnologia Copersucar (Ed. Especial), Piracicaba, p. 1-8, 1986.

DAUGROIS, J.H.; GRIVET, L.; ROQUES, D.; HOARAU, J.Y.; LOMBARD, H.; GLASZMANN, J.C.; D'HONT, A. A putative major gene for rust resistance linked with an RFLP marker in sugarcane cultivar R570. **Theoretical Applied Genetic**, Dordrecht, v. 92, p.1059-1064, 1996.

DEAN, J.L.; PURDY, L.H. Races of the sugar cane rust fungus, *Puccinia melanocephala* found in Florida. **Sugar Cane**, Kent, n. 1, p. 15-16, 1984.

EGAN, B.T. Rust. In: **Sugar-Cane Diseases of de World**. HUGHES G.C.; ABBOT, E.V.; WISNER, C.A. (Ed.) New York: Elsevier, 1964. v. 2, p. 61-68.

EGAN, B.T. Susceptible indicator varieties for rust disease (*Puccinia melanocephala*). **Sugarcane Pathologists' Newsletter**. Quatre-Bornes, v. 22, p. 10-11, 1979.

FERREIRA, S.A.; COMSTOCK, J.C. Smut. In: RICAUD, C.; EGAN, B.T.; GILLASPIE JR., A.G.; HUGHES, C.G., (Ed.). **Diseases of sugarcane - Major diseases**. Amsterdam: Elsevier, 1989. p. 211-229.

GARCIA, E.O.; RAGO, A.M.; CASAGRANDE, M.V.; MASSOLA JUNIOR, N.S. Preservação de urediníósporos de *Puccinia melanocephala*, agente causal da ferrugem da cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica**, Brasília, v. 31. Sup. 2005. Resumo.

GRISHAM, M.P.; HOGARTH, D.M. An international project on genetic variability within sugarcane smut. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 2001, Brisbane. **Proceedings...**, Brisbane: ISSCT, 2001. p. 459-461.

HAUKSWORTH, D.L.; KIRK, P.M.; SUTTON, B.C.; PEGLER, D.N. **Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi**. 8 ed. Cambridge: CAB International, 1995. 616 p.

HIRSCHHORN, E.; ASTIZ-GASSO, M.M. Especialización fisiológica del carbón de la caña de azúcar (*Ustilago scitaminea* Sydow) en la República Argentina. **Fitopatologia**, Lima, v. 23, p. 10-14, 1988.

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.

IRVINE, J.E. Strategies for smut control. **Sugarcane Pathologists' Newsletter**, Beltsville, n. 28, p. 1-2, 1982.

KOIKE, H.; FONTENOT, D.; DAMANN, K.; SCHLUB, R. Smut sugarcane in Louisiana. **Plant Disease**, St. Paul, v. 65, p. 1018, 1981.

LADD, S.L.; HEINZ, D.J.; MEYER, H.K. Control of sugarcane (*Saccharum* sp.) smut disease (*Ustilago scitaminea*) through breeding and selection of resistant clones. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGIST CONGRESS, 1977, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: ISSCT, 1977. p. 36-44.

LEE-LOVICK, G. Smut of sugarcane – *Ustilago scitaminea*. **Review of Plant Pathology**, Wallingford, v. 57, p. 181-188, 1978.

LEU, L.S.; TENG, W.S. Pathogenic strains of *Ustilago scitaminea* Sydow. **Sugarcane Pathologists' Newsletter**, Quatre-Bornes, v. 8, p. 12-13, 1972.

MATA, J.F. **Preservação e determinação da viabilidade de clamidósporos de *Ustilago scitaminea***. 1975. 66 p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1975.

MATSUOKA, S. Análise retrospectiva de perdas pela ferrugem da cana-de-açúcar em São Paulo. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 1993, Águas de São Pedro. **Anais...** Águas de São Pedro: STAB, 1993. p. 148-156.

MILLER, J.D. The effect of smut on the USA sugarcane breeding program at Canal Point. In: AMERICAN SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGY CONGRESS, 1979, Florida. **Proceedings...** Florida: ASSCT, 1979. p. 61-67.

PIEPENBRING, M.; STOLL, M.; OBERWINKLER, F. The generic position of *Ustilago maydis*, *Ustilago scitaminea* and *Ustilago esculenta* (Ustilaginales). **Mycological Progress**, München. v. 1, n. 1, p. 71-80, 2002.

PRESSLEY, J.T.; PERDOMO, R.; AYAT, J.D. Sugarcane rust found in the Dominican Republic. **Plant Disease Reporter**, St. Paul. v. 62, p. 843. 1978.

PURDY, L.H., KRUPA, S.V., DEAN, J.L. Introduction of sugarcane rust into the Americas and its spread to Florida. **Plant Disease**, St. Paul, v. 69, p. 689-693. 1985

PURDY, L.H.; LIU, L.J.; DEAN, J.L. Sugarcane rust, a newly important disease. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, p. 1292-1296, 1983.

RAID, R.N.; COMSTOCK, J.C. Common rust. In: ROTT, P.; BAILEY, R.A.; COMSTOCK, J.C.; CROFT, B.J.; SALEM SAUMTALLY, A. (Ed.). **A guide to sugarcane diseases**. Montpellier: CIRAD - ISSCT, 2000. p. 85-89.

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-CHONG, L.C.Y.; BADALOO, G.H.; SAUMTALLY, S.; DOMAINGUE, R. The genetics of rust resistance in sugar cane seedling populations. **Theoretical and Applied Genetics**, Dordrecht, v. 100, p. 557-563, 2000.

SANGUINO, A.; TOLEDO, A.C.D. Consideração sobre a ferrugem da cana-de-açúcar. **Boletim Técnico Copersucar**, Piracicaba. v. 22, p. 25-31, 1983.

SHANER, G; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**. St. Paul. v. 71, p. 1183-1186, 1977.

SHINE, J.M.; COMSTOCK, J.C.; DEAN, J.L. Comparison of five isolates of sugarcane rust and differential reaction on six sugarcane clones. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS CONGRESS. 2005. Guatemala. **Proceedings...** Guatemala: ISSCT, 2005. v. 1, p. 638-647.

SILVA, M.A.; DINARDO-MIRANDA, L.L.; ALMEIDA, A.M.; CAMPANA, M.P.; COELHO, A.; LANDELL, M.G.A.; FIGUEIREDO, P.; PERECIN, D. Danos causados pela ferrugem, *Puccinia melanocephala*, a variedades de cana-de-açúcar com diferentes níveis de resistência. **Summa Phytopathologica**, Botocatu, v. 27, p. 39-43, 2001.

SORDI, R.A.; MASUDA, Y.; AGUILLERA, M.M.; MARTINS, S.; MATSUOKA, S. A ferrugem da cana-de-açúcar no Brasil. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v. 104, p. 6-13, 1986.

SRINIVASAN, K.V., MUTHAIYAN M.C., A note on physiologic races in *Puccinia erianthi* Padw. and Khna affectin sugar-cane varieties. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 1965, San Juan. **Proceedings...** San Juan: ISSCT, 1965. v. 12, p. 1126-1128.

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

TAI, P.Y.P.; MILLER, J.D.; COMSTOCK, J.C.; GLAZ, B. Frequency distribution of rust resistance in breeding populations of the Canal Point sugarcane cultivar development program. **Sugar Journal**, Kent, v. 2, p. 36-41, 1998.

TAYLOR, P.W.J. Evidence for the existence of a single race of common rust caused by *Puccinia melanocephala* in Australian sugar cane cultivars. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 43, p. 443-450, 1992.

TOKESHI, H.; RAGO, A. Doenças da cana-de-açúcar. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ceres, 2005. v. 2, cap. 21, p. 185-196.

UNICA. Sociedade: Desenvolvimento sustentável e mercado de trabalho. Disponível em: <http://www.unica.com.br/pages/sociedade_mercados.asp>. Acesso em: 30 out. 2005.

WALKER, D.I.T. Breeding for disease resistance. In: HEINZ, D.J. (Ed.). **Sugarcane improvement through breeding**. Amsterdam: Elsevier. 1987. Chap. 12 p. 455-502.

WU, K.K.; LADD, S.L.; HEIZ, D.J.; MEYER, H.K. Combining ability analysis in sugarcane smut resistance. **Sugarcane Breeders Newsletter**, Quatre-Bornes, v. 39, p.59-62, 1977.