Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 149

ISSN 1676 - 918X
Maio, 2005

Virulência de Isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* do Rio Grande do Sul

Embrapa

ISSN 1676-918X
Maio, 2005

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Cerrados
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 149

Virulência de Isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* do Rio Grande do Sul

Eduardo Alano Vieira
Fernando Irajá Félix de Carvalho
Márcia Soares Chaves
Josefino de Freitas Fialho

Planaltina, DF
2005

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Cerrados
BR 020, Km 18, Rod. Brasília/Fortaleza
Caixa Postal 08223
CEP 73310-970 Planaltina - DF
Fone: (61) 3388-9898
Fax: (61) 3388-9879
http://www.cpac.embrapa.br
sac@cpac.embrapa.br

Comitê de Publicações
Presidente: *José de Ribamar N. dos Anjos*
Secretária-Executiva: *Maria Edilva Nogueira*

Supervisão editorial: *Maria Helena Gonçalves Teixeira*
Revisão de texto: *Maria Helena Gonçalves Teixeira*
Normalização bibliográfica: *Shirley da Luz Soares*
Capa: *Leila Sandra Gomes Alencar*
Foto da capa: *Eduardo Alano Vieira*
Editoração eletrônica: *Leila Sandra Gomes Alencar*
Impressão e acabamento: *Divino Batista de Souza*
Jaime Arbués Carneiro

Impresso no Serviço Gráfico da Embrapa Cerrados

1ª edição
1ª impressão (2005): tiragem 100 exemplares

Todos os direitos reservados.
A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação na publicação.
Embrapa Cerrados.

V821 Virulência de isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* do Rio Grande do Sul / Eduardo Alano Vieira ... [et al.]. – Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2005.

23 p.— (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Cerrados, ISSN 1676-918X ; 149)

1. Aveia. 2. Ferrugem. I. Vieira, E. A. II. Série.

633.25 - CDD 21

© Embrapa 2005

Sumário

Resumo 5

Abstract 6

Introdução 7

Material e Métodos 8

Resultados e Discussão 13

Conclusões 21

Referências Bibliográficas 22

Virulência de Isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* do Rio Grande do Sul

Eduardo Alano Vieira[1]
Fernando Irajá Félix de Carvalho[2]
Márcia Soares Chaves[3]
Josefino de Freitas Fialho[4]

Resumo – Não existem estudos conclusivos sobre a variabilidade em virulência de isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* que ocorrem no Rio Grande do Sul. O principal objetivo do trabalho foi determinar o padrão de virulência/avirulência e a raça fisiológica de 46 isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* coletados em três municípios do Estado do Rio Grande do Sul com base na reação em 25 linhas quase isogênicas portadoras de genes *Pc*s, utilizando o sistema norte-americano de nomenclatura e um novo sistema sugerido neste trabalho. Os isolados passaram por dois isolamentos monopustulares e posteriormente foram inoculados sobre plântulas portadoras dos genes *Pc*s sendo que a avaliação foi efetuada 15 dias depois da inoculação. Os resultados evidenciaram que os isolados sul-brasileiros apresentam elevada virulência uma vez que 66% das inoculações resultaram em alto tipo de infecção. Praticamente, cada isolado apresentou um padrão de virulência/avirulência, o que evidenciou a grande variabilidade do fungo na região. Entretanto, o sistema norte-americano de nomenclatura não foi totalmente eficiente na determinação das raças sul-brasileiras. Os genes *Pc*36, *Pc*53, *Pc*55 e *Pc*63 representam uma possível combinação de genes a ser incorporada ao sistema norte-americano de nomenclatura para uma caracterização mais eficiente das raças locais.

Termos para indexação: *Avena sativa*, raças fisiológicas, ferrugem-da-folha-da-aveia, resistência genética.

---

[1] Eng. Agrôn., Dr., Embrapa Cerrados, vieiraea@cpac.embrapa.br
[2] Eng. Agrôn., Ph.D., Universidade Federal de Pelotas, carvalho@ufpel.tche.br
[3] Eng. Agrôn., Dra., Embrapa Trigo, mchaves@cnpt.embrapa.br
[4] Eng. Agrôn., M.Sc., Embrapa Cerrados, josefino@cpac.embrapa.br

Virulence of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* isolates from Rio Grande do Sul

Abstract – *There are no conclusive studies regarding the virulence variability of crown rust strains that occur in southern Rio Grande do Sul. The main goal of this work was to determine the pattern of virulence/avirulence and the strain of 46 isolates of Puccinia coronata f. sp. avenae collected in three counties in the state of Rio Grande do Sul through the reaction under 25 Pcs genes by the North American system of nomenclature and by a new system suggested in this work. The isolates were subjected to two consecutive monopustular isolations and afterwards they were inoculated on seedlings of Pc near-isogenic lines, and fifteen days after the inoculation the reactions were scored. The results evidenced that the southern brazilian rust isolates presented a great virulence, since 66% of innoculations showed high infection type. In general, each isolate presented a different pattern of virulence/avirulence, which evidenced the large variability in virulence that the fungus presents in the target region. However, the North American system of nomenclature was not completely efficient in determining south-brazilian strains. Thus, the genes Pc36, Pc53, Pc55 and Pc63, represent a possible gene combination to be incorporated to the North American system of nomenclature to a more accurate characterization of the local strains.*

Index terms: Avena sativa, physiological strains, crown rust, genetic resistance.

Introdução

No Brasil, a aveia hexaplóide (*Avena sativa* L.) é apontada como um dos cereais de estação fria mais importantes do ponto de vista agronômico. Entre as moléstias que afetam a cultura, a ferrugem-da-folha, causada pelo fungo *Puccinia coronata* f. sp. *avenae,* é a mais importante. O patógeno limita fortemente a expressão do potencial de rendimento e de qualidade de grãos da cultura. Em genótipos susceptíveis, foram relatadas perdas significativas no rendimento de grãos no Brasil (MARTINELLI et al., 1994; CRUZ et al., 1999; CAEIRÃO et al., 2001; LORENCETTI et al., 2004; BENIN et al., 2005), bem como nas demais regiões produtoras do mundo (DOEHLERT et al., 2001; HOLLAND; MUNKVOLD, 2001).

A resistência genética é apontada como a forma mais eficiente para o controle da moléstia, entretanto, apresenta o inconveniente da baixa durabilidade, possivelmente, devido à alta variabilidade do patógeno (CHONG; KOLMER, 1993; KOLMER; CHONG, 1993). De modo geral, a resistência determinada por um ou poucos genes pode ser rapidamente superada por novas raças do patógeno. Essas novas raças já podem estar presentes em baixa freqüência nas plantações, surgirem por mutações ou chegarem de outros locais por meio de correntes de ar (HARDER; HABER, 1992). No processo evolutivo, o aparecimento de novas raças em populações da ferrugem-da-folha pode ocorrer principalmente via acumulação de mutações em populações assexuais ou por recombinação sexual no hospedeiro alternativo (*Rhamnus cathartica* L.) que ocorre naturalmente na América do Norte (CHONG; KOLMER, 1993). No Brasil, não existem relatos da ocorrência do ciclo sexual do fungo, entretanto, o que pode contribuir para o surgimento de novas raças é a capacidade de o patógeno se dispersar por longas distâncias (BROWN; HOVMOLLER, 2002). Dessa forma, é possível que novas raças cheguem ao Brasil dispersadas pelo vento, o que é bastante provável, pois a aveia é cultivada durante todos os meses do ano nos países do Cone Sul.

Trabalhos realizados no Brasil demonstram a existência de grande número de raças distintas do fungo, bem como a presença de raças complexas conhecidas como super-raças (MARTINELLI et al., 1998; CRUZ et al., 2001). Nesse sentido, é essencial o monitoramento das raças de *Puccinia coronata* f. sp.

avenae existentes no Brasil, o que permitirá o conhecimento da variabilidade, complexidade e da taxa de evolução da população (aparecimento de novas raças) do patógeno, bem como a determinação das raças prevalentes nas principais regiões de cultivo da aveia.

O principal objetivo do trabalho foi determinar o padrão de virulência/avirulência e a raça fisiológica de 46 isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* coletados em três municípios do Estado do Rio Grande do Sul com base na reação em 25 linhas quase isogênicas portadoras de genes *Pc*s, utilizando o sistema norte-americano de nomenclatura e um novo sistema sugerido neste trabalho.

Material e Métodos

Foram coletadas folhas da aveia com sinais da ferrugem em cultivares do Ensaio Brasileiro de Cultivares Recomendados de Aveia (EBCRA), no período de 22 a 29 de setembro de 2003, logo após o florescimento das plantas. Os locais de coleta foram três municípios do Estado do Rio Grande do Sul (RS): (i) Passo Fundo (PF) situado a 28º 15' 46'' de latitude Sul e 52º 24' 24'' de longitude Oeste a uma altitude de 687 m; (ii) Capão do Leão (CL) situado a 31º 52' 00'' de latitude Sul e 52º 21' 24'' de longitude Oeste a uma altitude de 13,24 m e (iii) Eldorado do Sul (EL) situado a 30º 05' 22'' de latitude Sul e 51º 39' 08'' de longitude Oeste a uma altitude de 46 m. As amostras foliares coletadas foram acondicionadas, isoladamente, em envelopes de papel, sendo mantida a identificação do local, a data e a cultivar da qual essas amostras foram obtidas (Tabela 1). Feita a coleta, as amostras foram mantidas por cerca de 48h em câmara seca, para eliminação do excesso de umidade das folhas e, posteriormente, foram conservadas em refrigerador a 4ºC.

A cultivar UFRGS 7 foi utilizada como padrão de suscetibilidade (PS), em função da sua histórica sensibilidade à ferrugem-da-folha, para a multiplicação do inóculo coletado no campo. A inoculação das plântulas do PS com a primeira folha completamente expandida foi efetuada aos sete dias depois da semeadura. Esporos de cada amostra foram raspados com auxílio de uma espátula, previamente esterilizada em estufa a 100ºC, e colocados em contato com uma plântula do PS previamente umedecida com espalhante adesivo Tween 20 a 0,01% em água. Depois da inoculação, cada plântula foi

identificada e protegida com o auxílio de um cone plástico, para evitar o fluxo de contaminação e mantida em câmara úmida, no escuro, por 18h a temperatura de 20ºC a 24ºC e umidade acima de 95%. Passado esse período, as plântulas foram transferidas para casa de vegetação com temperatura entre 20ºC e 24ºC e umidade entre 60% a 80%.

Tabela 1. Relação dos 46 isolados utilizados no estudo com os respectivos códigos, locais de coleta, cultivares das quais foram coletados e data das coletas.

Código	Origem do isolado	Cultivar	Data de Coleta
EL1	Eldorado do Sul (EL)	UPF 16	22/9/03
EL2	Eldorado do Sul (EL)	UPF 16	22/9/03
EL3	Eldorado do Sul (EL)	UPF 16	22/9/03
EL4	Eldorado do Sul (EL)	UFRGS 15	22/9/03
EL5	Eldorado do Sul (EL)	UFRGS 15	22/9/03
EL6	Eldorado do Sul (EL)	URS 20	22/9/03
EL7	Eldorado do Sul (EL)	URS 20	22/9/03
EL8	Eldorado do Sul (EL)	URS 21	22/9/03
EL9	Eldorado do Sul (EL)	URS 21	22/9/03
EL10	Eldorado do Sul (EL)	URS 21	22/9/03
EL11	Eldorado do Sul (EL)	URS 22	22/9/03
EL12	Eldorado do Sul (EL)	URS 22	22/9/03
EL13	Eldorado do Sul (EL)	URS 22	22/9/03
EL14	Eldorado do Sul (EL)	ALBASUL	22/9/03
EL15	Eldorado do Sul (EL)	ALBASUL	22/9/03
CL1	Capão do Leão (CL)	UFRGS 15	24/9/03
CL2	Capão do Leão (CL)	UPF 16	24/9/03
CL3	Capão do Leão (CL)	UPF 16	24/9/03
CL4	Capão do Leão (CL)	UPFA 20	24/9/03
CL5	Capão do Leão (CL)	UPFA 20	24/9/03
CL6	Capão do Leão (CL)	UPFA 20	24/9/03
CL7	Capão do Leão (CL)	UFRGS 15	24/9/03
CL8	Capão do Leão (CL)	URS 20	24/9/03
CL9	Capão do Leão (CL)	URS 20	24/9/03
CL10	Capão do Leão (CL)	URS 20	24/9/03
CL11	Capão do Leão (CL)	URS 20	24/9/03
CL12	Capão do Leão (CL)	URS 22	24/9/03
CL13	Capão do Leão (CL)	URS 22	24/9/03
CL14	Capão do Leão (CL)	URS 22	24/9/03
CL15	Capão do Leão (CL)	ALBASUL	24/9/03

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Código	Origem do isolado	Cultivar	Data de Coleta
CL16	Capão do Leão (CL)	ALBASUL	24/9/03
PF1	Passo Fundo (PF)	UPF 16	29/9/03
PF2	Passo Fundo (PF)	UPFA 20	29/9/03
PF3	Passo Fundo (PF)	UPFA 20	29/9/03
PF4	Passo Fundo (PF)	URS 20	29/9/03
PF5	Passo Fundo (PF)	URS 20	29/9/03
PF6	Passo Fundo (PF)	URS 21	29/9/03
PF7	Passo Fundo (PF)	URS 21	29/9/03
PF8	Passo Fundo (PF)	FAPA 5	29/9/03
PF9	Passo Fundo (PF)	FAPA 5	29/9/03
PF10	Passo Fundo (PF)	ALBASUL	29/9/03
PF11	Passo Fundo (PF)	ALBASUL	29/9/03
PF12	Passo Fundo (PF)	ALBASUL	29/9/03
PF13	Passo Fundo (PF)	UFRGS 15	29/9/03
PF14	Passo Fundo (PF)	UFRGS 15	29/9/03
PF15	Passo Fundo (PF)	UFRGS 15	29/9/03

O pré-isolamento e a determinação das raças seguiram o procedimento descrito abaixo: aproximadamente 15 dias depois da inoculação das amostras originais no PS, foram realizados isolamentos monopustulares. Cada pústula isolada foi reinoculada da mesma forma que a inoculação inicial sobre uma plântula do PS. Quinze dias após essa inoculação, foram efetuados novos isolamentos monopustulares. Cada pústula foi multiplicada sobre o PS para posterior inoculação nas linhas quase isogênicas contendo os genes *Pc*s e a identificação das raças. A estratégia da realização de dois isolamentos monopustulares consecutivos foi adotada para garantir a pureza dos isolados obtidos e dessa forma aumentar a precisão na identificação das raças.

Feita essa etapa de multiplicação, os esporos dos 46 isolados foram coletados com auxílio de uma bomba de ar comprimido e armazenados a vácuo, em tubos de ensaio a temperatura de 4°C. Esses esporos foram suspensos em água na concentração de 10^5 esporos mL^{-1} e então aspergidos sobre seis plântulas de cada uma das 25 linhas quase isogênicas com a primeira folha completamente expandida, o que ocorreu sete dias depois da semeadura. Antes da inoculação, as plântulas foram aspergidas com espalhante adesivo Tween 20, a 0,01% em água e após a inoculação foram mantidas em câmara úmida, no escuro, por 18h à temperatura de 20°C a 24°C e umidade acima de 95%. Terminado esse

período, as plântulas foram transferidas para casa de vegetação com temperatura entre 20 e 24ºC e umidade entre 60% e 80%. Nesta etapa do trabalho, foram avaliadas 25 linhas quase isogênicas portadoras de 25 genes de resistência à ferrugem-da-folha (genes *Pc*s) sendo 16 pertencentes ao sistema norte-americano de nomenclatura do fungo (*Pc* 40, *Pc*45, *Pc*46, *Pc*50, *Pc*38, *Pc*39, *Pc*48, *Pc*68, *Pc*51, *Pc*52, *Pc*58, *Pc*59, *Pc*54, *Pc*56, *Pc*62 e *Pc*64) e mais nove extras (*Pc*14, *Pc*35, *Pc*36, *Pc*53, *Pc*55, *Pc*57, *Pc*60, *Pc*61 e *Pc*63).

Quinze dias depois da inoculação das linhas quase isogênicas, foi efetuada a avaliação dos resultados. A distinção entre alto e baixo tipo de infecção foi feita pelo critério descrito por Chong et al. (2000). Foi empregada uma escala quantitativa composta de notas numa escala de 0 a 4 onde: (0) = ausência de urédia ou outros sinais macroscópicos de infecção, (;) = presença de reação marcante de hipersensibilidade sem esporulação, (1) = pequena urédia rodeada por clorose ou necrose, (2) = urédia de tamanho variando de pequeno a médio rodeada por clorose, (3) = urédia de tamanho médio em área clorótica e (4) = grande urédia sem clorose ou necrose. As notas (0), (;), (1) e (2) foram consideradas como indicativo de resistência do hospedeiro (baixo tipo de infecção) e as notas (3) e (4) como indicativo de suscetibilidade do hospedeiro (alto tipo de infecção). Dessa forma, cada isolado apresentou um padrão próprio de altos e baixos tipos de infecção (virulência/avirulência) para os *Pc*s utilizados. Posteriormente, os isolados receberam a nomenclatura de acordo com o sistema norte-americano (CHONG et al., 2000). Nesse sistema, 16 diferenciadores (*Pc*s) são dispostos em quatro subconjuntos de quatro. Para cada subconjunto de quatro diferenciadores, existem apenas 16 combinações de alto e baixo tipo de infecção, arranjados em um sistema binário. Um código composto de 16 letras consoantes entre B e T foi utilizado para identificar cada uma das 16 combinações de alto e baixo tipo de infecção, (Tabela 2). O código resultante, composto de quatro letras, foi utilizado para a designação das raças do patógeno. O sistema norte-americano de nomenclatura do fungo permite o acréscimo de novos subconjuntos de quatro *Pc*s e assim a inclusão de letras adicionais à direita das utilizadas no sistema. Dessa forma, genes *Pcs* adicionais foram incluídos nos testes para avaliar seu potencial como diferenciadores de raças.

Os dados dos padrões de virulência/avirulência dos isolados para cada um dos genes *Pc*s estudados foram transformados para uma matriz de dados binários onde 1 = alto tipo de infecção/virulência e 0 = baixo tipo de infecção/ avirulência. Essa matriz foi utilizada para estimar a similaridade em virulência

entre cada um dos pares de isolados estudados, por meio do índice de coincidência simples (ICS), conforme a equação: ICS = C/N, onde C é o número de genes *Pc*s que apresentaram o mesmo padrão de virulência ou avirulência entre os *Pc*s utilizados e N = ao número total de *Pc*s avaliados. Com base na matriz de similaridade gerada, foi construído um dendrograma pelo método de agrupamento da distância média (UPGMA). Para a verificação do ajuste entre a matriz de similaridade e o dendrograma obtido, foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (r), segundo Sokal e Rohlf (1962), com o auxílio do programa computacional NTSYS pc 2.1 (ROHLF, 2000).

Tabela 2. Arranjo dos subconjuntos de quatro diferenciadores utilizados para estabelecer as raças de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*, segundo o sistema norte-americano de nomenclatura do fungo.

Código[b] *Pc*a	Subconjuntos diferenciadores	Tipo de infecção[a] por gene *Pc*			
	subconjunto 1	40	45	46	50
	subconjunto 2	38	39	48	68
	subconjunto 3	51	52	58	59
	subconjunto 4	54	56	62	64
B		B	B	B	B
C		B	B	B	A
D		B	B	A	B
F		B	B	A	A
G		B	A	B	B
H		B	A	B	A
J		B	A	A	B
K		B	A	A	A
L		A	B	B	B
M		A	B	B	A
N		A	B	A	B
P		A	B	A	A
Q		A	A	B	B
R		A	A	B	A
S		A	A	A	B
T		A	A	A	A

[a] B = baixo tipo de infecção (reação de avirulência), A = alto tipo de infecção (reação de virulência).
[b] Código *Pc*a: é a designação do subconjunto 1 seguida pela do subconjunto 2 e assim por diante. Por exemplo, a raça SBPH = subconjunto 1 (S), avirulenta somente para o *Pc*50; subconjunto 2 (B), avirulenta para todos os *Pc*s; subconjunto 3 (P), avirulenta somente para o *Pc*52; e subconjunto 4 (H), avirulenta para os *Pc*s 54 e 62 .

Resultados e Discussão

Foram estudados 46 isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* coletados em três municípios do Estado do Rio Grande do Sul, sendo 15 oriundos de Passo Fundo, 15 de Eldorado do Sul e 16 de Capão do Leão (Tabela 1). A inoculação dos 46 isolados em 25 linhas quase isogênicas, contendo 25 genes de resistência à ferrugem-da-folha (genes *Pc*s) utilizados no estudo, resultou em um total de 1150 inoculações, das quais 764 (66%) revelaram reação de virulência (alto tipo de infecção) e 386 (34%) reação de avirulência (baixo tipo de infecção), o que evidenciou a grande capacidade de virulência dos isolados estudados (Tabela 3). Resultado semelhante a este havia sido reportado por Leonard et al. (2004) que trabalhou com isolados israelenses do fungo.

Entre os *Pc*s avaliados, dois pertencentes ao sistema norte-americano de nomenclatura do fungo (*Pc*40 e *Pc*45) não foram efetivos contra nenhum dos isolados, não contribuindo para a diferenciação deles. Entretanto, avaliando 53 isolados dessa mesma região, Martinelli et al. (1998) reportaram que 15% e 8% desses isolados foram avirulentos aos genes *Pc*40 e *Pc*45, respectivamente, mostrando a importância desses genes contra alguns isolados e a potencialidade deles na diferenciação de isolados obtidos em futuras coletas. Como verificado nos genes *Pc*40 e *Pc*45, também houve elevado percentual de isolados virulentos aos genes *Pc*46, *Pc*51 e *Pc*64 do sistema norte-americano de nomenclatura do fungo, com 98%, 96% e 93% dos isolados virulentos, respectivamente, e os *Pc*57 e *Pc*61 com 96% dos isolados virulentos (Tabela 3). Esses resultados são semelhantes aos reportados por Martinelli et al. (1998), à exceção do *Pc*51 que apresentou freqüência de indivíduos virulentos de 49%, sendo bem menor que as reportadas no presente trabalho de 96%. Os resultados evidenciam que os genes *Pc*57 e *Pc*61 não devem ser priorizados na busca de possíveis genes a serem adicionados ao sistema norte-americano de nomenclatura do fungo, em função da baixa capacidade de distinguir isolados sul-brasileiros do fungo e também no uso em programas de melhoramento genético da aveia para resistência à ferrugem-da-folha no Rio Grande do sul, por causa da baixa efetividade, a maioria dos isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* dessa região.

Tabela 3. Reação de virulência (alto tipo de infecção) e avirulência (baixo tipo de infecção) dos 46 isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* oriundos das cidades de Capão do Leão, Passo Fundo e Eldorado do Sul, sobre os 25 genes (*Pc*s) estudados.

Gene *Pc*	Número e porcentagem de isolados virulentos	Número e porcentagem de isolados avirulentos
40*	46 (100%)	0 (0%)
45*	46 (100%)	0 (0%)
46*	45 (98%)	1 (2%)
50*	2 (4%)	44 (96%)
38*	12 (26%)	34 (74%)
39*	25 (54%)	21 (46%)
48*	20 (43%)	26 (57%)
68*	0 (0%)	46 (100%)
51*	44 (96%)	2 (4%)
52*	17 (37%)	29 (63%)
58*	38 (83%)	8 (17%)
59*	35 (76%)	11 (24%)
54*	31 (67%)	15 (33%)
56*	35 (76%)	11 (24%)
62*	3 (7%)	43 (93%)
64*	43 (93%)	3 (7%)
36	39 (85%)	7 (15%)
53	27 (59%)	19 (41%)
55	33 (72%)	13 (28%)
63	13 (28%)	33 (72%)
14	40 (87%)	6 (13%)
35	41 (89%)	5 (11%)
57	44 (96%)	2 (4%)
60	41 (89%)	5 (11%)
61	44 (96%)	2 (4%)
Total	764 (66%)	386 (34%)

* Genes *Pc*s do sistema norte-americano de nomenclatura do fungo.
Fonte: Chong et al. (2000).

O gene *Pc*68 também não foi efetivo na diferenciação dos isolados uma vez que nenhum apresentou virulência a ele (Tabela 3). Esse gene é reconhecido internacionalmente como um dos mais efetivos contra o fungo (CHONG, 2000; JOHSTON et al., 2000). Embora no presente trabalho não tenha sido detectado nenhum isolado virulento ao *Pc*68, esse resultado parece não ser conclusivo no que diz respeito à inexistência de isolados virulentos ao gene no sul do Brasil.

Os isolados estudados foram coletados no EBCRA onde nenhuma das cultivares apresentava esse gene *Pc*68. Dessa forma, isolados virulentos ao *Pc*68 teriam um gene desnecessário para a virulência nas cultivares do EBCRA e, por conseguinte, apresentariam desvantagem competitiva em relação aos que não o apresentam. Assim, um possível isolado com esse gene desnecessário à virulência tenderia a ocorrer em menor freqüência e, como o número de isolados estudados no presente trabalho foi relativamente pequeno, é possível que por um problema de amostragem, esse possível isolado não tenha sido coletado. Apesar disso, os resultados mostram que tal gene pode ser excelente fonte de resistência ao patógeno.Todavia, ele deve ser testado em grandes áreas por um período de tempo maior, para que seja possível comprovar a hipótese de sua efetividade aos isolados do Rio Grande do Sul. Além do *Pc*68, apresentaram destaque, em função de sua elevada efetividade, os genes *Pc*50, *Pc*52, *Pc*62 e *Pc*38, do sistema norte-americano de nomenclatura do fungo, com 96%, 63%, 93% e 74% dos isolados avirulentos, respectivamente, e o *Pc*63 com 72% dos isolados avirulentos (Tabela 3). Esses genes, juntamente com o *Pc*68, combinados entre si ou isoladamente, podem apresentar elevado potencial de controle da ferrugem-da-folha-da-aveia no Rio grande do Sul.

Com base na avaliação de isolados do fungo causador da ferrugem-da-folha-da-aveia, coletados nas ilhas da Califórnia-EUA, Johnston et al. (2000) relataram a inexistência de isolados virulentos aos *P*38, *Pc*39, *Pc*50, *Pc*52, *Pc*56, *Pc*62 e *Pc*68 e a inexistência de isolados avirulentos aos genes *Pc*14, *Pc*45, *Pc*46 e *Pc*54. Esses resultados confirmam em parte os do presente trabalho, uma vez que entre os isolados sul-brasileiros: (i) não foi detectada virulência ao *Pc*68; (ii) os genes *Pc*38, *Pc*50 e *Pc*62 foram efetivos a grande número de isolados; (iii) o gene *Pc*45 não foi efetivo contra nenhum isolado; (iv) o gene *Pc*46 foi efetivo contra apenas um isolado. Entretanto, os resultados divergiram em relação aos genes *Pc*39, *Pc*52 e *Pc*56 que apresentaram isolados virulentos e aos genes *Pc*14 e *Pc*54 que evidenciaram isolados avirulentos no presente trabalho (Tabela 3). Tal semelhança entre os resultados pode ter tido por base o fato de, em ambos os locais (Ilhas da Califórnia e Brasil), o fungo não apresentar ciclo sexual e também que em ambos os locais existe grande variabilidade genética para resistência na população do hospedeiro. Contudo, cabe ressaltar que de maneira geral os isolados sul-brasileiros do fungo tenderam a apresentar virulência maior, embora a apresentada nas Ilhas da Califórnia também tenha sido elevada.

Entre os genes do sistema norte-americano de nomenclatura do fungo *Pc*39, *Pc*48, *Pc*52 e *Pc*54, que apresentaram porcentagens parecidas de isolados avirulentos e virulentos, contribuíram de forma decisiva para a diferenciação dos isolados e dessa forma merecem destaque (Tabela 3). Entre os novos genes estudados, evidenciaram destaque como possíveis genes a serem incorporados ao sistema norte-americano de nomenclatura do fungo, como um novo subgrupo, *Pc*53, *Pc*55 e *Pc*63 por apresentar relativo balanço entre o número de isolados virulentos e avirulentos, e *Pc*36 que, entre o restante dos genes testados, foi o que apresentou a menor porcentagem de isolados virulentos.

Com base apenas nos 16 genes *Pc*s do sistema norte-americano de nomenclatura do fungo *P. coronata* f.sp. *avenae* (Tabela 3), foi possível classificar os 46 isolados em 30 raças distintas (Tabela 4). Dessas, a mais freqüente foi a SBPH que ocorreu seis vezes. Essa raça não foi detectada em Capão do Leão (CL). A segunda raça mais freqüente foi SDTH que ocorreu quatro vezes e não foi detectada no Município de Passo fundo (PF). Outras duas ocorreram três vezes SJTR e SJRR, enquanto quatro raças duas vezes SSSR, SQNM, SDPH e SGPM. Por sua vez, 22 raças foram detectadas apenas uma única vez (Tabela 4), o que permite estabelecer a hipótese da presença de elevada variabilidade em virulência do fungo no sul do Brasil.

Com o objetivo de quantificar a eficiência do sistema norte-americano de nomenclatura do fungo *P. coronata* f.sp. *avenae* na identificação das raças do fungo do Sul do Brasil, ele foi comparado com a similaridade em virulência dos isolados, considerando todos os 25 genes utilizados no presente trabalho, ou seja, somente os isolados que apresentaram o mesmo padrão de virulência/ avirulência para todos os 25 *Pc*s revelariam um índice de coincidência simples de 100%. Como pode ser detectado na Figura 1, dos seis isolados classificados como da raça SBPH, segundo o sistema norte-americano de nomenclatura do fungo *P. coronata* f.sp. *avenae*, cinco permaneceram com similaridade de 100% quando da utilização dos dados de todos os 25 genes *Pc*s, evidenciando que tais isolados provavelmente representariam uma mesma raça. O único isolado que não atingiu 100% de similaridade foi o EL3 que apresentou um gene de virulência a mais (Tabela 4 e Figura. 1). No caso da

segunda raça mais freqüente (SDTH), apenas um dos quatro isolados (EL2), anteriormente classificado como dessa raça, foi diferenciado dos demais, por conter um gene de virulência a mais (Tabela 4 e Figura. 1). Por sua vez, as raças SJTR e SJRR que abrangiam três isolados com a mesma nomenclatura, passaram a apresentar dois com 100% de similaridade, e as raças SSSR e SQNM continuaram com dois isolados com o mesmo padrão de virulência/avirulência mesmo depois da inclusão de novos genes *Pc*s ao sistema de nomenclatura anteriormente empregado. Entretanto, as raças SDPH e SGPM que tiveram dois isolados com o mesmo padrão de virulência/avirulência passaram a ser representados por apenas um isolado cada.

Tabela 4. Relação dos 46 isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* estudados com o número de genes de virulência/avirulência de cada um dos isolados para os 25 *Pc*s empregados no estudo.

Isolado	SNNF*	SMNF**	Nº de genes de virulência dentre os *Pc*s utilizados	Nº de genes de avirulência dentre os 25 Pcs utilizados
EL3	SBPH	SBPHS	16	9
EL8	SBPH	SBPHQ	15	10
PF1	SBPH	SBPHQ	15	10
PF6	SBPH	SBPHQ	15	10
PF11	SBPH	SBPHQ	15	10
PF12	SBPH	SBPHQ	15	10
EL2	SDTH	SDTHS	18	7
EL9	SDTH	SDTHQ	17	8
EL10	SDTH	SDTHQ	17	8
CL15	SDTH	SDTHQ	17	8
EL5	SJTR	SJTRN	19	6
EL11	SJTR	SJTRS	20	5
EL13	SJTR	SJTRN	19	6
EL15	SJRR	SJRRS	19	6
CL13	SJRR	SJRRN	18	7
CL14	SJRR	SJRRN	18	7
CL10	SSSR	SSSRP	20	5
CL11	SSSR	SSSRP	20	5
CL5	SQNM	SQNMP	16	9
PF5	SQNM	SQNMP	16	9
PF10	SDPH	SDPHS	17	8
PF14	SDPH	SDPHG	13	12

Continua...

Tabela 4. Continuação.

Isolado	SNNF*	SMNF**	Nº de genes de virulência dentre os *Pcs* utilizados	Nº de genes de avirulência dentre os 25 Pcs utilizados
CL1	SGPM	SGPMJ	16	9
PF3	SGPM	SGPMS	16	9
EL6	QGTT	QGTTS	19	6
CL4	SBNR	SBNRN	15	10
PF7	SBPG	SBPGQ	14	11
PF15	SBPM	SBPMS	15	10
EL7	SBPR	SBPRQ	16	9
EL1	SDMH	SDMHS	15	10
CL2	SDPR	SDPRG	15	10
CL16	SDTG	SDTGQ	12	13
EL12	SJSR	SJSRN	18	7
PF13	SGFM	SGFMK	15	10
CL12	SGLR	SGLRN	14	11
CL3	SGNQ	SGNQN	14	11
EL4	SGTR	SGTRN	17	8
PF2	SLBM	SLBMK	12	13
CL9	SLMR	SLMRF	16	9
CL8	SQMM	SQMMP	17	8
PF4	SQPR	SQPRP	19	6
PF9	SQPT	SQPTF	17	8
PF8	SSNM	SSNMP	18	7
EL14	SSTM	SSTMT	21	4
CL7	TGNM	TGNMS	17	8
CL6	TQPT	TQPTP	21	4
Média***			17	8

*Sistema norte-americano de nomenclatura do fungo.
**Sistema modificado de nomenclatura do fungo.
***Média de genes de virulência e avirulência dos 46 isolados.

A utilização de todos os genes *Pcs* de forma conjunta elevou o número de raças de 30, pelo sistema norte-americano de nomenclatura do fungo, para 36 (Figura 1), ou seja, tais resultados evidenciaram a necessidade da inclusão de novos genes *Pcs* ao sistema de nomenclatura norte-americano para uma caracterização mais detalhada das raças sul-brasileiras. Entretanto, ambos os sistemas evidenciaram a existência de grande variabilidade em virulência entre os isolados sul-brasileiros do fungo e a inexistência de uma raça amplamente dominante, o que está de acordo com os resultados reportados por Martinelli

et al. (1998) que, avaliando 53 isolados sul-brasileiros, detectaram a presença de 53 raças distintas. Entretanto, os resultados são contrastantes com os relatados na África do Sul por Niekekk et al. (2001) que avaliaram 269 isolados, coletados em oito locais, em dois anos, e relataram a ocorrência de apenas cinco raças do fungo (SBLL, SGLL, PBBB, SDQL e JBBM), segundo o sistema norte-americano de nomenclatura do fungo, sendo que apenas a raça SBLL foi identificada em alta freqüência. Nenhuma das raças presentes na África do Sul foi detectada neste trabalho.

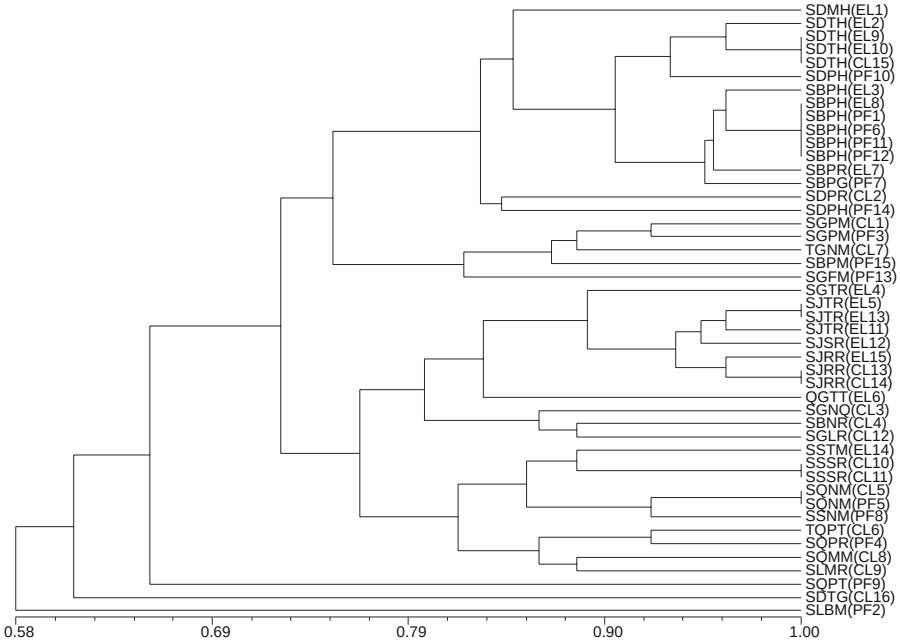

Figura 1. Dendrograma de 46 isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* coletados em três municípios do Estado do Rio Grande do Sul/Brasil, Passo Fundo (PF), Capão do Leão (CL) e Eldorado do Sul (EL), com suas respectivas nomenclaturas segundo o sistema norte-americano de nomenclatura do fungo, obtido por meio do método de agrupamento UPGMA (distância média) a partir do índice de similaridade de coincidência simples, com base no padrão de virulência e avirulência dos 46 isolados aos 25 genes *Pcs* empregados no estudo. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,82.

Neste estudo, foi proposta a inclusão de um novo subconjunto de quatro genes (*Pc*36, *Pc*53, *Pc*55 e *Pc*63; nesta ordem) ao sistema norte-americano de nomenclatura do fungo *P. coronata* f.sp. *avenae*, o que acarretou na inclusão de mais uma letra à direita das quatro anteriormente utilizadas, como pode ser observado na Tabela 4. A inclusão desse subconjunto foi efetiva, uma vez que dividiu os 46 isolados em 36 raças distintas (Tabela 4 e Figura 1). Esses resultados evidenciaram que tais genes apresentam potencial adicional de diferenciação dos isolados sul-brasileiros do fungo e que podem vir a compor um novo subconjunto do sistema americano de nomenclatura do fungo. Entretanto, para que tal hipótese tenha sustentação, é necessário realização de mais estudos e avaliação de um número maior de genes *Pc*s e de isolados.

Entre os isolados amostrados, os que apresentaram maior número de genes de virulência foram CL6 e EL14 com 21 genes, enquanto CL16 e PF2,o menor número com 12 genes. A raça mais freqüente SBPH evidenciou 15 genes de virulência, e a média desses genes por isolado foi de 17 (Tabela 4). No Brasil, além de existir elevada variabilidade de raças do patógeno, existe, também, grande número de super-raças, o que justifica a dificuldade enfrentada pelos melhoristas brasileiros na seleção de constituição genética com resistência à ferrugem-da-folha-da-aveia. A ocorrência de super-raças em uma freqüência tão elevada não é observada no centro de origem do patossistema em Israel (LEONARD et al., 2004), tampouco, nas ilhas da Costa da Califórnia onde os isolados em média apresentam seis genes de virulência (JOHNSTON et al., 2000).

Entre as causas da elevada variabilidade nas populações do fungo causador da ferrugem-da-folha, as mais aceitas são: (i) a recombinação de genes de virulência via recombinação sexual; (ii) a recombinação assexual via anastomose (via fusão de hifas); (iii) acúmulo de mutações (CHONG; KOLMER, 1993). No Brasil, não há relatos da ocorrência do ciclo sexual do fungo, o que faz com que as principais razões dessa elevada variabilidade sejam a ocorrência de recombinação assexual e o acúmulo de mutações. Tais mecanismos evolutivos provavelmente são potencializados no Brasil pelo fato de o patógeno ser amplamente difundido pelo vento (elevada capacidade de dispersão; BROWN; HOVMOLLER, 2002) e, como a aveia é cultivada durante o ano todo nos países do cone sul, é esperado que a recombinação assexual e o surgimento de mutações ocorram o ano todo e se difundam nesta região. Outra possível explicação é o fato de os isolados terem sido coletados no EBCRA, onde existe maior concentração de genótipos-

elite que apresentam no conjunto, grande número de genes de resistência, o que gera forte pressão de seleção sobre os patógenos, fazendo com que somente consigam se estabelecer os isolados que contenham número elevado de genes de virulência.

Foi verificado neste trabalho que, aparentemente, não existe um padrão claro de distribuição da variabilidade em virulência entre os três locais de coleta de isolados, como pode ser observado na Figura 1. Os isolados não apresentaram a tendência de agrupamento de acordo com o local em que foram coletados. O coeficiente de correlação cofenética do dendrograma (r = 0,82) evidenciou bom ajuste entre a representação gráfica e a matriz de similaridade original, permitindo que sejam feitas inferências com base na figura. Nessa figura, além do elevado número de sobreposições evidenciadas entre os isolados de diferentes locais, também foi revelada razoável similaridade entre os genótipos, uma vez que o valor mínimo de similaridade foi de 0,58 entre o isolado PF2 e os demais. Essa elevada similaridade pode ser explicada pelo alto nível de virulência apresentado por todos os isolados amostrados. A ausência de tendência de agrupamento dos isolados de acordo com sua origem pode ter duas explicações: (i) eles apresentam alta mobilidade através do vento e por isso estão presentes quase que uniformemente nos diferentes locais; (ii) os isolados foram coletados sobre o EBCRA que é representado pelos mesmos genótipos nos três locais, o que levou a ausência de estratificação dos isolados de acordo com sua origem.

Conclusões

1 Os isolados sul-brasileiros do fungo *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* apresentam elevada capacidade de virulência e grande variabilidade em virulência.

2 Não existe padrão claro de distribuição da variabilidade em virulência dos isolados de acordo com o local em que foram coletados.

3 O gene *Pc*68 é uma interessante fonte de resistência à ferrugem-da-folha-da-aveia, uma vez que foi efetivo contra todos os isolados avaliados.

4 O sistema norte-americano de nomenclatura do fungo não é totalmente eficiente na determinação das raças sul-brasileiras do patógeno.

5 Os genes *Pc*36, *Pc*53, *Pc*55 e *Pc*63 representam uma possível combinação de genes a ser incorporada ao sistema norte-americano de nomenclatura do fungo para a caracterização de isolados locais de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*.

Referências

BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; LORENCETTI, C.; VIEIRA, E. A.; COIMBRA, J. L. M.; VALÉRIO, I. P.; FLOSS, E. L.; BERTAN, I.; SILVA, G. O. Adaptabilidade e estabilidade em aveia em ambientes estratificados. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 295-302, 2005.

BROWN, J. K. M; HOVMOLLER, M. S. Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease. **Science**, Washington, D.C., v. 297, n. 5581, p. 537-541, 2002.

CAEIRÃO, E.; CARVALHO, F. I. F.; FLOSS, E. L.; SÁNCHEZ-CHACÓN, C. D.; LORECETTI, C.; MARCHIORO, V. Efeito de níveis de severidade e incidência da ferrugem-da-folha e ferrugem-do-colmo no rendimento de linhagens de aveia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 1, p. 43-52, 2001.

CHONG, J. Incidence and virulence of *Puccinia coronata* in Canada from 1996 to 1998. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, v. 22, n. 2, p. 99-109, 2000.

CHONG, J.; KOLMER, J. A. Distribution and virulence of *Puccinia coronata* f. sp. *Avenae* in Canada in 1992. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, v. 16, n. 1, p. 64-67, 1993.

CHONG, J.; LEONARD, K. J.; SALMERON, J. J. A north american system of nomenclature for *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 84, n. 5, p. 580-585, 2000.

CRUZ, R. P.; FEDERIZZI, L. C.; MILACH, S. C. K. Genética da resistência à ferrugem-da-folha em aveia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 36, n. 9, p. 1127-1132, 2001.

CRUZ, R. P.; FEDERIZZI, L. C.; MILACH, S. C. K. Severidade da ferrugem-da-folha e seus efeitos sobre caracteres da panícula de aveia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 34, n. 4, p. 543-551, 1999.

DOEHLERT, D. C.; MCMULLEN, M. S.; HAMMOND, J. J. Genotypic and environmental effects on grain yield and quality of oat grown in North Dakota. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 4, p. 1066-1072, 2001.

HARDER, D. E.; HABER, S. Oat diseases and pathologic techniques. In: MARSHALL, H. G.; SORRELLS, M. E. (Ed.). **Oat science and technology.** Madison: American Society of Agronomy, 1992. p. 307-326.

HOLLAND, J. B.; MUNKVOLD, G. P. Genetic relationships of crow rust resistance, grain yield, test weight, and seed weight in oat. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 4, p. 1041-1050, 2001.

JOHNSTON, M. R.; CARSTEN, L. D.; DOUGLAS, L.; SANDS, D. C. Epidemic development and virulence in 1995-1998 of *Puccinia coronata*, a potential biocontrol agent of wild oats on San Clement Island. **Biological Control**, San Diego, v. 17, n. 3, p. 250-257, 2000.

KOLMER, J. A.; CHONG, J. Distribution of virulence in two populations of *Puccinia coronata* f. sp. *Avenae* in Canada. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 71, n. 7, p. 946-950, 1993.

LEONARD, K. J.; ANIKSTER, Y.; MANISTERSKI, J. Patterns of virulence in natural populations of *Puccinia coronata* on wild oat in Israel and in agricultural populations on cultivated oat in the United States. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 95, n. 5, p. 505-514, 2004.

LORENCETTI, C.; CARVALHO, F. I. F.; MARCHIORO, V. S.; BENIN, G.; OLIVEIRA, A. C.; FLOSS, E. L. Implicações da aplicação de fungicida nos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de rendimento de grãos em aveia branca. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 693-700, 2004.

MARTINELLI, J. A.; CHAVES, M. S.; FEDERIZZI, L. C.; MILACH, S. C. K.; ALMEIDA, J. L. Análise da virulência de alguns isolados de *Puccinia coronata avenae* no Sul do Brasil. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 18., 1998, Londrina. **Resumos...** Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 1998. p. 17-19.

MARTINELLI, J. A.; FEDERIZZI, L. C.; BENNEDETI, A. C. Redução do rendimento de grãos de aveia em função da severidade da ferrugem da folha. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 20, n. 1, p. 116-118, 1994.

NIEKERK, B. D.; PRETORIUS, Z. A.; BOSHOFF, W. H. P. Pathogenic variability of *Puccinia coronata* f. sp. *Avenae* and P. *graminis* f. sp. *Avenae* on oat in South Africa. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 10, p. 1085-1090, 2001.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc**: numerical taxon-omy and multivariate analysis system, version 2.1. New York: Exeter Software, 2000. 38 p.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Berlin, v. 11, n. 1, p. 30-40, 1962.

Embrapa

Cerrados

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

BRASIL
UM PAÍS DE TODOS
GOVERNO FEDERAL