

DIVERSIDADE E ESTRUTURA GENÉTICA PARA VIRULÊNCIA DE TRÊS POPULAÇÕES SUL BRASILEIRAS DE *PUCCINIA CORONATA* ⁽¹⁾

EDUARDO ALANO VIEIRA ⁽²⁾; FERNANDO IRAJÁ FÉLIX DE CARVALHO ⁽³⁾; MÁRCIA SOARES CHAVES ⁽⁴⁾; ANTÔNIO COSTA DE OLIVEIRA ⁽³⁾; ANDREZA FIGUEIROLA MARTINS ⁽⁵⁾; JOSÉ ANTÔNIO GONZALEZ DA SILVA ⁽⁵⁾; IRINEU HARTWIG ⁽⁵⁾; GIOVANI OLEGÁRIO DA SILVA ⁽⁵⁾; MARCOS FONTOURA DE CARVALHO ⁽⁶⁾; CYRANO CARDOSO BUSATO ⁽⁶⁾

RESUMO

Estudos de diversidade e estrutura genética de populações de patógenos por meio de genes de resistência conhecidos são importantes, por permitirem o acesso de forma direta aos genes de virulência/ avirulência dos indivíduos das diferentes populações-alvo. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a diversidade e a estrutura genética de três populações de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led do Estado do Rio Grande do Sul, por meio da utilização do padrão fenotípico de virulência/ avirulência de 40 isolados a 25 genes Pcs. Os resultados obtidos evidenciaram que apesar da elevada variabilidade em virulência dos isolados sul-brasileiros, a população apresenta diversidade genética moderada, principalmente em função da alta virulência dos isolados. Praticamente, não existem diferenças nas frequências dos genes de virulência nos isolados coletados em Capão do Leão, Eldorado do Sul e Passo Fundo, ou seja, não existe estruturação entre as populações, o que implica na necessidade da adoção de uma estratégia única de controle da moléstia nos três locais.

Palavras-chave: *Avena sativa* L., ferrugem da folha da aveia, resistência, genética de populações.

ABSTRACT

GENETIC DIVERSITY AND STRUCTURE FOR VIRULENCE OF THREE SOUTHERN BRAZILIAN *PUCCINIA CORONATA* F. SP. *AVENAE* FRASER & LED POPULATION

Studies on the genetic diversity and structure of pathogen populations by mean of known resistance genes are important as they allow the direct access to virulence/ avirulence genes of individuals in target populations. Therefore, the goal of this work was to characterize the genetic diversity and structure of three *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led populations from the State of Rio Grande do Sul by using a standard phenotypical assay of virulence/ avirulence of 40 isolates to 25 Pcs genes. The results indicated that despite of the high variability for virulence of Southern brazilian isolates, the population showed a moderate genetic diversity, mainly as a function of the high virulence presented by the isolates. Basically, no difference was found in the frequency of virulence genes among the isolates collected in Capão do Leão, Eldorado do Sul and Passo Fundo counties, suggesting that the pathogen populations are not structured. The results indicated the need of a strategy for disease control in these three locations.

Key words: *Avena sativa* L., crown rust; resistance, population genetics.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 5 de abril de 2005 e aceito em 18 de janeiro de 2006.

⁽²⁾ Embrapa Cerrados. Caixa Postal 8223, 73310-970 Planaltina (DF).

⁽³⁾ Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel), Caixa Postal 354, 96010-900 Pelotas (RS). E-mail: carvalho@ufpel.tche.br.

⁽⁴⁾ Embrapa Trigo, Caixa Postal 451, 99001-970 Passo Fundo (RS).

⁽⁵⁾ Doutorando do Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Fitomelhoramento), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

⁽⁶⁾ Graduando em Agronomia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

1. INTRODUÇÃO

A ferrugem da folha da aveia, moléstia causada pelo fungo *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led é a doença mais importante que ataca o gênero *Avena*, ocorrendo em praticamente todas as regiões do mundo onde o cereal é cultivado, sendo presente com maior severidade nos locais com temperaturas amenas e alta umidade relativa do ar (SIMONS e MURPHY, 1961). A moléstia provoca redução significativa no rendimento e na qualidade de grãos em cultivares suscetíveis (MARTINELLI et al., 1994; CAEIRÃO et al., 2001; DOEHLERT et al., 2001; HOLLAND e MUNKVOLD, 2001, LORENCETTI et al. 2004; BENIN et al., 2005). As formas mais empregadas para o controle da moléstia são a utilização de fungicidas ou de variedades resistentes, sendo a resistência genética a opção mais barata e ambientalmente favorável para o controle da ferrugem da folha da aveia, uma vez que, o uso de produtos químicos eleva os custos de produção e pode ocasionar sérios prejuízos ao ambiente e aos trabalhadores rurais.

Entretanto, os genótipos resistentes à ferrugem da folha não têm permanecido eficientes por muito tempo. Essa falta de durabilidade é atribuída à grande capacidade de desenvolver novos biótipos virulentos do patógeno, que superam os genótipos resistentes, especialmente aqueles com resistência do tipo monogênica (CHONG e SEAMAN, 1994).

Nos países onde ocorre a presença de *Rhamnus cathartica* L., hospedeiro alternativo do fungo, o rápido desenvolvimento de novas raças é atribuído à recombinação sexual do fungo. No Brasil, onde não existem relatos da ocorrência do ciclo sexual do fungo, a causa mais provável da elevada variabilidade observada no fungo é a ocorrência de mutações e de anastomoses (Simons, 1985). Outro fator que pode contribuir para essa grande variabilidade existente de raças é a capacidade de dispersão a longas distâncias (BROWN e HOVMOLLER, 2002). Dessa forma, seria possível que novas raças chegassem ao Brasil através do vento, provenientes de outras regiões agrícolas, o que é bastante provável, uma vez que a aveia é cultivada durante todos os meses do ano nos países do cone sul.

Para o êxito da seleção de constituições genéticas resistentes ao fungo, é de fundamental importância o conhecimento da diversidade das populações nos locais onde os genótipos serão cultivados. Estudos de diversidade e estrutura genética de populações de patógenos podem ser realizados por meio da utilização de marcadores moleculares

(McDONALD, et al., 1995; ROSEWICH et al., 1998, 1999; BRAKE et al., 2001) ou do padrão fenotípico de virulência dos isolados (MANISTERSKI et al., 2000, BRAKE et al., 2001). Tais estudos permitem inferências a respeito da capacidade de dispersão do patógeno, taxa de mutações, forma de reprodução, grau de variabilidade genética, tamanho populacional efetivo, potencial de causar epidemias, distribuição dos genes de virulência, entre outras (McDONALDS e LINDE, 2002).

A grande vantagem da utilização de marcadores moleculares reside no fato de os mesmos permitirem ampla amostragem do genoma e a geração de grande número de informações genéticas. Entretanto, nem toda a informação gerada refere-se diretamente às regiões responsáveis pela virulência/avirulência, uma vez que muitos dos dados obtidos são de regiões neutras do genoma. São importantes em muitos estudos, porém não quando o objetivo é o conhecimento da ocorrência ou não e das frequências em que aparecem os genes de virulência/avirulência nas diferentes populações-alvo. Dessa forma, a utilização dos fenótipos de virulência dos patógenos, mediante a utilização de genes de resistência vertical conhecidos, cresce em importância, por permitir de forma direta o acesso aos genes de resistência.

Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar a diversidade e a estrutura genética de três populações de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led do Estado do Rio Grande do Sul por meio da utilização do padrão fenotípico de virulência/avirulência dos isolados a 25 genes de resistência à ferrugem da folha da aveia (genes Pcs).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Em três municípios do Estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil: a) Passo Fundo (PF) situado a 28° 15' 46" de latitude Sul, 52° 24' 24" de longitude Oeste e altitude de 687 m; b) Capão do Leão (CL) situado a 31° 52' 00" de latitude Sul, 52° 21' 24" de longitude Oeste e altitude de 13,24 m; c) Eldorado do Sul (EL) situado a 30° 05' 22" de latitude Sul, 51° 39' 08" de longitude Oeste e altitude de 46 m, foram coletadas folhas com sinais da ferrugem da folha da aveia em cultivares do Ensaio Brasileiro de Cultivares Recomendados de Aveia (EBCRA), no período de 22 a 29 de setembro de 2003. As amostras foliares coletadas foram acondicionadas, isoladamente, em envelopes de papel, sendo mantida a identificação do local, data e cultivar da qual foram obtidas (Tabela 1). Após a coleta, as amostras (contendo os esporos

do fungo) foram mantidas por cerca de 48 horas em ambiente seco, para eliminação do excesso de umidade das folhas e, posteriormente, conservadas em refrigerador a 4 °C, no Laboratório de Ferrugem da Folha do Trigo, da Embrapa Trigo de Passo Fundo, onde foi desenvolvido o trabalho.

A cultivar UFRGS 7 foi utilizada como padrão de suscetibilidade (PS), em função da sua histórica sensibilidade à ferrugem da folha. Dessa forma, a inoculação das plântulas do PS com a primeira folha completamente expandida (sete dias após a semeadura) foi efetuada por meio de raspagem dos esporos das amostras coletadas, com auxílio de uma espátula (previamente esterilizada em estufa a 100 °C) e posterior contato da espátula contendo os esporos do fungo com uma plântula do PS, previamente umedecida com água contendo o espalhante adesivo Tween 20 (10 µL 100 mL⁻¹). Após a inoculação com os esporos, 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 18 horas à temperatura de 20-24 °C e umidade de 95%, para garantir a infecção. Após esse período, as plântulas foram transferidas para casa de vegetação com condições semicontroladas.

Decorridos 15 dias após a inoculação inicial dos esporos no PS, foram realizados isolamentos monopustulares, e as pústulas isoladas foram novamente inoculadas, da mesma forma que a inoculação inicial, sobre plântulas do PS. Quinze dias após a inoculação dos isolamentos monopustulares iniciais, foram efetuados novos isolamentos monopustulares e essas pústulas isoladas foram multiplicadas sobre o PS para posterior inoculação nas plântulas contendo os genes Pcs e identificação das raças. Foi adotada a estratégia da realização de dois isolamentos monopustulares consecutivos, para garantir a pureza dos isolados obtidos e dessa forma aumentar a confiabilidade do trabalho. Ao todo, foram obtidos 46 isolados, 15 de Passo Fundo (PF), 15 de Eldorado do Sul (EL) e 16 de Capão do Leão (CL), segundo a Tabela 1.

Tabela 1. Relação dos 46 isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led utilizados no estudo com a indicação dos códigos, locais de coleta, cultivares de origem e data das coletas. FAEM/UFPEl, 2005

Código (nº do isolado)	Origem do isolado	Cultivar	Data de Coleta
EL 1 a 3	Eldorado do Sul (EL)	UPF 16	22/9/03
EL 4 a 5	Eldorado do Sul (EL)	UFRGS 15	22/9/03
EL 6 a 7	Eldorado do Sul (EL)	URS 20	22/9/03
EL 8 a 10	Eldorado do Sul (EL)	URS 21	22/9/03
EL 11 a 13	Eldorado do Sul (EL)	URS 22	22/9/03
EL 14 a 15	Eldorado do Sul (EL)	ALBASUL	22/9/03
CL 1	Capão do Leão (CL)	UFRGS 15	24/9/03
CL 2 a 3	Capão do Leão (CL)	UPF 16	24/9/03
CL 4 a 6	Capão do Leão (CL)	UPFA 20	24/9/03
CL 7	Capão do Leão (CL)	UFRGS 15	24/9/03
CL 8 a 11	Capão do Leão (CL)	URS 20	24/9/03
CL 12 a 14	Capão do Leão (CL)	URS 22	24/9/03
CL 15 a 16	Capão do Leão (CL)	ALBASUL	24/9/03
PF 1	Passo Fundo (PF)	UPF 16	29/9/03
PF 2 a 3	Passo Fundo (PF)	UPFA 20	29/9/03
PF 4 a 5	Passo Fundo (PF)	URS 20	29/9/03
PF 6 a 7	Passo Fundo (PF)	URS 21	29/9/03
PF 8 a 9	Passo Fundo (PF)	FAPA 5	29/9/03
PF 10 a 12	Passo Fundo (PF)	ALBASUL	29/9/03
PF 13 a 15	Passo Fundo (PF)	UFRGS 15	29/9/03

Após a etapa de multiplicação dos isolados obtidos por meio de dois isolamentos monopustulares consecutivos, os esporos de 46 isolados foram coletados com auxílio de uma bomba de ar comprimido e armazenados a vácuo, em tubos de ensaio à temperatura de 4 °C. Os esporos foram suspensos em água contendo Tween 20, na concentração de 10^5 esporos mL^{-1} e então aspergidos sobre plântulas com a primeira folha completamente expandida (sete dias após a semeadura) dos 25 genes Pcs empregados no trabalho (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, Pc 64, Pc 14, Pc 35, Pc 36, Pc 53, Pc 55, Pc 57, Pc 60, Pc 61 e Pc 63). No estudo foram utilizadas plântulas que continham 25 genes diferentes de resistência ao patógeno, e dessa forma, foram acessados 25 loci distintos de resistência. Antes da inoculação, as plântulas foram aspergidas com água contendo Tween 20 na concentração de $10 \mu\text{L}$ 100 mL^{-1} e após a inoculação, mantidas em câmara úmida, no escuro, por 12 horas à temperatura constante de 22 °C e umidade de 95%. Após esse período, as plântulas foram transferidas para casa de vegetação com condições semicontroladas.

Quinze dias após a inoculação dos Pcs foi efetuada a avaliação dos resultados, a distinção entre alto e baixo tipo de infecção utilizando-se o critério descrito por CHONG et al. (2000). Foi empregada uma escala quantitativa composta de notas variando de 0 a 4, em que: (0) = ausência 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 nota (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). Verificou-se em cada isolado um padrão próprio de alto e baixo tipo de infecção (virulência/avirulência) para os Pcs utilizados.

Os padrões de virulência/avirulência dos isolados para cada um dos Pcs estudados foram transformados para uma escala binária em que: 1 = alto tipo de infecção/virulência e 0 = baixo tipo de infecção/avirulência. Para a mensuração da diversidade genética foi empregada a função de Shannon-Wiever: $H' = -\sum P_i \log_2(P_i)$, onde P_i se refere à frequência da classe i (virulência ou avirulência ao gene i), segundo método proposto por LEWONTIN (1972). Esse método foi empregado por ser apropriado para a análise de dados binários (presença x ausência de virulência), conforme os obtidos no presente trabalho.

Metodologia semelhante foi empregada por Manisterski et al. (2000) em um estudo com populações do fungo *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* Eriks & Henn de Israel.

Primeiramente, foram estimados os índices de diversidade dentro das populações: a) H_0 (diversidade genética de cada gene em cada população) com base nas frequências de virulência/avirulência de cada gene em cada população; b) H_{pop} (diversidade genética média de cada gene nas quatro populações) através da média aritmética dos H_0 de cada gene nas quatro populações e c) \bar{H}_{pop} (diversidade genética dentro das populações) através da média aritmética dos H_{pop} de todos os genes estudados. Posteriormente, foram estimados os índices de diversidade entre as populações: a) $H_{\text{espécie}}$ (diversidade genética de cada gene nas quatro populações) com base na frequência de virulência/avirulência de cada gene nas quatro populações e b) $\bar{H}_{\text{espécie}}$ (diversidade genética total) através da média aritmética dos $H_{\text{espécie}}$ de todos os genes estudados. Em seguida, foi calculada a proporção da diversidade genética presente dentro das populações em cada gene ($H_{\text{pop}}/H_{\text{espécie}}$) e em todos os genes ($\bar{H}_{\text{pop}} / \bar{H}_{\text{espécie}}$), bem como a proporção da diversidade genética presente entre as populações em cada gene ($(H_{\text{espécie}} - H_{\text{pop}})/H_{\text{espécie}}$) e em todos ($(\bar{H}_{\text{espécie}} - \bar{H}_{\text{pop}})/\bar{H}_{\text{espécie}}$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inoculação dos 46 isolados sobre os 25 genes Pcs resultou em um total de 1150 inoculações, das quais 764 (66%) revelaram reação de virulência e 386 (34%) reação de avirulência, o que evidenciou a grande capacidade de virulência dos isolados estudados (Tabela 2). Resultado semelhante a este havia sido reportado por LEONARD et al. (2004) que estudou isolados israelenses do fungo. Todas as populações evidenciaram elevada frequência de indivíduos virulentos aos Pcs testados, e a população com a maior frequência de isolados virulentos foi a CL (70%), seguida por EL (67%) e PF (62%).

Dentre os genes Pcs somente o Pc 40 e o Pc 45, não foram efetivos contra nenhum isolado (Tabela 2). Entretanto, MARTINELLI et al. (1998), avaliando 53 isolados coletados na mesma região do Brasil reportaram que 15% dos isolados foram avirulentos ao gene Pc 40 e que 8% ao gene Pc 45, o que pode ser um indicativo que estes genes mesmo não tendo sido efetivos na diferenciação dos isolados coletados no presente trabalho possam apresentar importância quando da realização de futuras coletas. JOHNSTON et al. (2000), relataram que entre isolados coletados nas

Ilhas da Califórnia, o Pc 45 também não foi efetivo a nenhum isolado e o Pc 40 foi efetivo em 75% das inoculações, confirmando o que diz respeito ao Pc 40, que os isolados coletados nas Ilhas da Califórnia são muito diferentes dos coletados no sul do Brasil. Além do Pc 40 e Pc 45, não foram efetivos na população EL, Pc 64, Pc 36, Pc 57, Pc 60 e Pc 61, na população CL, Pc 46, Pc 51 e Pc 61 e na população PF, Pc 46, sendo indicativo da existência de diferenças genéticas entre os isolados coletados nos três locais.

O único gene que foi efetivo a todos os isolados coletados nas três populações foi Pc 68 (Tabela 2). Esse gene é reconhecido internacionalmente como um dos mais efetivos contra o patógeno (MARTINELLI et al., 1998, CHONG, 2000; JOHNSTON et al., 2000). Muito 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, uma vez que os isolados estudados foram coletados no EBCRA, onde nenhuma das cultivares tem esse gene. Caso se observe em algum isolado o Pc 68, ele terá um gene

desnecessário para a virulência e dessa forma, uma desvantagem competitiva em relação aos que não tenham o gene (VANDERPLANK, 1963). Assim, um possível isolado com esse gene desnecessário, a virulência tenderá a ocorrer em menor frequência, 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 levantam a hipótese de tal gene constituir-se em uma fonte potencial de resistência ao patógeno. Porém, deverá ser testado sob cultivo em grandes áreas por um período de tempo suficientemente grande, para que seja possível comprovar a hipótese de sua durabilidade. Além do Pc 68, os genes Pc 50 e Pc 52, foram efetivos contra todos os isolados na população PF, contudo, em nenhuma das outras populações algum gene além do Pc 68 foi efetivo contra todos os isolados (Tabela 3). De maneira geral, além do Pc 68, destacaram-se, em função de sua elevada efetividade Pc 50, Pc 52, Pc 62, Pc 38 e Pc 63 (Tabela 2). Nesses genes em combinação com o Pc 68, entre si ou isoladamente, pode-se observar elevado potencial de controle da ferrugem da folha da aveia.

Tabela 2. Número e percentual de isolados de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led virulentos (vir) e avirulentos (avir) aos 25 genes (Pcs) estudados, nas populações Capão do Leão (CL), Passo Fundo (PF) e Eldorado do Sul (EL). FAEM/UFPEL, 2005

Pcs	População (EL)		População (CL)		População (PF)	
	Número e % de vir	Número e % de avir	Número e % de vir	Número e % de avir	Número e % de vir	Número e % de avir
40	15 (100)	0 (0)	16 (100)	0 (0)	15 (100)	0 (0)
45	15 (100)	0 (0)	16 (100)	0 (0)	15 (100)	0 (0)
46	14 (93)	1 (7)	16 (100)	0 (0)	15 (100)	0 (0)
50	0 (0)	15 (100)	2 (13)	14 (88)	0 (0)	15 (100)
38	1 (7)	14 (93)	6 (38)	10 (63)	5 (33)	10 (67)
39	8 (53)	7 (47)	11 (69)	5 (31)	6 (40)	9 (60)
48	10 (67)	5 (33)	7 (44)	9 (56)	3 (20)	12 (80)
68	0 (0)	15 (100)	0 (0)	16 (100)	0 (0)	15 (100)
51	15 (100)	0 (0)	16 (100)	0 (0)	13 (87)	2 (13)
52	11 (73)	4 (27)	6 (38)	10 (63)	0 (0)	15 (100)
58	13 (87)	2 (13)	11 (69)	5 (31)	14 (93)	1 (7)
59	14 (93)	1 (7)	9 (56)	7 (44)	12 (80)	3 (20)
54	9 (60)	6 (40)	14 (88)	2 (13)	8 (53)	7 (47)
56	14 (93)	1 (7)	12 (75)	4 (25)	9 (60)	6 (40)
62	1 (7)	14 (93)	1 (6)	15 (94)	1 (7)	14 (93)
64	15 (100)	0 (0)	14 (88)	2 (13)	14 (93)	1 (7)
14	14 (93)	1 (7)	14 (88)	2 (13)	12 (80)	3 (20)
35	14 (93)	1 (7)	13 (81)	3 (19)	14 (93)	1 (7)
36	15 (100)	0 (0)	13 (81)	3 (19)	11 (73)	4 (27)
53	11 (73)	4 (27)	5 (31)	11 (69)	11 (73)	4 (27)
55	11 (73)	4 (27)	13 (81)	3 (19)	9 (60)	6 (40)
57	15 (100)	0 (0)	15 (94)	1 (6)	14 (93)	1 (7)
60	15 (100)	0 (0)	14 (88)	2 (13)	12 (80)	3 (20)
61	15 (100)	0 (0)	16 (100)	0 (0)	13 (87)	2 (13)
63	1 (7)	14 (93)	6 (38)	10 (63)	6 (40)	9 (60)
Total	266 (70)	109 (30)	266 (67)	134 (33)	232 (62)	143 (38)

Os valores da diversidade genética dos Pcs nas três populações (H_0) variaram de um valor mínimo de 0,00 até o valor máximo de 1,00, nos Pcs polimórficos entre as populações (Tabela 3). Em 35% desses, os valores de H_0 foram de grande magnitude (superiores a 0,8), evidenciando a existência de razoável diversidade fenotípica nas populações estudadas. Ou seja, para esses, as freqüências de indivíduos virulentos e avirulentos estiveram muito próximas. Dentre os genes Pcs que evidenciaram elevados valores de H_0 , destacaram-se Pc 39 na população EL e Pc 54 na população PF, ambos com 53% de isolados virulentos e 47% de isolados avirulentos (Tabela 2), permitindo a hipótese de que a resistência vertical não é boa alternativa para o controle genético da ferrugem da folha da aveia. Assim,

vem sendo sugerida a utilização da resistência quantitativa (determinada por genes menores) a qual não impõem sobre a população do patógeno uma pressão de seleção tão intensa, quanto à resistência qualitativa, no que diz respeito à virulência (CHAVES et al., 2004).

Os resultados obtidos quanto à diversidade fenotípica de cada Pc dentro das populações (H_{pop}), calculado a partir da média da diversidade fenotípica de cada Pc nas três populações, variaram de um mínimo de 0,12 ao valor máximo de 0,95 nos genes com polimorfismo entre as populações. Entretanto, o H_{pop} foi elevado para poucos genes, sendo igual ou superior a 0,8 em apenas 23% dos Pcs que expressaram polimorfismo entre as populações (Tabela 3).

Tabela 3. Estimativa dos parâmetros H_0 (diversidade genética de cada gene *Pc* em cada população), H_{pop} (diversidade genética média de cada gene *Pc* nas três populações), $H_{espécie}$ (diversidade genética de cada gene *Pc* nas três populações), $H_{pop}/H_{espécie}$ (proporção da diversidade genética presente dentro das populações em cada gene *Pc*), $(H_{espécie} - H_{pop})/H_{espécie}$ (proporção da diversidade genética presente entre as populações em cada gene *Pc*). FAEM/UFPEL, 2005

Genes <i>Pcs</i>	H_0			H_{pop}	$H_{espécie}$	$H_{pop}/H_{espécie}$	$(H_{espécie} - H_{pop})/H_{espécie}$
	POP(EL)	POP (CL)	POP (PF)				
40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
45	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
46	0,35	0,00	0,00	0,12	0,15	0,78	0,22
50	0,00	0,54	0,00	0,18	0,26	0,70	0,30
38	0,35	0,95	0,92	0,74	0,83	0,90	0,10
39	1,00	0,90	0,97	0,95	0,99	0,96	0,04
48	0,92	0,99	0,72	0,88	0,99	0,89	0,11
68	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
51	0,00	0,00	0,57	0,19	0,26	0,73	0,27
52	0,84	0,95	0,00	0,60	0,95	0,63	0,37
58	0,57	0,90	0,35	0,61	0,67	0,91	0,09
59	0,35	0,99	0,72	0,69	0,79	0,87	0,13
54	0,97	0,54	1,00	0,84	0,91	0,92	0,08
56	0,35	0,81	0,97	0,71	0,79	0,90	0,10
62	0,35	0,34	0,35	0,35	0,35	1,00	0,00
64	0,00	0,54	0,35	0,30	0,35	0,86	0,14
14	0,35	0,54	0,72	0,54	0,56	0,97	0,03
35	0,35	0,70	0,35	0,47	0,50	0,94	0,06
36	0,00	0,70	0,84	0,51	0,62	0,83	0,17
53	0,84	0,90	0,84	0,86	0,98	0,88	0,12
55	0,84	0,70	0,97	0,83	0,86	0,97	0,03
57	0,00	0,34	0,35	0,23	0,26	0,89	0,11
60	0,00	0,54	0,72	0,42	0,50	0,85	0,15
61	0,00	0,00	0,57	0,19	0,26	0,73	0,27
63	0,35	0,95	0,97	0,76	0,86	0,88	0,12

EL: Eldorado do Sul. CL: Capão do Leão. PF: Passo Fundo.

A diversidade genética total de cada gene ($H_{\text{espécie}}$) variou de um valor mínimo de 0,15 ao valor máximo de 0,99, e em 36% dos genes Pcs que foram polimórficos entre as populações, os valores foram superiores a 0,80, evidenciando que quando são consideradas as três populações de forma conjunta, a diversidade fenotípica é mediana. Na população de *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led do Rio Grande do Sul, observa-se considerável diversidade fenotípica para os Pcs empregados no trabalho, e o fato de tal diversidade não ser mais elevada, é reflexo da alta capacidade de virulência do fungo, para a maioria dos genes estudados.

A análise individual de cada um dos genes Pcs polimórficos evidenciou que a maior parte da diversidade genética está contida dentro das populações, ou seja, em 77%, menos de 20% da diversidade fenotípica está presente entre as três populações do fungo estudadas (Tabela 3). Os genes com maior diversidade fenotípica entre as populações ($H_{\text{espécie}} - H_{\text{pop}} / H_{\text{espécie}}$) foram os Pc 50 e Pc 52. Além dos genes citados acima, também revelaram polimorfismo em uma (s) população (ões) e não em outra (s), os Pc 46, Pc 51, Pc 64, Pc 36, Pc 57, Pc 60 e Pc 61. Genes monomórficos para determinadas populações e polimórficos para outras, como os citados anteriormente, poderão constituir um grupo de genes com potencial para distinção, das populações brasileiras do fungo. Como exemplo, podem ser citados os genes: Pc 50, com isolados virulentos somente na população CL, Pc 51 e Pc 61, com isolados avirulentos apenas na população PF e o gene Pc 46 com isolados avirulentos unicamente na população EL. Esse cenário é interessante, uma vez que todos os isolados foram coletados no Ensaio Brasileiro de Cultivares de Aveia, constituído pelos mesmos genótipos nos três locais. Entretanto, os resultados não permitem que se conclua com exatidão a respeito da existência ou não de diferenças genéticas entre as populações do fungo ou se esse se deveu a problemas de amostragem.

Na tabela 4, estão incluídos os índices médios de diversidade, quando foram considerados todos os 25 genes Pcs simultaneamente. O valor da diversidade genética total foi $\bar{H}_{\text{espécie}}$ mediano (0,55) estando razoavelmente próximo do valor estimado para a diversidade genética dentro das populações (\bar{H}_{pop}) de 0,48, evidenciando que as populações do fungo têm índices medianos de diversidade fenotípica, a maior parte desta diversidade está mantida dentro das populações (87%) e pouco da diversidade genética está presente entre as populações, uma vez que somente 13% da variação total está distribuída entre

as populações estudadas (Tabela 4). Esse fato pode ser explicado por se observar no fungo elevada mobilidade via vento e todos os isolados terem sido coletados sob o mesmo experimento (EBCRA).

Tabela 4. Estimativa da diversidade genética dentro das populações (\bar{H}_{pop}), diversidade genética total ($\bar{H}_{\text{espécie}}$), proporção da diversidade genética presente dentro das populações ($\bar{H}_{\text{pop}} / \bar{H}_{\text{espécie}}$) e da proporção da diversidade genética presente entre as populações [$(\bar{H}_{\text{espécie}} - \bar{H}_{\text{pop}}) / \bar{H}_{\text{espécie}}$]. FAEM/UFPEL, 2005

Parâmetros	Estimativas
\bar{H}_{pop}	0,48
$\bar{H}_{\text{espécie}}$	0,55
$\bar{H}_{\text{pop}} / \bar{H}_{\text{espécie}}$	0,87
$(\bar{H}_{\text{espécie}} - \bar{H}_{\text{pop}}) / \bar{H}_{\text{espécie}}$	0,13

Do ponto de vista do melhoramento genético, os resultados sugerem um cenário de inexistência quase que total de estruturação entre as populações do fungo avaliadas. No Estado do Rio Grande do Sul, praticamente, não existem diferenças nas frequências dos genes de virulência nos isolados das populações CL, EL e PF para o conjunto de genes de resistência à ferrugem da folha estudados, permitindo a adoção de estratégia única de controle da moléstia nos três locais. Tal resultado era esperado, em função da inexistência de barreiras físicas e temporais que pudessem impedir a mobilidade dos esporos do fungo entre os locais estudados, a grande capacidade de mobilidade do fungo (BROWN e HOVMOLLER, 2002) e ao fato dos isolados, nos três locais, terem sido coletados sobre genótipos do Ensaio Brasileiro de Cultivares Recomendados de Aveia.

4. CONCLUSÕES

1. Apesar de os isolados sul-brasileiros evidenciarem uma elevada variabilidade em virulência, em suas populações observa-se uma diversidade genética moderada, principalmente em função da elevada virulência dos isolados.

2. Praticamente, não existem diferenças nas frequências dos genes de virulência nos isolados coletados em Capão do Leão, Eldorado do Sul e Passo Fundo, ou seja, não há estruturação entre as populações, o que permite a adoção de uma estratégia única de controle da moléstia nos três locais.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPERGS, ao CNPq e à CAPES pelos auxílios recebidos e bolsas de pós-graduação e produtividade em pesquisa. Agradecem também à Embrapa Trigo, de Passo Fundo, por ter permitido e assim viabilizado a realização do trabalho em suas dependências.

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.
- BRAKE, V.M.; IRWIN, J.A.G.; PARK, R.F. Genetic variability in Australian isolates of *Puccinia coronata* f. sp. avenae assessed with molecular and pathogenicity markers. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, v.30, n.3, p.259-266, 2001.
- 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, 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, v.36, n.1, p.43-52, 2001.
- CHAVES, M.S.; MARTINELLI, J.A.; FEDERIZZI, L.C. Resistência quantitativa à ferrugem da folha em genótipos de aveia branca: I - Caracterização da reação em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, p.39-46, 2004.
- 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.; 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.
- CHONG, J.; SEAMAN, W.L. Incidence and virulence of *Puccinia coronata* f. sp. avenae in Canada in 1993. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Guelph, v.16, n.4, p.335-340, 1994.
- 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.
- HOLLAND, J.B.; MUNKVOLD, G.P. Genetic relationships of crown 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.
- 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.
- LEWONTIN, R.C. The apportionment of human diversity. **Evolutionary Biology**, New York, v.6, n.1, p.381-398, 1972.
- 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.
- MANISTERSKI, J.; EYAL, Z.; BEN-YEHUDA, P.; KOSMAN, E. Comparative analysis of indices in the study of virulence diversity between and within populations of *Puccinia recondita* f. sp. Tritici in Israel. **Phytopathology**, Saint Paul, v.90, n.6, 601-607, 2000.
- 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**, Jaguariuna, v.20, n.1, p.116-118, 1994.
- 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 Agrônomo do Paraná, 1998. p.17-19.
- MCDONALD, B.A.; LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, Dordrecht, v.124, n.2, p.163-180, 2002.
- MCDONALD, B.A.; PETTWAY, R.E.; CHEN, R.S.; BOEGER, J.M.; MARTINEZ, J.P. The population genetics of *Septoria tritici* (telomorph *Micosphaerella graminicola*). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.73, n.1, p.292-301, 1995.
- ROSEWICH, U.L.; PETTWAY, R.E.; MCDONALD, B.A.; DUNCAN, R.R.; FREDERIKSEN, R.A. Genetic structure and temporal dynamics of a *Colletotrichum graminicola* population in a sorghum disease nursery. **Phytopathology**, Saint Paul, v.88, n.10, p.1087-1093, 1998.
- ROSEWICH, U.L.; PETTWAY, R.E.; MCDONALD, B.A.; KISTLER, H.C. High levels of gene flow and heterozygote excess characterizes *Rhizoctonia solani* AG-1 1A (Thanatephorus cucumeris) from Texas. **Fungal Genetics and Biology**, San Diego, v.28, n.3, p.148-159, 1999.

SIMONS, M. D. Crown rust. In: ROELFS, A.P.; BUSHOLL, W.R. (Ed.). **The cereal rusts: Diseases, distribution, epidemiology, and control.** Orlando: Academic Press., 1985. Vol. II. p.132-172.

SIMONS, M.D.; MURPHY, H.C. Oat diseases. In: COFFMAN, A.A. (Ed.). **Oats and oat improvement.** Madison: American Society of Agronomy, 1961. p.330-390.

VANDERPLANK, J.E. : epidemics and control. New York: Academic Press, 1963. 349p.