Procedimiento y escala de evaluación de la roya naranja (*Puccinia kuehnii*), en plantaciones de caña de azúcar en Cuba

Osmany de la C. Aday-Díaz[1]*, Joaquín Montalván-Delgado[2], Javier Delgado-Padrón[3], Yaquelin Puchades-Izaguirre[4] y Eida Luisa Rodríguez-Lema[5]

1. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA-Villa Clara). Autopista Nacional, Km 246, Ranchuelo. Villa Clara, Cuba.
2. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA-Camagüey). Circunvalación Agramonte. Florida. Camagüey, Cuba.
3. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA-Mayabeque). Km 7 ½, Carretera Güiro Marrero, Quivicán. Mayabeque, Cuba .
4. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA-Santiago de Cuba). Carretera Central, Km 2 ½. Palma Soriano, Santiago de Cuba, Cuba.
5. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA). Carretera Cujae, Km. 1½, Boyeros. La Habana, Cuba

*eida@inica.azcuba.cu

RESUMEN

La roya naranja de la caña de azúcar [*Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E. J. Butler], posee un alto potencial para dañar este cultivo. La reacción de los cultivares ante esta enfermedad, puede evaluarse con una escala de clasificación que estima la severidad de los síntomas sobre la base de las observaciones visuales. El objetivo de este trabajo es elaborar el procedimiento metodológico y una escala para evaluar la roya naranja en las áreas de semilla y en plantaciones comerciales de caña de azúcar en Cuba. El progreso de la enfermedad se evaluó en 39 cultivares y en dos ciclos de plantación; se determinó porcentaje de infección y severidad. Para comparar el progreso de las enfermedades roya naranja y roya parda se plantaron dos experimentos, con tres cultivares de caña de azúcar (B4362 y C323-68, susceptibles a la roya parda y C01-227 susceptible a la roya naranja). La mayor severidad de la enfermedad se observó en las plantaciones que se realizaron en ciclo frío, de 90 a 150 días después de la plantación, de diciembre a febrero. En las plantaciones en ciclo de primavera, la mayor severidad se observó de 180 a 210 días, después de la plantación. La tendencia de la curva de progreso de roya naranja fue similar a la de roya parda. La evaluación de la roya naranja se debe realizar de noviembre a marzo y con los datos del área foliar afectada (porcentaje) determinar la severidad para, finalmente, aplicar la escala de categorización propuesta en este trabajo.

Palabras clave: enfermedad; infección; metodología; severidad.

ABSTRACT

The reaction of the cultivars to orange rust disease, it can be evaluated with a classification scale that estimates the severity of the symptoms based on visual observations. The objective of this work was to elaborate the methodological procedure and a scale to evaluate the orange rust in the seed areas and in commercial sugarcane plantations in Cuba. The progress of the disease was evaluated in 39 cultivars and two planting cycles, infection percentage and severity were determined. To compare the progress of orange and brown rusts, two experiments were planted with three sugarcane cultivars (B4362 and C323-68 susceptible to brown rust and C01-227 susceptible to orange rust).The greatest severity of the disease was observed in the plantations that were carried out in a cold cycle, from 90 to 150 days after planting, from December to February. In plantations in the spring cycle, the highest severity was observed from 180 to 210 days after planting. The trend of the orange rust progress curve was similar to that of brown rust. The evaluation of orange rust should be carried out from November to March and with the data of the affected leaf area (%), determine the severity to finally apply the categorization scale proposed in this work.

Key words: disease; infection; methodology; severity.

INTRODUCCIÓN

La roya naranja de la caña de azúcar [*Puccinia kuehnii* (W. Krüger) E. J. Butler] es una enfermedad con un alto potencial para dañar a este cultivo, de 10 a 50 % en el rendimiento agrícola (1). Su distribución en el mundo se ha incrementado notablemente, en los últimos 15 años. Hasta 2018 se informaba en 43 países (2), posteriores informes documentaron su presencia en Mauricio y Reunión (3, 4). En Cuba la *P. kuehnii* está distribuida en todas las provincias y asciende a 30 el número de cultivares comerciales infectados (5), algunos de los principales cultivares comerciales son susceptibles y confirman el peligro potencial de esta enfermedad (6).

El uso de cultivares resistentes se considera el método más efectivo para el control de enfermedades de las plantas, ya que es aplicable en grandes áreas y no causa impactos ambientales significativos (7). Para la roya naranja se ha propuesto el marcador G1, como fuente de resistencia (8); sin embargo, su aplicabilidad dentro de los cultivares brasileños ha sido variable, con una proporción de cultivares resistentes del 52.9 % sin el marcador (9) a 71.43 % (10). Por lo tanto, todavía falta evidencia sobre si la resistencia a la enfermedad es causada por unos pocos genes principales o muchos genes de efectos pequeños, lo que sugiere la presencia de genes diferentes y desconocidos que confieren resistencia. La sobrexpresión tardía de vías reguladoras específicas también sugiere la posibilidad de un sistema de reconocimiento ineficiente por parte de los genotipos susceptibles a *P. kuehnii* (11).

Para evaluar la roya naranja, en otros países se han desarrollado diferentes procedimientos metodológicos. En India: se aplica una escala de seis grados, utilizada anteriormente para la roya parda (*Puccinia melanocephala H.* y *P. Sydow*), basada en la estimación del área foliar afectada por la enfermedad (porcentaje) sobre la hoja +3 (tercera hoja con cuello visible) y determinación del índice de severidad de la enfermedad (12). En Brasil, la escala de nueve grados que también evalúa la hoja +3 (13). En Costa Rica se aplica una escala de cinco grados a la hoja +3 (14). En Australia y Guatemala se utiliza la estimación del porcentaje de área afectada de la hoja +7 y la escala propuesta por Purdy y Dean para la roya parda (1, 15).

Esos mismos procedimientos y escala de evaluación utilizados para la roya parda se han implementado en otros países. La reacción de los cultivares, frente a ambas royas, suele evaluarse con una escala de calificación que estima la severidad de los síntomas en función de la estimación visual, ya sea en toda la planta o en una hoja específica. El objetivo de este trabajo fue elaborar el procedimiento metodológico y una escala para evaluar la roya naranja en áreas de semilla y en plantaciones comerciales en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar el progreso de la enfermedad de la roya naranja, en dos ciclos de plantación de caña de azúcar, se sembraron dos experimentos, uno en el ciclo de primavera (25 de mayo de 2016) y otro en el ciclo frío (16 de septiembre de 2016), treinta y nueve (39) cultivares de caña de azúcar (B52107, B7274, B78505, B80250, C1051-73, C120-78, C132-81, C137-81, C323-68, C334-64, C85-102, C86-12, C86 -156, C86-503, C86-56, C87-264, C87-51, C88-380, C89-147, C89-148, C89-176, C90-317, C90-469, C95-414, Co213, Co997 , CP52-43, CP72-2086, CSG24-92, CSG398-92, CSR81-86, Ja64-11, Q124, Q68, SP70-1284, C01-227).

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar, con tres repeticiones. Cada cultivar se plantó en parcelas de dos surcos de 6 m de largo, con doble esqueje, de tres yemas, a 1.60 m de espacio entre surcos. Como fuente de inóculo natural para la infección por *P. kuehnii*, se plantó el cultivar C01-227 (susceptible a la roya naranja) en surcos de borde del experimento y cada dos cultivares en evaluación.

Las evaluaciones se realizaron desde los tres hasta los siete meses después de la plantación. Para diferenciar los síntomas de la roya naranja de los de la roya parda se usó una la lupa de bolsillo de 20 × en el campo y para las identificaciones positivas de los síntomas no concluyentes se observó la morfología de las esporas bajo un microscopio, en el laboratorio. De cada parcela se tomó la hoja +3 (tercera hoja con cuello visible) de 10 tallos, al azar y se estimó el porcentaje de Área foliar afectada por la roya naranja (AFA %) con auxilio de la escala de cinco grados de Alfonso et al. (16), con los siguientes niveles de severidad: 1 (hasta el 5 %), 2 (hasta el 15 %), 3 (hasta el 25 %), 4 (hasta el 50 %), 5 (más del 50 %). El Porcentaje de infección y severidad de la enfermedad se determinaron mediante las ecuaciones 1 y 2, según Townsend y Heuberger (17):

$$Porcentaje\ de\ infección = \frac{Numero\ de\ tallos\ infectados}{Total\ de\ tallos\ evaluados}\ x\ 100 \qquad \text{(Ec.1)}$$

$$Severidad = \left(\frac{\sum n * v}{i * N}\right) * 100 \qquad \text{(Ec.2)}$$

Dónde:
n: número de tallos infectados por cada grado de la enfermedad
v: grado de escala
i: mayor grado de escala
N: muestras totales

Con la información obtenida de ambos experimentos se determinó la curva media de la severidad de la enfermedad y su línea de tendencia, así como la ecuación polinomial de orden dos que representa el mayor ajuste para la modelación. Para comparar el progreso de las enfermedades roya naranja y roya parda se plantaron dos experimentos de campo, con tres cultivares de caña de azúcar: B4362, altamente susceptible a la roya parda; C323-68 susceptible a la roya parda y C01-227 susceptible a la roya naranja. Se plantó un experimento en septiembre de 2017 y otro en abril de 2018. Cada uno de ellos consistió en una parcela experimental de tres surcos, de 6 m de largo, para cada cultivar, bordeados por dos surcos plantados con el cultivar C86-12 de resistencia intermedia a ambas royas. Para la plantación se utilizaron dos: con doble esqueje de tres yemas, a 1.60 m de espacio entre surcos.

Las evaluaciones se realizaron con el procedimiento descrito anteriormente, desde los tres hasta los siete meses después de la plantación. De cada hilera se tomó la hoja +3 (tercera hoja con cuello visible) de 10 tallos al azar y se estimó el porcentaje de Área foliar afectada (AFA %) por la roya naranja y se utilizó la escala de cinco grados de Alfonso *et al.* (17) modificada. La severidad de la enfermedad se determinó mediante la fórmula propuesta por Townsend y Heuberger (12).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento plantado en ciclo de primavera (25 de mayo de 2016) 18 de los 20 cultivares evaluados se infectaron con *P. kuehnii*, CP52-43 y C87-51 no presentaron infección por este patógeno (Tabla 1), pero estos sí se infectaron en el experimento plantado en ciclo frío (16 de septiembre de 2016) (Tabla 2). La mayor severidad de la enfermedad se observó en el cultivar CSG398-92 en el mes de diciembre. En ambos experimentos el porcentaje de infección superó el 75 %, aunque el porcentaje de Área foliar afectada (AFA %) se mantuvo en el rango medio, entre 1 y 9 %, con excepción de CSG398-92.

Tabla 1. Porcentaje de Área Foliar Afectada, Porcentaje de Infección y Severidad de la roya naranja en cultivares infectados en el experimento plantado en el ciclo de primavera, según los valores máximos de estas variables en el mes y edad en que se presentaron los síntomas de la enfermedad

Cultivares	Mes	Edad	AFA (%)	PI (%)	Severidad
CP72-2086	Noviembre	6 meses	1.00	75	15
C87-264	Noviembre	6 meses	2.25	80	16
Clon218-211	Diciembre	7 meses	1.40	100	20
CSG90-270	Diciembre	7 meses	1.80	100	20
B7274	Noviembre	6 meses	1.00	100	20
Co213	Noviembre	6 meses	1.80	100	20
CSG24-92	Noviembre	6 meses	4.20	100	20
C334-64	Noviembre	6 meses	1.80	100	20
C86-12	Noviembre	6 meses	1.00	100	20
Ja64-11	Noviembre	6 meses	3.10	100	22
B52107	Noviembre	6 meses	4.50	100	22
Q124	Noviembre	6 meses	3.88	90	22
C90-317	Noviembre	6 meses	3.20	100	22
C01-227	Noviembre	6 meses	5.40	100	24
C95-414	Diciembre	7 meses	5.20	100	24
CSR81-86	Noviembre	6 meses	7.50	100	26
Q68	Diciembre	7 meses	9.00	100	28
CSG398-92	Diciembre	7 meses	18.50	100	47

Tabla 2. Porcentaje de Área Foliar Afectada, Porcentaje de Infección y Severidad de la roya naranja en cultivares infectados en el experimento plantado en ciclo frío, según los valores máximos de estas variables en el mes y edad en que se presentaron los síntomas de la enfermedad

Cultivares	Mes	Edad	AFA (%)	PI (%)	Severidad
CP52-43	Febrero	5 meses	1.00	100	20
B7274	Febrero	5 meses	1.40	100	20
C87-51	Enero	4 meses	3.40	100	20
Q124	Enero	4 meses	2.60	100	20
Q68	Enero	4 meses	3.20	100	22
Ja64-11	Febrero	5 meses	3.60	100	22
CSG24-92	Febrero	5 meses	2.70	100	22
CSR81-86	Febrero	5 meses	5.70	100	24
Clon218-211	Enero	4 meses	4.60	100	24
CSG90-270	Febrero	5 meses	5.30	100	24
Co213	Enero	4 meses	6.00	100	24
C87-264	Enero	4 meses	3.80	100	24
B52107	Febrero	5 meses	6.20	100	24
CP72-2086	Enero	4 meses	3.80	100	24
C95-414	Febrero	5 meses	5.80	100	26
C01-227	Enero	4 meses	13.00	100	36

De acuerdo con la severidad promedio observada en los cultivares evaluados, cuando la plantación se realizó en el mes de mayo, la mayor severidad de la enfermedad roya naranja se observó en los meses de noviembre y diciembre, de 180 a 210 días después de la plantación. Cuando la plantación se realizó en septiembre, la mayor severidad se observó en los meses de enero y febrero, de 120 a 150 días después de la plantación.

En las figuras 1 y 2 se presentan, junto con la curva media de progreso de la enfermedad, los valores de severidad en algunos de los cultivares evaluados. Se determinó la línea de tendencia, así como la ecuación polinomial de orden dos de mejor ajuste, esta representa la modelación del progreso de la roya naranja de acuerdo con la época de plantación. Esta tendencia indica que existe un aumento en la severidad, desde el inicio hasta el final de la temporada invernal en Cuba, principalmente de noviembre a febrero.

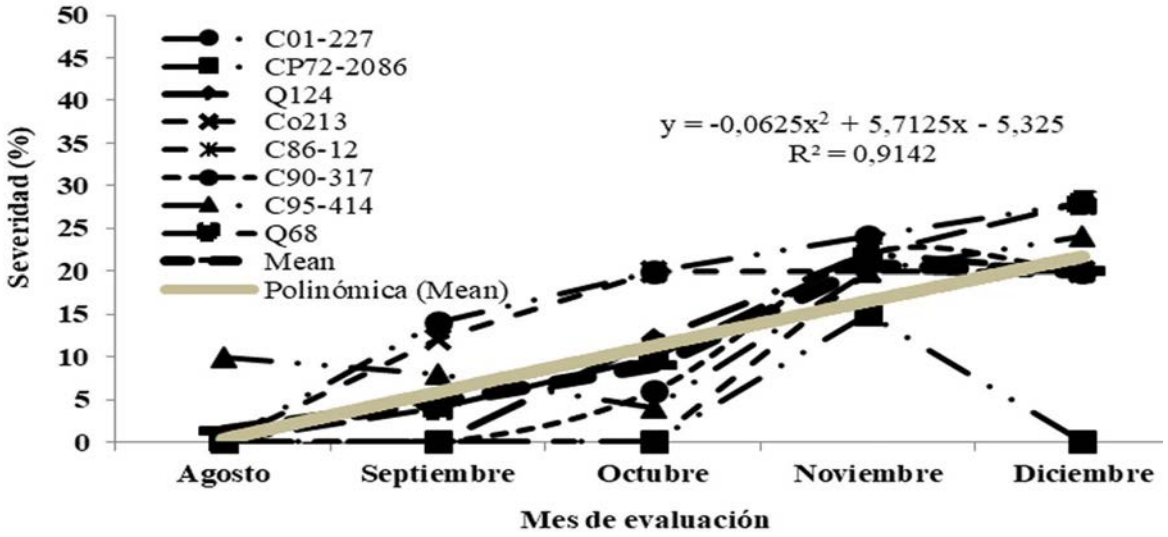

Figura 1. Curvas de progresión de la enfermedad de la roya naranja de los cultivares C01-227, CP72-2086, Q124, Co213, C86-12, C90-317, C95-414 y Q68 en el experimento plantado en el ciclo de primavera y línea de tendencia con la ecuación del polinomio de orden dos para un mejor ajuste.

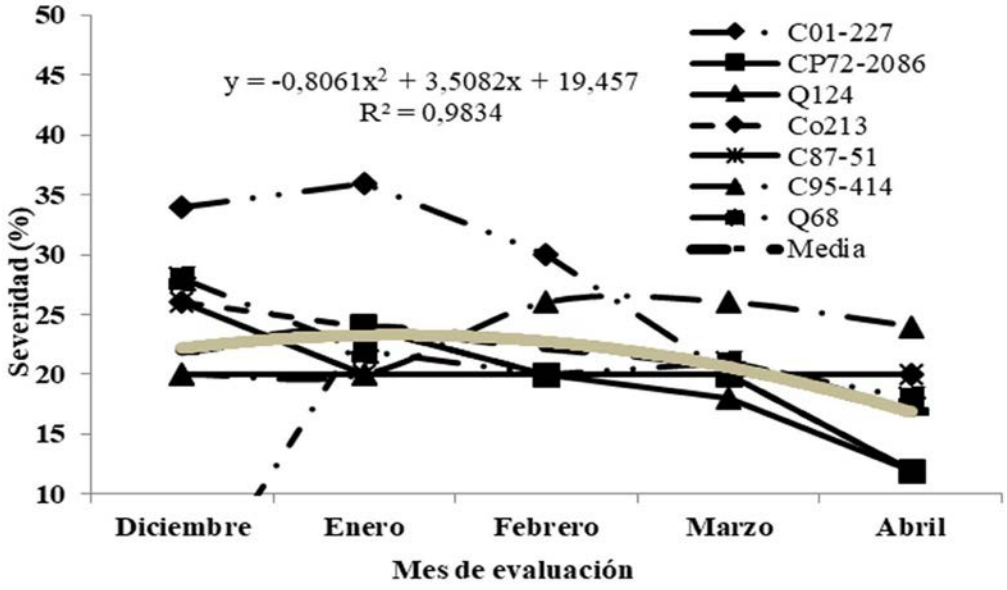

Figura 2. Avance de la enfermedad de la roya naranja de los cultivares C01-227, CP72-2086, Q124, Co213, C87-51, C95-414 y Q68 en el experimento plantado en el ciclo frío y línea de tendencia con la ecuación polinomial de orden dos para un mejor ajuste.

Las plantaciones que se realizaron en ciclo frío fueron más afectadas, no solo por la severidad de la enfermedad sino también porque esta fue mayor en el período de crecimiento de 90 a 150 días después de la plantación. Como consecuencia, se redujo el rendimiento de las plantas; debido a una disminución de la actividad fotosintética de las hojas y en el crecimiento que provoca la enfermedad según Zhao (18).

En Cuba las condiciones climáticas (temperatura y humedad relativa), favorecen el desarrollo de la roya parda y la roya naranja, principalmente de diciembre a abril, meses menos lluviosos, pero con temperaturas frescas, en un rango favorable para el desarrollo de la infección *de P. melanocephala y P. kuehnii.* La temperatura media ideal para el desarrollo de ambas royas es de 20 a 22.2 ºC (19).

La germinación de las uredosporas de *P. kuehnii* ocurre dentro de un rango de temperatura entre 17 y 34 ºC, óptimo de 18 ºC y humedad relativa del aire superior al 97 %. La temperatura de 25 °C es la más favorable para el desarrollo de la roya naranja y la resistencia expresada por los cultivares en condiciones naturales está en función de este factor (20, 21).

Las plantas con edades entre tres y seis meses muestran los mayores efectos de la roya parda en comparación con las plantaciones mayores de siete meses (22). En el caso de la roya naranja, en Guatemala, se observó que las infecciones se presentaban, con mayor severidad, a los cinco y seis meses de edad y que la presencia de síntomas se mantiene hasta los nueve meses (23). En Cuba, la infección por *P. kuehnii* se extiende de noviembre a julio, con una severidad máxima en enero, a los siete meses de edad (24).

Se determinó que los meses de plantación tienen una influencia muy similar en la manifestación de síntomas de la roya parda y naranja. En el experimento que se plantó en el mes de septiembre de 2017, la mayor afectación por ambas enfermedades se presentó en el mes de febrero. Cinco meses después de la plantación el porcentaje de Área foliar afectada (AFA %) para la roya parda en B4362 y C323-68, fue de 50 y 48 %, respectivamente y 32 % para la roya naranja en C01-227, además los valores de severidad fueron mayores en febrero (figuras 3 A-B). En el experimento plantado en el mes de abril de 2018 los valores de severidad fueron mayores en noviembre, a los siete meses de edad, el porcentaje de Área foliar afectada (AFA %) para la roya parda fue de 23 y 15 % en B4362 y C323-68, respectivamente, y de 15 % en C01-227 con la roya naranja (figura 3 B).

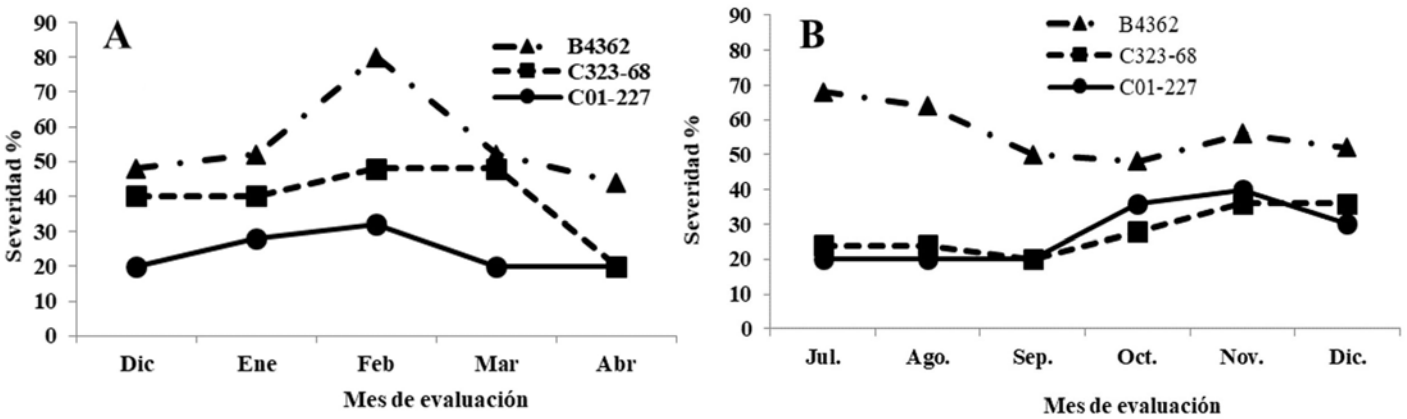

Figura 3. Severidad de las enfermedades roya parda en hoja +3 en parcelas de B4362 y C323-68 y roya naranja en C01-227. A: plantada en el mes de septiembre de 2017. B: plantada en el mes de abril de 2018.

La severidad de la roya naranja se incrementa con la edad de las plantas en las plantaciones que se realizaron de enero a abril. A diferencia de la roya parda, independientemente de la edad de las plantas, la severidad de la roya naranja puede incrementarse cuando existen condiciones climáticas que le son favorables (25). Situación similar se informa en Brasil y Argentina, donde la presencia y severidad de la roya naranja varía durante los meses del ciclo del cultivo de la caña de azúcar (26).

Los valores máximos de severidad anteriores se utilizaron para aplicar una segunda escala que se propone para establecer categorías de severidad de roya parda y naranja en plantaciones comerciales: cuando el valor de Severidad (S) es 0 la categoría es Ausente; S > 0.01 y < 20 % Ligera; S > 20.01 y < 40 % Media; S > 40.0 % Intensa. La aplicación de esta escala permitió categorizar la severidad de la roya parda como intensa en los cultivares B4362 y C323-68, mientras que la severidad de la roya naranja fue media en C01-227.

El uso de esta escala permitirá evaluar, fundamentalmente, el desarrollo de la roya naranja y categorizar los cultivares y las áreas de riesgo. Las diferencias en el comportamiento de *P. kuehnii* en Cuba, indican una expresión diferencial en la interacción hospedante-patógeno-ambiente y sugieren la necesidad de evaluar el desarrollo de la enfermedad en diferentes localidades del país, para conocer la estabilidad de los diferentes cultivares en tiempo y espacio (27). La reacción diferencial puede deberse a condiciones medioambientales (28) o a la presencia de diferentes tipos del patógeno, tal y como se ha demostrado en Brasil y en la Florida (Estados Unidos de Norteamérica) (29, 30).

CONCLUSIONES

En las condiciones de Cuba, la mayor severidad de la enfermedad se observa en las plantaciones que se realizan en el ciclo frío, de 90 a 150 días después de la siembra, de diciembre a febrero.

La tendencia de la curva de progreso de la roya naranja fue similar a la de la roya parda.

La evaluación de la roya naranja se debe realizar de noviembre a marzo y con los datos del porcentaje de Área foliar afectada (AFA %) determinar la severidad de la enfermedad para, finalmente, aplicar una escala de categorización de la severidad, de acuerdo con la propuesta de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Magarey RC, Croft BJ and Willcox T.G. (2021). An epidemic of orange rust on sugarcane in Australia. *Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists 23*: 410-416.
2. CABI (Invasive Species Compendium). (2018). *P. kuehnii*. Distribution Maps of Plant Diseases. https://www.cabi.org/isc/datasheet/45818).
3. Huber J, Fourrier-Jeandel C, Costet L, Hostachy B, Dupuy AS, Coddeville A, Barau L and Ioos R. (2019). First Report of Orange Rust caused by *Puccinia kuehnii* on sugarcane on the Island of Reunion. *Plant Disease 103(1)*: 2962. http://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0750-PDN.
4. Mungur H, Saumtally S, Joomun N and Dookun-Saumtally A. (2020). Presence of Sugarcane Orange Rust in Mauritius. *Sugar Tech* 22: 671–674. https://doi.org/10.1007/s12355-020-00818-x.
5. Aday-Díaz O, Rodríguez E, Montalván J, Martínez E y Alfonso I. (2018). Estado de dispersión e incidencia de la roya naranja de la caña de azúcar en Cuba. *Centro Agrícola 45*: 61-68. http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V45-Numero_2/cag09218.pdf
6. Aday O, Vicente LP, Oloriz MI, Rodríguez EL, Montalván J, Puchades Y, Delgado J, Martínez E. (2022). Vigilancia fitosanitaria y caracterización de la enfermedad roya naranja de la caña de azúcar en Cuba. *Anales de la Academia de Ciencias de Cuba 12(2)*: ISSN 2304-0106. RNPS 2308. 8p.
7. Camargo LEA (2011). Controle genético. In: Amorin L, Rezende JAM and Filho AB (Eds.), Manual de fitopathologia. 4 Ed. Piracicaba, Brasil, Agronõmica Ceres: 325-341.
8. Yang X, Islam MS, Sood S, Maya S, Hanson EA, Comstock J and Wang J. (2018). Identifying quantitative trait loci (QTLs) and developing diagnostic markers linked to orange rust resis-

tance in sugarcane (*Saccharum* spp.). *Frontiers in Plant Science 9*: 350. http://doi:10.3389/fpls.2018.00350.

9. Hoepers LML, Koch G, Silva MCC, Ruaro L, Calgario RF, Bespalhok Filho JC, Oliveira RA and da Silva Silveira Duarte H. (2020). Validation of the G1 molecular marker associated with resistance to orange rust in Brazilian sugarcane genotypes. *Sugar Tech 23*: 108-117. https://doi.org/10.1007/s12355-020-00896-x.
10. Fier Í, Balsalobre TWA, Chapola RG, Hoffmann HP and Carneiro MS. (2020). Field resistance and molecular detection of the orange rust resistance gene linked to G1 marker in Brazilian cultivars of sugarcane. *Summa Phytopathologica 46(2)*: 92-97. https://doi.org/10.1590/0100-5405/221803
11. Henrique F, Monteiro CB, Kenichi G, Pérez SG, Cicarelli M, Sampaio M, Aranha LE, Sidnei N., Rodrigues G. (2020). Time−series expression profiling of sugarcane leaves infected with *Puccinia kuehnii* reveals an ineffective defense system leading to susceptibility. *Plant Cell Reports* 39: 873–889. https://doi.org/10.1007/s00299-020-02536-w.
12. Nalwar SE. (2013). Epidemiology and management of sugarcane rust caused by *Puccinia melanocephala* H. and P. Syd. (Thesis of Master). Department of Plant Pathology College of Agriculture, Dharwad University of Agricultural Sciences, India.
13. Lima LL. (2013). Aspectos epidemiológicos da ferrugemalaranjada da cana-deaçúcar *(Puccinia kuehnii)*. Tese doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Brazil.
14. Liga Agrícola e Industrial de la Caña de Azúcar (LAICA). (2008). Resultados del estudio de la situación de la roya naranja (*Puccinia kuehnii*) en el cultivo de la caña de azúcar en los Cantones de Pérez Zeledón y Buenos Aires, Costa Rica. *Dirección de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar, Informe 21*: http://www.laica.co.cr.
15. Comstock JC, Ovalle W, Chavarría E, Glynn NC and Castlebury LA. (2015). La roya naranja de la caña de azúcar, una enfermedad emergente: su impacto y comparación con la roya marrón. *Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales, Vol. 5*: 12-26.
16. Alfonso I, Cornide MT, Sandoval J, Rodríguez I, Ojeda E y Vallina J. (2000). Sistema evaluativo de la resistencia a las principales enfermedades de la caña de azúcar en Cuba. Roya (*Puccinia melanocephala* Sydow & P. Sydow). *Cuba & Caña, número especial*: 33-42.
17. Townsend GR and Heuberger JV. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Report 24*: 340-343.
18. Zhao D, Glynn NC, Glaz B, Comstock JC and Sood S. (2011). Orange rust effects on leaf photosynthesis and related characters of sugarcane. *Plant Disease* 95(6): 640-647. http://doi.org/doi:10.1094/PDIS-10-10-0762.
19. Sanjel S, Chaulagain B, Small I, Comstock JC, Hincapie MA, Raid R, and Rott PC. (2019). Comparison of progress of brown rust and orange rust and conditions conducive for severe epidemic development during the sugarcane crop season in Florida. *Plant Disease 103(5)*: 825-831. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0862-RE.
20. Martins TD, Raid RN, Burnquist WL, Urashima AS, Filho AB and & Comstock J. (2010). Influence of temperature and leaf wetness duration on orange rust of sugarcane. Phytopathology 100: 78-79.
21. Minchio CA, Canteri MG, Rocha JA. (2011). Germinação de uredósporas de Puccinia kuehnii submetidos a diferentes temperaturas e tempos de incubação. Suma Phytopathologica 37: 211-214. https://doi.org/10.1590/S0100-*54052011000400010*.
22. Alfonso I. (1987). Bases fitopatológicas para el control de la roya de la caña de azúcar en Cuba. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto de Investigaciones de la Caña de Azúcar, La Habana, Cuba.

23. Ovalle W, Orozco H, Fong E and García S. (2010). The effect of orange rust *(Puccinia kuehnii)* on sugar yield in six sugarcane varieties in Guatemala. *Proceeding International Society Sugar Cane Technologists 27*: 9 p.
24. Aday-Díaz O, Alfonso I, González R, Díaz FR, Gil Y, Reyes S, y Barroso J. (2014). Severidad de la roya naranja en cultivares de caña de azúcar infectados en la provincia de Villa Clara. *Fitosanidad 18*: 143-150. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id.
25. Aday-Díaz O, Montalván J, Delgado J, Puchades Y, Rodríguez EL. (2021). Progreso de las enfermedades roya parda y roya naranja de la caña de azúcar en Cuba. *Centro Agrícola 48(3)*: 5-11, 2021.
26. Angelotti F, Morales CDC, Hamada E, Bisonard EM, Gonçalves RRV, Rago AM. (2022). Climate risk scenarios of orange rust for the sugarcane-producing regions of Argentina and Brazil. *Research, Society and Development 11(15)*: e428111536648. http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i15.36648.
27. Delgado J, Casero T, Rodríguez A, Pardo L, Alfonso I y Ferrer M. (2019). Reacción de cultivares de caña de azúcar ante *Puccinia kuehnii* durante siete años en Mayabeque. *Revista de Protección Vegetal* 34(3): 9p.
28. Sumida CH, Fantin LH, Gonçalves M, Canteri MG, Araújo KL, and Giglioti E A. (2019). A system to map the risk of infection by *Puccinia kuehnii* in Brazil. *Acta Scientiarum Agronomy* 41: e39905. https://doi.org/10.4025/actasciagron.v41i1.39905.
29. Urashima AS, Mistura TF, Rodrigues LN, Austin PD, Arias RS. (2020). Genetic diversity of *Puccinia kuehnii*, the causal agent of orange rust of sugarcane, from Brazil. *Journal of Phytopathology 168(10)*: 168-590. https://doi.org/10.1111/jph.12937.
30. Sanjel S, Hincapie M, Wang Y, Todd J, Chaulagain B, Sood S, Comstock JC, Raid RN and Rott P. (2021). Occurrence of two races of *Puccinia kuehnii* causing orange rust of sugarcane in Florida. *Plant Pathology 2(7)*: 1616-1625. https://doi.org/10.1111/ppa.13405.