

Marqueurs moléculaires utilisables en sélection chez la canne à sucre : cas de la résistance à la rouille brune

L. Costet¹, L. Le Cunff², S. Royaert¹, L.-M. Raboin¹, C. Hervouet², L. Toubi³,
H. Telismart¹, O. Garsmeur², Y. Rousselle¹, J. Pauquet², S. Nibouche¹,
J.-C. Glaszmann², J.-Y. Hoarau³, A. D'Hont²

¹ Cirad, UMR PVBMT, F-97410 Saint-Pierre, La Réunion.

² Cirad, UMR AGAP, F-34398 Montpellier, France

³ Cirad, UMR AGAP, F-97170 Petit Bourg, Guadeloupe.

laurent.costet@cirad.fr

Résumé

Les cultivars modernes de canne à sucre (*Saccharum* spp., 2n=100 à 130) sont hautement polyploïdes, aneuploïdes et d'origine interspécifique. Un gène majeur (*Bru1*) conférant la résistance à la rouille brune, causée par le champignon *Puccinia melanocephala*, a été identifié chez le cultivar R570. Nous avons analysé 380 cultivars modernes et clones en cours de sélection, représentatifs de la diversité mondiale, à l'aide de 22 marqueurs moléculaires regroupés dans un segment de 8,2cM génétiquement lié à *Bru1* chez R570. Nos résultats révèlent un fort déséquilibre de liaison dans la région autour de *Bru1* et de fortes associations entre la plupart des marqueurs et la résistance à la rouille. Deux marqueurs PCR flanquant le segment portant *Bru1* sont complètement associés et sont présents uniquement chez les clones résistants. Ces marqueurs constituent des marqueurs moléculaires diagnostics de *Bru1*. 86% des 194 clones de canne à sucre résistants possèdent les marqueurs diagnostics de *Bru1*, révélant que ce gène constitue la principale source de résistance à la rouille brune chez les cultivars modernes. Les marqueurs PCR diagnostics de *Bru1* devraient être particulièrement utiles pour identifier des cultivars possédant des sources de résistance alternatives à *Bru1* afin de diversifier la base génétique de la résistance à la rouille brune dans les programmes de sélection.

Mots clefs : *Saccharum* spp., *Puccinia melanocephala*, résistance, rouille brune, marqueurs moléculaires diagnostics.

Ce travail a fait l'objet d'un article publié dans le TAG en 2012 : Costet, L., Le Cunff, L., Royaert, S., Raboin, L.M., Hervouet, C., Toubi, L., Telismart, H., Garsmeur, O., Rousselle, Y., Pauquet, J., Nibouche, S., Glaszmann, J.C., Hoarau, J.Y., D'Hont, A. [published on line 2012/05/10]. Haplotype structure around *Bru 1* reveals a narrow genetic basis for brown rust resistance in modern sugarcane cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, (12 p.). <http://dx.doi.org/10.1007/s00122-012-1875-x>

Introduction

La rouille brune de la canne à sucre (*Saccharum* spp.), causée par le champignon *Puccinia melanocephala* Sydow H. & P., est décrite dans la quasi-totalité des zones de culture cannière dans le monde. Cette maladie provoque des taches brunâtres sur le limbe des feuilles et peut être responsable d'importantes pertes de rendement pouvant aller jusqu'à 50 % (Comstock, 1992a ; Purdy et al., 1983). L'augmentation du niveau de résistance à la rouille brune par les programmes de sélection a été rapide, car elle est assez facile à évaluer au champ et présente une forte héritabilité (Berding et al., 1984 ; Comstock et al., 1992b ; Hogarth et al., 1993 ; Ramdoyal et al., 2000). L'amélioration de la résistance variétale a permis un contrôle efficace des épidémies de rouille brune dans la plupart des zones de culture, et demeure un objectif important pour les sélectionneurs (Butterfield, 2007). Récemment, des recrudescences de la

maladie d'importance économique ont été signalées en Louisiane (Hoy, 2005 ; Hoy et Hollier 2009) sur le cultivar majoritaire auparavant considéré comme résistant (Hoy et Grisham, 2000) et en Afrique du Sud sur l'un des principaux cultivars qui exprimait peu de symptômes jusqu'alors (Cadet et al. 2003).

Nous avons récemment identifié deux gènes majeurs de résistance à la rouille brune, *Bru1* (Daugrois et al., 1996 ; Asnaghi 2000) et *Bru2* (Raboin et al., 2006), qui contrôlent la sporulation du champignon. Ces gènes ont été les premiers gènes majeurs identifiés contrôlant un caractère d'intérêt chez la canne à sucre. Asnaghi et al., (2001) ont montré que *Bru1* contrôlait tous les isolats de rouille brune issus d'une collection comprenant plusieurs origines géographiques, dont les Antilles françaises et les Mascareignes. Une carte génétique à haute résolution et une carte physique partielle issues des projets de clonage positionnel de *Bru1* ont permis l'identification de plusieurs marqueurs moléculaires liés génétiquement à *Bru1* chez le cultivar R570 (Asnaghi et al., 2000 ; Asnaghi et al., 2004 ; Le Cunff et al. 2008).

Dans ce travail, nous avons utilisé ces marqueurs pour génotyper une collection mondiale de canne à sucre pour i) identifier des marqueurs moléculaires diagnostics de *Bru1* utilisables en sélection et ii) analyser la fréquence de *Bru1* chez les cultivars modernes de canne à sucre.

Matériels et Méthodes

Matériel végétal et évaluation de la résistance à la rouille

Trois collections représentant au total 380 cultivars de canne à sucre et clones utilisés en sélection, issus de plus de 30 programmes d'amélioration répartis dans le monde, ont été étudiés. Les collections REUa et REUb, composées respectivement de 84 et 185 accessions, dont 46 étaient communes aux deux collections, ont été plantées à la Réunion. La collection GUA, plantée en Guadeloupe était composée de 189 accessions, dont 32 en commun avec les collections REU (16 avec REUa et 30 avec REUb). 14 accessions étaient communes aux trois collections.

La résistance à la rouille a été évaluée au champ en condition d'infestation naturelle, en hiver, lorsque la pression d'inoculum est élevée. Pour REUa la résistance à la rouille a été évaluée en 2005 dans un essai sans répétition composé de parcelles élémentaires d'une ligne de 5 m. Les collections REUb et GUA ont été plantées dans un dispositif en randomisation totale à trois répétitions. Chaque parcelle individuelle se composait d'une ligne de 3 m. Les notations de la réaction de la rouille ont été effectuées au cours de l'année 2007. Les clones produisant des spores ont été classés comme sensibles, sinon ils ont été classés résistants.

Genotypage

Vingt deux marqueurs associés à *Bru1* chez R570 ont été utilisés dans cette étude : 12 RFLPs, 6 AFLPs, 1 SSR, 2 PCRs et 1 CAPS. Les marqueurs RFLP et AFLP ont été développés précédemment et localisés sur la carte génétique de R570 (Figure 1)(Asnaghi et al. 2004; Hoarau et al. 2001; Le Cunff et al. 2008). Le marqueur SSR, les deux marqueurs PCR et le marqueur CAPS ont été développés à partir des séquences des BAC et plasmides produits dans le cadre du clonage positionnel de *Bru1* (Le Cunff et al 2008, Garsmeur et al 2011) et positionnés sur la carte génétique de R570. Le génotypage RFLP, AFLP et SSR a été réalisé tel que décrit par Le Cunff et al (2008), Hoarau et al (2001) et Rossi et al (2003), à l'exception des AFLP et SSR des collections REU pour lesquels un marquage fluorescent avant électrophorèse sur un séquenceur capillaire a été utilisé. Les amorces du SSR et des marqueurs PCR sont décrites par Costet et al (2012). Pour le marqueur CAPS 9O20-F4-PCR-RsaI, après PCR le produit est digéré avec l'enzyme *RsaI*.

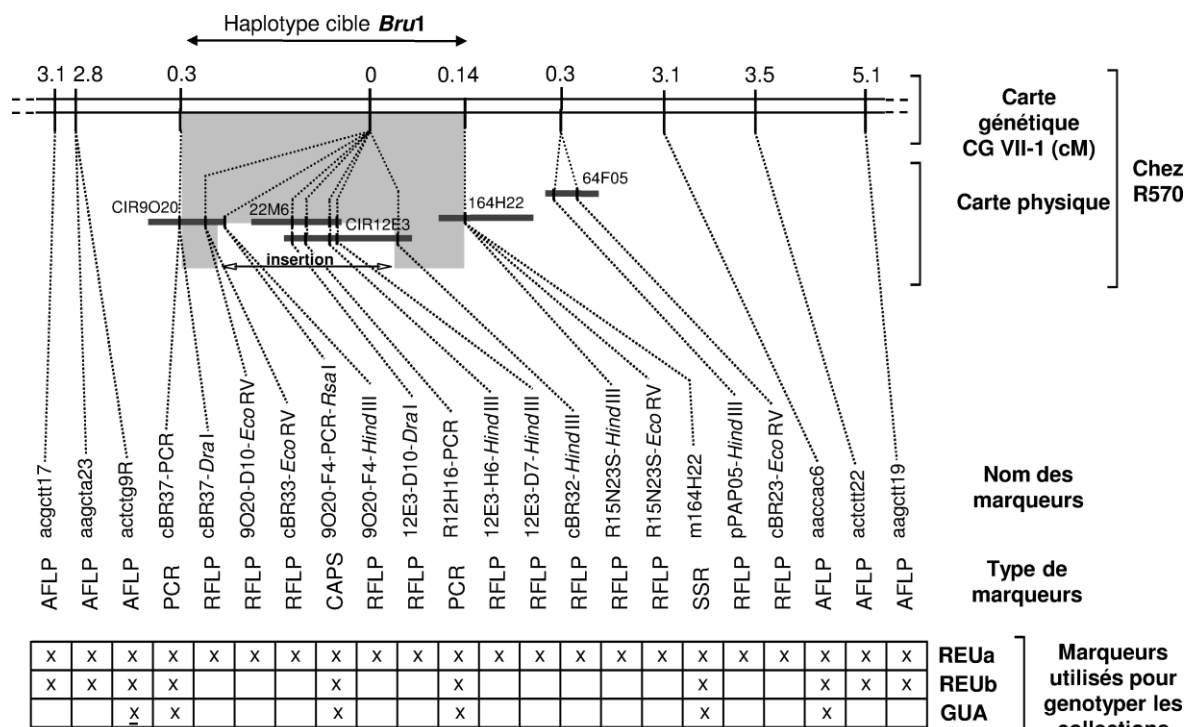


Figure 1. Marqueurs utilisés pour genotyper les collections REUa, REUb, and GUA et leur localisation sur la représentation schématisée des cartes génétique et physique dans la région chromosomique portant *Bru1* chez R570. Les distances génétiques séparant les marqueurs du locus *Bru1* sont indiqués en centimorgan (cM). La carte physique est constituée par des clones BAC représentés par des segments de droite.

Associations marqueur-marqueur et marqueur-rouille

Les associations entre les marqueurs et le phénotype de résistance à la rouille (résistant vs sensible) ont été évaluées comme décrit par Jannoo et al. (1999) et Raboin et al. (2008) à l'aide de tests exacts de Fisher, calculés avec la procédure FREQ de SAS (SAS Institute 2008) et quantifiées par la valeur $-\log_{10}(P)$. Nous avons évalué les effets de confusion liés à la structure génétique des populations de cultivars étudiées à l'aide d'un modèle logistique mixte, intégrant la structure génétique et les effets d'apparentement (Yu et al., 2006) en utilisant des données de génotypage à l'échelle du génome à base de marqueurs DArT disponibles pour les deux collections REUb et GUA.

Résultats

Fréquence de la résistance à la rouille brune dans les collections

Pour la collection REUa, 45 % des 84 accessions testées étaient résistantes (tableau 1). 60 % et 51 % d'accessions résistantes ont été identifiées parmi les 185 et 189 des collections REUb et GUA (tableau 1). Les 46 accessions communes aux collections REUa et REUb qui ont été évaluées à la Réunion en 2005 et 2007 présentent le même phénotype de résistance (résistant vs sensible), ce qui confirme la reproductibilité entre années de la méthode de phénotypage à la rouille déjà observée à la Réunion par Daugrois et al. (1996) et Asnaghi et al. (2004). Les 32 accessions communes aux collections REUb et GUA affichent également le même phénotype lorsqu'elles sont évaluées à la Réunion ou en Guadeloupe (tableau 1). Ces résultats vont dans le sens d'observations précédentes qui avaient montré que des isolats de rouille provenant de ces deux îles réagissent de la même façon face au gène de résistance *Bru1* (Asnaghi et al., 2001). Globalement pour les trois collections, 51 % des 380 accessions sont résistantes.

Tableau 1. Résistance à la rouille brune dans les trois collections de canne à sucre

	REUa	REUb	GUA	Total
Nombre d'accessions	84	185	189	380
% d'accessions résistantes à la rouille	45,2	59,5	51,3	51,1
% d'accessions résistantes portant <i>Bru1</i>	92,1	90,9	81,4	85,6

Fréquences des marqueurs

Les collections REUa, REUb et GUA ont été génotypées respectivement avec trois ensembles chevauchant de 22, 10 et 6 marqueurs liés à *Bru1* au sein d'un segment de 8,2 cM sur la carte génétique de R570 (Figure 1). La fréquence de ces marqueurs dans la région de *Bru1* présente une distribution bimodale dans les trois collections (Figure 2). Dans un premier groupe, les marqueurs sont présents dans les collections dans une gamme de fréquence que l'on peut qualifier de 'moyenne' (MF, de 0,41 à 0,61) qui correspond à la gamme de fréquence des accessions résistantes à la rouille dans les collections. Un second groupe correspond à des marqueurs dans une gamme de fréquence plus élevée (HF, de 0,74 à 0,97). Ces résultats suggèrent que le segment de R570 portant *Bru1* est l'haplotype principal pour tous les marqueurs du groupe MF, tandis que les marqueurs du groupe HF sont également présents dans plusieurs autres haplotypes qui ne portent pas *Bru1*.

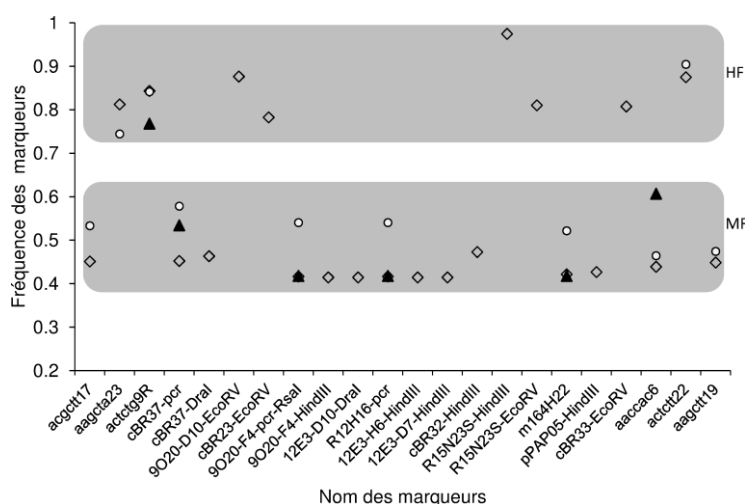


Figure 2. Fréquences des marqueurs dans les collections REUa (losange gris), REUb (cercle blanc) et GUA (triangle noir). (MF) marqueurs en fréquences "moyennes", (HF) marqueurs en "fréquences" hautes.

Associations marqueur-rouille

Les associations ($-\log_{10}(P)$) entre la résistance à la rouille brune et les marqueurs présents sur l'haplotype *Bru1* varient entre 4 et 41 pour les marqueurs du groupe MF et entre 0 et 4 pour les marqueurs du groupe HF (Figure 3).

Les associations entre les marqueurs du groupe MF distant de 3 cM ou plus de chaque côté de *Bru1* sont souvent élevées ($-\log_{10}(P)$ entre 4 et 14), mais il ne peut être exclu que ces associations soient dues à l'existence d'une structuration génétique au sein des collections. Cependant, au sein d'une fenêtre de 0,3 cM autour de *Bru1* l'intensité des associations entre les marqueurs et le phénotype de résistance à la rouille augmente considérablement quelque soit la collection, suggérant un impact limité de la structure. La distribution des quatre marqueurs génotypés dans les trois collections et présents dans cette fenêtre de 0,3 cM est présentée dans le tableau 2. L'utilisation des données de génotypage à l'échelle du génome pour les collections REUb et GUA dans le cadre d'un modèle mixte logistique a permis de prendre en compte l'effet de la structure génétique et de l'apparentement entre individus (Yu

et al, 2006). Les résultats de cette analyse confirment que les marqueurs à proximité de *Bru1* sont fortement associés à la résistance à la rouille dans les collections REUb et GUA (résultats non présentés).

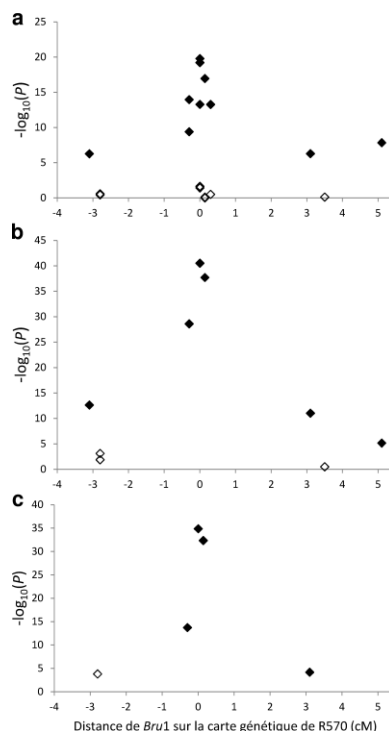


Figure 3. Association entre les marqueurs et le phénotype de résistance à la rouille dans les collections REUa (a), REUb (b) et GUA (c). Niveau des associations entre marqueurs et le phénotype de résistance à la rouille (résistant vs. sensible) calculé par des tests exact de Fisher et exprimé en $-\log_{10}(P)$. Les marqueurs ayant des fréquences ‘moyennes’ et ‘hautes’ dans les collections sont représentés respectivement par des losanges noirs ou blancs.

Ces profils d'associations suggèrent que *Bru1* contribue de manière importante à la résistance à la rouille dans les trois collections. On remarquera que les marqueurs PCR-R12H16 et 9O20-F4-PCR-RsaI, qui sont totalement associés à *Bru1* sur la carte R570 (tableau 2), sont totalement associés entre eux sur l'ensemble des trois collections et sont présents chez la majorité des accessions résistantes et absents chez les 185 accessions sensibles. Cette distribution suggère que *Bru1* est toujours présent dans le segment chromosomique F4/9O20-R12H16, mais qu'il existe d'autres sources de résistance à la rouille, moins fréquentes dans les collections, qui sont révélées par les accessions qui n'ont pas le segment chromosomique F4/9O20-R12H16.

Tableau 2. Distribution des quatre marqueurs qui présentent les plus fortes associations avec *Bru1* dans l'ensemble des accessions présentes dans les trois collections

Distance chez R570 (cM)	Marqueurs	Haplotypes résistants à la rouille					Haplotypes sensibles à la rouille		
		1	0	0	0	0	0	0	1
0.14	m164H22	1	0	0	0	0	0	0	1
0	R12H16-PCR	1	1	1	0	0	0	0	0
0	9O20-F4-PCR-RsaI	1	1	1	0	0	0	0	0
0.28	cBR37-PCR	1	1	0	1	0	0	1	0
	Nb d'accessions*	162	1	3	1	27	149	34	2

(*) L'information n'était pas complète pour une des 380 accessions, et n'a pas été incluse dans ce tableau

Prévalence de *Bru1* dans les collections

Parmi les accessions résistantes, 86 % (166/194) ont les marqueurs PCR-R12H16 et 9O20-F4-PCR-RsaI et possèdent donc *Bru1*, alors que 14 % des accessions résistantes (28/194) n'ont pas ces deux marqueurs et représentent potentiellement des sources de résistance alternatives (tableau 1). La proportion des accessions résistantes qui ne portent pas l'haplotype *Bru1* sont respectivement de 7,9 %, 9,1 % et 18,6 % pour les collections REUa, REUb et GUA (tableau 1). *Bru1* représente la principale source de résistance dans tous les programmes d'amélioration qui étaient représentés par au moins trois accessions dans cette étude, à l'exception des accessions LF (accessions de Fidji). Parmi les 28 accessions résistantes sur l'ensemble des trois collections qui n'ont pas l'haplotype *Bru1* et peuvent donc avoir d'autres sources de résistance, plus d'un tiers (notamment les sept accessions LF de Fidji et les deux MQ d'Australie) sont issues de programmes récents visant à élargir la base génétique de la canne à sucre en impliquant dans les croisements des espèces sauvages (*S. spontaneum*, *S. officinarum* et *S. robustum*). Parmi elles, il a déjà été montré que MQ76/53 portait un autre gène majeur, *Bru2* (Raboin et al., 2006).

Discussion

La résistance à la rouille brune chez les cultivars modernes repose majoritairement sur *Bru1*

Nous avons révélé dans les collections étudiées une forte association entre la plupart des marqueurs associés avec le gène de résistance *Bru1* chez R570 et la résistance à la rouille brune. Cette forte association est due à la prédominance de *Bru1* comme source de résistance à la rouille brune dans les collections. L'analyse détaillée des quatre marqueurs communs aux trois collections et présentant les associations les plus fortes avec *Bru1* a révélé que *Bru1* est présent chez 86 % des accessions résistantes. Nos résultats indiquent clairement que la base de la résistance à la rouille brune chez les cultivars modernes de canne à sucre s'appuie essentiellement sur *Bru1* et est donc dangereusement étroite.

Des marqueurs diagnostics PCR de *Bru1* pour identifier de nouvelles sources de résistance à la rouille brune

Les deux marqueurs PCR-R12H16 et 9O20-F4-RsaI, qui co-segrègent complètement avec *Bru1* dans la descendance de R570 sont, au sein des 380 accessions de la canne à sucre étudiées : i/ complètement associés entre-eux dans l'ensemble des 380 accessions de la canne à sucre ii/ fortement associés avec la résistance à la rouille brune et iii/ totalement absents chez les accessions sensibles. Ils représentent donc des marqueurs moléculaires diagnostics pour la présence du gène de résistance *Bru1* (Figure 4).

Leur présence dans les cultivars modernes indique la présence de *Bru1* et prédit un phénotype résistant du cultivar. Des exceptions à ces observations pourraient correspondre i/ à la dissociation entre les deux marqueurs PCR-R12H16 et 9O20-F4-RsaI susceptible d'indiquer la présence d'un événement très rare de recombinaison qui pourrait être utile à notre projet de clonage positionnel de *Bru1* ii/ à la présence des deux marqueurs dans une accession sensible pouvant indiquer l'existence de races différentes de *Puccinia melanocephala* qui ne seraient pas contrôlées par *Bru1*. Peu de choses ont été rapportées concernant l'existence de races *P. melanocephala* dans le monde, bien que plusieurs cas de changement dans la sensibilité de cultivar vis-à-vis de la rouille brune aient été signalés en Inde (Srinivasan et Muthaiyan 1965), Hawaï, Floride (Comstock et al., 1994 ; Dean et Purdy, 1984 ; Liu 1980a, b ; Raid 1989 ; Shine et al., 2005), Australie (Taylor, 1992) et en Afrique du Sud (Pillay et al., 2005). Cependant, dans aucune de ces situations l'existence de race n'a encore été validée au

laboratoire et il est difficile de savoir si l'expression de la maladie n'est pas influencée par les conditions environnementales et notamment par des pratiques de fertilisation excessives (Anderson et Dean, 1986 ; Taylor, 1992 ; Johnson et al., 2007). A l'inverse, l'absence des deux marqueurs diagnostics dans un cultivar moderne résistant indique l'absence de l'haplotype *Bru1* et en fait un bon candidat pour l'identification de sources de résistance alternatives.

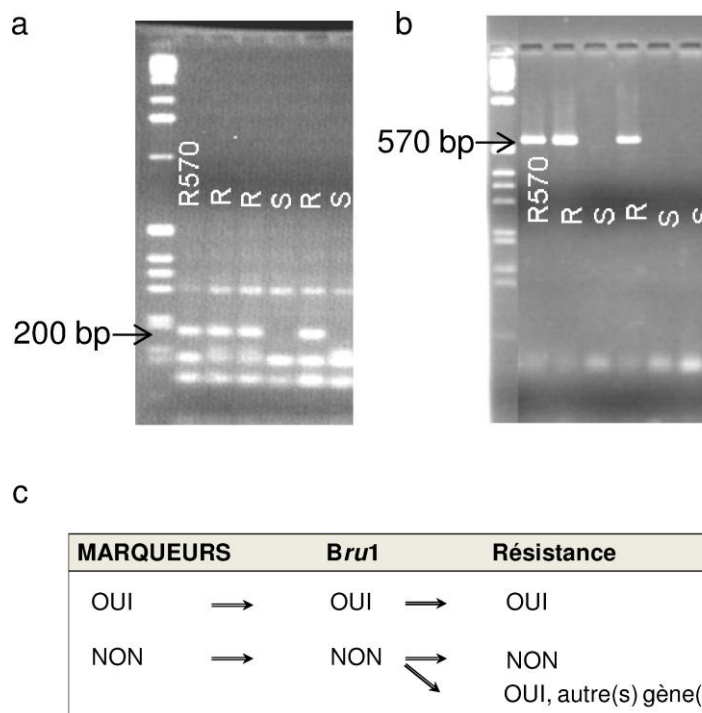


Figure 4. Profil de migration des deux marqueurs diagnostics de *Bru1* chez quelques accessions. a: 9O20-F4-PCR-Rsa1, b: R12H16-PCR. R-*Bru1*: Accessions résistantes à la rouille brune possédant *Bru1*. S: accession sensibles c : La présence des marqueurs diagnostics chez un cultivar révèle la présence du gène de résistance à la rouille brune *Bru1*. L'absence de ces marqueurs indique soit un cultivar sensible soit un cultivar résistant portant une ou des sources de résistance alternatives à *Bru1*

L'évaluation de la résistance à la rouille brune est relativement facile à effectuer dans les zones présentant un niveau élevé d'inoculum. Cependant, la sélection assistée par marqueurs (SAM) avec les marqueurs PCR diagnostics de *Bru1* pourrait être très utile notamment dans les zones où la maladie n'est pas encore présente telles que la Somalie ou le Soudan (Kelly et al., 2009) ou encore dans des zones où la maladie est sporadique et où l'évaluation au champ est difficile. Plus important encore, les marqueurs PCR diagnostics de *Bru1* devraient être particulièrement utiles pour identifier les cultivars résistants qui ne portent pas *Bru1* et peuvent donc constituer d'autres sources de résistance à la rouille brune. Des essais réalisés en conditions contrôlées ont démontré que *Bru1* confère une résistance à différents isolats de rouille collectés au Brésil, Colombie, Floride, Guadeloupe, Réunion et Zimbabwe (Asnaghi et al., 2001). De plus, la résistance due à la présence du gène *Bru1* semble durable, puisque par exemple R570 a été intensivement cultivée depuis 20 ans dans diverses régions du monde comprenant la Réunion, Maurice, plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest (Burkina Faso, Gabon, Congo) ou encore des pays de l'Afrique de l'Est (Tanzanie, Malawi, Kenya, Swaziland, Mozambique) et jusqu'à aujourd'hui aucun contournement de la résistance n'a été rapporté. Néanmoins, l'utilisation de sources de résistance alternatives à *Bru1* dans les programmes d'amélioration serait intéressante pour diversifier les bases génétiques de la résistance dans l'objectif d'une gestion durable des résistances.

Remerciements

Les auteurs souhaitent remercier Audrey Anglade et Emmanuelle Chapier pour leur participation aux travaux en laboratoire, Iréné Promi, Cedric Lallemand, Jean-Marie Coupau pour le travail de terrain et Jacques Dintinger pour ses commentaires. Ces travaux ont été financés par le Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), par le Conseil Régional de la Réunion et l'Union européenne : Fonds européen de développement régional (FEDER); Ces travaux ont été rendus possibles par des projets précédemment pris en charge par l'International Consortium for Sugarcane Biotechnology (ICSB).

Références bibliographiques

- Anderson D, Dean J (1986) Relationship of rust severity and plant nutrients in sugarcane. *Phytopathology* 76:581-585
- Asnaghi C (2000) Caractérisation d'un facteur génétique majeur de résistance à la rouille chez la canne à sucre. Doctorat thesis. Université Paris-Sud
- Asnaghi C, D'Hont A, Glaszmann JC, Rott P (2001) Resistance of sugarcane cultivar R570 to *Puccinia melanocephala* isolates from different geographic locations. *Plant Dis* 85:282-286
- Asnaghi C, Paulet F, Kaye C, Grivet L, Deu M, Glaszmann JC, D'Hont A (2000) Application of synteny across *Poaceae* to determine the map location of a sugarcane rust resistance gene. *Theor Appl Genet* 101:962-969
- Asnaghi C, Roques D, Ruffel S, Kaye C, Hoarau JY, Télismart H, Girard JC, Raboin LM, Risterucci AM, Grivet L, D'Hont A (2004) Targeted mapping of a sugarcane rust resistance gene (*Bru1*) using bulked segregant analysis and AFLP markers. *Theor Appl Genet* 108:759-764
- Berding N, Skinner JC, Ledger PE (1984) Naturally-infected bench test for screening sugarcane clones against common rust (*Puccinia melanocephala* H. & P. Syd.). *Prot Ecol* 6:101-104
- Butterfield M (2007) Marker assisted breeding in sugarcane: a complex polyploid. PhD thesis University of Stellenbosch
- Cadet P, McFarlane SA, Meyer JH (2003) Association between nutrients and rust in sugarcane in Kwazulu-Natal. *P S Afr Sug* 77:223-229
- Comstock J, Wu K, Schnell R (1992b) Heritability of resistance to sugar cane rust. *Sugar Cane* 6:7-10
- Comstock JC (1992a) Effect of rust on sugarcane growth and biomass. *Plant Dis* 76:175-177
- Comstock JC, Shine JM, Dean JL, Irey MS (1994) Races of the sugarcane common rust pathogen, *Puccinia melanocephala*, in Florida. (Abstr.) *Phytopathology* 84:867
- Costet, L., Le Cunff, L., Royaert, S., Raboin, L.M., Hervouet, C., Toubi, L., Telismart, H., Garsmeur, O., Rousselle, Y., Pauquet, J., Nibouche, S., Glaszmann, J.C., Hoarau, J.Y., D'Hont, A. [published on line 2012/05/10]. Haplotype structure around *Bru 1* reveals a narrow genetic basis for brown rust resistance in modern sugarcane cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, (12 p
- Daugrois JH, Grivet L, Roques D, Hoarau JY, Lombard H, Glaszmann JC, D'Hont A (1996) A putative major gene for rust resistance linked with a RFLP marker in sugarcane cultivar 'R570'. *Theor Appl Genet* 92:1059-1064

- Dean JL, Purdy LH (1984) Races of the sugar cane rust fungus, *Puccinia melanocephala*, found in Florida. Sugar Cane 1:15-16
- Garsmeur O, Charron C, Bocs S, Jouffe V, Samain S, Couloux A, Droc G, Zini C, Glaszmann J-C, Van Sluys M-A, D'Hont A (2011) High homologous gene conservation despite extreme autopolyploid redundancy in sugarcane. New Phytologist 189:629-642
- Hoarau JY, Offmann B, D'Hont A, Risterucci AM, Roques D, Glaszmann JC, Grivet L (2001) Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar (*Saccharum* spp.). I. Genome mapping with AFLP markers. Theor Appl Genet 103:84-97
- Hogarth DM, Ryan CC, Taylor PWJ (1993) Quantitative inheritance of rust resistance in sugarcane. Field Crop Res 34:187-193
- Hoy J (2005) Impact of rust on LCP 85-384. Sugar Bulletin 84:9
- Hoy J and Grisham M, C H (2000) The rust outbreak of 2000: What's going on! Sugar Bulletin 78:25
- Hoy JW and Hollier CA (2009) Effect of brown rust on yield of sugarcane in Louisiana. Plant Dis 93:1171-1174
- Jannoo N, Grivet L, Dookun A, D'Hont A, Glaszmann JC (1999) Linkage disequilibrium among modern sugarcane cultivars. Theor Appl Genet 99:1053-1060
- Johnson RM, Grisham MP, Richard EP (2007) Relationship between sugarcane rust severity and soil properties in Louisiana. Phytopathology 97:748-755
- Kelly PL, Reeder R, Tafesse A (2009) First confirmed report of sugarcane common rust *Puccinia melanocephala* in Ethiopia. Plant Pathol 58:1172-1172
- Le Cunff L, Garsmeur O, Raboin LM, Pauquet J, Telismart H, Selvi A, Grivet L, Philippe R, Begum D, Deu M, Costet L, Wing R, Glaszmann JC, D'Hont A (2008) Diploid/polyploid syntenic shuttle mapping and haplotype-specific chromosome walking toward a rust resistance gene (*Bru1*) in highly polyploid sugarcane ($2n \sim 12x \sim 115$). Genetics 180:649-660
- Liu L-J (1980a) Maturity resistance, a useful phenomenon for integrated control of sugarcane rust. Sugarcane Pathol New 25:11-13
- Liu L-J (1980b) Observations and considerations on sugarcane rust incidence, varietal reaction and possible occurrence of physiologic races. Sugarcane Pathol New 25:5-10
- Pillay L, Mc Farlane SA, Rutherford RS (2005) A Preliminary report on genetic diversity in populations of sugarcane rust in Kwazulu-Natal. Proc S Afr Sug Technol Ass 79:132-136
- Purdy LH, Liu L-J, Dean JL (1983) Sugarcane rust, a newly important disease. Plant Dis 67:1292-1296.
- Raboin L-M, Pauquet J, Butterfield M, D'Hont A, Glaszmann J-C (2008) Analysis of genome-wide linkage disequilibrium in the highly polyploid sugarcane. Theor Appl Genet 116:701-714
- Raboin L, Oliveira K, Le Cunff L, Telismart H, Roques D, Butterfield M, Hoarau JY, D'Hont A (2006) Genetic mapping in sugarcane, a high polyploid, using bi-parental progeny: identification of a gene controlling stalk colour and a new rust resistance gene. Theor Appl Genet 112:1382-1391
- Raid RN (1989) Physiological specialization in sugarcane rust (*Puccinia melanocephala*) in Florida. Plant Dis 73:183

- Ramdoyal K, Sullivan S, Lim Shin Chong LCY, Badaloo G, Sauntally S, Domaingue R (2000) The genetics of rust resistance in sugar cane seedling production. *Theor Appl Genet* 100:557-563
- Rossi M, Araujo PG, Paulet F, Garsmeur O, Dias VM, Chen H, Van Sluys MA, D'Hont A (2003) Genomic distribution and characterization of EST-derived resistance gene analogs (RGAs) in sugarcane. *Mol Genet Genomics* 269:406-419
- SAS Institute (2008) SAS Online Doc® 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA
- Shine JM, Comstock JC, Dean JL (2005) Comparison of five isolates of sugarcane brown rust and differential reaction on six sugarcane clones. *Sugar Cane* 23:24-29
- Srinivasan KV, Muthaiyan MC (1965) A note on physiologic races in *Puccinia erianthi* Padw. and Khan affecting sugar-cane varieties. International Society of Sugar Cane Technologists Congress, Puerto Rico, pp 1126-1128
- Taylor P (1992) Evidence for the existence of a single race of common rust caused by *Puccinia melanocephala*, in Australian sugar cane cultivars. *Aust J Agr Res* 43:443-450
- Yu J, Pressoir G, Briggs WH, Vroh Bi I, Yamasaki M, Doebley JF, McMullen MD, Gaut BS, Nielsen DM, Holland JB, Kresovich S, Buckler ES (2006) A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nat Genet* 38:203-208