

Filogenia de hongos roya (Uredinales) en la zona andina colombiana mediante el uso de secuencias del ADN ribosomal 28S

Catalina Zuluaga¹, Pablo Buriticá² & Mauricio Marín¹

1. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Cra 64 x Calle 65, Autopista Norte, Medellín, Colombia; catazuluaga81@gmail.com, mamarinm@unal.edu.co
2. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Departamento de Ciencias Agronómicas, Cra 64 x Calle 65, Autopista Norte, Medellín, Colombia; pburitica@unal.edu.co

Recibido 16-IV-2010. Corregido 10-IX-2010. Aceptado 26-X-2010.

Abstract: Phylogenetic analysis of rust fungi (Uredinales) from the Colombian Andean region using 28S ribosomal DNA sequences. Rust fungi (Uredinales, Basidiomycetes) are one of the most diverse and economically important plant-obligated parasites. Taxonomy of this group has been under revision during the last years using molecular techniques to define phylogenetic relationships. In this study we evaluated the phylogenetic affinities of a group of 40 rust fungi obtained from different plants in the Colombian Andean region using sequence analysis of the 28S ribosomal DNA, specifically D1/D2 domains. Comparisons were undertaken with sequences of rust fungi from around the world deposited in the GenBank database. An alignment of sequences was used to build a phylogenetic tree through Maximum parsimony analysis. Our results support the taxonomical validity of families Pucciniaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae, Pileolariaceae, Mikronegeriaceae, Coleosporiaceae and Cronartiaceae, while Puccinosiraceae represents redundant taxa with Pucciniaceae. The analyses indicated that Uropyxidaceae, Raveneliaceae, Chaconiaceae and Pucciniastreae correspond to polyphyletic families. Melampsoraceae appear to be a basal taxon to the Uredinales. Information obtained in this study will be useful to incorporate a higher number of sequences from tropical rust fungi within global efforts to redefine the taxonomy of order Uredinales. Additionally, we propose to give priority to future phylogenetic studies of taxa: *Gerwasia*, *Hemileia*, *Phragmidium*, *Prospodium*, *Puccinia* and *Uromyces*, genera that include a high number of rust fungi from the tropics. Rev. Biol. Trop. 59 (2): 517-540. Epub 2011 June 01.

Key words: maximum parsimony, rDNA, rust fungi, sequence analyses.

Los hongos roya (Urediniomycetes, Uredinales) constituyen uno de los grupos de hongos más numeroso, diverso y de amplia distribución mundial (Buriticá 2003a); son parásitos obligados (holobiótrofos) de un amplio rango de plantas incluidas helechos, coníferas y angiospermas, con las cuales han coevolucionado, que adaptan su ciclo de vida a las condiciones ecológicas del hábitat de sus hospedantes (Buriticá 2001, Buriticá 2003b, Cummins & Hiratsuka 2003, Zuluaga *et al.* 2009). Los Uredinales son conocidos como royas por la inducción de pústulas que contienen esporas con apariencia de un polvillo herrumbroso sobre los tejidos de

sus hospedantes; sin embargo, también pueden causar hipertrofias e hiperplasias, escobas de bruja y formación de pseudoflores (Cummins & Hiratsuka 2003).

El orden Uredinales está conformado por 13 familias, 163 géneros y unas 7000 especies (Hawksworth *et al.* 2001); aunque se estima que el grupo puede contener de 20000 a 24000 especies (Buriticá 2003b). Recientemente, Bauer *et al.* (2006) en su estudio de los Basidiomycetes con septos simples, sugirieron renombrar las categorías suprafamiliares en que se ubican los hongos roya como orden Puccinales de la clase Pucciniomycetes. Los

hongos roya pueden producir hasta cinco estados esporicos que se designan como: espermogonio (espermacios e hifas receptivas) (O), aeciospora (I), uredospora (II), teliospora (III) y basidiospora (IV) (Hahn 2000). Cada estado esporico es morfológica y funcionalmente diferente dentro del ciclo de vida de las especies de royas (Hawksworth *et al.* 2001, Cummins & Hiratsuka 2003).

La clasificación de los Uredinales a nivel genérico y supragenérico ha sido basada casi exclusivamente en la morfolología de los teliosoros y teliosporas. Inicialmente dos familias fueron definidas por las características morfológicas de sus teliosporas: Melampsoraceae con teliosporas no pediceladas (teliosoros subepidermales, cubiertos) y Pucciniaceae con teliosporas pediceladas (teliosoros erumpentes) (Dietel 1928). Posteriormente, Gaumann (1949) adicionó las familias Pucciniastraceae (teliosoros inmersos), Cronartiaceae (teliosoros columnares), Chrysomyxaceae (teliosoros cupulares) y Coleosporiaceae (basidio interno). Cummins & Hiratsuka (1983) propusieron la definición de 14 familias para el orden Uredinales, las cuales luego redujeron a 13, una vez unidas las familias Raveneliaceae y Sphaerophragmiaceae (Cummins & Hiratsuka 2003).

La taxonomía de hongos se ha fundamentado tradicionalmente en el empleo de caracteres morfológicos. En muchos casos estas características son variables, que producen información insuficiente o poco precisa que conduce a la generación de clasificaciones no naturales. En las últimas décadas, la secuenciación de regiones ribosomales y funcionales ha jugado un papel fundamental en la inferencia de las relaciones evolutivas entre individuos y grupos de individuos (Sugiyama 1998, Blackwell *et al.* 2006). Sin embargo, el número de estudios que emplean estas herramientas moleculares para la realización de estudios taxonómicos en hongos roya es muy reducido, en comparación con aquellos realizados en otros grupos de hongos (Zuluaga *et al.* 2009), siendo los más destacados aquellos realizados por Maier *et al.* (2003, 2007), basados en la secuenciación de una porción de la región 28S del

ADNr en hongos roya recolectados principalmente en Europa y que pusieron de manifiesto que los géneros *Puccinia*, *Pucciniastrum*, *Thekopsora* y *Uromyces* son polifiléticos, mientras que *Chrysomyxa*, *Coleosporium*, *Cronartium*, *Gymnosporangium*, *Melampsora*, *Phragmidium* y *Tranzschelia*, representan taxones monofiléticos. La condición polifilética de los géneros *Puccinia* y *Uromyces* fue confirmada posteriormente por Van der Merwe *et al.* (2007) quienes usaron análisis de secuencias de los genes del factor de elongación 1 α y β -tubulina 1. Un estudio similar fue realizado por Wingfield *et al.* (2004), pero mediante análisis de secuencias de la subunidad pequeña del ADNr en 64 especies de 12 familias de royas; en este caso se encontró que los géneros que presentan estados aeciales sobre gimnospermas están filogenéticamente distantes de los hongos roya que desarrollan dicho estado sobre plantas angiospermas; además se determinó que la condición de autoicismo/heteroicismo no representa un carácter taxonómico válido y que familias como Pucciniaceae y Pucciniastraceae representan taxones polifiléticos.

Aime (2006) utiliza la estrategia de combinar datos de ambas subunidades ribosomales, al realizar un estudio tendiente a evaluar el soporte filogenético de las familias del orden Uredinales propuestas por Cummins & Hiratsuka (2003) con base en caracteres morfológicos. De las trece familias propuestas, ocho (Coleosporiaceae, Melampsoraceae, Mikronegeriaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae, Pileolariaceae, Pucciniaceae y Raveneliaceae) están bien soportadas por el análisis basado en secuencias, mientras que tres son redundantes (Cronartiaceae, Pucciniastraceae y Puccinosiraceae), y en dos de ellas, su condición no pudo ser definida (Chaoniaceae y Uropyxidaceae).

A pesar del alto número de especies de royas presentes en los trópicos, el nivel de conocimiento que se tiene de estos hongos en esta región es incipiente, tanto desde el punto de vista biológico como en lo relacionado a su clasificación taxonómica. Esta situación contrasta con la gran importancia económica que presentan algunas royas en diversos

agroecosistemas tropicales y con el potencial bioprospectivo de especies que podrían ser utilizadas como biorreguladores de plantas arvenses. Una de las regiones neotropicales de las que se posee menor conocimiento sobre este grupo de organismos, es la zona andina que comprende una franja altitudinal entre 2 000 y 4 600m.s.n.m, nicho ecológico que ofrece condiciones físicas y biológicas muy particulares, y específicamente para el caso de hongos roya incluye fundamentalmente especies con ciclos de vida reducido, poco abordadas en los estudios micológicos mundiales que utilizan herramientas moleculares (Zuluaga *et al.* 2009), aunque parcialmente evaluadas en estudios morfológicos (Buriticá 1991, Buriticá 1994, Buriticá 2000, Pardo-Cardona 2001, Salazar 2002, Buriticá 2003a).

En esta investigación se llevo a cabo una recolección de hongos roya procedentes de plantas cultivables y silvestres de diversas regiones de la zona andina de Colombia, para el estudio de sus características morfológicas y relaciones filogenéticas, como una estrategia para aumentar el nivel de conocimiento que se posee de este grupo de hongos en el trópico, así como para evaluar las hipótesis taxonómicas recientemente apoyadas en estudios moleculares sobre el carácter filogenético de las diferentes familias tradicionalmente propuestas dentro del orden Uredinales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de muestras: Las muestras fueron recolectadas en diferentes regiones de cinco departamentos de la zona andina de Colombia (Antioquia, Boyacá, Cundinamarca, Risaralda y Tolima) (Fig. 1), incluye el sistema de páramos y bosques altoandinos del noroccidente medio antioqueño (Belmira, Yarumal), además de las zonas andinas del suroccidente antioqueño (Caramanta, Tamésis, Valparaíso). También se incluyeron muestras de regiones montañosas de los departamentos de Boyacá (Sogamoso, Sora), Cundinamarca (Bojacá, El Rosal, Pacho, Subachoque, Tausa, Villa Pinzón, Zipaquirá) Caldas (Manizales, Villa



Fig. 1. Departamentos andinos de Colombia en los cuales se obtuvieron las muestras de royas analizadas en este estudio. **Fig. 1.** Colombia Andean provinces where rust fungi were collected for this study.

María), Risaralda (Quinchía) y Tolima (Páramo de Letras) (Cuadro 1). Para la obtención de las muestras se realizó un recorrido por vías primarias y secundarias de cada uno los sitios descritos, se evaluó la presencia de plantas con síntomas y signos de royas, ante lo cual se tomaban los órganos y tejidos afectados (generalmente al menos una hoja). De esta forma, cada muestra estaba representada por diferentes pústulas de royas en tejidos de una misma planta y dependiendo de la uredobiota presente en cada sitio de muestreo, el número de especímenes recolectados variaba entre zonas. Cada muestra recolectada fue prensada para evitar su deterioro junto con su respectiva información referente al hospedante y a las características geográficas de la zona. Las muestras fueron llevadas al Herbario MEDEL de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, para su secado e identificación botánica y los especímenes así procesados fueron depositados en el Museo Micológico de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín (MMUNM).

Caracterización morfológica: La descripción morfológica de los especímenes recolectados incluyó las siguientes observaciones de las pústulas: posición respecto al tejido del hospedante, color, forma, agrupación y consistencia. De cada estado esporico encontrado se realizaron micropreparados para describir su

CUADRO 1
Uredinales colectados sobre diferentes hospedantes en la región andina de Colombia

TABLE 1
Uredinales collected on different plant hosts in the Colombian Andean region

Familia botánica	Planta hospedante	Especie de roya	Muestra*	Fecha de colección	Ubicación (Municipio, Departamento, msnm)
Poaceae	<i>Zoigites americana</i> var. <i>Mexicana</i> (Kunth) Mc. Vaugh.	<i>Uredo zoigites</i> Arthur & Holway	R6	7/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Asteraceae	<i>Ageratina popayanense</i> (Hieron) R.M. King & H. Rob.	<i>Chardoniella gymoxidis</i> Kern	R7a	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Asteraceae	<i>Ageratina popayanense</i> (Hieron) R.M. King & H. Rob.	<i>Chardoniella gymoxidis</i> Kern	R7b	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Fabaceae	<i>Trifolium repens</i> L.	<i>Uromyces trifolii</i> (Hedwig, ex DC.) Fückel	R9	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Asteraceae	<i>Vernonia</i> sp.	<i>Puccinia vernoniae-mollis</i> Mayor	R10	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Asteraceae	<i>Baccharis lanifolia</i> (R.&P.) Pers.	<i>Puccinia baccharidis</i> Dietel & Holway	R12	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Poligonaceae	<i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (H.B.K.) Meisn.	<i>Chrysocelis muehlenbeckiae</i> Lagerheim & Dietel	R14a	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Poligonaceae	<i>Muehlenbeckia tamnifolia</i> (H.B.K.) Meisn.	<i>Chrysocelis muehlenbeckiae</i> Lagerheim & Dietel	R14b	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Asteraceae	<i>Ageratina popayanense</i> (Hieron) R.M. King & H. Rob.	<i>Chardoniella gymoxidis</i> Kern	R15	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Euphorbiaceae	<i>Croton</i> cf. <i>callistanthus</i> Croizat.	<i>Arthuria columbiana</i> (Kern & Whetzel) Cummins	R18	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2400
Cucurbitaceae	<i>Cayaponia</i> sp.	<i>Uromyces novissimus</i> Spegazzini	R20	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2300
Solanaceae	<i>Solanum aphodendron</i> S. Knapp.	<i>Puccinosira solani</i> Lagerheim, Bert.	R21	17/09/2005	Yarumal, Antioquia, 2300
Poaceae	<i>Pennisetum clandestinum</i> Hochst. ex Chiov	<i>Phakopsora apoda</i> (Hariot & Patouillard) Mains	R24	17/09/2005	Belmira, Antioquia, 2450
Malgigaceae	<i>Stigmaphyllon bogotense</i> Triana & Planch.	<i>Puccinia circinata</i> (Arthur) Winter	R25	17/09/2005	Belmira, Antioquia, 2450
Demstaedtiaceae	<i>Pteridium</i> sp.	<i>Uredinopsis pteridis</i> Dietel & Holway	R26	18/09/2005	Belmira, Antioquia, 2700
Apiaceae	<i>Hydrocotyle bonplandii</i> A.Rich	<i>Puccinia hydrocotyles</i> Cooke	R27	18/09/2005	Belmira, Antioquia, 2700
Solanaceae	<i>Cestrum tomentosum</i> L.F.	<i>Uromyces cestri</i> Bertero ex Montagne	R30	18/09/2005	Belmira, Antioquia, 2700
Asteraceae	<i>Ageratina popayanense</i> (Hieron) R.M. King & H. Rob.	<i>Chardoniella gymoxidis</i> Kern	R31	18/09/2005	Belmira, Antioquia, 2700
Solanaceae	<i>Cestrum tomentosum</i> L.F.	<i>Uromyces cestri</i> Bertero ex Montagne	R33	18/09/2005	Belmira, Antioquia, 2700
Rosaceae	<i>Prunus sheronia</i> E.H.R spp. Capuli	<i>Tranzschelia arthurii</i> Tranzschel & Litvinov	R38	18/09/2005	Belmira, Antioquia, 2700
Asteraceae	<i>Ageratina popayanense</i> (Hieron) R.M. King & H. Rob.	<i>Chardoniella gymoxidis</i> Kern	R39a	18/09/2005	Belmira, Antioquia, 2700
Asteraceae	<i>Ageratina popayanense</i> (Hieron) R.M. King & H. Rob.	<i>Chardoniella gymoxidis</i> Kern	R39b	18/09/2005	Belmira, Antioquia, 2700
Verbenaceae	<i>Lantana canara</i> L.	<i>Prosopidium tuberculatum</i> (Spegazzini) Arthur	R44	15/10/2005	Yarumal, Antioquia, 2700
Fabaceae	<i>Desmodium adscendens</i> (Sw.) DC.	<i>Phakopsora meibomia</i> (Arthur) Arthur	R47	15/10/2005	Villamaría, Caldas, 2100
Solanaceae	<i>Solanum aphodendron</i> S. Knapp.	<i>Puccinosira solani</i>	R49	15/10/2005	Villamaría, Caldas 3000
Euphorbiaceae	<i>Croton</i> sp.	<i>Aectiura</i> sp.	R50	15/10/2005	Villamaría, Caldas 3000

CUADRO 1 (Continuación)
Uredinales colectados sobre diferentes hospedantes en la región andina de Colombia

TABLE 1 (Continued)
Uredinales collected on different plant hosts in the Colombian Andean region

Familia botánica	Planta hospedante	Especie de roya	Muestra*	Fecha de colección	Ubicación (Municipio, Departamento, msnm)
Solanaceae	<i>Solanum tuberosum</i> L.	<i>Puccinia pittieriana</i> Henn.	R53	15/10/2005	Villamaria, Caldas 3000
Rosaceae	<i>Rubus glaucus</i> Benth.	<i>Gerwasia lagerheimii</i> (Pagnus) Burticá	R54	16/10/2005	Manizales, Caldas 2650
Betulaceae	<i>Alnus acuminata</i> sbsp. <i>acuminata</i> Kunth	<i>Melampsoridium hirsutikanum</i> (Arthur) Gaeumann	R55	16/10/2005	Manizales, Caldas 2650
Asteraceae	<i>Ageratina trinifolia</i> (H.B.K.) K.&R.	<i>Chardonniella</i> sp.	R72	16/10/2005	Alto de letras, Tolima, 3600
Poaceae	<i>Lolium</i> sp.	<i>Puccinia coronata</i> Corda	R73	04/07/2006	Bojacá, Cundinamarca, 2598
Rosaceae	<i>Prunus sherotina</i> E.H.R. spp. Capuli	<i>Tranzschelia arthurii</i> Tranzschel & Litvinov	R74	04/07/2006	Bojacá, Cundinamarca, 2598
Fabaceae	<i>Vicia jaba</i> L.	<i>Uromyces viciae-fabae</i> Schroeter	R76	04/07/2006	Bojacá, Cundinamarca, 2598
Rosaceae	<i>Prunus sherotina</i> E.H.R. spp. Capuli	<i>Tranzschelia arthurii</i> Tranzschel & Litvinov	R79	04/07/2006	El rosal, Cundinamarca, 2600
Poaceae	<i>Holcus lanatus</i> L.	<i>Puccinia coronata</i> Corda	R83	04/07/2006	Subachoque, Cundinamarca, 3000
Solanaceae	<i>Solanum tuberosum</i> L.	<i>Puccinia pittieriana</i> Henn.	R84	04/07/2006	Subachoque, Cundinamarca, 3000
Betulaceae	<i>Alnus acuminata</i> Kunth	<i>Melampsoridium hirsutikanum</i> S. Ito	R87	04/07/2006	Subachoque, Cundinamarca, 3000
Polygonaceae	<i>Rumex acetosella</i> L.	<i>Puccinia acetosae</i> (Schum.) Korn.	R89	04/07/2006	Subachoque, Cundinamarca, 2700
Liliaceae	<i>Gladiolus</i> sp.	<i>Uromyces gladioli</i> Henn.	R92	05/07/2006	Villa Pinzón, Cundinamarca, 2940
Solanaceae	<i>Solanum tuberosum</i> L.	<i>Puccinia pittieriana</i> Henn.	R95	05/07/2006	Zapauira, Cundinamarca, 3162
Solanaceae	<i>Solanum tuberosum</i> L.	<i>Puccinia pittieriana</i> Henn.	R97	05/07/2006	Zapauira, Cundinamarca, 3262
Asteraceae	<i>Achyrocline alata</i> DC.	<i>Puccinia investita</i> Schw.	R103	24/07/2006	Zapauirá, Cundinamarca, 2950
Fabaceae	<i>Desmodium intortum</i> (Mill) Ubr.	<i>Uromyces hedyseri-paniculati</i> (Schweinitz) Fartow.	R109	24/07/2006	Zapauirá-Pacho, Cundinamarca, 2040
Solanaceae	<i>Cestrum</i> sp.	<i>Pucciniospora</i> sp.	R111	24/07/2006	Zapauirá-Pacho, Cundinamarca, 2040
Polygonaceae	<i>Polygonum</i> sp.	<i>Puccinia polygoni-amphibii</i> Persoon	R118	25/07/2006	Tausa, Cundinamarca, 2931
Asteraceae	<i>Baccharis latifolia</i> (R.&P.) Pers.	<i>Uredo</i> sp.	R128	26/07/2006	Sora, Boyacá, 2800
Fabaceae	<i>Lupinus</i> sp.	<i>Chrysocelis lupini</i> Lagerheim & Dietel	R131	26/07/2006	Sora, Boyacá, 2880
Poaceae	<i>Calamagrostis</i> sp.	<i>Puccinia striiformis</i> Westend	R137	27/07/2006	Sogamoso, Boyacá, 3000
Poaceae	<i>Calamagrostis</i> sp.	<i>Puccinia striiformis</i> Westend	R136	27/07/2006	Sogamoso, Boyacá, 3000
Solanaceae	<i>Solanum nigrum</i> L.	<i>Puccinia imitans</i> Sydow	R150a	27/07/2006	Sogamoso, Boyacá, 3000
Solanaceae	<i>Solanum nigrum</i> L.	<i>Puccinia imitans</i> Sydow	R150b	27/07/2006	Sogamoso, Boyacá, 3000
Asteraceae	<i>Ageratina popayanense</i> (Hieron) King & H. Rob.	<i>Chardonniella gynoxidis</i> Kern	R156	27/07/2006	Sogamoso, Boyacá, 4000

CUADRO 1 (Continuación)
Uredinales colectados sobre diferentes hospedantes en la región andina de Colombia

TABLE 1 (Continued)
Uredinales collected on different plant hosts in the Colombian Andean region

Familia botánica	Planta hospedante	Especie de roya	Muestra*	Fecha de colección	Ubicación (Municipio, Departamento, msnm)
Solanaceae	<i>Solanum tuberosum</i> L.	<i>Puccinia pittieriana</i> Henn.	R157	27/07/2006	Sogamoso, Boyacá, 4000
Convolvulaceae	<i>Ipomoea</i> sp.	<i>Puccinia crassipes</i> Berkeley & Curtis	R158b	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 735
Rubiaceae	<i>Hemidiodia ocyimifolia</i> Schum	<i>Puccinia laterita</i> Berkeley & Curtis	R159	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 735
Asteraceae	<i>Mikania micrantha</i> H.B.K.	<i>Puccinia spegazzinii</i> De Toni	R160	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 735
Poaceae	<i>Chusquea</i> sp.	<i>Uredo chusqueae</i> Pardo-Cardona	R161	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 735
Rubiaceae	<i>Coffea arabica</i> L.	<i>Hemileia vastatrix</i> Berkeley & Broome	R162	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 735
Rubiaceae	<i>Coussarea</i> sp.	<i>Maravalia gitanensis</i> Ono.	R164	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 735
Asteraceae	<i>Sonchus</i> sp.	<i>Puccinia crici-oleracei</i> Persoon ex Desmazieres	R165	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 735
Rubiaceae	<i>Spermacoe</i> sp. (= <i>Hemidiodia</i>)	<i>Puccinia laterita</i> Berkeley & Curtis	R166	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 1420
Poaceae	<i>Melinis</i> sp.	<i>Uromyces setariae-italicae</i> Yoshino	R167	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 1420
Rubiaceae	<i>Spermacoe ocyimifolia</i> Willd. ex Roem. & Schult.	<i>Puccinia laterita</i> Berkeley & Curtis	R168	21/11/2006	Támesis, Antioquia, 1200
Asteraceae	<i>Baccharis trinervis</i> (Lam.) Pers.	<i>Puccinia chardonensis</i> Pardo-Cardona	R177a	20/11/2006	Támesis, Antioquia, 735
Asteraceae	<i>Baccharis trinervis</i> (Lam.) Pers.	<i>Puccinia chardonensis</i> Pardo-Cardona	R177b	21/11/2006	Támesis, Antioquia, 1200
Asteraceae	<i>Elephantopus mollis</i> H.B.K.	<i>Coleosporium elephantopidis</i> Berkeley & Curtis	R178	21/11/2006	Támesis, Antioquia, 1200
Cannaceae	<i>Canna indica</i> L.	<i>Puccinia thaliae</i> Dietel	R185	21/11/2006	Valparaiso, Antioquia, 1360
Fabaceae	<i>Aeschynomene</i> sp.	<i>Phakopsora melbomiae</i> (Arthur) Arthur	R188	21/11/2006	Valparaiso, Antioquia, 1360
Asteraceae	<i>Mikania micrantha</i> H.B.K.	<i>Puccinia spegazzinii</i> De Toni	R189	21/11/2006	Valparaiso, Antioquia, 1360
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i> L.	<i>Puccinia lantanae</i> Farlow	R190	21/11/2006	Valparaiso, Antioquia, 1360
Oxalidaceae	<i>Oxalis</i> sp.	<i>Puccinia oxalidis</i> Dietel & Ellis	R202	21/11/2006	Valparaiso, Antioquia, 1550
Asteraceae	<i>Verbesina</i> sp.	<i>Uredo</i> sp.	R205	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i> L.	<i>Prospodium tuberculatum</i> (Spegazzini) Arthur	R207	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Fabaceae	<i>Trifolium repens</i> L.	<i>Uromyces trifolii</i> (Hedwig, ex DC.) Fockel	R208	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Rosaceae	<i>Rubus urticifolius</i> Poir.	<i>Gerwasia rubi-urticifolii</i> (Mayor) Buritica	R209	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Malvaceae	<i>Sida poeppigiana</i> (K.Schum) Fryx	<i>Puccinia malvacearum</i> Bert.	R211	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Asteraceae	<i>Liabum</i> sp.	<i>Puccinia liabi</i> Mayor	R212	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Solanaceae	<i>Cestrum</i> sp.	<i>Pucciniosira</i> sp.	R213	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050

CUADRO 1 (Continuación)
Uredinales colectados sobre diferentes hospedantes en la región andina de Colombia

TABLE 1 (Continued)
Uredinales collected on different plant hosts in the Colombian Andean region

Familia botánica	Planta hospedante	Especie de roya	Muestra*	Fecha de colección	Ubicación (Municipio, Departamento, msnm)
Lamiaceae	<i>Salvia</i> sp.	<i>Puccinia impedita</i> Manis & Holway	R214	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Poaceae	<i>Melinis minutiflora</i> Beauv.	<i>Uromyces setariae-italicae</i> Yoshino	R215	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Lamiaceae	<i>Salvia</i> sp.	<i>Puccinia impedita</i> Manis & Holway	R216	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 2050
Piperaceae	<i>Piper</i> sp.	<i>Puccinia peperomiaae</i> Lindquist	R218	22/11/2006	Caramanta, Antioquia, 1550
Asteraceae	<i>Oligacthis</i> sp.	<i>Puccinia</i> sp.	R219	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Asteraceae	<i>Oligacthis</i> sp.	<i>Puccinia</i> sp.	R220	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Apocynaceae	<i>Mexechites</i> sp.	<i>Hemileia colombiana</i> Buriticá	R221	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Asteraceae	<i>Austroeupeatorium</i> sp.	<i>Puccinia eupatorii-columbiana</i> Mayor	R222	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Convolvulaceae	<i>Ipomoea</i> sp.	<i>Coleosporium ipomoeae</i> Burrl	R223	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Asteraceae	<i>Verbena</i> sp.	<i>Puccinia garcesispora</i> Pardo-Cardona	R225	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Asteraceae	<i>Oligacthis</i> sp.	<i>Puccinia</i> sp.	R226	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Solanaceae	<i>Solanum</i> sp.	<i>Chrysocylus cestrí</i> (Diétel & Hennings) Syd.	R227	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Euphorbiaceae	<i>Croton</i> sp.	<i>Aeciure</i> sp.	R229	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Fabaceae	<i>Desmodium intortum</i> (Mill) Ubr.	<i>Uromyces hedyari-paniculati</i> (Schweinitz) Farlow.	R230	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Asteraceae	<i>Acmella nuttíi</i> (H.B.K) Cassini	<i>Puccinia crnic-oleracet</i> Persoon ex Desmazieres	R231	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Convolvulaceae	<i>Ipomoea</i> sp.	<i>Coleosporium ipomoeae</i> Burrl	R232	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Asteraceae	<i>Verbena</i> sp.	<i>Uredo</i> sp.	R233	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 2010
Rosaceae	<i>Rubus glaucus</i> Benth.	<i>Gerwastia andinus</i> (P.magnus) Buriticá, Salazar	R234	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 1985
Rosaceae	<i>Rubus glaucus</i> Benth.	<i>Gerwastia andinus</i> (P.magnus) Buriticá, Salazar	R236	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 1985
Euphorbiaceae	<i>Croton</i> sp.	<i>Arthuria</i> sp.	R237	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 1985
Malpighiaceae	<i>Stigmaphyllon</i> sp.	<i>Puccinia circinata</i> (Arthur) Winter	R238	23/11/2006	Quinchia, Risaralda, 1985
Oxalidaceae	<i>Oxalis</i> sp.	<i>Puccinia oxalidis</i> Diétel & Ellis	R4U	1/09/2005	Medellín, Antioquia, 1538

* Todos los especímenes han sido depositados en el Museo Micológico de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín (MMUNM).

forma, color, ornamentación, número y posición de poros; dimensiones; tamaño de la pared apical y lateral; presencia, posición, ornamentación y largo de pedicelos; presencia de estructuras estériles como parafisos y peridio. Cada muestra fue comparada con especímenes de referencia ubicados en la colección del MMUNM y la Colección Nacional de Royas de Colombia de la Facultad de Ciencias Agropecuarias. Además se utilizaron las monografías taxonómicas de hongos Uredinales (Cummins 1940, 1971, 1978, Buriticá & Hennen 1980, Hennen *et al.* 1982, Cummins & Hiratsuka 1991, Buriticá 1991, 1994, 1999 a,b, Pardo-Cardona 1999, Salazar 2002, Hennen *et al.* 2005, Salazar *et al.* 2007) y las bases de datos del *Index Fungorum* (CABI *et al.* 2008) y del catálogo de especies tipo de hongos roya del Jardín Botánico de New York (The New York Botanical Garden Herbarium 2003).

Extracción de ADN: De cada una de las royas se realizó la extracción de ácidos nucleicos mediante dos metodologías: método convencional CTAB 2X/Fenol/Cloroformo y Kit comercial DNAeasy Plant Mini (Qiagen, CA, EEUU), cuyo procedimiento se basó en las instrucciones del fabricante. En ambos casos se partió de uno o varios soros, que dependen de su tamaño y grado de esporulación, y se toma la menor cantidad de tejido vegetal posible para su ubicación en un tubo eppendorf de 1.8mL. En el método convencional los tubos se colocaron en un recipiente con nitrógeno líquido para proceder a la maceración del tejido en presencia de 200µL del buffer CTAB 2X (CTAB 2%, NaCl 1.4M, EDTA 20mM, Tris-HCl 100mM pH 8.0) y 1% de β-Mercaptoetanol, incubándose a 65°C durante 10min. Luego se separó la fase orgánica mediante 1vol. de fenol:cloroformo (1:1) y se centrifugó a 13 000 rpm por 10min. De acuerdo al grado de pureza del sobrenadante, este procedimiento se repitió, pero con el uso de un sólo vol de cloroformo. Para precipitar los ácidos nucleicos se emplearon 2vol de etanol absoluto y 0.1vol de acetato de sodio 3M, y se colocaron los tubos a -20°C durante al menos 30min, tiempo después del

cual se centrifugó a 13 000 rpm por 15min. El microprecipitado resultante se lavó con etanol al 70% y finalmente se resuspendió en 20µL de agua destilada estéril, para su utilización en las ampliaciones de PCR. La cantidad de ADN obtenida se determinó por espectrofotometría a 260nm de longitud para lo cual se utiliza un espectro Thermo Scientific, Genesys 6 (Waltham, MA, EEUU).

Amplificación y secuenciación del ADNr

28S: Para la PCR se emplearon los cebadores LROR (5' ACC CGC TGA ACT TAA GC 3') y LR6 (5' CGC CAG TTC TGC TTA CC 3') que amplifican una región del extremo 5' de la subunidad grande del ADNr que contiene los dominios D1 y D2, ampliamente utilizados para estudios filogenéticos de hongos (Guedet *et al.* 1989, Hopple & Vilgalys 1999). La amplificación de PCR se realizó en un termociclador T3 (Biometra, Göttingen, Alemania) y consistió de una modificación del programa propuesto por Vogler & Bruns (1998), con una desnaturalización inicial a 94°C por 3min, seguido por 35 ciclos de 94°C por 1.30min, 50°C por 1min, 72°C por 1min y una extensión final a 72°C por 7min. Las reacciones se realizaron en un volumen total de 25 µL, que contiene 0.5µM de cada cebador, 1U de Taq ADN polimerasa recombinante (Fermentas, Vilnius, Lithuania), 0.2mM de cada dNTP, 1X de buffer de enzima (100mM Tris-HCl pH 8.8, 500mM KCl, 0.8% Nonidet P40), 1.8mM MgCl₂, 1µL de ADN [100 - 1000ng/µL] y agua destilada estéril. Luego de la amplificación se tomaron 5µL de los productos de reacción para analizarlos por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% suplementado con 0.5 µg/mL de bromuro de etidio en buffer de corrido TBE 0.5X (45mM Tris-Borato, 1mM EDTA pH 8.0). La visualización de las bandas amplificadas se realizó bajo luz ultravioleta en un transiluminador automático Bio Doc Analyze (Biometra). Una vez definida la especificidad y tamaño de los productos amplificados, se procedió a su purificación utilizando los kits Wizard PCR Preps ADN Purification System (Promega, Madison, EEUU) y QIAquick PCR Purification Kit

(Qiagen, CA, USA) para proceder a su secuenciación directa mediante el sistema Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (PE Applied Biosystems, Foster City, EEUU) y su corrido en un secuenciador ABI Prism 3730xl (PE Applied Biosystems) de la compañía Macrogen (Corea del Sur).

Las secuencias obtenidas con cada cebador, fueron editadas mediante el software BioEdit 6.0.6 y Chromas 1.45, se construyeron secuencias consenso y se confirmó su validez por comparación con las bases de datos moleculares, mediante el programa BLASTn (NCBI 2007). Paralelamente, se obtuvieron del GenBank secuencias de la subunidad 28S del ADNr de hongos roya representativos de las 13 familias propuestas por Cummins & Hiratsuka

(2003) (Cuadro 2), para su alineamiento con las generadas en este proyecto, mediante el software Clustal W. Como grupos externos de análisis (*outgroups*) se utilizaron las secuencias de los Basidiomycetes: *Septobasidium carestianum* Bres. y *Eocronartium muscicola* Pers., seleccionados con base en los resultados de Maier *et al.* (2003). El análisis filogenético se realizó utilizando el método de Máxima parsimonia (MP) con búsqueda heurística y TBR (*tree-bisection-reconnection*) mediante el software PAUP 4.0b10 (Swofford 1998) con base en 1 000 remuestros y tratando los *gaps* como quinta base. El soporte de la topología interna del dendrograma fue evaluado mediante análisis de *bootstrap* con 1 000 remuestros o iteraciones (Felsenstein 1985).

CUADRO 2

Especies de Uredinales cuyas secuencias de la región 28S del ADN ribosomal se obtuvieron del GenBank para el análisis filogenético

TABLE 2

Species of Uredinales whose 28S rDNA sequences were obtained from GenBank for phylogenetic analysis

Especie de roya	Planta hospedante	Origen	Accesión del GenBank
<i>Aecidium kalanchoe</i>	<i>kalanchoe blossfeldiana</i>		AY463163
<i>Battistopsora crucis-filii</i>	<i>Annona</i> sp.	Guyana	DQ354539
<i>Blastospora smilacis</i>	<i>Smilax sieboldii</i>	Japón	DQ354568
<i>Chrysomyxa arctostaphyli</i>			AY700192
<i>Coleosporium asterum</i>	<i>Solidago</i> sp.	Tennessee, EEUU	DQ354559
<i>Cronartium ribicola</i>	<i>Ribes</i> sp.	Virginia, EEUU	DQ354560
<i>Cumminsia mirabilissima</i>	<i>Mahonia aquifolium</i>	Alemania	DQ354531
<i>Dietelia portoricensis</i>	<i>Mikania micrantha</i>	Costa Rica	DQ354516
<i>Endocronartium harknessii</i>			AY700193
<i>Endoraecium acaciae</i>	<i>Acacia koa</i>	Hawaii, EEUU	DQ323916
<i>Endoraecium hawaiiense</i>	<i>Acacia koa</i>	Hawaii, EEUU	DQ323920
<i>Frommeella mexicana</i>	<i>Duchesnea</i> sp.	Maryland, EEUU	DQ354553
<i>Gymnoconia peckiana</i>	<i>Rubus (Uredo)</i>	Massachusetts, EEUU	DQ521421
<i>Gymnosporangium juniperi-virginianae</i>	<i>Malus domestica</i>	Virginia, EEUU	DQ354547
<i>Hemileia vastatrix</i>	<i>Coffea Arabica</i>	México	DQ354566
<i>Kuehneola uredinis</i>	<i>Rubus argutus</i>	Carolina del Norte, EEUU	DQ354551
<i>Kweilingia divina</i>	<i>Bambusa</i> sp.	Costa Rica	DQ354554
<i>Melampsora epitea</i>	<i>Salix</i> sp.	Washington, EEUU	DQ354564
<i>Melampsoridium betulinum</i>	<i>Alnus</i> sp.	Costa Rica	DQ354561
<i>Mikronegeria alba</i>	<i>Nothofagus nervosa</i>	Argentina	DQ354569
<i>Miyagia pseudosphaeria</i>	<i>Sonchus oleraceus</i>	California, EEUU	DQ354517

CUADRO 2 (Continuación)
Especies de Uredinales cuyas secuencias de la región 28S del ADN ribosomal se obtuvieron del GenBank
para el análisis filogenético

TABLE 2 (Continued)
Species of Uredinales whose 28S rDNA sequences were obtained from GenBank for phylogenetic analysis

Especie de roya	Planta hospedante	Origen	Accesión del GenBank
<i>Naohidemyces vaccinii</i>	<i>Vaccinium ovatum</i>	Washington, EEUU	DQ354563
<i>Olivea scitula</i>	<i>Vitex doniana</i>	Zambia	DQ354541
<i>Phakopsora pachyrhizi</i>	<i>Glycyne max</i>	Zimbabwe	DQ354537
<i>Phakopsora tecta</i>	<i>Commelina diffusa</i>	Costa Rica	DQ354535
<i>Pileolaria brevipes</i>	<i>Toxicodendron</i> sp.	EEUU	DQ323924
<i>Pileolaria marginata</i>			DQ242594
<i>Pileolaria</i> sp.			DQ242597
<i>Pileolaria toxicodendri</i>			AY745698
<i>Prospodium lippiae</i>	<i>Aloysia polystachya</i>	Argentina	DQ354555
<i>Puccinia arundinariae</i>	<i>Arundinaria</i> sp.	Virginia, EEUU	DQ415277
<i>Puccinia caricis</i>	<i>Grossularia</i> sp.	EEUU	DQ354514
<i>Puccinia convolvuli</i>	<i>Calystegia sepium</i>	Maryland, EEUU	DQ354512
<i>Puccinia coronata</i>	<i>Rhamnus cathartica</i>	Dakota del Norte, EEUU	DQ354526
<i>Puccinia hemerocallidis</i>	<i>Hemerocallis</i> sp.	Alabama, EEUU	DQ354519
<i>Puccinia hordei</i>	Poaceae (Indeterminada)	California, EEUU	DQ354527
<i>Puccinia kuehnii</i>	<i>Saccharum cultivar</i> CP80-1743	Florida, EEUU	EU164549
<i>Puccinia malvacearum</i>	<i>Alcea</i> (Estado telial)	Massachusetts, EEUU	EF561641
<i>Puccinia melanocephala</i>	<i>Saccharum cultivar</i> CP05-1592	Florida, EEUU	EU164548
<i>Puccinia menthae</i>	<i>Cunila origanoides</i>	Maryland, EEUU	DQ354513
<i>Puccinia physalidis</i>	<i>Physalis lanceolata</i>	Dakota del Norte, EEUU	DQ354522
<i>Puccinia poarum</i>	<i>Tussilago</i> (Asteraceae)	New Hampshire, EEUU	DQ831028
<i>Puccinia podophylli</i>	<i>Podophyllum peltatum</i>	Maryland, EEUU	DQ354543
<i>Puccinia smilacis</i>	<i>Smilax rotundifolia</i>	Maryland, EEUU	DQ354533
<i>Puccinia violae</i>	<i>Viola cucullata</i>	Maryland, EEUU	DQ354509
<i>Pucciniastrum circaeae</i>			AY745697
<i>Puccinosira pallidula</i>	<i>Triumfetta semitriloba</i>	Venezuela	DQ354534
<i>Ravenelia echinata</i> var. <i>ectypa</i>	<i>Calliandra formosa</i>	Argentina	DQ323925
<i>Ravenelia macrocarpa</i>	<i>Senna subulata</i>	Argentina	DQ323926
<i>Sphenospora kevorkianii</i>	<i>Stanhopea candida</i>	Perú	DQ354521
<i>Trachyspora intrusa</i>	<i>Alchemilla vulgaris</i>	Suiza	DQ354550
<i>Tranzschelia discolor</i>	<i>Prunus domestica</i>	Iran	DQ354542
<i>Uredinopsis</i> sp.			AF522181
<i>Uredo baruensis</i>		Guyana	DQ021883
<i>Uromyces appendiculatus</i>			AY745704
<i>Uromyces ari-triphylli</i>	<i>Arisaema triphyllum</i>	Maryland, EEUU	DQ354529
<i>Uromyces viciae-fabae</i>			AY745695
<i>Uromycladium fusisporum</i>	<i>Acacia salicina</i>	Australia	DQ323921
<i>Uromycladium tepperianum</i>	<i>Acacia saligna</i>	Sur África	DQ323922
<i>Septobasidium taxodii</i>			DQ241499
<i>Eocronartium muscicola</i>			AF014825

RESULTADOS

Colección de muestras: En total se identificaron 100 especímenes de hongos roya con base en sus caracteres morfológicos a partir de 238 muestras de hospedantes (Cuadro 1). Del total de muestras identificadas, 25 fueron obtenidas de plantas de la familia Asteraceae y 14 de la familia Solanaceae. Una sola roya fue obtenida de plantas de las familias Alstroemeriaceae, Apiaceae, Apocynaceae, Bromeliaceae, Cannaceae, Cucurbitaceae, Denstaedtiaceae, Liliaceae, Malvaceae, Moraceae y Piperaceae; dos de Betulaceae, Lamiaceae, Malpighiaceae y Oxalidaceae; tres de Convolvulaceae y Verbenaceae; cuatro pertenecieron a Euphorbiaceae y Polygonaceae; seis a Rubiaceae, siete a Rosaceae y nueve a Fabaceae y Poaceae. No fue posible identificar botánicamente una muestra por falta de material (Cuadro 1).

Caracterización morfológica: Las 100 muestras identificadas correspondieron a 61 especies diferentes con la siguiente distribución: dos especies de las familias Pucciniastreae, Coleosporiaceae, Mikronegeriaceae, Uropixydaceae, Phragmidiaceae; tres especies de Chaconiaceae; cuatro especies de Pucciniosiraceae y Phakopsoraceae; 33 especies de Pucciniaceae y siete muestras correspondieron a estados anamórficos identificados como *Uredo* sp. y *Aecidium* sp. En el Cuadro 3 se presentan los resultados de las mediciones de los estados esporóicos encontrados en un representante de las 61 especies identificadas. Las dimensiones corresponden al formato: medición mínima - medición máxima (promedio; desviación estándar). Las descripciones para cada especie se encuentran disponibles en el material anexo asociado a este manuscrito.

Amplificación y secuenciación de ADNr 28S: Con la metodología de extracción de ADN convencional se obtuvieron 68 amplicones. En aquellas muestras en las que luego de varios intentos de amplificación por PCR no fue posible obtener el fragmento esperado, se procedió a la extracción de ADN mediante

el kit comercial de Qiagen, se obtuvieron 32 amplicones adicionales. La secuenciación del fragmento amplificado se realizó en ambas direcciones en reacciones individuales con cada uno de los cebadores utilizados en el PCR. Luego de varios intentos, se obtuvieron ambas secuencias en 40 de las royas recolectadas, no se incluyeron en el análisis posterior las royas para las que se generaron secuencias en un sólo sentido, pues esto implicaba reducir el número de sitios para el análisis de MP. Una vez editadas las secuencias y construidos los consensos, se determinó que el tamaño de este fragmento oscilaba entre 1 080 y 1 170 pb, según la especie de roya. Pero, con el fin de homogenizar los extremos de las secuencias, fue necesaria su edición, obteniéndose entre 1 000 y 1 100 pb. Las secuencias fueron depositadas en el GenBank y sus números de accesión se registran en el Cuadro 3.

Análisis filogenético: Para el análisis filogenético se incluyeron secuencias de 89 especímenes, 49 obtenidas del Genbank y las 40 generadas en esta investigación. El alineamiento final de las secuencias alcanzó 1 176 sitios, de los cuales 434 caracteres eran constantes, 236 variables pero no informativos y 506 informativos. La longitud del árbol filogenético con máxima parsimonia fue de 4 585, con índices de consistencia (IC) y retención (IR) de 0.315 y 0.53, respectivamente (Fig. 2). En el dendrograma se presentaron siete clados bien definidos, algunos de los cuales contienen subgrupos internos, así como ramas individuales (Fig. 2).

El clado I albergó un alto número de especímenes (29) recolectados en esta investigación, así como secuencias obtenidas del GenBank que representan especies de los géneros *Puccinia*, *Uromyces*, *Cumminsia* y *Miyagia*, razón por la cual se infiere que este grupo corresponde a la familia Pucciniaceae. Adicionalmente, el clado incluyó la secuencia de referencia de *Aecidium kalanchoe*, lo que puede implicar que este taxón represente el estado anamórfico de una especie de la familia Pucciniaceae. Un aspecto relevante del análisis, es el hecho que aquellos especímenes identificados

TABLE 3
Measurements of spores of 28S rDNA sequenced rust fungi collected from different plant hosts in the Colombian Andean region

Espece de Roya	Muestra	Estado Espórico	Ancho de la espóra Min-Max (Prom; Ds)	Longitud de la espóra Min-Max (Prom; Ds)	Pared Lateral Min-Max (Prom; DS)	Pared Superior Min-Max (Prom; Ds)	Accesión*
<i>Uredo zeugites</i>	R6	Uredo	18.75-22.5 (21.04; 1.66)	22.5-25 (23.75; 1.36)	1.25-2.25 (1.7; 0.4)		EU851155
<i>Uromyces trifolii</i>	R9	Telio	20-25 (22.5; 2.23)	22.5-27.5 (25; 1.58)	2.25-2.5 (2.37; 0.13)		GU936634
<i>Puccinia vernoniae-mollis</i>	R10	Telio	22.5-27.5 (23.75; 2.09)	35-42.5 (38.33; 3.02)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)		EU851151
<i>Puccinia baccharidis</i>	R12	Telio	30-45 (36.66; 4.91)	100-125 (109.58; 8.72)	2.5-3.75 (2.7; 0.51)	5-12.5 (9.58; 2.45)	
<i>Chardoniella gynoxidis</i>	R13	Telio	17.5-22.5 (20.41; 1.88)	47.5-55 (50.83; 2.58)	2.5-3.75 (2.70; 0.51)	12.5-17.5 (15.83; 2.04)	EU851134
<i>Chrysocelis muelhlenbeckiae</i>	R14	Telio	12.5-20 (15.83; 3.02)	62.5-112.5 (83.75; 19.41)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		EU851158
<i>Uromyces novissimus</i>	R20	Telio	20-25 (22.91; 1.88)	48-52.5 (49.58; 1.88)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)	7.5-10 (8.75; 1.36)	EU851147
	R21	Uredo	20-30 (26.67; 2.04)	28-32.5 (30.41; 1.88)	1.3 - 2.5 (1.583; 0.54)		
<i>Pucciniosira solani</i>	R21	Telio	22.5-32.5 (25.83; 3.41)	47.5-65 (56.25; 6.07)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)	5-10 (7.29; 1.66)	EU851140
<i>Phakopsora apoda</i>	R24	Telio	15-22.5 (17.5; 3.16)	22.5-30 (25.41; 2.92)	1.25-1.75 (1.33; 0.20)		
<i>Puccinia circinata</i>	R25	Uredo	30-32.5 (31.66; 1.29)	35-47.5 (40; 4.18)	2.5-5 (3.75; 0.79)	7.5-12.5 (9.5; 2.09)	
<i>Uredinopsis pteridis</i>	R26	Uredo	15-20 (17.91; 2.45)	37.5-52.5 (45.83; 5.16)	1.25-2.5 (2.12; 0.49)		
<i>Puccinia hydrocotyles</i>	R27	Uredo	20-22.5 (20.41; 1.02)	20-30 (25.41; 3.32)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		GU936635
<i>Uromyces cestri</i>	R30	Ascio	22.5-25 (22.91; 1.02)	25-30 (27.91; 1.88)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		EU851136
<i>Tranzschelia arthurii</i>	R38	Uredo	15-17.5 (15.83; 1.29)	25-32.5 (29.16; 2.58)	1.25-1.5 (1.29; 0.10)	3.75-5 (4.79; 0.51)	
<i>Prosopodium tuberculatum</i>	R44	Uredo	17.5-22.5 (19.58; 1.88)	17.5-27.5 (22.5; 3.53)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		
<i>Aecium</i> sp.	R50	Ascio	17.5-25 (22.08; 2.45)	25-30 (27.5; 1.58)	1.75-2.5 (2.37; 0.30)		
<i>Gervasia lagerheimii</i>	R54	Telio	12.5-17.5 (15.83; 2.04)	57.5-65 (60.41; 3.32)			
	R55	Uredo	20-22.5 (20.83; 1.29)	20-27.5 (23.75; 2.62)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		
<i>Melampsorium hiratsukanum</i>	R55	Uredo	12.5-17.5 (14.16; 2.04)	20-27.5 (23.75; 3.44)	2.25-2.5 (2.45; 0.10)		
<i>Chardoniella</i> sp.	R72	Telio	25-30 (27.08; 1.88)	55-62.5 (59.58; 3.68)	2.5-5 (2.9; 1.02)	10-12.5 (12.08; 1.02)	EU851133
<i>Puccinia coronata</i>	R73	Uredo	15-20 (17.91; 1.88)	17.5-22.5 (20.41; 1.88)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		EU851141
<i>Uromyces viciae-fabae</i>	R76	Uredo	17.5-20 (19.58; 1.02)	25-30 (27.08; 1.88)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		
<i>Puccinia acetosae</i>	R89	Uredo	20-22.5 (21.66; 1.29)	22.5-30 (26.25; 2.62)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		
<i>Uromyces gladioli</i>	R92	Uredo	15-17.5 (16.66; 1.29)	17.5-22.5 (20.83; 2.04)	2-2.5 (2.41; 0.20)		GU936633
<i>Puccinia investita</i>	R103	Telio	20-27.5 (25; 2.73)	47.5-55 (51.25; 2.62)	1.25-2.5 (2.29; 0.51)	10-12.5 (10.83; 1.29)	

CUADRO 3 (Continuación)
Dimensiones de las esporas de los hongos roya secuenciados en su región 28S del ADNr y colectados sobre diferentes hospedantes en la región andina de Colombia

TABLE 3 (Continued)
Measurements of spores of 28S rDNA sequenced rust fungi collected from different plant hosts in the Colombian Andean region

Espece de Roya	Muestra	Estado Espórico	Ancho de la espóra Min-Max (Prom; Ds)	Longitud de la espóra Min-Max (Prom; Ds)	Pared Lateral Min-Max (Prom; DS)	Pared Superior Min-Max (Prom; Ds)	Accesión*
<i>Uromyces hecysari-paniculati</i>	R109b	Telio	20-20 (20; 0.0)	22.5-27.5 (24.16; 2.04)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)	
<i>Puccinotosta</i> sp.	R111	Uredo	17.5-20 (19.58; 1.02)	22.5-25 (24.16; 1.29)	1.25-2 (1.37; 0.30)		
<i>Puccinia polygoni-amphibii</i>	R118	Telio	17.5-27.5 (24.58; 3.68)	45-55 (48.75; 3.44)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		EU851145
<i>Uredo</i> sp.	R128	Uredo	22.5-25 (23.33; 1.29)	25-30 (27.08; 1.88)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)	3.75-5 (4.79; 0.51)	
<i>Chrysocelis lupini</i>	R131	Uredo	20-20 (20; 0.0)	22.5-35 (27.5; 4.74)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)		EU851161
<i>Puccinia striformis</i>	R136	Telio	10-17.5 (13.33; 2.58)	42.5-57.5 (51.25; 5.184)	0.5-1.25 (0.62; 0.30)		
<i>Puccinia crassipes</i>	R158b	Aecio	20-32.5 (24.58; 4.30)	25-30 (26.66; 2.041)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		EU851139
<i>Puccinia laterita</i>	R159	Uredo	20-22.5 (21.25; 1.36)	22.5-27.5 (25; 2.23)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)		
<i>Puccinia spegazzinii</i>	R160	Aecio	20-22.5 (20.41; 1.02)	25-30 (26.25; 2.092)	2.5-4.5 (3.12; 0.83)		
<i>Uredo chusqueae</i>	R161	Telio	17.5-20 (19.58-1.02)	25-30 (27.91; 2.45)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)	EU851150
<i>Hemileia vastatrix</i>	R162	Telio	10-15 (12.08; 1.88)	45-55 (47.91; 4.0)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)	1.25-2.5 (2.08; 0.64)	EU851156
<i>Maravalia gutianensis</i>	R164	Uredo	15-17.5 (16.66; 1.29)	17.5-27.5 (23.33; 3.41)	1.25-2.5 (1.87; 0.68)		EU851143
<i>Puccinia cnici-oleracei</i>	R165	Uredo	12.5-27.5 (21.66; 5.16)	27.5-30 (29.16; 1.29)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)	3.75-7.5 (5.20; 1.22)	GU936637
<i>Uromyces setariae-italicae</i>	R167	Telio	15-17.5 (15.83; 1.29)	35-47.5 (42.5; 4.74)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)		
<i>Puccinia chardoniensis</i>	R177	Telio	20-27.5 (23.75; 2.62)	25-27.5 (25.83; 1.29)	1.25-2.5 (2.29; 0.510)		
<i>Coleosporium vernoniae</i>	R178	Uredo	22.5-25 (22.91; 1.02)	25-32.5 (27.5; 3.16)	2.5-2.5 (2.50; 0.0)		EU851149
<i>Puccinia thaliae</i>	R185	Telio	17.5-20 (18.75; 1.36)	32.5-50 (41.66; 6.64)	2.5-5 (2.91; 1.021)		EU851163
<i>Phakopsora meibomiae</i>	R188	Uredo	15-20 (17.5; 2.23)	22.5-30 (25; 3.16)	1.25-2.5 (2.16; 0.540)		EU851154
<i>Puccinia lantanae</i>	R190	Uredo	17.5-25 (20.83; 3.02)	27.5-37.5 (32.5; 4.74)	2.5-2.5 (2.50; 0.0)		EU851164
<i>Puccinia oxalidis</i>	R202	Uredo	12.5-15 (14.16; 1.29)	17.5-20 (18.75; 1.36)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)	2.5-3.75 (2.91; 0.64)	EU851144
<i>Uredo</i> sp.	R205	Telio	12.5-17.5 (14.16; 2.04)	22.5-30 (25; 3.16)	1.25-2.5 (1.45; 0.51)		EU851130
<i>Gerwasia rubi-articifolii</i>	R209	Uredo	15-17.5 (16.66; 1.29)	17.5-22.5 (20; 2.23)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)		
		Telio	22.5-27.5 (25; 2.23)	42.5-50 (47.08; 3.32)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)		
			15-17.5 (15.83; 1.29)	25-35 (30.83; 3.76)			

CUADRO 3 (Continuación)
Dimensiones de las esporas de los hongos roya secuenciados en su región 28S del ADNr y colectados sobre diferentes hospedantes en la región andina de Colombia

TABLE 3 (Continued)
Measurements of spores of 28S rDNA sequenced rust fungi collected from different plant hosts in the Colombian Andean region

Especie de Roya	Muestra	Estado Espórico	Ancho de la espóra		Longitud de la espóra		Pared Lateral		Pared Superior		Accesión*
			Min-Max (Prom; Ds)	Min-Max (Prom; Ds)	Min-Max (Prom; Ds)	Min-Max (Prom; Ds)	Min-Max (Prom; Ds)	Min-Max (Prom; Ds)			
<i>Puccinia malvacearum</i>	R211	Telio	17.5-22.5 (20; 2.23)	45-62.5 (51.66; 5.84)	2.5-2.5 (2.50; 0.0)	5-7.5 (5.41; 1.02)					
<i>Puccinia liabi</i>	R212	Telio	20-22.5 (21.66; 1.29)	37.5-47.5 (42.5; 3.87)	1.25-2.5 (2.29; 0.51)	5-10 (7.08; 1.88)					
<i>Puccinia impedita</i>	R214	Uredo	17.5-20 (19.16; 1.29)	20-22.5 (22.08; 1.02)	1.25-1.25 (1.25; 0.0)						EU851152
<i>Puccinia peperomiae</i>	R218	Uredo	15-20 (17; 1.58)	20-30 (23.75; 4.10)							EU851146
<i>Puccinia</i> sp.	R219	Ascio	20-27.5 (23.75; 2.62)	32.5-42.5 (35; 3.87)	1.25-2.5 (2.29; 0.51)						EU851165
<i>Hemileia colombiana</i>	R221	Uredo	20-25 (23.33; 2.04)	22.5-27.5 (25; 1.58)							EU851153
<i>Puccinia eupatorii-columbiana</i>	R222	Uredo	25-27.5 (26.25; 1.36)	28-37.5 (31.66; 4.08)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)						EU851160
<i>Coleosporium ipomoeae</i>	R223	Ascio	17.5-20 (19.16; 1.29)	20-32.5 (24.16; 4.37)	1.3-2.5 (1.45; 0.51)						
<i>Puccinia garcesispora</i>	R225	Telio	22.5-27.5 (23.75; 2.09)	40-50 (43.33; 4.08)	2.5-2.5 (2.5; 0.0)						
<i>Arthuria</i> sp.	R237	Uredo	15-22.5 (19.16; 3.41)	22.5-50 (34.16; 10.08)	2-2.5 (2.41; 0.20)						EU851162
<i>Puccinia pittieriana</i>		Telio	17-25 (21.3; 1.43)	22-37 (29.5; 5.61)	1-2.5 (1.75; 0.3)	2-5-5 (3.75; 0.76)					EU851138
<i>Chrysocylus cestri</i>	R227	Telio	12-15 (14.5; 1.23)	100-130 (117.5; 6.76)	1-1.5 (1.25; 0)						EU851157

* Números de accesión del GenBank para las especies de roya secuenciadas en la región 28S del ADNr. Los números de accesión para especies con varios especímenes secuenciados corresponden a: *Chardoniella gynoxidis*: EU851131, EU851132, EU851132, EU851135; *Puccinosira solani*: EU851137; *Puccinia striformis*: EU851142; *Puccinia spegazzinii*: EU851148; *Coleosporium ipomoeae*: EU851160.

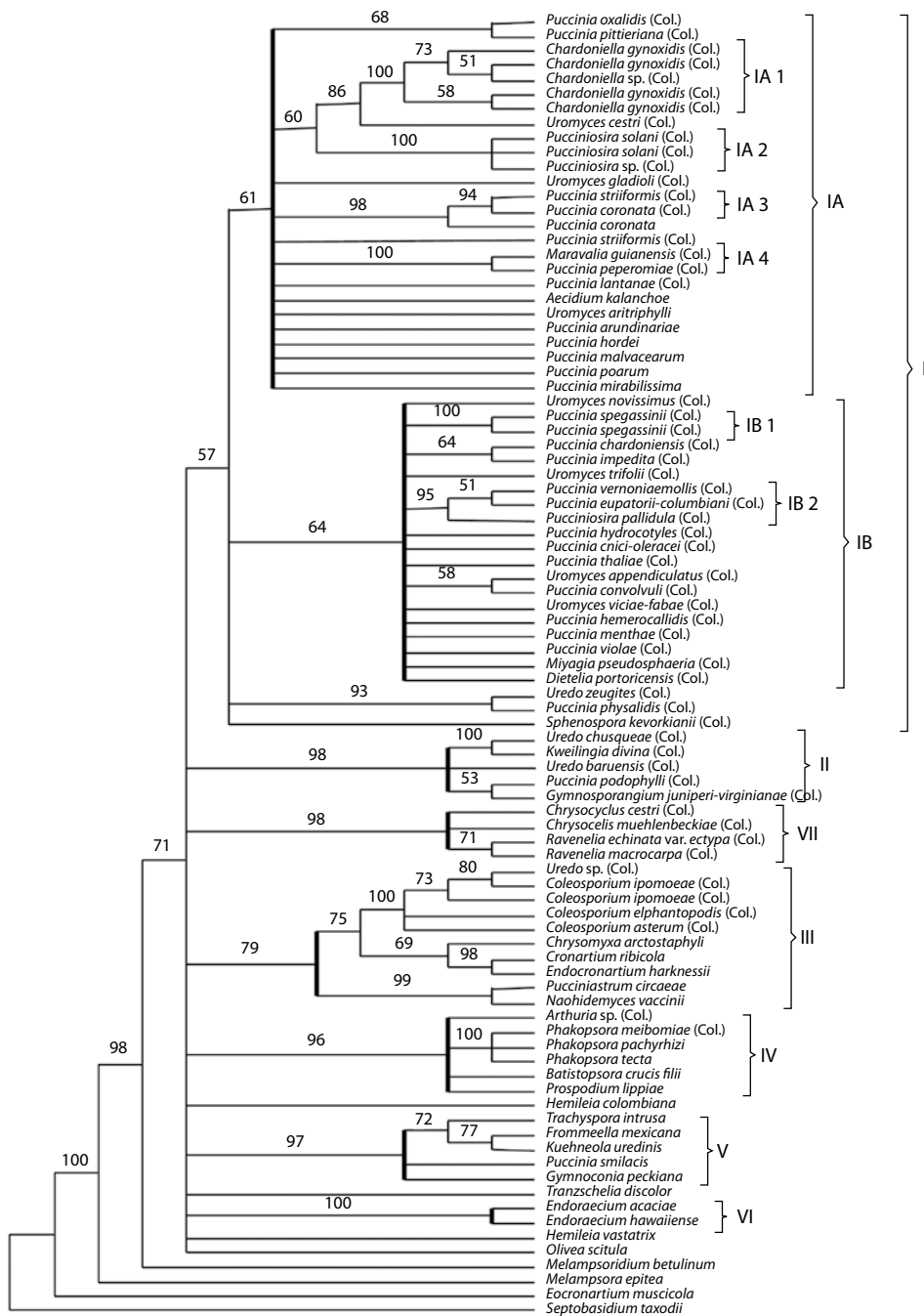


Fig. 2. Árbol filogenético generado mediante análisis de Máxima parsimonia con las secuencias del ADN ribosomal 28S de 87 hongos roya de Colombia (Col.) y otras regiones del mundo. Los números romanos indican los clados principales (ver texto) y los números ubicados sobre las ramas los valores de bootstrap (valores >50%).

Fig. 2. Phylogenetic tree constructed through Maxium parsimony analysis using the 28S ribosomal DNA sequences of 87 rust fungi from Colombia (Col.) and other countries. Roman numbers show main clades (see text for details) and numbers above branches are bootstrap values (values >50%).

morfológicamente como pertenecientes a los géneros *Chardoniella* y *Puccinosira*, adscritos a la familia Puccinosiraceae, fueron incluidos en este clado, al igual que las secuencias de referencia de las especies *Puccinosira pallidula* y *Dietelia portoricensis*. El clado I presentó dos subgrupos medianamente soportados por el análisis de *bootstrap*. El subgrupo IA, incluye cuatro clados bien soportados estadísticamente: IA-1: corresponde a varios especímenes identificados en este estudio como *Chardoniella gynoxidis* y *Chardoniella* sp.; IA-2: conformado por las especies identificadas como *Puccinosira solani* y *Puccinosira* sp.; IA-3: incluyó la secuencia referencia de *Puccinia coronata* y las especies identificadas morfológicamente en este estudio como *P. coronata* y *P. striiformis*; IA-4: contiene las especies *Puccinia peperomiae* y una especie del género *Maravalia* (*M. guianensis*). Los demás integrantes del subgrupo IA se presentan en ramas individuales o clados con bajo soporte estadístico.

El subgrupo IB presenta dos clados bien soportados, IB-1: incluye las especies *Puccinia spegazzinii*, mientras que IB-2 contiene las especies *P. vernoniae-mollis*, *P. eupatorii-colombiani* y *Puccinosira pallidula*. Los demás integrantes del subgrupo IB corresponden a ramas individuales o clados con bajo soporte estadístico donde están incluidos *P. cnici-oleracei*, *P. hydrocotyles*, *P. thaliae*, *U. novissimus* (recolectados en este trabajo) y la secuencia de referencia de la especie *Dietelia portoricensis*, entre otras.

El clado II se ubica en posición basal con respecto al clado I e incluye diferentes secuencias referencia de especies representativas de la familia Pucciniaceae: *Gymnosporangium juniperi-virginianae* y *Puccinia podophylli*, además contiene las especies anamórficas *Uredo chusqueae* y *U. baruensis*. La secuencia obtenida del GenBank de *Kweilingia divina*, adscrita a la familia Phakopsoraceae está incluida en este grupo, con un fuerte soporte estadístico y presenta una gran afinidad con el espécimen *U. chusqueae*.

El clado III está conformado por secuencias de especies representativas de las familias

Coleosporiaceae, Cronartiaceae y Pucciniaceae. Los únicos especímenes del clado, colectados en este estudio, fueron identificados morfológicamente como *Coleosporium ipomoea*, *C. vernoniae* y una espécimen anamórfico determinado como *Uredo* sp. Cada una de las familias incluidas en este clado presenta un fuerte soporte estadístico en el análisis de *bootstrap*.

El clado IV representa la familia Phakopsoraceae con secuencias de tres géneros: *Phakopsora*, *Arthuria* y *Batistopsora*. Además, el grupo incluye los especímenes colectados *Phakopsora meibomia* y *Arthuria* sp. El análisis asocia este grupo con la especie *Prospodium lippiae*, que pertenece a la familia Uropyxidaceae.

El clado V representa los miembros de la familia Phragmidiaceae al incluir secuencias de los géneros *Frommeella*, *Kuehneola*, *Trachyspora* y *Gymnoconia*.

El clado VI esta fuertemente soportado (100%) e incluye dos especies del género *Endorraecium*, perteneciente a la familia Pileolariaceae.

El clado VII está conformado únicamente por dos especies del género *Ravenelia* (familia Raveneliaceae), además de los especímenes colectados *Chrysocelis muehlenbeckiae* y *Chrysocyclus cestri*, que representan especies de las familias Mikronegeriaceae y Pucciniaceae, respectivamente.

Además de los clados mencionados, el árbol filogenético presenta una serie de especies dispersas a lo largo del dendrograma, entre las que se destacan el grupo formado por la especie recolectada *Uredo zeugites* y la secuencia de referencia de *Puccinia physalidis*; además de las especies *Sphenospora kevorkianii* (Raveneliaceae), asociados al clado I; mientras que las especies *Hemileia colombiana* y *H. vastatrix*, no se presentan relacionadas. Finalmente, se destaca que la ubicación taxonómica de las especies *Tranzschelia discolor* (Uropyxidaceae), *Olivea scitula* (Chaoniaceae), *Melampsorium betulinum* y *Melampsora epigea*, no es claramente definida por el análisis de MP realizado.

DISCUSIÓN

En este trabajo se realizó un estudio morfológico y filogenético basado en la secuenciación de la subunidad grande (28S) del ADNr de 40 hongos roya recolectados en la región andina de Colombia, estableciéndose sus afinidades con 47 especies (que incluyen especímenes tanto del trópico como de la zona templada), cuyas secuencias se encuentran disponibles en el GenBank y representan al menos un género de cada una de las trece familias propuestas por Cummins & Hiratsuka (2003). Esta investigación se realizó con el ánimo de incluir información referente a hongos roya neotropicales en los estudios recientes que tratan de dilucidar las relaciones evolutivas de los Uredinales y que buscan redefinir su sistema taxonómico.

La validez taxonómica del orden Uredinales (Pucciniales) dentro del Subphylum Pucciniomycotina, ha sido confirmada en dos estudio filogenéticos independientes que utilizaron las secuencias de las subunidades grande y pequeña del ADNr (Aime *et al.* 2006, Bauer *et al.* 2006), y que concluyeron que éste representa un grupo monofilético dentro de la Clase Pucciniomycetes; la cual comparte con los ordenes Platygoeales, Heliocobasidiales y Septobasidiales, grupos de los cuales fueron seleccionados los taxones externos empleados en nuestro estudio filogenético (*E. muscicola* y *S. taxodii*) y cuya ubicación en el análisis realizado, ocurrió en forma externa al grupo de los Uredinales.

Tradicionalmente, la taxonomía de los Uredinales se ha basado en el empleo de caracteres morfológicos, cuya ponderación ha variado dependiendo de cada uno de los sistemas planteados. Esta situación ha conducido a propuestas que dividen el orden en dos familias (Dietel 1928) basadas en la estructura de las teliosporas (Pucciniaceae: teliosoros erumpentes con teliosporas pediceladas y Melampsoraceae: teliosoros subepidermales, cubiertos y teliosporas sésiles), hasta clasificaciones más complejas que separan el grupo en 13 (Cummins & Hiratsuka 2003), 14 (Cummins & Hiratsuka 1983) ó 16 familias (Buriticá,

1999a,b), de acuerdo con la estructura de las teliosporas, el tipo de espermogonio, y en algunos casos las características de los aeciosoros, uredosporas y basidios (Hiratsuka & Hiratsuka 1980). Estudios filogenéticos recientes basados en la secuenciación del ADNr y de algunos genes nucleares (Maier *et al.* 2003, Wingfield *et al.* 2004, Aime 2006, Bauer *et al.* 2006, Van Der Merwe *et al.* 2007) revelan incongruencias a todos los niveles taxonómicos con la clasificación basada en caracteres morfológicos. Así por ejemplo, Maier *et al.* (2003) indican que los géneros *Puccinia*, *Pucciniastrum*, *Thekopsora* y *Uromyces* son claramente polifiléticos, mientras que Aime (2006) encontró que las familias Cronartiaceae, Pucciniastraceae y Pucciniosiraceae se presentan como redundantes, mientras que Chaconiaceae y Uropyxidaceae corresponden a taxones no naturales.

En nuestro estudio resultó evidente la separación de Pucciniaceae *sensu lato* del linaje Melampsoraceae *sensu lato* (Coleosporaceae, Pucciniastraceae, Cronartiaceae). Sin embargo, el primer grupo se presentó disperso a lo largo del dendrograma, mientras que Melampsoraceae *sensu lato* sí correspondió a un solo clado (III), aunque *Melampsora epigea*, la única especie analizada de la familia Melampsoraceae *sensu stricto*, se ubicó por fuera de ambos grupos, en posición basal. Esta situación fue igualmente encontrada por Maier *et al.* (2003), quienes proponen que el género *Melampsora* representa un linaje primitivo del orden Uredinales, caracterizado por su falta de especificidad y la diversidad de relaciones que sus especies establecen con sus hospedantes (Durrieu 1980). Es claro que esta hipótesis sólo puede ser confirmada incluyendo en análisis posteriores un mayor número de especímenes pertenecientes a este género y especialmente de hospedantes tropicales ancestrales, tales como los helechos.

El linaje Pucciniaceae *sensu lato* se caracteriza por presentar especies que cuando son heteroicas, desarrollan aecios sobre angiospermas. Este grupo ha sido subdividido por Cummins & Hiratsuka (2003) con base en el tipo de espermogonio en nueve familias:

Mikronegeriaceae, Phakopsoraceae, Chaconiaceae, Uropyxidaceae, Pileolariaceae, Raveneliaceae, Phragmidiaceae, Pucciniaceae y Puccinosiraceae. En nuestro análisis las siguientes familias corresponden a clados bien definidos con alto soporte estadístico: Pucciniaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae, Pileolariaceae y Mikronegeriaceae, aunque en algunos casos existen especies que no se agrupan en los clados representativos de dichas familias y que por tanto requieren un tratamiento taxonómico especial, siendo evidente esta situación con algunas especies del género *Puccinia*. Las familias Uropyxidaceae, Raveneliaceae y Chaconiaceae se presentan como polifiléticas, mientras que Puccinosiraceae es claramente un taxón redundante con Pucciniaceae. Estas conclusiones del análisis concuerdan con lo encontrado por Aime (2006) quien utilizó un grupo diferente de hongos roya y la combinación de dos regiones ribosomales para su estudio.

El linaje Melampsoraceae *sensu lato* está conformado por especies de royas que cuando son heteroicas desarrollan su estado aecial sobre plantas gimnospermas (Wingfield *et al.* 2004). Las familias Coleosporiaceae y Cronartiaceae definidas por Cummins & Hiratsuka (2003), se muestran como clados bien soportados en nuestro análisis, mientras que la familia Pucciniastraceae es polifilética y Melampsoraceae se presenta como un taxón independiente, que requiere un análisis posterior, tal como se mencionó anteriormente.

A continuación se realiza una discusión basada en las familias establecidas por Cummins & Hiratsuka (2003) con relación a los hallazgos de los análisis filogenéticos y morfológicos efectuados en este estudio y con énfasis en los especímenes colectados en la zona andina de Colombia.

Pucciniaceae Chevall

Esta familia comprende el mayor número de hongos roya del orden, con cerca de 7000 especies y 16 géneros, los géneros *Puccinia* y *Uromyces* fueron los más numerosos con

3000 y 600 especies, respectivamente (Kirk *et al.* 2001, Cummins & Hiratsuka 2003). El clado que representa esta familia en el análisis filogenético aparece dividido en dos subgrupos (IA y IB), los que a su vez presentan indistintamente especies de *Puccinia* y *Uromyces* colectadas en Colombia y en otras regiones del mundo, y se demostró la naturaleza polifilética de dichos géneros. Esta situación fue confirmada por dos estudios recientes realizados con base en secuencias de los genes nucleares EF 1 α y β -tub (Van Der Merwe *et al.* 2007) y de la subunidad grande del ADNr (Maier *et al.* 2007), en los cuales se analizó un alto número de especies y se determinó que la principal característica morfológica empleada para diferenciar dichos géneros (número de células presentes en las teliosporas), no corresponde a un carácter filogenéticamente informativo. En dichos estudios se encontró que efectivamente las especies tipo de estos géneros (*P. graminis* y *U. appendiculatus*) representan linajes diferentes, situación que coincide en esta investigación con la ubicación de *U. appendiculatus* en un subgrupo diferente a las especies de *Puccinia* colectadas sobre plantas de la familia Poaceae (*P. coronata*, *P. striiformis*), las cuales están estrechamente relacionadas con *P. graminis* (Maier *et al.* 2007). En el subgrupo IA, se incluye además un representante del género *Cumminsiella* y de la especie anamórfica *Aecidium kalanchoe*. El primero se diferencia del género *Puccinia* por presentar dos poros por cada célula de las teliosporas, sin embargo la validez filogenética de este género requiere del análisis de un mayor número de especies.

Una confirmación importante de este estudio con respecto a los trabajos de Wingfield *et al.* (2004), Aime (2006) y Van Der Merwe *et al.* (2007), corresponde a la redundancia de las familias Pucciniaceae y Puccinosiraceae. Según Buriticá & Hennen (1980), las royas de esta última familia son derivadas principalmente de especies de ciclo largo del complejo *Puccinia-Uromyces*, géneros que también resultaron polifiléticos. Interesantemente, estos autores en su monografía de *Puccinosiraceae*, sugerían la necesidad de tratar esta familia

como una tribu dentro de Pucciniaceae, caracterizada por presentar royas autoicas con ciclo reducido, telioporas en cadena que asemejan aeciosporas y que frecuentemente presentan células intercaladas o estructuras similares a pedicelos. La ubicación de las especies recolectadas pertenecientes a la tribu *Puccinosiireae* en la parte superior del árbol, sugiere que estas royas son uno de los grupos más evolucionados dentro de los Uredinales incluidos en este análisis, lo cual también es evidenciado por el alto nivel evolutivo de sus hospedantes (ej. Asteraaceae: *Chardonniella* spp). La separación de las especies del género *Puccinosira* recolectadas en nuestro estudio con respecto a la especie cuya secuencia se obtuvo del GenBank (*P. pallidula*) puede ser explicada por las diferencias evidentes entre sus hospedantes, que para nuestro caso corresponden a plantas pertenecientes a los géneros *Solanum* y *Cestrum* endémicas de las zonas altoandinas, mientras que la especie *P. pallidula* es parásita de *Triumfetta semitriloba*, una planta de origen más ancestral. De otra parte, la similitud morfológica entre estas royas, puede ser explicada por un proceso de evolución convergente, que hace necesario redefinir los caracteres morfológicos que definen el género *Puccinosira sensu stricto*.

Por fuera del clado se ubicó un representante del género *Gymnosporangium* (Pucciniaceae) el cual tradicionalmente se ha incluido en esta familia con base en la morfología de su espermogonio, aunque presenta otras características que son únicas y que claramente lo diferencian de los demás miembros de Pucciniaceae: estado telial de consistencia gelatinosa desarrollado sobre gimnospermas y estado acial tipo *Roestelia* sobre dicotiledóneas frecuentemente de la familia Rosaceae (Cummins & Hiratsuka 2003).

Interesantemente, la especie *Puccinia podophylli* se presentó asociada con *G. juniperi-virginianae*, aunque con un débil soporte estadístico. Este grupo a su vez, conformó un clado con dos especies del género anamórfico *Uredo* (*U. baruensis* y *U. chusqueae*), además de la especie *Kweilingia divina*, un miembro de la familia Phakopsoraceae. La formación

de dicho clado no presenta ninguna justificación desde el punto de vista morfológico y su relación requiere ser redefinida con un mayor número de representantes de los géneros involucrados. De especial interés resultó el hecho que *U. chusqueae* presentó una alta relación con *K. divina*, dada la gran afinidad filogenética de sus hospedantes de la familia Poaceae: *Guadua angustifolia* para *K. divina* y *Chusquea* sp. para *U. chusqueae*.

Finalmente, del análisis filogenético de los miembros de la familia Pucciniaceae recolectados en este estudio, se presentan situaciones puntuales que sin duda brindarán un aporte fundamental desde la perspectiva del neotrópico a la construcción de un sistema taxonómico “más natural” de los hongos roya, pero para lo cual deben ser colectados un mayor número de especímenes. Entre dichas situaciones se destaca la localización de *Puccinia oxalidis* y *P. pittieriana* en la posición apical del clado I y la localización de *P. smilacis* y *P. physalidis* por fuera del grupo que representa la familia Pucciniaceae, pero en asocio con *Gymnoconia peckiana* y *Uredo zeugites*, respectivamente, así como la estrecha asociación entre la especie *Maravalia guianensis* y *Puccinia peperomiaae*, lo que sin duda merece un análisis futuro, pues morfológicamente estas especies son bastante diferentes.

Phakopsoraceae

(Arthur) Cummins & Y. Hiratsuka

Esta familia presenta 13 géneros teliomórficos (Cummins & Hiratsuka 2003) y al menos 10 formas anamórficas (Buriticá & Hennen 1994) de royas en gran diversidad de plantas mono y dicotiledóneas. Se caracterizan por presentar espermogonios del Grupo VI, teliosporas sésiles embebidas en el tejido del hospedante y formadas sobre teliosoros compuestos de una corteza de teliosporas con dos o más células de profundidad (Cummins & Hiratsuka 2003). La familia estuvo representada en el análisis por miembros de los géneros *Phakopsora*, *Batistopsora*, *Arthuria* y *Kweilingia*. Los tres primeros géneros conformaron el clado IV que

presentó un alto soporte en el dendrograma, dentro del cual se ubicó el espécimen colectado *Arthuria* sp., mientras que *Kweilingia* lo hizo en el clado II. La situación de *Kweilingia* ya fue discutida anteriormente. En este caso su ubicación por fuera del clado de la familia Phakopsoraceae conduce a inferir que la asociación taxonómica de este género es incierta, aunque su posición en el dendrograma, no soporta la anotación de Thirumalachar & Narasimhan (1951) en el sentido que este hongo no debería ser considerado como una roya, sino como un miembro de los Auriculares. Una interesante evaluación que se deriva de este análisis, es la necesidad de incluir en un estudio posterior royas de esta familia que parasitan pastos tales como aquellas del género *Dasturella*, pues es posible que dichas especies también se ubiquen por fuera del clado que representa Phakopsoraceae *sensu stricto*, ya que sus características morfológicas son muy diferentes a aquellas propias de los demás miembros de esta familia.

De especial interés resultaron las diferencias en las secuencias encontradas entre *P. pachyrhizi* y *P. meibomiae*, comúnmente conocidas como la roya asiática y americana de la soya, respectivamente, y alrededor de cuya clasificación existe una polémica mundial (Frederick *et al.* 2002). Nuestros resultados confirman que estas royas no representan la misma especie y que el espécimen colectado en Colombia corresponde a *P. meibomiae*. Morfológicamente esta diferenciación ha sido soportada por estudios basados en sus teliosoros (Ono *et al.* 1992) y en los trabajos moleculares adelantados por Frederick *et al.* (2002) y Posada (2008), quienes encontraron que éstas presentan una similitud en las secuencias de las regiones ITS del ADN de tan sólo 80%, y que su genoma mitocondrial presenta diferencias en tamaño y % G+C (*P. pachyrhizi*: 31.8 kb, 34.6% vs *P. meibomiae*: 32.5 kb, 34.9%). Finalmente es importante anotar que el análisis de MP ubicó a esta familia en estrecha relación con *Prospodium lippiae*, un miembro de la familia Uropyxidaceae caracterizado por formar espermogonios subcuticulares del grupo VI (tipo 7), los cuales también son típicos de

Phakopsoraceae, pero cuyas teliosporas son claramente diferentes: pediceladas con dos células y con presencia de apéndices basales. Esta relación requiere de un análisis posterior con un mayor número de representantes del género *Prospodium*.

Phragmidiaceae Corda

Esta familia está representada por diez géneros de royas autoicas que parasitan casi exclusivamente plantas de la familia Rosaceae y se caracterizan por producir espermogonios del grupo IV (tipos 6, 8, 10 ó 11) con teliosporas pediceladas con uno a varios septos transversales y desarrolladas sobre telios erumpentes (Cummins & Hiratsuka 2003). Los análisis filogenéticos recientes (Maier *et al.* 2003, Aime 2006) han confirmado el carácter monofilético de la familia y la cercanía evolutiva entre los géneros *Kuehneola* y *Phragmidium*. En nuestro análisis la condición filogenética de esta familia fue igualmente confirmada con base en secuencias de los géneros *Gymnoconia*, *Frommeella*, *Kuehneola* y *Trachyspora*; sin embargo, el hecho que ninguna especie recolectada de esta familia en Colombia pudo ser secuenciada, hace necesario su abordaje en un futuro estudio. De gran interés será el análisis de diferentes especies del género *Gerwasia*, el cual afecta plantas del género *Rubus*, es típicamente tropical y presenta teliosporas de una sola célula, que difieren ampliamente de los demás miembros de esta familia.

Coleosporiaceae Dietel

Esta familia es una de las representantes del suborden Melampsorineae (Aime 2006) que sistemáticamente en los diferentes estudios basados en secuenciación del ADN, se presenta como un linaje filogenético bien soportado, pero cuyos límites familiares no están claramente definidos. Esta situación es evidente cuando se consideran los resultados de los análisis con los dos géneros de la familia Coleosporiaceae incluidos en nuestro estudio: *Coleosporium* y *Chrysomyxa*. En este caso,

ambos se ubican en el clado III y se presentan individualmente bien soportados, pero con *Chrysomyxa* más relacionado con los géneros *Cronartium* y *Endocronartium* de la familia Cronartiaceae, que con *Coleosporium*. Esta situación soporta los hallazgos de Maier *et al.* (2003) y Wingfield *et al.* (2004) en el sentido que la monofilia de la familia no pudo ser definida y conduce a interpretar que las diferencias morfológicas que se presentan entre ambos géneros: germinación de teliosporas interna (basidiación interna) (*Coleosporium*) vs germinación de teliosporas que producen basidios externamente (*Chrysomyxa*), deben ser consideradas más detalladamente en los estudios de este grupo de royas.

Chaconiaceae

Cummins & Y. Hiratsuka y

Mikronegeriaceae

Cummins & Y. Hiratsuka

Morfológicamente la familia Chaconiaceae se caracteriza por presentar espermogonios del grupo VI (tipos 5 ó 7), uredosporas generalmente equinuladas y teliosporas unicelulares, lateralmente libres, sésiles ó pediceladas. Cummins & Hiratsuka (2003) reconocen diez géneros dentro de esta familia, aunque Ono & Hennen (1983) no consideran los géneros *Achrotelium*, *Botryorhiza*, *Chaconia* y *Maravalia* como pertenecientes a ésta, debido a la presencia de teliosporas pediceladas. Es claro de este estudio y de aquellos adelantados por Wingfield *et al.* (2004) y Aime (2006) que la validez taxonómica de la familia Chaconiaceae no es soportada filogenéticamente, siendo evidente la necesidad de clarificar la afinidad de algunos de sus géneros con la familia Mikronegeriaceae; familia ésta que sólo estuvo representada por la especie *Chrysocelis muehlenbeckiae* y cuya ubicación en el dendrograma correspondió a un clado compartido con *Chrysocyclus cestri* (Pucciniaceae) y dos especies de *Ravenelia* (Raveneliaceae).

La afinidad del género *Hemileia* con esta familia es igualmente problemática, pues ya desde la mitad del siglo pasado Thirumalachar

& Mundkur (1949) habían sugerido que este taxón estaba relacionado con el género *Blas-tospora*, hoy en día considerado de la familia Mikronegeriaceae (Cummins & Hiratsuka 2003). Esta cercana asociación fue recientemente confirmada por Aime (2006), quien con base en análisis del ADNr sugiere que *Hemileia* y al menos una especie del género *Maravalia* (*M. cryptostegiae*) deberían ser ubicadas en Mikronegeriaceae, la que además representa un grupo ancestral dentro del orden Uredinales. Esta situación se vió reflejada en nuestro estudio mediante MP. El análisis además no permitió establecer una cercana relación entre *H. vastatrix* (agente causal de la roya del café) y *H. colombiana* (roya de Apocynaceae); así como tampoco fueron definidas afinidades entre éstas royas y las otras especies estudiadas de la familia Chaconiaceae (*Olivea scitula* y *Maravalia guianensis*); pues la primera especie aparece en posición basal en el dendrograma, mientras que *M. guianensis* se ubicó en el clado IA, que representa un linaje de la familia Pucciniaceae.

A partir de los resultados de esta investigación, que incluyó un alto número de hongos roya representantes de diferentes géneros, se propone priorizar la continuación de este estudio con base en el análisis filogenético de los siguientes taxones: *Gerwasia*, *Hemileia*, *Phragmidium*, *Prospodium*, *Puccinia* y *Uromyces*. Dichos grupos contienen gran cantidad de royas presentes en el trópico que requieren ser estudiadas más detalladamente.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó gracias al apoyo económico de la dirección de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín a través del proyecto 20201005428. La identificación taxonómica de los hospedantes se realizó con apoyo de Jorge Pérez del Herbario Medel y el análisis filogenético con la colaboración de Andrés López Rubio y Sandra Uribe Soto del Grupo de sistemática molecular UNAL-MED. Se agradece a

Mauricio Salazar Yepes por la revisión crítica del manuscrito.

RESUMEN

Los hongos roya (Uredinales, Basidiomycetes) representan uno de los grupos de fitoparásitos más diversos y con mayor importancia económica agrícola mundial. Su taxonomía se ha basado en el estudio de caracteres morfológicos, que resulta en muchos casos en la formación de taxones polifiléticos. Sin embargo, en los últimos años se han tratado de incorporar herramientas moleculares que conduzcan a la generación de sistemas de clasificación basados en afinidades evolutivas. Este trabajo pretendió aumentar la base del conocimiento sobre la uredobiota tropical, mediante el estudio de características morfológicas y filogenéticas de un grupo de royas de los Andes de Colombia. Para esto se secuenció parte de la región 28S del ADNr y se realizó un análisis de agrupamiento mediante Máxima parsimonia. Los resultados confirmaron la validez de las familias Pucciniaceae, Phakopsoraceae, Phragmidiaceae, Pileolariaceae, Mikronegeriaceae, Coleosporiaceae y Cronartiaceae, mientras que Pucciniosiraceae es un taxón redundante con Pucciniaceae. Por su parte, Uropyxidaceae, Raveneliaceae, Chaconiaceae y Pucciniastreae se muestran como familias polifiléticas. Aparentemente Melampsoraceae se presenta como un taxón basal al grupo. La información que se deriva de este estudio se espera sea incorporada en los estudios mundiales que buscan redefinir el sistema taxonómico de los hongos roya.

Palabras clave: ADNr, hongos roya, máxima parsimonia, *Puccinia*, secuenciación.

REFERENCIAS

Aime, M.C. 2006. Toward resolving family-level relationships in rust fungi (Uredinales). *Mycoscience* 47: 112-122.

Aime, M.C., M.P. Brandon, D.A. Henk, E.M. Frieders, R.H. Nilson, M. Piepenbring, D.J. McLaughlin, L.J. Szabo, D. Begerow, J.P. Sampaio, R. Bauer, M. Weib, F.Y. Oberwinkler & D. Hibbert. 2006. An overview of the higher level classification of Pucciniomycotina based on combined analyses of nuclear large and small subunit rDNA sequences. *Mycologia* 98: 896-905.

Bauer, R., D. Begerow, J.P. Sampaio, M. Weiß & F. Oberwinkler. 2006. The simple-septate basidiomycetes: a synopsis. *Mycol. Progr.* 5: 41-66.

Blackwell, M., D. Hibbert, J.W. Taylor & J.W. Spatafora. 2006. Research Coordination Networks: a phylogeny

for kingdom Fungi (Deep Hypha). *Mycologia* 98: 829-837.

Buriticá, P. 1991. Familias del orden Uredinales con ciclo de vida completamente reducido. *Rev. Acad. Col. Cienc.* 18: 131-148.

Buriticá, P. 1994. Cambios taxonómicos y nuevos registros de Uredinales de la flora andina. *Rev. I.C.N.E.* 5: 173-190.

Buriticá, P. 1999a. Familia Phakopsoraceae (Uredinales) en el Neotrópico III, géneros *Batistopsisora* y *Phakopsora*. *Rev. Acad. Col.* 23: 272.

Buriticá, P. 1999b. Familia Phakopsoraceae (Uredinales) en el Neotrópico IV, Géneros *Cropssopsora*, *Cerotelium*, *Phragmidiella* y *Catenulopsora*. *Rev. Acad. Col.* 23: 407.

Buriticá, P. 2000. Adaptación al ambiente de Uredinales neotropicales. *O Biol.* 62: 127-141.

Buriticá, P. 2001. Descubriendo ancestros de los Uredinales. *Rev. Acad. Col. Cienc.* 25: 395-401.

Buriticá, P. 2003a. Centros naturales de diversificación en el orden Uredinales (Fungi, royas). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 56: 1999-2019.

Buriticá, P. 2003b. Estado del conocimiento universal sobre el orden Uredinales (Fungi, royas). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 56: 1813-1838.

Buriticá, P. & J. Hennen. 1980. Familia Phakopsoraceae (Uredinales). Géneros anamórficos y teliomórficos. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* 19: 47-62.

Buriticá, P. & J. Hennen. 1980. Pucciniosireae (Uredinales, Pucciniaceae). *Flora Neotropica Monograph* 24: 1-50.

Buriticá, P. & J. Hennen. 1994. Familia Phakopsoraceae (Uredinales). 1. Géneros anamórficos y teliomórficos. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.* 19:47-62.

CABI, CBS & Landcare Research. 2008. Index Fungorum. (Consultado: Diciembre 2007, <http://www.indexfungorum.org>).

Cummins, G. 1940. The genus *Prospodium* (Uredinales). *Lloydia* 3: 1-78.

Cummins, G. 1971. The rust fungi of cereals, grasses and bamboos. Springer-Verlag, Nueva York, EEUU.

- Cummins, G. 1978. Rust fungi on legumes and composites in North America. University of Arizona Tucson, Tucson, EEUU.
- Cummins, G. & Y. Hiratsuka. 1983. Illustrated genera of rust fungi. American Phytopathological Society, San Pablo, EEUU.
- Cummins, G. & Y. Hiratsuka. 1991. Illustrated genera of rust fungi. American Phytopathological Society, San Pablo, EEUU.
- Cummins, G. & Y. Hiratsuka. 2003. Illustrated general of rust fungi. American Phytopathological Society, San Pablo, EEUU.
- Dietel, P. 1928. *Hemibasidii* (Ustilaginales and Uredinales), p 24-98. In A. Engler & K. Plantl (eds). Die Natürlichen Pflanzenfamilien, vol 2. Engelmann, Leipzig, Alemania.
- Durrieu, G. 1980. Phylogeny of Uredinales on Pinaceae. Rep. Tottori Mycol. Inst. 18: 283-290.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Frederick, R.D., C.L. Snyder, G.L. Peterson & M.R. Bonde. 2002. Polymerase chain reaction assays for the detection and discrimination of the soybean rust pathogens *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomia*. Phytopathology 92: 217-227.
- Gaumann, E. 1949. Die Pilze. Grundzüge ihrer Entwicklungsgeschichte und Morphologie. Birkhauser, Basilea, Suiza.
- Guadet, J., J. Julien & J. Francois. 1989. Phylogeny of some *Fusarium* species, as determined by large-subunit rRNA sequence comparison. Mol. Biol. Evol. 6: 227-242.
- Hahn, M. 2000. The rust fungal, p. 267-306. In J. Kronstand (ed.). Fungal pathology. Kluwer, Holanda.
- Hawksworth, D.L., P.M. Kirk, B.C. Sutton & D.N. Pegler. 2001. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 8th ed. Int. Mycol. Inst., CAB Int., Egham, Reino Unido.
- Hennen, J., M. Hennen & M. Figueiredo. 1982. Índice das ferrugens (Uredinales) do Brasil. Arq. Inst. Biol. (Sao Paulo) 49: 1-201.
- Hennen, J., M. Figueiredo, A. De Carvalho & P.G. Hennen. 2005. Catalogue of the species of plant rust fungi (Uredinales) of Brazil. (Consultado: Octubre 2007, http://www.jbrj.gov.br/publica/uredinales/Brazil_Catalogue1dreviado.pdf).
- Hiratsuka, Y. & N. Hiratsuka. 1980. Morphology of spermogonia and taxonomy of rust fungi. Rep. Tottori Mycol. Inst. 18: 257-268.
- Hopple, J. & R. Vilgalys. 1999. Phylogenetic relationships in the mushroom genus *Coprinus* and dark-spored allies based on sequence data from the nuclear gene coding for the large ribosomal subunit RNA: divergent domains, outgroups, and monophyly. Mol. Phylogenet. Evol. 13: 1-19.
- Kirk, P.M., P.F. Cannon, J.C. David & J.A. Stalpers. 2001. Dictionary of the fungi. CABI, Wallingford, Reino Unido.
- The New York Botanical Garden Herbarium. 2003. Catalog of Rust Types. (Consultado: Abril 2008, <http://www.nybg.org/bsci/hcol/rust/>).
- Maier, W., D. Begerow, M.Y. Wei & F. Oberwinkler. 2003. Phylogeny of the rust fungi: An approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. Can. J. Bot. 81: 1-12.
- Maier, W., B.D. Wingfield & M. Mennicken. 2007. Polyphyly and two emerging lineages in the rust genera *Puccinia* and *Uromyces*. Mycol. Res. 176-185.
- Ono, Y., P. Buriticá & J.F. Hennen. 1992. Delimitation of *Phakopsora*, *Physopella* and *Cerotelium* and their species on Leguminosae. Mycol. Res. 96: 825-850.
- Ono, Y. & J.F. Hennen. 1983. Taxonomy of the Chaconiaceus genera (Uredinales). Trans. Mycol. Soc. Jpn. 24: 369-402.
- Pardo-Cardona, V. 1999. Notas técnicas especies de Uredinales (Royas) con rara formación del estado telio-mórfico en Colombia. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín 52: 755-764.
- Pardo-Cardona, V. 2001. Historia, estado actual y perspectivas de la investigación de los Uredinales en Colombia. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín 54: 1333-1350.
- Posada, M.L. 2008. Soybean rust, a rising star in phytopathology. (Consultado: Abril 2008, <http://www.osti.gov/bridge/servlets/purl/860744-7CINx8/860744.PDF>).
- Salazar, M. 2002. Uredinales (royas) en la zona cafetera colombiana. Tesis Maestría, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia.
- Salazar, M., V. Pardo-Cardona & P. Buriticá. 2007. Especies de Colombia, Ecuador y Perú pertenecientes al género *Gerwasia* Raciborski del orden Uredinales. Caldasia 29: 105-120.

- Sugiyama, J. 1998. Relatedness, phylogeny, and evolution of the fungi. *Mycoscience* 39: 487-511.
- Swofford, D.L. 1998. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods). Versión: 4. Sinauer Associates, Sunderland, EEUU.
- Thirumalachar, M.J. & B.B. Mundkur. 1949. Genera of rust II. *Ind. Phytopathol.* 2: 65-101.
- Thirumalachar, M.J. & M.J. Narasimhan. 1951. Critical notes on some plant rusts. III. *Sydowia* 5: 476-483.
- Van Der Merwe, M., L. Ericson, J. Walker, P.H. Thrall & J.J. Burdon. 2007. Evolutionary relationships among species of *Puccinia* and *Uromyces* (Pucciniaceae, Uredinales) inferred from partial protein coding gene phylogenies. *Mycol. Res.* 111: 163-175.
- Vogler, D. & T. Bruns. 1998. Phylogenetic relationships among the pine stem rust fungi (*Cronartium* and *Peridermium* spp.). *Mycologia* 99: 244-257.
- Wingfield, B., L. Ericson, T. Szaro & J. Burdon. 2004. Phylogenetic patterns in the Uredinales. *Australas. Plant Pathol.* 33: 327-335.
- Zuluaga, C., P. Buriticá & M. Marín. 2009. Generalidades de los Uredinales (Fungi: Basidiomycota) y de sus relaciones filogenéticas. *Acta Biol. Colomb.* 14: 39-54.