
**GENERALIDADES DE LOS UREDINALES
(*Fungi: Basidiomycota*) Y DE SUS RELACIONES FILOGENÉTICAS**

**Fundamentals Of Rust Fungi (*Fungi: Basidiomycota*)
And Their Phylogentic Relationships**

CATALINA MARÍA ZULUAGA¹, M.Sc.; PABLO BURITICÁ CÉSPEDES²,
Ph. D.; MAURICIO MARÍN-MONTOYA^{3*}, Ph. D.

¹Laboratorio de Estudios Moleculares, Departamento de Ciencias
Agronómicas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad
Nacional de Colombia Sede Medellín, Colombia.
cmzulua1@unalmed.edu.co

²Departamento de Ciencias Agronómicas, Facultad de Ciencias
Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín,
Colombia. pburitica@unalmed.edu.co

³Laboratorio de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias.
Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Colombia.
mamarinm@unal.edu.co

*Correspondencia: Mauricio Marín Montoya, Departamento de
Biociencias, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia
Sede Medellín. A.A. 3840. Fax: (4) 4309332. mamarinm@unal.edu.co

Presentado 31 de mayo de 2008, aceptado 15 de agosto de 2008, correcciones 15 de septiembre de 2008.

RESUMEN

Los hongos-roya (*Uredinales, Basidiomycetes*) representan uno de los grupos de microorganismos fitoparásitos más diversos y con mayor importancia económica mundial en la producción agrícola y forestal. Se caracterizan por ser patógenos obligados y por presentar una estrecha coevolución con sus hospedantes vegetales. Su taxonomía se ha basado fundamentalmente en el estudio de caracteres morfológicos, resultando 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. En esta revisión se ofrece una mirada general a las características de los uredinales, enfatizando en el surgimiento reciente de estudios filogenéticos que plantean la necesidad de establecer una profunda revisión de la taxonomía de este grupo. Finalmente se alerta sobre la necesidad de que en dichos estudios taxonómicos se incluya un alto número de especies de royas neotropicales, pues esta zona es reconocida no sólo por su alta diversidad de hongos-royas, sino también por las características únicas de sus ciclos de vida.

Palabras clave: filogenia, hongos-roya, *Puccinia*, secuenciación, teliosporas.

ABSTRACT

Rust fungi (*Uredinales*, *Basidiomycetes*) are one of the most diverse and economically important plant pathogens of crops world-wide. They are obligated parasites and have a close evolutionary relationship with their plant hosts. Taxonomy of this group has been based on morphological traits, resulting in generation of polyphyletic taxa. Recently, different studies have incorporated molecular techniques addressed to establishing evolutionary affinities between these fungi. This review presents a general view of the biological characteristics of rust fungi, with a detailed discussion on the phylogenetic studies regarding the group. Finally, the review proposes the necessity to establish phylogenetic studies on rust fungi from the neotropics, where these fungi present a very high diversity and unique life cycles.

Key words: phylogeny, *Puccinia*, rust fungi, sequencing, teliospores.

INTRODUCCIÓN

El orden Uredinales es uno de los grupos de organismos fitoparásitos más numerosos, diversos y de amplia distribución en el mundo. Algunas especies presentan gran importancia económica debido a su potencial epidémico y destructivo sobre diferentes cultivos agrícolas y plantaciones forestales. Los hongos-roya tienen una serie de características que los diferencian de los demás hongos, entre las que se destacan su carácter de organismos holobiotrófos, alta especificidad con sus hospedantes, ciclos de vida complejos que incluyen hasta seis estados esporicos y el fenómeno de autoicismo/heteroicismo.

La clasificación de los hongos-roya a todos los niveles taxonómicos se ha fundamentado casi exclusivamente en el empleo de caracteres morfológicos y en el estudio de las relaciones con sus hospedantes. A nivel genérico y supragenérico, las características encontradas en las teliosporas y los telios, han sido los principales caracteres utilizados para definir sus taxones, ya que representan el estado perfecto, donde ocurre la cariogamia y posterior meiosis. Sin embargo, en los últimos años aspectos tales como el arreglo de los poros germinativos en las uredosporas y la morfología de los uredos, aecios y espermogonios, han tomado gran importancia en los sistemas taxonómicos.

Recientemente, la taxonomía de los Uredinales se ha venido complementando con el empleo de herramientas de biología molecular. Estos estudios han clarificado las relaciones basales del orden Pucciniales (=Uredinales) con otros Basidiomycetes, ubicándolos dentro del subphylum Pucciniomycotina, clase Pucciniomycetes (=Urediniomycetes), orden Pucciniales y separándolos claramente de Platygloales, Helicobasidiales y Septobasidiales. A nivel genérico, dichas técnicas han permitido determinar el carácter polifilético de algunos taxones, entre los que se destacan *Puccinia*, *Uromyces* y *Thekopsora* y han brindado pautas para definir los caracteres morfológicos más útiles en la delimitación de las especies, subespecies y razas de estos hongos.

A pesar del alto número de especies de royas presentes en los trópicos, el nivel de conocimiento que se tiene de estos hongos en dicha 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 altoandina que comprende una franja altitudinal entre 2.000 y 4.600 msnm, 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. El estudio de la uredobiota en esta región se hace más relevante debido a que allí se producen diversos cultivos de importancia económica (mora, fríjol, arveja, cebolla, habas, forrajes y papa), algunos de los cuales, presentan como limitantes fitopatológicos diferentes uredinales, incluyendo la roya de la papa (*Puccinia pittieriana* Hennins), la roya del fríjol (*Uromyces appendiculatus* (Persoon) Unger) y la roya de la mora (*Gerwasia lagerheimii* (P. Magnus) Buriticá). Esta revisión se plantea como una estrategia para incentivar en Colombia y otros países tropicales el desarrollo de estudios micológicos de hongos-roya, haciendo énfasis en la necesidad de incorporar herramientas de biología molecular para la definición de las relaciones filogenéticas de este importante grupo de hongos.

ASPECTOS GENERALES DE LOS UREDINALES

Los uredinales (hongos-roya) 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 *Selaginella*, diversos helechos, coníferas y angiospermas, con las cuales han coevolucionado, adaptando sus ciclos de vida a las condiciones ecológicas del hábitat de sus hospedantes (Buriticá, 2001; Buriticá, 2003b; Cummins y Hiratsuka, 2003).

De acuerdo con Hawksworth *et al.*, 2001, estos hongos pertenecen al Phylum Basidiomycota; Clase Urediniomycetes; Orden Uredinales. Los uredinales son conocidos como royas por la inducción de pústulas que contienen esporas con apariencia de un polvillo herrumbrado sobre los tejidos de sus hospederos; sin embargo, las royas también pueden causar en sus hospedantes algunas hipertrofias e hiperplasias, escobas de bruja, malformaciones de tejidos y formación de pseudoflores (Cummins y Hiratsuka, 2003).

El orden Uredinales está conformado por 13 familias, 163 géneros y unas 7.000 especies (Hawksworth *et al.*, 2001); aunque se estima que el grupo puede contener de 20.000 a 24.000 especies (Buriticá, 2003b). Muchas de estas especies son de importancia económica agrícola y forestal y a diferencia de otras clases de organismos fitopatógenos, que por lo general tienden a atacar plantas débiles y bajo condiciones de estrés, las royas parasitan tejidos jóvenes de plantas vigorosas, siendo especialmente limitantes bajo sistemas de producción de monocultivos intensivos (Volcy y Pardo-Cardona, 1994; Buriticá, 2001; Cummins y Hiratsuka, 2003). Entre algunos de los cultivos y plantaciones forestales de importancia mundial más afectados por las royas se encuentran: maíz (*Puccinia sorghi* Schwein), trigo (*Puccinia graminis* Pers.), soya (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. y P. Syd.), caña de azúcar (*Puccinia melanocephala* H. y P. Sydow.), pino (*Cronartium ribicola* J.C. Fisch.) y eucalipto (*P. psidii* Winter; Vogler y Bruns, 1998). Otras

especies de royas son limitantes por su carácter cuarentenario, que afecta notablemente la comercialización de sus plantas hospedantes, como es el caso de la roya blanca del crisantemo (*Puccinia horiana* Hennings; Buriticá, 2003a).

De otra parte, debido a la existencia de géneros y especies de uredinales endémicos de ciertas regiones, es posible emplear el estudio de la biota uredinal como una herramienta de análisis biogeográfico, e incluso su presencia podría ser utilizada como un patrón de comparación en estudios de impacto ambiental. Recientemente, se ha explorado la posibilidad de emplear ciertas especies de royas como biorreguladores de arvenses indeseables en agroecosistemas, por lo cual su estudio trasciende el carácter de su impacto negativo y lo amplía a su utilización en investigaciones bio-prospectivas (Pardo-Cardona, 2001; Salazar, 2002; Cummins y Hiratsuka, 2003).

ESTADOS ESPÓRICOS DE LOS UREDINALES

Los uredinales presentan uno de los ciclos de vida más complejos que se conozcan dentro del reino Fungi. Pueden tener hasta cinco estados espóricos que se designan como: espermogonio (O), aecio (I), uredo (II), telio (III) y basidio (IV; Hahn, 2000). Cada estado espórico es morfológica y funcionalmente diferente dentro del ciclo de vida de las especies de royas (Hawksworth *et al.*, 2001; Cummins y Hiratsuka, 2003). Dos sistemas diferentes (morfológico y ontogénico) han sido aplicados para la definición y terminología de los estados espóricos. El sistema morfológico definido por Laundon, 1967 y Holm, 1973, enfatiza en la morfología de las esporas como base para la definición del estado espórico. Así por ejemplo, en este sistema, las aeciosporas son definidas por ser producidas en cadena y usualmente presentar una ornamentación verrucosa. De otra parte, el sistema ontogénico fue establecido por Cummins, 1959, Arthur (Arthur, 1905; Arthur, 1925; Arthur, 1929) y Hiratsuka (Hiratsuka, 1973; Hiratsuka, 1975), con base en la posición de los estados espóricos dentro del ciclo de vida de las especies. Este sistema es ampliamente aceptado en la actualidad e incluye las siguientes definiciones:

- Teliosporas: son esporas que producen basidios (probasidio, hipobasidio).
- Basidiosporas: esporas haploides, unicelulares de paredes delgadas, generalmente uninucleadas y producidas a partir del basidio.
- Espermacios e hifas receptivas: gametos monocarióticos a partir de los cuales ocurre el fenómeno de dicarionización en las royas.
- Aeciosporas: esporas unicelulares, no repetitivas producidas como resultado de la dicarionización de los gametos, que germinan produciendo un micelio dicariótico.
- Uredosporas (urediniosporas): esporas generadas a partir de la mitosis de micelio dicariótico y que son típicamente repetitivas, dando lugar a nuevas uredosporas o teliosporas.

CICLOS DE VIDA DE LOS UREDINALES

Las royas tienen diferentes ciclos de vida, los que varían de acuerdo al número de estados espóricos presentes. Cummins y Hiratsuka, 2003, reconocen tres ciclos básicos: royas macrocíclicas, demicíclicas y microcíclicas. Las royas con ciclos de vida macrocíclicos presentan todos los estados espóricos, aunque en algunos casos pueden no desarrollar espermogonios; las royas demicíclicas carecen de aecios o uredos

y las microcíclicas son especies que solo tienen telios, aunque algunas contienen espermogonios. Las royas macro y demicíclicas pueden tener hospedantes alternos (heteroicismo); en estos casos, el aecio se desarrolla en una planta, mientras que el estado telial lo hacen en otra planta diferente. Las especies que desarrollan todo su ciclo sobre el mismo hospedante se denominan autoícas (Volcy y Pardo-Cardona, 1994; Hawksworth *et al.*, 2001; Cummins y Hiratsuka, 2003).

Otros autores como Hennen y Buriticá, 1980, proponen una clasificación de los ciclos de vida de las royas, que responda a su nivel evolutivo; éstos son: ciclo no expandido (se encuentra presente el teliomorfo y muchas veces solamente el basidio, sus hospedantes son primitivos en la escala evolutiva); ciclo parcialmente expandido (el teliomorfo es acompañado por el uredosoro o aeciosoro, apareciendo la especialización del estado asexual, los hospedantes son ancestrales en las familias que parasitan y se restringen a localidades del trópico bajo y húmedo); ciclo completamente expandido (especies con los cinco estados esporicos 0, I, II, III, IV); ciclo parcialmente reducido (especies donde se ha suprimido al menos un estado anamórfico, normalmente el uredosoro) y ciclo reducido (hay formación del espermogonio y el teliomorfo o sólo el teliomorfo, se restringe a hospedantes y localidades).

SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN DE LOS UREDINALES

La clasificación de los uredinales a nivel genérico y supragenérico ha sido basada casi exclusivamente en las características de los teliosoros y teliosporas. Inicialmente dos familias fueron definidas por las características morfológicas de sus teliosporas: Melampsoraceae con teliosporas no pediceladas (telios subepidermales, cubiertos) y Pucciniaceae con teliosporas pediceladas (telios erumpentes; Dietel, 1928). Posteriormente Gaumann, 1949, adicionó las familias Pucciniastraceae (teliosoros inmersos), Cronartiaceae (teliosoros columnares), Chrysomyxaceae (teliosoros cupulares) y Coleosporiaceae (basidio interno). Por su parte, Hiratsuka y Cummins, 1963 y Hiratsuka y Hiratsuka, 1980, consideraron la importancia de los tipos morfológicos de espermogonios como caracteres taxonómicos fundamentales, reconociendo doce clases. A partir de dichas observaciones y de otras características tales como el arreglo de los poros germinativos en las uredosporas y la morfología de los uredosoros y aeciosoros, Cummins y Hiratsuka, 1983, proponen la definición de 14 familias para el orden Uredinales, las cuales luego redujeron a 13, una vez unidas las familias Raveneliaceae y Sphaerophragmiaceae (Cummins y Hiratsuka, 2003). Buriticá (Buriticá, 1999a; Buriticá, 1999b) por su parte, reconoce que el orden está constituido por 16 familias, ya que no reconoce la unión de Sphaerophragmiaceae y Raveneliaceae y considera las familias Endophyllaceae y Uncolaceae como taxonómicamente válidas.

PROCESO INFECTIVO DE LOS UREDINALES

De los cinco tipos de esporas presentes en las royas, tres pueden infectar los hospedantes: uredosporas, aeciosporas (dicarióticas) y basidiosporas (monocarióticas, haploides). Aunque la morfología y ontogenia de las uredosporas y aeciosporas es diferente, se ha encontrado que su comportamiento infectivo es similar. Por lo general, su penetración es estomatal, seguida por la formación de micelio intercelular, desarrollo de haustorios

y finalmente esporulación. En contraste, las basidiosporas usualmente penetran directamente el tejido vegetal, resultando en la formación de micelio poco diferenciado (Hahn, 2000).

La fijación y adherencia de los propágulos de las royas a los tejidos vegetales, es un prerrequisito para que ocurra una infección exitosa y es un claro ejemplo de stigmatotropismo. Por ejemplo, las uredosporas usan las espinas como un medio para establecer un primer contacto con la superficie foliar y una vez ancladas y en presencia de humedad, se hidratan aumentando su área de contacto, liberando componentes adhesivos del tipo hidrofobinas, que resultan en complejas interacciones hidrofóbicas con la superficie a infectar (Clement *et al.*, 1997).

Cuando se han adherido las esporas, su germinación depende de las condiciones de temperatura y humedad, así como de la presencia de ciertas sustancias químicas volátiles, que naturalmente se encuentran en las paredes de las esporas y que evitan su germinación prematura dentro de los soros. Algunos de los compuestos que se creen cumplen esta función son sustancias derivadas del ácido cinnámico y ferúlico (Hahn, 2000). Similarmente, se ha determinado que la germinación de esporas de royas se encuentra asociada con la concentración de sustancias estimulantes del tipo nonanal y β -ionona, que básicamente se encargan de repulsar la acción de los autoinhibidores mencionados anteriormente (Hahn, 2000).

En el caso de las basidiosporas, la penetración ocurre a través de la formación de un apresorio, el cual usualmente no se diferencia del tubo germinativo. La eficiencia del proceso depende en gran medida de las características de la cutícula y de la producción de enzimas degradadoras por parte de las hifas de penetración. Las uredosporas y aeciosporas, presentan mecanismos sensoriales que dirigen la orientación del tubo germinativo hacia los estomas. Numerosos estudios han demostrado que los factores principales que determinan este proceso están relacionados con la topografía de las hojas infectadas, la cual es detectada por parte del hongo gracias a la acción de un canal de cationes mecano-sensitivo que tiene una gran conductividad de cationes monovalentes y divalentes, y cuya acción dirige la orientación del tubo germinativo (Hahn, 2000).

Una vez al interior de los tejidos vegetales, las royas desarrollan haustorios con amplias matrices extrahaustoriales que conectan las membranas plasmáticas de las células hospedantes y del parásito, permitiendo el flujo de nutrientes hacia el micelio. A diferencia de la mayor parte de los hongos fitopatógenos, las royas liberan muy pocas enzimas extracelulares, ya que su carácter obligado impide la degradación de los tejidos de su hospedante (Hahn, 2000).

ESTUDIO DE LOS UREDINALES EN COLOMBIA

El estudio de las royas en Colombia fue iniciado por Francisco José de Caldas entre 1801 y 1803, cuando describió los daños de la roya negra del tallo del trigo (*Puccinia graminis* Pers.) en cultivos ubicados en zonas bajas del país. Sus intensivas observaciones le permitieron especular sobre la causa parasitaria de la enfermedad conocida como polvillo y determinar la influencia del clima y la altura sobre su desarrollo (Buriticá, 1999c). En 1910 se realizó la primera colección sistemática de uredinales colombianos con la denominada expedición de Fuhrmann y Mayor, cuyos resultados

fueron publicados en 1913 e incluyeron el reconocimiento de 158 especies de uredinales pertenecientes a 13 géneros y de las cuales 84 fueron descritas como nuevas por el autor. Luego de la confirmación de la validez de sus resultados por parte de otros investigadores, el inventario final de dicha expedición consistió de 142 especies, 137 nuevas para el país y 82 nuevas especies para la ciencia (Pardo-Cardona, 2001).

Entre 1927 y 1929, Chardon y Toro realizaron nuevas expediciones micológicas en el país, colectando 180 especies de royas, de las cuales 28 constituyeron nuevos registros para Colombia y cuatro fueron consideradas especies nuevas. Posteriormente Chardon en 1930, realizó el inventario fitosanitario del Valle del Cauca, registrando varias especies de uredinales presentes en cultivos de importancia económica de este departamento, entre las que se destacan las royas del algodón, caña de azúcar, maíz y frijol (Buriticá, 1999c; Pardo-Cardona, 2001).

Basado en las colecciones de Mayor, Chardon y Toro y de Chardon y Nolla, en 1933 Kern, Thurston y Whetzel publicaron un listado comentado de 215 especies de uredinales Colombianos, el cual fue complementado por otros investigadores en las décadas de 1940 y mediados de 1950, hasta alcanzar 233 especies (Pardo-Cardona, 2001). Después de esta época transcurrió un período amplio en el cual fueron pocas las colecciones realizadas, con excepción de los estudios aislados de Carlos Garcés y Rafael Obregón Botero en la Facultad Nacional de Agronomía de Medellín (Pardo-Cardona, 2001). A finales de 1968, comienzan nuevamente los trabajos de colección y estudio de los uredinales de Colombia por parte de Pablo Buriticá, mientras que en 1978 María Inés Umaña realiza un inventario detallado de las royas presentes en el departamento de Cundinamarca. A partir de 1987, Víctor M. Pardo-Cardona, comienza sus estudios en uredinales de Antioquia y organiza las colecciones depositadas en el Museo Micológico de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, MMUNM (Pardo-Cardona, 2001), trabajo que continúa Mauricio Salazar, quien se enfoca en el estudio de royas de rosáceas y de la región cafetera de Colombia (Salazar, 1998, Salazar, 2002). Un estimativo de Pardo-Cardona, 2001, indica que tan solo se conoce alrededor del 11% de las especies de uredinales en Colombia, lo cual claramente refleja la necesidad de profundizar en el estudio de este grupo de hongos en nuestro país.

IMPORTANCIA DE LOS UREDINALES EN COLOMBIA

Las royas son un grupo de fitoparásitos de gran importancia económica en Colombia. Prácticamente todos los cultivos agrícolas son afectados por una o varias especies de roya. El primer reporte del ataque de royas en el país fue realizado por Caldas en 1803 al describir los daños ocasionados por la roya negra del tallo del trigo y su efecto bajo diferentes condiciones altitudinales. En los años 20, se detectaron los primeros ataques de las royas del algodón (*Phakopsora gossypii* (Lagerheim) Hiratsuka), la roya del maíz (*Puccinia sorghi*) y el frijol (*Uromyces appendiculatus* (Persoon) Unger) (Buriticá, 1999c). Uno de los ataques de royas más resonados en el país, ocurrió en la década de 1970 en cultivos de lenteja, en los cuales la especie *Uromyces viciae-fabae* (Pers.) J. Schröt causó virtualmente la desaparición de este cultivo. En la misma época aparece la roya amarilla de la cebada (*Puccinia striiformis* Westend), cuyo control ocasionó un gran incremento en los costos de producción de este cultivo, a tal punto

que muchos agricultores cambiaron su actividad económica. En 1983, se detecta la roya del café (*Hemileia vastatrix* Bekeley y Broome, Gard) en el departamento de Caldas, y en menos de diez años se disemina por toda la región cafetera del país. Afortunadamente, el gremio cafetero había tomado medidas preventivas ante la inminente llegada del patógeno, destacándose el desarrollo de la variedad Colombia y la capacitación de los agricultores para la oportuna detección y manejo de la enfermedad. Una situación similar ocurrió con respecto a la roya de la caña de azúcar (*Puccinia melanocephala* Syd. y P. Syd.), para la cual Cenicaña estableció un programa de mejoramiento varietal que ha resultado muy efectivo en el mantenimiento de bajos niveles de daño por causa de dicha enfermedad en el valle geográfica del río Cauca (Buriticá, 1999 c).

Más recientemente, los floricultores del país se han enfrentado a diferentes problemas relacionados con royas (roya de la rosa: *Phragmidium mucronatum* (Persoon) Schlechtendal; roya del clavel: *Uromyces dianthi* (Pers.) Niessl; roya del crisantemo: *Puccinia horiana* Hennings), destacándose el establecimiento de un programa nacional para evitar la diseminación de *P. horiana*, debido a su carácter cuarentenario en varios de los principales mercados internacionales de flores. Otras royas de importancia en algunas regiones de Colombia son la roya de los pastos (*Uromyces setariae* Yoshino), la roya de la vid (*Phakopsora uva* Buriticá y Hennen) y la roya de la papa (*Puccinia pittieriana* Henn.), ésta última puede causar pérdidas hasta del 60% en cultivos ubicados en las zonas altas de los Andes (Buriticá, 1999c).

En Colombia la clasificación de las royas se ha fundamentado principalmente en el estudio de las características morfológicas, distribución geográfica, ciclos de vida, rango de hospedantes y ontogenia de los estados esporicos (Buriticá, 1991). Sin embargo, el desarrollo de estudios filogenéticos aplicados a la taxonomía de hongos-roya basados en secuencias de DNA o marcadores moleculares, hasta ahora no había tenido lugar, lo cual representa una clara desventaja con respecto a otras regiones del mundo, sobre el conocimiento de la biodiversidad de este grupo de hongos.

TÉCNICAS MOLECULARES APLICADAS A LA TAXONOMÍA DE HONGOS

La taxonomía de hongos se ha fundamentado tradicionalmente en el empleo de caracteres morfológicos y de propiedades fisiológicas. En muchos casos estas características son variables, produciendo información insuficiente o poco precisa que conduce a la generación de clasificaciones artificiales. En las últimas décadas, el desarrollo de la biología molecular ha jugado un papel fundamental en la taxonomía de los hongos, al ofrecer herramientas que permiten la inferencia de las relaciones evolutivas entre individuos y grupos de individuos (Hawksworth *et al.*, 1995; Weising *et al.*, 1995).

Estas técnicas se fundamentan en el análisis de cromosomas, genes y/o de sus productos (proteínas) e incluyen entre otras: electroforesis en campo pulsado, hibridación DNA-DNA, polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), análisis de la relación G+C, polimorfismo del DNA amplificado al azar (RAPD), polimorfismo de la longitud del DNA amplificado (AFLP), PCR específico, microsatélites, polimorfismos de nucleótidos únicos (SNP) y secuenciación directa del DNA (Hawksworth *et al.*, 1995; Edell, 1998).

En la taxonomía de hongos, las regiones que codifican para el DNA ribosomal

(DNAr) han sido las más empleadas para realizar estos estudios, debido a que contienen tanto regiones altamente variables como secuencias muy conservadas, que pueden ser empleadas para realizar análisis a todos los niveles taxonómicos. La región DNAr se encuentra en todos los seres vivos, ya que participa directamente en la conformación de los ribosomas, estructuras celulares responsables de la síntesis de proteínas. Debido a esta importante función, se ha planteado que su evolución puede reflejar la misma evolución de los organismos vivos (Hillis *et al.*, 1996).

En los hongos y otros eucariotes, el DNA está localizado tanto en el genoma nuclear como en el mitocondrial. En el caso del DNA nuclear, éste se encuentra organizado en unidades repetidas en *tandem* de aproximadamente 8-12 kb. Las unidades están conformadas por tres genes ribosomales: la subunidad 18S (subunidad pequeña-SSU), 28S (subunidad grande-SLU) y 5,8S; además de dos regiones intergénicas: ITS1 e ITS2 (espaciador interno transcrito). Cada grupo del *tandem* está separado de las otras unidades por regiones espaciadoras intergénicas (IGS), que pueden a su vez contener una copia de la subunidad 5S, aunque ésta generalmente se ubica en otras zonas del genoma (Edel, 1998; Vilgalys, 2004). En la actualidad numerosas secuencias de DNAr se encuentran disponibles en las bases de datos moleculares, lo cual ha posibilitado el diseño de cebadores universales a partir de regiones conservadas que flanquean las regiones variables.

Las características particulares de cada una de las regiones ribosomales permiten su utilización para abordar el estudio de hipótesis taxonómicas a diferentes niveles. La región 5S fue inicialmente empleada para establecer relaciones filogenéticas entre organismos distantes evolutivamente. Sin embargo en los últimos años ha sido poco usada dada su alta conservación y escasa longitud. La región 18S por su parte, se ha empleado especialmente para realizar estudios a nivel ordinal o supraordinal; por ejemplo Bowman *et al.*, 1992, la emplearon para determinar las relaciones filogenéticas entre las clases Basidiomycetes, Ascomycetes y Chytridiomycetes.

La subunidad grande se caracteriza por contener regiones (dominios) que evolucionan rápidamente, así como secuencias altamente conservadas. Debido a esta característica, dicha subunidad se ha utilizado para realizar estudios a nivel supra y subgénericos. Los dominios más empleados para resolver problemas taxonómicos en hongos, son los altamente variables D1 y D2, ubicados en el extremo 5' de la región 28S. Entre otros estudios, estos dominios se han utilizado para definir taxones en los géneros *Colletotrichum* (Sherriff *et al.*, 1994); *Gliocladium* (Rehner y Samuels, 1994), *Fusarium* (Guadet *et al.*, 1989), *Ganoderma* (Moncalvo *et al.*, 1995) y *Peronospora* (Göker *et al.*, 2003). Las regiones ITS evolucionan rápidamente debido a que presentan una menor presión de selección que las regiones codificadoras del DNAr. Esta característica ha sido empleada en la taxonomía de hongos para realizar estudios a nivel de géneros cercanos, especies e incluso de poblaciones. Entre otros estudios taxonómicos empleando regiones ITS se encuentran aquellos realizados para determinar las relaciones filogenéticas de los hongos-roya (Zambino y Szaba, 1993), especies de *Phytophthora* (Cooke *et al.*, 2000) y *Ophiostoma* (Harrington *et al.*, 2001).

A pesar de la gran utilidad que poseen las regiones ribosomales para ser empleadas en análisis filogenéticos, algunas veces se han encontrado incongruencias entre las agrupaciones generadas, la biología de los hongos estudiados y las relaciones evo-

lutivas de los taxones definidos. La principal razón de tales problemas radica en la acción no uniforme de fuerzas evolutivas sobre las regiones DNAr de taxa cercanos (Hasegawa y Hashimoto, 1993; Liu *et al.*, 1999). Esta situación se ha venido corrigiendo mediante el análisis de regiones adicionales del genoma tales como aquellas que codifican para proteínas, siendo frecuente el uso de secuencias de tubulinas, polimerasas de RNA dependientes de DNA, quitina sintetasas, factores de elongación, histona H3 y actinas (Steenkamp, 2000).

ESTUDIOS FILOGENÉTICOS UTILIZADOS EN LA TAXONOMÍA DE UREDINALES

En los últimos años la taxonomía de los Basidiomycetes ha sufrido grandes cambios gracias a la aplicación de diferentes técnicas moleculares en los estudios sistemáticos de este grupo de hongos (Swann y Taylor, 1993; Swann y Taylor, 1995a, Swann y Taylor, 1995b). Un ejemplo de ello, es el trabajo desarrollado por Moncalvo *et al.*, 1995, en el cual se estudiaron 14 especies del hongo poliporal degradador de madera *Ganoderma*. En este estudio se realizó un análisis combinado entre la información generada a partir de la secuencias de la región 5' de la subunidad grande del DNAr y las regiones ITS, encontrándose que posiblemente este género es reciente en la historia evolutiva de los *Polyporales*. Además se determinó que sólo uno de los subgéneros (*Elfviginia*), previamente definido con base en características morfológicas, era monofilético, mientras que los subgéneros *Characoderma* y *Phaeonema* resultaron ser taxones artificiales (polifiléticos).

En el caso de los hongos-roya, pocos estudios filogenéticos se han desarrollado, debido entre otras razones a su condición de patógenos obligados, lo cual dificulta su manejo experimental. Los primeros estudios de este tipo que utilizaron información molecular fueron desarrollados por Gottschalk y Blanz, 1984, y se basaron en el empleo de la región 5,8S del DNAr. Posteriormente, se realizaron estudios que utilizaron las secuencias de los ITS, generándose información relacionada con géneros específicos tales como *Puccinia* (Kropp *et al.*, 1997; Roy *et al.*, 1998), *Uromyces* (Pfunder *et al.*, 2001), *Cronartium* y *Peridermium* (Vogler y Bruns, 1998).

Sjamsuridzal *et al.*, 1999, por su parte, realizaron un estudio filogenético tendiente a evaluar la hipótesis ampliamente aceptada de que las especies de royas que parasitan plantas primitivas tales como los helechos, presentan una posición filogenética más basal que aquellas que afectan hospedantes más evolucionados. Para esto emplearon secuencias de la región 18S del DNAr de las royas parásitas de los helechos *Hyalopsora polypodii* (Pers.) Magnus y *Uredinopsis intermedia* Kamei y las compararon con secuencias de especies de uredinales representantes de los géneros *Puccinia*, *Aecidium*, *Coleosporium*, *Uredinopsis* y *Cronartium*. Interessantemente, los resultados de esta investigación demostraron que las royas estudiadas de los helechos no ocuparon una posición basal dentro del árbol filogenético generado luego del análisis de distancia genética, y por el contrario se ubicaron en un grupo que contenía especies de los géneros *Peridermium* y *Cronartium*. Sin embargo, esta situación está por definir en royas de helechos como *Desmella* y *Uncol*, cuyo origen es típicamente tropical.

Maier *et al.*, 2003, realizaron un estudio detallado para determinar las relaciones filogenéticas de 52 hongos-roya colectadas en el continente europeo y representativas de las familias Pucciniaceae, Phragmidiaceae, Sphaerophragmiaceae, Uropyxidaceae,

Chaconiaceae, Coleosporaceae, Cronartiaceae, Pucciniastraceae y Melampsoraceae. Dicho trabajo se fundamentó en el análisis de una región de alrededor de 550 nt de la subunidad grande del DNAr y que contenía los dominios D1 y D2. Inicialmente, los resultados confirmaron la validez taxonómica del orden *Uredinales* e indicaron que los géneros *Puccinia*, *Uromyces*, *Endophyllum* y *Cumminsella* presentan un ancestro común, mientras que las royas autoóicas con hospedantes en la familia Rosaceae (*Phragmidium*, *Kuehneola*, *Triphragmium* y *Trachyspora*) constituyen un grupo monofilético. La investigación además, puso de manifiesto que los géneros *Puccinia*, *Pucciniastrum*, *Thekopsora* y *Uromyces* son claramente polifiléticos. Esta situación difirió con respecto a los géneros *Chrysomyxa*, *Coleosporium*, *Cronartium*, *Gymnosporangium*, *Melampsora*, *Phragmidium* y *Tranzschelia*, que presentaron carácter monofilético. La condición polifilética de los géneros *Puccinia* y *Uromyces* fue recientemente confirmada por dos trabajos independientes basados en análisis de las secuencias nucleares que codifican para el factor de elongación 1 α y para β -tubulina 1 (Van der Merwe *et al.*, 2007) y de la subunidad grande del DNAr (Maier *et al.*, 2007), al concluirse que al menos dos linajes mayores se han derivado de estos grupos: uno de ellos presenta estados teliales en Poaceae, mientras que el otro lo hace en Ciperaceae.

Un estudio similar fue realizado por Wingfield *et al.*, 2004, pero esta vez utilizando análisis de secuencias de la subunidad pequeña del DNAr en 64 especies de 12 familias de royas, encontrando 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.

En años recientes, la disponibilidad de secuenciadores de alta eficiencia ha posibilitado el desarrollo de investigaciones filogenéticas que incluyen gran cantidad de especímenes y abordan preguntas a diferentes niveles. Así por ejemplo, Aime *et al.*, 2006, realizaron un estudio tendiente a evaluar las relaciones evolutivas entre los taxa superiores de Pucciniomycotina (=Urediniomycetes), utilizando la combinación de secuencias de la subunidad grande (región D1-D3) y pequeña (secuencia completa) del DNAr de 208 especímenes representando nueve de Utilaginomycotina, cuatro de Agaricomycotina y 189 de Pucciniomycotina. En este grupo se incluyeron especies de los Pucciniomycetes (*Helicobasidiales*, *Platyglloeales*, *Pucciniales*, *Septobasidiales*, *Pachnocybales*), *Cystobasidiomycetes* (*Erythrobasidiales*, *Cystobasidiales*, *Naohideales*), *Atractiellomycetes* (*Atractiellales*), *Agaricostilbomycetes* (*Agaricostilbales*, *Spiculogloeales*), *Microbotryomycetes* (*Sporidiobolales*, *Leucosporidiales*, *Microbotryales*, *Heterogastridiales*), *Classiculomycetes* (*Classiculales*), *Cryptomycocolacomycetes* (*Cryptomycocolacales*) y *Mixiomycetes* (*Mixiales*). Los resultados confirman la validez taxonómica de los taxones Pucciniomycotina, Pucciniomycetes y Pucciniales, que se presentan como grupos monofiléticos dentro de Basidiomycota. Este trabajo además, contradice las hipótesis basadas en morfología que ubicaban los Pucciniales como el grupo más primitivo de Basidiomycota (Linder, 1940; Savile, 1955).

Más recientemente, Aime, 2006, utilizando la misma estrategia de combinar datos de ambas subunidades ribosomales, realizó un estudio tendiente a evaluar el soporte filogenético de las familias de uredinales propuestas por Cummins y Hiratsuka, 2003,

con base en caracteres morfológicos. La autora indica que de las trece familias, 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 Pucciniosiraceae) y en dos de ellas, su estatus no pudo ser definido (Chaconiaceae y Uropyxidaceae). Este trabajo también concluye que los miembros de la familia Mikronegeriaceae, algunas especies de Chaconiaceae de ciclo corto y *Caeoma torreyae* representan las royas más basales incluidas en este estudio, y que posiblemente los hongos-roya se derivan de hongos ancestrales tropicales con teliosporas simples.

CONCLUSIONES

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 telioporas (Pucciniaceae: telios erumpentes con teliosporas pediceladas y Melampsoraceae: telios subepidermales, cubiertos y teliosporas sésiles), hasta clasificaciones más complejas que separan el grupo en 13 (Cummins y Hiratsuka, 2003), 14 (Cummins y Hiratsuka, 1983) o 16 familias (Buriticá, 1999a; Buriticá, 1999b), de acuerdo con la estructura de las teliosporas, el tipo de espermogonio, y en algunos casos las características de los aecios, uredosporas y basidios. Estudios filogenéticos recientes basados en la secuenciación del DNAr y de algunos genes nucleares (Maier *et al.*, 2003; Wingfield *et al.*, 2004; Aime, 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 artificiales. Dichos estudios incluyen un alto número de especies propias de las regiones templadas, pues es allí donde se concentra la mayor proporción de investigaciones filogenéticas. Sin embargo, dichos estudios son deficitarios en secuencias de hongos-roya neotropicales y por tanto las hipótesis taxonómicas que de éstos se derivan no incluyen la enorme diversidad y características biológicas únicas de muchos de los uredinales de esta región. Esta situación plantea la necesidad apremiante de incorporar en dichos estudios filogenéticos la uredobiota de nuestros países y muy especialmente de regiones poco estudiadas como la zona altoandina y las selvas tropicales del occidente de Colombia.

AGRADECIMIENTOS

Esta revisión se realizó gracias al apoyo económico de la dirección de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín (DIME) a través del proyecto: RELACIONES FILOGENÉTICAS DE ALGUNOS UREDINALES NEOTROPICALES CON ENFASIS EN LA FAMILIA PUCCINIOSIRACEAE (Código: 20201005428).

BIBLIOGRAFÍA

- AIME MC. Toward resolving family-level relationships in rust fungi (*Uredinales*). *Mycoscience*. 2006;47:112-122.
- AIME MC, BRANDON MP, HENK DA, FRIEDERS EM, NILSON RH, *et al.* An overview of the higher level classification of Pucciniomycotina based on combined analyses of nuclear large and small subunit rDNA sequences. *Mycologia*. 2006;98(6):896-905.
- ARTHUR JC. Terminology of the spore structures in the uredinales. *Bot Gaz*. 1905;39:219-222.
- ARTHUR JC. Terminology of the uredinales. *Bot Gaz*. 1925;80:219-223.
- ARTHUR JC. The plant rusts (*Uredinales*). John Wiley and sons, New York. *Bot Gaz*. 1929;88(4):454-456.
- BOWMAN BT, TAILOR JW, BROWNLEE AG, LEE J, LU, SD, WHITE TJ. Molecular evolution of the fungi: Relationship of the *Basidiomycetes*, *Ascomycetes* and *Chytridiomycetes*. *Mol Biol Evol*. 1992;9:285-296.
- BURITICÁ P. Familias del orden *Uredinales* con ciclo de vida completamente reducido. *Rev Acad Colom Cien*. 1991;18:131-148.
- BURITICÁ P. Familia Phakopsoraceae (*Uredinales*) en el Neotrópico III, géneros *Batistopsora* y *Phakopsora*. *Rev Acad Colom Cien*. 1999a;23:272.
- BURITICÁ P. Familia Phakopsoraceae (*Uredinales*) en el Neotrópico IV, Géneros *Cropssopsora*, *Cerotelium*, *Phragmidiella* y *Catenulopsora*. *Rev Acad Colom Cien*. 1999b;23:407.
- BURITICÁ P. Las enfermedades de las plantas y su ciencia en Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Medellín; 1999c.
- BURITICÁ P. Descubriendo ancestros de los uredinales. *Rev Acad Colom Cien*. 2001;25:395-401.
- BURITICÁ P. Centros naturales de diversificación en el orden *Uredinales* (Fungi, royas). *Rev Fac Nal Agr Medellín*. 2003a;56:1999-2019.
- BURITICÁ P. Estado del conocimiento universal sobre el orden *Uredinales* (Fungi, royas). *Rev Fac Nal Agr Medellín*. 2003b;56:1813-1838.
- CLEMENT JA, PORTER R, BUTT TM, BECKETT A. Characteristics of adhesion pads formed during inhibition and germination of uredinospore of *Uromyces vicia-fabae*. *Mycol Res*. 1997;98:1217-1228.
- COOKE D, DRENTH A, DUNCAN J M, WAGELS G, BRASIER, CM. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related *Oomycetes*. *Fungal Genet Biol*. 2000;30:17-32.
- CUMMINS G. Illustrated genera of rust fungi. Burgess Publ. Co., Mineapolis, MN; 1959.
- CUMMINS G, HIRATSUKA Y. Illustrated genera of rust fungi. Rev Ed. APS Press, St. Paul; 1983.
- CUMMINS G, HIRATSUKA Y. Illustrated genera of rust fungi. American Phytopathological Society, St. Paul; 2003.
- DIETEL P. Hemibasidii (*Ustilaginales* and *Uredinales*). Engler, A. & Plantl, K. *Pflanzenfam*. 1928;2:24-98.

EDEL V. Use of PCR and RFLP in fungal systematics. Frisvand J, Bring P & Arora. Chemical fungal taxonomy. Marcel Dekker. Inc; 1998. p. 51-75.

GAUMANN E. Die Pilze. Grundsätze ihrer Entwicklungs-geschichte and morphologie. Birkhauser, Basel; 1949.

GÖKER M, VOGLMARYR H, RIETHMULLER A, WEIB M, OBERWINKLER F. Taxonomic aspects of Peronosporaceae inferred from Bayesian molecular phylogenetics. Can J Bot. 2003;81:672-683.

GOTTSCHALK M, BLANZ PA. Highly conserved 5S ribosomal RNA sequences in four rust and atypical 5S rRNA secondary structure in *Microstroma juglandis*. Nucleic Acids Res. 1984;12:3951-3958.

GUADET J, JULIEN J, FRANCOIS J. Phylogeny of some *Fusarium* species, as determined by large-subunit rRNA sequence comparison. Mol Biol Evol. 1989;6:227-242.

HAHN M. The rust fungal. Kronstand, J. Fungal pathology. Kluwer. Academic Publisher in the Netherlands; 2000.

HARRINGTON T, McNEW D, HOFSTRA D, FARRELL R. Phylogeny and taxonomy of the *Ophiostoma piceae* complex and the Dutch elm disease fungi. Mycologia. 2001;93:111-136.

HASEGAWA M, HASHIMOTO T. Ribosomal RNA treemisleading? Nature. 1993;361-323.

HAWKSWORTH DL, KIRK PM, SUTTON BC, PEGLER DN. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 8th ed. Int. Mycol. Inst., CAB Int., Egham, UK; 1995.

HAWKSWORTH DL, KIRK PM, SUTTON BC, PEGLER DN. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 8th ed. Int. Mycol. Inst., CAB Int., Egham, UK; 2001.

HENNEN JF, BURITICÁ P. A Brief summary of modern rust taxonomic and evolutionary theory. Rep Tottori Mycol Inst. 1980;18:243-256.

HILLIS D, MORITZ C, MABLE B. Molecular Systematics. Sinauer Associate, Inc. Massachusetts; 1996.

HIRATSUKA Y. The nuclear cycle and the terminology of spore states in uredinales. Mycologia. 1973;65:432-443.

HIRATSUKA Y. Recent controversies on the terminology of rust fungi. Rep Tottori Mycol Inst. 1975;12:99-104.

HIRATSUKA Y, CUMMINS G. Morphology of the spermogonia of the rust fungi. Mycologia. 1963;55:487-507.

HIRATSUKA Y, HIRATSUKA N. Morphology of spermogonia and taxonomy of rust fungi. Rep Tottori Mycol Inst. 1980;18:257-268.

HOLM L. Some note on rust terminology. Rep Tottori Mycol Inst. 1973;10:183-187.

KROPP BR, HANSED DR, WOLF PG, FLINT KM, THOMSON SV. A study on the phylogeny of the Dyer's Woad rust fungi and other species of *Puccinia* from Crucifers. Phytopathology. 1997;87:565-571.

LAUNDON GF. The taxonomy of the imperfect rust. Trans Br Mycol Soc. 1967;50:189-194.

LINDER DH. Evolution of the Basidiomycetes and its relation to the terminology of the basidium. Mycologia. 1940;32:419-447.

LIU Y, WHELEN S, HALL B. Phylogenetics relationships among Ascomycetes: Evidence from an RNA polymerase II subunit. *Mol Biol Evol.* 1999;16:1799-1808.

MAIER W, BEGEROW D, WEI M, OBERWINKLER F. Phylogeny of the rust fungi: An approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Can J Bot.* 2003;81:1-12.

MAIER W, WINGFIELD BD, MENNICKEN M. Polyphyly and two emerging lineages in the rust genera *Puccinia* and *Uromyces*. *Mycol Res.* 2007;176-185.

MONCALVO J, WANG H, HSCU R. Phylogenetic relationships in *Ganoderma* inferred from the internal transcribed spacers and 25S ribosomal DNA sequences. *Mycologia.* 1995;87:223-238.

PARDO-CARDONA V. Historia, estado actual y perspectivas de la investigación de los uredinales en Colombia. *Rev Fac Nal Agr Medellín.* 2001;54(1-2):1333-1350.

PFUNDER RS, SCHURCH S, ROY BA. Sequence variation and geographic distribution of pseudoflower-forming rust fungi (*Uromyces pisi* s. lat.) on *Euphorbia cyparissias*. *Mycol Res.* 2001;105:57-66.

REHNER SA, SAMUELS GJ. Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium* analysed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycol Res.* 1994;98:625-634.

ROY B, VOGLER D, BRUNS T, SARRO T. Cryptic species in the *Puccinia monoica* complex. *Mycologia.* 1998;99(5):846-853.

SALAZAR M. Uredinales (royas) sobre Rosaceae en Colombia [trabajo de grado] Medellín: Departamento de Agronomía, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia; 1998.

SALAZAR M. Uredinales (royas) en la zona cafetera colombiana [tesis de maestría] Medellín: Departamento de Fitotecnia. Universidad de Caldas; 2002.

SAVILLE DBO. A phylogeny of the Basidiomycetes. *Can J Bot.* 1955;33:60-104.

SHERRIFF C, WHELAN MJ, ARNOLD GM, LAFAY JM, BRYGOO J, BAILEY JA. Ribosomal DNA sequence analysis reveals new species groupings in the genus *Colletotrichum*. *Exp Mycol.* 1994;18:121-138.

SJAMSURIDZAL W, NISHIDA H, OGAWA H, KAKISHIMA M, SUGIYAMA J. Phylogenetic positions of rust fungi parasitic on ferns: Evidence from 18S rDNA sequence analysis. *Mycoscience.* 1999;40:21-27.

STEENKAMP E. Molecular taxonomic studies of selected species in the *Gibberella fujikuroi* complex [tesis de Ph. D.]. Department of Microbiology and Plant Pathology. University of Pretoria. 2000.

SWANN EC, TAYLOR JW. Higher taxa of yeast-producing *Basidiomycetes*. *Mycol Res.* 1993;99:1205-1212.

SWANN EC, TAYLOR JW. Phylogenetic perspectives on *Basidiomycetes* systematics: evidence from the 18S rRNA gene. *Can J Bot.* 73 & Suppl. 1995a;1: S862-S868.

SWANN EC, TAYLOR JW. Phylogenetic diversity of yeast-producing *Basidiomycetes*. *Mycol Res.* 1995b;99:1205-1210.

VAN DER MERWE M, ERICSON L, WALKER J, THRALL PH, BURDON JJ. Evolutionary relationships among species of *Puccinia* and *Uromyces* (Pucciniaceae, Uredinales) inferred from partial protein coding gene phylogenies. *Mycol Res.* 2007;163-175.

VILGALYS R. Conserved primer sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA. Disponible en: <http://www.biology.duke.edu/fungi/mycolab/cebadores.htm>. 2004. (Consultada en septiembre 10 de 2007).

VOGLER D, BRUNS T. Phylogenetic relationships among the pine stem rust fungi (*Cronartium* and *Peridermium* spp.). *Mycologia*. 1998;99(2):244-257.

VOLCY C, PARDO-CARDONA V. Principios de micología. Universidad Nacional de Colombia. Medellín; 1994.

WEISING K, NYBOM H, WOLFF K, MEYER W. DNA fingerprinting in plants and fungi. CRC Press. Boca Ratón, Florida. USA; 1995.

WINGFIELD B, ERICSON L, SZARO T, BURDON J. Phylogenetic patterns in the uredinales. *Australas Plant Pathol*. 2004;33:327-335.

ZAMBINO PJ, SZABA LJ. Phylogenetic relationships of selected cereal and grass rusts based on rDNA sequence analysis. *Mycologia*. 1993;85:401-414.