



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Identificación de razas patogénicas de
Puccinia melanocephala Syd. & P. Syd. y
establecimiento de una metodología de
evaluación de roya café en caña de azúcar
(*Saccharum spp.*)**

Claudia Ximena Santacruz Delgado

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias
Palmira, Colombia
2018

**Identificación de razas patogénicas de
Puccinia melanocephala Syd. & P. Syd. y
establecimiento de una metodología de
evaluación de roya café en caña de azúcar
(*Saccharum spp.*)**

Claudia Ximena Santacruz Delgado

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Doctor en Ciencias Agrarias

Director (a):

Ph.D. Carlos Ariel Ángel Calle.

Codirector (a):

Ph.D Carlos Germán Muñoz Perea.

Línea de Investigación:

Protección de Cultivos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Palmira, Colombia

2018

Dedicatoria

A Dios y mi Angel de la guarda por ser los guías, protectores de mí caminar y dar claridad a mis pensamientos

A mis hijas, por ser la alegría, motivación y motor de mi vida

A mi esposo, por su ejemplo, amor y apoyo incondicional

A mis padres y hermanos, por su amor, comprensión y colaboración incesante.

¡Gracias totales, por acompañarme en esta aventura!

Agradecimientos

Al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación Colciencias por el apoyo a través del financiamiento de mis estudios doctorales.

Al personal directivo, administrativo, profesional y técnico del Centro de Investigación de la Caña de Azúcar en Colombia, por su apoyo incondicional en el desarrollo de esta tesis. Y en especial al programa de variedades, SETI y mantenimiento, por su apoyo persistente en las labores de campo, y mantenimiento de sensores.

A mis mentores Carlos Ariel Ángel y Carlos Germán Muñoz, por su ejemplo, respaldo, paciencia, amistad y guía tanto académica como emocional, que han facilitado mi crecimiento como persona

Al profesor Mauricio Salazar Yopez, profesor y curador del Museo de Micológico de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín (MMUNM), por su ejemplo, enseñanzas sobre la identificación morfológica de *Pucciniales*, préstamo de equipos y en especial por la pasión con la que transmite el conocimiento

Al laboratorio de sanidad vegetal de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, por el préstamo de equipos y reactivos empleados en la caracterización morfológica.

A Héctor Alberto Chica por su paciencia, amistad y colaboración en el desarrollo de análisis estadísticos.

Jennifer Roa por su colaboración y enseñanzas en el desarrollo de la caracterización molecular

A mis amigos por su motivación constante

Resumen

La roya café de la caña de azúcar es una enfermedad de importancia económica para el sector azucarero, responsable de pérdidas del 10 al 40% en variedades susceptibles. Considerando los cambios en incidencia de esta enfermedad a través del tiempo, posiblemente asociada a co-evolución del patógeno. Este trabajo buscó estandarizar metodologías de inoculación y determinar diferencias en las respuestas entre quince aislamientos purificados del patógeno y once variedades de caña candidatas a diferenciales desde componentes patogénicos, morfológicos y genéticos que confirmen la variabilidad del patógeno. El trabajo se realizó bajo condiciones semicontroladas de cámara de crecimiento e invernadero sobre plantas completas de 2 a 3 meses de edad y porciones de hojas desprendidas derivadas de plantas entre los 5 y 6 meses de edad, inoculando suspensiones de urediniosporas (10mg/ml con 1-nonanol al 0,002% y tween 20 al 0,1%) mediante pincelado. La germinación y penetración se dio en 20h a 19°C, humedad relativa (HR) mayor al 95%, 16h de oscuridad y 4h de luz blanca a 400 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. La infección y esporulación se realizó en cubículos individuales plásticos en invernadero a 20-30°C, HR entre 60 y 95% y fotoperiodo natural de 12h luz/12h oscuridad por 30 días. Los resultados indican promedios de severidad superiores al 80% del área foliar afectada mediante el software (Assess 2.0). La viabilidad del inóculo almacenado a -80°C fue de 730 días, con germinaciones del 51% e infectividad de 1533 soros /hoja, y severidad de hasta el 52%. La reacción superó el grado 8 y 9 de la escala de Purdy y Dean. Adicionalmente la metodología de plantas completas, permitió la purificación a partir de soros individuales e incremento de quince aislamientos de las variedades MZC 74-275, CP 57-603, CC 85-92 y CC 84-75, De ahí que en inoculaciones cruzadas sobre once variedades indicaron diferencias estadísticas en severidad, reacción, periodos de incubación y latencia. Permitiendo la identificación de variantes patogénicas del *P. melanocephala* en el Valle del Cauca-Colombia. Resultados que fueron soportados por la caracterización morfológica de los aislamientos, los cuales presentaron diferencias en morfometría de uredosporas, y parafisis capitadas y cilíndrico Obovoides. Estructuras que

establecen una relación de directa proporcionalidad entre severidad y tamaño de la uredospora y parafisis, principalmente de tipo cilíndrico obovoides. Tanto las metodologías, como la caracterización e incremento de inóculos purificados, así como el esquema de inoculaciones cruzadas desarrollado, establecen las bases para trabajos de diversidad, mejoramiento genético y fenotipificación.

Palabras clave: Roya café, inoculación, morfología, variabilidad patogénica.

Abstract

Sugarcane Brown Rust (BR) is a disease responsible for economic losses estimated between 10 to 40% in susceptible varieties. Considering changes in disease incidence through the time possibly related to pathogen's co-evolution, this work sought to standardize inoculation methodologies and determination of differences in responses between fifteen purified rust isolates and eleven cane varieties with commercial and historical relevance for the Colombian sugar sector. The work was carried out under semi-controlled conditions at dew growth chamber and greenhouse, with the susceptible varieties B 43-62, MZC 74-275, CP 57-603, CC 84-75 and CC 85-92, on whole plants 2 to 3 months of age, and portions of detached leaves derived from plants between 5 and 6 months of age, inoculating suspensions of BR urediniospores (10mg / ml with 0.002% 1-nonanol and between 20 to 0.1%) by brushstroke. Germination and penetration occurred at 20h at 19 ° C, Relative Humidity (RH) greater than 95%, 16h dark and 4h white light at 400 $\mu\text{mol} / \text{m}^2 / \text{s}$. Infection and sporulation was carried out in individual plastic cubicles in a greenhouse at 20-30 °C, RH between 60 and 95% and natural photoperiod of 12h light / 12h dark for 30 days. Results indicate severity averages higher than 80% of affected leaf area measured by Assess 2.0 software. Stored BR inoculum viability at -80 °C lasted until 730 days, with germination of 51% and infectivity of 1533 sores or pustules per leaf, and severity up to 52%. Severity reaction exceeded grade 5 based on Purdy and Dean ordinal visual scale. In addition, results from the whole plant methodology allowed the purification

of BR single pustule isolates from MZC 74-275, CP 57-603, CC 85-92 and CC 84-75 varieties, which were crossed inoculated on eleven varieties, and indicated statistical differences in severity, reaction, incubation periods and latency. Allowing the identification of pathogenic variants of *P. melanocephala* in the Valle del Cauca-Colombia. Results that were supported by the morphological characterization of the isolates, which presented differences in morphometry of uredospores, and capitated paraphysis and cylindrical Obovoides. Structures that establish a relationship of direct proportionality between severity and size of the uredospore and paraphysis, mainly of the obovoid cylindrical type. The methodologies, as well as the characterization and increase of purified inoculum, as well as the developed cross-inoculation scheme, establish the bases for works of diversity, genetic breeding and phenotyping.

Key words: Brown rust, inoculation, whole plants, morphology, pathogenic variability.

Contenido

	Pág.
1 El cultivo de la caña de azúcar.....	27
1.1 Cultivo de la caña de azúcar.....	27
1.1 Generalidades del cultivo.....	28
1.2 Producción de caña de azúcar en el mundo	30
1.3 Situación actual del sector azucarero en Colombia	31
1.4 Enfermedades de la caña de azúcar en Colombia	32
1.4.1 Carbón	34
1.4.2 Mosaico.....	34
1.4.3 Raquitismo de la soca (RSD)	35
1.4.4 Escaldadura de la hoja (LSD).....	36
1.4.5 Roya marrón o café y roya naranja	36
2 <i>Puccinia melanocephala</i> Syd. & P. Syd. (1907).....	39
2.1 Historia y distribución geográfica.....	39
2.2 Distribución en Colombia	41
2.3 Importancia económica	43
2.4 Biología.....	45
2.5 Clasificación	46
2.6 Morfología, estados esporicos y ciclos nucleares de los Basidiomycotas.	50
2.7 Biología de <i>Puccinia melanocephala</i>	53
2.8 Filogenia.....	56
2.9 Sintomatología	59
2.10 Sistema de clasificación de la severidad y reacción en roya café	60
2.11 Epidemiología.....	61
2.12 Proceso de infección.....	63
2.13 Diferenciación entre <i>P. melanocephala</i> y <i>P. kuehnii</i>	67
2.14 Especialización patogénica de <i>P. melanocephala</i>	71
2.15 Observaciones en Colombia.....	72
2.16 Evolución en las metodologías de inoculación de <i>P. melanocephala</i>	74
2.17 Aislamiento derivado de un soro individual	76
2.18 Genética de la roya café	79
2.19 Concepto de razas y variedades diferenciales.....	82
2.20 Sistema de defensa en las plantas.....	83
2.21 Efectores en royas	85
3 Metodología.....	89

3.1	Localización geográfica.....	89
3.2	Proyecto de investigación	89
3.2.1	Fase 1: Estandarización de dos metodologías de inoculación bajo condiciones semi-controladas (porciones de hojas desprendidas y plantas jóvenes completas).....	90
3.2.2	Fase 2. Caracterización patogénica.....	94
3.2.2.1	Etapa I de la Fase 2.	97
3.2.2.2	Etapa II de la Fase 2	102
3.2.2.3	Etapa III de la Fase 2:	102
3.2.3	Fase 3. Caracterización morfológica y genética de quince aislamientos de <i>P. melanocephala</i>	104
3.2.3.1	Caracterización morfológica.....	106
3.2.3.2	Caracterización genética.....	106
4	Resultados fase 1.	109
4.1	Estandarización de dos metodologías de inoculación bajo condiciones semi-controladas (descripción).....	109
4.1.1	Metodología de plantas jóvenes completas (Adaptación BGRI, laboratorio de enfermedades de los cereales del USDA en St. Paul (Minnesota, USA), con modificaciones hechas en Cenicaña por Ángel, C.A. y Santacruz, C.X. (2015- 2016).	109
4.1.2	Metodología de porciones de hojas desprendidas (Adaptación de Braithwaite (2005), modificada por Hincapié <i>et al.</i> (2015), con modificaciones hechas en Cenicaña por Ángel, C.A. y Santacruz, C.X., 2015-16).	119
4.1.3	Metodologías de Inmersión y Aspersión.	125
4.1.3.1	Metodología de la Inmersión (Adaptación a partir de Browder, L.E., USDA, 1971), modificada por Ángel, C.A. y Santacruz, C.X. (2015- 2016).	126
4.1.3.2	Metodología de la aspersión (Adaptación BGRI, laboratorio de enfermedades de los cereales del USDA en St. Paul (Minnesota, USA), con modificaciones hechas en Cenicaña por Ángel, C.A. y Santacruz, C.X. (2015- 2016).	130
4.2	Resultados con la metodología de plantas jóvenes completas	133
4.2.1	Ensayos de para determinar la mejor edad de la planta	133
4.2.2	Ensayo de exposición a luz blanca, diferentes concentraciones de esporas y hoja a inocular.	134
4.2.3	Pruebas de germinación.....	135
4.2.4	Severidad.....	136
4.2.5	Reacción	138
4.2.6	Periodo de Incubación y Periodo de Latencia.....	139
4.2.7	Ensayos de conservación vs. capacidad infectiva.....	141
4.3	Resultados de la metodología de porciones de hojas desprendidas	143
4.3.1	Ensayos para determinar la mejor edad y porción a inocular	143
4.3.2	Severidad.....	144
4.3.3	Reacción	145
4.3.4	PI y PL.....	145
4.3.5	Ensayos de capacidad infectiva	145
4.4	Comparación entre metodologías.....	146
5	Resultados Fase 2.	149
5.1	Etapa I	149

5.2	Etapa II	151
5.3	Etapa III	156
5.3.1	Prueba de germinación.....	156
5.3.2	Concentración del inóculo	157
5.3.3	Caracterización patogénica	157
5.3.4	Severidad (Análisis entre aislamientos)	161
5.3.5	Severidad (Análisis de aislamiento por variedad)	177
5.3.6	Periodo de incubación (PI) y periodo de latencia (PL).....	187
6	Resultados fase 3.....	189
6.1	Caracterización morfológica	189
6.1.1	Morfometría de la uredospora	192
6.1.2	Morfometría de paráfisis capitadas y cilíndrico obovoides	197
6.2	Análisis de correlación entre variables morfológicas y severidad por roya café	204
6.3	Caracterización genética.....	209
6.3.1	Extracción de ADN.....	209
6.3.2	Identificación con primers especie específicos	210
6.3.3	PCR – Secuenciación.....	211
7	Discusión.....	213
8	Conclusiones y Recomendaciones	219
8.1	Conclusiones.....	219
8.2	Recomendaciones.....	220
9	Anexos.....	221
10	Bibliografía	249

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Comparación del Incrementos relativo en producción (%), experimentado por de siete países productores de caña de azúcar entre los años 1961- 2011. (Burnquist, 2013)..	31
Figura 2. Trayectoria de las corrientes de aire que presumiblemente contenían urediniosporas viables de roya café, desde su partida en Camerún el 3 de junio de 1978, y su llegada al continente americano el 12 de junio 1978. (Purdy <i>et al.</i> ; 1985).	41
Figura 3. Distribución de <i>Puccinia melanocephala</i> en Colombia	42
Figura 4. Progreso de la roya café a nivel de reacción y severidad en la variedad CC 85-92 entre los años (2007-2014) (Ángel, 2015 Cenicaña).	45
Figura 5. Sistema de clasificación de la división Basidiomycota propuesto por Begerow <i>et al.</i> , (2007).	47
Figura 6. Sistema de clasificación de la división Basydiomycotina, propuesto por Bauer <i>et al.</i> (2006)	48
Figura 7. Ciclo nuclear de una roya heteroecica (<i>Cronartium spp.</i>) modificado. Cummins y Hiratsuka (2003).	50
Figura 8. Agrupamiento filogenético de <i>P. melanocephala</i> y <i>P. kuehnii</i> dentro del género <i>Pucciniales</i> . Dixon <i>et al.</i> , (2010).	58
Figura 9. Sintomatología causada por la roya café en caña de azúcar.	60
Figura 10. Escala diagramatica empleada en Cenicaña para la evaluacion de la reaccion y severidad causada por la roya café en caña de azucar, según la clasificacion de Purdy y Dean (1980). (Angel <i>et al.</i> , 2009).	61
Figura 11. Interacción entre rango de temperaturas y permanencia (horas) de la humedad relativa sobre la superficie foliar que conducen al desarrollo de la enfermedad, evaluado como el desarrollo de lesiones/ cm ² de la hoja. Fuente: (Barrera, 2010).	62
Figura 12. Estructuras especializadas de colonización indirecta a través de estomas, desarrolladas por hongos roya en su fase II o uredo. (Voegele <i>et al.</i> , 2009).	65
Figura 13. Proceso infectivo de <i>Puccinia melanocephala</i> en caña de azúcar.	66
Figura 14. Sintomatología causada por las dos royas que afectan el cultivo de caña de azúcar en Colombia. (Cadavid <i>et al.</i> , 2010).	69
Figura 15. Características que permiten la diferenciación entre <i>P. kuehnii</i> (a-e) y <i>P. melanocephala</i> (f-j). (Dixon <i>et al.</i> , 2010).	70

Figura 16. Protocolo general para el análisis de razas en <i>Puccinia graminis f. sp. tritici</i> sobre plantas de genotipos diferenciales de trigo:.....	78
Figura 17. Mapa genético de la región alrededor del gen resistencia <i>Bru 1</i> en la variedad R 570. (López, 2016).	79
Figura 18. Esquema general de las fases en las que se encuentra dividido el proyecto de investigación en roya café, cuyo objetivo final es la identificación de las razas del patógeno en el Valle del Cauca (Cenicaña – EESA).	90
Figura 19. Diagrama de flujo resumen, que ilustra objetivos, metodologías, ensayos, variables de respuesta y resultados esperados durante el desarrollo de la Fase 1 del trabajo de investigación.	92
Figura 20. Esquema general de las tres etapas en las que se encuentra dividida la Fase 2 del proyecto de investigación cuyo objetivo es la caracterización patológica de 15 aislamientos.	96
Figura 21. Esquema general de los procedimientos y variables a desarrollar dentro de la fase 3 del trabajo de investigación, para la caracterización morfológica y genética de 15 aislamientos puros obtenidos de un soro individual	105
Figura 22. Registro de temperatura, humedad relativa y luz mediante el uso de tres cuatro sensores (Rotronic) y dos piranómetros en el interior de la cámara de rocío. ..	112
Figura 23. Metodología de las plantas jóvenes completas.	115
Figura 24. Gráfica representativa de las condiciones óptimas que favorecen el proceso de germinación de <i>P. melanocephala</i>	117
Figura 25. Gráfica representativa de las condiciones óptimas que favorecen el proceso de incubación para el establecimiento de infección por <i>P. melanocephala</i> y estimulación de la esporulación, bajo condiciones de cubículos individuales en invernadero,	118
Figura 26. metodología de inoculación de porciones de hojas desprendidas.	125
Figura 27. Metodología de inmersión.	128
Figura 28. Severidad (%) alcanzada mediante la metodología de inmersión.	129
Figura 29. Metodología de aspersion.	131
Figura 30. Severidad (%) alcanzada mediante la metodología de aspersion con aerógrafo.	132
Figura 31. Mejor edad de la planta a inocular mediante la metodología de plantas completas.	133
Figura 32. Ensayo de exposición a luz blanca de plantas inoculadas con <i>P. melanocephala</i>	135
Figura 33. Germinación de urediniosporas de <i>Puccinia melanocephala</i> en agar agua al 2% después de 16 horas de incubación en oscuridad.	135
Figura 34. Promedio del número de soros en cada hoja inoculada TVD, TVD+1, TVD+2, a los 7 y 14 días después de inoculación (ddi).	137
Figura 35. Severidad medida mediante el programa Assess 2.0 de la APS (Lamari, 2008), en hojas de caña de azúcar, inoculadas mediante la metodología de plantas jóvenes completas.	138
Figura 36. Esporulacion amfígena de <i>P. melanocephala</i>	139
Figura 37. Primeros síntomas de la enfermedad y esporulación de <i>P. melanocephala</i> en caña de azúcar	141

Figura 38. Capacidad infectiva o viabilidad en términos de promedio de soros o severidad, expreada por aislamientos almacenados durante 2 años a temperatura de -80°C.	142
Figura 39. Viabilidad de aislamientos de roya café conservados a – 80° C a través del tiempo. Ensayos preliminares	142
Figura 40. Promedio del número de soros de roya café para determinar la mejor edad de la planta en la metodología de porciones de hojas desprendidas	144
Figura 41. Ilustración de la severidad medida como el número de soros por porción de hoja TVD inoculada a través de la metodología de las porciones de hojas desprendidas	144
Figura 42. Ilustración de la reacción en plantas inoculadas mediante la metodología de hojas desprendidas.....	145
Figura 43. Ilustración de la severidad causada por aislamientos de <i>P. melanocephala</i> almacenados a -80°C en porciones de hojas TVD desprendidas inoculadas.	146
Figura 44. Establecimiento del sistema de producción escalonado de las once variedades de caña candidatas a diferenciales,	151
Figura 45. Ciclos de incremento progresivo de aislamientos de <i>P. melanocephala</i> purificados a partir de un solo soro o pústula.	154
Figura 46. Producción de inóculo en mg de urediniosporas para 15 aislamientos puros de <i>P. melanocephala</i> obtenidos de las cinco variedades B 43-62, CP 57-603, MZC 74-275, CC 84-75 y CC 85-92, derivados de soros individuales.	155
Figura 47. Germinación de 15 aislamientos puros de <i>P. melanocephala</i>	157
Figura 48. Gráficos de la severidad (%) causado por 15 aislamientos de <i>P. melanocephala</i> en 11 variedades candidatas a diferenciales de caña de azúcar.	169
Figura 49. Diagrama de frecuencias de la variable reacción, de acuerdo a la escala de Purdy & Dean (1980), para las inoculaciones sobre 6 plantas jóvenes completas de caña de las 11 variedades o genotipos seleccionados como candidatos a diferenciales	175
Figura 50. Gráficos del daño o severidad (% de área afectada medida con Assess 2.0) de 11 variedades candidatas a diferenciales de caña de azúcar como resultado de la inoculación con 15 diferentes aislamientos puros de <i>P. melanocephala</i>	182
Figura 51. Diagramas de frecuencia de la variable reacción según la escala de Purdy & Dean (1980), estimada en 11 variedades candidatas a diferenciales de caña de azúcar como resultado de la inoculación con 15 diferentes aislamientos de <i>P. melanocephala</i>	186
Figura 52. <i>Puccinia melanocephala</i> (sobre <i>Saccharum officinarum</i> , variedad CC 85-92).	191
Figura 53. Morfometría de las uredosporas de 15 aislamientos purificados de <i>P. melanocephala</i>	193
Figura 54. <i>Puccinia melanocephala</i> sobre <i>Saccharum officinarum</i> . Uredoporas en vista superficial con poros ecuatoriales de seis de los 15 aislamientos purificados, tomados al microscopio en objetivo de 40x. A. aislamiento B1. B. B2. C. B3. D. CP-1. E. CP-2. y F. CP-3	194

Figura 55. <i>Puccinia melanocephala</i> sobre <i>Saccharum officinarum</i> . Uredoporas en vista superficial con poros ecuatoriales de seis de los 15 aislamientos purificados tomados a 40x. G. MZC-1. H. MZC-2. I. MZC-3. J. 84-1. K. 84-3. L. 84X.	195
Figura 56. <i>Puccinia melanocephala</i> sobre (<i>Saccharum officinarum</i>). Uredoporas en vista superficial con poros ecuatoriales de tres de los 15 aislamientos purificados tomados a 40x. M. 85-1. N. 85-2. O. 85-4.....	196
Figura 57. Morfometría de paráfisis capitadas de 15 aislamientos purificados de <i>P. melanocephala</i>	198
Figura 58. Morfometría de paráfisis cilíndrico obovoides de 15 aislamientos purificados de <i>P. melanocephala</i>	199
Figura 59. <i>Puccinia melanocephala</i> sobre (<i>Saccharum officinarum</i>). Paráfisis de seis de los 15 aislamientos purificados. A. aislamiento B1. B. B2. C. B3. D. CP-1. E. CP-2. F. CP-3	200
Figura 60. <i>Puccinia melanocephala</i> sobre (<i>Saccharum officinarum</i>). Paráfisis de seis de los 15 aislamientos purificados. G. aislamiento MZC-1. H. MZC-2. I. MZC-3. J. 84-1. K. 84-3. L. 84X.	201
Figura 61. <i>Puccinia melanocephala</i> sobre <i>Saccharum officinarum</i> . Paráfisis de tres de los 15 aislamientos purificados. M. aislamiento 85-1. N. 85-2. O. 85-4.....	202
Figura 62. Correlación multivariada entre severidad y morfología de 15 aislamientos purificados de <i>P. melanocephala</i> , mediante análisis de componentes principales	205
Figura 63. Dendograma de agrupamiento de 15 aislamientos purificados de <i>P. melanocephala</i> en el Valle del Cauca, de acuerdo a características de morfología y severidad. de paráfisis cilíndrico obovoides.....	206
Figura 64. Visualización de ADN genómico total de uredosporas de 15 aislamientos purificados de roya café obtenido con el protocolo CTAB modificado.....	209
Figura 65. Amplificación de fragmentos del ADNr de quince aislamientos de roya café, mediante PCR empleando los primers Pm1-F/Pm1-R, específicos para <i>P. melanocephala</i>	211

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Principales enfermedades de la caña de azúcar en Colombia	33
Tabla 2. Registro de la severidad causada por <i>P. melanocephala</i> en la variedad CP 57-603, entre los años 1981-1984 en el Valle del Cauca (Promedios generales) (Victoria et al., 1984).....	44
Tabla 3. Cuadro comparativo de las descripciones morfológicas de <i>P. melanocephala</i> , realizadas por cuatro reconocidos taxónomos	54
Tabla 4. Cuadro comparativo entre <i>P. melanocephala</i> y <i>P. kuehnii</i>	68
Tabla 5. Registro de la severidad causada por roya café en el valle del río Cauca entre los años 2007 y 2014 (Ángel et al., 2014).	72
Tabla 6. Resumen de la evaluación fitopatológica en campo del banco de germoplasma para roya café y roya naranja durante el año 2010. (Ángel et al., 2014).....	80
Tabla 7. Resultados obtenidos de la caracterización del gen Bru 1, en el banco de germoplasma de Cenicaña mediante el uso de los iniciadores Bru 1- PCR 1 y Bru1- PCR 2.(Acosta et al., 2011).....	81
Tabla 8. Correlación de la evaluación fitopatológica y molecular del banco de germoplasma de Ceñicaña.(Acosta et al., 2011).....	82
Tabla 9. Proteínas efectoras en royas Fuente: (Upadhyaya et al., 2014; Petre et al., 2014 Selin et al., 2016).	86
Tabla 10. Listado de materiales a partir de los cuales se seleccionarán los seis materiales de caña de azúcar, restantes para la evaluación de la patogenicidad de los aislamientos de <i>P. melanocephala</i>	98
Tabla 11. Ensayo para determinar la mejor hoja a inocular: análisis estadístico	136
Tabla 12. Análisis estadístico y agrupamiento de Tukey al 5%, que compara la severidad (% de área afectada) obtenido mediante inoculaciones usando las metodologías de pincelado, inmersión y aspersion..	147
Tabla 13. Listado final de las once variedades seleccionadas como candidatas a diferenciales.....	149
Tabla 14. Severidad Hoja TVD+1: análisis estadísticos	158
Tabla 15. Severidad Hoja TVD: análisis estadísticos	159
Tabla 16. Severidad (%) medida en la hoja TVD+1 mediante el programa Assess 2.0, producto de 17 eventos de inoculaciones cruzadas entre 15 aislamientos de roya café y 11 variedades de caña de azúcar	162

<i>Tabla 17. Periodo de incubación de 15 aislamientos purificados de P. melanocephala en once variedades de caña de azúcar.</i>	<i>187</i>
<i>Tabla 18. Periodo de latencia de 15 aislamientos purificados de P. melanocephala en 11 genotipos o variedades de caña de azúcar candidatos a diferenciales.</i>	<i>188</i>
<i>Tabla 19. Comparación entre las medidas máximas y mínimas del largo, ancho, grosor de la pared y número de poros de uredosporas de 15 aislamientos purificados de P. melanocephala frente a las descripciones taxonómicas realizadas por cuatro reconocidos investigadores.</i>	<i>197</i>
<i>Tabla 20. Comparación entre las medidas máximas y mínimas del largo, ancho, grosor de la pared apical de parafisis capitadas y cilíndrico obovoides de 15 aislamientos purificados de P. melanocephala frente a las descripciones taxonómicas realizadas por cuatro reconocidos investigadores.</i>	<i>203</i>
<i>Tabla 21. Promedios de severidad y variables morfológicas de las uredosporas y paráfisis de los grupos o clusters en el análisis de conglomerados (Ward)</i>	<i>207</i>
<i>Tabla 22. Relación 260/280, 260/230 de 15 aislamientos purificados de roya café </i>	<i>209</i>
<i>Tabla 23. Listado de proteínas efectoras identificadas en Puccinia spp.</i>	<i>212</i>

10 Bibliografía

Acosta, C. (2011), *Caracterización del gen BRU 1 asociado con resistencia a roya café (Puccinia melanocephala) en el banco de germoplasma*, Cali-Colombia, Cenicafé.

Agrios, G. N. (2005), *Plant pathology 5th Edition*. Elsevier Academic Press.

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

Amaya, A., Cock, J., Hernandez, A. P., y Irvine, J. (1995). Capítulo 2. *Biología y mejoramiento genético de la caña de azúcar*. En Cassalet, C., Torres, J., y Isaacs, C. (Eds), *El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia*. 29-63.

Ángel, J.C., y Victoria, J. I. (2009). *Evaluación de la roya café (Puccinia melanocephala H. y P. Sydow) en variedades Cenicafé Colombia (CC) en el Valle del Cauca*. Cenicafé. 654: 9 p. También en: Congreso de la Asociación Colombiana de Técnicos de la Caña de Azúcar, 8. Memorias. Colombia 16-18 sep. 2009. Cenicafé, Cali, Colombia. 102-109.

Ángel, J. C., Cadavid, M., y Victoria, J. I. (2010). Incidencia de roya café (*Puccinia melanocephala*) en variedades de caña de azúcar en el Valle del Cauca. 2007-2010. *Carta trimestral- Cenicafé*, (32), 37-38.

Ángel, J. C., Cadavid, M., y Victoria, J. I. (2010). Presencia de roya naranja (*Puccinia kuehni*) en el valle del cauca y estrategias para su manejo. Primer informe de avance, Cenicafé 715.

Ángel, J. C. 2012. Informe anual. Cenicafé- Colombia

Ángel, J.C., Cadavid, M., Ángel, C. A., Palma, A., y Victoria, J. I. (2014). Estrategias para el manejo de la roya café y la roya naranja en el cultivo de la caña de azúcar en el valle del río Cauca, Colombia. IX congreso de Atalac, 9-16.

Ángel, J. C. 2015. Informe anual. Cenicaña- Colombia.

Ángel, J.C.; Cadavid, M. y Ángel, C.A. (2016). Reconocimiento de las enfermedades de la caña de azúcar en Colombia. Guía metodológica. Cenicaña. Cali, Colombia. 100 p. (Materiales para la transferencia de tecnología en la agroindustria de la caña de azúcar. Sistema de producción agrícola).

Apsnet, (2018). Recuperado de: [http://: www.apsnet.org](http://www.apsnet.org).

Asnaghi, C., D'Hont, A., Glaszmann, J. C., & Rott, P. (2001). Resistance of sugarcane cultivar R 570 to *Puccinia melanocephala* isolates from different geographic locations. *Plant Disease*. (85), 282-286.

Asocaña. (2018). Informe anual 2017-2018. Recuperado de: [http:// www. asocana.org](http://www.asocana.org).

Asocaña. Recuperado de: [http:// asocaña.com.co/modulos/documentos/5528.aspv](http://asocaña.com.co/modulos/documentos/5528.aspv)

Avellaneda, M C, (2014). *Screening for resistance to sugarcane brown with Controlled conditions inoculation*. Ph. D. Tesis Louisiana State University Agricultural Center, Baton Rouge. 77 pp.

Avellaneda, M. C., & Hoy, J. W. (2015). Screening for resistance to sugarcane Brown Rust with controlled- conditions inoculation. *Plant Disease*, (99 No 11), 1633- 1639.

Avivert, (2015). Recuperado de [http://: www.avivert.blogspot.com/2012/fases-fenologicas-cañadeazucar-ecaoc.html](http://www.avivert.blogspot.com/2012/fases-fenologicas-cañadeazucar-ecaoc.html)

Barrera, W.A. (2010). *Effects of environmental variables and crop growth on development of Brown Rust epidemics in Sugarcane*. Ph.D. Tesis. Louisiana State University Agricultural Center, Baton Rouge, 89 pp.

Barrera, W.A., Hoy, J.W. & Li, B. (2012). Effects of temperature and moisture on Brown Rust Epidemics in sugarcane. *Journal of Phytopathology*, (161), 98-106.

Barrus, M.F. 1911. Variation of varieties of beans in their susceptibility to anthracnose. *Phytopathology* 1:190-195.

Bauer, R., Begerow, D., Sampaio, J.P., Weib, M, & Oberwinkler, F. (2006). The simple-septate basidiomycetes: a synopsis. *Mycol Progress*. DOI 10.1007/s11557-006-0502-0

BGRI, generalized protocol for race analysis- seedling assay (2015). Recuperado de: <http://www.Fao.org/filesadmin/templaties/rust/img/race-analysis-web.pdf>.

Bogerow, D., Bauer, R, & Oberwinkler, F. (1997). Phylogenetic studies on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences of smut fungi and related taxa. *Can. J. Bot.* Vol 75. 20145-2056.

Braithwaite, K.S. (2005). Final report-SRDC project BSS258 Assesing the impact that pathogen variation has on the sugarcane breeding program. BSES, Australian government.

Browder, L. E. 1971. Pathogenic specialization in cereal rust fungi, especially *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*: concept, methods of study, and application. Agricultural research service united states department of agriculture in cooperation with Kansas agricultural experiment station. Technical Bulletin No 1432.

Browder, L. E., Lyon, F. L., & Eversmeyer, M. G. 1980. Letter to the editor: Races, pathogenicity phenotypes, and type cultures of plant ppathogens. *Phytophatology* Vol. 70, No 7. 581-583.

Buriticá, P., y Pardo, C.V. (1996). Flora Uredineana Colombiana. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 20(77): 209.

Buriticá, C.P., Salazar, Y.M, y Pardo, C.V. (2014). *Pucciniales* (Fungi), Royas de Colombia. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín, 67 (suplemento 1) S1-93

Burnquist, W. L. (2013). Sugarcane research and development: a view from the private sector. *Proceeding International Society of Sugar Cane Technologist*, (28), 33-38.

Cadavid, M., Angel, J.C., y Victoria, J. I. (2010). Métodos de diferenciación en campo y laboratorio de los agentes causales de la roya café (*Puccinia melanocephala*) y la roya naranja (*Puccinia kuehnii*) en caña de azúcar. *Carta trimestral 3 y 4 Cenicaña*. (32), 30-36.

Cadavid, M., Angel, J.C., y Victoria, J. I. (2012). Diagnostico de roya café (*Puccinia melanocephala* Syd. & P. Syd.) y roya naranja (*Puccinia Kuehnii* (Kruger) E. Butler) de la caña de azúcar. *Atalac- Tecnicaña*.

Cadavid, M., Angel, J. C., Guzman, M. L., Angel, F., Victoria, J. I., Angel, C. A. (2015 ab). Integrated disease management of sugarcane viral and bacterial diseases in Colombia (1) Colombian Sugarcane Research Center - CENICAÑA, Cali, Colombia *Phytopathology* 104(Suppl. 3):S3.21

Cardona, L. M. (2008). Variabilidad de la roya (*Puccinia melanocephala*) presente en cultivos de caña de azúcar por medio de técnicas moleculares, Cali Colombia. Convenio Colciencias- Cenicaña. 27 p

Carrillo, Y J, (2013), Estudio de la variabilidad genética de la roya café (*Puccinia melanocephala*) de la caña de azúcar por medio de la técnica molecular AFLP, Cali Colombia. Convenio Colciencias- Cenicaña. 55 p.

Carrillo. Y. J, (2013), Determinación de la variabilidad genética de *Puccinia melanocephala* causante de la roya café en caña de azúcar. Tesis de pregrado Universidad Francisco de

Paula Santander. 82 P. Recuperado de: <http://alejandria.ufps.edu.co/descargas/tesis/1610052.pdf>.

Catalogue of life, (2018). Recuperado de: [http:// www. catalogueoflife.org](http://www.catalogueoflife.org)

Cenicaña, (2018). Recuperado de: [http:// www.cenicana.org](http://www.cenicana.org)

Cheng, Y., Wu, K., Yao, J., Li, S., Wang, X., Huang, L and Kang, Z. (2017). PSTha5a23, a candidate effector from the biotrophic pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *Tritici* is involved in plant defense suppression and rust pathogenicity. *Environmental Microbiology* 19 (5). 1717-1729.

Chung, W. H., Tsukiboshi, T., Ono, Y , and Kakishima, M. (2004). Morphological and phylogenetic analyses of *Uromyces appendiculatus* and *U. vignae* on legumes in japan. *Mycoscience* 45: 233-244.

Cincae, (2015). Carta informativa Recuperado de: [http:// www.cincae.org/wp-content/uploads/2013/04/Año-17-2.pdf](http://www.cincae.org/wp-content/uploads/2013/04/Año-17-2.pdf)

Comstock, J.C., & Ferreira S. A. (1989). Sugarcane rust: Factors affecting infection and symptom development. *Proceeding International Society of Sugar Cane Technologist*, (19), 402-410.

Comstock, J.C., Shine, J.M., Jr., & Raid, R.N. (1992). Effect of rust on sugarcane growth and biomass. *Plant Disease*, (76), 175-177

Costet, L.L., Le Cunff, L., Royaert, S., Raboin L. M., Hervouet, C., Toubi, L., Telismart H., Garsmeur, O., Rousselle, Y., Pauquet, J., Nibouche, S., Glaszmann J. C., Hoarau, J. Y., & Hont, A.D. (2012). Haplotype structure around Bru 1 reveals a narrow genetic basis for Brown rust resistance in modern sugarcane cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, (125), 825-836.

Cristancho, M. A., Escobar, C., & Ocampo, J. D. (2007). Evolucion de razas de *Hemileia vastatrix* en Colombia. *Cenicafe* 58 (4), 340-359.

Cristancho, M. A., Rozo, Y., Escobar, C., Rivillas, C. A., y Gaitan, A. L. (2012). Razas de roya epidemias de 2008 a 2011. *Avances técnicos de Cenicafe* 425. www.cenicafe.org/es/publication/aut_04251.pdf.

Cummins, G., & Hiratsuka, Y. (2003). *Illustrated genera of rust fungi*. American phytopathological society, St paul.

Daugrois, J., Grinet, L., Roques, D., Hoarau, J. Y., Lombard, H., Glaszmann, J. C., & D'Hont, A. (1996). A putative major gene for rust resistance linked with a RFLP marker in sugarcane cultivar R570. *Theoretical and Applied Genetics*, (92), 1059-1064.

Dean, J. L., & Purdy, L. H. 1984. Races of the sugar cane rust fungus, *Puccinia melanocephala*, found in Florida. *Sugar Cane* 1: 15-16.

D'hont, Angélique (2011). Comunicación personal.

Diaz M. Lizandro y Portocarrero R. E Tomas. 2002. *Manual de producción de Caña de azúcar (Saccharum officinarum L.)*. Tesis de pregrado. Honduras. Recuperado de: http://teca.fao.org/sites/default/files/technology_files/T1639.pdf

Dixon L. J., Castlebury, L. A., Aime, M. C., Glynn N. C., & Comstock J.C. (2010). Phylogenetic relationships of sugarcane rust fungi. *Mycological Progress*, (9), 459- 468.

Eillam, T., Bushnell, W. R., & Anikster, Y. (1994). Relative nuclear DNA content of rust fungi estimated by flow cytometry of propidium iodide- stained pycniospores. *Phytopathology*, (84), 728-735.

El tiempo (periódico), 2018. Recuperado de: <https://www.eltiempo.com/colombia/cali/investigacion-de-cenicana-en-prestigiosa-revista-297956>.

Escobar, C. y, Cristancho, A. M. (2007). Estudio de metodologías para la conservación de urediniosporas de la roya del café. *Cenicafe* 58(4), 324-332.

Fao, (2018). Recuperado de: [http:// www. Fao.org](http://www.Fao.org).

Faostat. 2018. Recuperado de: [http:// www. Faostat3.fao.org](http://www.Faostat3.fao.org).

Ferreira, S. A., & Comstock, J. (1989). *Smut*. En Ricaud C., Egan BT, Gillaspie, AG (Jr), Hughes CG (Eds) Diseases of sugarcane Major diseases. Elsevier, Amsterdam. Pp 211-229.

Ferreira, S. A., & Comstock, J. (1993). Diseases of sugarcane (*Saccharum spp. Hybrids*). Recuperado de: <https://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/Sugarcane.aspx>

Flor, H.H. (1971). Current status of the gene-for-gene concept. *Annu. Rev. Phytopathol.* 9: 275–96

Flores, S. C., (1979). *La roya de la caña de azúcar (Puccinia spp) su incidencia y difusión*. Cali- Colombia. Reunión Plenaria GEPLACEA, 10. 23-27 abril, 1979 4 p Buenos Aires, Argentina.

Geplacea, (1979). Memoria de la primera reunión de fitopatólogos, fitomejoradores y responsables de sanidad vegetal, sobre prevención y control de las enfermedades del carbón y la roya de la caña de azúcar. Panamá, Julio 30 a agosto 1 de 1979.

Garnica, D.P., Nemri, A., Upadhyaya, N.M., Rathjen, J.P, & Dodds, P. (2014). The ins and outs of rust haustoria. *Plos pathogens.* V 10(9).

Giacomini, R. (2013). *Reacao de variedades de cana de acucar a ferrugem alaranjada (Puccinia Kuehnii)*. Tesis M.Sc. Escola superior de agricultura “Luiz de Quiroz”.78 p.

Gillaspie, A.G (Jr) & Teakle, D.S. (1989). *Ratoon stunting disease*. En Ricaud C., Egan BT, Gillaspie, AG (Jr), Hughes CG (Eds) Diseases of sugarcane Major diseases. Elsevier, Amsterdam. Pp 59-74.

Gilchrist, S.L., Fuentes, D.G., Martinez, C.C., Lopez, A R., Duveiller, E., Singh, R.P., Henry, M y Garcia A. I. (2005). Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. CIMMYT. Tomado de: https://books.google.com.co/books?id=Uyapftl6eHMC&pg=PA21&dq=razas+en+royas&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwj4IOOg2e_OAhVLP4KHc45AfQQ6AEIOjAH#v=onepage&q=razas%20en%20royas&f=false

Gobierno de Australia, (2011), *The biology of Saccharum spp (sugarcane) version 3*. Australian government department of health and ageing office of the gene technology regulator, Australia, 67 p

Gutierrez, A. F, (2010). Búsqueda de variabilidad genética en la roya café (*Puccinia melanocephala*) presente en los cultivos de caña de azúcar por medio de técnicas moleculares. Cenicaña, 22 p.

Hincapie, M., Lopez R. C., Jamason A., Raid N.R., Sood S., Comstock J., & Philippe Rott. (2015). Detached- leaf assay for assessing variation in pathogenicity of the sugarcane orange rust pathogen (*Puccinia kuehni*) in Florida. University of Florida. Poster APS.

Hiratsuka, Y., & Sato, S. (1982). *Morphology and taxonomy of rust fungi*, capítulo 1. En K. Scott and A. K. Chakravorty (ed), The rust fungi. Academic press, 1-33, New York, New York.

Hoy, J.W., & Hollier, C.A. (2009). Effect of Brown rust on yield of sugarcane in Louisiana. *Plant Disease*, (93), 1171-1174.

Hoy, J. W., Avellaneda. M. C., & Bombecini, J. (2014). Variability in *Puccinia melanocephala* pathogenicity and resistance in sugarcane cultivars. *Plant Disease*, (98 No 12), 1728-1732.

Kemen, E., Kemen A., Rafiqi, M., Hempel, U., Mendgen, K., Hahn, M., & Voegelé, R. (2005). Identification of a protein from Rust fungi transferred from haustoria into infected plant cells. *MPMI*. Vol 18: 1130-1139.

Kemen, E., Kemen, A., Ehlers, A., Voegelé, R., & Mendgen, K. (2013). A novel structural effector from rust fungi is capable of fibril formation. *Plant J.* 75, 767–780. doi: 10.1111/tpj.12237

Lamari, L. (2008) ASSESS 2.0 Image Analysis Software for Plant Disease Quantification. American Phytopathological Society, St. Paul.

La O, M., Perea, M.F., Bertani, R.P., Acevedo, R., Arias, M. E., Casas, M. A., Perez, J., Puchades, Y., Rodríguez, E., Alfonso, I., Castagnaro A. P. (2018). An overview of sugarcane brown rust in Cuba. *Sci. Agric.* v.75, n.3, p.233-238.

Leisner, S. M., Schoelz, J.E. (2018). Joining the Crowd: Integrating Plant Virus Proteins into the Larger World of Pathogen Effectors. *Annu Rev Phytopathol.* Vol: 25;56:89-110. doi: 10.1146/annurev-phyto-080417-050151. Epub 2018 May 31.

Leonard, K. (2016). Development of differential varieties- a review. U.S. Department of Agricultural Research Service Cereal Disease Laboratory, University of Minnesota, St Paul, 55108. Tomado de: https://books.google.com.co/books?id=Uyapftl6eHMC&pg=PA21&dq=razas+en+royas&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwj4lOOq2e_OAhVLpR4KHc45AfQQ6AEIOjAH#v=onepage&q=razas%20en%20royas&f=false

Levine, M.N., & E.C. Stakman. 1918. A third biologic form of *Puccinia graminis* on wheat. *J. Agric. Res.* 13:651-654.

Liu, L. J. (1980). Sugarcane rust: taxonomy, epidemiology, chemical control, and relative resistance of sugarcane varieties in Puerto Rico. *Inter-American Sugar Cane seminars: Diseases*, (1), 54-58.

Liu, C., Pedersen, C., Larsen, S. T., Aguilar, B. G., Ordeñana, M. K., Hovmoller, S. M. and Christensen, T. H. (2016). The stripe rust fungal effector PEC6 suppresses pattern-triggered immunity in a host species-independent manner and interacts with adenosine kinases. *New Phytologist*: doi: 10.1111/nph.14034.

López, G.G. 2016. Cenicaña- Colombia (Comunicación personal)

Lo Presti, L., Lanver, D., Schweizer, G., Tanaka, S., Liang, L., Tollot, A. Z., Reissmann, S. AND Kahmann, R. (2015). Fungal effectors and plant susceptibility. *Annual Review of Plant Biology*. 66: 513-545.

Magarey, R. C., Neilsen, W.A. & Magnanini, A. J. (2004). Environmental requirements for spore germination in three sugarcane leaf pathogens. *Proceeding Australian Society of Sugar Cane Technologist*, 2004.

Magarey, R.C., Royal, A. M., Williams, D.J. & Bull, J.I. (2011). A brief history of disease epidemics in Queensland and of some economic outcomes. *Proceeding Australian Society of Sugar Cane Technologist*. Vol 33: 1-12

Martin, L.A., McFarlane, S.A. & Castl. 2015 Tawny rust Species nova. ISSCT XI Pathology & IX Entomology Workshop, Guayaquil-Ecuador.

Mcfarlane, P. L., & Rutherford, R.S. (2005). A preliminary report on genetic diversity in population of sugarcane rust in Kwazulu-natal. *South Africa Sugar Cane Technologist Ass*, (79), 132-136.

Maier, W., Begerow, D., Weib, M., & Oberwinkler, F. (2003). Phylogeny of the rust fungi: approach using nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany*, (81), 2003.

Ministerio de agricultura colombiano, (2018). Recuperado de: <https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/Campa%C3%B1a-de-promoci%C3%B3n-al-consumo-de-panela.aspx>

Mhora, T.T., Rutherford, R. S., Van Heerden, P. D., & Danson, J. W. (2011). A rapid in vitro method of detecting resistance to *Puccinia melanocephala* in sugarcane. *Proceeding South Africa Sugar Cane Technologist Ass*, (84), pp 256 – 259.

Moreira, A. S., Nogueira, A. F., Goncalves, C.R.N.B., Souza, N. A., Bergamin, A. (2018). Pathogenic and molecular comparison of *Puccinia kuehnii* isolates and reaction of sugarcane varieties to orange rust. *Plant pathology*. <https://doi.org/10.1111/ppa.12870>

Mycobank, 2018. Tomado de: (www.mycobank.org).

Panwar V., McCallum B., & Bakkeren G. (2013). Endogenous silencing of *Puccinia triticina* pathogenicity genes through in planta-expressed sequences leads to the suppression of rust diseases on wheat. *Plant J.* 73 521–532 [10.1111/tbj.12047](https://doi.org/10.1111/tbj.12047)

Petre, B., Joly, D. L., & Duplessis, S. (2014). Effector proteins of rust fungi. *Frontiers in Plant Science*, 5, 416. <http://doi.org/10.3389/fpls.2014.00416>

Pocovi, M. I., Rech G. E., Collavino, N. G., Caruso, G. B., Rios, R., & Mariotti, J. A. (2010). Molecular diversity of *Puccinia melanocephala* populations. *Journal of Phytopathology*, DOI: [10.1111/j.1439-0434.2010.01698.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2010.01698.x)

Presley, J.T. (1978). Sugarcane rust found in the Dominican Republic. *Plant disease*, (62), pp 843.

Pretsch, K., Kemen, A., Kemen, E., Geiger, M., Mendgen, K. & Voegelé, R. (2013), The rust transferred proteins—a new family of effector proteins exhibiting protease inhibitor function. *Molecular Plant Pathology*, 14: 96–107. doi:10.1111/j.1364-3703.2012.00832.x

Procaña, (2018). Recuperado de: <http://www.procana.org>

Purdy, L. H., y Dean, J. L. (1980). Un sistema para registrar los datos sobre las interacciones entre la roya de la caña de azúcar y el hospedero. Seminario interamericano de la caña de azúcar, 1. Enfermedades de la caña de azúcar. Memorias, Miami 8-10 oct, 1980. Vanguard, Miami. 177-180.

Purdy, L. H., Liu, L.J., & Dean, J.L. (1983). Sugarcane rust, a newly important disease. *Plant Disease*, (67), 1292-1296.

Purdy, L. H., (1985). Sugarcane rust. En Roelf, A. P (Ed). The cereal rust Vol II: diseases, distribution, epidemiology and control. Cereal Rust Laboratory, U. S. Department of agriculture University of Minnesota. Academy press, Inc.

Purdy, L. H., Krupa, S.V. & Dean, J. L. (1985). Introduction of sugarcane rust into the Americas and its spread to Florida. *Plant Disease*, (69), 689-693.

Raboin, L. M., Oliveira, K. M., Lecunff, L., Telismart, H., Roques, D., Butterfield, M., Hoarau, Y., & Dhont, A. (2006). Genetic mapping in sugarcane, a high polyploid, using bi-parental progeny: identification of a gene controlling stalk color and a new rust resistance gene. *Theoretical and applied genetics*. (112- 7), pp 1382-1391.

Raid, R. N. (1989). Physiological specialization in sugarcane rust (*Puccinia melanocephala*) in Florida. *The american phytopathological society*. DOI: 10.1094/pd-73-0183d

Ramachandran, R. S., Yin, C., Kud, J., Tanaka, K., Mahoney, K. A., Xiao, F. and Hulbert, H. S. (2017). Effectors from wheat rust fungi suppress multiple plant defense responses. *Phytopathology* 107: 75-83.

Ramouthar V. P. (2009). *Studies on brown rust (Puccinia melanocephala) of sugarcane in South Africa*. Tesis Ph.D, Universidad de Kwazulu Natal, 156p

Ricaud, C., & Ryan, C.C. (1989). *Leaf scald*. En Ricaud C., Egan BT, Gillaspie, AG (Jr), Hughes CG (Eds) Diseases of sugarcane Major diseases. Elsevier, Amsterdam. Pp 39-58.

Ryan, C.C., & Egan, B. T. (1989). *Rust*. En Ricaud C., Egan BT, Gillaspie, AG (Jr), Hughes CG (Eds) Diseases of sugarcane. Major diseases. Elsevier, Amsterdam. 189-210 p.

Rodriguez, N. L. R. & Seiiti, U. A. (2018). Development of a single uredinium inoculation method for *Puccinia kuehnii*, the causal agent of sugarcane orange rust. *Summa Phytopathologica*, v.44, n.4, p.311-316, 2018

Roelf, A. P. (1984). *Race specificity and methods of study*. En Willian. R., R. Bushnell and Alan P. Roelf (eds), *The cereal rust Volume I: Origins, specificity, structure, and physiology*, 138-168 p, Orlando, Florida: Academic press.

Rott, P., Girard, J. C., & Comstock, J. (2013). Impact of pathogen genetics on breeding for resistance to sugarcane diseases. *Proceeding International Society of Sugar Cane Technologist*, 28.

Rott, P. (2015). Comunicación personal.

Sandoval, I, Cuello, L, & Picornell, V. (1980). Studies of some biological aspects of the sugarcane rust producing fungus in Cuba. *Cienc. Tec. Agric., Cana de azucar* 2(1): 105-107.

Sahni, M. L., & Chona, B. L. (1965). Studies on sugarcane rust in India. *Indian Phytopathology*, (18), 191-203.

Selin, C., de Kievit, R. T., Belmonte, F. M. and Dilantha-Fernando, W. G. (2016). Elucidating the role of effectors in plant- fungal interactions: progress and challenges. *Frontiers in Microbiology*: doi: 10.3389/fmicb.2016.00600.

Shine, J. M., Jr., Comstock, J.C., & Dean, J. L. (2005). Comparison of five isolates of sugarcane brown rust and differential reaction of six sugarcane clones. *Proc. ISSCT*, 25, 2005.

Srinivasan, K. V., & Muthaiyan, M.C. (1965). A note on physiological races of *Puccinia erianthi* Padw. & Khan affecting sugarcane varieties. *Proceeding International Society of Sugar Cane Technologist*, (12), 1126-1128.

Sood, S. G., Comstock, J. C., and Glynn, N. C. 2009. Leaf whorl inoculation method for screening sugarcane rust resistance. *Plant Dis.* 93:1335-1340.

Sotomayor, I. A., Purdy, L. H., & Trese, A.T. (1983). Infection of sugarcane leave by *Puccinia melanocephala*. *Phytopathology*, (73), 695-699

Souza, A. (2013). *Ferrugem alaranjada da cana de açúcar no Brasil: estudo fr populações do pathogen e comportamento varieral*. Tesis I. A. Universida de de Sao Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 88 p.

Stavely, J. R. (1984). Pathogenic specialization in *Uromyces phaseoli* in the United States and rust resistance in beans. *Plant Disease* 68 (2): 95-99.

Sydow, H. et P, & Butler, E.J. (1907). *Puccinia melanocephala*. *Annales Mycologici* 5 (6), 1907. pg. 500.

Taylor, P. W.J. 1992. Evidence for the existence of a single race of common rust caused by *Puccinia melanocephala*, in Australian sugar cane cultivars. *Australian Journal of Agricultural Research*, (43), 443-450

Upadhyaya, N.M., Mago, R., Staskawicz, B.J., Ayliffe, M.A., Ellis, J.G, & Dodds, P. (2014). A bacterial Type III secretion assay for delivery of fungal effector proteins into wheat. *MPMI*. Vol. 27 (3): 255-264.

Victoria J. I., Guzman M. L., Angel J. C. (1995). Capítulo 6. *Enfermedades de la caña de azúcar en Colombia*, En Cassalet C., Torres J., Isaacs C. (eds), El cultivo de la caña en la zona azucarera de Colombia. Cenicaña. p 265-293.

Victoria J. I., Ochoa, B. O; Gómez, F. J. (1984). *La roya de la caña de azúcar en el valle del cauca: diseminación y efecto en la producción*. Congreso de la Sociedad Colombiana de Técnicos de la caña de azúcar, 1. Memorias. 28-30 noviembre, 1984 v.1 p. 209-218.

Virtudazo, E. V., Nojima, H., & Kakishima, M. (2001). Taxonomy of *Puccinia* species causing rust diseases on sugarcane. *Mycoscience*, (42), 167-175.

Viveros, C. A. (2011). Identificación de características asociadas con mayor eficiencia en el uso de agua para la producción de caña de azúcar. Tesis Ph.D. Unal Palmira. Recuperado de: <https://www.bdigital.unal.edu.co/5839/1/carlosarturoviverosvalens.2011.pdf>

Voegelé, R. T., Hahn, M., & Mendgen. (2009). *The uredinales: cytology, biochemistry, and molecular biology*. En H. Deising (ed), *Plant relationships*, 2 edition The mycota. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Alemania.

Yin Chuntao & Hulbert Scot. (2010). Prospects for functional analysis of effectors from cereal rust fungi. BGRI Technical Workshop, 30- 31 mayo. St Petersburg, Russia.

Zhao, M., Wang, J., Ji, S., Chen, Z., Xu, J., Tang, C., Chen, S., Kang, K. and Wang, X. (2018). Candidate effector Pst-8713 impairs the plant immunity and contributes to virulence of *Puccinia striiformis* f. sp. *Tritici*. *Frontiers in plant science*: vol (9) art. 1294.

doi: 10.3389/fpls.2018.01294
