

TESIS

Aplicación de técnicas moleculares a la filogenia de Aphyllophorales

Application of techniques molecular to phylogeny of Aphyllophorales

LILIAN BRACAMONTE

Resumen

Se determinó un método basado en las secuencias de ADNr, para la detección e identificación de hongos Basidiomycetes pudridores de madera en la Comunidad de Madrid, España. A partir de carpóforos frescos y cultivos de 46 especies de basidiomicetos, se amplificó la región ITS, que comprende ITS1, 5.8S y ITS2, utilizando los cebadores ITS-1, ITS-4, ITS1-F y ITS4-B. Usando este método, es posible la detección e identificación de hongos pudridores en muy poco tiempo sin necesidad de recurrir a la taxonomía tradicional. Para evaluar las relaciones filogenéticas del género *Rigidoporus* se secuenciaron las regiones de ITS del ADNr de 120 muestras de herbario de 22 especies de este género. El producto de la PCR fue clonado y secuenciado. Las secuencias fueron analizadas para conocer sus implicaciones taxonómicas y filogenéticas usando análisis de distancia, máxima parsimonia y Bayesiano. Las especies de *Rigidoporus* usadas en este estudio fueron filogenéticamente heterogéneas. Estos análisis no sustentaron la monofilia del género. Sin embargo un grupo de especies representado por *Rigidoporus incurvus*, *R. biokoensis*, *R. dextrinoides*, *R. microporus* y otros están estrechamente relacionados en un mismo clado. Otras especies de *Rigidoporus* incluyendo *R. undatus*, *R. lineatus*, *R. crocatus*, *R. vinctus* no se incluyeron en este grupo.

Palabras clave: ITS, Basidiomycetes, *Rigidoporus*.

Abstract

It was determined a method for molecular diagnostics based on the ribosomal DNA sequences, for the detection and identification of Basidiomycetes fungi that are wood decay in Madrid, Spain. From carpophoros and cultures coming from 46 species of basidiomycetes, it was amplified the ITS region, which compromised ITS1, 5, 8, and ITS2, using the oligonucleotides ITS-1, ITS-4, ITS1-F y ITS4-B. Using this method detection and identification of fungi rot it is possible in a few times without use classical taxonomy methods. For evaluation of phylogenetic relationship of *Rigidoporus* genus, ribosomal DNA ITS regions were sequenced from 120 herbaria specimens of 22 species of this genus. The PCR product was cloned and sequenced. The sequences were analyzed to know its taxonomic and phylogenetic implications using analysis methods of the distance, maximum parsimony and Bayesian. The species of *Rigidoporus* used at this study were phylogenetically heterogeneous. Those analysis don't show the monophyly of the genus. However a group of species represented by *Rigidoporus incurvus*, *R. biokoensis*, *R. dextrinoides*, *R. microporus* and others are very close related in the same clado. Other species of *Rigidoporus* including *R. undatus*, *R. lineatus*, *R. crocatus*, *R. vinctus* are not included inside this group.

Key words: ITS, Basidiomycetes, *Rigidoporus*.