Phylo Match

FICHA TÉCNICA

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE *Cytospora*

ENVÍO DE SECUENCIAS: Una vez completado el pedido enviar las secuencias correspondientes al correo phylomatch@gmail.com junto con el número de orden en el asunto.

FORMATOS ACEPTADOS: .fasta. .fastq, .ab1 (El servicio incluye ensamblaje de datos crudos).

TIEMPO DE ENTREGA: Dependiendo de la cantidad de cepas a identificar el plazo de envío de resultados es de hasta 30 días hábiles desde recibidas las secuencias.

CONSIDERACIONES: Secuencias de baja calidad pueden resultar en inviabilidad del análisis, motivo por el cual será contactado a la brevedad.

ENTREGABLES

1. Informe técnico detallado.
2. Uno o más árboles filogenéticos.
3. Base de datos actualizada
4. Figuras vectoriales (.svg) y en alta resolución (.png).
5. Taxonomía actualizada.
6. Tabla con accesiones GenBank (opcional).

El Informe técnico incorporará la metodología empleada, los resultados obtenidos y las referencias bibliográficas correspondientes. La taxonomía del género será actualizada al momento de realizar el servicio. En el caso de solicitar subir secuencias a GenBank, el informe incorporará una tabla con los números de acceso de GenBank.



DETALLES DEL SERVICIO

Identificación molecular de *Cytospora* mediante análisis multilocus: Realizamos la asignación taxonómica de sus cepas de *Cytospora* a través de filogenia multilocus empleando los marcadores moleculares *act*, ITS, *rpb2*, *tef1-α* y *tub2*. Este enfoque permite una resolución robusta y precisa a nivel de especie, superando las limitaciones de los marcadores individuales.

Para obtener las secuencia de los marcadores moleculares de su aislado, se requiere la secuenciación de los amplicones obtenidos mediante PCR convencional, utilizando los siguientes partidores universales:

Loci	Partidor	Secuencia (5'→3')	Tamaño	Referencia
act	ACT512F	CATCGAGAAGTTCGAGAAGG	~250 pb	Carbone & Kohn (1999)
	ACT737R	TACTTGAAGGAACCCTTACC		
ITS	ITS1	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	~550 pb	White et al (1990)
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		
rpb2	RPB2-5F2	GGGGWGAYCAGAAGAAGGC	~800 pb	Reeb et al (2004)
	fRPB2-7cR	CCCATRGCTTGYTTRCCCAT		Liu et al (1999)
tef1-α	EF1-688F	CGGTCACTTGATCTACAAGTGC	~630 pb	Alves et al (2008)
	EF1-1251R	CCTCGAACTCACCAGTACCG		
tub2	Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTG	~480 pb	Glass & Donaldson (1995)
	Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC		

REFERENCIAS

Alves, A., Crous, P. W., Correia, A. C. R. B., & Phillips, A. J. L. (2008). Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in Lasiodiplodia theobromae. Fungal diversity, 28(1), 1-13.

Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. Mycologia, 91(3), 553-556.

Glass, N. L., & Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Applied and environmental microbiology, 61(4), 1323-1330.

Liu, Y. J., Whelen, S., & Hall, B. D. (1999). Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerse II subunit. Molecular biology and evolution, 16(12), 1799-1808.

Reeb, V., Lutzoni, F., & Roux, C. (2004). Contribution of RPB2 to multilocus phylogenetic studies of the euascomycetes (Pezizomycotina, Fungi) with special emphasis on the lichen-forming Acarosporaceae and evolution of polyspory. Molecular phylogenetics and evolution, 32(3), 1036-1060.

White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18(1), 315-322.