



## **Multilocus Sequence Analysis, una técnica complementaria a la hibridación DNA-DNA en el clado central del género *Vibrio***

Javier Pascual<sup>1,2</sup>, M. Carmen Macián<sup>3</sup>, Esperanza Garay<sup>1,3</sup>, María J. Pujalte<sup>1,2,3</sup>, David R. Arahal<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología y Ecología, <sup>2</sup>Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Universidad de Valencia, España.

<sup>3</sup>Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Universidad de Valencia, España.

En la actualidad el *Multilocus Sequence Analysis* (MLSA) se está aplicando en diferentes grupos taxonómicos, como una técnica complementaria o alternativa a la hibridación DNA-DNA para delimitar genopecies.

El clado central del género *Vibrio* lo constituye un conjunto de 6 especies de reciente divergencia, de acuerdo a las secuencias del 16S rRNA y a los elevados valores de hibridación DNA-DNA interespecíficos, próximos al valor umbral establecido para la definición de especie genómica bacteriana (70%). Por consiguiente, este grupo taxonómico constituye un marco idóneo donde poder aplicar el MLSA, como técnica alternativa. Nuestros resultados pueden ser, además, contrastados con las conclusiones obtenidas en estudios previos (1, 2, 3).

En el estudio se han desarrollado y comparado varios análisis filogenéticos basados en secuencias génicas parciales de 41 cepas pertenecientes al clado central del género *Vibrio*: *Vibrio harveyi* (10 cepas), *V. campbellii* (8 cepas), *V. rotiferianus* (14 cepas), *V. parahaemolyticus* (4 cepas), *V. alginolyticus* (4 cepas) y *V. natriegens* (1 cepas). Las cepas se corresponden con las cepas tipo de cada una de las especies anteriores, así como cepas de referencia pertenecientes a diferentes colecciones de cultivo, y finalmente algunos aislados procedentes de ambientes acuáticos relacionados con la acuicultura. Con el objetivo de incrementar la capacidad de resolución de la técnica se ha analizado un conjunto de 7 genes *housekeeping* con diferente nivel de conservación (*recA*, *pyrH*, *rpoD*, *rctB*, *gyrB*, *toxR* y 16S rRNA) pues es conocida la proximidad filogenética entre las cepas pertenecientes al clado central del género.

Los resultados obtenidos hasta la fecha han mostrado que las secuencias concatenadas de los genes *rpoD*, *rctB* y *toxR* son capaces de discriminar entre sí inequívocamente las 6 especies del clado central del género *Vibrio*. Además, al comparar las similitudes de las secuencias concatenadas de esos 3 genes con respecto a los valores de hibridación DNA-DNA obtenidos en el estudio, se han establecido dos valores umbrales que permiten diferenciar cepas co-específicas de cepas de otras especies, resultando ser óptima la resolución del MLSA con los tres genes seleccionados.

1. Le Roux *et al.*, (2005). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 2251-5.

2. Thompson *et al.*, (2007). *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 4279-85.

3. Sawabe *et al.*, (2007). *J. Bacteriol.* 189: 7932-6.