

Los probióticos *Vibrio diabolicus* (Ili), *Vibrio hepatarius* (P62) y *Bacillus cereus sensu stricto* (P64) colonizan superficies internas y externas de las larvas del camarón *Peneus vannamei* y las protegen contra *Vibrio parahaemolyticus*

PROBLEMA

Los vibrios portadores de los genes de las toxinas pirA y pirB causan la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND, por sus siglas en inglés) en los camarones cultivados, afectando el rendimiento. Los vibrios colonizan el estómago del camarón y producen las toxinas que destruyen el epitelio del hepatopáncreas. Probióticos eficaces deben ser capaces de competir con los vibrios por los sitios de adhesión en las superficies externas e internas del camarón. A pesar de la efectividad de los probióticos del consorcio *Vibrio diabolicus* (Ili), *Vibrio hepatarius* (P62) y *Bacillus cereus sensu stricto* (P64), para controlar estas vibriosis, se desconocen los mecanismos de su capacidad colonizadora. La cual está influenciada por apéndices de superficie celular (fimbrias, flagelos, pili), así como por la capacidad de formar biopelículas y el crecimiento en enjambre.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar las capacidades de adhesión celular, formación de biopelículas y movimiento en enjambre de las bacterias del consorcio Ili-P62-P64 a fin de validar sus capacidades colonizadoras y de exclusión de *Vibrio parahaemolyticus* causante de AHPND de las superficies internas y externas de las larvas de camarón.

PROPUESTA

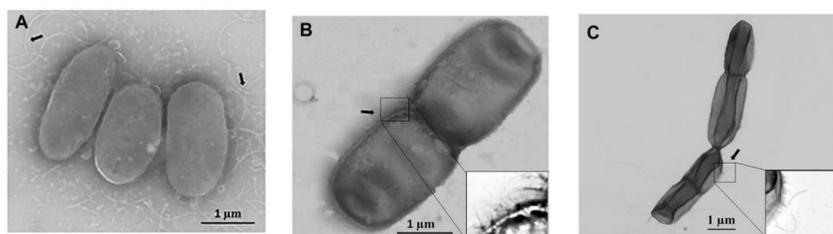
Determinación de apéndices de superficie celular de las bacterias Ili, P62 y P64 (flagelos, fimbrias) mediante microscopía electrónica de transmisión

Determinación de la capacidad de formar biopelículas y de movimiento en enjambre de las bacterias del consorcio Ili-P62-P64

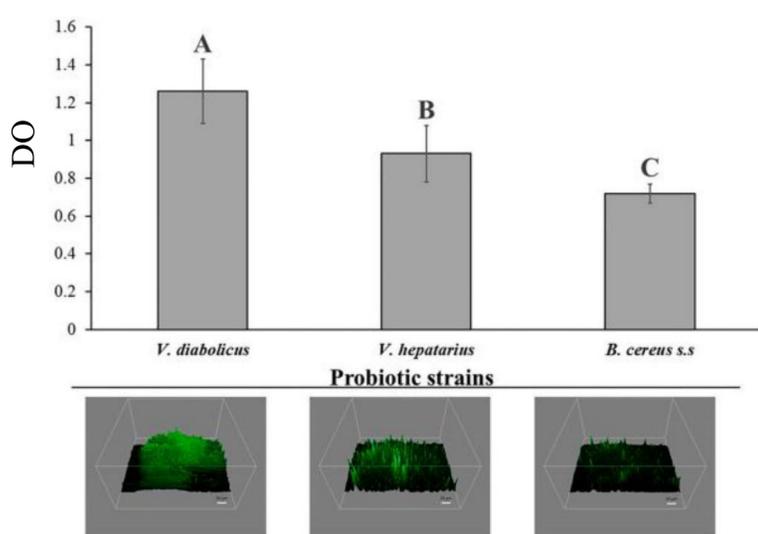
Ensayo de colonización de larvas de camarón, con las bacterias del consorcio Ili-P62-P64 teñidas con colorantes fluorescentes: Dapi, naranja de acridina y azul de evans

Ensayo de desafío con *Vibrio parahaemolyticus* portador de los genes de toxina Pir y Pir B de larvas de camarón expuestas al consorcio Ili-P62-P64

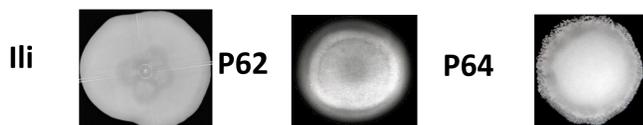
RESULTADOS



Apéndices de superficie celular de las bacterias Ili, P62 y P64. Flagelos de Ili (A). Fimbrias de P62 (B). Fimbrias y flagelos de P64 (C).



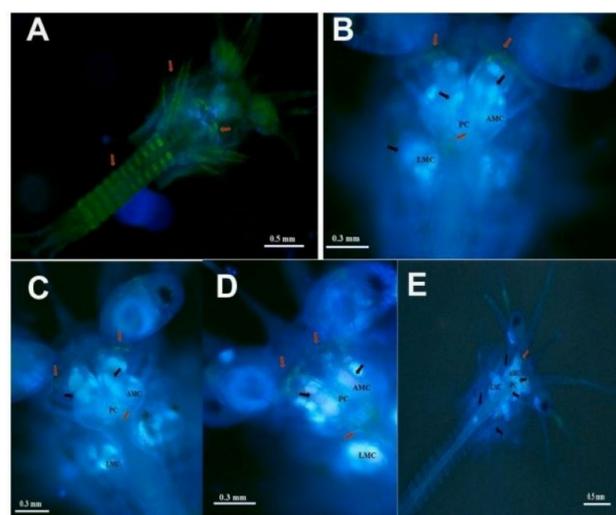
Capacidad de las bacterias del consorcio Ili-P62-P64 de formar biopelículas



Movimiento en enjambre de las bacterias del consorcio Ili-P62-P64.

CONCLUSIONES

- Los probióticos Ili, P62 y P64 poseen apéndices de superficie celular fimbrias y flagelos, necesarios para colonizar superficies a través de biopelículas y motilidad en enjambre.
- Estos probióticos colonizan las larvas de camarón excluyendo al patógeno *V. parahaemolyticus* causante de AHPND.
- Larvas tratadas con el consorcio Ili-P62-P64 tienen altas supervivencias en desafío con *V. parahaemolyticus*.
- Estos hallazgos son críticos para desarrollar nuevos probióticos para la acuicultura.



En A) Larvas (Zoea 3) expuestas a *V. parahaemolyticus* causante de AHPND, teñido con naranja de acridina. En B, C, D) Larvas previamente colonizadas con cada probiótico individual, Ili (teñido con DAPI), P62 (teñido con DAPI) y P64 (teñido con azul de Evans) respectivamente, antes de la exposición a *V. parahaemolyticus*. La señal del vibrio patógeno es débil y restringida a la cutícula externa y la sección anterior del ciego del intestino medio (flechas rojas). En E, larvas colonizadas por el consorcio probiótico, solo se detecta una débil señal del vibrio patógeno en la cutícula externa, y no se detecta ninguna señal del Vibrio en el intestino. AMC: Ciego del intestino medio anterior, LMC: Lateralintestino ciego (futuro hepatopáncreas), PC: cámara pilórica (intestino anterior)

Luego del desafío con *V. parahaemolyticus* la tasa de supervivencia de las larvas tratadas con el consorcio probiótico fue de $75,33 \pm 12,62\%$, significativamente mayor ($P < 0,05$) que la tasa de supervivencia de las larvas del control ($32,27 \pm 9,57\%$).

RECONOCIMIENTOS

- Este trabajo fue financiado por la Corporación Ecuatoriana para el desarrollo de la investigación y la academia (CEDIA), de Ecuador. Proyecto CEPRA XII-2018-01 "Fibras vegetales como inmunoestimulantes en acuicultura de camarón para prevenir las vibriosis". Agradecemos a Cecilia Tomalá, Rosa Malavé, Ruben Román, Gabriela Agurto, Karla Jaramillo, Elizabeth Andrade y Paul Guillén por su ayuda en los ensayos. Así mismo a Hans Gómez por proporcionarnos las larvas de *P. vannamei* y a Xavier Romero por sus valiosos comentarios.