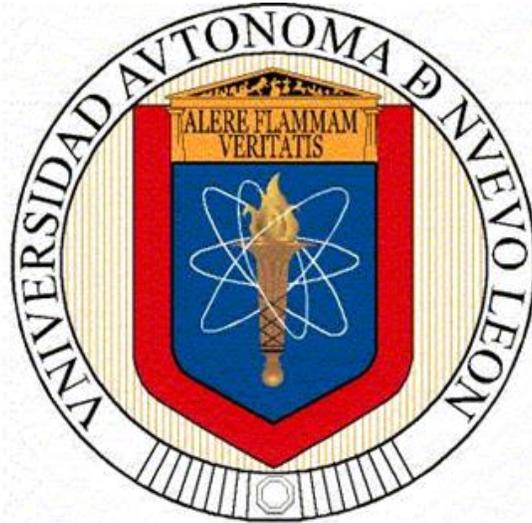


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**EVALUACIÓN ANTAGONISTA *IN VITRO* DE BACTERIAS AISLADAS DE
ECOSISTEMAS MARINOS EN CONTRA DE *Vibrio parahaemolyticus* AHPND
COMO PATÓGENO DE IMPORTANCIA ACUÍCOLA**

POR

Q.B.P GABRIEL ENRIQUE CÁZARES JARAMILLO

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN MICROBIOLOGÍA**

ENERO, 2020

EVALUACIÓN ANTAGONISTA *IN VITRO* DE BACTERIAS AISLADAS DE
ECOSISTEMAS MARINOS EN CONTRA DE *Vibrio parahaemolyticus* AHPND
COMO PATÓGENO DE IMPORTANCIA ACUÍCOLA

COMITÉ DE TESIS



Dra. Zinnia Judith Molina Garza
Presidente



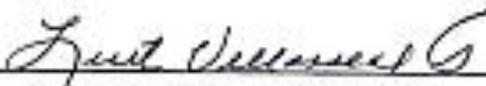
Dr. Lucio Galaviz Silva
Secretario



Dra. Patricia Tamez Guerra
Vocal



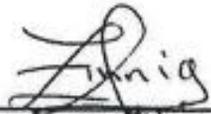
Dra. Macia Porfiria Barrón González
Vocal



Dra. Licet Villarreal Treviño
Vocal

EVALUACIÓN ANTAGONISTA *IN VITRO* DE BACTERIAS AISLADAS DE
ECOSISTEMAS MARINOS EN CONTRA DE *Vibrio parahaemolyticus* AHPND
COMO PATÓGENO DE IMPORTANCIA ACUÍCOLA

DIRECCIÓN DE TESIS



Dra. Zinnia Judith Molina Garza
Director



Dr. José Cuauhtémoc Ibarra Gámez
Director externo

EVALUACIÓN ANTAGONISTA *IN VITRO* DE BACTERIAS AISLADAS DE
ECOSISTEMAS MARINOS EN CONTRA DE *Vibrio parahaemolyticus* AHPND
COMO PATÓGENO DE IMPORTANCIA ACUÍCOLA

Esta Tesis de Maestría fue apoyada con presupuesto del proyecto:

"Evaluación de la actividad antagónica de bacterias aisladas de ecosistemas marinos
contra *Vibrio parahaemolyticus*, agente causal de la enfermedad de la necrosis
hepatopancreática aguda (AHPND) en cultivos de camarón". Convocatoria Problemas
Nacionales N° 3157 de FOINS-CONACyT.



Los resultados y productos (cepas bacterianas) están registrados en el Banco de Genes
del NCBI (Centro Nacional para la Información Biotecnológica) y el número de patente
está en trámite en el IMPI (Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial).

AGRADECIMIENTOS

Un enorme agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haber proporcionado la beca de Maestría y por el apoyo con el proyecto de problemas nacionales con número de propuesta: 2016-01-3157 “Evaluación de la actividad antagónica de bacterias aisladas de ecosistemas marinos contra *Vibrio parahaemolyticus*, agente causal de la enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) en cultivos de camarón” encabezado por el Dr. Lucio Galaviz Silva.

Agradecer ampliamente a la Universidad Autónoma de Nuevo León y en específico a la Facultad de Ciencias Biológicas, así como al Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON) donde se me ha permitido continuar con mi formación profesional.

Al Laboratorio de Patología Molecular y Experimental (LPME), particularmente a la Dra. Zinnia Judith Molina Garza y al Dr. Lucio Galaviz Silva, primero que nada, por la confianza a este Chihuahuense y en segundo, resalto que sin saber nada de mí, los Doctores me dieron la oportunidad de demostrarles quien soy, además de su profesionalismo. Reconozco el gran apoyo y soporte del proyecto y sobre todo su amistad.

A todos los compañeros de trabajo del LPME, incluidos tesisistas, alumnos de servicio social, becarios, amantes de la ciencia, etc; gracias infinitas, aprendí grandes cosas con todos, siempre me ha gustado ayudar a los demás pero hoy estoy agradecido con ustedes porque en verdad me ayudaron, gracias a todos: Mariana Cuesy, Jorge Delgado, Marycruz, Claudia V, Yulian O, Karen Leal, Jesús Manzanares, Nancy Rodríguez, Diego Elizondo, Fernanda Salazar, Vida Molina, Carolina García, Renata Hernández, Ángel Torres, Paula, Paloma y Rubí.

De igual manera, al Laboratorio de Análisis en Sanidad Acuícola (LASA), a mi Asesor externo el Dr. José Cuauhtémoc Ibarra Gámez por la hospitalidad, amabilidad, atención, su conocimiento en el sector Acuícola y sobre todo por su excelente sentido del humor. Un agradecimiento y reconocimiento especial al Dr. Ricardo Sánchez, en todos los sentidos, por adentrarme en el mundo marino, por brindarnos un poco de su tiempo y siempre estar atento, su profesionalismo y carácter firme para siempre hacer bien las cosas, además de un excelente compañerismo y una amistad brindada. Por último, pero

no menos importante, a todas las chicas y chicos del LASA porque aprendí que un trabajo bien elaborado siempre es acompañado de buenas conversaciones, risas y de excelentes personas, ah y pan Clark, gracias infinitas: Rubén Mtz., Fernanda R., Rosa O., Paty D., Diana H., Mónica L., Judith L., Leonel M., Iván A., Naharahí, Ángeles S., Mafer C., Martita Q., Cecy L., y Diva J.

Agradecido por la valiosa participación, atención, trasmisión de conocimiento como docentes y gran ayuda en la revisión de este documento, así como el apoyo tutorial, gracias: Dra. Patricia Tamez, Dra. Ma. Porfiria Barrón y Dra. Licet Villarreal. Siempre estaré agradecido con los conocimientos que un maestro puede portar y transmitir para ayudarnos a crecer profesionalmente, gracias a cada uno de mis docentes en su respectiva materia a lo largo de la Maestría.

Por otro lado, agradezco a cada uno de mis compañeros de la generación de Maestros en Ciencia con Orientación en Microbiología 2018-2020: Lucero Castro, Katia Lozano, Jesica Ramírez, Edeer Montoya, Ricardo Romero y Oziel Zuñiga, gracias por el tiempo compartido y las alegrías a lo largo de esta etapa.

A mis compañeros de vida y hogar, Tania Heredia y Edeer Montoya, gracias por tantos años de amistad, 7 hasta el día de hoy, gracias por las enseñanzas de vida, por más duras que fueran les tengo cariño y respeto; gracias por el apoyo académico y profesional que me han dado, por la sinceridad y sobre todo por confiar en mí; gracias también a uno de mis compañeros que se incorporó en el último año, Pedro Avitia, por esos momentos en la licenciatura de futbol y por el día de hoy que nos demuestras que nunca es tarde para hacer reír a alguien y sonreír.

Una de las cosas que aprendí estando solo acá en Monterrey es que no con cualquier persona puede contar uno, a pesar de la distancia siempre estuvieron presentes en mi pensar y en momentos difíciles, eso lo valoro muchísimo, gracias: Sarahí Aguilera, Karina Gutiérrez, Vianney Moreno, Yazmín Sad, Karina Ortiz, Yareli Ortega, Karina Treviño, Cristhie Padilla, Lucerito, Héctor Trejo, Xamir Betancourt.

A los más fregones amigos que puedo tener, los amo hijos de su santa madre: Kevin Ruvalcaba, Néstor Torres, Emanuel Muñoz, Eduardo Camarillo y Edeer Montoya.

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación de tesis lo dedico a mis padres, Etel Jaramillo Torres y Luis Enrique Cázares Orozco y a mis hermanos Luis Esteban, Eduardo y Elías, cada uno me aportó una parte muy importante para poder armar este proyecto, siempre les seré agradecido por todo, a mis padres por darme la vida y ser mi motor para no rendirme, y a mis hermanos porque me motivan a ser una mejor persona y un ejemplo a seguir, además agradezco por enseñarme los valores y el pensar de una persona que quiere siempre lo mejor y siempre quiero más, los amo.

ÍNDICE	Pág.
COMITÉ DE TESIS	2
DIRECCIÓN DE TESIS	3
AGRADECIMIENTOS	5
DEDICATORIA	7
ÍNDICE DE FIGURAS	10
ÍNDICE DE TABLAS	12
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	13
RESUMEN	16
ABSTRACT	17
INTRODUCCIÓN	18
ANTECEDENTES	20
JUSTIFICACIÓN	30
HIPÓTESIS	31
OBJETIVOS	32
OBJETIVO GENERAL	32
OBJETIVOS PARTICULARES	32
METODOLOGÍA	33
Lugar de trabajo	33
Lugar de muestreos	33
Toma de muestra	33
Procesamiento de muestra	35
Especímenes	35
Agua, sedimento y algas	36
Aislamiento bacteriano	36
Cepas de referencia	37
Evaluaciones <i>in vitro</i>	37

Evaluación de las pruebas de antagonismo de los aislamientos bacterianos frente a <i>Vibrio parahaemolyticus</i> MC32.....	37
Prueba de estría cruzada.....	37
Prueba de difusión en pozo	37
Caracterización morfológica de aislados bacterianos con actividad antagonica	38
Caracterización bioquímica de bacterias antagonistas	38
Identificación bacteriana por métodos moleculares	39
Análisis de secuencias	39
Análisis estadístico	39
RESULTADOS	40
Evaluaciones <i>in vitro</i>	41
Prueba de estría cruzada.....	41
Prueba de difusión en pozo	46
Caracterización de bacterias marinas con efecto antagonico	53
Caracterización morfológica.....	53
Caracterización bioquímica	60
Caracterización por métodos moleculares (secuenciación).....	64
Comparación de la identificación bacteriana.....	81
Análisis de secuencias	81
Análisis estadístico	82
DISCUSIÓN	87
CONCLUSIÓN	96
PERSPECTIVAS	97
BIBLIOGRAFÍA.....	98
RESUMEN BIOGRÁFICO	124

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de la Gamba (crustáceo) del orden Decápoda.....	21
Figura 2. Mapa mundial de la región biogeográfica del Indo-Pacífico.	24
Figura 3. Vista satelital de la localidad de Guásimas y Yavaros en el estado de Sonora, México	33
Figura 4. Muestras marinas colectadas	34
Figura 5. Crecimiento masivo de colonias bacterianas en diferentes medios de cultivo.....	40
Figura 6. Aislamiento de microorganismos bacterianos	41
Figura 7. Actividad antagonista <i>in vitro</i> en contra de <i>Vp</i> _{AHPND} por la prueba de estría cruzada. Primer muestreo	42
Figura 8. Actividad antagonista <i>in vitro</i> en contra de <i>Vp</i> _{AHPND} por la prueba de estría cruzada. Segundo muestreo	44
Figura 9. Actividad antagonista <i>in vitro</i> en contra de <i>Vp</i> _{AHPND} por prueba de difusión en pozo	49
Figura 10. Actividad antagónica <i>in vitro</i> en contra de <i>Vp</i> _{AHPND} por el método de difusión en pozo	52
Figura 11. Morfología colonial macroscópica de bacterias marinas con actividad antagónica.....	56
Figura 12. Morfología microscópica con tinción de Gram para diferenciar bacterias	59
Figura 13. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave 38.....	64
Figura 14. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave 32a.....	65
Figura 15. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave 43.....	66
Figura 16. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave H-A.....	67
Figura 17. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y23	68
Figura 18. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y29	69
Figura 19. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y34.....	70
Figura 20. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y36.....	71
Figura 21. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y44.....	72
Figura 22. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y45.....	73
Figura 23. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y46.....	74
Figura 24. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y48.....	75
Figura 25. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y50.....	76

Figura 26. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y78.....	77
Figura 27. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y80.....	78
Figura 28. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y100.....	79
Figura 29. Cromatograma y análisis de identidad de la bacteria con clave Y119.....	80
Figura 30. Análisis molecular filogenético de bacterias con actividad antagónica.....	82
Figura 31. Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes representado con un diagrama de cajas...	85
Figura 32. Gráfico de nodos entre comparaciones por parejas de prueba.....	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribuciones geográficas de camarón a nivel mundial	23
Tabla 2. Muestras marinas colectadas en dos localidades del estado de Sonora, México	34
Tabla 3. Organismos marinos, agua y sedimento colectados según su localización	35
Tabla 4. Colonias bacterianas obtenidas de las diferentes muestras marinas	40
Tabla 5. Procedencia de los aislados bacterianos con actividad antagonica frente a Vp_{AHPND}	43
Tabla 6. Aislados con actividad antagonica clasificados con base al origen de colecta y organismo del cual se aisló	45
Tabla 7. Promedio de halos de inhibición de bacterias marinas con antagonismo frente a Vp	53
Tabla 8. Morfología macroscópica de bacterias antagonistas	57
Tabla 9. Morfología microscópica de los aislados bacterianos antagonistas.....	60
Tabla 10. Identificación por el sistema API 20 NE de bacterias Gram negativas antagonistas.....	61
Tabla 11. Identificación por el sistema API 50 CHB de bacterias Gram positivas antagonistas	63
Tabla 12. Comparación entre la identificación bacteriana por secuenciación y sistema API BioMérieux.	81
Tabla 13. Procesamiento de los casos	83
Tabla 14. Estadísticos descriptivos.....	83
Tabla 15. Prueba de normalidad.....	84
Tabla 16. Sinopsis de prueba de hipótesis.....	84
Tabla 17. Comparación de pruebas y nivel de significancia	86

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°	Grados
°C	Grados Celsius/Centígrados
'	Minutos
"	Segundos
(-)	Negativo
(+)	Positivo
16S	Subunidad pequeña del ribosoma
AHPND	Enfermedad de la Necrosis Hepatopancreática Aguda
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADNg	Ácido desoxirribonucleico genómico
ADNr	Ácido desoxirribonucleico ribosomal
AM	Agar Marino
ANOVA	Análisis de varianza
API	Índice analítico de perfil
BLAST	Herramienta básica de búsqueda de alineación local
Cat	Catalasa
CHB	Medio para galería API 50
cm	Centímetros
CONACyT	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
Da	Dalton
Dr	Doctor
Dra	Doctora
EMS	Síndrome de la mortalidad temprana
f	Forward (en sentido)
FASTA	Formato de fichero basado en texto

g	Gramos
h	Horas
Ho	Hipótesis nula
ID	Identificación
ITSON	Instituto Tecnológico de Sonora
K-S	Kolmogorov-Smirnov
K-W	Kruskal-Wallis
LASA	Laboratorio de Análisis en Sanidad Acuícola
LPME	Laboratorio de Patología Molecular y Experimental
m	Metros
MEGA	Análisis Genético Molecular Evolutivo
ml	Mililitros
μl	Microlitros
mm	Milímetros
N	Norte
NaCl	Cloruro de sodio
NCBI	Centro Nacional para la Información Biotecnológica
NE	No enterobacteria
O	Oeste
Oxi	Oxidasa
<i>p</i>	Significancia
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
QBP	Químico Bacteriólogo Parasitólogo
r	Reverse/reverso
sp.	Especie dentro de un género
SPSS	Paquete estadístico para ciencias sociales
TCBS	Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa

TSA	Agar Soya Trypticaseína
TSB	Caldo Soya Trypticaseína
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
<i>Vp</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>

RESUMEN

México ocupa el noveno lugar como productor mundial de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. El Síndrome de la Morbilidad Temprana (EMS) o Enfermedad de la Necrosis Aguda del Hepatopáncreas (AHPND, por sus siglas en inglés) causada por *Vibrio parahaemolyticus* (*Vp*) reduce el rendimiento de la producción de camarón. Una alternativa es el uso bacterias marinas antagonicas. El objetivo de este estudio fue evaluar y caracterizar bacterias de ecosistemas marinos contra *Vp*. Para lograrlo, se evaluó el efecto antagonico de aislamientos contra una cepa patógena de *Vp* usando las pruebas de estría cruzada y la prueba de difusión en pozo, esta última con dos variantes; una el cultivo de células bacterianas y otra el sobrenadante libre de células. 17 aislamientos bacterianos mostraron zonas de inhibición de 0.2 a 1.7 cm en la prueba de estría cruzada, por otro lado, tres evidenciaron halos de inhibición de 2.06 a 2.46 cm por la prueba de difusión en pozo con cultivo de células bacterianas, mientras que 5 bacterias marinas mostraron inhibición de 1.76 a 3.66 por la prueba de difusión en pozo con sobrenadante libre de células. Los aislamientos antagonistas se identificaron y se caracterizaron morfológicamente, de los cuales 10 fueron bacterias Gram negativas y 7 fueron Gram positivas. La identificación fenotípica (perfil bioquímico, con la galería API BioMérieux), y genotípica (por secuenciación molecular), mostraron que los principales géneros bacterianos antagonistas pertenecen a *Bacillus* sp., *Shewanella* sp. y *Vibrio* sp.

ABSTRACT

Mexico occupies the ninth place as a world producer of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. The Early Mortality Syndrome (EMS) or Acute Hepatopancreas Necrosis Disease (AHPND) caused by *Vibrio parahaemolyticus* (*Vp*) greatly reduces white shrimp yields. An alternative is the use of antagonistic marine bacteria. The objective of this study was to evaluate and characterize marine ecosystem bacteria against *Vp*. To achieve this, the antagonistic effect of isolates against a pathogenic strain of *Vp* was evaluated using cross-streak tests and the well diffusion test, the latter with two variants; one with bacterial cell culture and another the cell free supernatant. 17 bacterial isolates showed zones of inhibition of 0.2 to 1.7 cm in the cross streak test, on the other hand, three evidenced halos of inhibition of 2.06 to 2.46 cm by the well diffusion test with bacterial cell culture, while 5 bacteria Marine showed inhibition of 1.76 to 3.66 by the well diffusion test with cell-free supernatant. Antagonist isolates were identified and morphologically characterized, of which 10 were Gram negative and 7 were Gram positive bacteria. The phenotypic identification (biochemical profile, with the BioMérieux API gallery), and genotypic (by molecular sequencing), revealed that the main antagonistic bacterial genera belong to *Bacillus* sp., *Shewanella* sp. y *Vibrio* sp.

INTRODUCCIÓN

La producción de camarón a escala mundial, tanto de captura como de cultivo, es de aproximadamente 6 millones de toneladas, de las cuales alrededor del 60 % entra en el mercado mundial (Flegel et al. 2008). Continuamente, la demanda de camarón está en aumento, mientras que la pesca global disminuye o permanece estática, debido a esto, con el empleo de la acuicultura se ha logrado satisfacer esta demanda (Flegel et al. 2008; Bondad-Reantaso et al. 2012). En términos monetarios y dentro del ámbito internacional, el camarón es el producto pesquero comercializado más importante (Gillett 2010), dado que en las últimas dos décadas ninguna actividad económica ha alcanzado un crecimiento tan acelerado como la camaronicultura, tanto en las áreas tropicales como subtropicales del mundo (Páez-Osuna 2005). Un estimado a nivel mundial indica que alrededor de 1.25 millones de zonas costeras en promedio han sido convertidas en granjas camaronícolas, principalmente en países como China, Tailandia, India, Indonesia, Filipinas, Malasia, Ecuador, Honduras, Panamá, Nicaragua y México (Páez-Osuna 2001).

México se encuentra dentro de los principales países productores del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Briggs 2005), ubicándose en el noveno lugar como productor mundial de dicho crustáceo. En un informe de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) se notificó que la producción de camarón en el país aumentó en 65.5 % durante los últimos cuatro años, por lo que se ubica a este crustáceo como el segundo en importancia entre los productos pesqueros del país (SAGARPA 2017). En México la producción de camarón proviene principalmente de cinco entidades federativas entre las cuales, el estado de Sonora, Sinaloa, Nayarit, Tamaulipas y Baja California Sur, concentran más del 90 % de dicha producción, estos estados operan en su haber un amplio número de granjas semi-intensivas (Esparza-Leal 2012; Rosas et al. 2013; Martínez-Cordero et al. 2015; Torres y Méndez 2018). La industria del camarón se ve afectada continuamente por patógenos oportunistas de tipo viral, fúngico, parasitario y de origen bacteriano, entre las enfermedades en la acuicultura, la vibriosis, causa una alta mortalidad en las primeras etapas del desarrollo del crustáceo, por lo cual se le atribuye como una de las principales pérdidas monetarias (Aguirre-Guzmán et al. 2001; Gómez et al. 2001). A la fecha, veinte especies del género *Vibrio* sp.

han sido reportadas como patógenos del camarón peneido, *L. vannamei*, perteneciente a la familia Penaeidae (Jayasinghe et al. 2010; Heenatigala y Fernando 2016). La bacteria *Vibrio parahaemolyticus* es la principal especie causante de vibriosis en el camarón y es reconocida como el agente causal del Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS, por sus siglas en inglés) y actualmente conocida como Enfermedad de la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND, siglas en inglés). A pesar de considerarse como una enfermedad nueva y emergente del camarón (Zorriehzahra y Banaederakhshan 2015), ha causado enormes pérdidas en masa dentro de la industria del camarón, esta surgió en China (2009), y luego se dispersó a otros países asiáticos como Vietnam (2010), Malasia (2011), Tailandia (2012) (Flegel 2012) y en 2014 se reportaron mortalidades en recientemente en México (Soto-Rodríguez et al. 2015). Dicha enfermedad ocurre en promedio dentro de los 20-30 días después de la siembra del camarón en estanques (NACA 2018) y la mortalidad en masa puede superar el 70 % (Kongrueng et al. 2015). Las manifestaciones clínicas de la enfermedad que pueden estar presentes en el camarón y que caracterizan a la enfermedad son las siguientes: crecimiento lento, letargo, estómago e intestino vacíos, además, de un hepatopáncreas pálido y atrófico a menudo con rayas negras (FAO 2013). Debido a la presencia de vibrios patogénicos en los estanques camaroneros ha conducido a que los productores de estos busquen eficientes medidas de control y seguimiento como la terapia con antibióticos, sin embargo, el uso inapropiado y constante de los antibióticos ha dado como origen el desarrollo de múltiples cepas resistentes (Melo et al. 2011). Una de las posibles soluciones a este problema es la búsqueda de bacterias con actividad antimicrobiana, en donde se emplea el uso de bacterias como un agente probiótico contra la infección del patógeno y de aquí radica la importancia de estas bacterias como una alternativa a la resistencia que presenta el agente causal para lograr así su posterior erradicación (Girija et al. 2018). Por lo anterior, el desarrollo de este trabajo de investigación permitirá plantear una estrategia de control biológico, mediante la evaluación, en condiciones *in vitro* de la capacidad antagonica de aislados bacterianos de ecosistemas marinos contra *V. parahaemolyticus*, agente causal de la AHPND en cultivos de camarón.

ANTECEDENTES

Taxonomía *Litopenaeus vannamei*

El camarón blanco *L. vannamei* se encuentra clasificado dentro del reino Animalia, perteneciente al filum más grande dentro de este, el Arthropoda, caracterizado por presentar apéndices articulados y un exoesqueleto o cutícula que muda cuando crece de tamaño, además, se comprende en el Subfilum Crustacea, dentro de la superclase Multicrustacea, clase Malacostraca, subclase Eumalacostraca, perteneciente al superorden Eucarida, orden Decápoda, suborden Dendrobranchiata, dentro de la superfamilia Penaeoidea, familia Penaeidae, siendo el género *Litopenaeus* y especie *L. vannamei* (Boone 1931).

Morfología

Los camarones pertenecientes a la familia Penaeidae siguen un diseño corporal muy similar al de la mayoría de los Malacostracos, es decir, son decápodos alargados y comprimidos lateralmente (Dall et al. 1990). La morfología del camarón se divide en 2 partes, la cabeza, protegida por una cubierta llamada caparazón, y la sección del cuerpo; la cabeza fusionada con el tórax es llamado cefalotórax. Esta área consta de 13 secciones, de los cuales, 8 segmentos comprenden el tórax y 5 segmentos la cabeza. La parte frontal del caparazón, con forma cónica y curva, se le conoce como rostro (rostrum) donde en su mayoría es prominente, con una cuchilla mediana alta que lleva dientes dorsales y, en algunos géneros, dientes ventrales también. Otra sección contenida en la cabeza incluye un par de ojos compuestos que son lateralmente móviles y apéndices asociados con la región de la cabeza como branquias contenidas debajo de la carcasa, estructuras sensoriales conocidas como antenas y anténulas, mandíbulas y dos pares de maxilas. Estos decápodos, además, se pueden distinguir de múltiples crustáceos superiores, esto por diferencias en sus apéndices a nivel torácico. Los primeros tres pares de apéndices torácicos, llamados maxilípedos, son usados para la alimentación, y los cinco pares restantes que son conocidos como pereiópodos son los encargados del movimiento, de esto surge el nombre de Decápoda o diez patas. Los apéndices de los Peneidos de manera típica consisten en dos ramas o partes (birramo), unos llamados exopodítos y otros

endopoditos. Estos últimos están acoplados a la parte del cefalotórax por una unión corta denominada coxa. Las patas consisten en un número de secciones articuladas que van a terminar en lo que se conoce como dactilus el cual puede ser quelado (primer, segunda y tercer patas de movimiento) o simples (cuarta y quinta patas para el movimiento). Las secciones que se localizan entre la coxa y el dactilus son conocidas como basis, isquium, merus, carpus y propus. Este tipo de estructuras, como anteriormente se mencionó, son diversamente desarrolladas para el uso de las distintas actividades: alimentación, locomoción, incluso excavación, y así facilitar el que el camarón prospere. El cuerpo y el abdomen se componen de 6 segmentos, donde se disponen los primeros cinco con pleópodos emparejados. La boca está situada ventralmente y los apéndices cefálicos que la rodean, más el primer y segundo maxilípedos y, a veces, también el tercero, pueden denominarse colectivamente como las "partes de la boca". Por otro lado, las patas de natación del sexto segmento cambian su forma en un ventilador de cola al que se le denomina urópodo. Sobre éste, hay una cola que se estrecha en los bordes llamada telson. El ano se sitúa en la superficie ventral del telson, hacia su base. Todas estas características son usadas para identificar las distintas especies de peneidos (Bell y Lightner 1988; Shrimp Culture 2010; Fast y Lester 2013) (Figura 1).

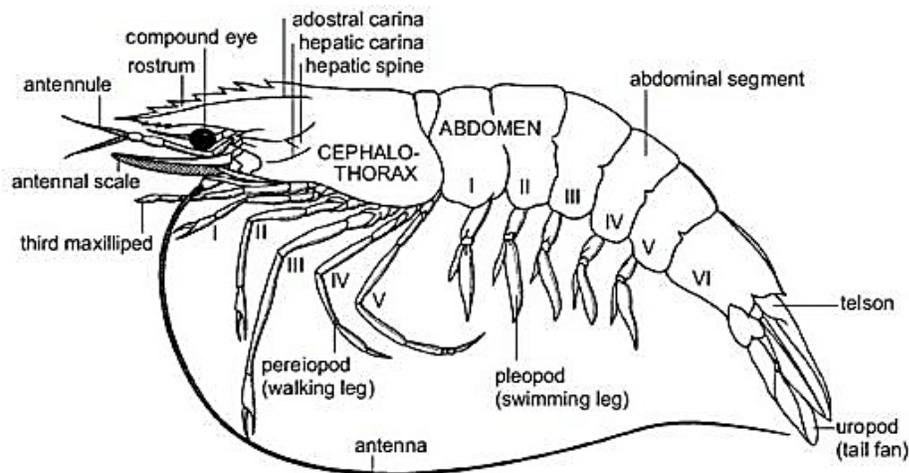


Figura 1. Morfología de la Gamba (crustáceo) del orden Decápoda. Tomado de Sucharitha y Jyothi 2013.

En particular, la morfología distintiva de la especie *L. vannamei* que lo puede diferenciar de otras especies es, entre otras cosas su rostrum que se curva ligeramente hacia abajo tiene

de 8-9 dientes dorsales y de 1-3 diente ventrales; en general un camarón de un color blanco con patas blancas o pálidas (Shrimp culture 2010).

Hepatopáncreas

Dentro de los distintos órganos que presentan los camarones, además del estómago, y el aparato digestivo, que consta de regiones divididas del intestino hasta llegar a una región posterior que corresponde el ano, uno de los principales órganos monitores de la salud de los organismos en cultivo es la hepatopáncreas (Vogt et al. 1985). La morfología de la hepatopáncreas del camarón ha sido descrita en sus inicios por distintos investigadores a principios del siglo XX y se ha ido complementando con el paso de los años (Dall et al. 1990), además, Bell y Lightner. (1988) emplearon técnicas fotográficas avanzadas para proporcionar fotografías a detalle referente a la histología de los peneidos, incluido la hepatopáncreas. Esta glándula digestiva o hepatopáncreas es el órgano más importante del sistema digestivo de los decápodos e interviene en diversas funciones metabólicas tales como síntesis, absorción, secreción y metabolismo de lípidos e hidratos de carbono. Es un órgano glandular grande, compacto y emparejado que ocupa una porción sustancial de la cavidad cefalotorácica. Se encuentra revestido por una delgada membrana de tejido conjuntivo denominada túnica propia. La hepatopáncreas se compone de diversos túbulos que terminan ciegamente unidos entre sí por cordones de tejido conectivo basófilo que proporcionan un área de superficie aumentada para la digestión y la absorción. Cada túbulo tiene una luz en el centro, que está revestida por un epitelio y una distinta gama celular, excepto en el extremo ciego distal (Gibson y Barker 1979). Se han identificado cinco tipos de células en el epitelio del túbulo hepatopancreático que participan en el proceso de digestión, con un ciclo de 24 h en los peneidos (Al-Mohanna 1983), estas son: las células E (embrionarias), células F (fibrilares), células B (tipo blister o Blastozellen), células R (resorción/absorción o Restzellen) y las células M (midget) (Al-Mohanna et al. 1985).

Zoogeografía

Referente al género *Litopenaeus* sp. se puede decir que tiene una amplia distribución, abarca aguas tanto tropicales como subtropicales alrededor del mundo y comprende un gran rango de latitud alrededor de 40° Norte hasta los 40° Sur. En la siguiente tabla se

pueden observar las distribuciones geográficas y los respectivos hábitats de 8 especies de camarones tanto etapa juvenil como etapa adulta (Fast y Lester 2013) (Tabla 1).

Tabla 1. Distribuciones geográficas de camarón a nivel mundial

Especie	Distribución	Hábitat
<i>Penaeus chinensis</i>	Indo-Pacífico Occidental: China, Hong Kong y Corea.	Marino; profundidad 90-180 m.
<i>Penaeus indicus</i>	Indo-Oeste del Pacífico: Este y Sureste de África; al Sur de China, Indonesia, Nueva Guinea; Norte y Noreste de Australia.	Fondo: barro o arena; adultos en marino; juveniles en estuarino; profundidad 2-90 m.
<i>Penaeus japonicus</i>	Indo-Oeste del Pacífico: desde el Mar Rojo, Este y Sureste de África hasta Corea, Japón, hacia el sur hasta Indonesia, Norte y Noreste de Australia y hacia el este de Fiji. Esta especie ha ingresado al Mar Mediterráneo oriental a través del Canal de Suez hasta la costa sur de Turquía.	Fondo: arena o barro arenoso; marino; profundidad 0-90 m,
<i>Penaeus merguensis</i>	Indo-Oeste del Pacífico: desde el Golfo Pérsico a Tailandia; Hong Kong, Filipinas, Indonesia, Nueva Guinea, Nueva Caledonia; Norte, Este y Oeste de Australia.	Fondo: barro; estuarino y marino; profundidad 10-45 m.
<i>Penaeus monodon</i>	Indo-Oeste del Pacífico: Este y Sureste de África y de Pakistán a Japón, hacia el sur a Indonesia y Norte de Australia.	Fondo: barro o arena; adultos en marino; juveniles en estuarino; profundidad 0-162 m.
<i>Penaeus stylirostris</i>	Pacífico oriental: del Norte de México a Perú.	Fondo: barro, arcilla o barro arenoso; marino; adultos en marino; juveniles en estuarino; profundidad 0-27 m.
<i>Penaeus vannamei</i>	Pacífico oriental: desde el Norte al Sur de México y hasta el norte de Perú.	Fondo: barro; adultos en marino; juveniles en estuarino; profundidad 0-72 m.
<i>Metapenaeus ensis</i>	Indo-Oeste del Pacífico: desde Sri Lanka y Malasia al Sureste de China, Japón, hacia el sur a Indonesia, Nueva Guinea, y Oeste, Norte y Este de Australia.	Fondo: barro; marino y estuarino; profundidad 18-64 m.

Seis de estas especies se encuentran comprendidas en la región Indo-Pacífica, abarcando las aguas tropicales del océano Índico, el océano Pacífico occidental y central, y el mar que conecta los dos en el área general de Indonesia (figura 2). En tanto que los otros dos restantes son endémicos del Pacífico oriental (Spalding et al. 2017).

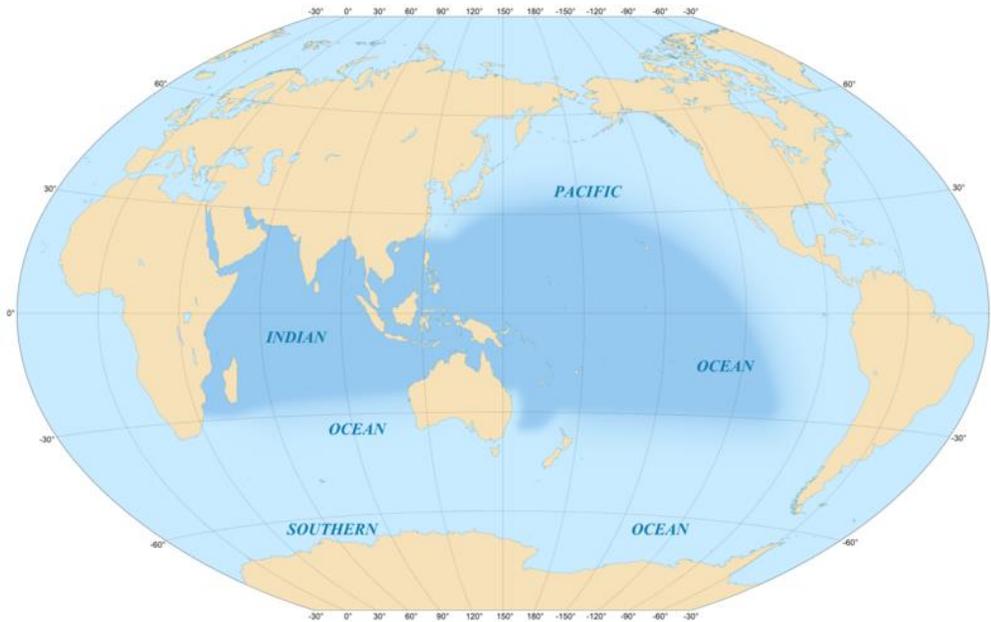


Figura 2. Mapa mundial de la región biogeográfica del Indo-Pacífico.

Los camarones peneidos de estas especies ocasionalmente los encontramos a una profundidad por debajo de los 180 metros y de manera peculiar habitan aguas costeras, en tanto que los de etapa juvenil se encuentran en forma general en hábitat costeros bajo protección (Fast y Lester 2013).

Distribución en México

Referente al peneido, *L. vannamei*, se sabe que es proveniente de la Costa Oriental y pertenece al Océano Pacífico, abarca desde el Norte de México, desde el estado de Sonora, hacia Centro y Sur de América hasta Perú, normalmente en aguas en donde su temperatura es superior a los 20°C en promedio durante todo el año, encontrándose de esta manera en zonas marinas tropicales (Briggs 2005).

Producción de camarón a nivel mundial y en México

Una de las industrias que anualmente genera millones de ganancias monetarias debido a los grandes ingresos de exportación es la referente al cultivo del camarón asiático (Flegel 2012). Consistentemente durante un lustro las especies cultivadas como *Penaeus monodon* y *L. vannamei* son las especies primordiales dominantes en el mercado mundial (Martínez-Córdova et al. 2009). No obstante, en Asia la principal temporada referente al cultivo de este crustáceo, terminó antes de lo esperado. En su mayoría los países

productores finalizaron en el mes de noviembre del año 2016, los cuales tuvieron una producción a nivel mundial muy lenta. Esto se vino en contra de todo pronóstico, debido a que vinculaban un aumento de la producción en dicho año, sin embargo, las enfermedades que afectaban al camarón estaban en aumento y afectaron el sistema de producción. En México las enfermedades que atacaban al camarón impactaron de manera directa y de forma negativa el aumento de volumen de producción (FAO 2017). Es de suma importancia tener en cuenta que el cultivo de camarón comprende la principal línea de producción acuícola presente en México, este crustáceo es perseguido por mercados internacionales, un ejemplo son las exportaciones de México a Estados Unidos de América las cuales ascendieron para el año 2016 con respecto a un año anterior. Las empresas dedicadas al ámbito camaronícola que se encuentran ubicadas en los estados de Sonora, Sinaloa, Baja California Sur y Nayarit no dejan de lado los retos que tienen que enfrentar referentes a distintos patógenos que pueda presentar el camarón (Téllez 2016). En paralelo a este tipo de producciones, se prende la alarma debido al incremento de enfermedades infecciosas en los cultivos de camarón, esto debido a que la última década tiene como relevancia la presencia de una elevada prevalencia de enfermedades tanto de origen bacteriano como viral en cultivo de camarón, mismas que han generado mortalidades elevadas en las granjas camaronícolas (Prieto y Rodríguez 1993; Martín et al. 2004; Morales-Covarrubias 2004; Varela 2007; Morales y Cuellar-Ángel 2008; Soto et al. 2010; Varela y Peña 2013; Varela y Peña 2014).

AHPND

La Enfermedad de la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND, por sus siglas en inglés) fue reportada como una enfermedad de irrupción espontánea o de causa desconocida en camarones juveniles pertenecientes a granjas en China por primera vez en el año 2009, las especies reportadas de camarón fueron *P. monodon* y *L. vannamei*. Al pasar los años siguientes y sin identificación del agente etiológico, dicha enfermedad se propagó a países cercanos como Vietnam en 2010, Malasia en el año 2011, Tailandia durante el 2012 (NACA 2012; FAO 2013; Lightner et al. 2013; Sriurairatana et al. 2014) y Filipinas el más recientemente reportado (Leobert et al. 2015). Referente al continente americano, la AHPND se reportó en el año 2013, esta enfermedad ocasionó elevadas

mortalidades y una disminución en masa de la producción de camarón en México, en especial los estados afectados fueron Sonora, Sinaloa y Nayarit (Lightner et al. 2013; Nunan et al. 2014; Pantoja y Lightner 2014; Sánchez et al. 2014; Sirikharin et al. 2015). Dicha enfermedad presenta signos clínicos específicos que terminan en la muerte del crustáceo. Estos signos asociados a la presencia de la enfermedad incluyen un crecimiento reducido del camarón, ataxia, textura blanda y una cutícula áspera, anorexia, nado errático, bajo contenido intestinal y sobre todo una palidez de la hepatopáncreas, lo que genera un aumento de la mortalidad en masa de camarón a los treinta o cuarenta días posteriores (Lightner et al. 2013; Pantoja y Lightner 2014; Hong et al. 2016).

Al tiempo que impactaron los primeros brotes de AHPND, se sospechaba de su posible naturaleza, sin embargo, los análisis realizados para identificar el posible agente causal no fueron certeros. En tanto que, en el año de 2013 a través de ensayos en el área de acuacultura fue posible establecer la identidad etiológica, la cual fue de origen bacteriano (Lightner et al. 2013; Tran et al. 2013; Nunan et al. 2014; Pantoja y Lightner 2014).

Agente causal de AHPND

Las especies reportadas como una de las causas principales de grandes pérdidas económicas en la producción de camarón de cultivo son las del género *Vibrio*, debido a que este grupo de bacterias puede originar mortalidades hasta del 100 % (Trujillo et al. 2005). Conforme a las investigaciones realizadas se ha demostrado la existencia de una amplia variedad de cepas patogénicas de *V. parahaemolyticus* las cuales generan grandes mortalidades en diferentes estadios de distintas especies de camarón, por ejemplo, *P. monodon*, *L. stylirostris* y *L. vannamei* (Trujillo et al. 2005). Esta especie patógena, *V. parahaemolyticus* es una bacteria Gram negativa que pertenece a la familia Vibrionaceae, de características halotolerantes por lo que puede desarrollarse y diseminarse en estuarios, ambientes marinos y costeros (Su y Liu 2007; Nelapati et al. 2012; Ceccarelli et al. 2013; Zhang y Orth 2013). Dicho agente corresponde a una cepa virulenta de *V. parahaemolyticus*, la cual porta un plásmido específico que contiene una toxina que está compuesta de dos elementos que le confieren la patogenicidad (Lightner et al. 2013; Tran et al. 2013; Nunan et al. 2014; Han et al. 2015). La bacteria se introduce por medio de vía oral por los detritos encontrados en el agua y fondos de estanque, de esta manera coloniza

tracto digestivo y mediante la acción de la toxina se produce una fase aguda de disfunción celular en la hepatopáncreas, además de una necrosis marcada en este órgano del camarón peneido (Cuéllar-Ángel et al. 2012).

Alternativas de prevención y control

La amplia búsqueda de una alta variedad de soluciones ante los problemas relacionados con las prácticas de acuicultura ha generado resultados potencialmente peligrosos y dañinos contra la materia prima pesquera. Productos y procedimientos tales como cloración, uso de antibióticos, insecticidas, pesticidas y larvicidas se han tenido como remedios para evitar los posibles problemas en los distintos criaderos y granjas de cultivo de camarón. A pesar de que ciertos productos mejoren la condición de cultivo y de cierta forma anulan a los diversos portadores de enfermedades, se tiene verificado que un uso indebido de estos empeora el problema existente (Reid et al. 2003).

Para esto, una alternativa a lo ya convencional como el uso de antibióticos sería la implementación de probióticos (Reid et al. 2003). Con el paso del tiempo se han puesto en práctica diferentes mecanismos a través de los cuales estos probióticos favorecen la salud del hospedero. Tales mecanismos buscan la manera de crear un ambiente que sea hostil para los diferentes patógenos ya sea con la producción de compuestos inhibidores (metabolitos, enzimas y bacteriocinas), competencia por la utilización de nutrientes esenciales, además de competir por el sitio de adherencia y un desarrollo de la respuesta inmune que sea beneficioso, todo esto con el fin de poner en práctica el uso de microorganismos como control biológico (Gatesoupe 1999; Gómez et al. 2000; Irianto y Austin 2002; Balcázar et al. 2006).

Control biológico

El control biológico es definido como el uso de organismos vivos con el fin de llegar a impactar a un organismo patógeno específico, lo cual lo hace menos dañino o logra una disminución de éste (Eilenberg et al. 2001). Con base a este contexto, los distintos microorganismos como bacterias, hongos, parásitos y los virus se consideran como agentes de control biológico (Kloepper 1996; Pal y McSpadden 2006), cuyo objetivo es

lograr una disminución en la incidencia y la gravedad de enfermedades (Kloepper y Ryu 2006).

El llamado control biológico emerge como una de las alternativas a las ya establecidas para conducir las enfermedades causadas por diversos patógenos. Es considerado como uno de los métodos a resaltar para recuperar el equilibrio de ecosistemas y para aprovechar la capacidad que tienen ciertos microorganismos de un potencial antagonismo natural contra patógenos (Avendaño et al. 2006).

Dicho potencial antagónico, si lo aplicamos en la microbiología, sería definido como las actividades que van a poseer los microorganismos para evitar que otro se desarrolle o prolifere, generalmente esto se da a través de ciertas sustancias o metabolitos que son producidos y liberados en el medio y que si poseen las propiedades específicas e inhibitorias pueden erradicar diferentes patógenos (Iracheta-Villarreal 2017).

Aislados bacterianos y su actividad antagónica

Se conocen dos tipos de metabolismos relacionados a la actividad metabólica bacteriana: metabolismo primario, que se encuentra asociado a procesos tanto de crecimiento como de proliferación celular de cultivos específicos, y metabolismo secundario que tendrá lugar en la fase estacionaria una vez que haya cesado el crecimiento de la materia acumulada en el microorganismo, además se producirán distintos tipos de compuestos llamados metabolitos secundarios (Parés y Juárez 1997), los cuales los encontramos comúnmente en microorganismos marinos (Kelecom 2002). A manera general, los metabolitos secundarios son moléculas de bajo peso molecular entre 1.500-2.000 Da, ya sea que se encuentren constituidos parcial o totalmente por péptidos. Normalmente su producción se da cuando algún nutriente del medio en el que están es limitante y de esta forma se altera la producción de los metabolitos primarios lo que origina la síntesis de enzimas que darán lugar a los metabolitos secundarios. Parés y Juárez (1997) puntualizan que la actividad antagónica de los metabolitos secundarios originados por bacterias está respaldada por la capacidad que tienen estas de inhibir proceso metabólicos primarios que son esenciales en otras bacterias y así dominar el ambiente donde se encuentren.

Desde el punto de vista de Geovanny et al. (2007) las bacterias antagonistas utilizadas como probióticos surgen como importantes alimentos complementarios en un ámbito de profilaxis. Se ha visto que ciertos metabolitos obtenidos de bacterias marinas tienen efectos antagónicos contra otras bacterias marinas de importancia, por ejemplo, inhibir el crecimiento de éstas (Armstrong et al. 2000; Long et al. 2005; Zapata et al. 2007, Castillo et al. 2008; Zhang et al. 2009). De los primeros estudios relacionados a bacterias aisladas de ambientes marinos como productoras de sustancias antimicrobianas fueron los realizados por Rosenfeld y Zobell (1947), los cuales informaron que géneros como *Bacillus* sp. y *Micrococcus* sp. presentaron efectos antagonistas en contra de cepas no marinas.

En el trabajo de Lobos (2014), aislaron de *Concholepas concholepas*, dos bacterias con actividad antagónica, una de ellas *Bacillus pumilus* y otra perteneciente a *Vibrio* sp. con actividad inhibidora en contra de una cepa patógena de *V. parahaemolyticus*.

Los investigadores Le y Yang (2018), examinaron bacterias de ácido láctico que pertenecían al género *Lactobacillus* sp., fueron aisladas de camarón y las retaron contra *V. parahaemolyticus*, las cuales presentaron zonas de inhibición importantes.

Se han realizado estudios que mostraron la actividad antagonista de un extracto libre de células de *B. licheniformis* contra *V. parahaemolyticus*, en donde obtuvieron distintas medidas de inhibición representativas, esto lo compararon con un probiótico comercial de *Lactobacillus acidophilus*, el cual no fue tan efectivo comparado con la bacteria a retar (Girija et al. 2018).

JUSTIFICACIÓN

México es uno de los principales países productores de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* a nivel mundial; sin embargo, esta producción se ha visto afectada por la Enfermedad de la Necrosis Hepatopancreática Aguda, causada por *Vibrio parahaemolyticus*. Un método alternativo para controlar al agente etiológico de la enfermedad es la utilización de bacterias aisladas de ecosistemas marinos, las cuales confieren actividad antagónica frente al agente causal. La prevención y el control de dicha enfermedad evitaría grandes pérdidas en los cultivos de camarón lo cual impactaría económicamente en los distintos sectores dedicados a la producción y distribución de este crustáceo en el país.

HIPÓTESIS

Las bacterias aisladas de ecosistemas marinos presentan actividad antagónica *in vitro* en contra de *Vibrio parahaemolyticus*.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar y caracterizar bacterias aisladas de ecosistemas marinos en contra de *Vibrio parahaemolyticus* agente causal del AHPND, y su uso potencial como aditivo alimenticio profiláctico y terapéutico en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Evaluar el efecto antagonista *in vitro* de bacterias obtenidas de ambientes y especímenes marinos (algas, almejas, caracoles, jaibas, agua y sedimento) contra una cepa patógena de *V. parahaemolyticus* de importancia acuícola.
- 2) Identificar mediante caracterización morfológica, bioquímica y molecular a las bacterias con actividad antagónica.

METODOLOGÍA

Lugar de trabajo

Esta investigación se llevó a cabo en dos universidades: la primera en el Laboratorio de Análisis en Sanidad Acuícola del Instituto Tecnológico de Sonora en la ciudad de Obregón, Sonora, y la segunda en el Laboratorio de Patología Molecular y Experimental en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Lugar de muestreos

Los muestreos de organismos acuáticos y sedimentos, tanto agua de mar como suelo, se llevaron a cabo en el Estado de Sonora en las siguientes localidades: Guásimas ($27^{\circ}53'09''\text{N } 110^{\circ}34'54''\text{O}$) y Yavaros ($26^{\circ}42'17''\text{N } 109^{\circ}31'07''\text{O}$) (Figura 3).



Figura 3. Vista satelital de la localidad de Guásimas y Yavaros en el estado de Sonora, México.

Toma de muestra

Para llevar a cabo el aislamiento del microbiota bacteriano de distintos organismos acuáticos, se procedió de manera aleatoria a coleccionar un número entre 15-25 especímenes por localidad, éstos se transportaron, ya sea, en bolsas Ziploc o bolsas estériles Nasco Whirl Pak (Parada et al. 2017) y se trasladaron de inmediato en cubetas con agua y hielo al laboratorio para su posterior identificación (León et al. 2016). Para la colecta de sedimento, así como macroalgas, guano, raíces y agua marina (INVEMAR 2005; Sánchez

et al. 2011) se transportaron en bolsas estériles Nasco Whirl Pak y de igual manera directo al laboratorio para su debido procesamiento (Uprety et al. 2017).

En el primer muestreo realizado en la localidad de Guásimas, se colectaron 31 diferentes muestras entre organismos marinos, agua y sedimento. En la segunda colecta, llevada a cabo en la localidad pesquera de Yavaros, se colectaron 62 ejemplares de los antes mencionados (Tabla 2). Ejemplares de los organismos marinos, agua y sedimento (Figura 4).

Tabla 2. Muestras marinas colectadas en dos localidades del estado de Sonora, México

Lugar de muestreo	Agua, sedimento y organismos marinos colectados
Guásimas	31
Yavaros	62
Total	93



Figura 4. Muestras marinas colectadas. Dentro de las cuales se obtuvieron: agua marina, sedimento de mar, algas y diferentes especímenes marinos.

Procesamiento de muestra

Se colectaron los siguientes especímenes marinos, así como agua y sedimento donde se agrupan con base a la localidad del cual fueron colectados, nombre científico y nombre común del espécimen biológico (Tabla 3).

Tabla 3. Organismos marinos, agua y sedimento colectados según su localización

Localidad	Organismo marino, agua y sedimento	Nombre común
Guásimas	<i>Callinectes arcuatus</i>	Jaiba azul
	<i>Rhizophora mangle</i>	Manglar rojo
	Lodo de manglar	Lodo de manglar
	<i>Ilioichione subrugosa</i>	Almeja china
Yavaros	Sedimento costero	Sedimento costero
	<i>Salicornia bigelovii</i>	Salicornia
	<i>Sargassum sinicola</i>	Alga parda
	<i>Enteromorpha compressa</i>	Alga verde
	<i>Clibanarius panamensis</i>	Cangrejo ermitaño
	<i>Petrochirus californiensis</i>	Cangrejo ermitaño
	Sedimento salino	Sedimento salino
	Agua de mar	Agua de mar

Especímenes

Referente al aislamiento del diverso microbiota bacteriano de los organismos acuáticos colectados, se procedió a realizar la disección de cada uno de estos, con ayuda de pinzas previamente estériles y un bisturí, además uso de guantes y cubrebocas (Stelling et al. 2019). Posterior a la disección, se adicionaron 20 ml de solución salina estéril al 2 % a un mortero y con ayuda de un pistilo se llevó a cabo la maceración de cada uno de los organismos por separado (Abasolo-Pacheco 2015). Una vez macerado lo requerido, se llevaron a cabo diluciones seriadas (Cullen y MacIntyre 2016). Se adicionó 1000 µl del resultante con ayuda de una micropipeta y se colocó en tubo de ensayo con taparrosca 16 x 150 mm que contenía 9 ml de solución salina estéril al 2 %, por lo que se obtuvo la dilución 1:10, posteriormente se tomaron 1000 µl de esta dilución y se pasó a otro tubo con 9 ml de solución salina al mismo porcentaje, dilución 1:100, y por último se tomaron

1000 µl de esta última y se vertieron en un tubo con 9 ml de solución salina estéril al 2 % de igual manera para obtener así la dilución 1:1000 (Abasolo-Pacheco 2015; León et al. 2016). Se optó por tener esta dilución debido a que se quiere llegar a reducir la concentración de bacterias de las muestras y así llegar a ser útil para la obtención de resultados más manejables y además un mejor número de colonias definidas al momento de cultivar (Gorse y Colin 2019). Una vez realizadas las diluciones seriadas de cada espécimen, se tomaron 100 µl (0.1 ml) y se sembraron, con ayuda de una varilla de vidrio, por extensión (León y García-Tello 1988; Abasolo-Pacheco 2015) en placas Petri con diferentes agares: Agar Soya Trypticaseína (TSA, BD Difco, México) + 2 % de NaCl, Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa (TCBS, BD Difco, México) y Agar Marino (AM, BD Difco, USA). Posterior a esto se incubó en condiciones de aerobiosis entre 30-32 °C durante 24 h (Dopazo et al. 1988; Carbonó y Cuan 2017).

Agua, sedimento y algas

De las muestras de agua, se tomó 1 ml y se realizaron diluciones seriadas hasta 1:100 y de esta última dilución se tomaron 100 µl y se sembraron por el método de dispersión en placa con ayuda de una varilla de vidrio (Carbonó y Cuan 2017; Justo et al. 2016).

Respecto al sedimento y algas, con la ayuda de una espátula se tomó y se pesó 1 g de la muestra a selección y se realizaron diluciones seriadas hasta la dilución 1:1000, posterior a esto y de igual forma se tomaron 100 µl para realizar la siembra por el método de dispersión en placa en los diferentes agares antes mencionados (Suárez et al. 2015). El tiempo de incubación fue de 24 h a 30-32 °C (Parada et al. 2017).

El tiempo transcurrido entre la colecta de especímenes marinos y el procesamiento de muestras no debe ser mayor de 24 h (León et al. 2016).

Aislamiento bacteriano

Una vez obtenido el crecimiento masivo de las diferentes colonias bacterianas por el método de siembra por extensión en los diferentes medios de cultivo, que fueron los pasos previos, se procedió a aislar cada una de estas de manera individual para obtener así un cultivo aislado y proceder a las evaluaciones antagónicas (Csuros 2018).

Cepas de referencia

Para las evaluaciones *in vitro* de la actividad antagónica de las diferentes colonias bacterianas obtenidas, se utilizó una cepa patógena de camarón, la cual fue *Vibrio parahaemolyticus* AHPND identificada con clave MC32 proporcionada por el ITSON.

Evaluaciones *in vitro*

Para la realización de este procedimiento, se utilizó el Agar Mueller-Hinton (M-H, BD Difco, USA) + 2 % de NaCl para las pruebas de antagonismo en placa Petri (Karami et al. 2017; Kumar et al. 2017). Además, se utilizaron medios de enriquecimiento como el Caldo Trypticase Soya (TSB, BD Difco, México) al 2 % de NaCl para la reactivación de cepas bacterianas y la preparación de inóculos (Marshall 1992).

Evaluación de las pruebas de antagonismo de los aislamientos bacterianos frente a *Vibrio parahaemolyticus* MC32.

Prueba de estría cruzada

Se optó por la prueba de estría cruzada en placas con Agar Mueller-Hinton (M-H, BD Difco, USA) al 2 % de NaCl (Leyton et al. 2014) para la evaluación del efecto antagónico (Balouiri et al. 2016). Para esta evaluación se utilizó la cepa previamente descrita en el apartado de cepas de referencia. De las bacterias aisladas previamente se tomaron de 2-3 colonias bacterianas y se procedió a realizar suspensiones de 0.5 McFarland (1×10^8 UFC/ml) y con la ayuda de un hisopo estéril se tomó muestra para realizar la estría en la placa y se incubó a 30-32°C por 48 h. Posteriormente, se preparó de igual forma una suspensión de McFarland 0.5 pero ahora con *V. parahaemolyticus* MC32, para colocar con un hisopo estéril y evaluar la actividad antagónica de la bacteria a retar (Lertcanawanichakul y Sawangnop 2011; Velho-Pereira y Kamat 2011). Se incubó a las condiciones de 30-32 °C por 24 h para poder observar el efecto inhibitorio de la zona de cruce de los aislados (Balouiri et al. 2016). Una vez transcurrido el periodo de incubación, se midieron las diferentes zonas de inhibición en centímetros (cm) con ayuda de una regla graduada.

Prueba de difusión en pozo

De las bacterias candidatas de la prueba de estría cruzada, se seleccionaron las que presentaron inhibición en contra del patógeno, de las cuales se realizaron dos variantes, la

primera variante corresponde a un cultivo líquido con células bacterianas en caldo soya tripticaseína (TSB, BD Difco, México) + 2 % de NaCl de cada una de las bacterias; y una segunda variante con el sobrenadante libre de células bacterianas en las mismas condiciones de cultivo (Carrillo et al. 2010; Aristizabal y Marín 2012). Para esto, se procedió a realizar la prueba de difusión en pozo, del cultivo de *V. parahaemolyticus* MC32, se tomaron 100 µl (inóculo de prueba 1×10^8 UFC/ml) y se vertieron por separado en placas con agar Mueller-Hinton al 2 % NaCl, luego se procedió a distribuir con ayuda de una varilla de vidrio hasta ser impregnado el inóculo en la placa Petri con el agar antes mencionado (Jorgensen y Turnidge 2015). Después, con la ayuda de tubos de ensayo Durham se realizaron 4 excavados (pocillos) en cada una de las placas Petri con agar, después de este, se añadieron 100 µl, por triplicado, de cada una de las bacterias a retar en cada pocillo (ambas variantes) y en el pocillo 4 se utilizó medio sin inocular como control negativo (Balouiri et al. 2016). Las placas se incubaron a 30-32°C por 24 h y con ayuda de una regla graduada en centímetros (cm) se registraron los resultados de los halos de inhibición por parte de las diferentes bacterias a retar (Saviano y Lourenço 2018).

Caracterización morfológica de aislados bacterianos con actividad antagónica

De toda la variedad de organismos marinos colectados se aislaron las diferentes colonias bacterianas que presentaron actividad antagonista en contra del patógeno esto en Agar Marino (AM, BD Difco, USA) y Agar Soya Tripticaseína (TSA, BD Difco, México) al 2 % de NaCl las cuales se incubaron en las siguientes condiciones a 30-32°C por 18-24 h (Santana y Rolando 2015). Transcurrido este tiempo, se procedió a su caracterización morfológica, tanto microscópica mediante tinción de Gram (Moyes et al. 2009) y macroscópica mediante morfología colonial (Sousa et al. 2013).

Caracterización bioquímica de bacterias antagonistas

Además de la caracterización morfológica antes mencionada, los organismos bacterianos antagonistas se caracterizaron por pruebas bioquímicas con ayuda de las diferentes galerías del sistema API BioMérieux. Se utilizó el sistema API 20 NE para bacterias Gram negativas (Amornchai et al. 2007) y el sistema API 50 CHB para bacterias Gram positivas (Boyd et al. 2005). Este sistema se basa en un set de ensayos seleccionados para un grupo bacteriano específico los cuales mediante una plataforma en internet llamada APIWEB

proporciona un perfil bioquímico completo para una intuitiva identificación bacteriana (Wootton et al. 2016).

Además, se realizaron las pruebas de oxidasa (OXI) y catalasa (CAT) (Justo et al. 2016).

Identificación bacteriana por métodos moleculares

Una vez aisladas las diferentes colonias bacterianas que únicamente presentaron antagonismo en contra de la cepa patógena, se procedió a la identificación de estas por secuenciación gracias al servicio y ayuda de la empresa MacroGen Inc Korea (Kang y Ryoo 2019). El servicio consistió en el análisis de secuencias de la región 16S ADNr, donde se realizó una extracción de ADNg, una amplificación por la técnica de PCR, con los primers 27F 5' (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3' y 1492R 5' (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T)3' de los cuales se obtuvieron fragmentos de aproximadamente 1500 nucleótidos; posteriormente, la purificación del producto obtenido de PCR y una secuenciación bidireccional con los primers 785F 5' (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) 3' y 907R 5' (CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT) 3', conjuntamente con el reporte correspondiente de identificación (MacroGen Inc 2018). Estos resultados se compararon con el programa nucleotide BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI (National Center for Biotechnology Information) para conocer el porcentaje de similitud y su identificación correspondiente (NCBI 2019).

Análisis de secuencias

Las secuencias se analizaron con ayuda del software MEGA X, una multiplataforma de análisis de alineamiento múltiple enfocado a análisis filogenéticos, donde se realizó la construcción de un árbol filogenético por el método de Neighbor-Joining (Saitou and Nei 1987; Hall, 1999; Larkin et al. 2007; Tamura et al. 2007; Kumar et al. 2018).

Análisis estadístico

Los resultados de las pruebas antagónicas (prueba de estría cruzada, prueba de difusión en pozo con variante 1 y 2) se realizaron con un análisis de varianza (ANOVA) con la prueba de Kruskal-Wallis de muestras independientes, esto con ayuda del software estadístico IBM SPSS Statistics 20 (Leyton et al. 2012; Velmurugan et al. 2013; Cleophas y Zwinderman 2016).

RESULTADOS

De las dos colectas realizadas y de las muestras procesadas, se obtuvo un crecimiento masivo de diferentes colonias bacterianas (figura 5). Un total de 258 colonias bacterianas aisladas (Tabla 4).

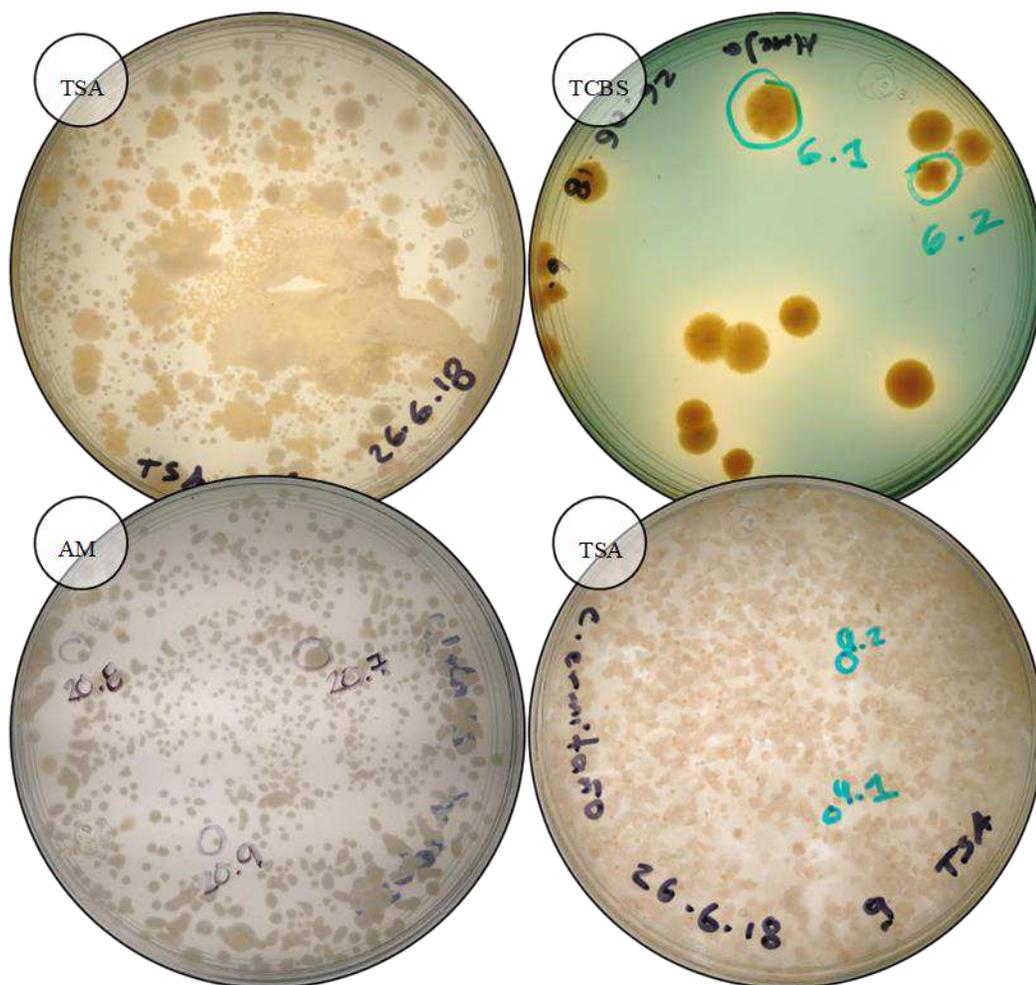


Figura 5. Crecimiento masivo de colonias bacterianas en diferentes medios de cultivo. Donde: TSA: Agar Soya Trypticaseína + 2 % NaCl; TCBS: Agar Tiosulfato Citrato Bilis Sacarosa; AM: Agar Marino.

Tabla 4. Colonias bacterianas obtenidas de las diferentes muestras marinas

Localidad	Colonias bacterianas aisladas
Guásimas	117
Yavaros	141
Total	258

Una vez obtenido el crecimiento masivo de toda la amplia gama de colonias presentadas en los diferentes medios de cultivo, se procedió a aislar las colonias representativas observadas (figura 6) para tener cultivos relativamente puros y proceder así a las evaluaciones *in vitro* correspondientes.

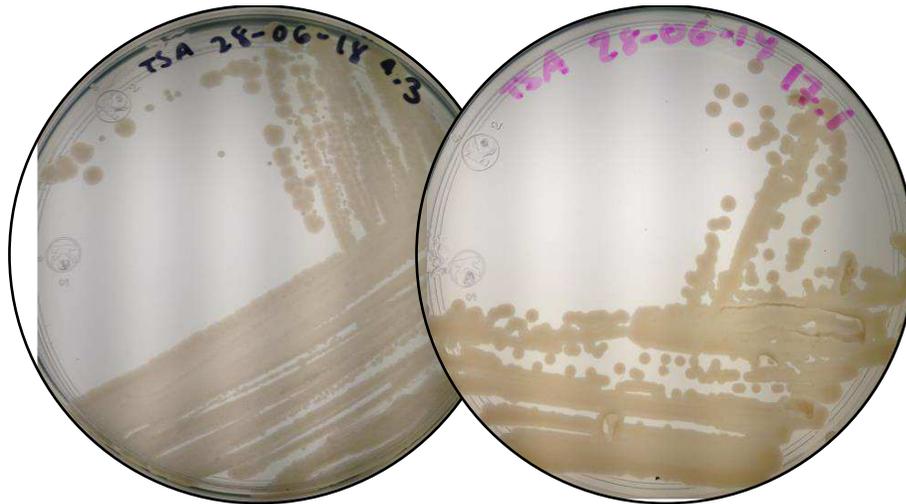
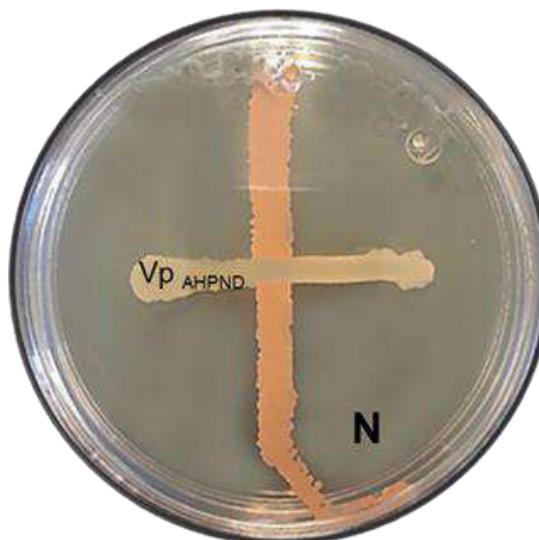


Figura 6. Aislamiento de microorganismos bacterianos. Recuperados en medio TSA y AM.

Evaluaciones *in vitro*

Prueba de estría cruzada

Se evaluaron las 258 colonias bacterianas aisladas por la prueba de estría cruzada. Del primer muestreo, diversas bacterias a retar mostraron efecto antagónico en contra de MC32, éstas fueron las bacterias con clave 38, 32a, H-A y 43 las cuales evidenciaron diferentes zonas de inhibición en contra del patógeno (Figura 7).



34a

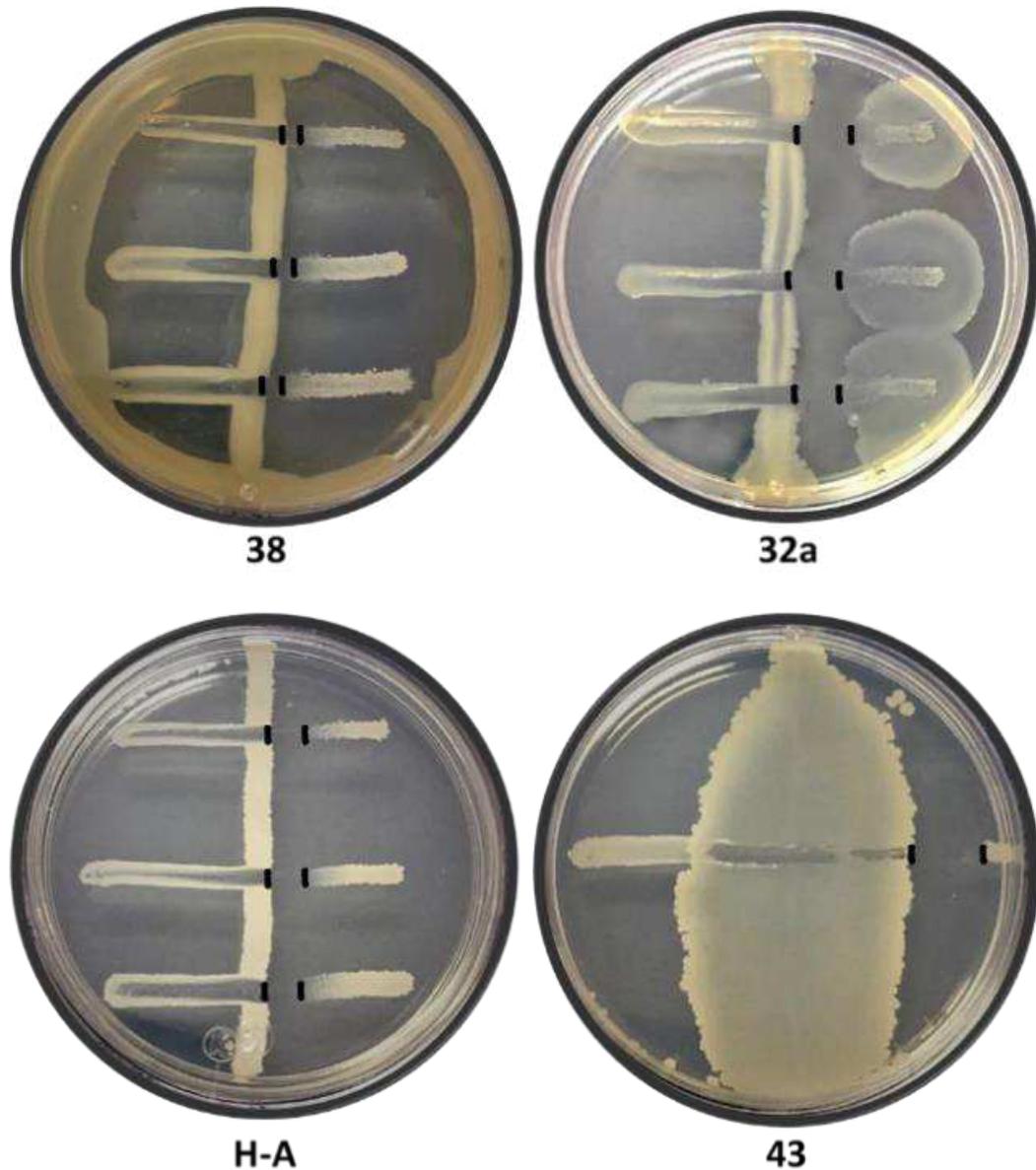


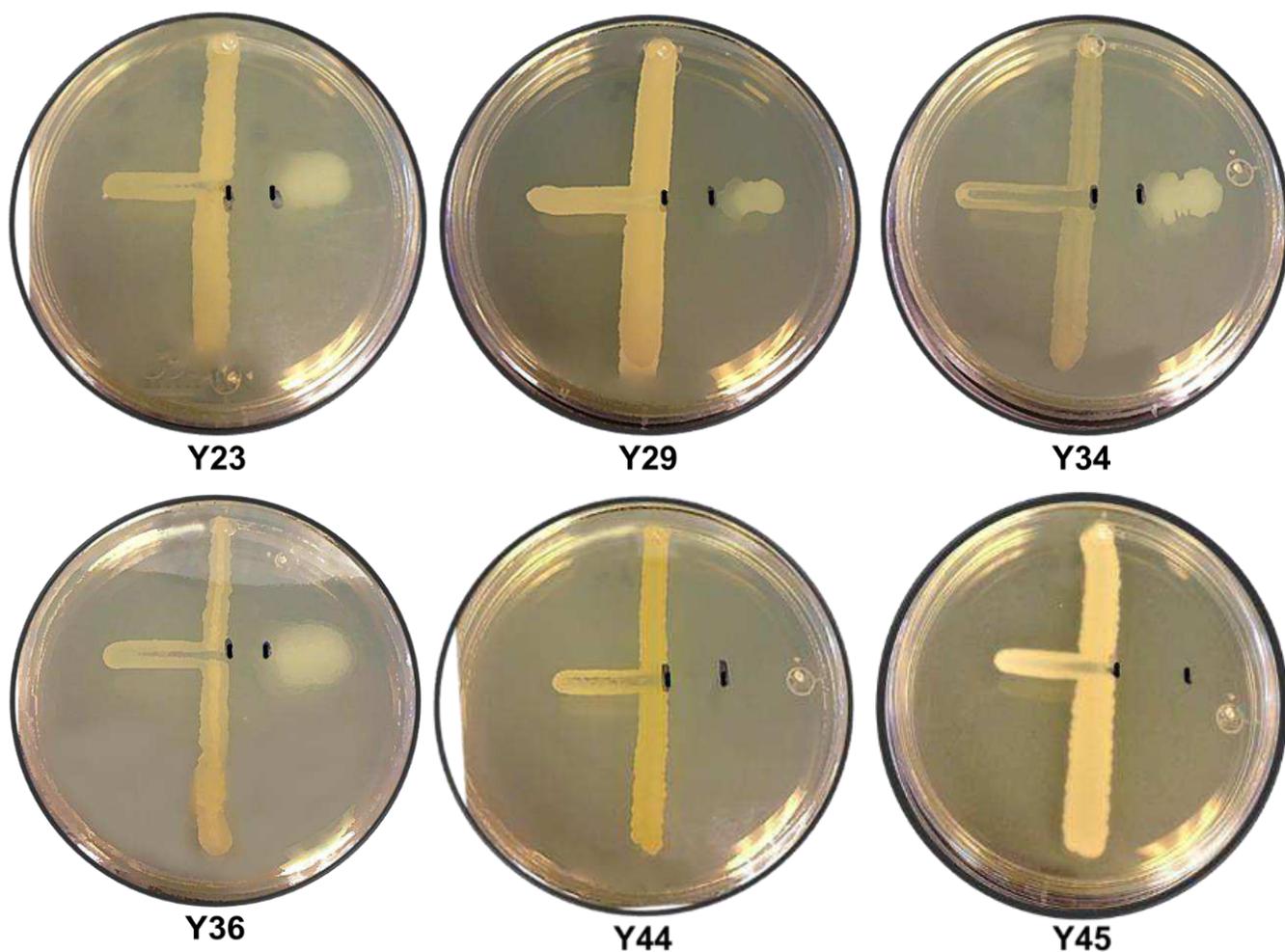
Figura 7. Actividad antagonista *in vitro* en contra de *Vp*_{AHPND} por prueba de estría cruzada. Aislados que mostraron efecto antagónico etiquetados con clave 38, 32a, H-A y 43. Resultado negativo o no-antagónico identificado como 34a. Las barras en negritas indican el inicio y el término de la zona de inhibición evidenciada. Donde: N: Negativo; *Vp*_{AHPND}: *Vibrio parahaemolyticus*.

La tabla 5 muestra la clasificación con base a la localidad donde estas bacterias fueron aisladas, el organismo marino del cual proviene y la zona de inhibición que presentaron en mm, donde resalta la bacteria recuperada de una almeja china e identificada con clave 43 con la mayor actividad de inhibición, 1.3 cm, para este muestreo (Tabla 5).

Tabla 5. Procedencia de los aislados bacterianos con actividad antagónica frente a *Vp*_{AHPND}

Localidad	Organismo marino	Clave del aislado	Zona de inhibición (cm)
	<i>Callinectes arcuatus</i> (Jaiba azul)	38	0.3
Guásimas	<i>Rhizophora mangle</i> (Manglar rojo)	32a	1.0
	Lodo de manglar	H-A	0.7
	<i>Ilichione subrugosa</i> (Almeja china)	43	1.3

De la segunda colecta, se obtuvieron 13 bacterias marinas con resultados de antagonismo en contra de la bacteria patógena con evidentes zonas de inhibición (Figura 8).



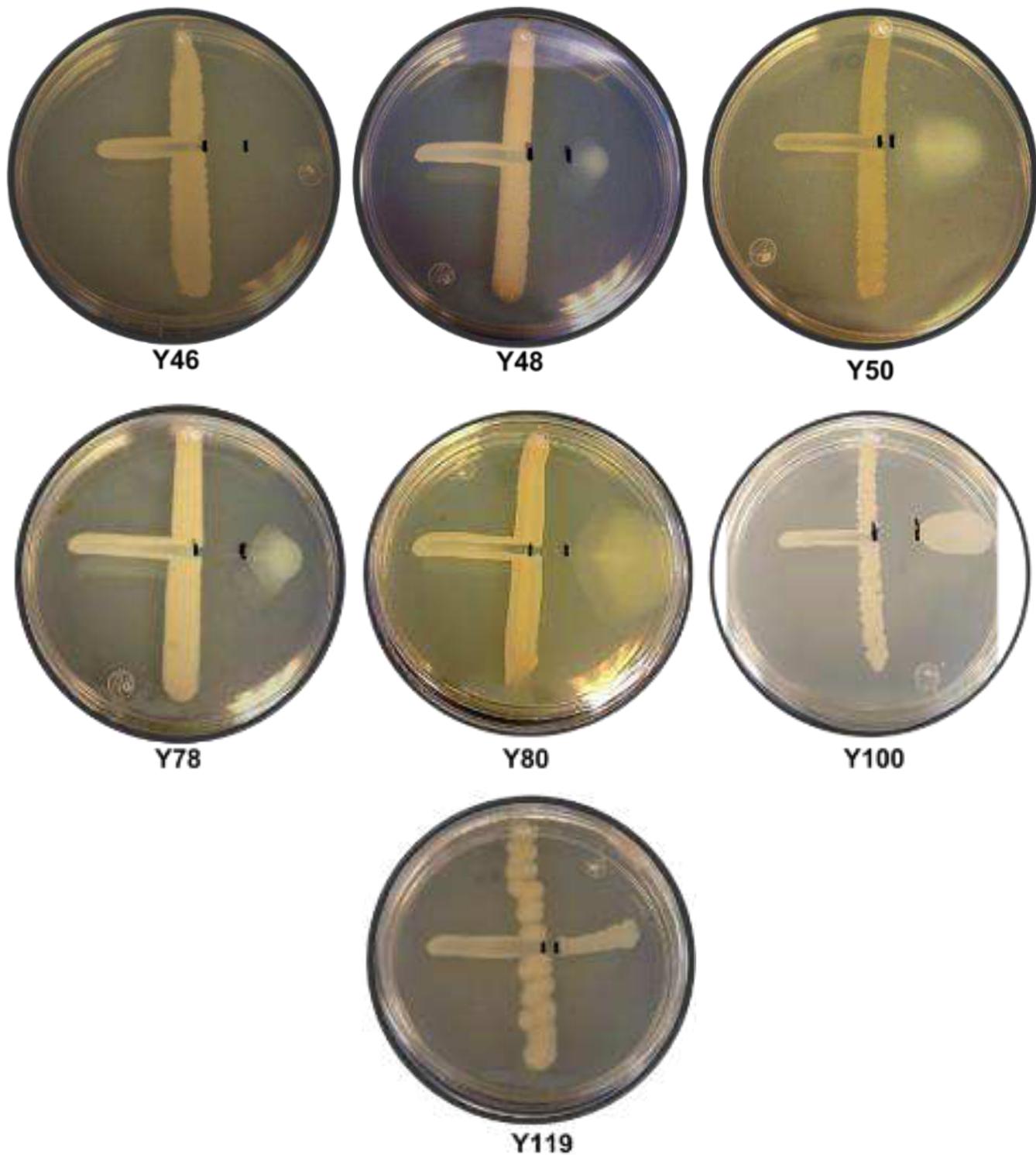


Figura 8. Actividad antagonista *in vitro* en contra de *Vp*_{AHPND} por prueba de estría cruzada. Aislados de la localidad de Yavaros que mostraron efecto antagónico rotulados con clave Y23, Y29, Y34, Y36, Y44, Y45, Y46, Y48, Y50, Y78, Y80, Y100 y Y119. Las barras en negritas indican el inicio y el término de la zona de inhibición evidenciada.

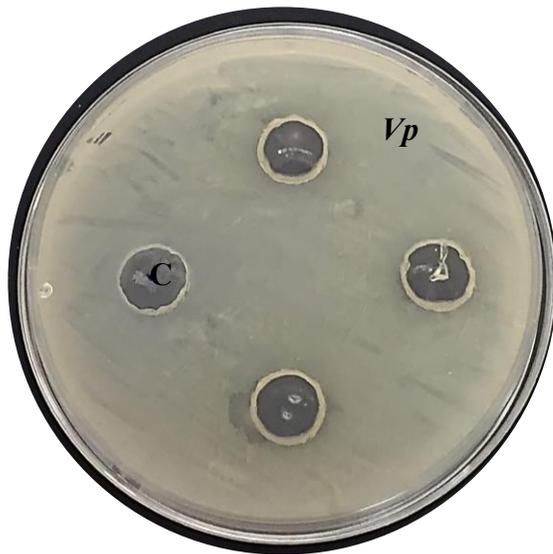
Con base a los resultados obtenidos, las bacterias con actividad antagónica se clasificaron de acuerdo con el lugar de muestreo, al organismo del cual fueron aisladas y su zona de inhibición frente al patógeno, donde destaca la bacteria con clave Y45, recuperada de un cangrejo ermitaño, con una zona de inhibición mostrada de 1.7 cm (Tabla 6).

Tabla 6. Aislados con actividad antagónica clasificados con base al origen de colecta y organismo del cual se aisló.

Localidad	Organismo marino	Clave del aislado	Zona de inhibición (cm)
	Sedimento costero	Y23	0.8
	<i>Salicornia bigelovii</i> (Salicornia)	Y29	1.0
	<i>Sargassum sinicola</i> (Alga parda)	Y34	0.9
	<i>Enteromorpha compressa</i> (Alga verde)	Y36	0.7
	<i>Clibanarius panamensis</i> (Cangrejo ermitaño)	Y44	1.3
	<i>Clibanarius panamensis</i> (Cangrejo ermitaño)	Y45	1.7
Yavaros	<i>Clibanarius panamensis</i> (Cangrejo ermitaño)	Y46	1.2
	<i>Callinectes arcuatus</i> (Jaiba azul)	Y48	0.9
	<i>Ilioichione subrugosa</i> (Almeja china)	Y50	0.2
	<i>Petrochirus californiensis</i> (Cangrejo ermitaño)	Y78	1.2
	<i>Clibanarius panamensis</i> (Cangrejo ermitaño)	Y80	1.0
	Sedimento salino	Y100	1.1
	Agua de mar	Y119	0.3

Prueba de difusión en pozo

Se muestran los resultados de la primera variante de esta prueba (cultivo líquido de células bacterianas de los 17 aislados anteriores) donde se evidencian zonas claras o halos de inhibición de las diferentes bacterias a retar en contra de *Vp*_{AHPND}. De esta variante, solo 3 bacterias presentaron antagonismo frente al patógeno en curso, identificadas con clave H-A, 43 y Y119 con halos de inhibición de 2.06, 2.46 y 2.36 cm respectivamente (Figura 9).



38



32a



H-A



43



Y23



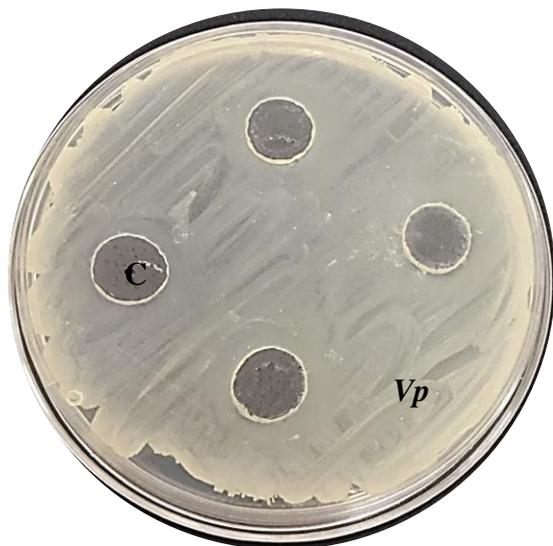
Y29



Y34



Y36



Y44



Y45



Y46



Y48



Y50



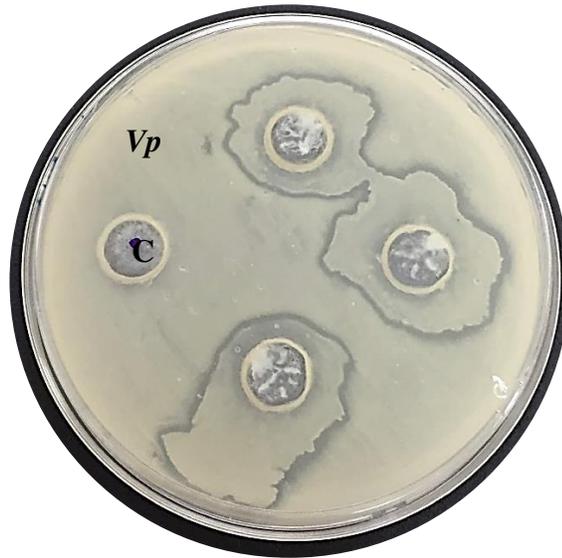
Y78



Y80



Y100



Y119

Figura 9. Actividad antagonista *in vitro* en contra de *Vp*_{AHPND} por prueba de difusión en pozo. Aislados que mostraron efecto antagonístico rotulados con clave H-A, 43, Y119. Donde: C: control negativo (cultivo líquido sin inocular); *Vp*: *Vibrio parahaemolyticus*. Los tres pocillos restantes corresponden al triplicado de la bacteria a retar. Diámetro del pocillo: 1.2 cm.

De la segunda variante (sobrenadante libre de células) la prueba de difusión en pozo arrojó resultados de inhibición por parte de las bacterias a retar en contra del patógeno de interés, donde se rescata la actividad de 5 bacterias etiquetadas como 32a, H-A, 43, Y100 y Y119, con zonas de inhibición de 3.66, 2.46, 2.20, 1.76 y 1.90 cm respectivamente (Figura 10).



38



32a



H-A



43



Y23



Y29



Y34



Y36



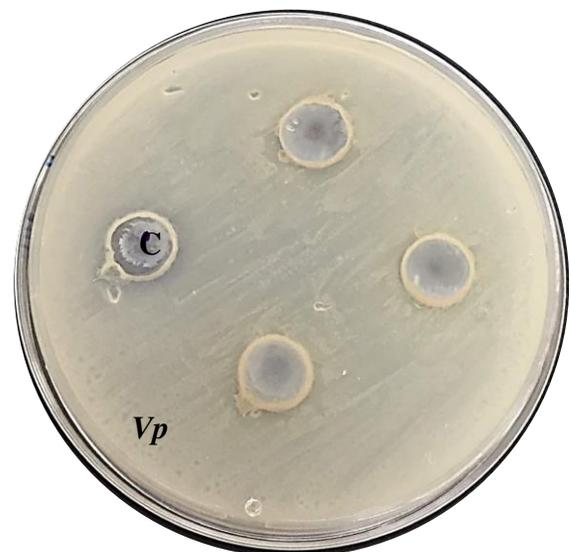
Y44



Y45



Y46



Y48



Y50



Y78

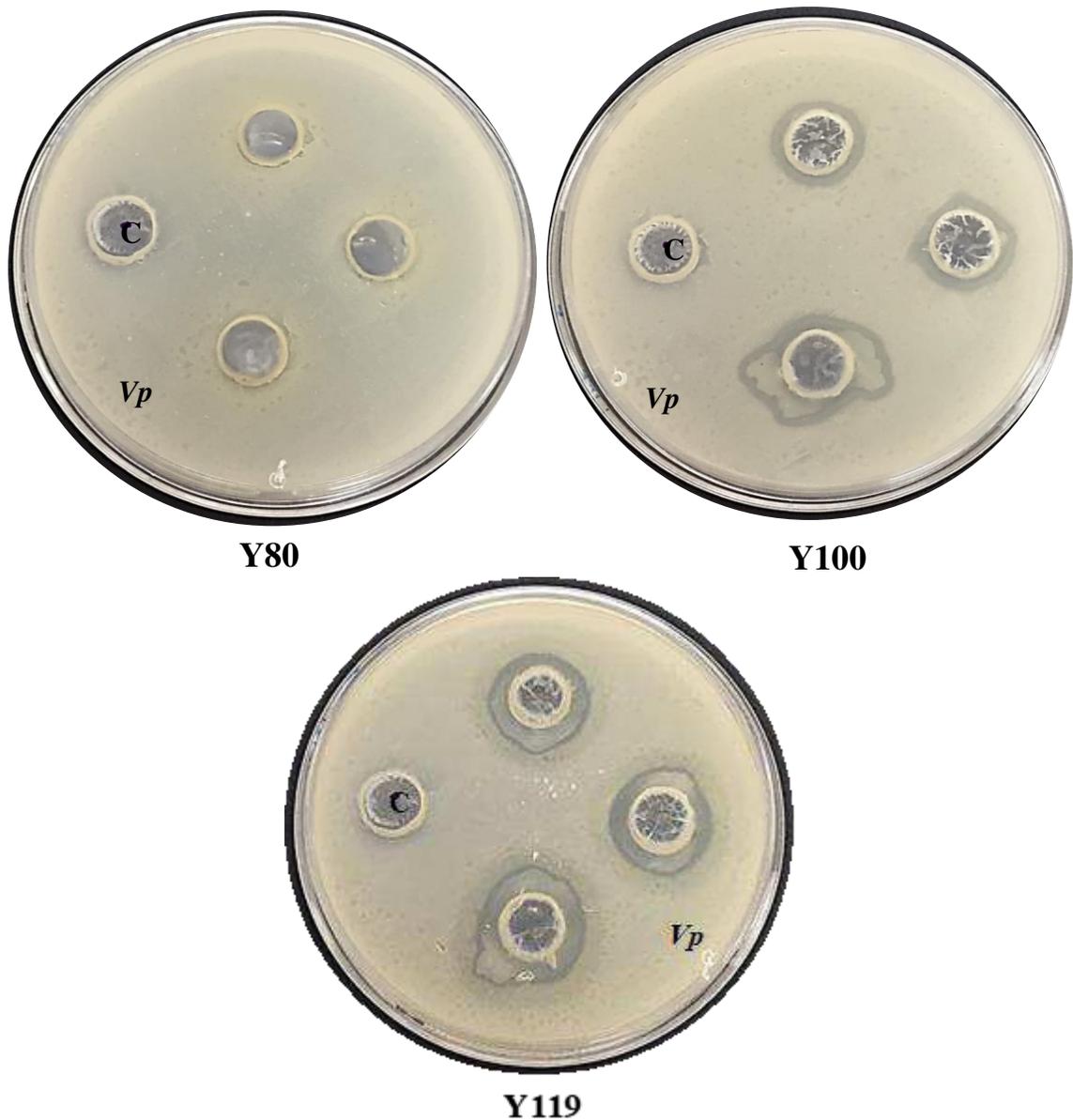


Figura 10. Actividad antagónica *in vitro* en contra de *Vp*_{AHPND} por prueba de difusión en pozo. Aislados que mostraron efecto antagónico rotulados con clave 32a, H-A, 43, Y100 y Y119. Donde: C: control negativo (cultivo líquido sin inocular); *Vp*: *Vibrio parahaemolyticus*. Los otros tres pozos corresponden al triplicado de la prueba. Diámetro de pocillo: 1.2 cm.

A continuación, se muestran los resultados condensados de la técnica de difusión en placa, con la clave del aislado y los halos de inhibición mostrados por parte de las bacterias; se obtuvieron un total de 5 bacterias con antagonismo, donde la bacteria con clave 32a mostró el efecto inhibitorio mayoritario con 3.66 cm (Tabla 7).

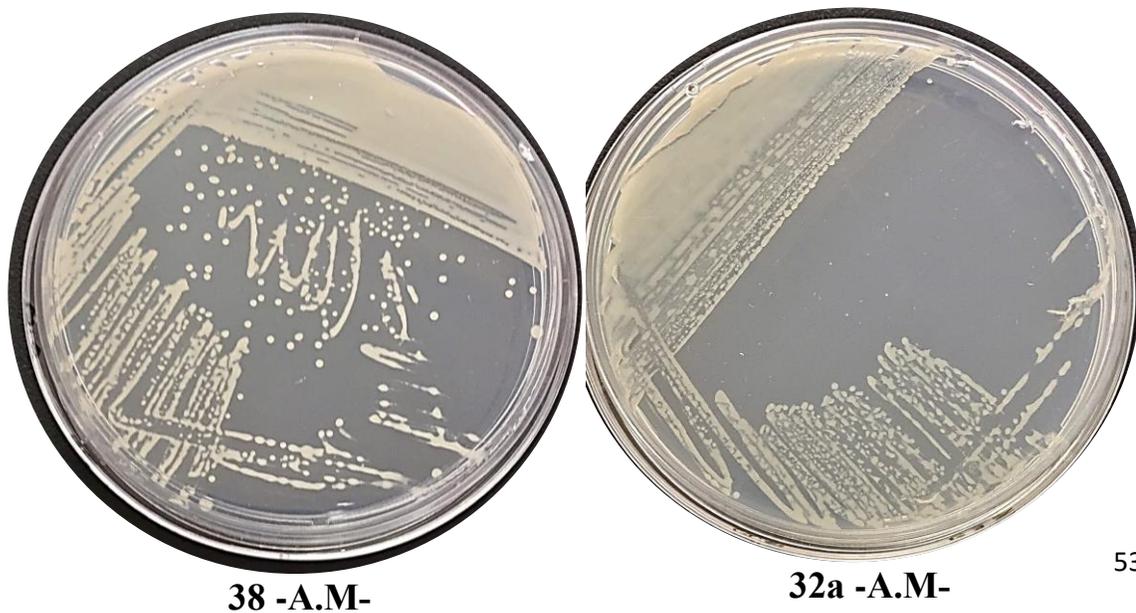
Tabla 7. Promedio de halos de inhibición de bacterias marinas con antagonismo frente a *Vp*

	Clave	Halo de inhibición			Promedio
		(cm)	(cm)	(cm)	(cm)
Antagonismo con células bacterianas	H-A	2.0	2.3	1.9	2.06
	43	2.5	2.4	2.5	2.46
	Y119	2.2	2.8	2.1	2.36
	32a	3.3	4.0	3.7	3.66
Antagonismo con sobrenadante	H-A	2.3	2.5	2.6	2.46
	43	2.2	2.1	2.3	2.20
	Y100	1.7	1.8	1.8	1.76
	Y119	2.0	1.9	1.8	1.90

Caracterización de bacterias marinas con efecto antagónico

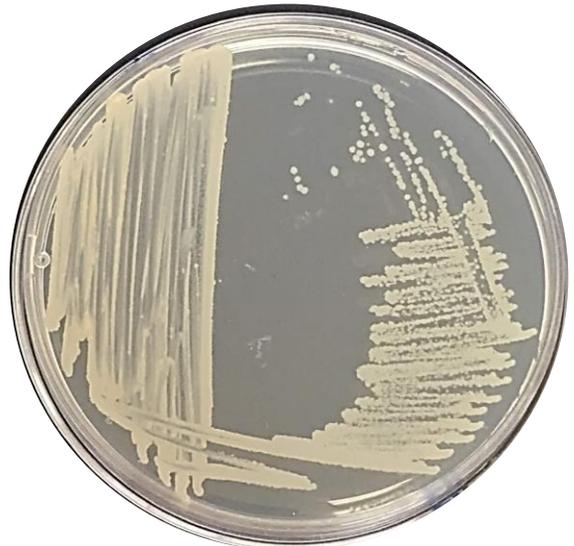
Caracterización morfológica

Se muestra la morfología colonial macroscópica de las bacterias marinas seleccionadas con actividad antagónica en contra de la cepa patógena, donde se muestra la placa Petri de 17 colonias bacterianas diferentes (Figura 11).





H-A -A.M-



43 -TSA-



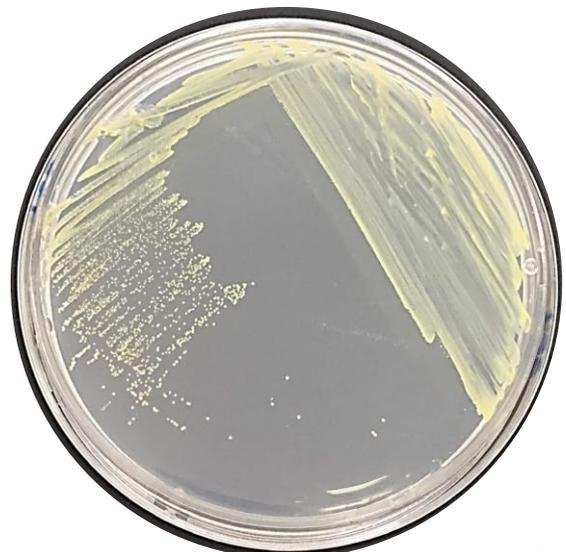
Y23 -A.M-



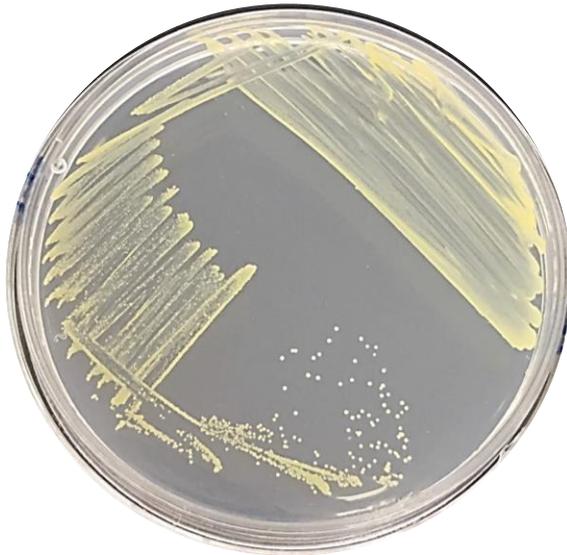
Y29 -A.M-



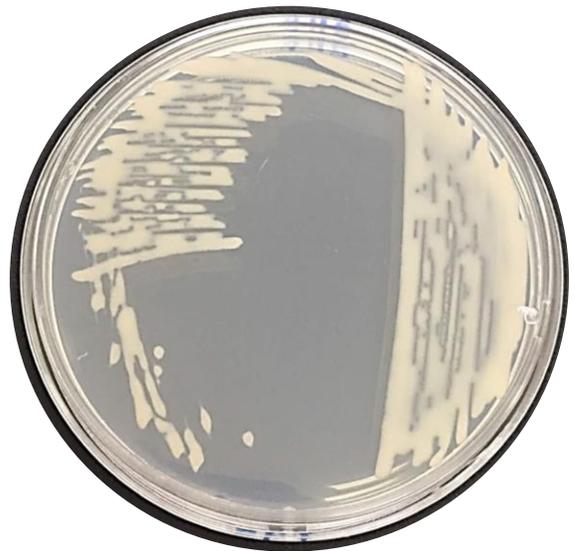
Y34 -A.M-



Y36 -A.M-



Y44 -A.M-



Y45 -A.M-



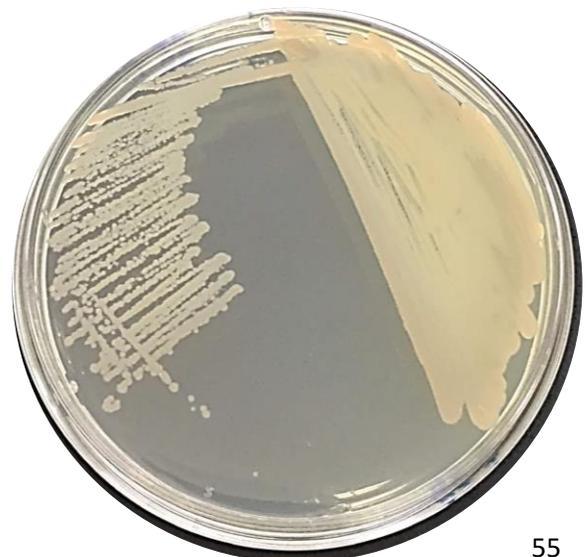
Y46 -A.M-



Y48 -A.M-



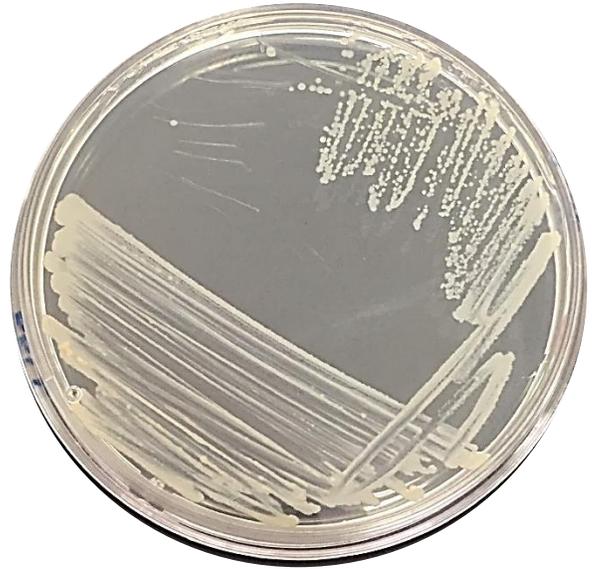
Y50 -A.M-



Y78 -TSA-



Y80 -TSA-



Y100 -TSA-



Y119 -TSA-

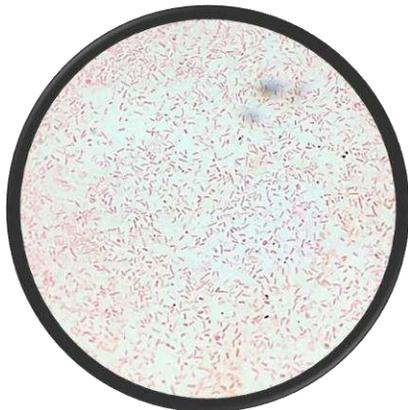
Figura 11. Morfología colonial macroscópica de bacterias marinas con actividad antagónica. Donde: A.M: Agar Marino; TSA: Agar Soya Trypticaseína + 2 % NaCl.

A continuación, en la Tabla 8 se muestran las características de la morfología colonial de cada uno de los aislados seleccionados, donde se destaca el tamaño similar entre las colonias, las cuales fueron pequeñas en su mayoría.

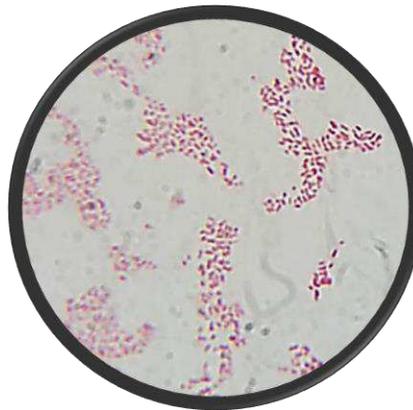
Tabla 8. Morfología macroscópica de bacterias antagonistas

Morfología colonial bacteriana						
Clave	Tamaño	Forma	Color	Margen	Elevación	Aspecto
38	Pequeña	Irregular	Blanca	Entero	Convexa	Cremosa
32a	Pequeña	Irregular	Blanca	Entero	Convexa	Cremosa
H-A	Pequeña	Puntiforme	Blanca	Entero	Plana	Opaca
43	Pequeña	Circular	Blanca	Entero	Plana	Opaca
Y23	Pequeña	Puntiforme	Amarilla	Entero	Plana	Opaca
Y29	Pequeña	Circular	Blanca	Entero	Convexa	Cremosa
Y34	Pequeña	Circular	Blanca	Entero	Lisa	Cremosa
Y36	Pequeña	Puntiforme	Blanca	Entero	Lisa	Cremosa
Y44	Pequeña	Circular	Blanca	Entero	Plana	Opaca
Y45	Pequeña	Irregular	Blanca	Entero	Convexa	Cremosa
Y46	Pequeña	Circular	Blanca	Entero	Plana	Opaca
Y48	Pequeña	Circular	Cobre	Entero	Elevada	Opaca
Y50	Pequeña	Circular	Amarilla	Entero	Plana	Opaca
Y78	Mediana	Circular	Amarilla	Entero	Plana	Brillante
Y80	Mediana	Circular	Amarilla	Entero	Plana	Cremosa
Y100	Pequeña	Circular	Blanca	Entero	Convexa	Opaca
Y119	Pequeña	Circular	Blanca	Entero	Elevada	Opaca

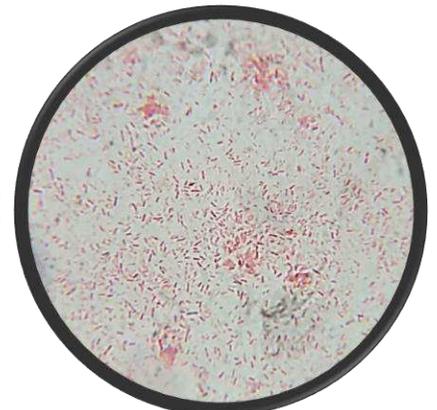
Además, se observa la tinción de Gram de cada una de las 17 bacterias (Figura 12), registrándose la morfología microscópica observada de cada una de estas, donde se aprecian bacterias Gram negativas 10/17 (58.82 %) y bacterias Gram positivas 7/17 (41.17 %), y los resultados de las pruebas de Oxidasa (OXI) y catalasa (CAT) en la Tabla 9.



38



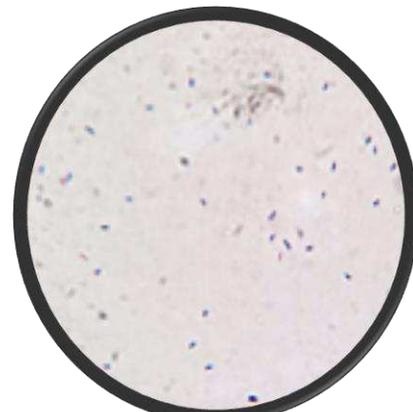
32a



H-A



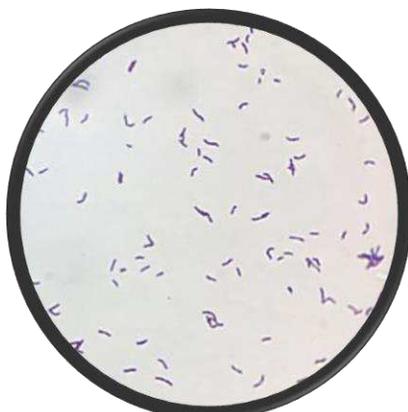
43



Y23



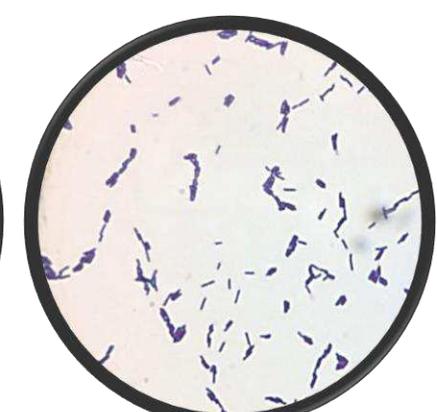
Y29



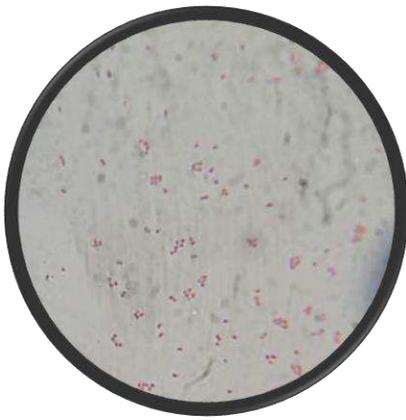
Y34



Y36



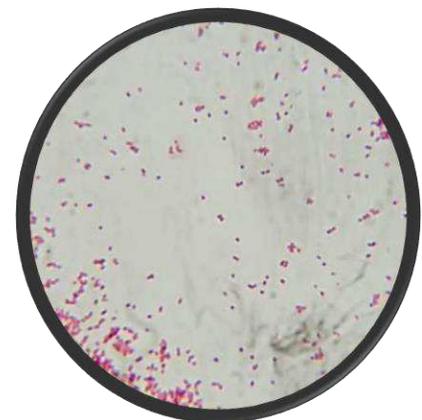
Y44



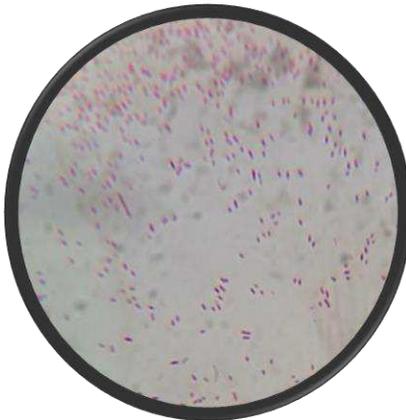
Y45



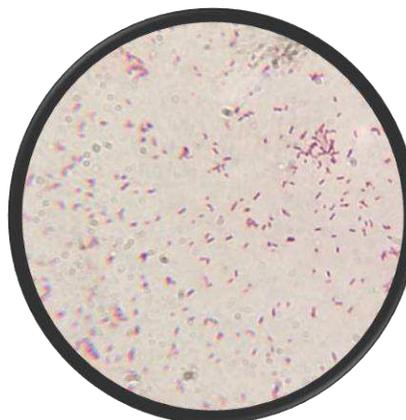
Y46



Y48



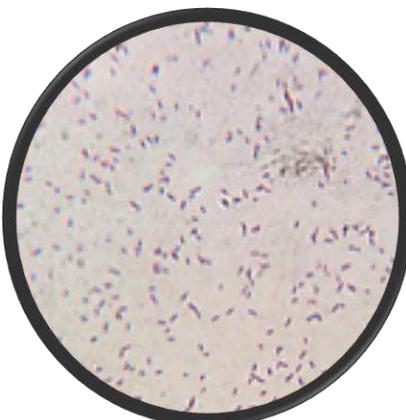
Y50



Y78



Y80



Y100



Y119

Figura 12. Morfología microscópica con tinción de Gram para diferenciar bacterias. En color rosa: bacterias Gram (-); en color morado: bacterias Gram (+).

Tabla 9. Morfología microscópica de los aislados bacterianos antagonistas

Clave	Gram	Forma microscópica	Arreglo	CAT OXI		Referencia
38	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Lee 1995
32a	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Lee 1995
H-A	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Verma et al. 2011
43	(+)	Bacilo	Simple	+	+	Cho et al. 2009
Y23	(+)	Bacilo	Simple	+	-	Ahirwar et al. 2019
Y29	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Matsuyama et al. 2014
Y34	(+)	Bacilo	Simple	+	-	Buczolits et al. 2008
Y36	(+)	Bacilo	Simple	+	+	Cho et al. 2009
Y44	(+)	Bacilo	Simple	+	-	Takeuchi et al. 1995
Y45	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Lee et al. 1995
Y46	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Balcázar et al. 2010
Y48	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Verma et al. 2011
Y50	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Holmström et al. 1998
Y78	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Verma et al. 2011
Y80	(-)	Bacilo	Simple	+	+	Verma et al. 2011
Y100	(+)	Bacilo	Simple	+	+	Cho et al. 2009
Y119	(+)	Bacilo	Simple	+	+	Cho et al. 2009

Caracterización bioquímica

Se muestra a continuación la identificación de los géneros bacterianos aislados por sistema API® BioMérieux de las bacterias Gram negativas (Tabla 10) y de las bacterias Gram positivas (Tabla 11), se evidenció el porcentaje de identificación, con ayuda del software de identificación conocido como APIWEB™, de cada una de estas bacterias analizadas.

De las bacterias Gram negativas, 10/17 (58.82 %), se identificaron los géneros *Vibrio* sp. 5/10 (50 %), *Shewanella* sp. 2/10 (20 %) y el resto un perfil inaceptable 3/10 (30 %) los cuales se observan en la Tabla 10.

Tabla 10. Identificación por el sistema API 20 NE de bacterias Gram negativas antagonistas

Clave del aislado bacteriano																																
38	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">MUY BUENA IDENTIFICACION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 20 NE V8.0</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>5 4 3 0 0 4 4</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td>¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !</td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Vibrio vulnificus</td> <td>99.7</td> <td>0.64</td> <td>TRP</td> <td>95%</td> <td>CITa</td> <td>91%</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	MUY BUENA IDENTIFICACION		Galería	API 20 NE V8.0	Perfil	5 4 3 0 0 4 4	Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Vibrio vulnificus	99.7	0.64	TRP	95%	CITa	91%									
MUY BUENA IDENTIFICACION																																
Galería	API 20 NE V8.0																															
Perfil	5 4 3 0 0 4 4																															
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !																															
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																													
Vibrio vulnificus	99.7	0.64	TRP	95%	CITa	91%																										
32a	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">BAJA DISCRIMINACION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 20 NE V8.0</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>3 0 5 2 1 4 4</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td>¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !</td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Vibrio alginolyticus</td> <td>85.9</td> <td>0.43</td> <td>GLU</td> <td>93%</td> <td>MNEa</td> <td>18%</td> <td>MANa 75% GNTa 76%</td> </tr> </tbody> </table>	BAJA DISCRIMINACION		Galería	API 20 NE V8.0	Perfil	3 0 5 2 1 4 4	Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Vibrio alginolyticus	85.9	0.43	GLU	93%	MNEa	18%	MANa 75% GNTa 76%								
BAJA DISCRIMINACION																																
Galería	API 20 NE V8.0																															
Perfil	3 0 5 2 1 4 4																															
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !																															
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																													
Vibrio alginolyticus	85.9	0.43	GLU	93%	MNEa	18%	MANa 75% GNTa 76%																									
H-A	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">EXCELENTE IDENTIFICACION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 20 NE V8.0</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>1 4 1 0 1 5 4</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td></td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Shewanella putrefaciens group</td> <td>99.9</td> <td>1.0</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	EXCELENTE IDENTIFICACION		Galería	API 20 NE V8.0	Perfil	1 4 1 0 1 5 4	Nota		Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Shewanella putrefaciens group	99.9	1.0													
EXCELENTE IDENTIFICACION																																
Galería	API 20 NE V8.0																															
Perfil	1 4 1 0 1 5 4																															
Nota																																
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																													
Shewanella putrefaciens group	99.9	1.0																														
Y29	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">PERFIL INACEPTABLE</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 20 NE V8.0</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>4 1 4 3 1 0 5</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td>¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !</td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Pseudomonas putida</td> <td></td> <td></td> <td>GLU</td> <td>1%</td> <td>NAGa</td> <td>2%</td> <td>GNTa 97% CAPa 99%</td> </tr> <tr> <td>Pseudomonas fluorescens</td> <td></td> <td></td> <td>MLTa</td> <td>100%</td> <td>MANa</td> <td>89%</td> <td>GNTa 99% CAPa 99%</td> </tr> </tbody> </table>	PERFIL INACEPTABLE		Galería	API 20 NE V8.0	Perfil	4 1 4 3 1 0 5	Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Pseudomonas putida			GLU	1%	NAGa	2%	GNTa 97% CAPa 99%	Pseudomonas fluorescens			MLTa	100%	MANa	89%	GNTa 99% CAPa 99%
PERFIL INACEPTABLE																																
Galería	API 20 NE V8.0																															
Perfil	4 1 4 3 1 0 5																															
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !																															
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																													
Pseudomonas putida			GLU	1%	NAGa	2%	GNTa 97% CAPa 99%																									
Pseudomonas fluorescens			MLTa	100%	MANa	89%	GNTa 99% CAPa 99%																									
Y45	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">EXCELENTE IDENTIFICACION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 20 NE V8.0</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>7 4 7 0 0 4 5</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td>¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !</td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Vibrio vulnificus</td> <td>99.9</td> <td>0.83</td> <td>GLUa</td> <td>9%</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	EXCELENTE IDENTIFICACION		Galería	API 20 NE V8.0	Perfil	7 4 7 0 0 4 5	Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Vibrio vulnificus	99.9	0.83	GLUa	9%											
EXCELENTE IDENTIFICACION																																
Galería	API 20 NE V8.0																															
Perfil	7 4 7 0 0 4 5																															
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !																															
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																													
Vibrio vulnificus	99.9	0.83	GLUa	9%																												
Y46	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 20 NE V8.0</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>5 0 3 0 0 4 0</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td>¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !</td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Vibrio vulnificus</td> <td>83.7</td> <td>0.1</td> <td>TRP</td> <td>95%</td> <td>ESC</td> <td>95%</td> <td>CITa 91% OX 100%</td> </tr> </tbody> </table>	Galería	API 20 NE V8.0	Perfil	5 0 3 0 0 4 0	Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Vibrio vulnificus	83.7	0.1	TRP	95%	ESC	95%	CITa 91% OX 100%										
Galería	API 20 NE V8.0																															
Perfil	5 0 3 0 0 4 0																															
Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !																															
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																													
Vibrio vulnificus	83.7	0.1	TRP	95%	ESC	95%	CITa 91% OX 100%																									
Y48	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 20 NE V8.0</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>5 6 1 0 1 1 0</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td></td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Shewanella putrefaciens group</td> <td></td> <td></td> <td>GLU</td> <td>1%</td> <td>URE</td> <td>1%</td> <td>MLTa 90% OX 100%</td> </tr> </tbody> </table>	Galería	API 20 NE V8.0	Perfil	5 6 1 0 1 1 0	Nota		Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Shewanella putrefaciens group			GLU	1%	URE	1%	MLTa 90% OX 100%										
Galería	API 20 NE V8.0																															
Perfil	5 6 1 0 1 1 0																															
Nota																																
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																													
Shewanella putrefaciens group			GLU	1%	URE	1%	MLTa 90% OX 100%																									

Y50	PERFIL INACEPTABLE						
	Galería	API 20 NE V8.0					
	Perfil	4 4 5 2 6 0 5					
	Nota	¡ID.NO VALIDA ANTES DE 48 H DE INCUBACIÓN !					
	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
	Chryseobacterium indologenes			TRP 81%	GLU 1%	GNTa 1%	CITa 12%
Y78	EXCELENTE IDENTIFICACION						
	Galería	API 20 NE V8.0					
	Perfil	1 0 1 0 1 5 4					
	Nota						
	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
	Shewanella putrefaciens group	99.9	0.94				
Y80	EXCELENTE IDENTIFICACION						
	Galería	API 20 NE V8.0					
	Perfil	1 4 1 0 1 5 4					
	Nota						
	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
	Shewanella putrefaciens group	99.9	1.0				

Por otro lado, de las bacterias Gram positivas, 7/17 (41.17 %), destaca el género *Bacillus* sp. 5/7 (71.42 %) y el resto un perfil inaceptable 2/7 (28.57 %), a continuación, se muestran estos resultados (Tabla 11).

Tabla 11. Identificación por el sistema API 50 CHB de bacterias Gram positivas antagonistas

Clave del aislado bacteriano																																					
43	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">EXCELENTE IDENTIFICACION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 50 CHB V4.1</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td></td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Bacillus pumilus</td> <td>99.9</td> <td>0.89</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	EXCELENTE IDENTIFICACION		Galería	API 50 CHB V4.1	Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----	Nota		Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Bacillus pumilus	99.9	0.89																		
EXCELENTE IDENTIFICACION																																					
Galería	API 50 CHB V4.1																																				
Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----																																				
Nota																																					
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																																		
Bacillus pumilus	99.9	0.89																																			
Y23	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">BUENA IDENTIFICACION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 50 CHB V4.1</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td></td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Bacillus pumilus</td> <td>98.8</td> <td>0.6</td> <td>LARA 88%</td> <td>RIB 97%</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	BUENA IDENTIFICACION		Galería	API 50 CHB V4.1	Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----	Nota		Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Bacillus pumilus	98.8	0.6	LARA 88%	RIB 97%																
BUENA IDENTIFICACION																																					
Galería	API 50 CHB V4.1																																				
Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----																																				
Nota																																					
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																																		
Bacillus pumilus	98.8	0.6	LARA 88%	RIB 97%																																	
Y34	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">BUENA IDENTIFICACION EN EL GENERO</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 50 CHB V4.1</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td></td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Bacillus megaterium</td> <td>85.6</td> <td>0.62</td> <td>GLY 80%</td> <td>RIB 86%</td> <td>MEL 90%</td> <td>RAF 89%</td> </tr> <tr> <td>Bacillus circulans</td> <td>13.3</td> <td>0.57</td> <td>RIB 80%</td> <td>INO 20%</td> <td>MEL 92%</td> <td>RAF 96%</td> </tr> </tbody> </table>	BUENA IDENTIFICACION EN EL GENERO		Galería	API 50 CHB V4.1	Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----	Nota		Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Bacillus megaterium	85.6	0.62	GLY 80%	RIB 86%	MEL 90%	RAF 89%	Bacillus circulans	13.3	0.57	RIB 80%	INO 20%	MEL 92%	RAF 96%							
BUENA IDENTIFICACION EN EL GENERO																																					
Galería	API 50 CHB V4.1																																				
Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----																																				
Nota																																					
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																																		
Bacillus megaterium	85.6	0.62	GLY 80%	RIB 86%	MEL 90%	RAF 89%																															
Bacillus circulans	13.3	0.57	RIB 80%	INO 20%	MEL 92%	RAF 96%																															
Y36	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">PERFIL INACEPTABLE</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 50 CHB V4.1</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td></td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Geobacillus stearothermophilus</td> <td></td> <td></td> <td>ERY 0%</td> <td>LARA 4%</td> <td>GAL 25%</td> <td>LAC 10%</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>TRE 75%</td> <td>DARL 0%</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	PERFIL INACEPTABLE		Galería	API 50 CHB V4.1	Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----	Nota		Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Geobacillus stearothermophilus			ERY 0%	LARA 4%	GAL 25%	LAC 10%				TRE 75%	DARL 0%									
PERFIL INACEPTABLE																																					
Galería	API 50 CHB V4.1																																				
Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----																																				
Nota																																					
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																																		
Geobacillus stearothermophilus			ERY 0%	LARA 4%	GAL 25%	LAC 10%																															
			TRE 75%	DARL 0%																																	
Y44	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">BAJA DISCRIMINACION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 50 CHB V4.1</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td>POSIBILIDAD DE Bacillus megaterium</td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Geobacillus stearothermophilus</td> <td>94.8</td> <td>0.52</td> <td>LARA 4%</td> <td>GAL 25%</td> <td>FRU 98%</td> <td>TRE 75%</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>MLZ 75%</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Bacillus firmus</td> <td>5.0</td> <td>0.36</td> <td>LARA 4%</td> <td>GAL 1%</td> <td>MNE 11%</td> <td>GLYG 3%</td> </tr> </tbody> </table>	BAJA DISCRIMINACION		Galería	API 50 CHB V4.1	Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----	Nota	POSIBILIDAD DE Bacillus megaterium	Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Geobacillus stearothermophilus	94.8	0.52	LARA 4%	GAL 25%	FRU 98%	TRE 75%				MLZ 75%				Bacillus firmus	5.0	0.36	LARA 4%	GAL 1%	MNE 11%	GLYG 3%
BAJA DISCRIMINACION																																					
Galería	API 50 CHB V4.1																																				
Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----																																				
Nota	POSIBILIDAD DE Bacillus megaterium																																				
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																																		
Geobacillus stearothermophilus	94.8	0.52	LARA 4%	GAL 25%	FRU 98%	TRE 75%																															
			MLZ 75%																																		
Bacillus firmus	5.0	0.36	LARA 4%	GAL 1%	MNE 11%	GLYG 3%																															
Y100	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">EXCELENTE IDENTIFICACION</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Galería</td> <td>API 50 CHB V4.1</td> </tr> <tr> <td>Perfil</td> <td>-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----</td> </tr> <tr> <td>Nota</td> <td></td> </tr> <tr> <th>Taxón significativo</th> <th>% ID</th> <th>T</th> <th colspan="4">Pruebas en contra</th> </tr> <tr> <td>Bacillus pumilus</td> <td>99.9</td> <td>1.0</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	EXCELENTE IDENTIFICACION		Galería	API 50 CHB V4.1	Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----	Nota		Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra				Bacillus pumilus	99.9	1.0																		
EXCELENTE IDENTIFICACION																																					
Galería	API 50 CHB V4.1																																				
Perfil	-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----																																				
Nota																																					
Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra																																		
Bacillus pumilus	99.9	1.0																																			

Y119	MUY BUENA IDENTIFICACION			
	Galería	API 50 CHB V4.1		
	Perfil	----++-----+++---+-----++++---+-----+-----		
	Nota			
Taxón significativo		% ID	T	Pruebas en contra
Bacillus pumilus		99.9	0.69	TRE 99%

Caracterización por métodos moleculares (secuenciación)

De las 17 bacterias con actividad antagonista, se realizó un cromatograma de cada una de ellas con ayuda del NCBI, y con ayuda del nucleotide BLAST se obtuvo el porcentaje de identidad de cada uno de estos aislados bacterianos antagonistas, donde *Bacillus pumilus* 4/17 (23.52 %), *Shewanella indica* 4/17 (23.52 %) y *Vibrio alginolyticus* 3/17 (17.64 %) comprenden la mayoría de estos aislados identificados; mientras que, *Pseudoalteromonas shioyasakiensis* 1/17 (5.88 %), *Pseudoalteromonas piscicida* 1/17 (5.88 %), *Micrococcus aloeverae* 1/17 (5.88 %), *Microbacterium paraoxydans* 1/17 (5.88 %), *Brachybacterium conglomeratum* 1/17 (5.88 %) y *Vibrio sinaloensis* 1/17 (5.88 %) los restantes (Figura 13-29).

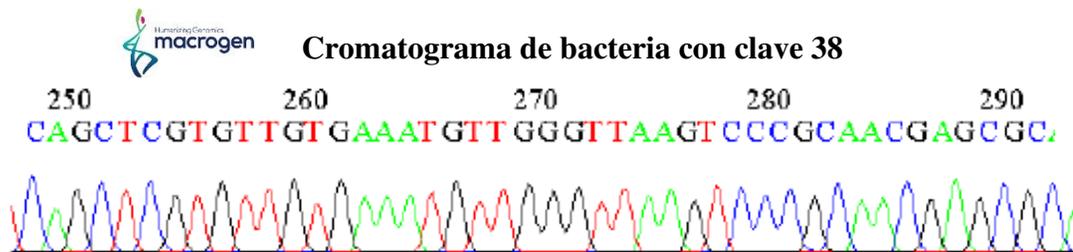


Figura 13a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número 38.

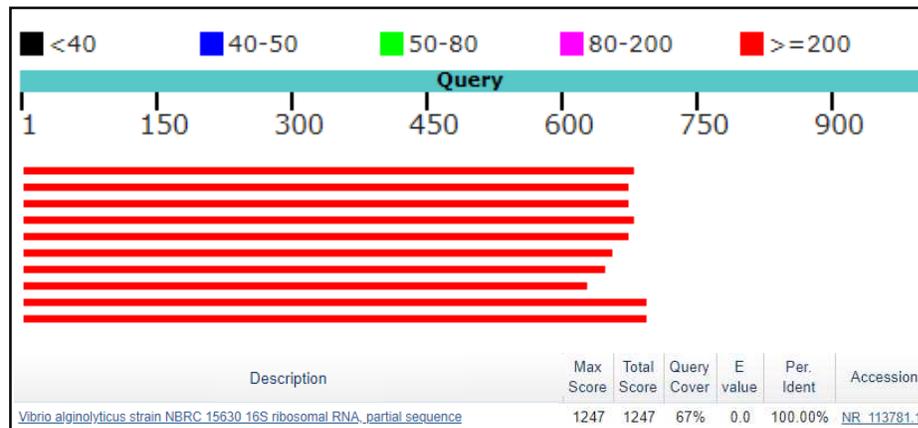


Figura 13b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave 38 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave 32a

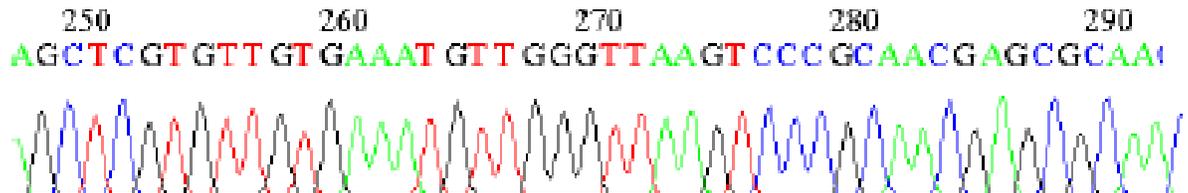


Figura 14a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número 32a.

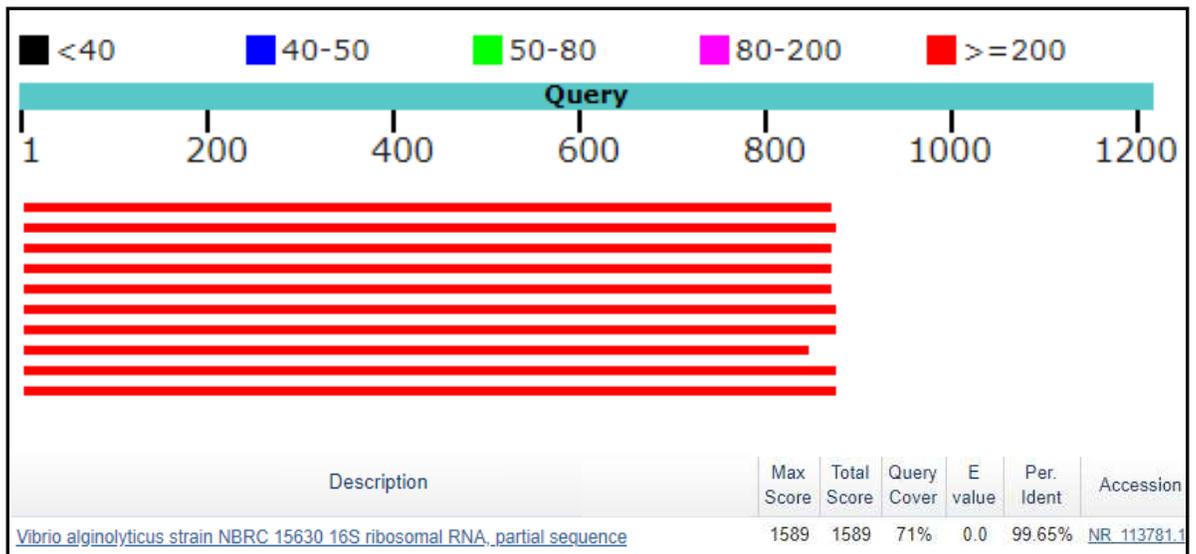


Figura 14b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave 32a con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave 43

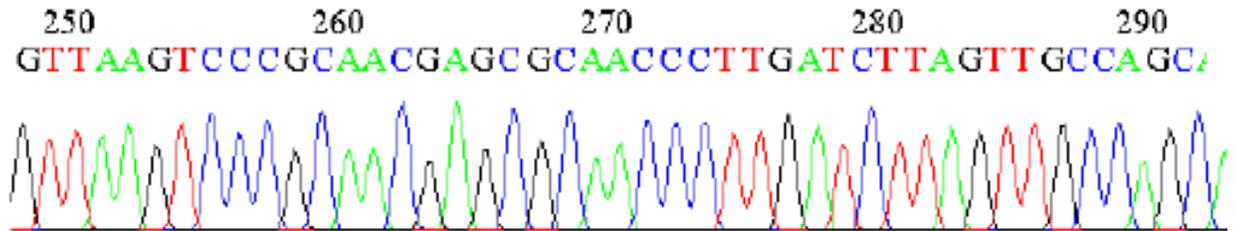


Figura 15a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número 43

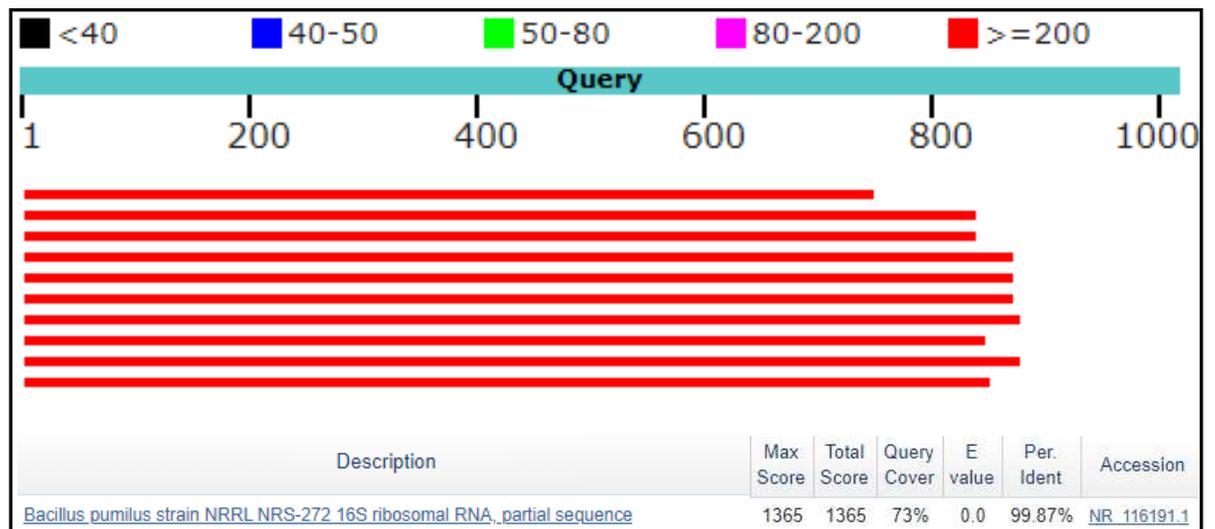


Figura 15b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave 43 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave H-A

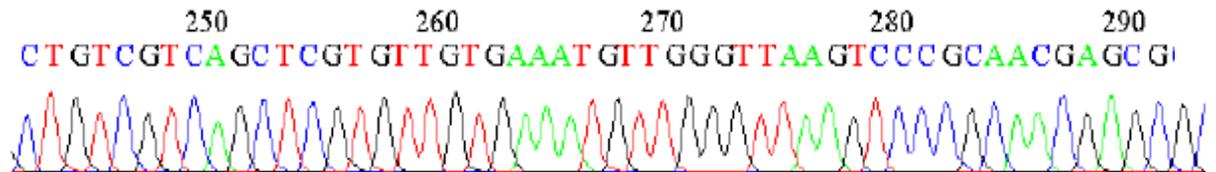


Figura 16a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número H-A

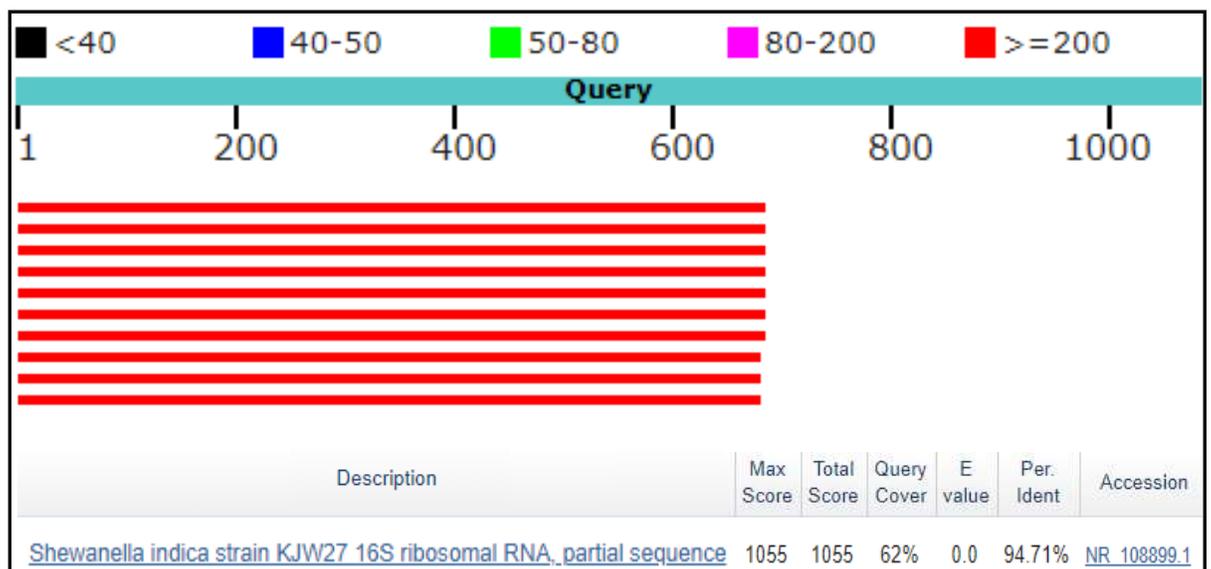


Figura 16b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave H-A con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y23

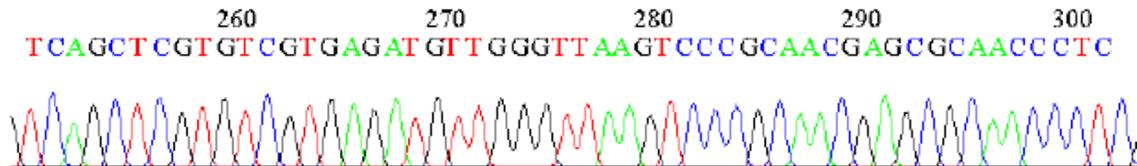


Figura 17a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y23

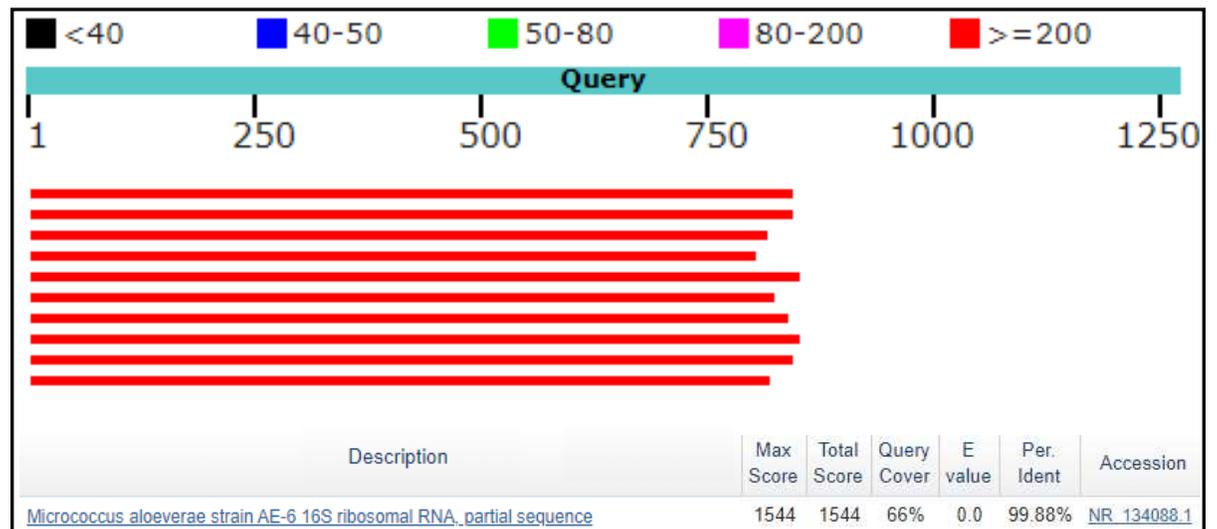


Figura 17b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y23 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y29

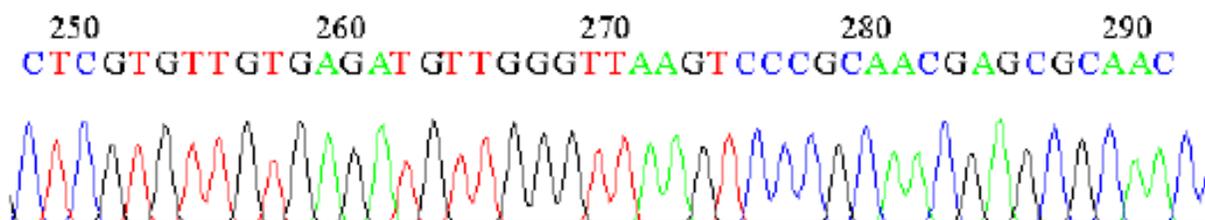


Figura 18a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y29

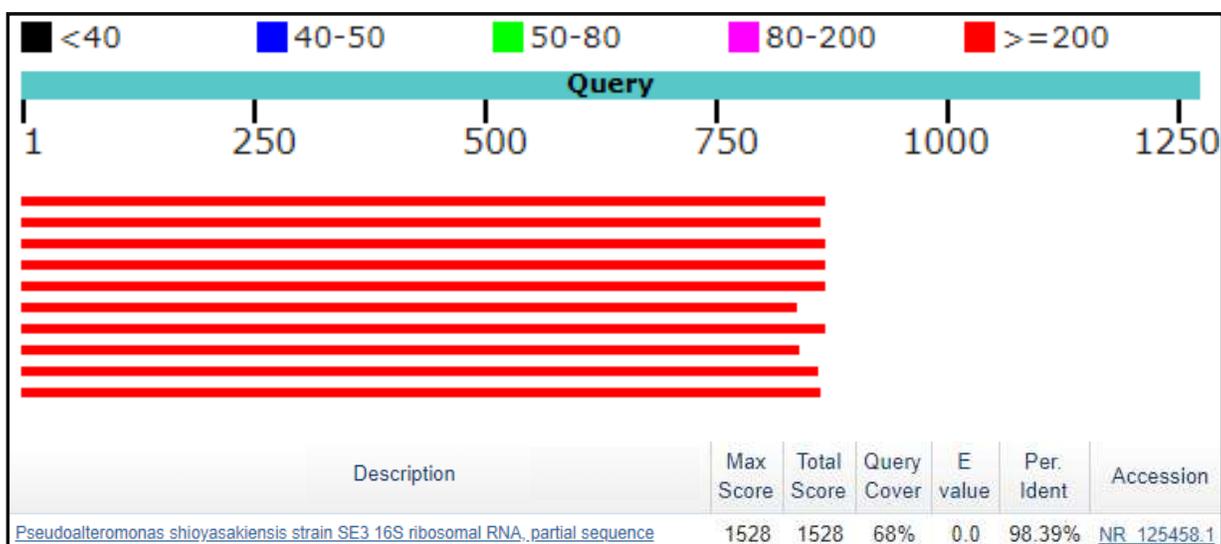


Figura 18b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y29 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y34

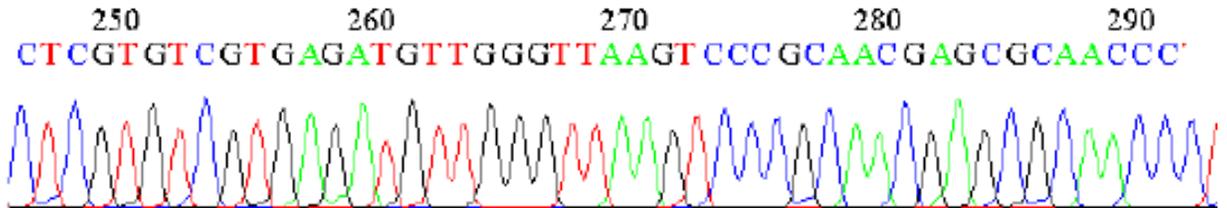


Figura 19a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y34

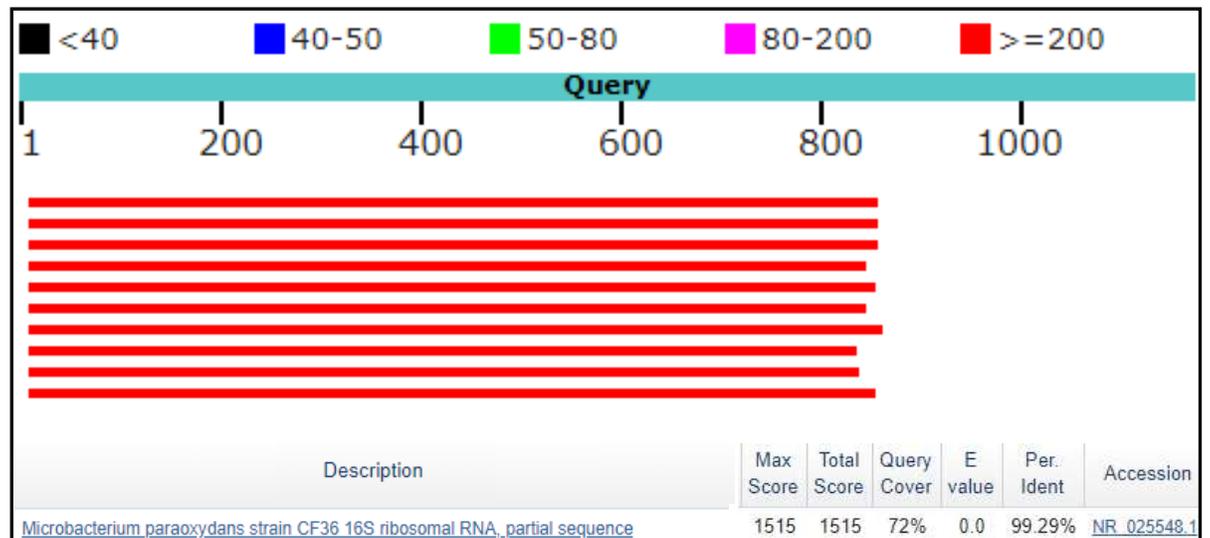


Figura 19b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y34 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y36

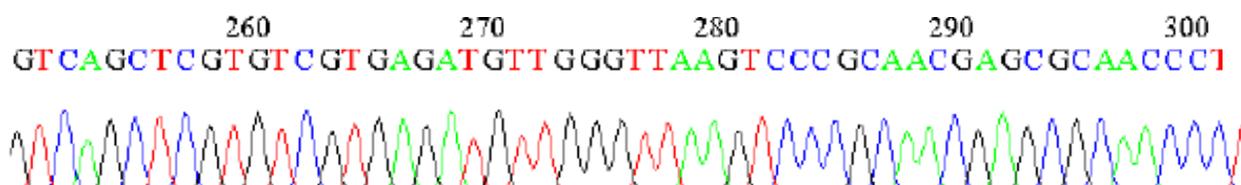


Figura 20a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y36

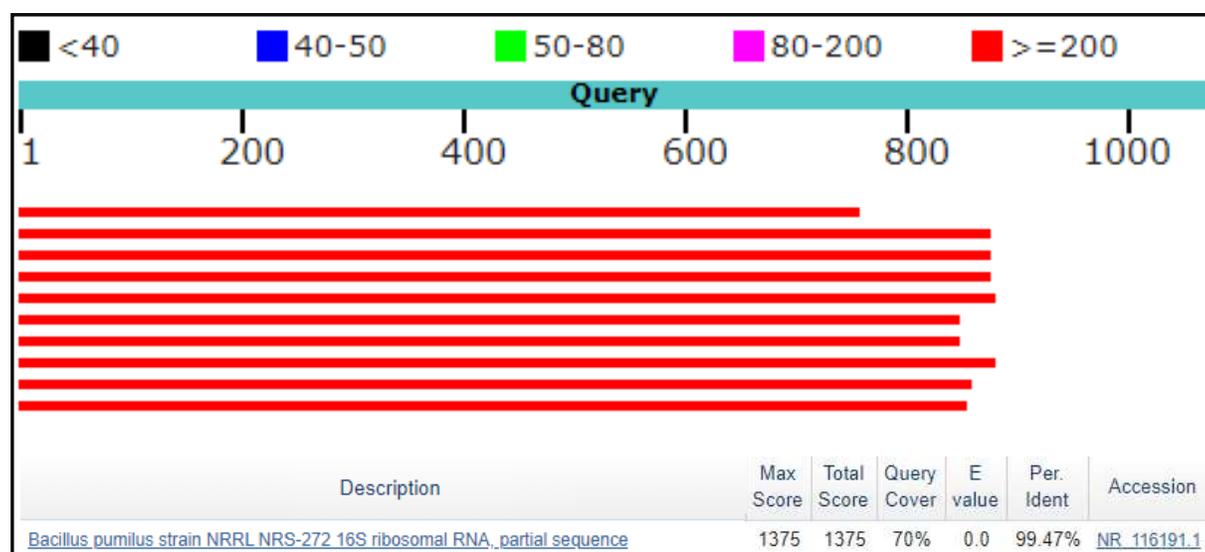


Figura 20b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y36 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y44

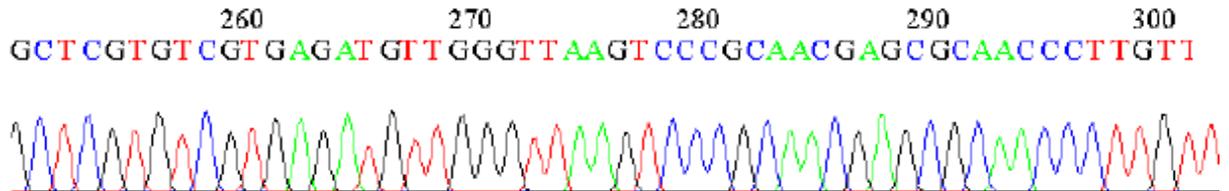


Figura 21a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y44

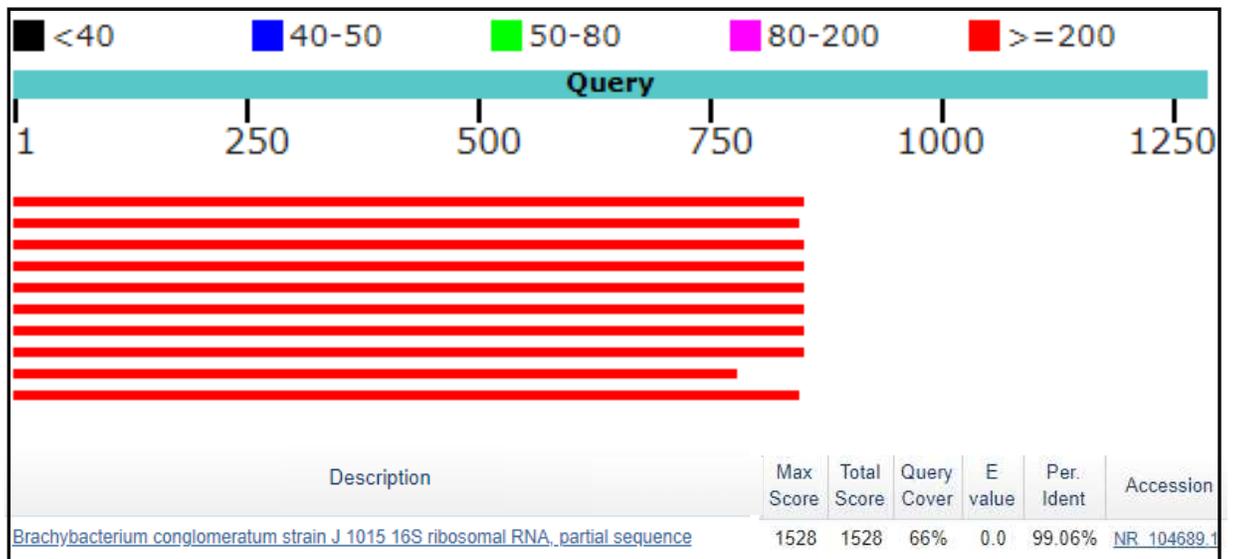


Figura 21b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y44 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

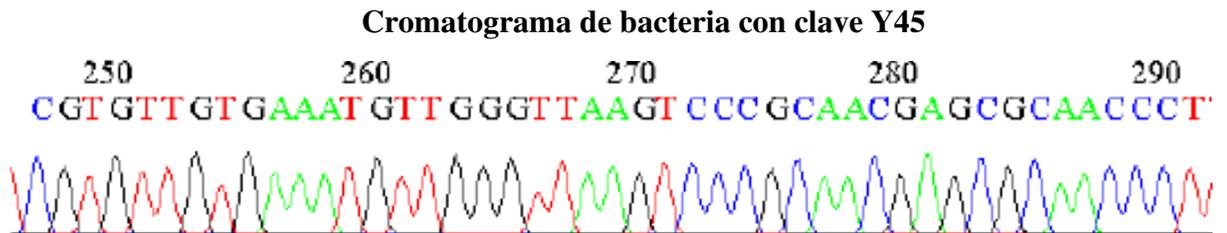


Figura 22a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y45

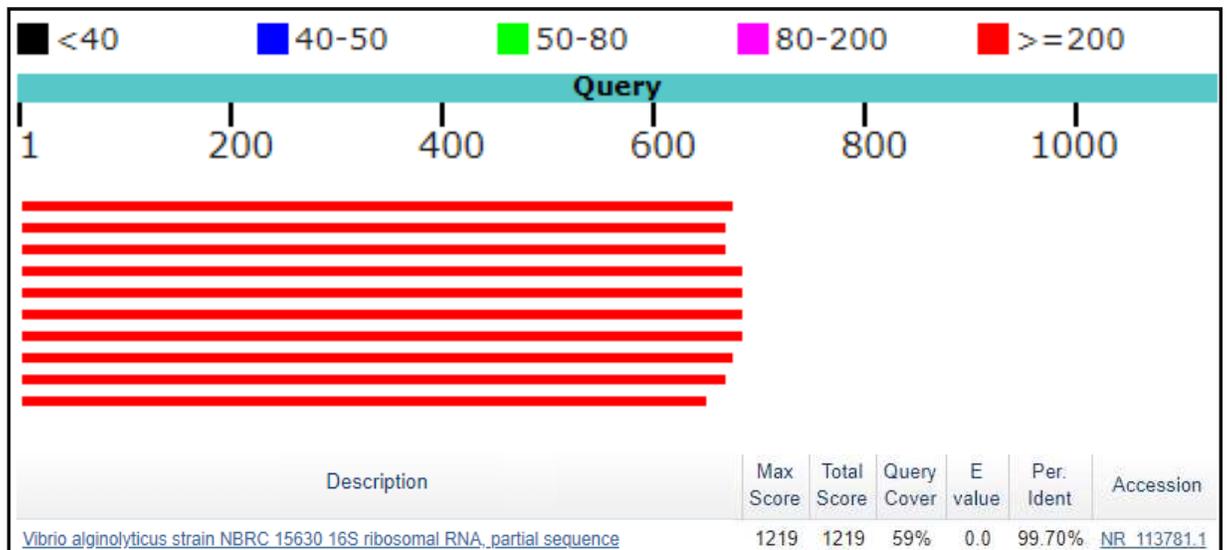


Figura 22b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y45 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

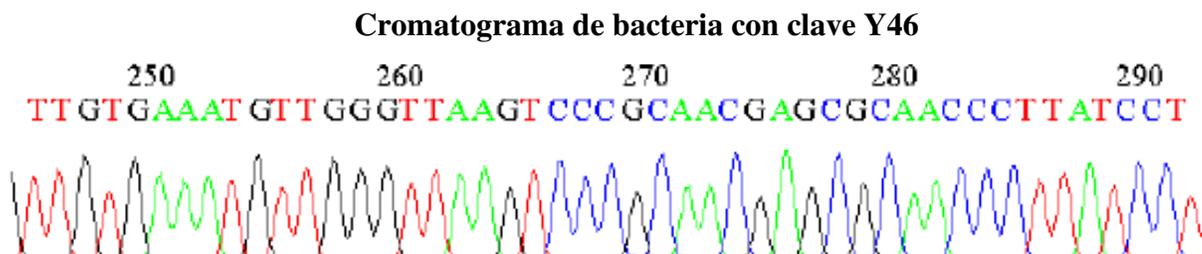


Figura 23a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y46

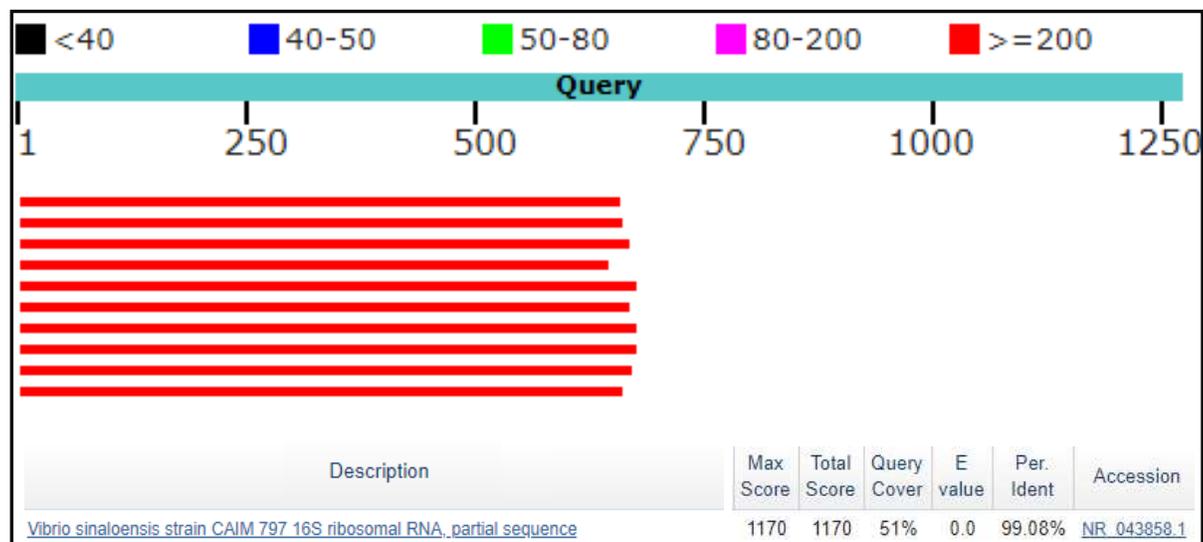


Figura 23b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y46 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y48

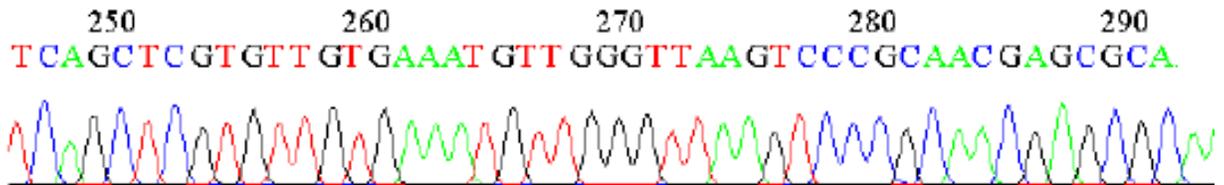


Figura 24a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y48

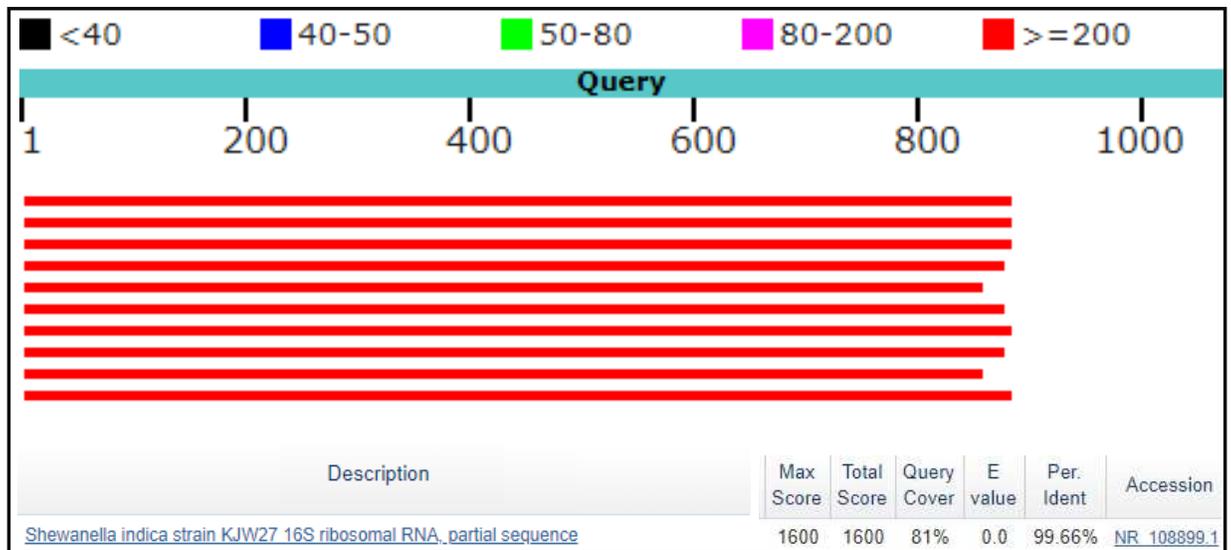


Figura 24b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y48 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y50

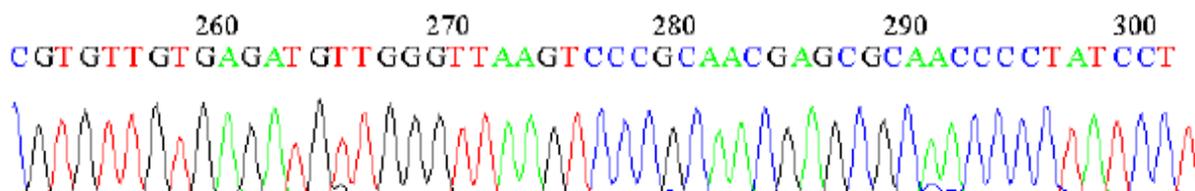


Figura 25a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y50

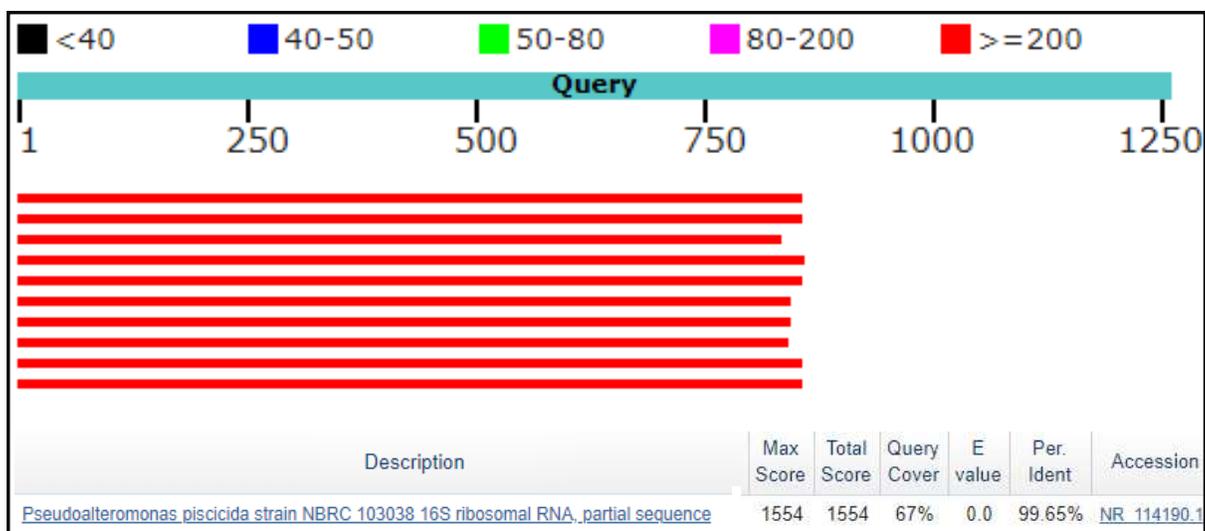


Figura 25b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y50 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y78

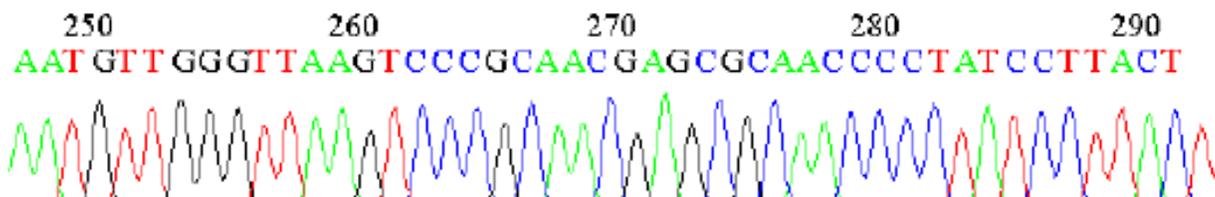


Figura 26a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y78

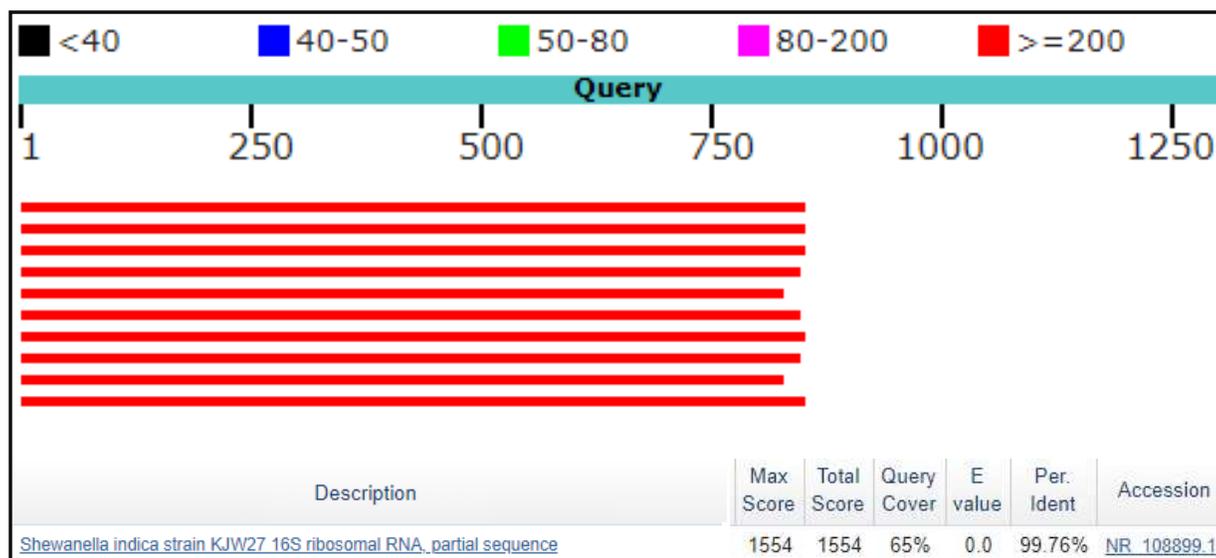


Figura 26b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y78 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

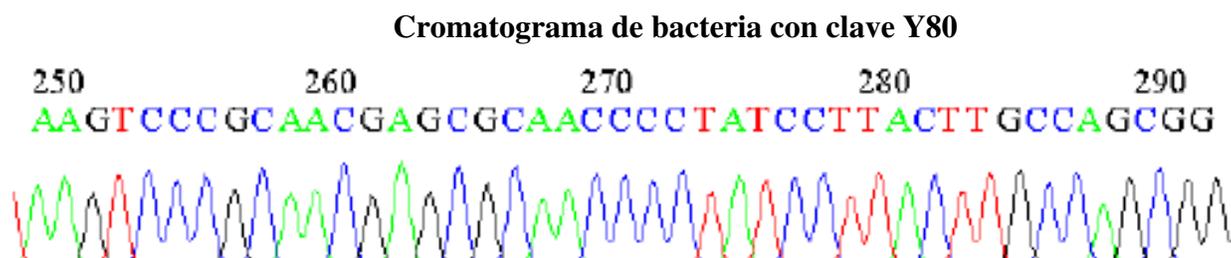


Figura 27a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y80

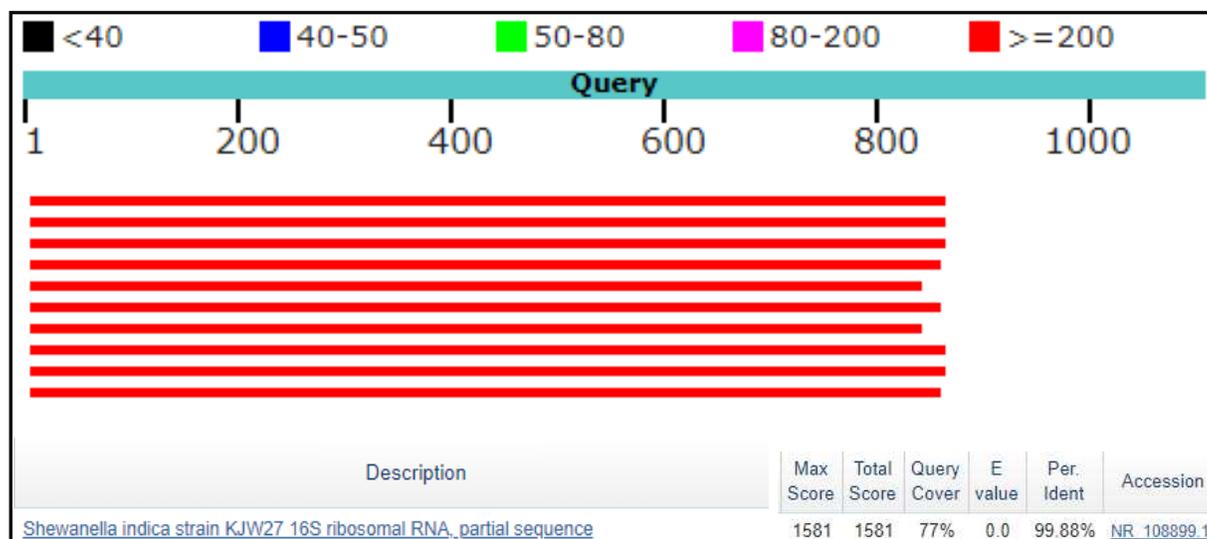


Figura 27b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y80 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y100

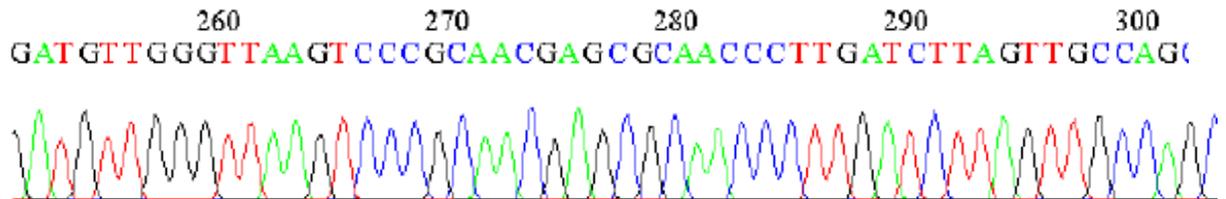


Figura 28a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y100

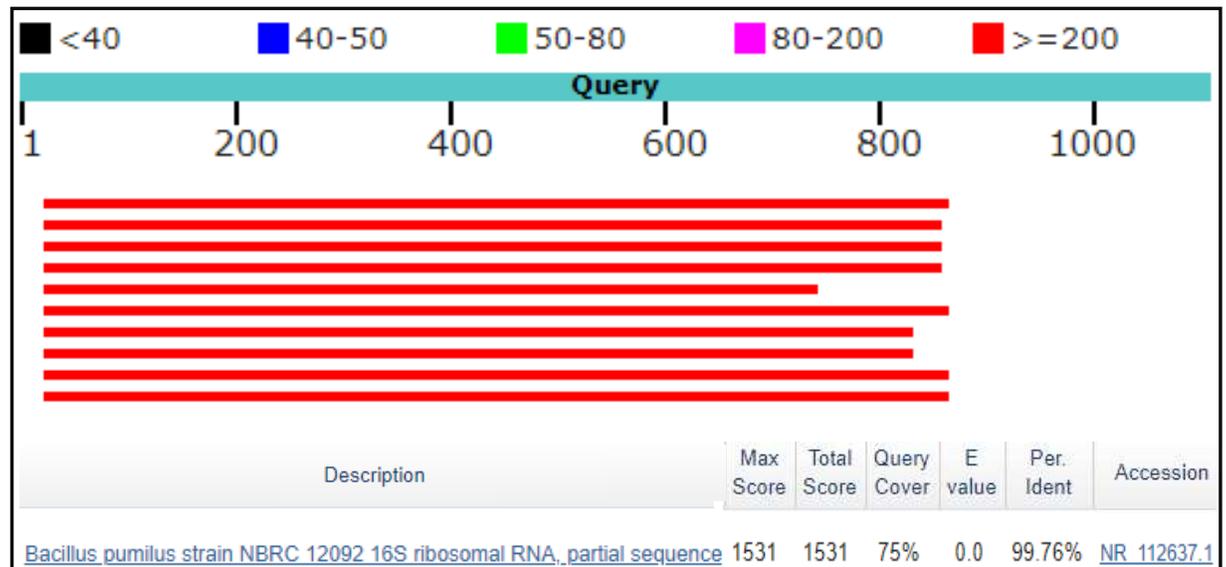


Figura 28b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y100 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Cromatograma de bacteria con clave Y119

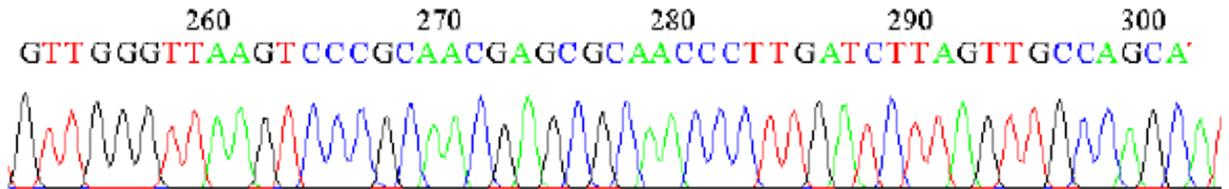


Figura 29a. Cromatograma de la secuencia de nucleótidos de la bacteria identificada con número Y119

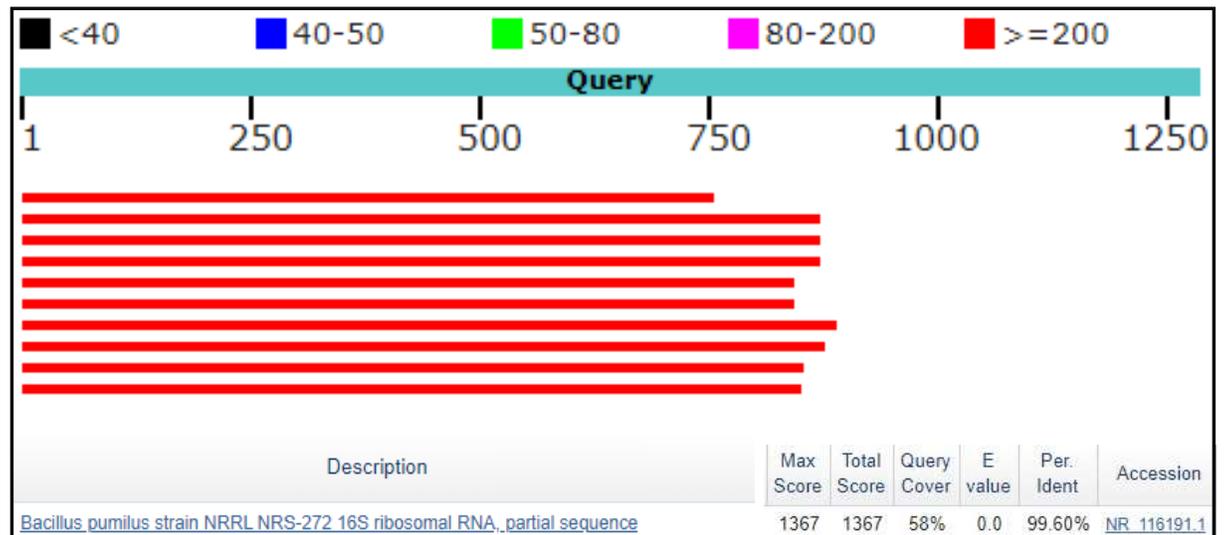


Figura 29b. Análisis de identidad de la secuencia obtenida de la bacteria con clave Y119 con ayuda del programa nucleotide BLAST del NCBI.

Comparación de la identificación bacteriana

A continuación, se muestra en resumen la comparación de los porcentajes obtenidos tanto por el perfil bioquímico como por secuenciación (Tabla 12).

Tabla 12. Comparación entre la identificación bacteriana por secuenciación y sistema API BioMérieux

CLAVE	SECUENCIACIÓN	% ID	API 20 NE y 50 CHB	% ID
38	<i>Vibrio alginolyticus</i>	100	<i>Vibrio vulnificus</i>	99.7
32a	<i>Vibrio alginolyticus</i>	99.65	<i>Vibrio alginolyticus</i>	85.9
H-A	<i>Shewanella indica</i>	94.71	<i>Shewanella putrefaciens</i> group	99.9
43	<i>Bacillus pumilus</i>	99.87	<i>Bacillus pumilus</i>	99.9
Y23	<i>Micrococcus aloeverae</i>	99.88	<i>Bacillus pumilus</i>	98.8
Y29	<i>Pseudoalteromonas shioyasakiensis</i>	98.39	*	-
Y34	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	99.29	<i>Bacillus megaterium</i>	85.6
Y36	<i>Bacillus pumilus</i>	99.47	*	-
Y44	<i>Brachybacterium conglomeratum</i>	99.06	*	-
Y45	<i>Vibrio alginolyticus</i>	99.70	<i>Vibrio vulnificus</i>	99.9
Y46	<i>Vibrio sinaloensis</i>	99.08	<i>Vibrio vulnificus</i>	83.7
Y48	<i>Shewanella indica</i>	99.66	*	-
Y50	<i>Pseudoalteromonas piscicida</i>	99.65	*	-
Y78	<i>Shewanella indica</i>	99.76	<i>Shewanella putrefaciens</i> group	99.9
Y80	<i>Shewanella indica</i>	99.88	<i>Shewanella putrefaciens</i> group	99.9
Y100	<i>Bacillus pumilus</i>	99.76	<i>Bacillus pumilus</i>	99.9
Y119	<i>Bacillus pumilus</i>	99.60	<i>Bacillus pumilus</i>	99.9

% ID: Porcentaje de identificación; * perfil inaceptable; - sin identificar

Análisis de secuencias

Se elaboró un árbol filogenético con ayuda de las secuencias FASTA de las 17 bacterias anteriores en el software MEGA X y se determinó la longitud de las ramas internas de las secuencias más cercanas lo cual nos indica el cambio evolutivo entre estas, donde destaca la relación de cercanía entre el género bacteriano *Shewanella* sp. y los géneros *Pseudoalteromonas* sp. y *Microbacterium* sp. con un 99 % de relación (Figura 30).

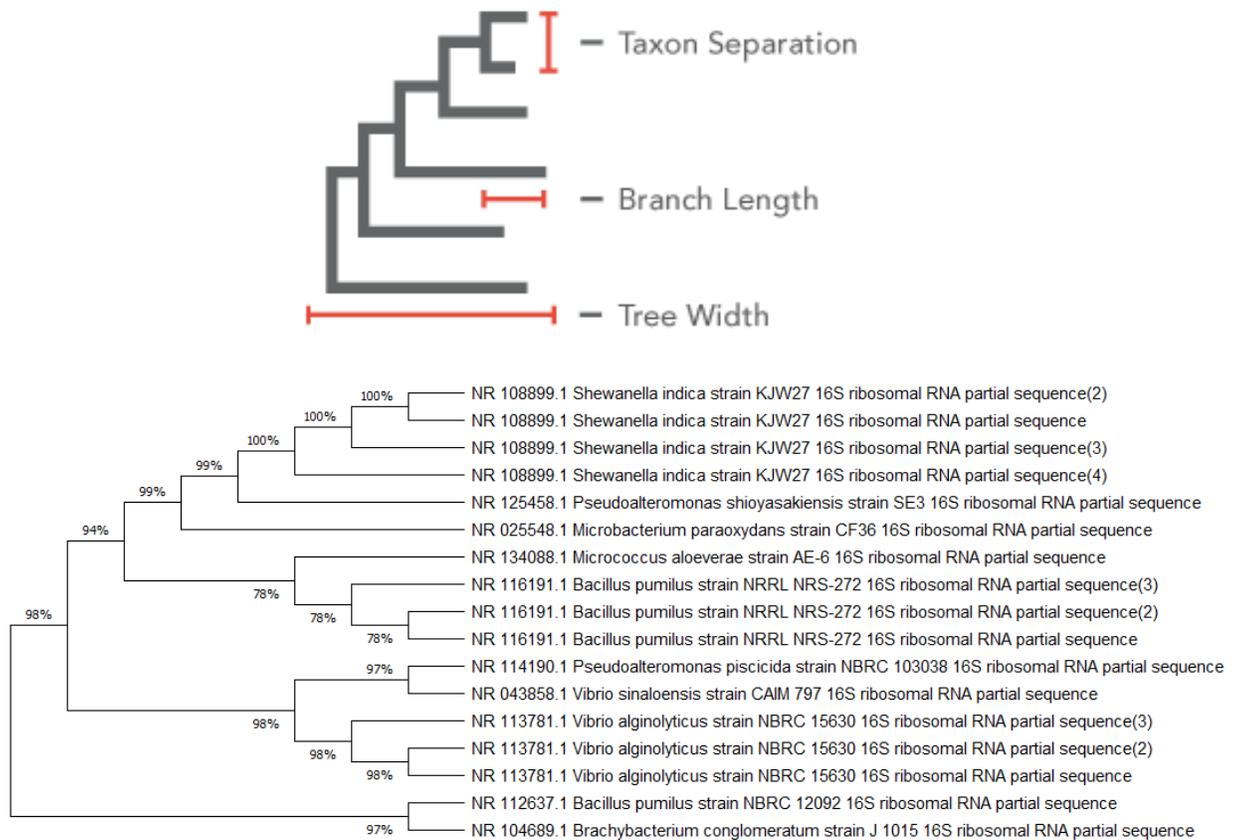


Figura 30. Análisis molecular filogenético de bacterias con actividad antagonica. Método de Neighbor-Joining que involucra 17 secuencias de nucleótidos. La imagen superior muestra la separación del taxón, la longitud de la rama y el ancho del árbol.

Análisis estadístico

La Hipótesis nula (H_0) formulada para esta investigación fue: No hay diferencias significativas en las zonas de inhibición presentadas de acuerdo con las diferentes pruebas de antagonismo bacteriano ($p \leq 0.05$). Para esto, se tuvo una variable cuantitativa, que fueron las zonas de inhibición en cm; y una variable cualitativa, de muestras independientes, que fueron las pruebas de antagonismo, como resultado, esta variable tuvo más de dos grupos, en este caso 3 para ser exactos. Lo primero que se realizó fue identificar si se cumplen los supuestos de normalidad.

A continuación, se muestra el resumen del procesamiento de los casos (Tabla 13), los estadísticos descriptivos (Tabla 14) y las pruebas de normalidad (Tabla 15) de las pruebas

utilizadas para medir la inhibición por parte de los 17 aislados bacterianos en contra del patógeno utilizado.

Tabla 13. Procesamiento de los casos

PRUEBA		Casos					
		Válidos		Perdidos		Total	
		N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
INHIBICION	Prueba de estría cruzada	17	100.0%	0	0.0%	17	100.0%
	Prueba de difusión en pozo con células bacterianas	17	100.0%	0	0.0%	17	100.0%
	Prueba de difusión en pozo con sobrenadante libre de células	17	100.0%	0	0.0%	17	100.0%

Tabla 14. Estadísticos descriptivos

PRUEBA		Estadístico	Error típ.			
INHIBICION	Prueba de estría cruzada	Media	.9176	.09596		
		Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	.7142		
			Límite superior	1.1211		
		Media recortada al 5%	.9141			
		Mediana	1.0000			
		Varianza	.157			
		Desv. típ.	.39566			
		Mínimo	.20			
		Máximo	1.70			
		Rango	1.50			
		Amplitud intercuartil	.50			
		Asimetría	-.251	.550		
		Curtosis	.031	1.063		
			Prueba de difusión en pozo con células bacterianas	Media	.4047	.21929
				Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	-.0602
Límite superior	.8696					
Media recortada al 5%	.3130					
Mediana	.0000					
Varianza	.818					
Desv. típ.	.90417					
Mínimo	.00					
Máximo	2.46					
Rango	2.46					
Amplitud intercuartil	.00					
Asimetría	1.894			.550		
Curtosis	1.840			1.063		

Prueba de difusión en pozo con sobrenadante libre de células	Media		.7047	.28795
	Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	.0943	
		Límite superior	1.3151	
	Media recortada al 5%		.5797	
	Mediana		.0000	
	Varianza		1.410	
	Desv. típ.		1.18723	
	Mínimo		.00	
	Máximo		3.66	
	Rango		3.66	
	Amplitud intercuartil		1.83	
	Asimetría		1.407	.550
Curtosis		.790	1.063	

Tabla 15. Prueba de normalidad

PRUEBA	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
INHIBICION Prueba de estría cruzada	.129	17	.200*	.954	17	.526
Prueba de difusión en pozo con células bacterianas	.496	17	.000	.484	17	.000
Prueba de difusión en pozo con sobrenadante libre de células	.429	17	.000	.650	17	.000

*. Este es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de la significación de Lilliefors

La prueba de normalidad Kolmogórov-Smirnov (K-S) indica que NO se cumple el supuesto de normalidad (Estadísticos entre 0.129 y 0.496, gl 17 y $p > 0.05$), por lo tanto, se rechaza el supuesto de normalidad.

Para estos casos, se utilizó la prueba No Paramétrica de Kruskal-Wallis (K grupos independientes) la cual nos arrojó los siguientes resultados. En primera instancia, se muestra un resumen de la prueba de Hipótesis, donde se muestra la significancia menor a 0.05 (Tabla 16).

Tabla 16. Sinopsis de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de INHIBICION es la misma entre las categorías de PRUEBA.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.003	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es .05.

En segunda instancia, se observa un diagrama de cajas con la variable dependiente de inhibición bacteriana en el eje de las Y, por otro lado, la variable de prueba en el eje de las X, donde se pueden observar las discrepancias en las medias de inhibición de las diversas pruebas empleadas (Figura 31).

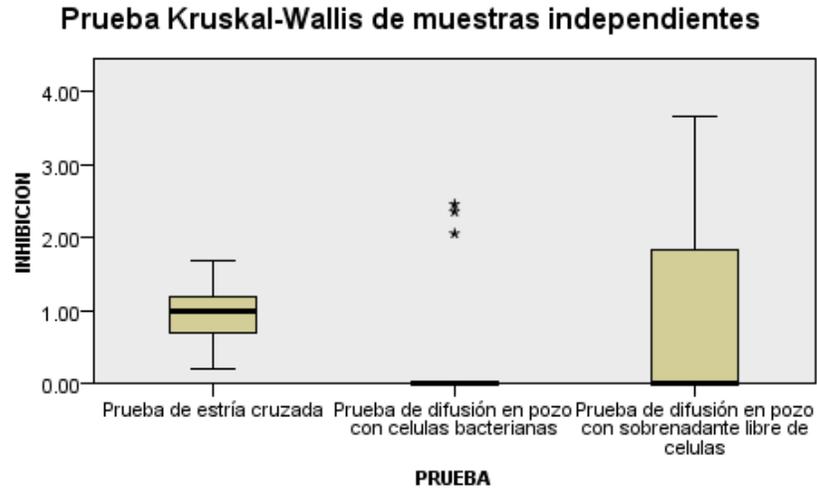


Figura 31. Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes representado con un diagrama de cajas.

En tercera instancia, una vez que se ha determinado que existen diferencias entre las medias, se analizaron las pruebas de rango post hoc para visualizar entre qué grupos se establecen las diferencias (Figura 32).

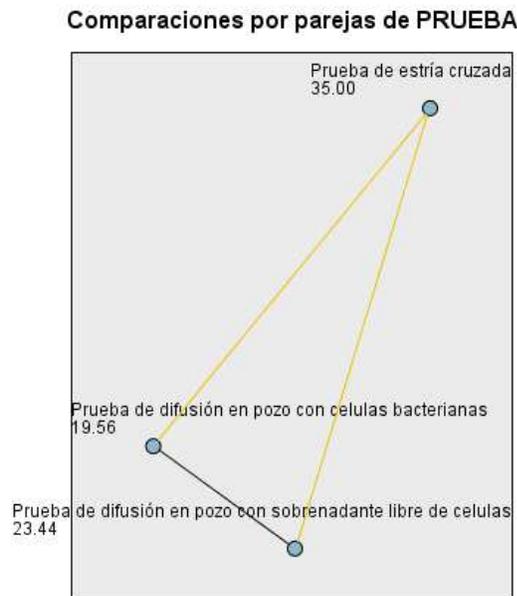


Figura 32. Gráfico de nodos entre comparaciones por parejas de prueba. Los nodos representan una prueba y el número el valor de rangos medios. Líneas amarillas: significativas; línea negra: no significativa.

Por último, se muestran los valores exactos de comparación entre las pruebas. Donde, la primera fila de la tabla muestra que no hay diferencia significativa entre las medianas de la prueba de difusión en pozo con células bacterianas y la prueba de difusión en pozo con sobrenadante libre de células. Sin embargo, las otras dos parejas de pruebas, filas 2 y 3 de la tabla, muestran nivel de significancia por debajo de 0.05, por lo tanto, si existen diferencias significativas entre estas pruebas (Tabla 17).

Tabla 17. Comparación de pruebas y nivel de significancia

Muestra1-Muestra2	Prueba estadística	Error típico	Desv. Prueba estadística	Sig.	Sig. ady.
Prueba de difusión en pozo con células bacterianas-Prueba de difusión en pozo con sobrenadante libre de células	-3.882	4.748	-.818	.414	1.000
Prueba de difusión en pozo con células bacterianas-Prueba de estría cruzada	15.441	4.748	3.252	.001	.003
Prueba de difusión en pozo con sobrenadante libre de células-Prueba de estría cruzada	11.559	4.748	2.434	.015	.045

Cada fila prueba la hipótesis nula que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas.
Se muestran las significancias asintóticas (pruebas de 2 caras). El nivel de significancia es .05.

Decisión: debido al valor resultante de significancia menor a 0.05 en dos parejas de pruebas, se rechaza la H_0 , considerar que si existen diferencias significativas entre los grupos (prueba de pozo con células bacterianas- prueba de estría cruzada y prueba con sobrenadante- prueba estría cruzada) en cuanto a las zonas de inhibición resultantes.

DISCUSIÓN

Al verse incrementado el consumo de mariscos, dentro de los cuales destaca el camarón blanco, la aparición de enfermedades de igual forma presenta una problemática al alza (Fernández-Piquer et al. 2011; Xu et al. 2014). Diversos microorganismos de origen bacteriano son habitantes de ecosistemas marinos, donde destaca el patógeno *Vibrio parahaemolyticus* distribuido en diversos ambientes acuáticos y ampliamente en zonas marinas (Aranda et al. 2012; Touraki et al. 2012; Zarei et al. 2012; Yu et al. 2013; Wu et al. 2014; Feichtmayer et al. 2017). En la actualidad, diversas bacterias se utilizan como un sistema de biocontrol para las diversas enfermedades que permanecen en la acuicultura. Se han presentado reportes acerca de la actividad antagonista de bacterias en contra de diferentes cepas de *Vibrio* sp. por lo que esta actividad se sigue utilizando como estrategia alterna de diversos agentes químicos y antibióticos para poder controlar al patógeno en el ámbito de la camaronicultura (Makino et al. 2003; Planas et al. 2006; Bacon et al. 2012; Chahad et al. 2012; Zokaeifar et al. 2012).

En este estudio, se evaluaron dos localidades del estado de Sonora. En primera instancia, el sitio denominado Guásimas, Sonora, donde se obtuvieron cuatro bacterias marinas con efecto antagonista *in vitro* en contra de *V. parahaemolyticus* AHPND (MC32). La primera identificada con clave 38 proveniente del organismo *Callinectes arcuatus* (Jaiba azul) y otra con clave 32a de procedencia *Rhizophora mangle* (Manglar rojo), las cuales al resultado de identificación molecular por secuenciación la 38 fue identificada como *Vibrio alginolyticus* y por identificación bioquímica con el sistema API 20 NE como *Vibrio vulnificus*; por otro lado, la bacteria 32a como *Vibrio alginolyticus* tanto por secuenciación como por el perfil bioquímico.

Rogers et al. (2015) mencionan la prevalencia de microorganismos de origen bacteriano en cangrejo/jaiba azul (*Callinectes* sp.), en este caso, cierto número de cangrejos presentaban bacterias del género *Vibrio* spp. en su organismo (Rogers et al. 2015). Por otro lado, Rocha et al. (2016) identificaron diversas comunidades bacterianas en sedimentos manglares, de los cuales involucraba a *Rhizophora mangle* como hábitat de una amplia gama de bacterias entre las cuales destacaban especies de *Vibrio* sp (Rocha et al. 2016). Al ver la amplia variedad de bacterias que están presentes en diversos

ecosistemas, se conoce que una variedad de cepas de ambientes acuáticos brinda ciertos compuestos inhibidores en contra de la actividad de patógenos marinos (Cordero et al. 2012).

Otros estudios demuestran que los vibrios silvestres presentan un amplio contenido genético (Polz et al. 2006; Preheim et al. 2011; Thompson et al. 2005) e interacciones antagónicas (Cordero et al. 2012) que generan actividad inhibitoria frente a patógenos (Cordero et al. 2012). Un estudio realizado por Burks et al. (2017) reporta a vibrios ambientales que mostraron una inhibición en contra de patógenos como *V. parahaemolyticus* (Burks et al. 2017). Distintos vibrios de origen marino a través de un análisis de secuencia de genoma, mostraron perfiles antagónicos y estos fueron aislados en diferentes hábitats y distintos tiempos, lo que sugiere que estas cepas inhibitoras persisten en estos ambientes (Burks et al. 2017). Este grupo de investigación identificó metabolitos secundarios que podían contribuir con el fenotipo antagonista mediante la producción de compuestos (Weber et al. 2015), entre los cuales destacan las bacteriocinas (Burks et al. 2017) que, a través de distintas condiciones como la competencia bacteriana, las bacterias liberan estas toxinas de naturaleza proteica que pueden llegar a inhibir a otras bacterias. Un mecanismo el cual implica dicha inhibición es que la célula productora de bacteriocina presenta una proteína de inmunidad mientras que la cepa sensible carece de esta protección, por ende, al ser sensible esta última induce la formación de poros en membrana interna, la bacteriocina actúa como nucleasa degradando el material genético o desfavorece la síntesis de pared bacteriana (Cascales et al. 2007; Cornforth y Foster 2013; Cotter 2014; Héchard y Sahl 2002).

Los métodos de identificación fenotípica suelen ser fáciles de realizar, además que se encuentran de manera accesible en el mercado y los resultados se obtienen de manera rápida (Bosshard et al. 2006; Millar et al. 2007; Woo et al. 2008; Jenkins et al. 2012; Vithanage et al. 2014; França et al. 2015). No obstante, estos sistemas de identificación fenotípica tienen un poder discriminatorio bajo, aunado a una precisión baja, lo que resulta en una identificación no satisfactoria (de Melo Oliveira et al. 2013; Vithanage et al. 2014; França et al. 2015). Referente a los resultados de identificación entre la secuenciación y el sistema API BioMérieux para la bacteria 38, es que el sistema API se basa en la

fermentación de azúcares, la asimilación de fuentes de carbono y producción de metabolitos de las bacterias (Kim et al. 2008; Vithanage et al. 2014), lo que genera dificultad al momento de encontrarse bacterias con perfiles bioquímicos similares, (Bosshard et al. 2006; Kim et al. 2008; Mechergui et al. 2014). A pesar de que el API 20NE es usado como herramienta convencional para identificación bioquímica entre cepas de *Vibrio* sp. (Yiagnisis y Athanassopoulou 2011) los métodos moleculares constituyen una estrategia de mayor opción para una identificación precisa y con confiabilidad (Oderiz et al. 2011). Sin embargo, el gen usado para la identificación bacteriana 16S ADN_r, tiene un bajo poder discriminatorio para diferenciar entre especies de *Vibrio* que presentan secuencias casi idénticas y que las hace estrechamente relacionadas (Marchesi et al. 1998; Montieri et al. 2010 y Khalil et al. 2014), para esto, se deberá optar por la detección específica de genes para las especies de *Vibrio* spp., gen de colagenasa para *V. alginolyticus* (Miyoshi 2013) y la detección del gen *Vvh* para *V. vulnificus* (Al-Assafi et al. 2014).

Por otra parte, uno de los aislados bacterianos restantes del primer muestreo etiquetado con clave H-A, fue recuperado de lodo manglar de la costa de Guásimas. En cambio, del segundo muestreo, los aislados etiquetados como Y48 aislado de *Callinectes arcuatus* (Jaiba azul), otro como el Y78 recuperado de *Petrochirus californiensis* (Cangrejo ermitaño) y la bacteria con clave Y80 previamente aislada de *Clibanarius panamensis* (Cangrejo ermitaño) mostraron efectos inhibitorios frente al patógeno de interés (MC32).

Los aislados bacterianos con clave H-A, Y48, Y78, y Y80 fueron identificados mediante secuenciación como *Shewanella indica*, y por el sistema bioquímico API 20 NE como *Shewanella putrefaciens* group, todo de igual forma. La amplia variedad de especies de *Shewanella* sp. se han encontrado con relación en aguas y sedimento a través del océano pacífico y otras partes del mundo (Wang et al. 2004; Huang et al. 2009; Verma et al. 2011; Thevarajoo et al. 2015;). Además, diversas especies de *Shewanella* han evidenciado actividad antimicrobiana en contra de diversos patógenos de productos pesqueros (Makridis et al. 2008; Díaz-Rosales et al. 2009; Zadeh et al. 2010), donde resaltan características de las especies de *Shewanella* como producción de antibióticos, degradación o interferencia con compuestos de señal de la actividad quorum sensing, o la

secreción de melanina para competir por el ion hierro con otras bacterias patógenas, las cuales pueden ser un factor clave de su actividad inhibitoria (Turick et al. 2002; Makridis et al. 2008; Morohoshi et al. 2008; Díaz-Rosales et al. 2009; Zadeh et al. 2010). Otra investigación resalta el efecto de la administración de dos bacterias probióticas del género *Shewanella* sp., *S. colwelliana* y *S. olleyana*, en la respuesta inmune del molusco *Haliotis discus hannai* en contra de una cepa de *Vibrio harveyi* (Jiang et al. 2013) donde destacan en un informe previo que estas especies producen ácido graso poliinsaturado (Weiner 1989; Skerratt et al. 2002). Estudios posteriores demuestran que especies de *Shewanella* sp. producen ácidos grasos libres, que es el resultado de un mutualismo entre especímenes marinos y bacterias que viven en intestino (Hau et al. 2007; Sukovich et al. 2010). Entre las actividades biológicas de estos ácidos es que presentan la capacidad de inhibir parcial o totalmente el crecimiento de bacterias, lo que resulta en una capacidad antibacteriana de estos ácidos grasos libres utilizada por múltiples organismos para poder sobrevivir o defenderse ante patógenos bacterianos (Desbois y Smith 2010; Kokou et al. 2012).

Este género de bacteria ha sido aislado de ambientes acuáticos y las especies se encuentran clasificadas con base a la hibridación del ADN, se resaltan 4 grupos genómicos (I-IV) de *S. putrefaciens* (Owen et al. 1978), esto comparado con el resultado obtenido del perfil bioquímico donde estos 4 aislados fueron identificados como *Shewanella putrefaciens* group, la base de datos del sistema API actualizada a su versión más reciente (1.3.0) demuestra que únicamente cuenta en su amplia lista de bacterias a este grupo de *Shewanella*, por lo cual es evidente la identificación de estos aislados dentro de este grupo (API database 2019), en comparación con el análisis molecular donde es arrojada la especie *Shewanella indica* como identificación más precisa y específica.

En otro sentido, el aislado etiquetado como 43 y aislado del primer muestreo se recuperó del organismo marino *Ilioichione subrugosa* (Almeja china). En un estudio donde comparan la biogeografía y variación de diferentes especies de bivalvos y diferentes regiones del mundo, concuerdan con la presencia de esta especie en las costas del pacifico Este (Roopnarine et al. 2008). Referente al segundo muestreo en Yavaros, de igual manera, los sedimentos y agua de mar mostraron la misma importancia de fuentes bacterianas antagonistas frente al patógeno *V. parahaemolyticus*, esto con dos aislados

rotulados como Y100, recuperado de sedimento salino y la Y119 tomado de agua de mar. Mientras que, por otro lado, el aislado etiquetado como Y36, fue procesado y aislado del alga verde *Enteromorpha compressa*. Esta alga se ha encontrado en regiones costeras del Pacífico Mexicano, una de ellas en Mazatlán, Sinaloa (Yozukmaz et al. 2018). Los aislados bacterianos con clave 43, Y36, Y100 y Y119 fueron identificados como *Bacillus pumilus* tanto por el perfil bioquímico como por identificación molecular. Cabe resaltar la presencia de esta especie de *Bacillus pumilus* en la base de datos del sistema API 50 CHB lo que nos asegura un resultado certero y confirmatorio (API database 2019).

El efecto antagonista que mostraron estos últimos aislados bacterianos frente a MC32 ocurrió posiblemente por la competencia interespecífica de nutrientes entre los procariotas mediante el uso de metabolitos secundarios, como los antibióticos o bacteriocinas que son enzimas extracelulares (Jack et al. 1995; Boer et al. 2005; Riley y Chavan 2007; Hibbing et al. 2010; de Lima Procópio et al. 2012). La producción de estas últimas, son secretadas por una amplia variedad de bacterias entre las cuales destacan las del género *Bacillus* sp. que degradan la membrana interna del patógeno o su material genético. La mayoría de las bacterias Gram negativas carecen de un sistema excretor específico para estas bacteriocinas, es por esto por lo que la liberación de estas ocurrirá a través de la propia lisis celular. Esto nos indica que solo una pequeña parte de los procariotas produce estas sustancias y esto proporciona una ventaja competitiva con otras poblaciones bacterianas (Cascales et al. 2007). Otra investigación donde Nayak et al. (2017) demuestran la actividad inhibitoria de *B. pumilus* (B2) que tras 24 h de incubación comenzó a liberar una sustancia antibacteriana contra diversos vibrios patogénicos con un título antimicrobiano de inhibición de moderado a fuerte contra cepas patógenas de *V. parahaemolyticus* y *V. alginolyticus*. La caracterización parcial de la sustancia microbiana de la cepa B2 reveló una naturaleza proteica tras una serie de pruebas contra enzimas proteolíticas y ausencia de lipasas, la cual se podría clasificar como una molécula inhibitoria que tiene potencial aplicación contra diferentes cepas de *Vibrio* sp. en la acuicultura (Nayak et al. 2017). A pesar de que la membrana externa de las bacterias Gram negativas, ejemplo *Vibrio* sp., evita que ciertos antibióticos, colorantes, detergentes y moléculas como bacteriocinas secretadas por ciertos grupos bacterianos lleguen a la membrana citoplasmática y desestabilizar el esqueleto celular hasta ocasionar la muerte bacteriana, el producto

antimicrobiano de esta cepa de *B. pumilus* mostró una fuerte inhibición contra cepas Gram negativas de *Vibrio* sp. (Nayak et al. 2017).

En segunda instancia, otra bacteria con clave Y23 recuperada de sedimento costero, a través de secuenciación arrojó el género y especie de *Micrococcus aloeverae*. En contra parte, el resultado del perfil bioquímico fue identificada esta bacteria como *Bacillus Pumilus*. Una de las razones puede ser que la base de datos del sistema API no contiene la especie *Micrococcus aloeverae* la cual fue identificada con el análisis molecular, además, se requiere el sistema API 20 Staph o API coryne para la identificación del género *Micrococcus* en específico, además que este tipo de bacteria requiere pruebas adicionales para su identificación certera por perfil bioquímico (API database 2019). Agregar también, que estas bacterias, *Micrococcus* sp. y *Bacillus* sp. pertenecen filogenéticamente a dos grupos distintos, por una parte, *Micrococcus* sp. al Filo Actinobacteria y por otro lado *Bacillus* sp. al filo Firmicutes (Li et al. 2016). En un reporte, se evaluó la actividad antimicrobiana de bacterias intestinales de insectos triatominos, de estas, una cepa de *M. aloeverae* mostró efectos inhibitorios *in vitro* en contra de diferentes cepas como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* y *Serratia marcescens* (Porrás et al. 2016). Otro estudio, donde aislaron a la bacteria *M. aloeverae* y vieron el potencial de producción de proteasas de manera eficiente y además proteasa secretada a hipersalinidad, temperaturas altas y amplio rango de pH, lo cual nos indica que esta bacteria se puede adaptar a diferentes entornos y poder así sobrevivir ante diferentes condiciones (Prakash et al. 2017). Otro rasgo importante para resaltar es que diversas bacterias marinas que son productoras de proteasas presentan mejores ventajas en cuestión el crecimiento a diferentes temperaturas, valores de pH variables y un amplio rango de crecimiento a diferentes concentraciones de cloruro de sodio. Esto nos ayudaría a utilizar estas bacterias como remplazo de fuentes actuales en la industria debido a todas estas propiedades y además aprovechar la capacidad que tienen estas bacterias proteolíticas para poder erradicar patógenos (Sánchez, et al. 2004).

Otra de las bacterias identificadas fue una con clave Y29 de este segundo muestreo la cual se recuperó del organismo marino *Salicornia bigelovii* (Salicornia). En un estudio investigaron dos áreas de regiones costeras del norte y sur en el estado de Sonora y señalan

la abundancia de *S. bigelovii* de forma natural (Puente et al. 2017). La bacteria con clave Y29 fue identificada como *Pseudoalteromonas shioyasakiensis*. En un reporte donde Wang et al. (2018) demostraron la actividad inhibitoria de dos cepas de *Pseudoalteromonas* sp. las cuales registraron zonas de inhibición en contra de una cepa de *V. parahaemolyticus*. Otros estudios demuestran que especies de este género tienen la capacidad de reducir microbiota bacteriano a modo de competencia (Chen et al. 2010; Aranda et al. 2012; Richards et al. 2017). Lo que obtuvo el grupo de Wang et al. (2018) es que la actividad antagonista de las cepas de *Pseudoalteromonas* sp. a retar contra *V. parahaemolyticus* fue relacionada con la producción de peróxido de hidrógeno, además que se aislaron dos proteínas con efecto inhibitorio bacteriano similares a otras especies de *Pseudoalteromonas* sp. con actividad antibacteriana (Wang et al. 2018). Otras especies, por ejemplo *P. flavipulchra* y *P. piscicida* producen compuestos bioactivos con actividad antibacteriana y antibiofilm (Bowman 2007; Chen et al. 2010; Yu et al. 2013; Richards et al. 2017). Referente a la identificación por el sistema API 50 CHB, se obtuvo un perfil inaceptable sin identificación para este aislado bacteriano, esto pudiese debido a que la base de datos no cuenta con este género bacteriano en su lista (API database 2019).

También, otra bacteria de este muestreo fue la identificada con clave Y34 aislada de un *Sargassum sinicola* (Alga parda). Este tipo de alga parda se ha encontrado en diferentes regiones alrededor del mundo, sin embargo, es muy amplia su presencia en regiones del Océano Pacífico mexicano (Cid 2015; Casas-Valdez et al. 2016). La identificación de *Microbacterium paraoxydans* por secuenciación del 16S ADN fue distinta a la identificación por el sistema bioquímico API BioMérieux, donde arrojó un perfil inaceptable y por ende sin identificación, esto debido a que no se encuentra este género bacteriano en el API utilizado, sin embargo, puede identificarse con el sistema API coryne en la base de datos de esta herramienta bioquímica (API database 2019). En un estudio, esta bacteria de género *Microbacterium* sp. mostró, en conjunto con una cepa de *Bacillus* sp. un efecto antagónico eficaz en contra de *Aspergillus flavus*. Este trabajo resalta como primer informe el uso de ambas bacterias como agentes de biocontrol en contra de *A. flavus* en granos de arroz (Mannaa et al. 2017).

Por otra parte, se colectaron cangrejos ermitaños, *Clibanarius panamensis* y *Petrochirus californiensis*. Estas especies de cangrejos se han reportado en océanos en México, por una parte, en el Golfo, específicamente en Veracruz (Argüelles et al. 2009) y por otro lado en el Océano Pacífico en las costas del estado de Chiapas (García et al. 2017; López-Vila et al. 2019). De estos cangrejos ermitaños se recuperaron, aislaron y se obtuvieron cinco cepas antagónicas frente al patógeno de interés (MC32).

Uno de estos aislados fue el etiquetado con clave Y44 e identificado por secuenciación como *Brachybacterium conglomeratum*, sin embargo, referente al perfil bioquímico no se obtuvo una identificación favorable y se tuvo un perfil inaceptable, debido a que este género bacteriano no se ha añadido a la base de datos actualizada de la compañía BioMérieux (API database 2019). Comparando distintos organismos de los cuales se ha recuperado esta bacteria, Rojas-Domínguez et al. (2019) identifica a *Brachybacterium* sp. recuperado del microbiota de tortugas *Gopherus flavomarginatus*. El conocimiento del microambiente bacteriano de los sistemas de larvicultura de camarones ha contribuido a la detección de nuevos probióticos y al control de diversas enfermedades (Xue et al. 2016). En un estudio se caracterizó a la comunidad bacteriana de un sistema de larvas camaroneras donde se identificaron diferentes géneros bacterianos, de los cuales resalta la bacteria perteneciente al filo Actinobacteria cuyo género es *Brachybacterium* sp. donde, diferentes géneros bacterianos, incluyendo este último, confirieron una supervivencia larval mayor comparada con un control, lo que sugiere que este tipo de cepas bacterianas son de gran importancia para la explotación de nuevas alternativas y generación de nuevos probióticos (Xue et al. 2016).

Otros dos aislados, recuperados de esta especie de cangrejo ermitaño, fueron los nombrados con clave Y45 y Y46 los cuales al ser secuenciados fueron identificados como *Vibrio alginolyticus* y *Vibrio sinaloensis* respectivamente, esto por métodos moleculares, por otra parte, fueron identificadas como *Vibrio vulnificus* por la herramienta bioquímica ambas bacterias (API database 2019). Como se describió anteriormente, diferentes especies de *Vibrio* sp. pueden ejercer un efecto inhibitorio que vaya en contra de ciertos patógenos de este género, en particular se destaca la propiedad de quorum sensing que

tiene *V. sinaloensis* y como esta actividad le podría ayudar a la supervivencia y superioridad ante diversas bacterias (Mohamad et al. 2017).

Por último, se aisló la bacteria con nombre Y50 recuperada de una almeja china (*Ilioichione subrugosa*), la cual al ser secuenciada fue identificada como *Pseudoalteromonas piscicida*, mientras que por el sistema API 20 NE no hubo identificación alguna con resultado de perfil inaceptable, esto debido a que en la base de datos de API BioMérieux no cuenta con este género actualizado y fue nula su identificación (API database 2019). En un estudio, se obtuvieron bacterias del género *Pseudoalteromonas* sp. procedentes de sedimento y agua de mar del Golfo de México, más específico en el estado de Campeche (Cetina et al. 2010). Este género bacteriano ha sido de gran relevancia en diversos estudios, por ejemplo, un grupo de trabajo evaluó la capacidad antagonica de diversas cepas de *P. piscicida* en contra de diferentes patógenos de los cuales los géneros de *Vibrio* sp. encabezan la lista. Tres cepas mostraron una fuerte presencia de actividad cisteín proteasa, donde la actividad antagonica quedó evidenciada con zonas claras de inhibición en contra de patógenos marinos bacterianos como *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, entre otros (Richards et al. 2017). La enzima de estas cepas de *P. piscicida* contribuyen a la degradación de las paredes celulares de *V. parahaemolyticus* en específico (Richards et al. 2017). De igual forma se detectó la actividad de una serin proteasa asociada con las cepas de *P. piscicida*, esta hidrolizó un sustrato que se usa para la detección de catepsina G, por ejemplo, en humanos la catepsina G es una enzima que es mediada por lisosomas con una basta actividad inhibitoria sobre bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas (Pham 2006). A pesar de que se ha visto que diferentes especies de *Pseudoalteromonas* sp. tienen la capacidad de formar biopelículas, otras en cambio degradan estos polisacáridos (Klein et al. 2011; Mitra et al. 2014). La naturaleza de los biofilm bacterianos puede ser susceptible a las actividades proteolíticas de las serin proteasas y cisteín proteasas de las especies de *P. piscicida*, lo que genera una ventaja selectiva en la degradación de diferentes biopelículas bacterianas (Richards et al. 2017).

CONCLUSIÓN

Se obtuvieron 17 bacterias antagonistas en contra del patógeno *Vp* MC32 de manera *in vitro* por la prueba de estría cruzada, la cual evidenció zonas claras de inhibición por parte de las bacterias desde los 0.2 cm hasta 1.7 cm de diámetro.

Tres de los diecisiete aislados bacterianos, con clave 43, H-A y Y119, presentaron antagonismo frente a *Vp* por la prueba de difusión en pozo con la variante de células bacterianas, con halos de inhibición de 2.46, 2.06 y 2.36 cm de diámetro respectivamente.

Únicamente cinco bacterias antagonistas, etiquetadas como 32a, 43, H-A, Y100 y Y119, mostraron halos de inhibición frente al patógeno *Vp* por la prueba de difusión en pozo con la variante de sobrenadante libre de células. Se presentaron halos de inhibición de 3.66, 2.2, 2.46, 1.76 y 1.9 cm de diámetro respectivamente.

Los aislados bacterianos con clave 43, H-A y Y119 mostraron efectos antagónicos en contra del patógeno *Vp* por ambas variantes en la prueba de difusión en pozo.

Las bacterias fueron identificadas como: 32a *Vibrio alginolyticus*; 43, Y100 y Y119 *Bacillus pumilus*; H-A *Shewanella indica*.

Las bacterias marinas antagónicas restantes en contra del patógeno *Vp* etiquetados con clave 38, Y23, Y29, Y34, Y36, Y44, Y45, Y46, Y48, Y50, Y78 y Y80 corresponden a *Vibrio alginolyticus*, *Micrococcus aloeverae*, *Pseudoalteromonas shioyasakiensis*, *Microbacterium paraoxydans*, *Bacillus pumilus*, *Brachybacterium conglomeratum*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio sinaloensis*, *Shewanella indica*, *Pseudoalteromonas piscicida*, *Shewanella indica* y *Shewanella indica* respectivamente, resultados de la secuenciación bacteriana

PERSPECTIVAS

Los aislados bacterianos de naturaleza marina pueden ser una alternativa contra patógenos ya establecidos y futuros microorganismos en el ámbito de la acuicultura. Además, el uso adecuado y selectivo de microorganismos bacterianos en contra de diversos patógenos de importancia acuícola es un campo de investigación aún con amplias expectativas y en crecimiento. Diferentes aislados de origen bacteriano inhiben el crecimiento de patógenos, lo que hace que sean candidatos para el desarrollo y la implementación de sustancias que puedan actuar con una actividad antimicrobiana, por lo que se propone:

- Continuar con la aplicación de diversas pruebas para evaluar las capacidades metabólicas y de crecimiento que puedan poseer estas bacterias, pruebas como, antibiogramas, actividad enzimática, curvas de crecimiento bacteriano, formación de biofilm, método de doble capa de Dopazo, método de co-cultivo en suspensión, CMI (concentración Mínima Inhibitoria) y CMB (Concentración Mínima Bactericida), entre otras.
- Una vez probado el efecto *in vivo*, llevar a un escalamiento *in vivo* a nivel de bioensayos bajo diferentes esquemas: dosis de bacterias junto con el alimento del camarón, parámetros fisicoquímicos del agua, cargas bacterianas de probióticos y patógeno, identificación microbiológica y molecular de las muertes en estos crustáceos, además de mortalidad de los camarones con el paso de los días.
- Llevar a cabo pruebas a nivel piloto en diferentes campos (larvarios, de maternidad o estanques de engorda de camarón) del sector acuícola.
- Escalamiento industrial para la producción de bacterias a nivel biorreactor, donde se adaptaría a los diferentes modelos en los sectores de producción acuícola.
- Análisis bioinformáticos de las secuencias genómicas para conocer a fondo las características genéticas y poder caracterizar los compuestos bioactivos de las diferentes bacterias con un alto potencial acuícola y/o industrial.

BIBLIOGRAFÍA

- Abasolo-Pacheco, F. 2015. Selección y evaluación de bacterias del tracto digestivo del pectínido mano de león (*Nodipecten subnodosus*) y de la concha nácar (*Pteria sterna*) con uso potencial probiótico en la acuicultura de bivalvos marinos. Tesis. Investigaciones Biológicas del Norste, S.C. Instituto Politécnico.
- Aguirre-Guzmán, G., Vázquez-Juárez, R., y Ascencio, F. 2001. Differences in the susceptibility of American white shrimp larval substages (*Litopenaeus vannamei*) to four *Vibrio* species. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78(4), 215-219.
- Ahirwar, U., Kollah, B., Dubey, G. y Mohanty, S. R. 2019. Chlorpyrifos biodegradation in relation to metabolic attributes and 16S rRNA gene phylogeny of bacteria in a tropical vertisol. *SN Applied Sciences*, 1(3), 228.
- Al-Assafi, M. M. K., Mutalib, S. A., Ghani, M. A. y Aldulaimi, M. 2014. A review of important virulence factors of *Vibrio vulnificus*. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 6(2), 76-88.
- Al-Mohanna, S. Y. 1983. The structure and function of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* De Haan (Crustacea: Decapoda) during the digestive and moult cycles (Doctoral dissertation, University of Wales Institute of Science and Technology (UWIST)).
- Al-Mohanna, S. Y., Nott, J. A. y Lane, D. J. W. 1985. M-'Midget' Cells in the Hepatopancreas of the Shrimp *Penaeus semisulcatus* De Haan, 1844 (Decapoda, Natantia). *Crustaceana*. Vol. 48, No. 3. pp. 260-268.
- Amornchai, P., Chierakul, W., Wuthiekanun, V., Mahakhunkijcharoen, Y., Phetsouvanh, R., Currie, B. J. y Peacock, S. J. 2007. Accuracy of *Burkholderia pseudomallei* identification using the API 20NE system and a latex agglutination test. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(11), 3774-3776.
- API database. 2019. API BioMérieux. API & API ID 32 Identification Databases, (En línea). Disponible en: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/sites/clinic/files/9308960-002-gb-b-apiweb-booklet.pdf>

- Aranda, C.P., Valenzuela, C., Barrientos, J., Paredes, J., Leal, P., Maldonado, M., Godoy, F.A. y Osorio, C.G., 2012. Bacteriostatic anti-*Vibrio parahaemolyticus* activity of *Pseudoalteromonas* sp. strains DIT09, DIT44 and DIT46 isolated from Southern Chilean intertidal *Perumytilus purpuratus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 2365–2374.
- Argüelles, A., Álvarez, F. y Alcaraz, G. 2009. Shell architecture and its relation to shell occupation by the hermit crab *Clibanarius antillensis* under different wave action conditions. *Scientia Marina*, 73(4), 717-723.
- Aristizabal, L. S. R. y Marín, D. 2012. Evaluación de la actividad antibacteriana de aceites esenciales y extractos etanólicos utilizando métodos de difusión en agar y dilución en pozo. *Scientia Et Technica*, 17(50), 152-157.
- Armstrong, E., Boyd, K.G. y Burgess, J.G. 2000. Prevention of marine biofouling using natural compounds from marine organisms. *Biotechnology Annual Review* 6:221–41.
- Avendaño, C., Arbeláez, G. y Rondón, G. 2006. Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en frijol *Phaseolus vulgaris* L., mediante la acción combinada de *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma* sp. y *Pseudomonas fluorescens*. *Agronomía Colombiana*, 24 (1): 62-67.
- Bacon, C.W., Hinton, D.M., Mitchell, T.R., Snook, M.E. y Olubajo, B. 2012. Characterization of endophytic strains of *Bacillus mojavensis* and their production of surfactin isomers. *Biological Control*. 62:1–9.
- Balcázar, J. L., Pintado, J. y Planas, M. 2010. *Vibrio hippocampi* sp. nov., a new species isolated from wild seahorses (*Hippocampus guttulatus*). *FEMS Microbiology Letters*, 307(1), 30-34.
- Balcázar, J.L., de Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Cunningham, D., Vendrell, D., y Múzquiz, J.L. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*. 114, 173–186.

- Balouiri, M., Sadiki, M. y Ibnsouda, S. K. 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.
- Bell, T. A. y Lightner, D. V. 1988. *A handbook of normal penaeid shrimp histology* (No. 595.3843 B4).
- Boer, W. D., Folman, L. B., Summerbell, R. C. y Boddy, L. 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(4), 795-811.
- Bondad-Reantaso, M. G., Subasinghe, R. P., Josupeit, H., Cai, J., y Zhou, X. 2012. The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: past, present and future. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110(2), 158-165.
- Boone, L. 1931. A collection of anomuran and macruran Crustacea from the Bay of Panama and the fresh waters of the Canal Zone. *Bulletin of the AMNH*; v. 63, article 2.
- Bosshard, P. P., Zbinden, R., Abels, S., Böddinghaus, B., Altwegg, M. y Böttger, E. C. 2006. 16S rRNA gene sequencing versus the API 20 NE system and the VITEK 2 ID-GNB card for identification of nonfermenting Gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(4), 1359-1366.
- Bowman, J.P., 2007. Bioactive compound synthetic capacity and ecological significance of marine bacterial genus *Pseudoalteromonas*. *Marine Drugs* 5, 220–241.
- Boyd, M. A., Antonio, M. A. y Hillier, S. L. 2005. Comparison of API 50 CH strips to whole-chromosomal DNA probes for identification of *Lactobacillus* species. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(10), 5309-5311.
- Briggs, M. (2005). *Introducciones y movimiento de dos especies de camarones peneidos en Asia y el Pacífico* (Vol. 476). Food & Agriculture Org.
- Buczolits, S., Schumann, P., Valens, M., Rosselló-Mora, R. y Busse, H. J. 2008. Identification of a bacterial strain isolated from the liver of a laboratory mouse as *Microbacterium paraoxydans* and emended description of the species

- Microbacterium paraoxydans* Laffineur et al 2003. *Indian Journal of Microbiology*, 48(2), 243-251.
- Burks, D. J., Norris, S., Kauffman, K. M., Joy, A., Arevalo, P., Azad, R. K. y Wildschutte, H. 2017. Environmental vibrios represent a source of antagonistic compounds that inhibit pathogenic *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* strains. *Microbiology Open*, 6(5), e00504.
- Carbonó, V. G. y Cuan, A. G. 2017. Determinación de bacteriocinas en muestras de consorcios microbianos nativos de ecosistemas de manglar en el departamento del atlántico, como fuente potencial de nuevos tratamientos biomédicos. *Biociencias*, 12(1), 37-51.
- Carrillo, A. C., Rodríguez, N. y Rodríguez, C. E. 2010. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 13(2), 117-124.
- Casas-Valdez, M., Sánchez-Rodríguez, I., Serviere-Zaragoza, E. y Aguila-Ramírez, R. N. 2016. Cambios temporales de la biomasa y distribución de los mantos de *Sargassum* en la costa sureste de la península de Baja California. *Ciencias Marinas*, 42(2), 99-109.
- Cascales, E., Buchanan, S. K., Duché, D., Kleanthous, C., Lloubes, R., Postle, K. y Cavard, D. 2007. Colicin biology. *Microbiol. Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(1), 158-229.
- Castillo, C., Wahid, M., Yoshikawa, T. y Sakata, T. 2008. Isolation and inhibitory effect of anti-*Vibrio* substances from *Pseudoalteromonas* sp. A1-J11 isolated from the coastal sea water of Kagoshima Bay. *Fisheries Science* 74:174–179.
- Ceccarelli, D., Hasan, N, A., Hug, A. y Colwell, R. R. 2013. Distribution, and dynamics of epidemic, and pandemic *Vibrio (parahaemolyticus)* virulence factors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3:97.

- Cetina, A., Matos, A., Garma, G., Barba, H., Vázquez, R., Zepeda-Rodríguez, A. y López, R. 2010. Antimicrobial activity of marine bacteria isolated from Gulf of Mexico. *Revista Peruana de Biología*, 17(2), 231-236.
- Chahad, O.B., El Bour, M., Calo-Mata, P., Boudabous, A. y Barros-Velázquez, J. 2012. Discovery of novel biopreservation agents with inhibitory effects on growth of food-borne pathogens and their application to seafood products. *Research in Microbiology*, 163:44–54.
- Chen, W.M., Lin, C.Y. y Chen, C.A., 2010. Involvement of an L-amino acid oxidase in the activity of the marine bacterium *Pseudoalteromonas flavipulchra* against methicillinresistant *Staphylococcus aureus*. *Enzyme and Microbial Technology*, 47, 52–58.
- Cho, K. M., Math, R. K., Hong, S. Y., Islam, S. M. A., Mandanna, D. K., Cho, J. J. y Yun, H. D. 2009. Iturin produced by *Bacillus pumilus* HY1 from Korean soybean sauce (kanjang) inhibits growth of aflatoxin producing fungi. *Food Control*, 20(4), 402-406.
- Cid, L. E. M. 2015. Algas epífitas de *Sargassum sinicola* Setchell & Gardner (Fucales, Phaeophyceae), en las islas Magdalena y Margarita en Baja California Sur, México. *Revista de Investigaciones Marinas*, 34(2), 31-42.
- Cleophas, T. J. y Zwinderman, A. H. 2016. Non-parametric tests for Three or more samples (friedman and kruskal-Wallis). In *Clinical Data Analysis on a Pocket Calculator* (pp. 193-197). Springer, Cham.
- Cordero, O. X., Wildschutte, H., Kirkup, B., Proehl, S., Ngo, L., Hussain, F. y Polz, M.F. 2012. Ecological populations of bacteria act as socially cohesive units of antibiotic production and resistance. *Science*, 337, 1228–1231.
- Cornforth, D. M. y Foster, K. R. 2013. Competition sensing: the social side of bacterial stress responses. *Nature Reviews Microbiology*, 11(4), 285.
- Cotter, P. D. 2014. An ‘U pp’-turn in bacteriocin receptor identification. *Molecular Microbiology*, 92(6), 1159-1163.

- Csuros, M. 2018. *Microbiological examination of water and wastewater*. CRC Press.
- Cuéllar-Ángel, J., Lightner, D. V., y Pantoja, C. 2012. Síndrome de mortalidad temprana o síndrome de necrosis hepatopancreática aguda. *Panorama Acuícola Magazine*, 17, 42-43.
- Cullen, J. J. y MacIntyre, H. L. 2016. On the use of the serial dilution culture method to enumerate viable phytoplankton in natural communities of plankton subjected to ballast water treatment. *Journal of Applied Phycology*, 28(1), 279-298.
- Dall, W. H. B. J., Hill, B. J., Rothlisberg, P. C., y Sharples, D. J. 1990. The biology of the Penaeidae. *The Biology of the Penaeidae.*, 27.
- de Lima Procópio, R. E., da Silva, I. R., Martins, M. K., de Azevedo, J. L. y de Araújo, J. M. 2012. Antibiotics produced by *Streptomyces*. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16(5), 466-471.
- de Melo Oliveira, M. G., Abels, S., Zbinden, R., Bloemberg, G. V. y Zbinden, A. 2013. Accurate identification of fastidious Gram-negative rods: integration of both conventional phenotypic methods and 16S rRNA gene analysis. *BMC Microbiology*, 13(1), 162.
- Desbois, A. P. y Smith, V. J. 2010. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(6), 1629-1642.
- Díaz-Rosales, P., Arijó, S., Chabrillón, M., Alarcón, F. J., Tapia-Paniagua, S. T., Martínez-Manzanares, E. y Moriñigo, M. A. 2009. Effects of two closely related probiotics on respiratory burst activity of *Senegalese sole* (*Solea senegalensis*, Kaup) phagocytes, and protection against *Photobacterium damsela* subsp. piscicida. *Aquaculture*, 293(1-2), 16-21.
- Dopazo, C. P., Lemos, M. L., Lodeiros, C., Bolinches, J., Barja, J. L., y Toranzo, A. E. 1988. Inhibitory activity of antibiotic-producing marine bacteria against fish pathogens. *Journal of Applied Bacteriology*, 65(2), 97-101.

- Eilenberg, J., Hajek, A. y Lomer, C. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, 46: 387-400.
- Esparza-Leal, H. M., Magallón-Barajas, F. J., Pérez-Enriquez, R., Casillas-Hernández, R., Cabanillas-Ramos, J. A., y Valenzuela-Quiñónez, W. 2012. Región endémica y regimenes de infección con el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV) en las granjas camaronícolas del Noroeste de México. *Ra Ximhai*, 8(3b).
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2017. Análisis e información comercial en pesquerías. La producción mundial de camarón se mantiene estancada o disminuye, (en línea). Disponible en: <http://www.fao.org/in-action/globefish/marketreports/resource-detail/es/c/880763/>
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2013. Report of the FAO/MARD Technical Workshop on Early Mortality Syndrome (EMS) or Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS) of Cultured Shrimp (under TCP/VIE/3304). *FAO Fisheries and Aquaculture Report No. 1053*, 54.
- Fast, A. W. y Lester, L. J. (Eds.). 2013. *Marine shrimp culture: principles and practices* (Vol. 23). Elsevier.
- Feichtmayer, J., Deng, L. y Griebler, C. 2017. Antagonistic microbial interactions: contributions and potential applications for controlling pathogens in the aquatic systems. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2192.
- Fernández-Piquer, J., Bowman, J.P., Ross, T. y Tamplin, M.L. 2011. Predictive models for the effect of storage temperature on *Vibrio parahaemolyticus* viability and counts of total viable bacteria in Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Applied and Environmental Microbiology*, 77:8687-8695.
- Flegel, T. W. 2012. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110(2), 166-173.
- Flegel, T. W., Lightner, D. V., Lo, C. F., y Owens, L. 2008. Shrimp disease control: past, present and future. Diseases in Asian Aquaculture VI. *Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines*, 355-378.

- França, L., Simões, C., Taborda, M., Diogo, C. y da Costa, M. S. 2015. Microbial contaminants of cord blood units identified by 16S rRNA sequencing and by API test system, and antibiotic sensitivity profiling. *PloS one*, 10(10), e0141152.
- García, F. E. P., Gordillo, O. L., Velázquez, G. R. y García, M. T. 2017. Crustáceos decápodos de la plataforma continental de la región Soconusco, Chiapas, México. *Lacandonia*, 4(2), 29-36.
- Gatesoupe, F.J. 1999. The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture* 180, 147–165.
- Geovanny, D.G.R., Balcázar, J.L. y Ma, S. 2007. Probiotics as control agents in aquaculture. *Journal of Ocean University of China* 6:76–79.
- Gibson, R. y Barker, P. L. 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanography and Marine Biology, an Annual Review*, 17: 285-346.
- Gillett, R. 2010. Estudio mundial sobre las pesquerías del camarón. *FAO Documento Técnico de Pesca. No. 475*, 386p.
- Girija, V., Malaikozhundan, B., Vaseeharan, B., Vijayakumar, S., Gobi, N., Herrera, M. D. V. y Santhanam, P. 2018. In vitro antagonistic activity and the protective effect of probiotic *Bacillus licheniformis* Dahb1 in zebrafish challenged with GFP tagged *Vibrio parahaemolyticus* Dahv2. *Microbial Pathogenesis*, 114, 274-280.
- Gómez, B., Roque, A., y Guerra Flores, A. L. 2001. Enfermedades infecciosas más comunes en la camaronicultura en México y el impacto del uso de antimicrobianos. *Camaronicultura y Medio Ambiente*, 315-346.
- Gómez, B., Roque, A., y Turnbull, J.F., 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture* 191, 259–270
- Gorse, F. y Colin, B. 2019. Device and method for dispensing a suspension of microorganisms. U.S. Patent No 10,301,665.
- Han, J.E., Tang, K.F., Tran, L.H., y Lightner, D.V. 2015. Photorhabdus insect-related (Pir) toxin-like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of

- acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 113:33-40.
- Hau, H. H. y Gralnick, J. A. 2007. Ecology and biotechnology of the genus *Shewanella*. *Annual Review of Microbiology*, 61, 237-258.
- Héchar, Y. y Sahl, H. G. 2002. Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram-positive bacteria. *Biochimie*, 84(5-6), 545-557.
- Heenatigala, P. P. M. y Fernando, M. U. L. 2016. Occurrence of bacteria species responsible for vibriosis in shrimp pond culture systems in Sri Lanka and assessment of the suitable control measures. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences*, 21(1).
- Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R. y Peterson, S. B. 2010. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature Reviews Microbiology*, 8(1), 15.
- Holmström, C., James, S., Neilan, B. A., White, D. C. y Kjelleberg, S. 1998. *Pseudoalteromonas tunicata* sp. nov., a bacterium that produces antifouling agents. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 48(4), 1205-1212.
- Hong, X., Lu, L., y Xu, D. 2016. Progress in research on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture International*, 24(2), 577-593.
- Huang, J., Sun, B. y Zhang, X. 2009. *Shewanella xiamenensis* sp. nov., isolated from coastal sea sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(7), 1585–1589.
- INVEMAR (Instituto de Investigaciones Marinas y costeras). 2005. Actualización y ajuste del diagnóstico y zonificación de los manglares de la zona costera del departamento del Atlántico, Caribe colombiano. Informe Final, (En línea). Disponible en: <https://www.oceandocs.org/handle/1834/6635>
- Iracheta-Villarreal, J. M. 2017. Actividad antagonista in vitro de microbiota de Bahía de Lobos y Bahía de Guásimas, Sonora y Playa del Carmen, Quintana Roo contra

Staphylococcus aureus y *Vibrio parahaemolyticus* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

- Irianto, A. y Austin, B. 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25, 633–642
- Jack, R. W., Tagg, J. R. y Ray, B. 1995. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiol. Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 59(2), 171-200.
- Jayasinghe, C. V. L., Ahmed, S. B. N. y Kariyawasam, M. G. I. U. 2010. The isolation and identification of *Vibrio* species in marine shrimps of Sri Lanka. *Journal of Food and Agriculture*, 1(1).
- Jenkins, C., Ling, C. L., Ciesielczuk, H. L., Lockwood, J., Hopkins, S., McHugh, T. D. y Kibbler, C. C. 2012. Detection and identification of bacteria in clinical samples by 16S rRNA gene sequencing: comparison of two different approaches in clinical practice. *Journal of Medical Microbiology*, 61(4), 483-488.
- Jiang, H. F., Liu, X. L., Chang, Y. Q., Liu, M. T. y Wang, G. X. 2013. Effects of dietary supplementation of probiotic *Shewanella colwelliana* WA64, *Shewanella olleyana* WA65 on the innate immunity and disease resistance of abalone, *Haliotis discus hannai* Ino. *Fish & Shellfish Immunology*, 35(1), 86-91.
- Jorgensen, J. H. y Turnidge, J. D. 2015. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. In *Manual of Clinical Microbiology*, Eleventh Edition. *American Society of Microbiology*, 1253-1273.
- Justo, S., Churasacari, T., Gonzales, M., Santiago, D., y Guerra, A. 2016. Determinación de géneros bacterianos en el mar de la playa Cantolao–La Punta–Callao. *Revista de Ciencias*, 10.
- Kang, H. y Ryoo, N. 2019. Identification of *Staphylococcus pettenkoferi* isolated from blood culture. *Annals of Clinical Microbiology*, 22(3), 77-79.
- Karami, S., Roayaei, M., Hamzavi, H., Bahmani, M., Hassanzad-Azar, H., Leila, M. y Rafieian-Kopaei, M. 2017. Isolation and identification of probiotic *Lactobacillus*

- from local dairy and evaluating their antagonistic effect on pathogens. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 7(3), 137.
- Kelecom, A. 2002. Secondary metabolites from marine microorganisms. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 74:151–170.
- Khalil, S. A., Abou-Akkada, A. S. y El-Hoshy, S. M. 2014. Molecular studies on vibrio species isolated from imported frozen fish. *Global Veterinaria*, 12(6), 782-789.
- Kim, M., Heo, S. R., Choi, S. H., Kwon, H., Park, J. S., Seong, M. W. y Kim, E. C. 2008. Comparison of the MicroScan, VITEK 2, and Crystal GP with 16S rRNA sequencing and MicroSeq 500 v2. 0 analysis for coagulase-negative *Staphylococci*. *BMC Microbiology*, 8(1), 233.
- Klein, G. L., Soum-Soutéra, E., Guede, Z., Bazire, A., Compère, C. y Dufour, A. 2011. The anti-biofilm activity secreted by a marine *Pseudoalteromonas* strain. *Biofouling*, 27(8), 931-940.
- Kloepper, J. 1996. Host specificity in microbe-microbe interactions. *BioScience*, 46 (6): 406-409.
- Kloepper, J. y Ryu, C., 2006. Bacterial endophytes as elicitors of induced systemic resistance. p. 33–52. En: Schulz, B., Boyle, C., Sieber, T.N. (Eds.). *Soil Biology, Microbial Root Endophytes*, Ed. Springer, United States, 387 p.
- Kokou, F., Makridis, P., Kentrouri, M. y Divanach, P., 2012. Antibacterial activity in Microalgae. *Aquaculture Research*, 43, 1520–1527.
- Kongrueng, J., Yingkajorn, M., Bunpa, S., Sermwittayawong, N., Singkhamanan, K. y Vuddhakul, V. 2015. Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease in southern Thailand. *Journal of Fish Diseases*, 38(11), 957-966.
- Kumar, P. S., Paulraj, M. G., Ignacimuthu, S., Al-Dhabi, N. A. y Sukumaran, D. 2017. *In vitro* antagonistic activity of soil *Streptomyces collinus* Dpr20 against bacterial pathogens. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 7(3), 317.

- Le, B., y Yang, S. H. 2018. Probiotic potential of novel *Lactobacillus* strains isolated from salted-fermented shrimp as antagonists for *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Microbiology*, 56(2), 138-144.
- Lee, K. K. 1995. Pathogenesis studies on *Vibrio alginolyticus* in the grouper, *Epinephelus malabaricus*, Bloch et Schneider. *Microbial pathogenesis*, 19(1), 39-48.
- Leobert, D., Cabillon, N. A. R., Catedral, D. D., Amar, E. C., Usero, R. C., Monotilla, W. D., y Saloma, C. P. 2015. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) outbreaks in *Penaeus vannamei* and *P. monodon* cultured in the Philippines. *Diseases of Aquatic Organisms*, 116(3), 251-254.
- León, J., Aponte, J. J., Cuadra, D., Galindo, N., Jaramillo, L., Vallejo, M., y Marguet, E. 2016. Actinomicetos aislados de *Argopecten purpuratus* productores de enzimas extracelulares y con actividad inhibitoria de patógenos marinos. *Revista de biología Marina y Oceanografía*, 51(1), 69-80.
- León, J., y García-Tello, P. 1998. Cepas nativas del bacterioneuston marino y su actividad inhibitoria de bacterias ictiopatógenas. *Revista Peruana de Biología*, 5(1), 047-064
- Lertcanawanichakul, M., y Sawangnop, S. 2011. A comparison of two methods used for measuring the antagonistic activity of *Bacillus* species. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 5(2), 161-171.
- Leyton Y, Borquez J, Darias J, Cueto M, Días A, Riquelme C. 2012. Diketoppiperazines produced by a *Bacillus* species inhibits *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 3: 144.
- Leyton, Y., Pohl, K., y Riquelme, C. 2014. Inhibición de la cepa patogénica de *Vibrio cholerae* (tor1) por *Bacillus pumilus* aislados del ambiente marino. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(3), 595-600.
- Li, Z., Xing, M., Wang, W., Wang, D., Zhu, J. y Sun, M. 2016. Phylogenetic diversity of culturable bacteria in surface seawater from the Drake Passage, Antarctica. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 34(5), 952-963.

- Lightner, D.V., Redman, R.M., Pantoja, C.R., Noble, B.L., Nunan, L.M., y Tran, L. 2013. Documentation of an emerging disease (early mortality syndrome) in SE Asia & Mexico. NACA, (En línea). Disponible en: http://www.enaca.org/publications/health/ahpnsterminalworkshop/Presentation%2002_LIGHTNER_Diagnostic%20studies.pdf.
- Lobos, Y. L. 2014. Identificación de productos extracelulares de dos bacterias marinas inhibidoras de *Vibrio parahaemolyticus* y evaluación del potencial uso de estos productos como control de este patógeno. Tesis doctoral, Universidad de Antofagasta, Chile.
- Long, R., D. Rowley, E. Zamora, J. Liu, D. Bartlett, y F. Azam. 2005. Antagonistic interactions among marine bacteria impede the proliferation of *Vibrio cholerae*. *Applied and Environmental Microbiology* 71:8531–8536.
- López-Vila, J. M., Schmitter-Soto, J. J., Velázquez-Velázquez, E., Barba-Macías, E. y Salgado-Ugarte, I. H. 2019. Young does not mean unstable: a trophic model for an estuarine lagoon system in the Southern Mexican Pacific. *Hydrobiologia*, 827(1), 225-246.
- Macrogen Inc: Humanizing Genomics. 2018. (en línea). Disponible en: <https://dna.macrogen.com/eng/member/login.jsp>
- Makino, K., Oshima, K. y Kurokawa, K. 2003. Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: a pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholera*. *The Lancet*. 9359: 743-749.
- Makridis, P., Martins, S., Reis, J. y Dinis, M. T. 2008. Use of probiotic bacteria in the rearing of *Senegalese sole* (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture Research*, 39(6), 627-634.
- Mannaa, M., Oh, J. Y. y Kim, K. D. 2017. Microbe-mediated control of *Aspergillus flavus* in stored rice grains with a focus on aflatoxin inhibition and biodegradation. *Annals of Applied Biology*, 171(3), 376-392.

- Marchesi, J. R., Sato, T., Weightman, A. J., Martin, T. A., Fry, J. C., Hiom, S. J. y Wade, W. G. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(2), 795-799.
- Marshall, R. T. (1992). Standard methods for the examination of dairy products. *American Public Health Association*.
- Martin, G., Rubin, N., y Swanson, E. 2004. *Vibrio parahaemolyticus* and *V. harveyi* cause detachment of the epithelium from the midgut trunk of the penaeid shrimp *Sicyonia ingentis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, Vol. 60: 21–29.
- Martínez-Cordero, F. J., Sánchez-Zazueta, E., Aguilar Medina, V., y Pérez Enríquez, R. 2015. Eficiencia técnica y ambiental de la camaronicultura en Nayarit aplicando el índice de Malmquist. *Estudios Sociales (Hermosillo, Son.)*, 23(45), 237-260.
- Martínez-Córdova, L. R., Martínez Porchas, M., y Cortés-Jacinto, E. 2009. Camaronicultura mexicana y mundial: ¿actividad sustentable o industria contaminante? *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 25(3), 181-196.
- Matsuyama, H., Sawazaki, K., Minami, H., Kasahara, H., Horikawa, K. y Yumoto, I. 2014. *Pseudoalteromonas shioyasakiensis* sp. nov., a marine polysaccharide-producing bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(1), 101-106.
- Mechergui, A., Achour, W. y Hassen, A. B. 2014. Comparison of 16S rRNA sequencing with biochemical testing for species-level identification of clinical isolates of *Neisseria* spp. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(8), 2181-2188.
- Melo, L. M. R. D., Almeida, D., Hofer, E., Reis, C. M. F. D., Theophilo, G.N.D., Santos, A.F.D.M. y Vieira, R.H.S.D.F. 2011. Antibiotic resistance of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from pondreared *Litopenaeus vannamei* marketed in Natal, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42(4), 1463-1469.

- Millar, B. C., Xu, J. y Moore, J. E. 2007. Molecular diagnostics of medically important bacterial infections. *Molecular Diagnostics: Current Technology and Applications*, 9(1), 21-39.
- Mitra, S., Sana, B. y Mukherjee, J. 2014. Ecological roles and biotechnological applications of marine and intertidal microbial biofilms. *Productive Biofilms* (pp. 163-205). Springer, Cham.
- Miyoshi, S. I. 2013. Extracellular proteolytic enzymes produced by human pathogenic *Vibrio* species. *Frontiers in Microbiology*, 4, 339.
- Mohamad, N. I., How, K. Y., Yin, W. F. y Chan, K. G. 2017. Whole-genome Sequencing of *Vibrio sinaloensis* T47, a Tropical Marine Isolate with Quorum Sensing Properties. *Journal of Genomics*, 5, 48.
- Montieri, S., Suffredini, E., Ciccozzi, M. y Croci, L. 2010. Phylogenetic and evolutionary analysis of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* isolates based on *toxR* gene sequence. *New Microbiologica*, 33(4), 359-372.
- Morales, V. y Cuéllar-Ángel (eds). 2008. Guía técnica- “Patología e inmunología de camarones peneidos”. Programa CYTED Red II-D Vannamei, Panamá, Rep de Panamá.
- Morales-Covarrubias, M.S. 2004. Enfermedades del camarón: detección mediante análisis en fresco e histopatología. Editorial Trillas. México, D.F.
- Morohoshi, T., Ebata, A., Nakazawa, S., Kato, N. y Ikeda, T. 2005. N-acyl homoserine lactone-producing or-degrading bacteria isolated from the intestinal microbial flora of ayu fish (*Plecoglossus altivelis*). *Microbes and Environments*, 20(4), 264-268.
- Moyes, R. B., Reynolds, J. y Breakwell, D. P. 2009. Differential staining of bacteria: gram stain. *Current Protocols in Microbiology*, 15(1), A-3C.
- NACA (Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific). 2018. Adaptative learning in sustainable aquaculture: Best practices for small-scale shrimp farmers in Thailand. *Aquaculture Asia Magazine*, 22(2), 27-34.

- NACA (Network of Aquacultures Centres in Asia-Pacific). 2012. Asia-Pacific emergency regional consultation on the emerging shrimp disease: early mortality syndrome (EMS) / Acute hepatopancreatic necrosis syndrome (AHPNS). Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Bangkok, THA. (En línea), Disponible en: <https://enaca.org/?id=719>
- Nayak, S., Limsuwan, C., Chichurd, N., Kühlmann, K. J. y Pungpang, S. 2017. Antimicrobial activity of partially characterized analytes from *Bacillus pumilus* (B2). *Aquaculture Research*, 48(11), 5606-5613.
- NCBI, National Center for Biotechnology Information. 2019. U.S. National Library of Medicine. (En línea). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Nelapati, S., Nelapati, K., y Chinnam, B. K. 2012. *Vibrio parahaemolyticus*-An emerging foodborne pathogen-A Review. *Veterinary World*, 5, 48-62.
- Nunan, L., Lightner, D.V., Pantoja, C.R., y Gomez-Jimenez, S. 2014. Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. *Diseases of Aquatic Organisms*, 111:81-86.
- Oderiz, S., Palau, M. J., Del Palacio, P., Lewis, M. C., Bettioli, M. P., Martina, P. y Gatti, B. M. 2011. Evaluación de los sistemas comerciales automatizados VITEC 2 y API 20NE para la identificación de organismos del complejo *Burkholderia cepacia* aislados de muestras clínicas. *Revista Argentina de Microbiología*, 43(3), 168-175.
- Owen, R. J., Legros, R. M. y Lapage, S. P. 1978. Base composition, size and sequence similarities of genome deoxyribonucleic acids from clinical isolates of *Pseudomonas putrefaciens*. *Microbiology*, 104(1), 127-138.
- Páez-Osuna, F. 2001. The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects, and mitigating alternatives. *Environmental Management*, 28(1), 131-140.
- Páez-Osuna, F. 2005. Retos y perspectivas de la camaronicultura en la zona costera. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 1(21-31).
- Pal, K. K. y McSpadden, B. 2006. Biological control of plant pathogens. *The Plant Health*.

- Pantoja, C., y Lightner, D.V. 2014. EMS/AHPND descripción de la enfermedad en Asia y América. En: V. Morales, y J. Cuéllar-Ángel, editores, Patología e inmunología de camarones penaeidos. Guía técnica. 2da ed. OIRSA (Organización Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria), PAN. p. 172-177.
- Parada, R. B., Marguet, E. R., y Vallejo, M. 2017. Aislamiento y caracterización parcial de actinomicetos de suelos con actividad antimicrobiana contra bacterias multidrogo-resistentes. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 19(2), 17-23.
- Parés, R. y Juárez, A. 1997. Bioquímica de los microorganismos. Editorial Reverté. Barcelona, España, p.380.
- Pham, C. T. 2006. Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 6(7), 541.
- Planas, M., Pérez-Lorenzo, M., Hjelm, M., Gram, L., Fiksdal, I.U., Bergh, Ø. y Pintado, J. 2006. Probiotic effect in vivo of *Roseobacter* strain 27-4 against *Vibrio (Listonella) anguillarum* infections in turbot (*Scophthalmus maximus L.*) larvae. *Aquaculture*. 255:323–333.
- Polz, M. F., Hunt, D. E., Preheim, S. P. y Weinreich, D. M. 2006. Patterns and mechanisms of genetic and phenotypic differentiation in marine microbes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 361, 2009–2021.
- Porras, L. M. M., Moreno-Herrera, C. X., Triana-Chavez, O. y Cadavid-Restrepo, G. E. 2016. Actividad antimicrobiana de bacterias intestinales asociadas a insectos vectores de la enfermedad de chagas en Colombia. Producción técnica- Presentación de trabajo-Ponencia. Universidad Nacional de Colombia.
- Prakash, O., Nimonkar, Y., Chavadar, M. S., Bharti, N., Pawar, S., Sharma, A. y Shouche, Y. S. 2017. Optimization of Nutrients and Culture Conditions for Alkaline Protease Production Using Two Endophytic Micrococci: *Micrococcus aloeverae* and *Micrococcus yunnanensis*. *Indian Journal of Microbiology*, 57(2), 218-225.

- Preheim, S. P., Boucher, Y., Wildschutte, H., David, L. A., Veneziano, D., Alm, E. J. y Polz, M. F. 2011. Metapopulation structure of Vibrionaceae among coastal marine invertebrates. *Environmental Microbiology*, 13, 265–275.
- Prieto, A y Rodríguez, M. C. 1993. “Diagnóstico y control de enfermedades bacterianas en camarón de cultivo”. FAO. México., D.F.
- Puente, E. O. R., Murillo-Amador, B., Ortega-García, J., Preciado, P. R., Garibay, A. N., Peña, R. J. H. y Corral, F. J. W. 2017. Natural development of the halophyte salicornia *bigelovii* (tor.) In coastal area of sonora state. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(1).
- Reid, G., Sanders, M.E., Gaskins, H.R., Gibson, G.R., Mercenier, A., Rastall, R.A., Roberfroid, M.B., Rowland, I., Cherbut, C. y Klaenhammer, T.R., 2003. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 37, 105–118.
- Richards, G.P., Watson, M.A., Needleman, D.S., Uknalis, J., Boyd, E.F. y Fay, J.P. 2017. Mechanisms for *Pseudoalteromonas piscicida* induced killing of *Vibrios* and other bacterial pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 83, e00175-17.
- Riley, M. A. y Chavan, M. A. 2007. Bacteriocins. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. (En línea). Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/bfm%3A978-3-540-36604-1%2F1.pdf>
- Rocha, L. L., Colares, G. B., Nogueira, V. L., Paes, F. A. y Melo, V. M. 2016. Distinct habitats select particular bacterial communities in mangrove sediments. *International Journal of Microbiology*, 2016.
- Rogers, H. A., Taylor, S. S., Hawke, J. P. y Lively, J. A. A. 2015. Variations in prevalence of viral, bacterial, and rhizocephalan diseases and parasites of the blue crab (*Callinectes sapidus*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 127, 54-62.
- Rojas-Domínguez, M., Ramírez-Bautista, A., Vaca-Paniagua, F., Díaz-Velásquez, C., Ávila-Rodríguez, V., Valenzuela-Núñez, L. M. y Meza-Herrera, C. A. 2019. Microbiota bacteriano oral de la tortuga del bolsón *Gopherus flavomarginatus* en

la Reserva de la Biosfera Mapimí, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90.

Roopnarine, P. D., Signorelli, J. y Laumer, C. 2008. Systematic, biogeographic and microhabitat-based morphometric variation of the bivalve *Anomalocardia squamosa* (Bivalvia: Veneridae: Chioninae) in Thailand. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 18, 95-102.

Rosas, R. E. A., Ballesteros, L. C., Espinoza, P. A., Cuéllar, M. G. S., y Martínez, P. D. J. S. 2013. La camaronicultura en el Estado de Sonora, México: Desde el punto de vista administrativo y productivo. *ISSN 2168-0612 FLASH DRIVE ISSN 1941-9589 ONLINE*, 1096.

Rosenfeld, W.D., y Zobell, C.E. 1947. Antibiotic production by marine microorganisms. *Journal of Bacteriology* 54:393–398.

SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2017. *Aumenta producción de camarón 65.5 por ciento en cuatro años*, (en línea). Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/bajacaliforniasur/boletines/2017/abril/Documentos/2017BS127.pdf>

Sánchez, A., Mendoza-Cano, F., Enríquez-Espinoza, T., Encinas-García, T., Portillo-Clark, G. y Grijalva-Chon, M. 2014. Síndrome de mortalidad temprana del camarón, ¿presente en México? *Ciencia y Desarrollo*, (En línea). Disponible en: [www.cyd.conacyt.gob.mx/269/articulos/sindrome-mortalidad temprana camaron.html](http://www.cyd.conacyt.gob.mx/269/articulos/sindrome-mortalidad-temprana-camaron.html)

Sánchez, E. R., Bautista, M. Á. M., Pech, M. S. y Ramírez, A. R. 2011. Aislamiento de Cepas Nativas de *Bacillus* spp. y su Actividad Antagónica en Hongos Fitopatógenos. En *XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*.

Sánchez, T., León, J., Woolcott, J. y Arauco, K. 2004. Proteasas extracelulares producidas por bacterias marinas aisladas de aguas contaminadas con efluentes pesqueros. *Revista Peruana de Biología*, 11(2), 179-186.

- Santana, V. y Rolando, E. 2015. Caracterización microbiológica de bacterias marinas recuperadas en sistema de producción comerciales de postlarvas (*Litopenaeus vannamei*), Mar Bravo-Santa Elena (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena).
- Saviano, A. M. y Lourenço, F. R. 2018. Measurement uncertainty estimation based on multiple regression analysis (MRA) and Monte Carlo (MC) simulations—Application to agar diffusion method. *Measurement*, 115, 269-278.
- Shrimp Culture. 2010. *Morphology, anatomy, and physiology of white shrimp*, (en línea). Disponible en: <http://shrimp-culture.blogspot.mx/2010/09/morphology-anatomy-and-physiology-of.html#more> (Consultada el 22 de junio de 2018).
- Sirikharin, R., Taengchaiyaphum, S., Sanguanrut, P., Chi, T.D., Mavichak, R., Proespraiwong, P., Nuangsaeng, B., Thitamadee S., Flegel, T.W. y Sritunyalucksana, K. 2015. Characterization and PCR detection of binary, Pir-like toxins from *Vibrio parahaemolyticus* isolates that cause acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. *PloS one*, 10(5).
- Skerratt, J. H., Bowman, J. P. y Nichols, P. D. 2002. *Shewanella olleyana* sp. nov., a marine species isolated from a temperate estuary which produces high levels of polyunsaturated fatty acids. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2101-2106.
- Soto, S., Gomez-Gil, B., y Lozano, R. 2010. 'Bright-red' syndrome in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* is caused by *Vibrio harveyi*. *Diseases of Aquatic Organisms*, Vol. 92: 11–19.
- Soto-Rodríguez, S. A., Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., Betancourt-Lozano, M. y Morales-Covarrubias, M. S. 2015. Field and experimental evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease of cultured shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(5), 1689-1699.

- Sousa, A. M., Machado, I., Nicolau, A. y Pereira, M. O. 2013. Improvements on colony morphology identification towards bacterial profiling. *Journal of Microbiological Methods*, 95(3), 327-335.
- Spalding, M. D., Fox, H. E., Allen, G. R., Davidson, N., Ferdaña, Z. A., Finlayson, M. A. X., y Martin, K. D. 2007. Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *AIBS Bulletin*, 57(7), 573-583.
- Sriurairatana, S., Boonyawiwat, V., Gangnonngiw, W., Laosutthipong, C., Hiranchan, J. y Flegel, T.W. 2014. White feces syndrome of shrimp arises from transformation, sloughing and aggregation of hepatopancreatic microvilli into vermiform bodies superficially resembling gregarines. *PloS one*, 9(6).
- Stelling, M. P., de Bento, A. A., Caloba, P., Vilanova, E. y Pavão, M. S. 2019. Methods for Isolation and Characterization of Sulfated Glycosaminoglycans from Marine Invertebrates. *The Extracellular Matrix*, 55-70.
- Su, C. Y. y Liu, C. 2007. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety. *Research in Microbiology*, Elsevier. 24, 549–558.
- Suárez, M. G., Medina, Z., Montiel, M., Ibarra, J. y Salcedo, A. 2015. Distribución de *Vibrio* spp. en agua y sedimento de estanques productores de camarón *Litopenaeus vannamei* cultivados con agua del lago de Maracaibo (Venezuela). *Revista Científica*, 25(4), 293-299.
- Sucharitha, V. y Jyothi, S. 2013. An Identification of Penaeid Prawn Species Based on Histogram Values. *International Journal of Advanced Research in Computer Science and Software Engineering*, 3(7).
- Sukovich, D. J., Seffernick, J. L., Richman, J. E., Hunt, K. A., Gralnick, J. A. y Wackett, L. P. 2010. Structure, function, and insights into the biosynthesis of a head-to-head hydrocarbon in *Shewanella oneidensis* strain MR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(12), 3842-3849.
- Takeuchi, M., Fang, C. X. y Yokota, A. 1995. Taxonomic Study of the Genus *Brachy bacterium*: Proposal of *Brachy bacterium conglomeratum* sp. nov., nom. rev.,

- Brachy bacterium paraconglomeratum* sp. nov., and *Brachy bacterium rhamnosum* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 45(1), 160-168.
- Téllez, M. 2016. El cultivo de camarón en México, un negocio sustentable. *El Economista*, 17:17.
- Thevarajoo, S., Selvaratnam, C., Goh, K. M., Manan, F. A., Ibrahim, Z. y Chong, C. S. 2015. Isolation and characterization of biotechnology relevant bacteria from marine environment. *Jurnal Teknologi*, 77(31).
- Thompson, J. R., Pacocha, S., Pharino, C., Klepac-Ceraj, V., Hunt, D. E., Benoit, J. y Polz, M. F. 2005. Genotypic diversity within a natural coastal bacterio plankton population. *Science*, 307, 1311–1313
- Torres, V. G. L., y Méndez, D. A. S. 2018. Análisis de la cadena de suministro de la acuicultura de camarón en Baja California. *Red Internacional de Investigadores en Competitividad*, 8(1).
- Touraki, M., Karamanlidou, G., Karavida, P. y Chrysi, K. 2012. Evaluation of the probiotics *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus plantarum* bioencapsulated in *Artemia nauplii* against vibriosis in European sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*, L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28:2425–2433.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R.M., Mohny, L.L., Pantoja, C.R., Fitzsimmons, K. y Lightner, D.V. 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105:45-55.
- Trujillo, T., Aguirre-Guzmán, G., Sánchez, G., y Rabago-Castro, J. 2005. Patogenicidad de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio* sp. en juveniles de camarón blanco del pacífico (*Litopenaeus vannamei* Bonne, 1931). *Revista Ciencia y Mar*. 27
- Turick, C. E., Tisa, L. S. y Caccavo Jr, F. 2002. Melanin production and use as a soluble electron shuttle for Fe (III) oxide reduction and as a terminal electron acceptor by

- Shewanella algae BrY. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(5), 2436-2444.
- Uprety, S., Hong, P. Y., Sadik, N., Dangol, B., Adhikari, R., Jutla, A. y Nguyen, T. H. 2017. The effect of the 2015 earthquake on the bacterial community compositions in water in Nepal. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2380.
- Varela, A. 2007. "Manual para la interpretación de resultados de laboratorio". Alicorp, Publicis-Asociados, Perú.
- Varela, A. y Peña, N. 2013. "El Virus del Síndrome de las Manchas Blancas (WSSV): una revisión y su impacto en la camaronicultura costarricense". Revista Ciencias Veterinarias. Escuela de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Costa Rica. 28, N° 2, [51-69].
- Varela, A. y Peña, N. 2014. "Fluctuaciones térmicas y su relación con el Virus del Síndrome de las Manchas en *Litopenaeus vannamei* cultivado en el Golfo de Nicoya" *Revista UTN Informa*, N°68, Universidad Técnica Nacional. Costa Rica.
- Velho-Pereira, S. y Kamat, N. M. 2011. Antimicrobial screening of actinobacteria using a modified cross-streak method. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 73(2), 223.
- Velmurugan S., Raman K., Thanga V., Viji M.B.S., Donio J., Adlin J., Babu M.M., y Citarasu T. 2013. Screening and characterization of antimicrobial secondary metabolites from *Halomonas salifodinae* MPM-TC and it's *in vivo* antiviral influence on Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus* against WSSV challenge. *Journal of King Saud University-Science*. 25: 181-190.
- Verma, P., Pandey, P. K., Gupta, A. K., Kim, H. J., Baik, K. S., Seong, C. N. y Shouche, Y. S. 2011. *Shewanella indica* sp. nov., isolated from sediment of the Arabian Sea. *International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(9), 2058-2064.
- Vithanage, N. R., Yeager, T. R., Jadhav, S. R., Palombo, E. A. y Datta, N. 2014. Comparison of identification systems for psychrotrophic bacteria isolated from raw bovine milk. *International Journal of Food Microbiology*, 189, 26-38.

- Vogt, G., Storch, V., Quintio, E. T. y Pascual, F. P. 1985. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda). *Aquaculture*, 48(1), 1-12.
- Wang, F., Wang, P., Chen, M. y Xiao, X. 2004. Isolation of extremophiles with the detection and retrieval of *Shewanella* strains in deep-sea sediments from the west Pacific. *Extremophiles*, 8(2), 165–168.
- Wang, H., Wang, C., Tang, Y., Sun, B., Huang, J. y Song, X. 2018. *Pseudoalteromonas* probiotics as potential biocontrol agents improve the survival of *Penaeus vannamei* challenged with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)-causing *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, 494, 30-36.
- Weber, T., Blin, K., Duddela, S., Krug, D., Kim, H. U., Brucoleri, R. y Medema, M. H. 2015. antiSMASH 3.0-a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters. *Nucleic Acids Research*, 43, W237–W243.
- Weiner, R. 1989. Effect of biofilms of the marine bacterium *Alteromonas colwelliana* (LST) on set of the oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) and *C. virginica* (Gmelin, 1791). *Journal of Shellfish Research*, 8, 117-123.
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Teng, J. L. L., Tse, H. y Yuen, K. Y. 2008. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(10), 908-934.
- Wootton, B., Mahaffey, K.P. y Wyatt, T. M. 2016. *System and Method for a Scanning API*. U.S. Patent No 9,235,704.
- Wu, Y.N., Wen, J., Ma, Y., Ma, X.C. y Chen, Y. 2014. Epidemiology of food borne disease outbreaks caused by *Vibrio parahaemolyticus*, China, 2003–2008. *Food Control*. 46:197–202.
- Xu, H.M., Rong, Y.J., Zhao, M.X., Song, B. y Chi, Z.M. 2014. Antibacterial activity of the lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* M1 against multidrug-

- resistant *Vibrio* spp. isolated from diseased marine animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98:127- 136.
- Xue, M., Liang, H., He, Y. y Wen, C. 2016. Characterization and *in-vivo* evaluation of potential probiotics of the bacterial flora within the water column of a healthy shrimp larviculture system. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 34(3), 484-491.
- Yiagnisis, M. y Athanassopoulou, F. 2011. Bacteria isolated from diseased wild and farmed marine fish in Greece. *Recent Advances in Fish Farms*, 27(2), 61-69.
- Yozukmaz, A., Yabanli, M. y Sel, F. 2018. Heavy metal bioaccumulation in *Enteromorpha intestinalis*, (L.) Nees, a macrophytic algae: the example of Kadin Creek (Western Anatolia). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61.
- Yu, M., Tang, K.H., Liu, J.W., Shi, X.C., Gulder, T.A.M. y Zhang, X.H., 2013. Genome analysis of *Pseudoalteromonas flavipulchra* JG1 reveals various survival advantages in marine environment. *BMC Genomics* 14, 707.
- Yu, W.T., Jong, K.J., Lin, Y.R., Tsai, S.E., Tey, Y.H. y Wong, H.C. 2013. Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in oyster and clam culturing environments in Taiwan. *International Journal of Food Microbiology*, 160:185–192.
- Zadeh, S. S., Saad, C. R., Christianus, A., Kamarudin, M. S., Sijam, K., Shamsudin, M. N. y Neela, V. K. 2010. Assessment of growth condition for a candidate probiotic, *Shewanella algae*, isolated from digestive system of a healthy juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture International*, 18(6), 1017-1026.
- Zapata, M., Silva, S., Luza, Y., Wilkens, M, y Riquelme, C. 2007. The inhibitory effect of biofilms produced by wild bacterial isolates to the larval settlement of the fouling ascidia *Ciona intestinalis* and *Pyura praeputialis*. *Electronic Journal of Biotechnology* 10:149–159.
- Zarei, M., Borujeni, M.P., Jamnejad, A., Khezzadeh, M. 2012. Seasonal prevalence of *Vibrio* species in retail shrimps with an emphasis on *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control*. 25:107– 109.

- Zhang, L., y Orth, K. 2013. Virulence determinants for *Vibrio parahaemolyticus* infection. *Current Opinion in Microbiology*, 16, 70–77.
- Zhang, Y., Mu, J., Gu, X., Zhao, C., Wang, X. y Xie, Z. 2009. A marine sulfate-reducing bacterium producing multiple antibiotics: Biological and chemical investigation. *Marine Drugs* 7:341–354.
- Zokaeifar, H., Balcázar, J.L., Saad, C.R., Kamarudin, M.S., Sijam, K., Arshad, A. y Nejat, N. 2012. Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.* 33:683–689.
- Zorriehzahra, M. J. y Banaederakhshan, R. 2015. Early mortality syndrome (EMS) as new emerging threat in shrimp industry. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Gabriel Enrique Cázares Jaramillo

Candidato para el Grado de
Maestría en Ciencias con Orientación en Microbiología

Tesis: EVALUACIÓN ANTAGONISTA *IN VITRO* DE BACTERIAS AISLADAS DE ECOSISTEMAS MARINOS EN CONTRA DE *Vibrio parahaemolyticus* AHPND COMO PATÓGENO DE IMPORTANCIA ACUÍCOLA

Campo de estudio: Microbiología, Biotecnología acuícola.

Datos personales: Nacido en la Ciudad de Chihuahua, Chihuahua el 28 de mayo de 1994, hijo de Etel Jaramillo Torres y Luis Enrique Cázares Orozco.

Educación: Egresado de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua, grado obtenido, Químico Bacteriólogo Parasitólogo en 2017, Segundo lugar en la generación.

Experiencia profesional: Auxiliar en la Brigada de Cuidado y Protección Ambiental en conjunto con el antirrábico de la ciudad de Chihuahua en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH), en el periodo febrero 2016-agosto 2016. Ayudante en el Laboratorio de Microbiología 2 de la Facultad de Ciencias Químicas en la UACH. Responsable de cepario microbiológico del Laboratorio de Microbiología 1 y 2 en la misma institución, dentro de los periodos agosto 2016- agosto 2017. Auxiliar en el Departamento de Manejo de Producto en la Planta Sigma Alimentos en la Ciudad de Chihuahua en el periodo de septiembre-diciembre 2017. Auxiliar no docente en la Materia de Tópicos en Parasitología Clínica desde 2018 en la Universidad Autónoma de Nuevo León.