



Universidad de Concepción

Dirección de Postgrado

Facultad de Ciencias Biológicas - Magíster en Ciencias, mención Microbiología

**Efecto inhibitorio de biopelículas de *Pseudomonas fluorescens* FF48 en la formación de biopelículas de *Flavobacterium psychrophilum*.**

JOSE MIGUEL VIDAL ARAYA

CONCEPCIÓN-CHILE

2013

Profesor Guía: Homero Urrutia Briones

Dpto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas

Universidad de Concepción

## RESUMEN

*Flavobacterium psychrophilum*, es una bacteria Gram negativa aerobia, y es el agente etiológico de la “Enfermedad de las aguas frías” que afecta a los salmónidos. Esta especie bacteriana han sido considerada uno de los patógenos de salmónidos más importantes a nivel mundial debido a las pérdidas económicas causadas a esta industria. El control de esta enfermedad se basa principalmente en el uso de antibióticos. Sin embargo, la resistencia mostrada por cepas de *F. psychrophilum*, y el hecho que estos compuestos no tienen el mismo efecto en biopelículas de este patógeno, ha incrementado el interés por alternativas basadas en el control biológico, explotando el antagonismo que ejercen determinados microorganismos, especialmente del género *Pseudomonas* contra *F. psychrophilum*. Por lo cual, en este trabajo se estudió la formación de biopelículas de *F. psychrophilum* en el sistema estándar de formación de biopelículas *CDC biofilm reactor*, en presencia de biopelículas de la cepa antagonista de crecimiento *Pseudomonas fluorescens* FF48.

Se trabajó con la bacteria aislada desde piscicultura *P. fluorescens* FF48, a la cual se le evaluó la actividad antagonista de su sobrenadante contra el crecimiento planctónico de *F. psychrophilum*. Además se determinó la influencia del hierro III en la actividad antagonista del sobrenadante, adicionando al medio de cultivo 200  $\mu\text{M}$  de  $\text{FeCl}_3$ . Posteriormente se evaluó la formación de biopelículas de *F. psychrophilum* en distintos materiales (acero inoxidable, poliestireno, poliuretano y policarbonato) mediante microscopía de epifluorescencia con tinción DAPI y visualización por microscopía electrónica de barrido y confocal, y se realizaron curvas de formación de biopelícula mixta antagonista-patógeno en distintas condiciones de cultivo, sobre soporte de acero inoxidable en el reactor. La cuantificación de cada especie se realizó mediante qPCR.

El sobrenadante de *P. fluorescens* FF48 mostró una inhibición en el crecimiento de *F. psychrophilum* aún diluido 8 veces, y al adicionar  $\text{FeCl}_3$  al medio de cultivo no se observó actividad inhibitoria. El soporte que mostró mayor formación de biopelículas

de *F. psychrophilum* fue el acero inoxidable. En el ensayo de biopelículas mixtas, se observó la inhibición completa de la formación de biopelículas de *F. psychrophilum* cuando el antagonista fue depositado previamente, pero al inocular ambas bacterias simultáneamente, se observó solamente un retardo en la formación de biopelículas del patógeno.

La bacteria antagonista es capaz de inhibir la fase planctónica de *F. psychrophilum* mediante compuestos con alta afinidad al hierro y además la formación de biopelículas cuando el antagonista es depositado previamente como una biopelícula sobre el soporte.

Los resultados de este trabajo sugieren el potencial uso de la cepa *P. fluorescens* FF48 como un biocontrolador de *F. psychrophilum*, mediante la formación de biopelículas en sistemas de cultivos de peces, favoreciendo la liberación de compuestos antagónicos en el medio y previniendo la formación de biopelículas del patógeno.