

MOTILIDAD DE LAS BACTERIAS MARINAS DEL GÉNERO *VIBRIO**

Yael González Tinoco y Georges Dreyfus

Departamento de Genética Molecular, Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de México. Apdo. Postal 70-243, C.P. 04510,
Coyoacán, México, D.F. Correo E: ytinoco@email.ifc.unam.mx, ó gdreyfus@ifc.unam.mx

RESUMEN

El flagelo bacteriano es un organelo de locomoción ampliamente utilizado entre los organismos procariontes, constituye una ventaja adaptativa y es un factor muy importante tanto para la colonización de nichos como para la patogénesis. El flagelo es un heteromultímero formado por alrededor de 30 diferentes proteínas y está dividido en tres subestructuras: filamento, gancho y cuerpo basal. En este trabajo de revisión, describiremos la estructura, biogénesis y funcionamiento del flagelo de las bacterias marinas del género *Vibrio* y explicaremos cómo se desplazan en medio líquido haciendo uso del flagelo polar, cuya rotación está acoplada a un flujo de iones sodio (Na^+) y cómo algunas otras especies del género como *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* o *Vibrio shilonii*, son capaces de expresar, adicionalmente al desplazarse en medio sólido, un sistema de flagelos laterales cuya rotación está acoplada a un flujo de protones (H^+).

ABSTRACT

The bacterial flagellum is a locomotion organelle widely used by prokaryote organisms, it constitutes an adaptive advantage and is a very important colonization and pathogenesis factor. The flagellum is a heteromultimeric complex formed by nearly 30 different proteins and is divided in three substructures: the filament, the hook and the basal body. In this review, we will describe how the *Vibrio* marine bacteria move through liquid media by means of the polar flagellum, whose rotation is sodium (Na^+) driven and how some other species like *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* or *Vibrio shilonii* are able to express, additionally on solid media, a lateral flagella system whose rotation is proton (H^+) driven.

La locomoción es una característica ampliamente distribuida entre los organismos pertenecientes a los dominios *Bacteria* y *Archaea*, que les proporciona una clara ventaja para sobrevivir. Esta capacidad motil ha sido tema de estudio por mucho tiempo y está documentado que los microorganismos han desarrollado varias formas para desplazarse en un ambiente líquido, viscoso o sobre superficies (1). Una de estas formas de locomoción es el flagelo. El flagelo bacteriano es el organelo encargado de la motilidad de las células en su medio, es una estructura proteínica compleja y eficiente que participa también en procesos como la formación de biopelículas y la virulencia en es-

pecies patógenas (2). La motilidad celular o nado se basa en el movimiento rotatorio del filamento flagelar, que funciona como una hélice impulsando a la bacteria.

Los miembros del género *Vibrio* son bacterias Gram-negativas pertenecientes al grupo de las γ -proteobacterias, presentan forma de bacilo, no forman esporas y son motiles mediante un flagelo ubicado en uno de los polos del cuerpo celular; estos microorganismos son comunes en los ambientes marinos y estuarios. Se sabe que algunas especies del género como *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. cholerae* o *V. alginolyticus* son peligrosos patógenos causantes de gastroenteritis

PALABRAS

CLAVE:

Flagelo polar, motilidad, *Vibrio*, flagelos laterales, patogénesis.

KEY WORDS:

Polar flagellum, motility, *Vibrio*, lateral flagella, pathogenesis.

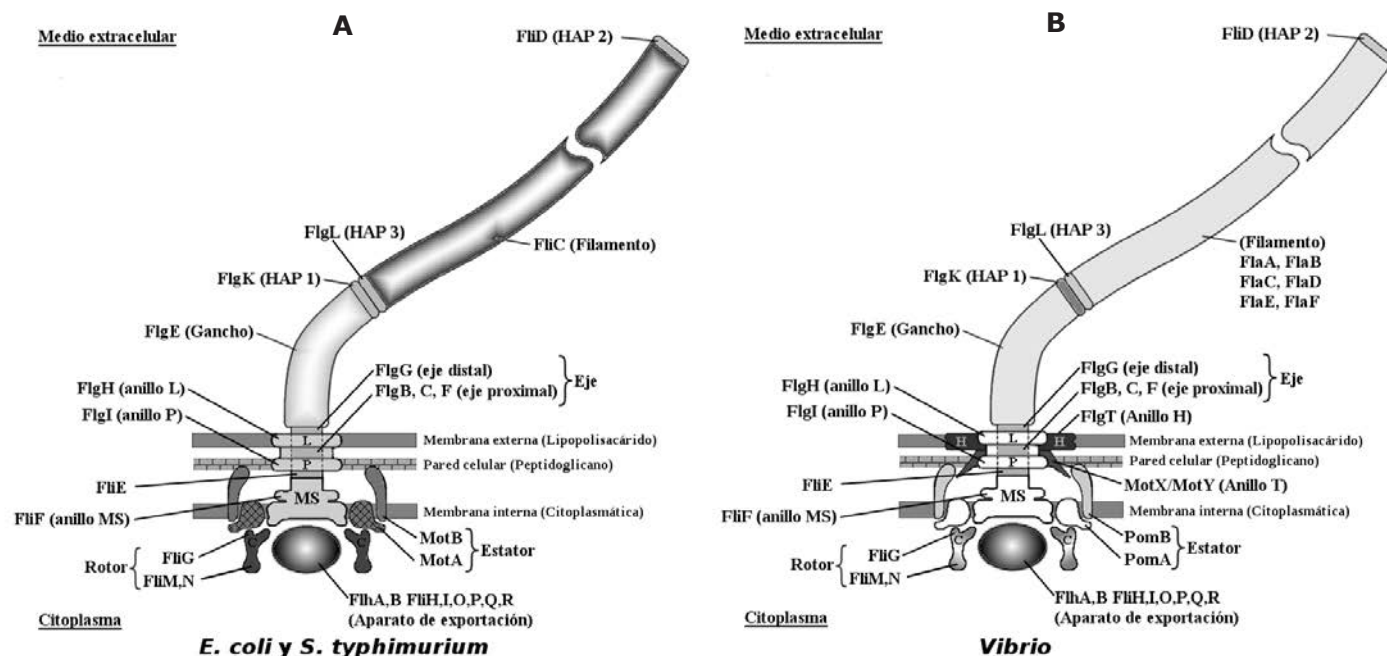


Figura 1. Esquema comparativo de la estructura del flagelo. En el panel A se muestra la estructura del flagelo de *E. coli* o *S. typhimurium*; en el panel B se muestra la estructura del flagelo polar en el género *Vibrio*. En ambos esquemas se observa la localización de las tres subestructuras principales del flagelo. El filamento constituido por las diferentes flagelinas (FlaA hasta FlaF) en el caso del género *Vibrio*, y por FliC en el caso de *E. coli* y *S. typhimurium*. El gancho formado por la proteína FlgE, es el intermediario flexible entre el filamento y el cuerpo basal. El filamento está unido al gancho mediante las proteínas accesorias HAP 1 y HAP 3; el extremo distal del filamento, está rematado por la proteína HAP 2, la cual está involucrada en la polimerización de las flagelinas y en la elongación del flagelo. El cuerpo basal está formado por los anillos MS, L y P los cuales proporcionan soporte a un eje. En la familia Vibrionaceae, las proteínas accesorias del motor de iones sodio (Na^+), MotX y MotY forman el anillo T (3) mientras que FlgT forma en anillo H (4). Asociados al anillo MS, en la parte inferior del cuerpo basal, están el anillo C o "switch" flagelar y el aparato de exportación.

y septicemia en humanos, esto debido al consumo de alimentos del mar crudos o mal cocinados. En estas bacterias el flagelo se considera como un factor de virulencia, debido a que participa de manera significativa en el proceso de invasión al hospedero; es por ello que el estudio del flagelo y la motilidad basada en este organelo, es importante para ayudar a comprender el curso de la patogénesis en este grupo de microorganismos (5).

Estructura del flagelo polar en la familia Vibrionaceae

Los sistemas flagelares más estudiados son los de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*; en estos modelos experimentales, el flagelo está formado por un filamento el cual está unido a la célula mediante una sección denominada gancho, a su vez, el gancho recibe la torca (fuerza de torsión o rotación) generada por un motor rotatorio. Este complejo proteínico atraviesa la membrana interna, la pared celular y la membrana externa

(Fig 1). Cabe mencionar que la ultra estructura básica del flagelo se ha descrito en varios trabajos mediante distintas técnicas de microscopía (6).

a) El Filamento. Esta es una estructura helicoidal de localización extracelular, de forma tubular, hueca, de entre 10 y 15 nm de diámetro por casi 4000 nm de largo y está construida a partir de monómeros de una proteína conocida como flagelina (FliC); cada filamento puede contener hasta 20,000 subunidades de flagelina. En las especies del género *Vibrio*, el filamento flagelar es un heteropolímero constituido por 4 a 6 diferentes flagelinas (FlaABCDEF); el número de estas flagelinas varía de acuerdo con la especie. Todas las flagelinas están presentes en el filamento de manera simultánea y algunas se hallan en mayor proporción que otras. El flagelo polar, en el género *Vibrio*, está recubierto por una membrana lipídica la cual se ha descrito como una extensión de la membrana celular externa. Esta cubierta incrementa el grosor del

flagelo polar en un 50%, llevándolo hasta un diámetro de 30 a 35 nm; la función de la cubierta flagelar no es del todo clara. El extremo distal del filamento de *Vibrio* está rematado por la proteína FlaH, también conocida como HAP 2 (por sus siglas en inglés "Hook Associated Protein"), la cual está involucrada en la polimerización de las flagelinas (5).

- b) El Gancho. Tanto en *E. coli* o *S. typhimurium* como en el género *Vibrio*, el gancho es una estructura que presenta una forma curva y su función es la de proporcionar una unión flexible entre el filamento y el cuerpo basal; el gancho está formado por monómeros de la proteína FlgE. El gancho y el filamento se encuentran unidos, mediante las proteínas FlgK (HAP 1) y FlgL (HAP 3) (7).
- c) El Cuerpo Basal. En *E. coli* o *S. typhimurium*, este es un complejo integrado por varios anillos que rodean y dan soporte a un eje. Los anillos se denominan de acuerdo a su asociación con las diferentes capas de la envoltura celular: el anillo MS recibe su nombre debido a que su región inferior se encuentra embebida en la membrana plasmática y la región que se encuentra mirando al periplasma es supramembranal; el anillo MS está constituido por la proteína FliF y actúa como base para el eje al cual está unido mediante la proteína adaptadora FliE. El anillo P se encuentra en el periplasma, su nombre deriva de la asociación que tiene con la pared celular de peptidoglicano; está conformado por la proteína FlgI. El anillo L es el más distal de los componentes del cuerpo basal, se halla embebido en la membrana de lipopolisacáridos o membrana externa (característica del grupo de las bacterias Gram-negativas) y FlgH es la proteína que lo constituye. Los anillos rodean y dan soporte a un eje cuya porción proximal (la más cercana al anillo MS) está formada por las proteínas FlgB, FlgC y FlgF. La porción distal del eje (la más alejada del anillo MS) sobre la cual se monta el gancho, está formada por la proteína FlgG. Dentro del género *Vibrio*, el cuerpo basal del flagelo polar cuenta con estructuras adicionales que no se hallan en el cuerpo basal descrito para *E. coli* o *S. typhimurium*: el anillo T y el anillo H. El anillo T, con su forma de media luna, se ubica bajo el anillo P en el espacio periplásmico y está formado por las proteínas MotX y MotY; el anillo T está involucrado en el reclutamiento de los complejos estatores PomAB en torno al rotor y posiblemente también en el rodamiento del eje (3). El anillo H, formado por la proteína FlgT, está situado en la porción distal del complejo en

la base del gancho. El anillo H está involucrado en la sujeción y estabilización del flagelo polar al cuerpo celular; en ausencia de FlgT, tanto el anillo H como el anillo T no se forman, el flagelo polar es incapaz de rotar y finalmente se desprende del cuerpo celular (4, 8).

De manera general, el cuerpo basal recibe el impulso del motor para transmitirlo al eje, al gancho y luego al filamento. El motor flagelar opera mediante un mecanismo rotatorio reversible y está dividido en dos secciones: el rotor y el estator. El rotor es una estructura en forma de campana llamada anillo C (por mirar hacia el citoplasma) el cual está unido de manera no covalente a la parte inferior del anillo MS y está conformado por las proteínas FliG, FliM y FliN. El anillo C es también conocido como el "switch" flagelar debido a que está asociado con el cambio de dirección en la rotación del filamento. El estator es el elemento fijo del motor y está formado por varios complejos de las proteínas transmembranales MotA y MotB (en *S. typhimurium* o *E. coli*), que rodean al anillo C; cada uno de estos complejos estatores, está conformado por cuatro subunidades de MotA y dos subunidades de MotB. Dentro del género *Vibrio*, el estator del flagelo polar está constituido por las proteínas homólogas PomA y PomB (por sus siglas en inglés "Polar flagellum motility"). Ambas proteínas interactúan entre sí para formar un complejo compuesto por cuatro subunidades de PomA y dos subunidades de PomB (7, 9).

Ubicado dentro del anillo C y en el centro del anillo MS, se encuentra un sistema de secreción tipo III también conocido como aparato de exportación flagelar. Este sistema tiene la función de translocar a los componentes axiales del flagelo (proteínas del eje, el gancho, las proteínas de unión HAP y las flagelinas del filamento), desde el citoplasma a través de la membrana interna, la pared celular y la membrana externa; el aparato de exportación flagelar está conformado por las proteínas transmembranales FlhA, FlhB, FliO, FliP, FliQ y FliR así como por los componentes citosólicos FliH, FliI y FliJ. Los componentes transmembranales forman la puerta de exportación dentro del anillo MS mediante la interacción de FlhA y FliF, mientras que los elementos citosólicos son requeridos para guiar a los componentes axiales del flagelo o sustratos, que serán translocados hacia la puerta de exportación y para facilitar su entrada inicial en el poro de la misma. La actividad de ATPasa de FliI es necesaria para liberar a los sustratos dentro de la puerta de exportación flagelar, FliH es un regulador negativo para la ATPasa FliI y FliJ es una chaperona general que

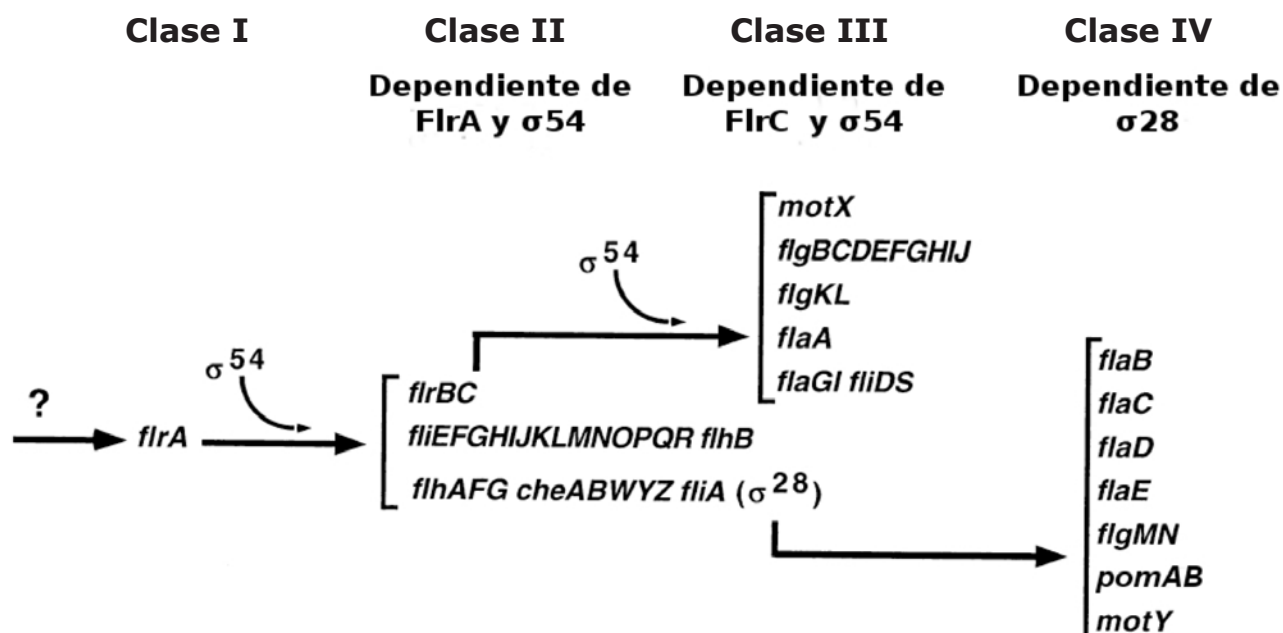


Figura 2. Ruta de biogénesis flagelar en las bacterias del género *Vibrio*. El ensamblaje del flagelo tiene una organización jerárquica bajo la cual la expresión y la producción de proteínas estructurales y reguladoras, están gobernadas por puntos de control de un modo tal que el ensamblaje de un segmento no puede iniciar sino hasta que el segmento previo ha sido concluido. La cascada inicia con la activación del gen de Clase I *flrA*; la activación de los genes de Clase II, que incluye a los genes que codifican para el aparato de exportación (*FlhAB*, *FliHIJOPQR*) y el anillo C (*FliGMN*), es dependiente de *FlrA* y el factor σ^{54} . A su vez la activación de los genes de Clase III, donde están los genes correspondientes al cuerpo basal, el gancho (*FlgE*) y parte del anillo T (*MotX*), es dependiente del producto de gen *flrC* y también del factor σ^{54} . Finalmente los genes de Clase IV son dependientes del factor σ^{28} , el cual a su vez es un gen de Clase II; en los genes de Clase IV se encuentran aquellos que codifican para las flagelinas (*FlaABCDEF*), las proteínas del estátor (*PomAB*). La imagen fue tomada y modificada de la referencia (10).

previene la agregación prematura de los sustratos flagelares próximos a ser exportados (11).

Ensamblaje y regulación de la biogénesis flagelar

Debido a que el ensamblaje y el funcionamiento del flagelo son costosos para la célula en términos energéticos, es necesario un control estricto de la biogénesis y de la actividad de este organelo. La biogénesis del flagelo polar tiene una organización jerárquica bajo la cual la expresión y la producción de proteínas estructurales y reguladoras, están gobernadas por puntos de control de un modo tal que el ensamblaje de un segmento no puede iniciar sino hasta que el segmento previo ha sido concluido. El flagelo se ensambla desde el interior de la células hacia el exterior, comenzando con el cuerpo basal, el anillo C y el aparato de exportación, después el gancho y finalmente el filamento; los complejos del estátor se ensamblan una vez que el cuerpo basal está completo. Los genes que participan en la construcción del flagelo en *S. typhimurium*, están ordenados de manera jerárquica en tres clases.

El operón maestro (*flhDC*) pertenece a la clase temprana que activa la expresión de los genes de clase media; en esta clase están los genes que codifican para los componentes del cuerpo basal, el gancho y el factor σ^{28} que controla la expresión de los genes de clase tardía. En esta última clase se encuentran los genes que codifican para el filamento y los complejos estatores; los genes que codifican para los complejos estatores se expresan al final de la cascada de biogénesis flagelar, debido a que es necesario que toda la estructura esté completa antes de poder comenzar a rotar. En esencia, el proceso de la biogénesis flagelar es el mismo en el género *Vibrio* pero con algunas diferencias. El flagelo polar de la familia *Vibrionaceae* requiere de dos factores de transcripción, la proteína RpoN (factor σ^{54}) para los genes tempranos y la proteína FliA (factor σ^{28}) para los genes tardíos. Los genes que participan en la biogénesis del flagelo polar están agrupados en cuatro clases (Fig 2). El proceso comienza con la transcripción del activador maestro de Clase I *flrA*, cuyo producto se une al factor de transcripción σ^{54} para activar los genes de la Clase II. Aunque las señales que inician la

transcripción del gen *flrA* aun no son del todo claras, se piensa que hay una relación entre el ciclo celular y la síntesis flagelar, esto debido a que el flagelo polar es constitutivo y está presente en todo momento durante la vida libre de la bacteria. Los genes de la Clase II codifican para el anillo MS, el anillo C o "switch" flagelar, el aparato de exportación y los factores reguladores FlrB, FlrC y FliA (σ^{28}). Cuando el ensamblaje del anillo MS, el anillo C y el aparato de exportación concluye, el sistema de dos componentes FlrB/FlrC se activa; la cinasa sensora de histidina FlrB transfiere un grupo fosfato al regulador de respuesta FlrC el cual a su vez inicia la transcripción, dependiente de σ^{54} , de los genes de Clase III. En el grupo de genes de la Clase III están los que codifican para el cuerpo basal, una flagelina mayoritaria o principal FlaA, el remate del filamento FliD (HAP 2) y un componente del anillo T, MotY. La transcripción de los genes de Clase IV es dependiente de FliA (factor σ^{28}); dentro de este grupo están los genes que codifican para las flagelinas adicionales (FlaB-CDE), el regulador negativo FlgM (factor anti- σ^{28}), la otra parte del anillo T, MotX, los componentes del complejo estator PomA y PomB así como para las proteínas encargadas de la quimiotaxis. Al mismo tiempo que se inicia la activación de los genes de Clase III por el sistema de dos componentes FlrB/FlrC, el factor FliA -que es una proteína de Clase II- inicia la síntesis de proteínas pertenecientes a la Clase IV como se mencionó antes. Entre estas proteínas está el factor anti- σ^{28} o FlgM cuya función es la de secuestrar al factor σ^{28} a modo de una asa de regulación negativa hasta que el cuerpo basal y el gancho estén terminados. Una vez que el complejo del gancho y el cuerpo basal se completa, el aparato de exportación secreta a FlgM al medio extracelular dejando a FliA libre para iniciar la transcripción de los genes de Clase IV (5, 10).

Funcionamiento del motor flagelar

Se sabe que en *E. coli* y *S. typhimurium*, cada uno de los complejos MotA/MotB forma un canal que cruza la membrana interna de la célula; este canal, transloca protones (H^+) desde el espacio periplásmico hasta el citoplasma, en favor de un gradiente electroquímico (fuerza protón motriz). El paso de los protones a través del canal formado por las proteínas MotA y MotB, está acoplado con la rotación del motor flagelar (7).

En las bacterias marinas como *V. cholerae*, *V. alginolyticus* o *V. parahaemolyticus*, el sistema de homeostasis mantiene el pH intracelular entre 8 y 9 por lo que la fuerza protón motriz (H^+) es muy pequeña; para superar este problema, los

miembros de la familia *Vibrionaceae* recurren a un gradiente electroquímico de iones sodio (Na^+) para generar la fuerza motriz que impulsa la rotación del flagelo polar. El paso de los iones, a través de la membrana interna, es conducido por el canal que forman las proteínas del estátor PomA y PomB. Se piensa que el principio para el funcionamiento del motor impulsado por sodio, es el mismo que en el motor impulsado por protones (Fig 3): los iones sodio en el periplasma se unen a un residuo específico de aspartato en PomB, el Asp 24, para ser translocados al citoplasma. El paso de los iones sodio induce un cambio estructural en PomA que modifica su interacción con una de las proteínas del rotor, FliG. La interacción de los residuos cargados Lis284, Arg301, Asp308, Asp309 y Arg317 ubicados dentro del dominio carboxilo terminal de FliG con los residuos Arg88 y Glu96 (residuos cargados equivalentes a los de MotA) más otros residuos adicionales: Lis89, Glu97 y Glu99 en el asa citoplásmica de PomA, genera la rotación del flagelo polar. Sustituir estos residuos cargados por residuos sin carga, en forma individual, no altera de manera significativa la función del estator, sin embargo la rotación flagelar se interrumpe cuando los cinco residuos cargados son sustituidos por residuos sin carga de manera simultánea. Los fármacos bloqueadores de canales de sodio como el amiloride y su derivado, el fenamil son capaces de prevenir la generación del torque en el filamento polar al interrumpir el flujo de iones inhibiendo así el desplazamiento de las células (9).

El nado direccionado o quimiotaxis

La rotación reversible del motor flagelar dependiente del mecanismo de "switch" contenido en el anillo C, es el principio de la quimiotaxis. En *E. coli*, la rotación flagelar en dirección opuesta a las manecillas del reloj (en inglés "counter-clockwise" o ccw) conduce a los filamentos a formar una trenza que impulsa a las células hacia el frente; por otro lado, la rotación en dirección de las manecillas del reloj (en inglés "clockwise" o cw) deshace la trenza flagelar permitiendo así la reorientación de las células. El paso del modo de nado (rotación ccw) al paro y reorientación (rotación cw) depende de la interacción del regulador de respuesta quimiotáctico CheY en su estado fosforilado con la proteína del "switch" flagelar FliM. Cuando el medio es homogéneo y hay una concentración decreciente de ligando en los complejos de quimiorreceptores en el polo celular, se inicia la auto fosforilación de la cinasa sensora CheA, la cual transfiere su grupo fosfato al regulador de respuesta CheY. En su estado fosforilado, CheY-P se une primero

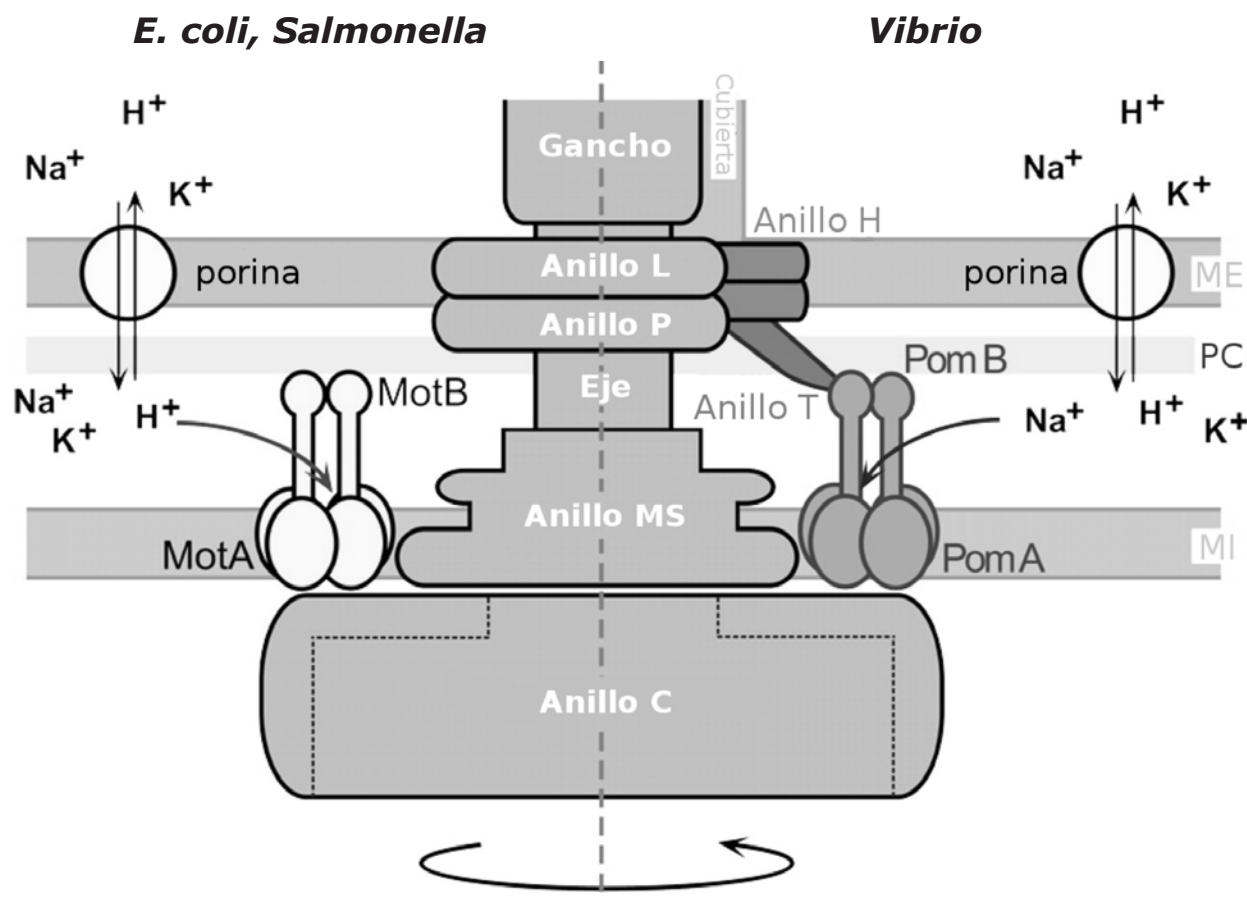


Figura 3. Mecanismo de rotación flagelar en las bacterias entéricas (*E. coli*) y en las bacterias marinas (*V. alginolyticus*). En *E. coli*, el complejo del estátor MotA/B conduce un flujo de protones (H^+) que se encuentra acoplado a la generación de la rotación en el complejo del rotor, el anillo C. En *V. alginolyticus*, el principio de la fuerza motriz es el mismo; un flujo de iones, en este caso de sodio (Na^+), conducido desde el periplasma hasta el citoplasma por el complejo del estátor PomA/B también está acoplado a la generación del torque en el complejo del anillo C. Asimismo, el anillo T formado por las proteínas MotXY y el anillo H que incluye a la proteína FlgT, son necesarios para la rotación del filamento polar. Membrana externa (ME), Pared celular (PC) y Membrana interna (MI). La imagen fue tomada y modificada de la referencia (12).

al dominio amino terminal de FliM (FliM-N) y de manera sucesiva al dominio intermedio (FliM-M) desplazando -de manera competitiva- al dominio carboxilo terminal de FliG (FliG-C); este cambio de conformación en FliG altera de manera aun desconocida su interacción con MotA dando como resultado un cambio de sentido en la rotación flagelar, pasando del nado al paro y la reorientación. Bajo estas condiciones la frecuencia de paro y nado es semejante. Por otro lado, cuando existe en el medio un gradiente de sustancias favorables o nocivas, la concentración de ligando se incrementa en los complejos quimiorreceptores y la cinasa sensora CheA se desactiva; concomitantemente disminuye la concentración de CheY-P en el citoplasma, el dominio carboxilo terminal de FliG (FliG-C) regresa a su posición original con respecto

a MotA y a su sitio de interacción con el dominio intermedio de FliM (FliM-M). En esta situación, la frecuencia de paro disminuye y los episodios de nado se vuelven más prolongados, lo que permite a las células dirigirse hacia los atrayentes o alejarse de los repelentes (13).

Un sistema de motilidad alternativo: Los flagelos laterales

Las bacterias son capaces de modular la expresión de sus genes para lidiar con los constantes cambios en el medio ambiente; condiciones como la concentración de nutrientes, la salinidad o la temperatura son percibidas por las células continuamente. Las respuestas que ofrecen frente a estos cambios pueden reflejarse en alteraciones

Tabla 1

Microorganismo	Flagelo polar recubierto ¹	Flagelos laterales desnudos (peritricos) ²	Estilo de vida
<i>V. alginolyticus</i>	Monotrico	+	Patógeno
<i>V. anguillarum</i>	Monotrico	-	Patógeno
<i>V. cholerae</i>	Monotrico	-	Patógeno
<i>V. fischeri</i>	Lofotrico (2-8) ³	-	Simbionte
<i>V. harveyi</i>	Monotrico	+	Patógeno
<i>V. parahaemolyticus</i>	Monotrico	+	Patógeno
<i>V. shilonii</i>	Monotrico	+	Patógeno
<i>V. vulnificus</i>	Monotrico	-	Patógeno

¹Observado mediante microscopía electrónica de transmisión en cultivos de medio líquido.
²Observado mediante microscopía electrónica de transmisión en cultivos de medio sólido. +, presencia de flagelos laterales; -, no se detectó la presencia de flagelos laterales.
³La distribución lofotrica se refiere a la presencia de varios flagelos concentrados en uno de los polos del cuerpo celular; *V. fischeri*, presenta entre 2 y 8 flagelos polares en este arreglo.

dramáticas de la conducta y la morfología de las bacterias; uno de los cambios más evidentes es la elongación de la célula y la aparición de múltiples flagelos sobre el cuerpo celular, cuando las bacterias crecen sobre superficies. Algunas especies del género *Vibrio* presentan dos tipos de flagelos: el flagelo polar único (monotrico) recubierto (Fla) y numerosos flagelos laterales desnudos (Laf) que recubren el cuerpo celular (distribución peritrica) (Fig 4). Entre estas especies *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi* y *V. shilonii* presentan un flagelo polar constitutivo y flagelos laterales inducibles. En contraste, otros miembros del género como *V. cholerae*, *V. anguillarum*, *V. fischeri* y *V. vulnificus*, no poseen un sistema de flagelos laterales (5, 8, 14) (Tabla 1). El flagelo polar es utilizado para el nado en medio líquido mientras que los flagelos laterales están adaptados para el desplazamiento sobre superficies o en medios de alta viscosidad. La expresión del flagelo polar es constitutiva y está presente en la célula todo el tiempo, por otro lado, la expresión de los flagelos laterales es inducible y se encuentra asociada con la alta densidad del medio. Cada uno de estos organelos de motilidad cuenta con su propio motor embebido en la membrana interna. Para ambos tipos de flagelo, la rotación se genera a partir de un gradiente iónico transmembranal de sodio (Na⁺) para el flagelo polar y de protones (H⁺) para los flagelos laterales (15). Otras bacterias que cuentan

con un sistema de flagelos laterales adecuados para el desplazamiento en medio sólido, incluyen a *Rhodospirillum centenum*, *Azospirillum brasilense* y *Aeromonas hydrophila* (16). Se ha propuesto que la inducción de los flagelos laterales ocurre en respuesta directa a la inhibición de la rotación en el flagelo polar, en medios viscosos y al contacto con superficies. En *V. parahaemolyticus* el flagelo polar actúa como un sensor que detecta condiciones ambientales en las cuales la rotación del flagelo polar disminuye o es impedida. Otras condiciones que interfieren con la rotación del flagelo polar son los anticuerpos contra la superficie de las células, las mutaciones en algunos genes del sistema del flagelo polar y los bloqueadores de canales de sodio como el amiloride y el fenamil (8, 17). Trabajos con *V. parahaemolyticus* y *V. shilonii*, han confirmado que la expresión de los flagelos laterales se encuentra directamente asociada con el decremento en la rotación del flagelos polar; estos resultados se obtuvieron con el uso de agentes densificantes (18) y la presencia de fenamil en el medio de cultivo (17). La ultraestructura del cuerpo basal en los flagelos laterales fue visualizada y descrita recientemente, en la bacteria *V. shilonii* (19). Cabe mencionar que la ultra estructura del cuerpo basal en los flagelos laterales de *V. shilonii* es muy semejante a la ultra estructurada del cuerpo basal en los flagelos peritricos descrita para *S. typhimurium* (20).(Fig 5).

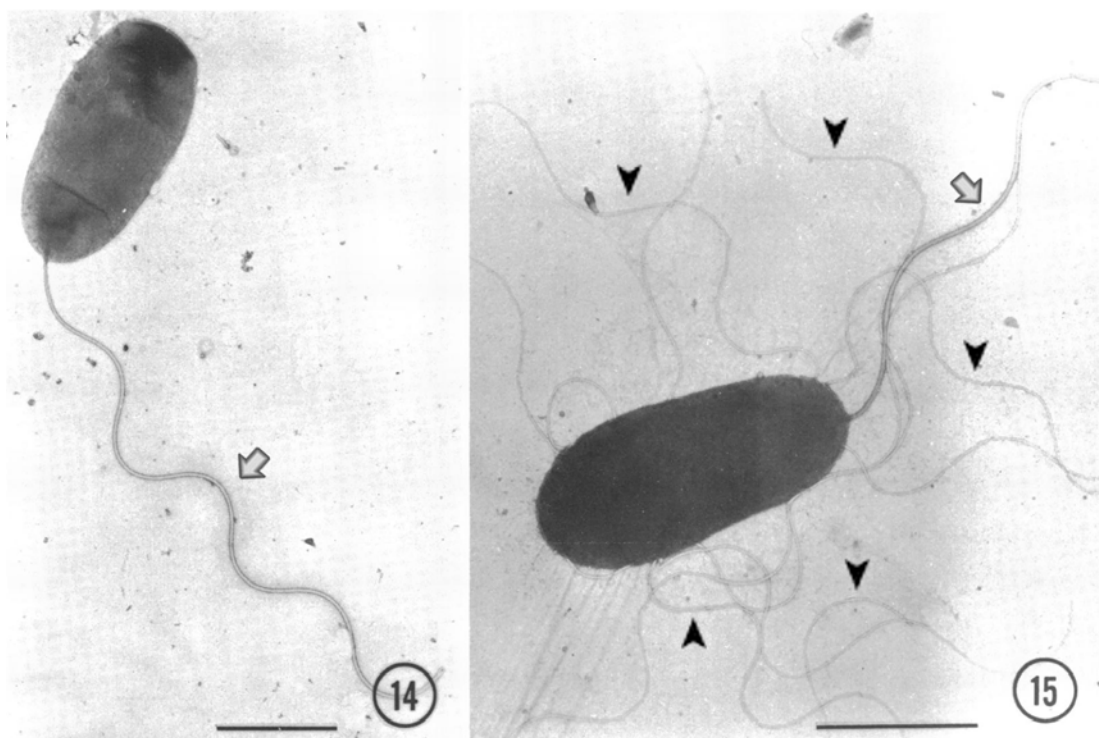
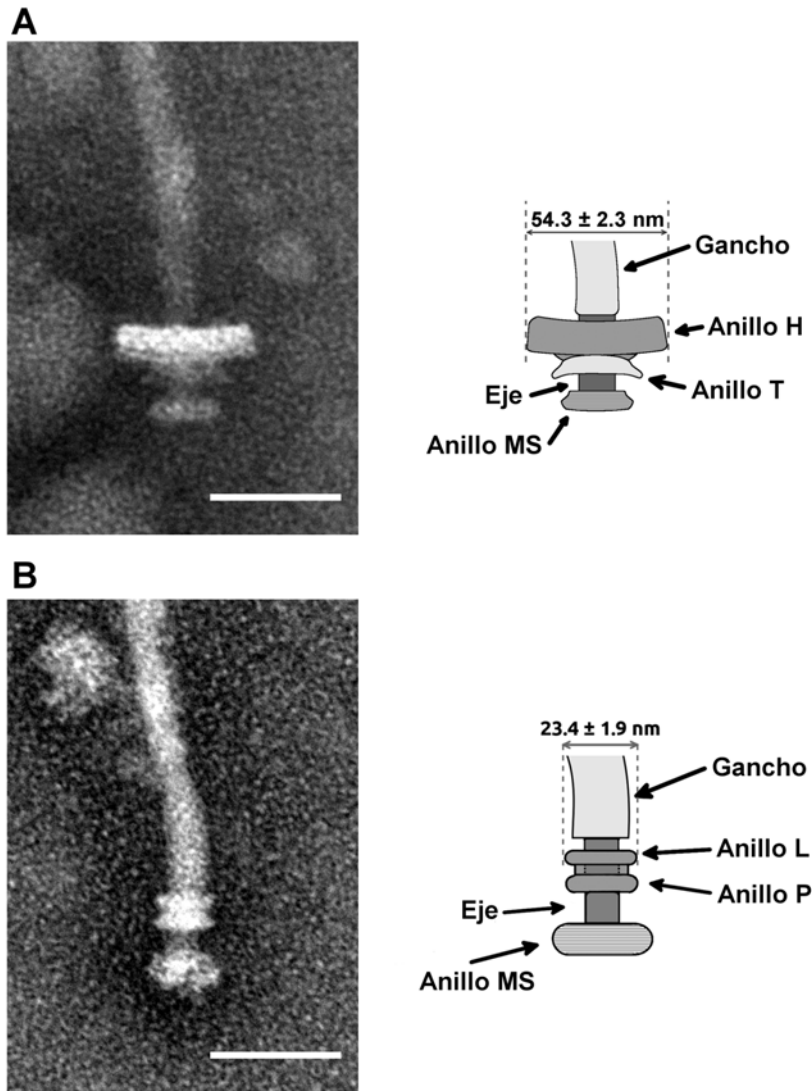


Figura 4. Los dos sistemas flagelares de *V. alginolyticus*. En el panel de la izquierda se muestra la imagen de microscopía electrónica de transmisión de una célula extraída de cultivo en medio líquido donde se observa un flagelo único en posición polar, por otro lado, en el panel de la derecha se muestra una imagen de microscopía electrónica de transmisión de una célula extraída de un cultivo en medio sólido la cual, además del flagelo polar, presenta múltiples filamentos que recubren el cuerpo celular; estos son los flagelos laterales. Las flechas grises en ambos paneles señalan al flagelo polar; las flechas negras en el panel derecho señalan a los flagelos laterales. Las barras de escala son equivalentes a 1 μm . La figura fue tomada y modificada de la referencia (14).

El papel del flagelo en la interacción bacteria-hospedero

La locomoción dependiente del flagelo, guiada por el sistema quimiotáctico, aleja a las bacterias de los ambientes nocivos para ellas y las dirige hacia los atrayentes; dichos atrayentes incluyen metabolitos, precursores u otros nutrientes disueltos en el medio, que las bacterias pueden interpretar como señales de proximidad hacia un hospedero potencial. Debido a que el flagelo participa de manera importante en la interacción bacteria-hospedero, este organelo es considerado como un factor de virulencia o como un determinante de simbiosis. Se sabe que una cepa isogénica mutante, incapaz de moverse o que expresa sus sistemas de motilidad de manera incompleta, está restringida en cierto grado, para la colonización, la capacidad de causar enfermedad o para ambas; evidencia de lo anterior, es la recuperación exclusiva de bacterias motiles en modelos *in vivo*, después de una infección con células motiles o con una mezcla de células motiles y no motiles. A continuación, se muestran algunos

ejemplos de cómo es que el flagelo contribuye al proceso invasivo en diferentes maneras. Una cepa mutante en el gen *motY* de *V. anguillarum*, la cual es incapaz de rotar el flagelo polar, exhibe una disminución de 750 veces en la capacidad de colonización al emplear un modelo experimental de trucha, con respecto de la cepa silvestre; esto se debe a que resulta imposible para las bacterias mutantes atravesar el tegumento del hospedero. Si esta barrera es superada, el flagelo ya no es necesario para continuar con la fase posterior de la infección; evidencia de ello es que, tanto la cepa mutante como la silvestre, tienen la misma capacidad de virulencia cuando estas se inyectan intraperitonealmente en el modelo *in vivo* (21). Empleando *V. vulnificus* con un modelo murino, se ha observado que la cepa mutante para el gen *flgE*, incapaz de construir un flagelo polar, muestra una disminución significativa en su capacidad de adherencia a las células del epitelio intestinal y en la formación de biopelículas, con respecto de la cepa parental (22). Cuando estas cepas se inyectan dentro del peritoneo, la dosis letal media (DL 50)

**Figura 5.**

Ultraestructura del cuerpo basal lateral. En el panel A se muestra la imagen de microscopía electrónica de transmisión correspondiente al cuerpo basal de un flagelo polar de la bacteria marina *V. shilonii* (5), junto con el esquema de sus componentes. El panel B muestra la imagen de microscopía electrónica de transmisión que corresponde al cuerpo basal de un flagelo lateral; asimismo, con la imagen se muestra un esquema donde se indican los componentes que se pueden distinguir por su posición dentro del complejo. Las barras de escala en las imágenes de microscopía electrónica son equivalentes a 50 nm. La imagen fue tomada y modificada de la referencia (19).

es de 5.0×10^5 células para la cepa mutante y de 4.4×10^4 células para la cepa silvestre. Las mutantes de *V. fischeri* incapaces de rotar o construir el flagelo polar, obtenidas mediante transposición, son incapaces de colonizar los órganos de luz de su hospedero, el calamar *Euprymna scolopes*. Aunque no existen experimentos de inoculación directa de las mutantes no móviles dentro de los órganos de luz, si se ha observado durante el curso de la infección, que más del 95% de las bacterias silvestres recuperadas de los órganos de luz, después de un tiempo de colonización de 24 horas, no presentan flagelos polares (23).

Conclusiones y perspectivas

Como se mencionó con anterioridad, el género *Vibrio* contiene especies de importancia clínica para la salud pública como es el caso de *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* o *V. vulnificus*, los cuales son

causantes de graves enfermedades gastrointestinales. Asimismo especies como *V. anguillarum* o *V. harveyi* son los agentes causales de enfermedades en truchas y camarones respectivamente, que propician la pérdida considerable de estos recursos alimenticios (24). El estudio de las bacterias marinas de la familia *Vibrionaceae*, es importante desde el punto de vista de la motilidad, porque nos da una perspectiva nueva sobre la relación patógeno-hospedero y otra forma de abordar este tema.

Asimismo el estudio de la motilidad en este género de bacterias, como modelo experimental, supone retos interesantes. Uno de los problemas más longevos en el área es el mecanismo de transducción de la señal que conecta la disminución de la tasa de rotación del flagelo polar, con la expresión de los flagelos laterales. Actualmente, se sabe que cuando la rotación del flagelo polar disminuye por el contacto con una superficie, las células son capaces de percibir el cambio en el flujo de los iones sodio

(Na⁺) a través del motor flagelar; para avanzar un poco más en esta pregunta, se pueden utilizar otros compuestos eficaces en alterar la motilidad como la familia de análogos de la quinazolina-2,4-diamino (Q24DAs) (25) y determinar su capacidad para bloquear el flujo de iones sodio (Na⁺). Otro componente que podría estar involucrado en la detección del estrés sobre la rotación del flagelo, es una proteína transmembranal poco entendida, FliL (26).

Más que contestar preguntas, la intención de estas líneas es resumir, en la medida de lo posible, dar una panorámica general sobre el esquema que se tiene actualmente sobre la motilidad bacteriana en los miembros del género *Vibrio*. Está claro que pese al gran detalle con que se ha diseccionado el sistema flagelar de estas bacterias marinas, aún quedan muchas preguntas que podemos hacer a estos microorganismos.



REFERENCIAS

1. Kearns DB (2010) A field guide to bacterial swarming motility. *Nat Rev Microbiol* 8:634–644. doi: 10.1038/nrmicro2405
2. Kirov SM (2003) Bacteria that express lateral flagella enable dissection of the multifunctional roles of flagella in pathogenesis. *FEMS Microbiol Lett* 224:151–159. doi: 10.1016/S0378-1097(03)00445-2
3. Terashima H, Fukuoka H, Yakushi T, Kojima S, Homma M (2006) The *Vibrio* motor proteins, MotX and MotY, are associated with the basal body of Na⁺-driven flagella and required for stator formation. *Mol Microbiol* 62:1170–1180. doi: 10.1111/j.1365-2958.2006.05435.x
4. Terashima H, Koike M, Kojima S, Homma M (2010) The Flagellar Basal Body-Associated Protein FlgT Is Essential for a Novel Ring Structure in the Sodium-Driven *Vibrio* Motor. *J Bacteriol* 192:5609–5615. doi: 10.1128/JB.00720-10
5. McCarter LL (2001) Polar Flagellar Motility of the *Vibrionaceae*. *Microbiol Mol Biol Rev* 65:445–462. doi: 10.1128/MMBR.65.3.445-462.2001
6. Zhao X, Norris SJ, Liu J (2014) Molecular Architecture of the Bacterial Flagellar Motor in Cells. *Biochemistry (Mosc)* 53:4323–4333. doi: 10.1021/bi500059y
7. Macnab RM (2003) How Bacteria Assemble Flagella. *Annu Rev Microbiol* 57:77–100. doi: 10.1146/annurev.micro.57.030502.090832
8. González Y, Venegas D, Mendoza-Hernández G, Camarena L, Dreyfus G (2010) Na⁺- and H⁺-dependent motility in the coral pathogen *Vibrio shilonii*. *FEMS Microbiol Lett* 312:142–150. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02110.x
9. Yorimitsu T, Homma M (2001) Na⁺-driven flagellar motor of *Vibrio*. *Biochim Biophys Acta BBA - Bioenerg* 1505:82–93. doi: 10.1016/S0005-2728(00)00279-6
10. Prouty MG, Correa NE, Klose KE (2001) The novel sigma⁵⁴- and sigma²⁸-dependent flagellar gene transcription hierarchy of *Vibrio cholerae*. *Mol Microbiol* 39:1595–1609.
11. Macnab RM (2004) Type III flagellar protein export and flagellar assembly. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Cell Res* 1694:207–217. doi: 10.1016/j.bbamcr.2004.04.005
12. Yonekura K, Maki-Yonekura S, Homma M (2011) Structure of the Flagellar Motor Protein Complex PomAB: Implications for the Torque-Generating Conformation. *J Bacteriol* 193:3863–3870. doi: 10.1128/JB.05021-11
13. McCarter LL (2006) Motility and Chemotaxis. *Biol. Vibrios*. ASM, Press, pp 115–132.
14. Allen RD, Baumann P (1971) Structure and arrangement of flagella in species of the genus *Beneckea* and *Photobacterium fischeri*. *J Bacteriol* 107:295–302.
15. Atsumi T, McCarter L, Imae Y (1992) Polar and lateral flagellar motors of marine *Vibrio* are driven by different ion-motive forces. *Nature* 355:182–4.
16. Merino S, Shaw JG, Tomás JM (2006) Bacterial lateral flagella: an inducible flagella system. *FEMS Microbiol Lett* 263:127–135. doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00403.x
17. Kawagishi I, Imagawa M, Imae Y, McCarter L, Homma M (1996) The sodium-driven polar flagellar motor of marine *Vibrio* as the mechanosensor that regulates lateral flagellar expression. *Mol Microbiol* 20:693–699. doi: 10.1111/j.1365-2958.1996.tb02509.x
18. Belas R, Simon M, Silverman M (1986) Regulation of lateral flagella gene transcription in *Vibrio parahaemolyticus*. *J Bacteriol* 167:210–8.
19. González Y, Camarena L, Dreyfus G (2015) Induction of the lateral flagellar system of *Vibrio shilonii* is an early event after inhibition

- of the sodium ion flux in the polar flagellum. *Can J Microbiol* 61:183–191. doi: 10.1139/cjm-2014-0579
20. Aizawa SI, Dean GE, Jones CJ, Macnab RM, Yamaguchi S (1985) Purification and characterization of the flagellar hook-basal body complex of *Salmonella typhimurium*. *J Bacteriol* 161:836–849.
21. Larsen MH, Boesen HT (2001) Role of flagellum and chemotactic motility of *Vibrio anguillarum* for phagocytosis by and intracellular survival in fish macrophages. *FEMS Microbiol Lett* 203:149–152. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10833.x
22. Lee J-H, Rho JB, Park K-J, Kim CB, Han Y-S, Choi SH, Lee K-H, Park S-J (2004) Role of Flagellum and Motility in Pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Infect Immun* 72:4905–4910. doi: 10.1128/IAI.72.8.4905-4910.2004
23. Josenhans C, Suerbaum S (2002) The role of motility as a virulence factor in bacteria. *Int J Med Microbiol* 291:605–614. doi: 10.1078/1438-4221-00173
24. Thompson FL, Austin B, Swings J (2006) *The Biology of Vibrios*. American Society of Microbiology.
25. Rasmussen L, White EL, Pathak A, Ayala JC, Wang H, Wu J-H, Benitez JA, Silva AJ (2011) A High-Throughput Screening Assay for Inhibitors of Bacterial Motility Identifies a Novel Inhibitor of the Na⁺-Driven Flagellar Motor and Virulence Gene Expression in *Vibrio cholerae*. *Antimicrob Agents Chemother* 55:4134–4143. doi: 10.1128/AAC.00482-11
26. Suaste-Olmos F, Domenzain C, Mireles-Rodríguez JC, Poggio S, Osorio A, Dreyfus G, Camarena L (2010) The Flagellar Protein FliL Is Essential for Swimming in *Rhodobacter sphaeroides*. *J Bacteriol* 192:6230–6239. doi: 10.1128/JB.00655-10