

# El aislamiento de bacterias marinas en placa mejora mediante la manipulación de factores ambientales

**AUTORES: XAVIER REY VELASCO<sup>1</sup>, ONA DEULOFEU CAPO<sup>1</sup>, ISABEL SANZ SÁEZ<sup>1,2</sup>, CLARA CARDELÚS<sup>1</sup>, ISABEL FERRERA<sup>1,3</sup>, JOSEP M GASOL<sup>1</sup>, OLGA SÁNCHEZ<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Institut de Ciències del Mar (ICM-CSIC), 08003 Barcelona, Catalonia, Spain.

<sup>2</sup> Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CSIC), 08034 Barcelona, Catalonia, Spain.

<sup>3</sup> Centro Oceanográfico de Málaga, Instituto Español de Oceanografía, (IEO-CSIC), 29640, Fuengirola, Málaga, Spain.

<sup>4</sup> Departament de Genètica i Microbiologia, Facultat de Biociències, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Spain.

✉ [xavier.rey@icm.csic.es](mailto:xavier.rey@icm.csic.es) | [olga.sanchez@uab.cat](mailto:olga.sanchez@uab.cat)

Aislar microorganismos es una técnica esencial para conocer sus propiedades genómicas y poner a prueba hipótesis fisiológicas y ecológicas mediante experimentos, así como para obtener y caracterizar nuevos taxones. Sin embargo, el cultivo de las bacterias más abundantes en ambientes marinos es conocidamente difícil debido a que no están adaptadas para crecer en medios ricos. Se sabe que la acción de los depredadores y virus y la disponibilidad de nutrientes son factores que moldean las dinámicas y composición de las comunidades bacterianas marinas, y esto también tiene efectos en su cultivabilidad.

Se obtuvo una amplia colección de cepas bacterianas aisladas a partir de muestras de experimentos de manipulación de agua marina en los que se había reducido la mortalidad por depredadores y virus y la limitación de nutrientes. Estos experimentos se llevaron a cabo con agua de la Bahía de Blanes recogida en las cuatro estaciones del año. Se obtuvieron un total de 1643 aislados a partir de cultivos en placas de Agar Marino y R2A marino. De todos estos aislados se secuenció su gen del ARNr 16S casi completamente.

Los taxones aislados pertenecen mayoritariamente a la clase *Gammaproteobacteria*, seguidos de *Alphaproteobacteria* y *Bacteroidia*. También se aislaron, en menor

## Experimentos de manipulación

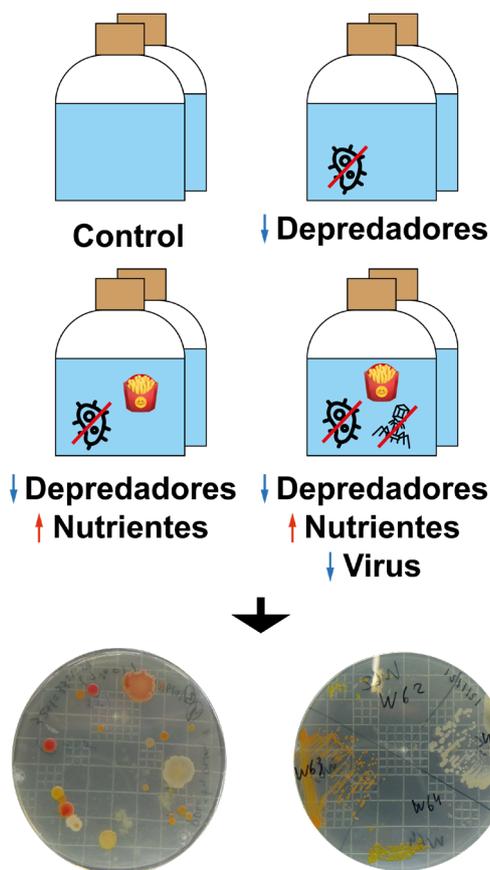


Diagrama explicativo de los experimentos de manipulación y el aislamiento.

cantidad, las clases *Bacilli*, *Actinobacteria*, *Rhodothermia* y *Verrucomicrobiae*. El aumento de *Gammaproteobacteria* en todas las manipulaciones fue notable, mientras que

*Bacteroidia* aumentó preferencialmente en los tratamientos con menor depredación. Sesenta y una cepas obtenidas en este estudio presentan una similitud menor a 97% con el conjunto de cepas cultivadas hasta la fecha y, por tanto, constituyen potencialmente nuevos taxones.

Para comparar la comunidad total con nuestros aislados, sus secuencias del gen del ARNr 16S se compararon con datos de amplicones de la región V4-V5 del mismo gen obtenido en los distintos experimentos mediante técnicas moleculares de secuenciación masiva y se observó que nuestros aislados llegan a representar el 71% y el 47% de las secuencias de los amplicones en el experimento reducido en virus y el experimento con mayor disponibilidad de nutrientes de verano, respectivamente. Además de eso, se aislaron los taxones más abundantes de la comunidad, frecuentemente pertenecientes a géneros copiótrofos como *Alteromonas* o *Limimarcicola*.

Estos datos indican que cultivar bacterias marinas usando placas de agar puede tener éxito en ciertas situaciones ecológicas y revelan factores que influyen en su cultivabilidad. Además, se evidencia el valor de los cultivos para descubrir taxones que podrían representar nuevas especies o géneros bacterianos.