



ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS ASOCIADAS A LA ESPONJA *Aplysina clathrata* DEL GOLFO DE CALIFORNIA.

Cynthia Itzel Montes Plascencia+, Bárbara González Acosta*, Claudia Judith Hernández Guerrero*, Sergio Francisco Martínez Díaz*. Instituto Politécnico Nacional - Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Departamento de Desarrollo de Tecnologías, La Paz, B.C.S. CP 23092. cguerrer@ipn.mx.

Palabras clave: bacterias, esponja, actividad antimicrobiana.

Introducción. A partir de bacterias Gram-positivas se han aislado la mayoría de los compuestos de origen bacteriano (1). En los últimos años, se ha intensificado la búsqueda de cepas en nuevas fuentes, incluyendo a las esponjas marinas, debido a la alta diversidad bacteriana que albergan (2). Resulta interesante cultivar bacterias de recursos poco estudiadas, tal es el caso de *Aplysina clathrata*, una esponja identificada recientemente en el Golfo de California (3).

El objetivo de este trabajo fue aislar bacterias Gram-positivas cultivables de *A. clathrata*, y evaluar su actividad antimicrobiana.

Metodología. Se recolectaron ejemplares de *A. clathrata* estacionalmente durante un ciclo anual en Punta Arenas, BCS (24°03'40"N, 109°49'52"W). Los organismos fueron trasladados en refrigeración al laboratorio de Microbiología y Biología Molecular del CICIMAR, en donde fueron macerados de inmediato con agua de mar estéril. Se realizaron diluciones decimales y 100 µL de cada dilución fueron sembradas en medios de cultivo específicos (4). Las placas se incubaron a temperatura ambiente de 3 a 15 días y las colonias aisladas se describieron morfológica y microscópicamente. La identificación de las cepas se llevó a cabo mediante la extracción de ADN, amplificación mediante PCR utilizando oligonucleótidos específicos (5) y su posterior secuenciación. A partir de biomasa de todas las cepas cultivables se realizaron ensayos por triplicado de actividad mediante el método de difusión en agar frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* y *Candida albicans*.

Resultados. Se aislaron un total de 103 cepas de bacterias Gram Positivas. El análisis de las secuencias mediante el alineamiento BLAST con aquellas reportadas en el NCBI (National Center of Biotechnology Information), permitió establecer la clasificación taxonómica únicamente de 41 cepas, las cuales pertenecen a once géneros de los phyla Firmicutes y Actinobacteria, siendo el género *Rhodococcus* el mejor representado (Fig. 1). La mayoría de las secuencias (30) tuvieron porcentajes de similitud de \geq al 98% y 9 cepas fueron completamente idénticas. Seis de las cepas secuenciadas se relacionaron con bacterias registradas como "clonas de bacterias sin cultivar", con porcentajes de identidad menores al 98%.

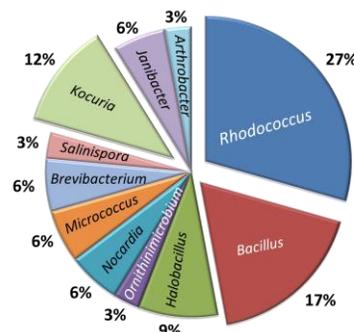


Fig. 1. Géneros de bacterias Gram-positivas asociadas a *A. clathrata*.

Las pruebas de actividad antimicrobiana mostraron que la cepa más susceptible fue *P. aeruginosa*, ya que 27 cepas inhibieron su crecimiento. Ninguna cepa tuvo actividad frente a *Salmonella entérica*, y contra *C. albicans* sólo una cepa fue activa (Tabla 1).

Tabla 1. Resultados más prometedores de actividad antimicrobiana de bacterias aisladas de *A. clathrata*. Halos de inhibición media \pm DS.

| Cepa | <i>P. aureginosa</i> | <i>S. aureus</i> | <i>E. coli.</i> | <i>C. albicans</i> |
|--|--------------------------------|------------------|-----------------|--------------------|
| Ac1105 Ac0909 <i>Brevibacterium</i> sp. | 19.7 \pm 0.7 17 \pm 1.3 | | | |
| Ac0504 <i>Rhodococcus</i> sp. | | 13.3 \pm 1.5 | | |
| Ac0211 No identificada | | | 7.8 \pm 0.2 | |
| Ac0509 <i>Halobacillus</i> sp. | 14.8 \pm 0.7 | | | 25.7 \pm 1.2 |
| Control positivo | | 12.7 \pm 0.5 | 10.2 \pm 0.2 | |

Conclusiones. Las bacterias cultivables de *A. clathrata* son un recurso promisorio para el aislamiento de compuestos antimicrobianos, en especial los géneros *Brevibacterium*, *Rhodococcus* y *Halobacillus*.

Agradecimiento. Proyecto SIP 20131532 y 20140281. +Becaria CONACYT y PIFI, *Becarios COFAA y EDI.

Bibliografía.

- Murphy BT, Jensen PR, Fenical W. (2012). The chemistry of marine bacteria. En: *Handbook of Marine Natural Products*. (1): 153–190.
- Hentschel U, Schmid M, Wagner M, Fieseler L, Gernert C, Hacker J. (2001). *FEMS Microbiology Ecology*. 35: 305–312.
- Cruz-Barraza JA, Carballo JL, Rocha-Olivares A, Ehrlich H, Hog M. (2012). *PLoS ONE*. 7(8): e42049. doi:10.1371/journal.pone.0042049.
- Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, Struhl K.(2002). A compendium of methods from current protocols in molecular biology. 5th Ed. John Wiley and Sons, Inc. 1512 pp.
- Farris MH, Olson JB.(2007). *Letters in Applied Microbiology*. 45:376-381.