

Acerca de la posible función de
bacterias agarolíticas del erizo blanco

(LOXECHINUS ALBUS (Mol.))

Patricio García-Tello y Ana María Baya

Publicación Ocasional N° 15

MUSEO NACIONAL DE HISTORIA NATURAL

SANTIAGO DE CHILE

1973



ACERCA DE LA POSIBLE FUNCION DE BACTERIAS
AGAROLITICAS AISLADAS DEL ERIZO BLANCO.

(LOXECHINUS ALBUS (MOL.))

PATRICIO GARCÍA-TELLO (*)
y ANA MARÍA BAYA (**)

A b s t r a c t .

On the function of agar-digesting bacteria isolated from the gut of *Loxechinus albus*.

The biochemical capacity of nine strains of bacteria isolated from the gut contents of *L. albus* in culture media (Nutrient Agar BBL, code 10-124) were investigated.

Evidence on the ability of the strains to digest agar, as well as, a comparison of their characteristics are presented. The nine strains of bacteria were identified as *Pseudomonas* belonging to group IV according to HENDRIE et al. (1965).

The results obtained during the present study seems to indicate a relationship between the bacteria and the digestive processes of *L. albus*. It was also established that fermentation of manitol is a common fact in this type of bacteria as it was reported by other investigators previously. This study contains 14 references and one table.

Authors.

I n t r o d u c c i ó n .

En la literatura científica disponible a las bacterias ablandadoras del agar, se las describe también bajo denominaciones tales como "agarolíticas", "liquefactoras del agar", "descomponedores del agar" y "digestoras del agar". La importancia de estos microorganismos como transformadores de la materia orgánica no ha sido realizada hasta hoy día en su debida forma. No obstante, recientemente GIRARD ET AL (1968) hicieron un estudio nutricional de 29 bacterias marinas agarolíticas y sus resultados indican que la nutrición de este tipo de bacterias es sencillo. Entre los trabajos más recientes encontramos a SHINANO (1965) quien menciona y describe las propiedades de cinco especies bacterianas ablandadoras del agar aisladas de aguas del Pacífico Norte.

(*) Microbiólogo en el Departamento de Oceanología. Universidad de Chile. Dirección actual: Instituto Oceanográfico. Ap. Postal 94. Cumaná, Venezuela.

(**) Ayudante de Investigación en Lab. de Microbiología. Universidad Católica de Valparaíso.

Si bien unas pocas cepas bacterianas han sido obtenidas de habitats terrestres, microorganismos de este tipo son típicos del medio marino y posiblemente juegan un rol importante en algunos habitats naturales.

La posición taxonómica de estos microorganismos ha sido extensamente discutida por YAPHE (1963) quien hace un análisis y proposiciones acerca de la posición que ocupan en la clasificación los microorganismos que utilizan polisacáridos de algas marinas.

En el presente trabajo discutimos la posibilidad que este tipo fisiológico de bacteria, desempeñe algún rol de importancia en los procesos digestivos del erizo blanco, *Loxechinus albus*.

Material y método.

Nueve cepas bacterianas ablandadoras del agar fueron aisladas del fluido intestinal del erizo blanco (*L. albus*).

Ellas representan el 47,0% de la flora bacteriana total viable del contenido intestinal que se desarrolló en agar nutritivo (Nutrient Agar BBL, code 10-124), preparado con agua de mar envejecida al 100%. El mismo medio de cultivo en inclinado fue utilizado para comprobar la capacidad de ablandamiento del agar.

Las cepas fueron identificadas tentativamente por el método de BURZYŃSKA (1964) y sometidas a las siguientes pruebas fisiológicas: liquefacción de la gelatina (según LEVIN, 1968), utilización de la glucosa en el medio de HUGH y LEIFSON, (1953), producción de indol (Indole Nitrite Medium, BBL, code 01-155) preparado con agua de mar y reconocido con el reactivo de KOVACS, producción de H₂S en el medio de Kliger (Kliger Iron Agar, Oxoid, code. CM34).

Se investigó la capacidad para utilizar el manitol (Phenol Red Manitol Agar, BBL, code 01-249) y la capacidad de fermentación de azúcares: lactosa (Phenol Red Lactose Broth, BBL, code 01-240, con agar al 1,5%); maltosa (Phenol Red Maltose Agar, BBL, code 01-248); dextrosa (Phenol Red Dextrose Agar, BBL, code 01-254); sucrosa (Phenol Red Sucrose Agar BBL, code 01-250).

Se probó la capacidad para producir colonias del tipo Enterobacteriaceae en agar Endo (Endoagar, Oxoid, code CM 37). y su resistencia a 2.5 U.I. de penicilina.

Resultados.

El análisis de las propiedades fisiológicas conducentes a la identificación de estas cepas nos indican en una aproximación que ellas pertenecen al género *Pseudomonas* del grupo IV (HENDRIE ET AL. 1964). Algunas de las propiedades fisiológicas de estos microorganismos están representadas en el Cuadro 1.

Características comunes de ellos fueron el ser bacilos pequeños, delicados, de 1,5 a 2,0 micrones de largo x 0,5 a 1,0 micron de ancho, gram-negativos, de carácter anaerobio facultativo, provistos de flagelos polares, oxidasa positivos, no fermentan la glucosa, fermentan el manitol, no producen pigmentos difusibles, en agar Endo no desarrollan colonias del tipo Enterobacteriaceas, resistentes a 2.5 U.I. de penicilina.

Algunas características diferenciales entre ellas fueron las siguientes: una cepa produce H₂S, la arginina es utilizada por dos cepas, la licuación de la gelatina es producida por 6 cepas. Cuatro cepas fermentan maltosa, 4 fermentan sucrosa, 2 fermentan dextrosa, 5 fermentan lactosa.

Las propiedades ablandadoras del agar se mantienen por un año a pesar de los sucesivos trasposos a medio fresco.

Discusión.

SALLE (1960) dice que bacterias quitinoclásticas alojadas en el intestino de animales marinos digieren para ellos probablemente la quitina ingerida. Es posible por analogía pensar que un rol semejante juegan las bacterias ablandadoras de polisacáridos de algas marinas alojadas en el fluido intestinal del erizo blanco (*L. albus*). No deja de ser significativo el que esta flora agarolítica represente el 47,0% de la flora bacteriana viable en el caso estudiado. *Loxechinus albus* se alimenta en forma preferencial de las algas pardas *Lessonia flavicans* y *L. nigrescens* (Comunicación personal SR. KRISLER ALVEAL V.) género susceptible de producir algina (ETCHEVERRY, 1958). Por otra parte una variedad de enzimas digestivas ha sido demostrada en extractos de la pared del intestino de una serie de especies de equinodermos, ellas incluyen amilasas, proteasas, sacarasas y una alginasa (ANDERSON, 1963). La importancia que pueda tener una flora bacteriana especializada en la producción de enzimas que cooperan en la digestión del alimento del erizo no ha sido estudiada, por lo demás no queda excluido que la alginasa mencionada por ANDERSON no tenga su origen en la actividad

CUADRO 1
PROPIEDADES FISIOLÓGICAS DE BACTERIAS AGAROLÍTICAS
DEL CONTENIDO INTESTINAL DEL ERIZO BLANCO
(LOXECHINUS ALBUS (MOL.))

Nº de la cepa	oxidasa	Respiración	arginina	H ₂ S	Endoagar	Agar citrico	Proteolisis en gelatina	Glucosa	Maltosa	Sucrosa	Dextrosa	Manitol	Lactosa	Penicilina
E ₂	x	ana facult.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	F	F	R
E ₄	x	ana facult.	—	—	—	—	xxx	—	—	F	—	F	F	R
E ₇	x	ana facult.	—	—	—	—	—	—	F	F	—	F	—	R
E ₈	x	ana facult.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	F	—	R
E ₁₃	x	ana facult.	—	x	—	—	xxx	—	—	—	—	F	—	R
E ₁₄	x	ana facult.	—	—	—	—	xxx	—	F	—	A	F	—	R
E ₁₅	x	ana facult.	—	—	—	—	xxx	—	F	F	A	F	F	R
E ₁₈	x	ana facult.	x	—	—	—	xxx	—	A	F	—	F	F	R
E ₈₀	x	ana facult.	x	—	—	—	xxx	—	—	—	—	F	F	R

F — Fermentación sin gas.

R — Resistente a 2,5 U.I. de penicilina.

A — Acidificación o fermentación débil del medio.

x — Positivo.

xxx — Fuertemente proteolíticas.

especializada de bacterias capaces también de producir una agarasa, algina y agar ambos constituyentes de la pared celular de algas.

ZOBELL (1946), refiriéndose a la quitinasa dice, que ella ha sido detectada en el tracto digestivo de ciertos animales ingestores de quitina, si bien puede haber sido producida por bacterias quitinoclásticas que comunmente están presentes en gran cantidad en el tracto digestivo de tales animales. Igualmente se puede pensar que la flora bacteriana con actividad

proteolítica tenga participación activa en la digestión (98% de la flora total aislada del contenido intestinal de *L. albus*), aunque su presencia es común en el tracto digestivo de vertebrados e invertebrados marinos.

BOULOTIAN Y LASKER (1964) determinaron que manitol es el principal producto de almacenamiento del alga *Macrocystis* aparece rápidamente en cantidades en el plasma después de la digestión del alga por el equinodermo *Strongylocentrotus purpuratus*. Esta observación se hace de gran interés si notamos que manitol fue utilizado por el 100% de las cepas agarolíticas y por el 94% de la flora total aislada. Cabe aquí la pregunta: ¿es la flora bacteriana competidora o bien coadyuvante de la función digestiva en el erizo blanco?

SHINANO (1965), comprobó también la capacidad para utilizar manitol por 5 cepas de bacterias ablandadoras del agar. Por otro lado GIRARD ET AL (1968) demuestra para 13 cepas investigadas por él, buen crecimiento en manitol.

ZOBELL Y UPHAM (1944), (citado por ZOBELL, 1946) indica que especies de microorganismos de los géneros *Pseudomonas* y *Flavobacterium* digestores de agar tienden a perder su habilidad para digerir este polisacárido después de prolongado cultivo en el laboratorio a pesar de los traspasos en agar inclinado; sin embargo, en el caso de nuestras cepas la actividad se ha mantenido por un período mayor de un año. Finalmente deseamos indicar que el género determinado para estas bacterias por nosotros es común en el contenido intestinal de vertebrados marinos como peces (GARCÍA-TELLO Y ZALESKI, 1970) e invertebrados (COLWELL Y LISTON, 1962).

Conclusiones.

1. El ablandamiento del agar en el laboratorio por un grupo de bacterias en cultivo implica la producción de enzima(s), agarolítica(s) que puedan tener posiblemente una función coadyuvante en la digestión y aprovechamiento integral del alimento.

2. La utilización del manitol por bacterias agarolíticas es una propiedad bastante extendida entre este tipo de bacterias.

Referencias bibliográficas.

ANDERSON, J. M.

1963. Aspects of digestive physiology among echinoderms. Proceedings XVI International Congress of Zoology, Washington.

Symposium. The Physiology of Echinodermata :124-129.

BOOLOTIAN, R. A. y R. LASKER

1964. Digestion of brown algae and the distribution of nutrients in the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Comparative Biochemistry and Physiology, 11(3):273-289.

BURZYNSKA, H.

1964. Metody Wykrywania i identyfikacji paleczek grupy *Pseudomonas Achromobacter* i grup pokrewnych. Roczniki PZH, 15(2):171-181.

COLWELL, R. R. y J. LISTON

1962. The Natural Bacterial flora of certain Marine Invertebrates 4(1):23-33.

ETCHEVERRY, H.

1958. Algas marinas chilenas productoras de ficocoloides. Rev. Biol. Mar., 8(1, 2, 3):153).

GARCIA-TELLO, P. y ST. ZALESKI

1970. Qualitative and quantitative changes in aerobic microflora from intestinal contents of South-Baltic cod during storage at 1-2° C., J. Food Science, 35(4):482-485.

GIRARD, A. E., J. D. BUCK y B. J. COSENZA

1968. A nutritional study of some agarolitic marine bacteria. Can. J. Microbiol., 14:1193-1198.

HENDRIE, S. M., W. HODGKISS y J. M. SHEWAN

1964. Considerations on organisms of the *Achromobacter*. *Alcaligenes* group. Ann. Inst. Pasteur, Lille, 15:43-59.

HUGH, R. y E. LEIFSON

1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. J. Bacteriol., 66:24-26.

LEVIN, R. E.

1968. Detection and incidences of specific species of Spoilage Bacteria on Fish. I. Methodology. Applied Microbiology 16(11):1734-1737.

SHINANO, H.

1965. Agar softening bacteria isolated from sea water. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 31(10):840-847.

YAPHE, W.

1963. Proposals on the classification of microorganisms which utilized the polysaccharides of Marine Algae and a definition for Agar. Symposium on Marine Microbiology (ed. Carl H. Oppenheimer, Charles C. Thomas Publisher. III.

ZOBELL, C. E.

1946. Marine Microbiology. Chronica Botanica Co. Waltham, Mass.