

# Comunidades microbianas en sistemas acuáticos naturales



Grupo “**Microbios Marinos**”, Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea, Departamento de Inmunología Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencia y Tecnología, Apdo. 644, E-48080 Bilbao

La investigación que lleva a cabo el Grupo “**Microbios Marinos**” tiene que ver con el análisis de las comunidades microbianas en sistemas acuáticos naturales, principalmente en el medio marino. Se aborda la función de los microbios en el mar, tanto en aguas costeras como oceánicas, mediante el estudio de la abundancia, la composición específica, la diversidad y la actividad de las comunidades de procariotas, bacterias y arqueas, así como de protistas bacterívoros. Se han utilizado estrategias de trabajo tanto experimental como de campo, con la participación en campañas oceanográficas en el mar Mediterráneo así como en aguas del océano Glacial Antártico. También se han ensayado distintas escalas de análisis, desde la interacción a nivel interespecífico protista-bacteria, hasta la relación y el flujo de materia y energía entre comunidades mixtas naturales de procariotas y protistas bacterívoros.

En los sistemas acuáticos planctónicos la biomasa bacteriana supone la mayor fracción del carbono orgánico particulado, llegando incluso a sobrepasar la biomasa fitoplanctónica en ambientes oligotróficos. Esta biomasa se transfiere a los niveles superiores de la red trófica (zooplancton, peces) mediante la depredación que llevan a cabo los protistas bacterívoros, principalmente nanoflagelados y microciliados, y condiciona la productividad biológica del sistema. Por otra parte, las comunidades de bacterias y protozoos no se encuentran uniformemente distribuidas en el espacio acuático. La existencia de focos dispersos de material orgánico provoca su búsqueda por parte de las bacterias mediante mecanismos quimiotácticos, y permite su acumulación y crecimiento en el material particulado.

Los primeros trabajos llevados a cabo por los miembros del grupo fueron de tipo campo y tuvieron que ver con el

**Itxaso Artolozaga, Begoña Ayo, Iñigo Azúa, Marian Unanue y Juan Iriberry**

establecimiento de relaciones funcionales entre la actividad bacteriana, la temperatura y el fitoplancton (Iriberry *et al.*, 1985), así como con el análisis de las comunidades de bacterias en suspensión y adheridas a partículas en aguas costeras del Cantábrico Oriental. Así observamos que, si bien la comunidad adherida era minoritaria (Iriberry *et al.*, 1987), sin embargo sus componentes eran más activos (Iriberry *et al.*, 1990a) y, al contrario que las bacterias en suspensión, no mostraban variabilidad estacional (Unanue *et al.*, 1992). También, analizando varios ecosistemas concluimos que la adherencia no constituía una ventaja selectiva en aquellos sistemas más ricos en nutrientes (Iriberry *et al.*, 1990b). El análisis de la capacidad enzimática extracelular de las bacterias adheridas y en suspensión es otro aspecto que interesó desde un comienzo al grupo. Una elevada proporción de la materia orgánica presente en el agua está en forma de polímeros de naturaleza muy variada. La actividad enzimática extracelular es necesaria para hidrolizar estas macromoléculas y generar moléculas de pequeño peso molecular que sí pueden ser utilizadas como nutrientes. En aguas costeras del Cantábrico Oriental observamos mayores actividades asociadas, a nivel celular, a las bacterias adheridas (Unanue *et al.*, 1993). Más adelante, nuestro grupo fue el primero en encontrar, para aguas del NO del Mediterráneo, la existencia de cinéticas bifásicas ectoenzimáticas acopladas a cinéticas bifásicas de toma de monómeros para las bacterias adheridas y en suspensión (Ayo *et al.*, 2001, Unanue *et al.*, 1999).

La dificultad del trabajo con sistemas particulados en el mar, derivada de la necesidad de utilizar buzos SCUBA o bombas de acción a profundidad para obtener las muestras, incentivó la puesta a punto de un sistema de formación de partículas en el laboratorio a partir de agua de mar natural (Unanue *et al.*, 1998a). Mediante la incubación de las muestras de agua en cilindros rodantes a baja velocidad, conseguíamos un flujo laminar que provocaba la formación de partículas colonizadas por bacterias con las que ensayar diseños experimentales. Así observamos que la relación entre hidrólisis de polímeros y toma de monómeros variaba a lo largo del proceso de descomposición de las partículas, de modo que éstas actuaban como reactores enzimáticos generadores de monómeros que

alimentaban a las bacterias en suspensión del sistema (Agis *et al.*, 1999, Unanue *et al.*, 1998b). Otros aspectos analizados fueron la influencia de la calidad del material particulado en la capacidad de los enzimas para competir a bajas concentraciones de sustrato (Azúa *et al.*, 2003), así como la influencia de la edad de las partículas sobre el comportamiento cinético enzimático (Azúa *et al.*, 2007).

La existencia de estos agregados de bacterias adheridas condiciona la aproximación de los protozoos, el ejercicio de su actividad depredadora y el flujo de materia y energía en la red trófica. Los primeros estudios del grupo sobre depredación por bacterívoros fueron trabajos de campo, y mostraron que la abundancia de presas y depredadores no variaban significativamente en situaciones ambientales de flujo de biomasa muy diferentes (Iriberry *et al.*, 1993). En la interacción bacteria-prot zoo, se pueden considerar al menos tres fases principales: la aproximación del depredador hacia la presa, la ingestión de la misma y su posterior digestión. Hoy en día conocemos que los protistas depredadores son capaces de discernir y mostrarse selectivos en las tres etapas. En nuestro caso, comenzamos analizando la eliminación a corto plazo (ingestión) y largo plazo (digestión) de bacterias alóctonas, y observamos diferencias en el orden de prioridad que indicaban que la eliminación venía determinada por la digestión de las presas (Iriberry *et al.*, 1994a). A continuación estudiamos el consumo a largo plazo (digestión) de varias especies alóctonas y autóctonas observando que el consumo se encontraba más relacionado con características intrínsecas de las especies que con su origen (Iriberry *et al.*, 1994b). También se analizó la importancia del tamaño de la presa en el caso de varios morfotipos de ciliados (Ayo *et al.*, 2001).

Una vez puesto a punto el sistema de formación de partículas en laboratorio, describimos la sucesión de bacterívoros en partículas de tipo nieve marina (Artolozaga *et al.*, 1997), la distribución espacial de los protistas en presencia de partículas (Artolozaga *et al.*, 2000), y proporcionamos los primeros datos directos de depredación de nanoflagelados y ciliados sobre bacterias adheridas (Artolozaga *et al.*, 2002). Los últimos trabajos del grupo en este campo han tenido que ver con la evaluación de la importancia del fenómeno de la resistencia bacteriana a la depredación (Alonso-Sáez *et al.*, 2009) y con el análisis de los factores que intervienen en la elección de presas por los depredadores (Ayo *et al.*, 2009). Entre ellos cabe destacar la utilización de la glicina y otros D- y L- aminoácidos como infoquímicos de gran importancia en la interacción protozoo-bacteria (Ayo *et al.*, 2010).

Durante los próximos años uno de los principales objetivos del grupo será analizar la potencialidad enzimática del bacterioplancton, tanto en aguas superficiales como profundas, en distintas masas de agua del Océano Global (océanos Atlántico, Índico y Pacífico), participando en la Campaña de Circunnavegación Malaspina-2010. Un segundo objetivo de investigación será establecer nexos de unión entre la diversidad taxonómica y la función ecológica de la comunidad procariota, en relación con la variabilidad medioambiental y biológica del ecosistema marino costero del Cantábrico Oriental.

**Juan Iriberry** es Catedrático de Microbiología de la Universidad del País Vasco-Euskal Herriko Unibertsitatea. Se doctoró en 1984 por la citada Universidad, donde lidera el grupo de investigación "Microbios Marinos". Su interés se ha centrado en comprender el funcionamiento de las comunidades de microbios heterótrofos marinos en relación con el medioambiente en el que viven. Han sido objeto de especial atención aspectos tales como las relaciones tróficas a nivel de comunidad, la actividad y eficiencia de procariotas que viven en suspensión y adheridos a partículas, las interacciones depredador-presa entre protistas y bacterias, la comunicación mediante infoquímicos y la depredación selectiva como condicionante de la estructura y composición de la comunidad procariota. Su trabajo ha sido principalmente experimental, si bien lo ha combinado con trabajo de campo en aguas costeras y campañas oceanográficas en el Mediterráneo y Círculo Polar Antártico. Participó en la Comisión Gestora del Grupo Microbiología del Medio Acuático-SEM y fue su primer presidente entre 1995 y 2001.



## PUBLICACIONES REPRESENTATIVAS DEL GRUPO "MICROBIOS MARINOS"

- Agis M, Unanue M, Iriberry J, Herndl GJ. (1999). Bacterial colonization and ectoenzymatic activity in phytoplankton-derived model particles. Part II. Cleavage and uptake of carbohydrates. *Microb. Ecol.* 36:66-74.
- Alonso-Sáez L, Unanue M, Latatu A, Azúa I, Ayo B, Artolozaga I, Iriberry J. (2009). Changes in marine prokaryotic community induced by varying types of dissolved organic matter and subsequent grazing pressure. *J. Plankton Res.* 31:1373-1383.
- Artolozaga I, Ayo B, Latatu A, Azúa I, Unanue M, Iriberry J. (2000). Spatial distribution of protists in the presence of macroaggregates in a marine system. *FEMS Microbiol. Ecol.* 33:191-196.
- Artolozaga I, Santamaría E, López A, Ayo B, Iriberry J. (1997). Succession of bacterivorous protists on laboratory-made marine snow. *J. Plankton Res.* 19:1429-1440.
- Artolozaga I, Valcárcel M, Ayo B, Latatu A, Iriberry J. (2002). Grazing rates of bacterivorous protists inhabiting diverse marine planktonic microenvironments. *Limnol. Oceanogr.* 47:142-150.
- Ayo B, Latatu A, Artolozaga I, Jürgens K, Iriberry J. (2009). Factors affecting preference responses of the freshwater ciliate *Uronema nigricans* to bacterial prey. *J. Eukaryot. Microbiol.* 56:188-193.
- Ayo B, Santamaría E, Latatu A, Artolozaga I, Azúa I, Iriberry J. (2001). Grazing rates of diverse morphotypes of bacterivorous ciliates feeding on four allochthonous bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 33:455-460.
- Ayo B, Txakartegi A, Baña Z, Artolozaga I, Iriberry J. (2010). Chemosensory response of marine flagellate towards L- and D- dissolved free amino acids generated during heavy grazing on bacteria. *Int. Microbiol.* 13:151-158.
- Ayo B, Unanue M, Azúa I, Gorsky G, Turley C, Iriberry J. (2001). Kinetics of glucose and amino acids uptake by attached and free-living marine bacteria in oligotrophic waters. *Mar. Biol.* 138:1071-1076.
- Azúa I, Unanue M, Ayo B, Artolozaga I, Arrieta JM, Iriberry J. (2003). Influence of organic matter quality in the cleavage of polymers by marine bacterial communities. *J. Plankton Res.* 25:1451-1460.



**Figura 1.** De izquierda a derecha, Juan Iriberry, Itxaso Artolozaga, Marian Unanue, Begoña Ayo e Iñigo Azúa. Al fondo, unos cormoranes grandes (*Phalacrocorax carbo*) en situación de subida de marea.

- Azúa I, Unanue M, Ayo B, Artolozaga I, Iriberry J. (2007). Influence of age of aggregates and prokaryotic abundance on glucose and leucine uptake by heterotrophic marine prokaryotes. *Int. Microbiol.* 10:13-18.
- Iriberry J, Ayo B, Artolozaga I, Barcina I, Egea L. (1994b). Grazing on allochthonous vs. autochthonous bacteria in river water. *Let. Appl. Microbiol.* 18:12-14.
- Iriberry J, Ayo B, Unanue M, Barcina I, Egea L. (1993). Channeling of bacterioplanktonic production towards phagotrophic flagellates and ciliates under different seasonal conditions in a river. *Microb. Ecol.* 26:111-124.
- Iriberry J, Azúa I, Labirua-Iturburu A, Artolozaga I, Barcina I. (1994a). Differential elimination of enteric bacteria by protists in a freshwater system. *J. Appl. Bacteriol.* 77:549-552.
- Iriberry J, Unanue M, Ayo B, Barcina I, Egea L. (1990a). Bacterial production and growth rate estimation from <sup>3</sup>H-Thymidine incorporation for attached and free-living bacteria in aquatic systems. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:483-387.
- Iriberry J, Unanue M, Ayo B, Barcina I, Egea L. (1990b). Attached and free-living dividing bacteria in two aquatic systems. *Let. Appl. Microbiol.* 11:87-89.
- Iriberry J, Unanue M, Barcina I, Egea L. (1987). Seasonal variation in population density and heterotrophic activity of the attached and free-living bacteria in coastal waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 53:2308-2314.
- Iriberry J, Undurraga A, Muela A, Egea L. (1985). Heterotrophic bacterial activity in coastal waters: functional relationship of temperature and phytoplankton population. *Ecol. Model.* 28:113-120.
- Unanue M, Ayo B, Agís M, Slezak D, Herndl GJ, Iriberry J. (1999). Ecto enzymatic activity and uptake of monomers in marine bacterioplankton described by a biphasic kinetic model. *Microb. Ecol.* 37:36-48.
- Unanue M, Ayo B, Azúa I, Barcina I, Iriberry J. (1992). Temporal variability of attached and free-living bacteria in coastal waters. *Microb. Ecol.* 23:27-39.
- Unanue M, Azúa I, Arrieta JM, Herndl GJ, Iriberry J. (1998a). Laboratory-made particles as a useful approach to analyse microbial processes in marine macroaggregates. *FEMS Microbiol. Ecol.* 26:325-334.
- Unanue M, Azúa I, Arrieta JM, Labirua-Iturburu A, Egea L, Iriberry J. (1998b). Bacterial colonization and ectoenzymatic activity in phytoplankton-derived model particles. Cleavage of peptides and uptake of amino acids. *Microb. Ecol.* 35:136-146.
- Unanue M, Azúa I, Barcina I, Egea L, Iriberry J. (1993). Size distribution of aminopeptidase activity and bacterial incorporation of dissolved substrates in three aquatic ecosystems. *FEMS Microbiol. Ecol.* 102:175-183.

## PROYECTOS REPRESENTATIVOS DEL GRUPO "MICROBIOS MARINOS"

- CAMBIO. Diversidad y Función del Bacterioplancton en el Cantábrico Oriental: Depredación y Recursos Como Motores del Cambio Estacional. IP: Juan Iriberry, MICINN CTM-2010-19308, 2010 a 2013, 152.460,00 €
- CIRCUNNAVIGATION EXPEDITION MALASPINA 2010: Global Change and Biodiversity Exploration of the Global Ocean. IC: Carlos Duarte (IMEDEA-CSIC) IP UPV-EHU: Juan Iriberry, MICINN Consolidar-Ingenio CSD-2008-00077, 2008 a 2013, 5.658.000,00 € Total. UPV-EHU: 69.652,00 €
- EFICIENCIA. Eficiencia de Crecimiento del Bacterioplancton Marino y Depredación por Bacterívoros. IP: Juan Iriberry, MCYT CTM-2006-08023, 2006 a 2009, 107.690,00 €.
- QUIMIC. Comunicación Química en la Interrelación Protozoos-Bacterias. IP: Juan Iriberry, MCYT BOS-2003-06211, 2004 a 2007, 68.540,00 €
- DAMINO. D-aminoácidos como Indicadores de Productividad Biológica en Sistemas Marinos Costeros. IP: Marian Unanue, MCYT REN-2003-05276, 2004 a 2007, 63.250,00 €
- Bacterias Resistentes a la Depredación en los Sistemas Acuáticos: Origen, Función, Importancia. IP: Juan Iriberry, DGESIC-MEC, PB-97-0635, GV PI-98-25, 1998 a 2001, 69.717,00 €
- DHARMA: Diversidad, Heterotrofia, Autotrofia y Relaciones entre los Microorganismos Antárticos. IP: Carlos Pedrós-Alió, CICYT ANT-97-1155, 1998 a 1999, 204.344 € Total. UPV-EHU: 24.317,00 €
- EMPS: Heterotrophic Microbial Processes Associated with the Degradation of Particulate Material in Mediterranean Sea Waters. IC: Micheline Bianchi (Francia), IP: Juan Iriberry (España), Unión Europea MAS2-CT94-0090 y CICYT AMB-95-1217-CE, 1994 a 1996, 926.873,00 € Total. UPV-EHU: 74.002,00 €

## MIEMBROS DEL GRUPO "MICROBIOS MARINOS" UPV-EHU

### Investigador Principal:

Dr. Juan Iriberry, catedrático de universidad.

### Investigadores:

Dra. Marian Unanue Vivanco, titular de universidad.

Dra. Begoña Ayo Millán, titular de universidad.

Dr. Iñigo Azúa Pérez, profesor agregado.

Dra. Itxaso Artolozaga Bengoetxea, profesora colaboradora.

### Doctorandos en el momento actual:

Lda. Zuriñe Baña García.

Lda. Itziar Goirieta Boira.