

PRODUCCION DE ANTIBIOTICOS POR BACTERIAS MARINAS Y SU UTILIZACION EN ACUICULTURA

LODEIROS, C. J. M., E. FERNANDEZ, A. VELEZ y J. BASTARDO¹.

Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

¹*Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.*

RESUMEN: La mayoría de los aportes científicos sobre la producción de antibióticos por bacterias marinas, han sido enfocados hacia el estudio del efecto autodepurador del mar y el entendimiento ecológico en microambientes marinos. En el presente estudio se muestra la producción de sustancias antibacterianas por bacterias marinas aisladas de las zonas costeras del Nor-Oriente de Venezuela. Empleando técnicas de antibiosis directa en medios sólidos, se determinó que el 3% de las bacterias aisladas de diferentes fuentes marinas, producen sustancias inhibitoras del crecimiento de alguno de los tres gérmenes reveladores utilizados (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* E35 y *Vibrio anguillarum* Epp3). De estas bacterias, 3 son capaces de inhibir el crecimiento en más del 65% de las 23 cepas caracterizadas como patógenas para organismos acuáticos. Los resultados sugieren la posibilidad de utilizar estas cepas marinas o sus compuestos antibacteriales, en la prevención y control de enfermedades en acuicultura.

ABSTRACT: Most scientific works on antibiotics production by marine bacteria has been directed towards the effect on seawater autodepuration and the ecological understanding of marine microenvironments. In this study we show the production of antibacterial substances by marine bacteria isolated from coastal zones in north-eastern Venezuela. Using direct antibiosis techniques in solid medium, it was determined that 3% of the bacteria isolated from different marine source, produced growth-inhibiting substances of at least one of the revelator germs tested (*Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Pseudomonas aeruginosa* E35 y *Vibrio anguillarum* Epp3). Three of this bacteria were capable of inhibiting growth in more than 65% of 23 pathogenic bacteria in aquatic organisms. These results suggest the possibility of using these marine bacteria or their antibacterial substances in the prevention and disease control in aquaculture.

INTRODUCCION

El estudio de la antibiosis en bacterias marinas ha estado dirigido hacia la visualización del ambiente marino en su efecto autodepurador y al entendimiento de interrelaciones ecológicas de microorganismos en ambientes epífitos de macroalgas marinas (GAUTIER, 1969; ALEXANDER, 1971; ANDERSEN *et al.*, FREITAS y FREDRICKSON, 1978; BARJA, 1979; FREDRICKSON y STEPHANOUPULOS, 1981; LEMOS *et al.*, 1985). No obstante, DOPAZO *et al.* (1988) exponen que la gran capacidad antagónica de algunas cepas marinas sobre bacterias patógenas de peces, encontradas en sus estudios, sugieren un potencial en la uti-

lización de las mismas para el biocontrol de epizootias en cultivos masivos de peces. Por otra parte, LODEIROS *et al.* (1988) realizaron un estudio del potencial de producción de antibióticos por la flora bacteriana asociada a 13 monocultivos microalgales de utilidad en acuicultura, sugiriendo el posible uso profiláctico de ciertos monocultivos en sistemas de cultivo masivo de organismos marinos.

El mundo marino es una enorme fuente de recursos, dentro de ellos, los antibióticos producidos de forma natural, para mantener en parte, la estabilidad ecológica de los múltiples ecosistemas marinos, podrían ser de gran

utilidad en el control de enfermedades tanto en acuicultura como en patología humana. En este sentido, el presente estudio se realizó con el objetivo de observar la capacidad antibiótica de bacterias aisladas de diferentes fuentes marinas, ante gérmenes patógenos en organismos acuáticos, para determinar el posible potencial de uso de estas bacterias marinas en la prevención y control de enfermedades en organismos acuáticos bajo condiciones de cultivo.

MATERIALES Y METODOS

RECOLECCION DE MUESTRAS:

Se colectaron muestras de agua, epibiontes de moluscos (*Perna perna*, *Pinctada imbricata*, *Arca zebra*), corales blandos (*Eunica* sp.), macroalgas (*Ulva* sp., *Sargassum* sp., *Caulerpa ramosa*, *Caulerpa sertularioides*, *Halimeda* sp.), Ascidias (*Ascidia nigra*, *Ascidia* sp.), concentrados de fitoplancton obtenidos por caladas con red fitoplanctónica. Las muestras se obtuvieron por recolección manual y depositadas en frascos estériles o bolsas plásticas codificadas. Para la recolección de muestras a profundidades mayores de 5m se utilizó un equipo de buceo autónomo (SCUBA). El material se mantuvo en un recipiente isotérmico con hielo, hasta su procesamiento, el cual se realizó dentro de las tres horas siguientes a su recolección. Por otra parte, se obtuvieron muestras de monocultivos microalgales pertenecientes a la colección del Instituto Oceanográfico de Venezuela (monocultivos de *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis chunii*, *Isochrhysis aff galbana* (clone T - ISO), *Thalassiosira pseudonana* clone 3H, *Dunaliella tertiolecta*, *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros calcitrans*, *Pseudoisochrysis paradoxa*, *Pyramimonas virginica*, *Nannochloris oculata*, *Platynomonas* sp., *Phytomonas* sp.).

El área de muestreo se concentró en zonas costeras del Golfo de Cariaco y localidades adyacentes a la ciudad de Cumaná, Edo. Sucre, Venezuela (Fig. 1)

AISLAMIENTO DE LAS BACTERIAS:

Las muestras, excepto las de aguas y monocultivos microalgales, fueron trituradas asépticamente con una varilla de vidrio en agua de mar filtrada, envejecida y estéril; de este triturado se tomaron alícuotas para ser sembradas por extensión en placas con Agar Marino (MA, Difco), incubándose a 22 - 24° C durante 4-6 días. Las colonias desarrolladas fueron aisladas con un asa de platino y tras resiembras sucesivas en MA se obtuvieron los cultivos puros, los cuales se utilizaron para realizar los análisis que se describen a continuación.

CAPACIDAD ANTIBACTERIANA PRELIMINAR:

La capacidad inhibitoria de las bacterias marinas aisladas fue determinada por el método directo de GAUTHIER (1976), ante los siguientes gérmenes reveladores: (1) *Staphylococcus aureus* ATCC25923, una bacteria caracterizada como altamente sensible a antibióticos producidos por bacterias marinas (GAUTHIER 1969; BALLESTER *et al.*, 1977; BERNARD y PETRAZZI, 1977; BARJA, 1979; LEMOS *et al.* 1985); (2) *Pseudomonas aeruginosa* E35, una bacteria de comprobada patogenicidad en bivalvos marinos, potencialmente patógena en el hombre y de alta resistencia a antibióticos comerciales (LODEIROS *et al.*, 1987), y (3) *Vibrio anguillarum* EPP3, una bacteria caracterizada como patógena de bivalvos marinos tropicales (FREITES, Com. pers.)

IDENTIFICACION BACTERIANA:

Las bacterias marinas caracterizadas como productoras de sustancias antibacterianas capaces de inhibir el crecimiento de al menos un germen revelador, se identificaron a nivel de género, siguiendo los esquemas de SHEWAN *et al.* (1960), YOSHIMISU *et al.* (1980) y OLIVER (1982).

CAPACIDAD ANTIBIOTICA ANTE CEPAS EN ORGANISMOS ACUATICOS:

Para este análisis, la capacidad inhibitoria de las cepas marinas caracterizadas preliminarmente como productoras de sustancias antibacterianas fue probada ante un considerable número de bacterias patógenas en organismos acuáticos, obtenidos de cultivos de colección do-

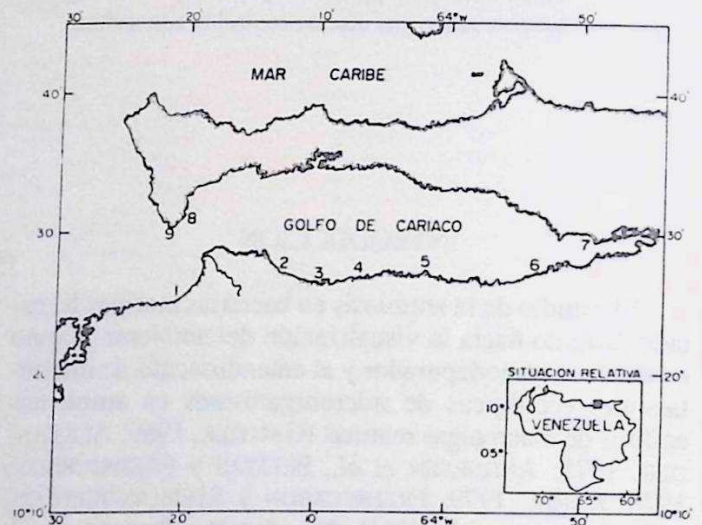


Fig. 1.- Ubicación relativa de las localidades de muestreo. 1: San Luis; 2: El Peñón; 3: Turpialito; 4: Ensenada Honda; 5: Maigualida; 6: Epín; 7: Punta Cachipo; 8: Pariche; 9: Punta Arenas.

nados por el Departamento de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Santiago (España) y bacterias patógenas causantes de epizootias de larvas de bivalvos marinos, establecidos en la Estación Hidrobiológica de Turpialito perteneciente al Instituto Oceanográfico de Venezuela (Edo. Sucre, Venezuela).

RESULTADOS Y DISCUSION

De un total de 827 bacterias aisladas de diversos componentes marinos, 24 (3%) producían sustancias de naturaleza antibiótica, específicamente antibacterianas; este hecho viene a indicar que las bacterias marinas intervienen en gran parte, en la determinación del carácter autodepurador que se le ha adjudicado al mar, como ya lo habían sugerido y comprobado otros investigadores (NICATI and RIETSCH 1885, citado por BALLESTER *et al.*, 1977; ZOBELL, 1936; YACCARO *et al.*, 1950 WOOD, 1953; GAUTHIER, 1969; BARJA, 1979; PUSHKAR, 1979). No obstante, debemos señalar que las características físico-químicas del mar, suelen ser adversas a los microorganismos

de origen telúrico, lo cual contribuye a determinar dicho carácter y que gran parte del mismo es debido a sustancias no sólo producidas por bacterias o microorganismos en general, sino también por organismos sistemáticamente superiores, hecho constatado por GARCIA-TELLO y CEDEÑO (1975).

Como se muestra en la Tabla 1 el germen revelador *Staphylococcus aureus* ATCC25923, fue el de mayor sensibilidad a las sustancias antibacterianas producidas por las bacterias marinas probadas, ello corrobora la evidencia de la alta sensibilidad de esta especie a las sustancias antibióticas producidas por bacterias de origen marino, como ya lo habían demostrado algunos investigadores (GAUTHIER; BALLESTER *et al.*; BERNARD y PETRAZZI; BARJA; LEMOS *et al.* op. cit.). Asimismo, la poca sensibilidad encontrada en el germen revelador *Pseudomonas aeruginosa* E35, viene a reafirmar el carácter de resistencia a antibióticos comerciales frecuentemente adjudicado a esta especie bacteriana.

Es conveniente señalar, que al parecer las bacterias

TABLA 1.- Inhibición del crecimiento de los gérmenes reveladores por las bacterias productoras de sustancias antibacterianas.

| CEPAS PRODUCTORAS | GERMENES REVELADORES | | |
|-------------------|---|--------------------------------------|-----------------------------------|
| | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> E35 | <i>Vibrio anguillarum</i> EPp3 |
| P 1 | + | + | + |
| P 2 | + | | + |
| P 3 | + | + | |
| P 4 | + | | + |
| P 5 | + | | + |
| P 6 | + | | + |
| P 7 | + | | + |
| P 8 | + | | + |
| P 9 | + | | |
| P 10 | + | + | + |
| P 11 | + | | + |
| P 12 | + | | + |
| P 13 | + | | + |
| P 14 | + | | + |
| P 15 | + | | |
| P 16 | + | | |
| P 17 | + | | |
| PSL 1 | + | | |
| PSL 2 | + | | |
| PSL 3 | + | | |
| X24 | + | | |
| 24 | + | | + |
| 39 | + | | + |
| 42 | + | | |

+ Presencia de inhibición.

marinas productoras de antibióticos se encuentran muy asociadas con algas marinas, ya que de las 24 cepas caracterizadas como productoras de sustancias de naturaleza antibiótica, 9 se aislaron de algas marinas, particularmente de aquellas pertenecientes al género *Caulerpa* (Tabla 2). Este hecho es lógico, ya que las algas marinas excretan una gran cantidad de sustancias tales como carbohidratos, ácidos orgánicos, sustancias nitrogenadas, lípidos, fosfatos orgánicos, vitaminas, estimuladores de crecimiento etc. (HELLEBUST, 1974), los cuales suponen un atractivo nutricional para la colonización bacteriana heterotrófica. Esto podría inducir una diversidad de interrelaciones bacterianas, originadas en principio por la competición por nutrientes, las cuales posteriormente derivan en antagonismo e interferencia, que evolutivamente se revelan con la producción de sustancias con actividad antibiótica, manteniendo así, la dinámica y estructura de las poblaciones bacterianas en los microambientes algales, tal como lo indican FREDRICKSON y STEPHANOPOULOS (1981). Un dato interesante es dado por LEMOS *et al.* (1985), quienes, al aislar y caracterizar la producción de antibióticos en bacterias asociadas a macroalgas marinas, encontraron que el 16.9% producían sustancias inhibitorias del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, llegando a la conclusión que la producción de anti-

bióticos por este tipo de bacterias es un evento frecuente en los microambientes epífitos de algas marinas, el cual se produce por efecto de interrelaciones ecológicas entre las poblaciones bacterianas.

De la Tabla 2 se puede deducir que las bacterias productoras de sustancias inhibitorias pertenecen a una gran diversidad de géneros, pudiéndose constatar que la producción de sustancias antibacterianas en el lecho marino, no es específico de un grupo taxonómico en particular. Sin embargo, en el presente trabajo, la mayoría de las bacterias de este tipo, fueron clasificadas dentro de los géneros *Alteromonas* y *Pseudomonas* (52%), los cuales son taxonómicamente semejantes según LEE *et al.* (1977).

Como se puede observar en la Tabla 3, las cepas *Vibrio anquillarum* LE y *Vibrio alginolyticus* 3EOT2, resultaron ser las más sensibles a las sustancias antibióticas producidas por las bacterias marinas (62.5% y 37.5% de sensibilidad, respectivamente), lo cual hace suponer una alta sensibilidad del género *Vibrio* a sustancias antibacterianas de origen marino; hipótesis soportada por el porcentaje de sensibilidad más bajo, encontrado en los representantes patógenos de los otros géneros (*Aeromo-*

TABLA 2.- Identificación taxonómica de las cepas productoras de sustancias antibacterianas y su origen de aislamiento.

| CEPAS PRODUCTORAS | GENERO | ORIGEN DE AISLAMIENTO |
|-------------------|-----------------------|--|
| P 1 | <i>Alteromonas</i> | Agua de mar (Turpialito) |
| P 2 | <i>Alteromonas</i> | Monocultivo de <i>Thalassiosira pseudonana</i> clone T-ISO |
| P 3 | <i>Flavobacterium</i> | Sedimento (Turpialito) |
| P 4 | <i>Acinetobacter</i> | Monocultivo de <i>Tetraselmis suecica</i> |
| P 5 | <i>Cytophaga</i> | Sedimento (El Peñón) |
| P 6 | <i>Flexibacter</i> | Sedimento (Turpialito) |
| P 7 | <i>Alcaligenes</i> | Monocultivo de <i>Tetraselmis suecica</i> |
| P 8 | <i>Vibrio</i> | Monocultivo de <i>Skeletonema costatum</i> |
| P 9 | <i>Vibrio</i> | Agua de mar (Turpialito) |
| P 10 | <i>Alteromonas</i> | Agua de mar, playa San Luis (Los Bordonos) |
| P 11 | <i>Flavobacterium</i> | Agua (Laguna de Los Patos) |
| P 12 | <i>Pseudomonas</i> | Agua (Laguna de Los Patos) |
| P 13 | <i>Pseudomonas</i> | Agua de mar, playa de San Luis (Los Uveros) |
| P 14 | <i>Flavobacterium</i> | Macroalga <i>Caulerpa sertularioides</i> (Turpialito) |
| P 15 | <i>Alteromonas</i> | Agua de mar, playa San Luis (Los Bordonos) |
| P 16 | <i>Aeromonas</i> | Agua de mar, playa San Luis (Bordonos-Cumanagoto) |
| P 17 | <i>Pseudomonas</i> | Agua de mar, playa San Luis (Bordonos-Cumanagoto) |
| PSL 1 | <i>Alteromonas</i> | Agua de mar, playa San Luis (Los Uveros) |
| PSL 2 | <i>Flavobacterium</i> | Agua de mar, playa San Luis (Los Bordonos) |
| PSL 3 | <i>Flavobacterium</i> | Agua de mar, playa San Luis (Los Bordonos) |
| X24 | <i>Alteromonas</i> | concentrado fitoplanctónico (Punta Cachipo) |
| 24 | <i>Alteromonas</i> | Macroalga <i>Caulerpa racemosa</i> (Punta Arenas) |
| 39 | <i>Photobacterium</i> | Macroalga <i>Caulerpa racemosa</i> (Punta Arenas) |
| 42 | <i>Alteromonas</i> | Macroalga <i>Caulerpa racemosa</i> (Punta Arenas) |

TABLA 3.- Relación de sensibilidad e inhibición de las cepas productoras de sustancias antibacterianas y cepas patógenas en organismos acuáticos.

| CEPAS PATOGENAS | CEPAS PRODUCTORAS DE ANTIBIOTICOS | | | | | | | | | | | | | | | | | % INHIBICION | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-----------------------------------|----|----|----|-----|----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------------|-----|-----|-----|-----|----|-----|----|----------------|
| | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | P8 | P9 | P10 | P11 | P12 | P13 | P14 | P15 | P16 | P17 | | SL1 | SL2 | SL3 | x24 | 24 | 39 | 42 | % SENSIBILIDAD |
| <i>Vibrio alginolyticus</i> 3 EOT 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 37.5 |
| <i>Vibrio</i> sp. 4 ELT 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 29.2 |
| <i>Vibrio anguillarum</i> 4 ELT 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8.3 |
| <i>Vibrio anguillarum</i> 4 AOT1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 4.2 |
| <i>Vibrio alginolyticus</i> 4 AOT1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 12.5 |
| <i>Vibrio tubiashii</i> EX1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 25.0 |
| <i>Vibrio tubiashii</i> 0-85-15 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 20.8 |
| <i>Vibrio tubiashii</i> 0-85-09 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 20.8 |
| <i>Vibrio</i> sp. C1ATC b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 12.5 |
| <i>Vibrio</i> sp. C2ATC b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 20.8 |
| <i>Vibrio</i> sp. C3ATC b | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 29.2 |
| <i>Vibrio</i> sp. EPp1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 29.2 |
| <i>Vibrio</i> sp. EPp2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8.3 |
| <i>Pseudomonas</i> sp. C1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 16.7 |
| <i>Pseudomonas</i> sp. C2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 62.5 |
| <i>Vibrio anguillarum</i> LE | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 20.8 |
| <i>Vibrio anguillarum</i> ATCC14181 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 16.7 |
| <i>Vibrio anguillarum</i> R-82 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 29.2 |
| <i>Aeromonas salmonicida</i> 3.93 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8.3 |
| <i>Aeromonas salmonicida</i> 3.101 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 16.7 |
| <i>Aeromonas hydrophyla</i> B-32 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 16.7 |
| <i>Aeromonas hydrophyla</i> B-51 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 16.7 |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> T1S | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 20.8 |
| <i>Yersinia ruckeri</i> PP-31 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 20.8 |
| % INHIBICION | 130 | 87 | 44 | 00 | 130 | 87 | 130 | 174 | 87 | 44 | 87 | 652 | 652 | 739 | 87 | 130 | 130 | 44 | 87 | 87 | 87 | 174 | 44 | 261 | | |

nas, *Yersinia*, *Pseudomonas*). No obstante, es conveniente señalar que la sensibilidad a antibióticos estará en función de la selección evolutiva de resistencias ante las sustancias antibacterianas a nivel de especies, y que una forma de aumentar el número de bacterias altamente resistentes a antibióticos, es la utilización irracional de los mismos, en este caso, en sistemas de cultivos de organismos acuáticos.

Las cepas P12, P13, P14 y x24, fueron capaces de inhibir, en más del 65%, el crecimiento de las bacterias patógenas en organismos acuáticos. Estos resultados sugieren que dichas cepas y especialmente la cepa x24 que produjo un 95% de inhibición (Tabla 3), pudieran ser utilizadas en la prevención y control de enfermedades en acuicultura. Sin embargo, es importante señalar que la determinación de la utilidad de estas bacterias en acuicultura, debe ser establecida, después de realizar pruebas "In vivo" de toxicidad, capacidad invasora y eficacia, tanto de la cepa como de sus compuestos antibióticos en cultivos masivos de organismos acuáticos. En este sentido, los planteamientos sugeridos en la presente investigación conllevan a futuros estudios a fin de comprobar su aplicación en los cultivos de organismos acuáticos.

AGRADECIMIENTOS

Parte de la presente investigación ha sido subvencionada por el Concejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT), bajo el código SI-1721. Los autores agradecen la colaboración prestada por el personal del Lab. de Bacteriología Marina del Instituto Oceanográfico de Venezuela, en el suministro de materiales y reactivos para la realización de la presente investigación. CESAR LODEIROS SEJO agradece al CONOCIT por el otorgamiento de beca de estudios de postgrado y al Sr. EPIFANIO HERNANDEZ por la elaboración del material gráfico.

REFERENCIAS

- ALEXANDER, M. 1971. *Microbial ecology*. John Wiley; New York. 343 pp.
- ANDERSEN, R. J., M.S. WOLF and D.J. FAULKNER. 1974. Autotoxic antibiotic production by a marine *Chromobacterium*. *Mar. Biol.* 27:281-285.
- BALLESTER, M., J. M. BALLESTER and J.P. BELAICH. 1977. Isolation and characterization of a high molecular weight antibiotic produce by marine bacterium. *Microbial Ecology*. 3:289-303.
- BARJA, J. L. 1979. Interrelaciones microbianas en el medio marino. Aislamiento y caracterización de un antibiótico producido por una bacteria marina. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. España. 136 pp.
- BERNARD, P and G. PETRAZZI. 1977. Purification partielle de deux antibiotiques produits par une bacterie marine appartenant un genre *Alteromonas*. *Rev. Ins. Oceanogr. Med.* 45-46: 59-70.
- DOPAZO, C. P., M. LEMOS, C. LODEIROS, J. BOLINCHES, J. BARJA and A. TORANZO. 1988. Inhibitory activity of antibiotic-producing marine bacteria against fish-pathology. *J. Appl. Bacteriol.* (En prensa).
- FREDRICKSON, A. G. and G. STEPHANOPOULUS. 1981. Microbial competition. *Science*. 213: 272-278.
- FREITAS, M. J. and A. G. FREDRICKSON. 1978. Inhibition as a factor in the maintenance of microbial ecosystems. *J. Gen. Microbiol.* 106: 307-320.
- GARCIA-TELLO, P. y G. CEDEÑO. 1975. Algunos invertebrados aislados del Mar Caribe con propiedades inhibitorias del desarrollo de microorganismos. *Bol. Inst. Bact. Chile.* 17(1-2): 52-53.
- GAUTHIER, M. J. 1969. Sustances antibactériennes produits par les bactéries marines. I Etude systématique de l'activité antagoniste de souches bactériennes marines vis-a-vis de germes telluriques. *Rev. Ins. Oceanogr. Med.* 15-16:41-60.
- GAUTHIER, M. J. 1976. *Alteromonas rubra* sp. nov., a new marine antibiotic-producing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 26: 459-466.
- HALLEBUST, J. A. 1974. Extracellular Products. En: "Algal Physiology and Biochemistry" N.D. Steward (Ed.) Cap. 30. pp: 838-863.
- LEE, J.V., D. M. GIBSON and J.M. SHEWAN (1977). A numerical taxonomic study of some pseudomonas-like marine bacteria. *J.Gen. Microbiol.* 98: 439-451.
- LEMONS, M. L., A. E. TORANNO and J.L. BARJA. 1985. Antibiotic activity of epiphytic bacteria isolated

from intertidal seaweeds. *Microbial Ecology*. 11:149-163.

LODEIROS, C.J., J. BOLINCHES, C.P. DOPAZO and A. TORANZO. 1987. Bacillar necrosis in hatcheries of *Ostrea edulis* in Spain. *Aquaculture* 65: 19-25.

LODEIROS, C., I. CAMPOS y N. MARIN. 1988. Producción de antibióticos por la flora asociada a monocultivos microalgales de utilidad en acuicultura. *Mem. Soc. Cienc. Nat. La Salle*. (En solicitud de publicación).

OLIVIER, J. D. 1982. Taxonomic scheme for the identification of marine bacteria. *Deep-sea Research*. 29(6A): 795-798.

PUSHKAR, N. K. 1979. Potential biomedical de la mer. En: "Les ressources de la mer" *Impact* 29(2): 127-140.

SHEWAN, J. M., G. HOBBS and W. HODKISS. 1960. A determinative scheme for the identification of certain genera of gram-negative bacteria with special reference to Pseudomonadacea. *J. App. Bacteriol.* 23: 379-390.

VACCARO, R. F., D.M. BRIGG, C.L. PAREY and KETCHUM. 1950. Viability of *E. coli* in sea water. *Amer. j. Public. Health*. 40: 1257-1266.

WOOD, E. J. F. 1953. Heterotrophic bacteria in marine environments of Eastern Australia. *Austr. J. Freshwater Res.* 4: 160-200.

YOSHIMISU, M., T. KIMURA and M. SAKAI. 1980. Microflora of the embryonic and the fry salmonids. *Bull. Jap. Sci. Fish* 46: 967-975.

ZOBELL, C. E. 1936. Bactericidal action of sea water. *Proc. Exp. Biol. Med.* 34: 113-116.

(Manuscrito recibido el 20 de Febrero de 1989)