

Isolation and characterization of culturable bacteria from tropical coastal waters

Aislamiento y caracterización de bacterias cultivables de aguas costeras tropicales

C-W Lee^{1*}, A Y-F Ng¹, K Narayanan², E U-H Sim³, C-C Ng¹

¹ Institute of Biological Sciences, University of Malaya, 50603 Kuala Lumpur, Malaysia. * E-mail: lee@um.edu.my

² Department of Genetics and Genomic Sciences, Mount Sinai School of Medicine, New York, USA.

Present address: School of Science, Monash University, Sunway Campus, Selangor, Malaysia.

³ Department of Molecular Biology, Faculty of Resource Science and Technology, Universiti Malaysia Sarawak, Malaysia.

Abstract

In this study we isolated and characterized some culturable bacteria from tropical coastal waters of Peninsular Malaysia. We obtained between 0.23 and 1.85×10^3 cfu mL⁻¹ in the Zobell 2216E medium, and cultured 0.04% to 0.12% of total bacterial counts. Different bacterial strains were then selected by 16S rDNA RFLP using four restriction enzymes (*DdeI*, *HhaI*, *RsaI*, and *Sau3AI*), of which *HhaI* gave the most RFLP patterns. A total of 54 unique strains were obtained and these were identified by their 16S rDNA gene sequence. These bacterial strains could be divided into five classes: 38 strains of γ -Proteobacteria (61.1%); 3 strains of α -Proteobacteria (5.5%); 2 strains of the Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides group (3.7%); 3 strains of high GC, Gram-positive bacteria (5.5%); and 13 strains of low GC, Gram-positive bacteria (24.1%). These isolates have good potential for further biotechnological studies since about 56% of the isolates exhibited amylase activity, whereas 36% and 18% of the isolates had protease and lipase, respectively. Most (>70%) of the isolates also produced poly- β -hydroxybutyrate.

Key words: 16S rDNA RFLP, marine bacteria, South China Sea, Straits of Malacca, ZoBell 2216E.

Resumen

En este estudio se aislaron y caracterizaron algunas bacterias cultivables de las aguas costeras tropicales de Malasia Peninsular. Se obtuvieron entre 0.23 y 1.85×10^3 ufc mL⁻¹ en medio de cultivo Zobell 2216E, y se cultivaron 0.04% a 0.12% de los conteos totales de bacterias. Se seleccionaron diferentes cepas bacterianas mediante RFLP del gen 16S rDNA usando cuatro enzimas de restricción (*DdeI*, *HhaI*, *RsaI* y *Sau3AI*), de las cuales *HhaI* produjo más patrones de RFLP. Se obtuvieron un total de 54 cepas singulares, las cuales fueron identificadas por su secuencia 16S rDNA. Estas cepas bacterianas fueron divididas en cinco clases: 38 cepas de γ -proteobacterias (61.1%), 3 cepas de α -proteobacterias (5.5%), 2 cepas del grupo Cytophaga-Flavobacter-Bacteroides (3.7%), 3 cepas de bacterias Gram positivas con alto contenido de GC (5.5%) y 13 cepas de bacterias Gram positivas con bajo contenido de GC (24.1%). Estos aislados tienen un buen potencial para futuros estudios biotecnológicos ya que 56% de ellos presentaron actividad de la enzima amilasa, mientras que 36% y 18% presentaron actividad de las enzimas proteasa y lipasa, respectivamente. La mayoría (>70%) de los aislados produjeron poli- β -hidroxibutirato.

Palabras clave: 16S rDNA RFLP, bacterias marinas, Estrecho de Malaca, Mar de la China Meridional, ZoBell 2216E.

Introduction

There are 12×10^{28} prokaryotic cells in the open ocean (Whitman *et al.* 1998), representing a large pool of both genetic and physiological diversity. Before the 1990s, the diversity of bacteria was assessed by phenotypic tests and numerical taxonomy of isolates grown on microbiological media (Fry 2000). However, only 0.001% to 0.1% of marine bacteria have been cultured (Oren 2004), and most of the marine microbial community remains unknown. During the last two decades, the analysis of bacteria in the environment has shifted from culture-dependent to culture-independent approaches like 16S rDNA-based molecular techniques (e.g., Yeon *et al.* 2005) and metagenomics (Theron and Cloete 2000). The culture-independent approach has allowed us to understand the physiology of unculturable bacteria, such as

Introducción

En el mar abierto existen 12×10^{28} células procariontas (Whitman *et al.* 1998), lo que representa un gran capital natural de diversidad tanto genética como fisiológica. Antes de la década de los años noventa, la diversidad bacteriana se evaluaba mediante pruebas fenotípicas y la taxonomía numérica de los aislados cultivados en medios microbiológicos (Fry 2000); sin embargo, sólo de 0.001% a 0.1% de las bacterias marinas han sido cultivadas (Oren 2004) y aún se desconoce la mayor parte de la comunidad microbiana. En las últimas dos décadas el análisis de las bacterias en el medio ambiente ha cambiado de técnicas que dependen del cultivo a técnicas que no dependen de éste como la identificación molecular basada en el gen 16S rDNA (e.g., Yeon *et al.* 2005) y la metagenómica (Theron y Cloete 2000). Las técnicas independientes del