

La Ecología Microbiana se hace mayor de edad

Ricardo Guerrero¹ y Mercedes Berlanga²

¹Departamento de Microbiología, Universidad de Barcelona

²Departamento de Microbiología y Parasitología Sanitarias, Universidad de Barcelona

E-mail: guerrero@retemail.es

If I could do it all over again, and relieve my vision in the twenty-first century, I would be a microbial ecologist. [...]. La ecología microbiana se desarrolla como disciplina independiente sólo durante la segunda mitad del siglo XX. El primer libro de texto con el nombre de ecología microbiana (*Principles of Microbial Ecology*) fue publicado en 1966 por Thomas D. Brock (nacido en Cleveland, Ohio, en 1926). No obstante, el concepto y bases metodológicas de la ecología microbiana estaban ya presentes en las investigaciones pioneras de Martinus Beijerinck (1851-1931), Sergei Winogradsky (1856-1952) y otros microbiólogos a finales del siglo XIX. La ecología microbiana ha demostrado que los principios ecológicos generales son aplicables a los microorganismos y que estos principios pueden integrarse en los actuales paradigmas ecológicos. Los procariotas son miembros esenciales de la biosfera, componentes indispensables de los ecosistemas, que hacen posible el funcionamiento de todos los ciclos biogeoquímicos. Todos los seres vivos de la Tierra dependen de la vida procariótica. Los procariotas están presentes en todos los lugares en los que puede existir vida, ocupando un amplio abanico de condiciones ambientales, desde aquellos ambientes en que se dan las condiciones “ideales” para el crecimiento (ideales, obviamente desde el punto de vista de los “macroorganismos”), hasta los ambientes extremos (impensables para las formas “más evolucionadas”, es decir, más recientes).

La ubicuidad de los microorganismos se basa en tres características principales: su tamaño pequeño, que les permite una gran capacidad de dispersión, su variabilidad y flexibilidad metabólica, que les permite tolerar y adaptarse rápidamente a condiciones ambientales desfavorables, y su plasticidad genética (o gran capacidad de transferencia horizontal de genes), que les permite recombinar y recolectar los caracteres positivos y persistir durante largo tiempo adaptándose a condiciones ambientales cambiantes. Independientemente de la constante relación “rechazo” (enfermedad, degradación)-“dependencia” (utilización de microorganismos para fabricar productos, queso, cerveza, antibióticos, enzimas, etc.) entre los humanos y los microorganismos, este grupo de

organismos “invisibles” representan un vasto terreno inexplorado de conocimiento y diversidad biológicas. Sin el conocimiento de los microorganismos la biología sería mucho más limitada, no sabríamos que hay vida en condiciones de temperatura, salinidad o pH extremas, la fotosíntesis solamente sería aerobia y oxigénica y los seres vivos más longevos no superarían (como las secuoyas) los mil años de edad.

Es tarea de la ecología microbiana investigar el papel de los microorganismos en la naturaleza. En el pasado, la ecología microbiana estaba fragmentada en muchas disciplinas distintas, tales como la microbiología del suelo, la microbiología de los alimentos, la microbiología marina, etc. Sin embargo, ahora se intenta integrar todos estos campos en una visión unificada y unificadora. Un ejemplo fue el simposio internacional sobre “Nuevas Fronteras en Ecología Microbiana” que se celebró del 11 al 13 de diciembre del 2001 en Barcelona, patrocinado por la Fundación Ramón Areces. Las principales conferencias que se presentaron en el Simposio se recogen en el número de diciembre de 2002 de INTERNATIONAL MICROBIOLOGY. Los artículos publicados tratan de bioterrorismo (R. M. Atlas, actual presidente de ASM), interacciones entre los microorganismos y las plantas (E. Montesinos *et al.*), ecosistemas mínimos (R. Guerrero *et al.*), biorremediación de petróleo (Y. Cohen), microbios marinos (C. Pedrós-Alió y R. Simó), transformación del arsénico y el

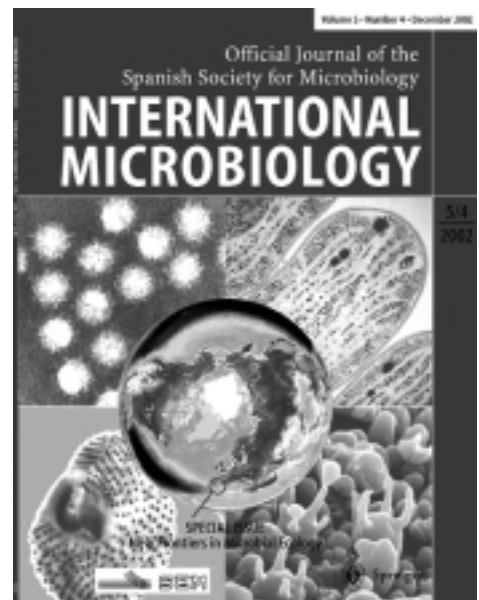


Figura 1. Portada del número de International Microbiology de Diciembre de 2002.

selenio (J. F. Stolz *et al.*), bacterias magnetotácticas (D. Schüler), estudio de los microorganismos litobióticos antárticos (C. Ascaso y J. Wierchos), y la búsqueda de vida en Marte (K. H. Nealson *et al.*).

El campo de la ecología microbiana ha experimentado cambios revolucionarios en estos últimos años, debido al impacto de las nuevas tecnologías de la biología celular y molecular. "*Microbial Ecology and Genomics: a crossroads of opportunity. A report from the American Academy of Microbiology*" (publicado recientemente y editado por David A. Stahl y James M. Tiedje), recoge los objetivos y discute la aplicación de la genómica para mejorar y profundizar en el conocimiento de la ecología microbiana básica (relaciones microorganismos-ambiente), y aplicada (salud, agricultura, control de la contaminación, biorremediación, etc.). Los microorganismos constituyen el principal componente de biodiversidad, pero se requiere unas herramientas (avances tecnológicos e intelectuales) apropiadas para cuantificar esta diversidad, tanto en "modelos" como en las comunidades naturales. La evaluación de la diversidad (microorganismos presentes), de la distribución (heterogeneidad espacial y temporal de las comunidades en su ambiente), y de la actividad (funciones de los microorganismos) han estado limitados durante muchos años al estudio de la microbiota que puede ser cultivada en el laboratorio (cultivos axénicos). Las técnicas de enriquecimiento y aislamiento de microorganismos establecen unas condiciones ambientales artificiales que sólo permite el desarrollo de unos pocos microorganismos, los más aptos para este ambiente fabricado. Sin embargo, estas "condiciones" son resultado de la habilidad, persistencia y suerte del investigador. No debe sorprendernos, pues, que la vasta inmensidad del mundo microbiano permanezca incultivable. No debería sorprendernos, tampoco, que la mayor parte de los procesos de biorremediación en medios naturales se deban a microorganismos "naturales", es decir, presentes previamente en el medio, y no a cepas de laboratorio.

En 1986, dos artículos fueron el detonante de una nueva era en el estudio de la ecología microbiana, uno de Olsen *et al.* [*Annu. Rev. Microbiol.* **40**:337-365], y el otro de Pace *et al.* [*Adv. Microbial Ecol.* **9**:1-55]. Estos artículos proponían una metodología que liberaba a la microbiología de la "esclavitud" del cultivo en placa. La nueva técnica se basaba en que los organismos podían ser detectados y potencialmente identificados *in situ*, basándose solamente en su rRNA, detección que se extendía incluso a aquellos microorganismos que no habían sido aislados en cultivo axénico. En los últimos diez años del siglo XX ha habido un



Figura 2. "Nature vs. Culture", o la efectividad de las poblaciones autóctonas.

aumento exponencial del número de secuencias de rRNA detectadas en muestras ambientales sin necesidad de cultivar los microorganismos. Esta explosión de resultados se debe al desarrollo de la técnica de la PCR. Aunque las técnicas moleculares en ecología microbiana normalmente implican la manipulación o identificación de DNA o RNA, de hecho, esas técnicas moleculares abarcan la detección o manipulación de cualquier constituyente molecular de la célula (es decir, no sólo los ácidos nucleicos "enteros", sino también los nucleótidos [ATP, NAD, GTP, etc.], proteínas, lípidos, polisacáridos, y sus posibles combinaciones).

Los avances en el conocimiento del mundo natural van normalmente precedidos de alguna innovación tecnológica que permite medir u observar algo nuevo, o bien realizar nuevos planteamientos experimentales, previamente imposibles. Las técnicas moleculares son las herramientas, los medios que nos permiten estudiar la composición, fisiología y filogenia de las comunidades microbianas. Sin embargo, esas técnicas deben estar conectadas con la historia natural de los microorganismos.

La información genética proporciona la vía de acceso a aquellas criaturas que son difíciles de cultivar en el laboratorio. La "secuenciación del mundo microbiano" permitirá el descubrimiento de nuevos microorganismos, de sus funciones y de sus interacciones. El DNA se puede obtener de los microorganismos vivos o muertos, así como de aquéllos no cultivables; la obtención de DNA constituye el vehículo para determinar la presencia de un organismo y su relación genética con otros. La biología molecular, como insiste el documento (*Microbial Ecology and Genomics*) que estamos comentando, permitirá descubrir qué microorganismos tienen determinados genes necesarios

para un particular ambiente y cómo estos genes les permiten adaptarse a otros hábitats menos usuales; proporcionará la base para predecir qué características deberá tener un nuevo microorganismo basándonos en las actividades (genes) de sus vecinos, porque, como observó G. Evelyn Hutchinson (1903-1991), los actores (microorganismos) pueden cambiar de un teatro (hábitat) a otro, pero la representación en el escenario (procesos fisiológicos) será igual para la misma obra (un ambiente determinado, unas relaciones específicas).

La secuenciación ha revelado una insospechada plasticidad genética entre las denominadas "especies" microbianas. En la actualidad se acepta que el intercambio horizontal de DNA puede ser la principal fuerza de innovación bioquímica y de adaptación y tolerancia a ambientes cambiantes. Los taxones básicos de la sistemática (especies, géneros, familias) no sirven para los procariotas, donde la transferencia horizontal de genes y los mecanismos de especiación son variados y complejos. Un ejemplo claro es la comparación de la información genética de dos conocidas cepas de *Escherichia coli*: la cepa K-12 habitual y la patógena O157:H7. El genoma de la primera tiene 4,6 Mb y el de la segunda 5,5 Mb. Comparten una secuencia de aproximadamente 4,1 Mb, que es equivalente a 3.574 proteínas codificadas. La cepa patógena codifica 1.387 nuevos genes (!), que han sido adquiridos por transferencia horizontal. Es decir, que consideramos dos cepas de una misma especie a una que tiene un 134% más de DNA que la otra. Debido a la importancia evidente de la transferencia génica en la evolución microbiana, es imprescindible determinar los factores que influyen en la frecuencia y transferencia de unos genes determinados, qué tipo de genes rompen la barrera de las "especies", y si son todos potencialmente transferibles.

Desde el inicio de la secuenciación de los genomas celulares en julio de 1995 (publicación del genoma de *Haemophilus influenzae*), hasta diciembre de 2002 (publicación del genoma del ratón), se han publicado unos 80 genomas completos, incluido el humano. La descripción y aplicación de una amplia variedad de técnicas moleculares en el estudio de los microorganismos de muestras ambientales queda reflejado por la voluminosa bibliografía publicada, y esta situación induce a pensar que los procedimientos son rutinarios y los resultados incuestionables. Sin embargo, es imprescindible comprobar y optimizar las técnicas para estar seguros de que los resultados son fidedignos y consistentes. Tanto los investigadores experimentados como los nove-

les deben conocer las limitaciones de las técnicas empleadas para evitar interpretaciones incorrectas de los resultados. En la base de datos del GenBank hay disponibles aproximadamente 5000 secuencias de 16S rRNA de bacterias no identificadas; en algunos casos, se tardará tiempo en necesitar repetir las y refrendarlas; es por tanto imprescindible que estos datos se correspondan con la realidad. Un ejemplo ilustrativo es el caso de dos secuencias casi idénticas (99,8 % de similitud) de dos β -proteobacterias, una aislada de un sedimento marino [Rochelle *et al.* (1994) *FEMS Microbiol. Ecol.* **15**:215-226] y otra de un absceso dental [Dymock *et al.* (1996) *J. Clin. Microbiol.* **34**:537-542], realizadas por dos grupos de investigación distintos, con una diferencia temporal de tres años, pero que en ambos casos utilizaron las mismas soluciones de laboratorio. En 1998, Tañer *et al.* (*Appl. Environ. Microbiol.* **64**:3110-3113) demostraron que estos resultados eran consecuencia de un contaminante común.

La genómica por sí sola no puede representar un cuadro acabado de la realidad biológica. Una de las limitaciones de la aplicación de las técnicas moleculares de muestras ambientales es que los resultados obtenidos frecuentemente son cualitativos y no cuantitativos. Aunque obviamente sí que es útil saber qué hay en una muestra, en microbiología es también importante conocer la abundancia relativa de los diferentes organismos. Otro reto de la biología molecular es poder convertir estas "piezas inanimadas de información" (genes) en conocimiento de la actividad celular. La integración de los estudios tradicionales de fisiología y genética con las técnicas modernas de la genómica ofrece la oportunidad de avanzar en el estudio de la evolución microbiana y entender cómo actúan y controlan la biosfera los microorganismos. La única manera de comprender un genoma es mirar dónde vive este genoma, conocer su hábitat natural y comprender el complejo entramado de interacciones bióticas y abióticas. El ambiente es el contexto en el que evoluciona y funciona un material genético, y el que, en el fondo, determina la supervivencia y forma del genoma. Por tanto, los conceptos básicos y técnicas fundamentales de la ecología microbiana "clásica" continúan siendo útiles. La ecología microbiana, desarrollada a finales del siglo XX, es una herramienta esencial para entender el verdadero significado de los genomas que se descifrarán a principios del siglo XXI.

El famoso entomólogo y padre de la sociobiología Edward O. Wilson, nada sospechoso de ser un "microbial chauvinist", escribió lo siguiente para finalizar su libro autobiográfico *Naturalist* (1994,

Island Press, Washington, p. 364): *«If I could do it all over again, and relieve my vision in the twenty-first century, I would be a microbial ecologist. Ten billion bacteria live in a gram of ordinary soil, a mere pinch held between thumb and forefinger. They represent thousands of species, almost none of which are known to science. Into that world I would go with the aid of modern microscopy and molecular analysis. I would cut my way through clonal forests sprawled across grains of sand, travel in an imagined submarine through drops of water proportionately the size of lakes, and track*

predators and prey in order to discover new life ways and alien food webs. All this, and I need venture no farther than ten paces outside my laboratory building.» Un vasto universo de "vida invisible", todavía inexplorado, será observado en los próximos años. La combinación e integración de la ecología, de la genómica, de la proteómica y de otros estudios moleculares, será la llave que abrirá las puertas del misterio. Pero, como ocurre con cada descubrimiento, esa nueva visión no hará más que cohibirnos al percatarnos, aún más, de la enorme hermosura y diversidad de la naturaleza.