

Grupo de Ecología Microbiana Molecular

Instituto de Ecología Acuática, Universidad de Girona
Facultad de Ciencias, Campus de Montilivi, E-17071, Girona

El grupo de Ecología Microbiana Molecular (gEMM) de la Universidad de Girona cuenta con una dilatada y amplia experiencia en el campo de la ecología microbiana de ambientes lacustres. El grupo fue creado por los catedráticos Carles Abellà y Jesús García-Gil a principios de los 90 en la, por aquel entonces, naciente Universidad de Girona. En sus primeros años, las líneas de investigación del grupo se centraban en estudiar la dinámica y actividad de las poblaciones de bacterias fotosintéticas del azufre en los diferentes lagos y lagunas del sistema cárstico de Banyoles, un entorno de investigación ideal debido a la gran diversidad de ambientes y a la proximidad geográfica a nuestra universidad. Progresivamente, el gEMM ha diversificado tanto sus líneas de investigación como su área de actividad como resultado de la ampliación de su plantilla de investigadores y la obtención de proyectos financiados de ámbito tanto nacional como internacional.

En la actualidad, el gEMM está compuesto por once investigadores. Siete de ellos son doctores: un catedrático (Carles Abellà), tres profesores titulares (Lluís Bañeras, Carles Borrego [responsable actual, carles.borrego@udg.edu] y Xavier Vila), un profesor lector (Frederic Gich) y dos profesores asociados (Genoveva Montserrat y Rosalía Trias). En estos momentos forman parte también del grupo cuatro becarios predoctorales (Mireia Fillol, Arantzazu García, Anna Plasencia y Ariadna Vilar). A todos ellos se suman una técnico de laboratorio (Sra. Laia Mauricio) y miembros de otros centros de investigación que participan o han participado recientemente en algunas de las líneas de investigación del grupo. Entre estos últimos cabe destacar el Sr. Àlex Sánchez, del *Institut Català de Recerca de l'Aigua* (ICRA) y el Dr. Xavier Triadó, del *Centre d'Estudis Avançats de Blanes* (CEAB-CSIC).

Las líneas de investigación del gEMM pueden agruparse en dos apartados:

1. En el primero, más relacionado con la investigación básica, se agrupan diferentes proyectos que tienen como objetivo común el determinar el **impacto y papel ecológico de diferentes grupos microbianos** que habitan en sistemas acuáticos continentales (lagos, ríos, embalses y humedales) **en relación a los ciclos biogeoquímicos** (carbono, nitrógeno y azufre), así como establecer en qué medida los factores ambientales modulan tanto su diversidad como su actividad. En este sentido, se han desarrollado durante los últimos

años líneas de investigación centradas en el impacto de las arqueas lacustres en los ciclos del carbono y del nitrógeno, la actividad de las comunidades de bacterias desnitrificantes en humedales y la diversidad de bacterias fotosintéticas del azufre tanto en comunidades planctónicas como en tapetes microbianos.

2. El segundo apartado incluye proyectos de investigación aplicada, centrados en **microorganismos útiles en biotecnología e ingeniería ambiental**. Estas investigaciones tratan sobre la composición y actividad de las comunidades bacterianas en humedales de tratamiento y reactores biológicos así como la identificación y caracterización de los principales microorganismos implicados en procesos metabólicos con un claro interés biotecnológico y ambiental. En concreto, nuestros esfuerzos se han centrado en sistemas de depuración, potabilización y reutilización de aguas, tratamiento terciario de aguas residuales, la eliminación de nitrógeno en reactores biológicos (mediante sistemas de nitrificación y desnitrificación o de nitrificación parcial y anammox) y la bioremediación de suelos.

En el marco de estos dos apartados, se detallan a continuación algunos de los proyectos en los que el gEMM está trabajando en la actualidad:

Proyecto 1. *Interacciones planta-microorganismo en relación al ciclo del nitrógeno.*

IP: Lluís Bañeras (lluís.banyeras@udg.edu).

El conocimiento detallado del ciclo del nitrógeno y de los microorganismos responsables de las diferentes transformaciones de este elemento en un ecosistema acuático son de gran interés tanto a nivel ecológico como de conservación y gestión del propio entorno. Las transformaciones del N llevadas a cabo por los microorganismos pueden ser deseadas y potenciadas (p. e. la eliminación de amonio y otras formas de N en aguas residuales o el aumento de la disponibilidad del N en suelos agrícolas) o, en algunos casos, perjudiciales para el propio ambiente, tanto a nivel local como global (por ejemplo en la producción de gases de efecto invernadero). Comprender cómo los microorganismos transforman el nitrógeno, ya sea mediante la nitrificación y la desnitrificación o bien a través de procesos más

complejos como la reducción desasimilatoria de nitrato a amonio (DNRA) o la oxidación anaeróbica de amonio (ANAMMOX), es esencial para conocer el funcionamiento de los humedales y aporta datos para su gestión. Nuestra investigación se centra en caracterizar estos procesos en humedales naturales en las Marismas de Doñana y compararlos con los que tienen lugar en un sistema de humedales de tratamiento construidos en el Parque Natural *dels Aiguamolls de l'Empordà* (Girona). En concreto estamos investigando como la presencia de macrófitos afecta la diversidad y actividad de las comunidades microbianas nitrificantes y desnitrificantes (Ruiz-Rueda *et al.* 2009). La eliminación de nitrógeno de un sistema de humedales mediante vegetación es un proceso complejo, donde intervienen multitud de factores y donde las relaciones planta-microorganismos (a menudo muy específicas) adquieren una especial importancia. Debido precisamente a la especificidad de estas relaciones, estos sistemas ofrecen un escenario muy prometedor como novedosos sistemas de aislamiento de nuevas especies de microorganismos.

Proyecto 2. *Ecología y biología de arqueas en lagos estratificados.*

IP: Carles Borrego (carles.borrego@udg.edu).

Las arqueas son un componente común del plancton que ha pasado desapercibido para la limnología hasta la aplicación rutinaria de técnicas moleculares en ecología microbiana. El estudio de estos microorganismos, relacionados tradicionalmente con ambientes extremos, es actualmente un campo de estudio muy prometedor, descubriéndose a un ritmo frenético nuevos datos que avalan su enorme riqueza biológica y abundancia tanto en ambientes acuáticos como terrestres (Chaban *et al.*, 2009; Casamayor & Borrego, 2009). De su ubicuidad y abundancia puede suponerse un gran impacto tanto en los ciclos biogeoquímicos como en los flujos de energía globales. Uno de los ambientes donde la diversidad y actividad de las arqueas es menos conocida es, sin embargo, el plancton lacustre (Auguet & Casamayor, 2009) y por tanto, estos ambientes ofrecen una excelente oportunidad para explorar la ecología de uno de los grupos microbianos más interesantes y enigmáticos. Estamos estudiando la implicación de varios linajes de arqueas no extremófilas en los ciclos biogeoquímicos del C y del S en lagos cársticos caracterizados por anoxia estacional y una microbiota sulfureta muy activa. Nuestros resultados indican que las arqueas planctónicas son mucho más diversas de lo que podía suponerse, y que las zonas anóxicas ricas en sulfhídrico están habitadas por linajes característicos no muy frecuentes en otros ambientes lacustres o en el plancton marino (Llirós *et al.*, 2008; 2010). Nuestro principal interés es doble, por una parte determinar el papel de estas arqueas en el funcionamiento del ecosistema y su relación con las transformaciones biogeoquímicas del S y del C, y por otro, aislar los filotipos dominantes de la comunidad como primer paso para su caracterización genómica y funcional.

Proyecto 3. *Efecto de contaminantes sobre las comunidades microbianas del suelo y selección de bacterias útiles para su bioremediación.*

IP: Xavier Vila (xavier.vila@udg.edu).

La presencia de compuestos contaminantes en concentraciones elevadas en los suelos puede tener un impacto perjudicial sobre su microbiota indígena y, en consecuencia, sobre las funciones que desempeña en el ecosistema edáfico, la actividad biológica y en último término el papel que desempeñan los suelos en los sistemas terrestres, ya sean naturales o modificados por el hombre. Analizar los efectos, tanto sobre la composición como sobre la actividad de la comunidad microbiana propia de suelos mediterráneos, de varios contaminantes (principalmente compuestos clorofenólicos y metales) aplicados a distintas concentraciones es un objetivo de investigación aplicada que puede aportar, por lo tanto, una información fundamental para poder prever los efectos de los contaminantes y establecer los límites que puede tolerar el sistema. Por otro lado, los cambios que experimentan las comunidades microbianas en los suelos contaminados artificialmente con concentraciones elevadas de clorofenoles o metales permiten detectar y, en algunos casos aislar, cepas microbianas resistentes a dichos contaminantes ya que éstas se enriquecen espontáneamente en los microcosmos edáficos sometidos a contaminación y pueden también ser seleccionadas positivamente en cultivos de laboratorio. Obtener cultivos de bacterias resistentes y potencialmente útiles para procesos de bioremediación de suelos es el segundo objetivo de este proyecto de investigación aplicada. Dichos cultivos son también caracterizados, desde una perspectiva ecotoxicológica, y se valora su capacidad de biodegradar los contaminantes que se han utilizado para su enriquecimiento, una característica clave para determinar su posible utilidad en la recuperación de suelos contaminados.

Proyecto 4. *Bacterias desnitrificantes autotróficas en pilas de combustible microbianas (Microbial Fuel Cells, MFC).*

IP: Lluís Bañeras (lluis.banyeras@udg.edu).

Conseguir un sistema de depuración de aguas residuales urbanas que no sólo no requiera de un aporte de energía, sino que sea capaz de producirla, es un deseo compartido por la mayoría de investigadores y empresas del sector. Quizás todavía estamos lejos de conseguirlo, pero los recientes avances en el diseño de sistemas bioelectroquímicos, las pilas microbianas, nos sugieren que esta utopía pueda ser realidad en el futuro. Las pilas de combustible microbianas (MFC) son sistemas biológicos capaces de generar una cantidad neta de energía mediante la canalización de los electrones generados en las reacciones de respiración. Las MFC desnitrificativas combinan la oxidación aeróbica de materia orgánica en una ánodo, con la desnitrificación en el cátodo. Los electrones generados en el ánodo por parte de bacterias

electrogénicas (*Geobacter lovleyi*, entre otras) fluyen por un circuito eléctrico hasta el cátodo donde son utilizados para la desnitrificación. Un buen diseño permitiría depurar el agua residual eliminando materia orgánica y nitrato del ánodo y del cátodo, respectivamente. Este proceso es independiente de la relación C/N y permite eliminar N en el cátodo en ausencia de materia orgánica con la participación de bacterias desnitrificantes quimiolitotróficas. En la actualidad hemos completado los análisis de las comunidades bacterianas de pilas de MFC desnitrificativas y disponemos de una colección de más de 300 aislados con capacidad de reducir el nitrato sin aporte de materia orgánica. Nuestro reto es estudiar el potencial de estos organismos y aportar datos útiles para el diseño de nuevos sistemas de tratamiento.

Proyecto 5. Contribución de bacterias y arqueas oxidadoras de amonio en reactores biológicos utilizados en la eliminación de amonio de aguas residuales.

IP: Frederic Gich (frederic.gich@udg.edu).

El estudio de las comunidades de bacterias y arqueas oxidadoras de amonio en reactores SBR (*Sequence Batch Reactor*) y PN-SBR (*Partial Nitrification-Sequence Batch Reactors*) tiene gran interés desde el punto de vista biotecnológico para lograr una mayor eficiencia de la eliminación de nitrógeno. Gracias al control de las diferentes variables operacionales (pH, oxígeno disuelto, potencial redox, tiempo de residencia de los fangos) se pueden mantener comunidades microbianas estables y activas, permitiendo un estudio detallado de su dinámica y actividad a lo largo del tiempo. La utilización de técnicas moleculares de recuento específi-

cas para arqueas y bacterias oxidadoras de amonio (AOA y AOB, respectivamente) nos ha permitido conocer su identidad, distribución y abundancia en los dos tipos de reactores estudiados. Por otra parte, tenemos previsto monitorizar las variaciones en las concentraciones relativas de los genes para la amonio monooxigenasa de arqueas y bacterias mediante qPCR para poder relacionarlas con la estequiometría de las diferentes formas nitrogenadas (amonio, nitrito y nitrato) durante el proceso operativo y establecer qué efecto tiene la manipulación controlada de las variables físico-químicas sobre la actividad de uno y otro grupo de microorganismos.

REFERENCIAS

- Auguet, J.C., A. Barberan and E.O. Casamayor (2009) Global ecological patterns in uncultured Archaea. *ISME J.* 4: 182-190.
- Casamayor, E.O. and C.M. Borrego (2009) Archaea in inland waters. In: Pace, M. (Ed.) *Encyclopedia of Inland Waters*. (Gene E. Likens, Editor), Vol. 3, pp: 167-181. Oxford: Elsevier.
- Chaban, B., S.Y.M. Ng and K.F. Jarrell (2006) Archaeal habitats - from the extreme to the ordinary. *Can. J. Microbiol.* 52: 73-116.
- Llirós, M., E.O. Casamayor and C.M. Borrego (2008) High archaeal richness in the water column of a freshwater sulphurous karstic lake along an inter-annual study. *FEMS Microbiol. Ecol.* 66: 331-342.
- Llirós, M., F. Gich, A. Plasencia, J.C. Auguet, F. Darchambeau, E.O. Casamayor, J.-P. Descy and C.M. Borrego (2010) Vertical distribution of ammonia-oxidizing crenarchaeota and methanogens in the epipelagic waters of Lake Kivu. *Appl. Environ. Microbiol.* doi:10.1128/AEM.02864-09.
- Ruiz-Rueda, O., S. Hallin and L. Bañeras (2009) Structure and function of denitrifying and nitrifying bacterial communities in relation to plant species in a constructed wetland. *FEMS Microbiol. Ecol.* 67: 308-319.