

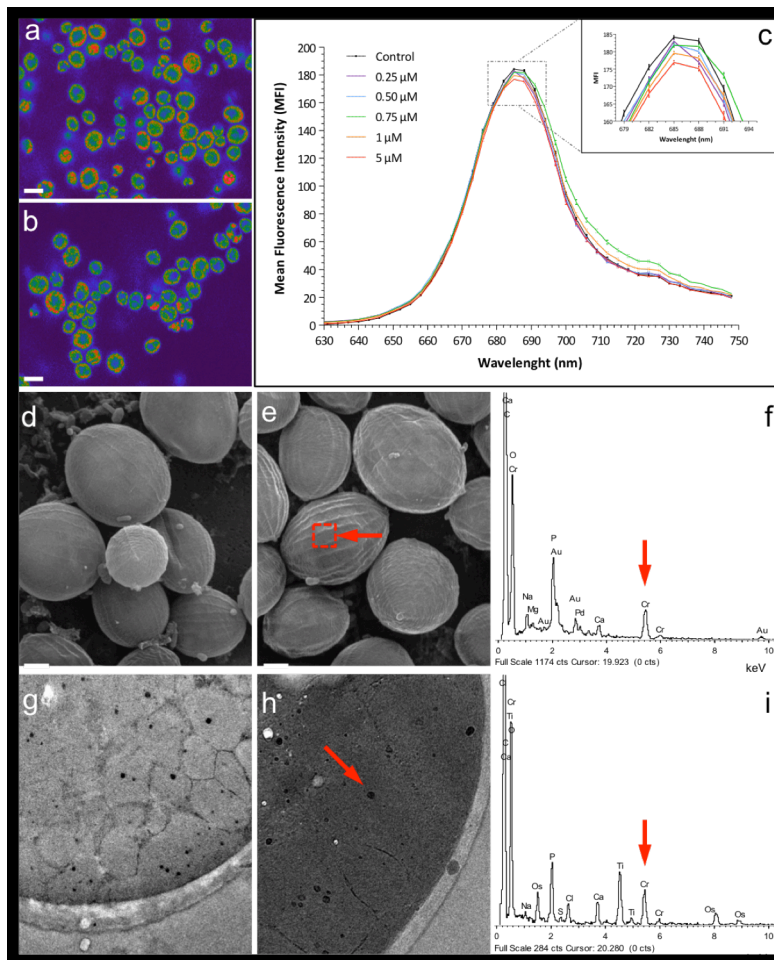
# **Una mirada micro i macroscòpica als ambients extrems per a la vida**

Isabel Esteve

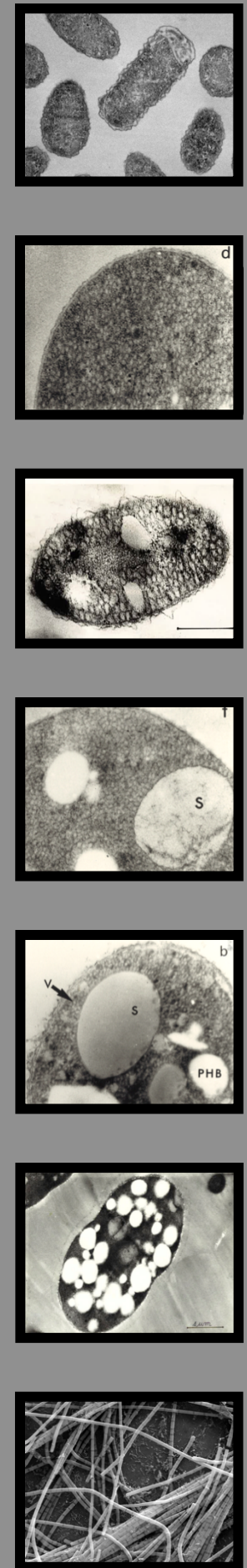
Departament de Genètica i Microbiologia de la UAB

**FACULTAT DE BIOCIÈNCIES**

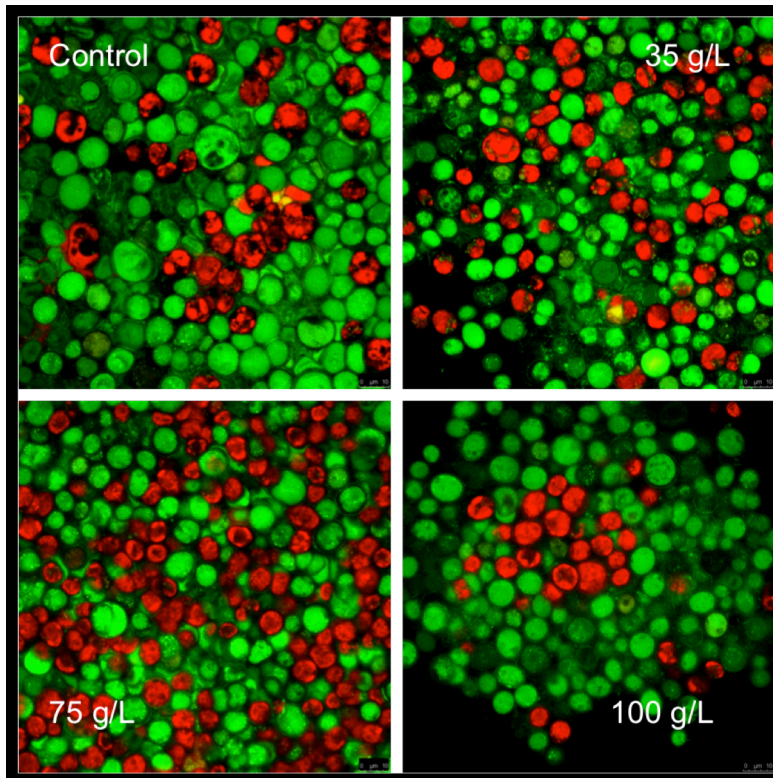
**SANT ALBERT 2015**



**Figura 2:** Millach et al. (2015). Imatges obtingudes per CLSM de cultius de *Scenedesmus* sp. DE2009 no contaminats (a) i contaminats amb crom (b) (l'escala representa 10  $\mu$ m) i gràfic  $\lambda$ scan (c). Imatges obtingudes de SEM de cultius no contaminats (d) i contaminats amb 200  $\mu$ M de crom (e). L'escala representa 2  $\mu$ m. Espectre EDX de la mostra contaminada (f). La fletxa indica el principal pic de crom a 5.4 keV. Imatges obtingudes de TEM del cultius no contaminats (g) i contaminats amb 200  $\mu$ M de crom (h). L'escala representa 1  $\mu$ m. Espectre EDX de la mostra contaminada (i). Els pics de crom es troben indicats per fletxes.



Actualment, l'ús d'un làser dual està donant resultats molt positius per poder determinar la viabilitat dels microorganismes fotòtrofs davant condicions d'estrès, per exemple la salinitat, sense la utilització de fluorocroms i sense cap tractament previ (Fig. 3). Tot i això, una de les aportacions més importants de la microscòpia d'alta resolució ha estat en l'estudi de les interrelacions dels microorganismes en el seu ambient natural.



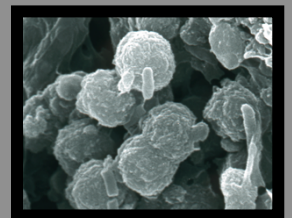
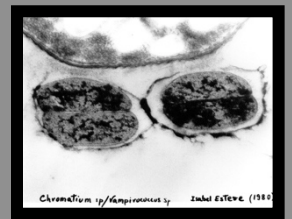
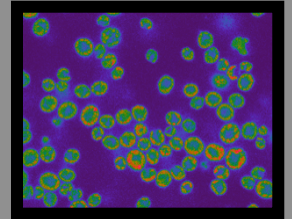
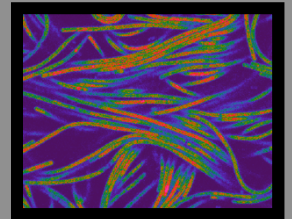
**Figura 3:** Imatges compostes de cèl·lules vives i mortes en cultius de *Scenedesmus* sp. DE2009 a diferents concentracions de NaCl. Cortesia Laia Millach i Aleix Obiol.

## Interrelacions entre microorganismes. La simbiosi, un model de vida microbiana

L'aïllament dels microorganismes en cultius sòlids va representar un dels avenços més importants en el món de la microbiologia, pel fet que permetia estudiar en cultiu axènic les característiques individuals dels bacteris i, especialment, el paper que aquests representaven en el desenvolupament de les malalties infeccioses.

No obstant això, a la natura no existeixen monocultius, els microorganismes formen associacions complexes i interrelacions, algunes vegades de competència i, en d'altres, beneficioses per als components del grup dels anomenats consorcis microbians.

Actualment, també és molt coneguda la tendència d'aquests a formar mono i multicapes, com les descrites en els tapissos microbians, per la seva tendència a adherir-se a substrats sòlids. A més a més, és important ressaltar les diferències que poden observar-se en un mateix microorganisme crescut en un cultiu de laboratori o en el mateix medi natural. Va ser J. William Costerton qui



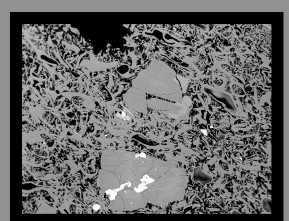
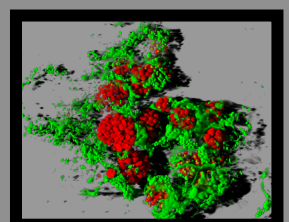
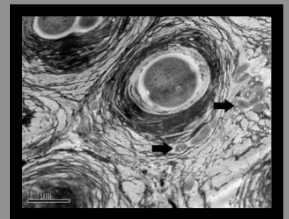
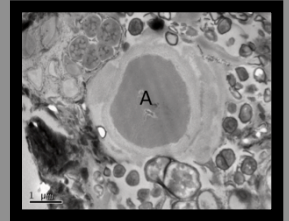
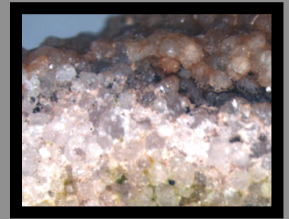


va descriure com *Proteus vulgaris* no formava biofilms en cultius axènics, mentre que sí que ho feia a les vies urinàries de pacients infectats per aquest bacteri. També va dur a terme experiments anàlegs amb microorganismes de la càries dental, i va arribar a la conclusió que l'adherència a substrats era un mecanisme de resistència per tal de no ser arrossegats pels fluids corporals. Aquest fet també el va demostrar analitzant biofilms formats a les pedres que transportaven els rius. A Thomas E. Jensen i a d'altres científics es deu igualment l'estudi dels exopolisacàrids com a substàncies d'adherència produïdes pels microorganismes i que, a més a més, exerceixen funcions de protecció davant diferents productes químics i altres contaminants com, per exemple, els metalls.

Una altra diferència important entre els microorganismes que es desenvolupen en cultius de laboratori i en l'ambient natural és la tendència d'aquests últims a formar agregats com a protecció contra canvis ambientals. Aquest fet, del qual ja n'havia alertat Norbert Pfennig, s'ha de considerar, atès que l'agregació és en molts casos una característica important en la taxonomia dels microorganismes.

Per una altra banda, els criteris en certa manera estrictes per a la identificació de nous microorganismes, entre els quals es trobava l'aïllament en cultiu axènic, va fer que no es consideressin aquells que mantenien relacions de simbiosi estables. Una mostra d'això és que el primer Manual de Bergey descrivia espècies recollides en un sol volum, mentre que a l'actualitat, en el mateix manual, les espècies descrites estan distribuïdes en cinc volums. Aquest notable increment ve donat, en part, als capítols dedicats a la simbiosi i als microorganismes que habiten en ambients extrems per a la vida.

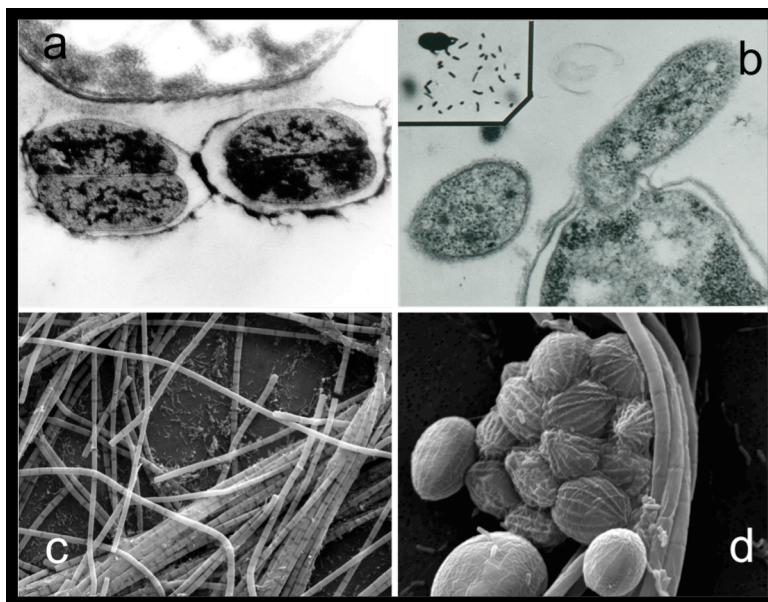
És pràcticament impossible, en aquest context, no tornar a citar l'extraordinari treball científic aportat per la professora Lynn Margulis en la seva defensa de la SET per explicar l'origen de determinats orgànuls intracel·lulars a partir de la competència inicial entre dos bacteris i la seva posterior col·laboració mútua. Lynn Margulis va ser una gran defensora de la simbiogènesi, definida com la reunió de diferents organismes per formar noves entitats viables. Encara que la idea no era original, atès que altres investigadors havien proposat una idea similar (Andreas Schimper, 1883; Konstantin Merezhkovsky, 1909, entre d'altres), el mèrit de la seva difusió i els nombrosos exemples de simbiosi que



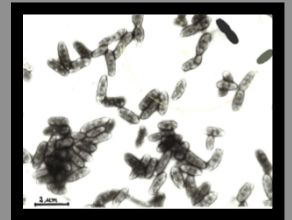
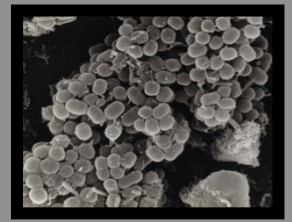
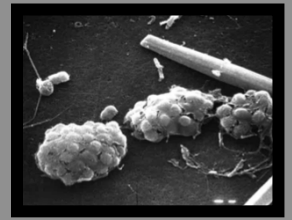
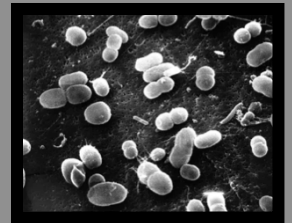
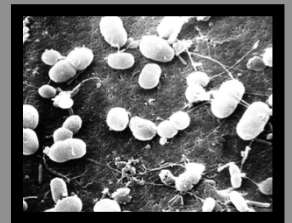


va aportar durant la seva prolífica carrera, van fer que “la teoria de la endosimbiosi seriada” s’acceptés finalment com a verdadera per a determinats orgànuls.

La microscòpia en totes les seves vessants i, en especial, l’electrònica, ha jugat un paper decisiu en l’estudi de les interrelacions entre microorganismes. L’any 1983 vam aïllar al laboratori d’ecologia microbiana un microorganisme epibiont capaç de lisar les cèl·lules de *Chromatium* sp. (Fig. 4a) [8] i posteriorment un bacteri predador, *Daptobacter* sp. Aquest últim era i segueix sent un cas únic en el món microbià, per la seva capacitat de penetrar en l’espai citoplasmàtic de la cèl·lula hoste després de provocar-ne el trencament de la paret i de la membrana citoplasmàtica i reproduir-se al seu interior per acabar, com en el cas anterior, provocant-ne la lisi cel·lular (Fig. 4b) [9]. L’estudi d’aquest microorganisme va ser la causa que s’establís una intensa relació entre la professora Lynn Margulis i diferents membres del laboratori d’ecologia microbiana, que tenia com a base les imatges obtingudes mitjançant microscòpia electrònica de transmissió de *Daptobacter* sp. Aquest bacteri va esdevenir un model més per poder explicar la possibilitat de la competència-predació d’un bacteri per un altre en l’evolució cap a la cèl·lula eucariota.



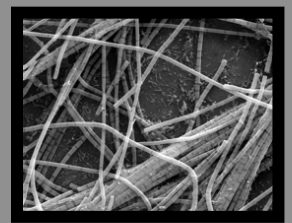
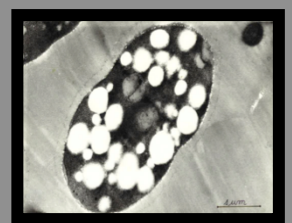
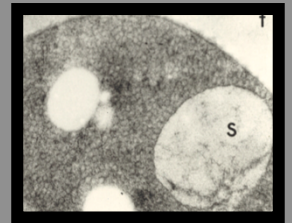
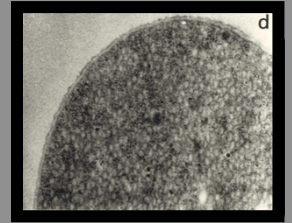
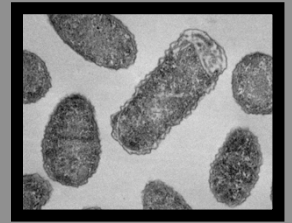
**Figura 4:** Simbiosi entre microorganismes. (a) *Vampirococcus* sp. adherit a la paret cel·lular de *Chromatium* sp. (cortesia I. Esteve); (b) *Daptobacter* sp. penetrant al citoplasma de *Chromatium* sp. (cortesia I. Esteve); (c) *Geitlerinema* sp. DE2011 i microorganismes heteròtrofs (cortesia L. Millach); (d) *Scenedesmus* sp. DE2009 i microorganismes heteròtrofs (cortesia A. Burgos).



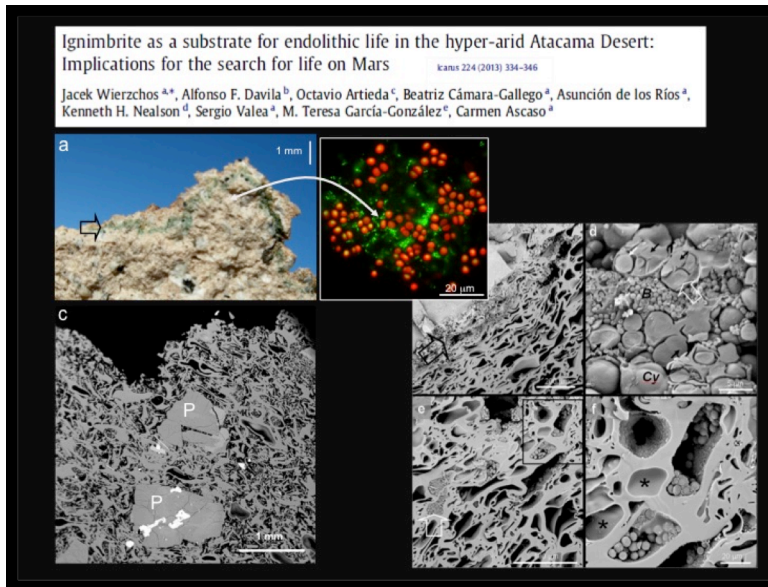
La predació és un tipus de simbiosi negativa que es dona en els ambients naturals. Molt més freqüents són, però, les relacions de simbiosi en què s'estableix una dependència positiva entre microorganismes. A la natura existeixen nombrosos exemples, especialment al món dels protists, però són també reiterades les relacions entre microorganismes fotòtrofs i heteròtrofs, com és el cas del cianobacteri *Geitlerinema* sp. DE2011 (Fig. 4c) i la microalga *Scenedesmus* sp. DE2009 (Fig. 4d) [5] i diferents microorganismes heteròtrofs amb els quals formen consorcis. Les tècniques microscòpiques aplicades a l'estudi d'aquestes relacions i també combinades amb tècniques de biologia molecular han suposat un notable avenç en la identificació dels microorganismes que formen associacions.

### Visió macroscòpica: hàbitats de la Terra com a models de vida en altres planetes

L'estudi dels ambients extrems citats ha donat lloc a la identificació de microorganismes que viuen a elevades (fonts hidrotermals oceàniques) i baixes (tapissos microbians de l'Antàrtida) temperatures; a elevada pressió (fons oceànics); a elevada salinitat (Mar Mort), o ambients molt àcids (mines àcides), però és encara més freqüent que els mateixos microorganismes suportin diversos d'aquests paràmetres alhora. No sorprèn, doncs, que desenvolupin múltiples adaptacions metabòliques, que fabriquin metabòlits que estabilitzin els canvis previsibles en l'osmolaritat de les seves cèl·lules i que es produeixin modificacions genètiques importants. Tot i això, si interessants són els microorganismes, també ho són els ambients on s'hi desenvolupen, ja que han estat utilitzats com a models per explicar la vida primigènica al nostre planeta: així doncs, les mines àcides (río Tinto, Huelva), les fonts hidrotermals de les profunditats oceàniques (oceà Pacífic), la vida a l'interior de la terra (mines d'Aspo, Suecia), la vida endolítica (desert d'Atacama) (Fig. 5) [10] i la vida a l'Antàrtida sota el gel (Fig. 6) [11] són referents per explicar la possible vida a Mart i a satèl·lits d'alguns planetes de la nostra galàxia, com ara Encèlad o Tità, de Saturn. Tanmateix, tot i que sembla que no hi ha límits per a la vida dins el món microbià, aquesta encara no es concep sense que les cèl·lules disposin d'una mínima activitat hídrica. Així doncs, l'existència d'aigua líquida o l'evidència d'aquesta en fases prèvies és motiu d'investigació quan s'exploren altres planetes.





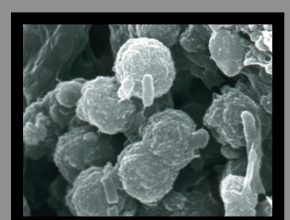
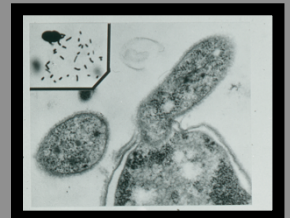
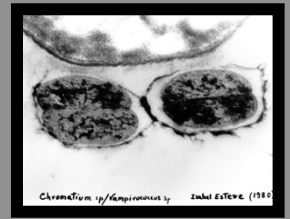
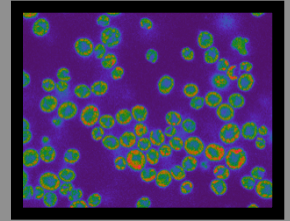
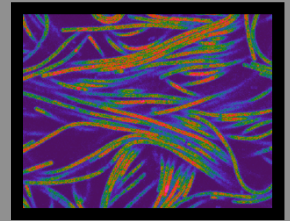


**Figura 5:** Exemples de colonització criptoendolítica en ignimbrita. (a) Mostra de roca volcànica; (b) imatge obtinguda per fluorescència; resta d'imatges obtingudes per SEM-BSE i LT-SEM.

Tots aquests descobriments han incrementat l'interès en la recerca de vida extraterrestre, un interès que per altra banda ha existit sempre, encara que no es disposés de la tecnologia adequada per dur-la a terme. Recentment, la NASA i el SETI han donat a conèixer un nou catàleg de 500 possibles exoplanetes, que s'uneixen als 4.175 ja descoberts pel telescopi Kepler. Així, l'anunci de la troballa del Kepler-425b, un planeta que s'ha classificat com a similar en moltes característiques al nostre i pertanyent a la constel·lació Cygnus, segueix despertant un creixent interès, així com també l'estudi del poc explorat món de les profunditats oceàniques.

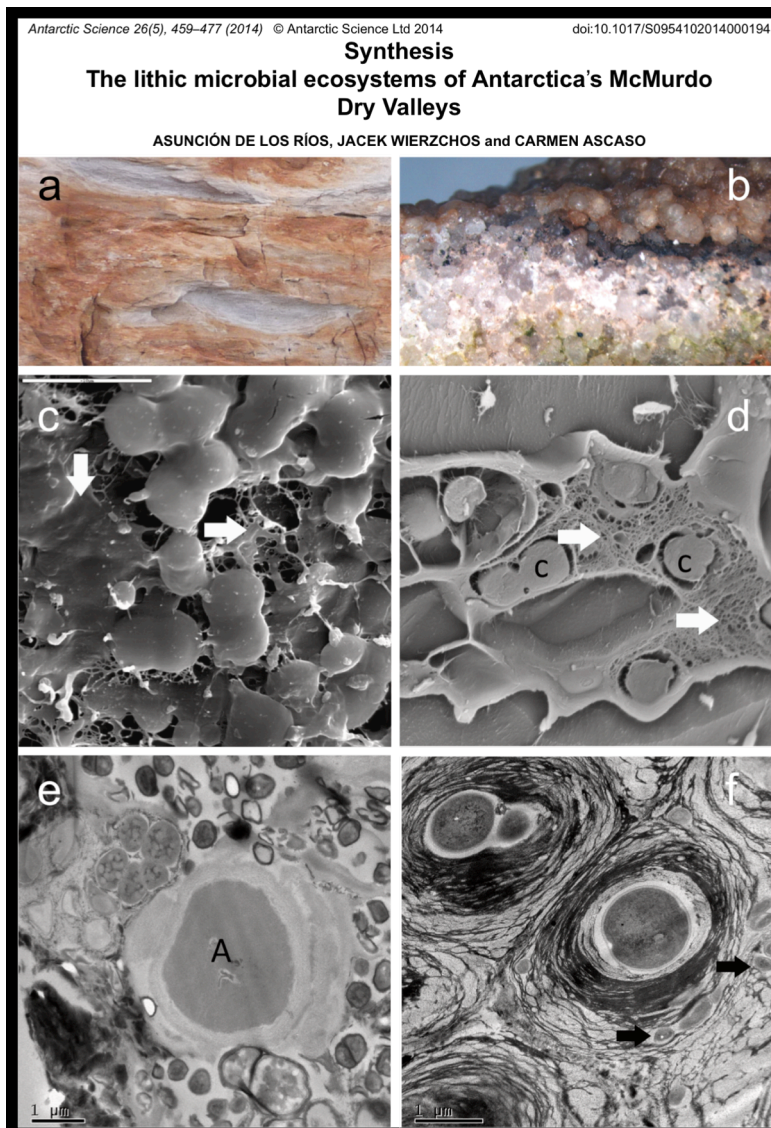
Tot i l'esforç dut a terme en el coneixement d'ambdós mons, el micro i el macroscòpic, seguim coneixent molt poc de la diversitat microbiana al nostre planeta (s'estima un 1%), i molt menys sobre la diversitat de planetes capaços de desenvolupar vida bacteriana similar a la nostra. Mentrestant, seguim fent-nos múltiples preguntes sobre com es va originar la vida, si hi va haver diversos intents, si va sorgir de la sopa orgànica; de les profunditats oceàniques; sota l'escorça terrestre per protegir-se de la forta radiació ultraviolada o, fins i tot, si la matèria orgànica necessària per tal de produir vida provenia de cometes externs a la Terra.

I per tal de donar alguna resposta a aquestes preguntes, seguim analitzant, per mitjà de la microscòpia d'alta resolució en les seves múltiples prestacions i de les tècniques moleculars, els microorganismes que viuen a l'interior de les



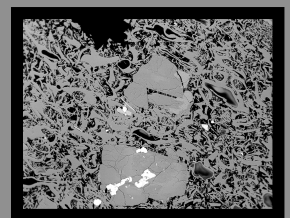
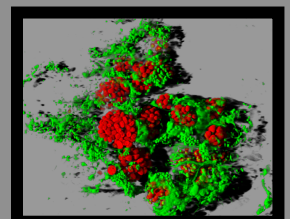
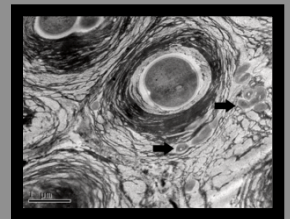
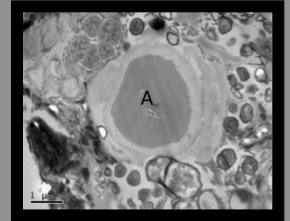
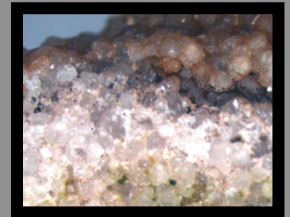


roques, atès que és el més semblant a la vida sense aigua, i considerant també, a més a més dels exemples de microorganismes extremòfils, el paper que han pogut desenvolupar els bacteris metanògens en els inicis de la vida i en la regulació de la temperatura a la Terra.



**Figura 5:** (a) Gres d'University Valley que mostra una absència de colonització epilítica; (b) gres fragmentat que mostra bandes de colonització microbiana; (c) imatge LTSEM de cianobacteris endolítics units a una matriu d'exopolisacàrid (EPS); (d) imatge LTSEM d'una comunitat de cianobacteris que mostra cèl·lules fragmentades envoltades d'una matriu d'EPS; (e) imatge TEM de cèl·lules microbianes endolítiques que mostra cèl·lules bacterianes molt properes a cèl·lules d'alga verda (A); imatge TEM del cianobacteri endolític *Gloeocapsa* que mostra bacteris heteròtrofs (fletxes) a la matriu EPS de cianobacteris.

La combinació de les tècniques de microscòpia i els extraordinaris avenços en les tècniques de biologia molecular, així com l'estudi de les adaptacions dels microorganismes, que presenten una gran versatilitat metabòlica, aportaran sens dubte noves dades en futurs estudis multidisciplinaris.



## Bibliografia

### Llibres

Cohen, Y. & Rosenberg E. (Eds) (1989). Microbial mats. Physiological Ecology of Benthic Microbial Communities. American Society for Microbiology 1913. I Street, N. W. Washington, DC 2006.

Esteve, I., Maldonado, J., Burgos, A., Diestra, E., Burnat, M. & Solé, A. (2013). Confocal laser scanning and electron microscopic techniques as powerful tools for determining the *in vivo* effect and sequestration capacity of lead in cyanobacteria. In Cyanobacteria: Ecology, toxicology and Management. ISBN Nova Science Publishers, Inc. (Ed: A. Da S. Ferrao-Filho). Chapter 9.

Garrity, G. et al. (Eds) (2001-2011). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 5 vol. Springer, New York.

Madigan, M., Martinko, J.M., Bender, K. S., Buckely, D.H., Stahl, D.A. (2015). Brock Biology of microorganisms. 14<sup>a</sup> ed. Pearson, S.A. ISBN: 13: 9780321897398.

Walter, M.R. (Ed) (1976). Stromatolites. Developments in sedimentology 20. Elsevier Scientific Publishing company Amsterdam- Oxford- New York.

### Articles

[1] Wieland A, Kühl M, McGowan L, Sole A, Diestra E, Esteve I, Garcia de Oteyza T, Grimalt JO, Durán R, Fourçans A, Caumette P & Herbert R.(2003). Microbial mats of the Orkney Islands revisited: Microenvironment and microbial community composition. Microbial Ecology 46 (4): 371-390.

[2] Fourçans A, García de Oteyza T., Wieland A., Solé A., Diestra E., van Bleijswijk J., Grimalt J.O., Kühl M., Esteve I., Muyzer G., Caumette P. & Duran R. (2005). Characterization of functional groups in a hypersaline microbial mat community (Salins-deGiraud, Camargue, France). C.Biota – Soil / Sediment / BedrockInteractions. VI Geobiology 4(1) <http://earth.elsevier.com/geobiology>.

[3] Esteve I. Montesinos E, Mitchell JG & Guerrero R. (1990) A quantitative ultrastructural study of *Chromatium minus* in the bacterial layer of lake Cisó. Arch.Microbiol (153):316-323.

[4] Fourçans A., Solé A., Diestra E., Ranchou-Peyruse A., Esteve I., Caumette P. & Duran R. (2006). Vertical migration of phototrophic bacterial populations in a hypersaline microbial mat from Salins-de-Giraud (Camargue, France).

[5] Maldonado, J., de los Rios, A., Esteve, I., Ascaso, C., Puyen, Z. M., Brambilla, C., & Solé, A. (2010). Sequestration and *in vivo* effect of lead on DE2009 microalga, using high-resolution microscopic techniques. Journal of hazardous materials, 183(1-3), 44–50 doi:10.1016/j.jhazmat.2010.06.085.

[6] Burgos, A., Maldonado, J., de los Rios, A., Solé, A., & Esteve, I. (2013). Effect of copper and lead on two consortia of phototrophic microorganisms and their capacity to sequester heavy metals. Aquatic toxicology 140-141:324-336.

[7] Millach, L.; Solé, A.; & Esteve, I. (2015). Role of *Geitlerinema* sp. DE2011 and *Scenedesmus* sp.DE2009 as bioindicators and immobilizers of chromium in a contaminated natural environment. Hindawi Publishing Corporation. Biomed Research International. Article ID 519769, 11 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/519769>.

[8] Esteve I, Guerrero R, Montesinos E & Abellà C (1983).Electron microscopy study of the interaction of epibiotic bacteria with *Chromatium minus* in natural habitats. Microb. Ecol. 9: 57-64.

[9] Guerrero R., Esteve I., Pedrós-Alió, C.,Gaju N. (1987). Predatory Bacteria in Prokaryotic Communities. The Earliest Trophic Relationships. Annals of the New York Academy of Sciences. Endocytobiology III 503:238-250.

[10] Wierzchos J., Davila A.F., Artieda O., Cámara-Gallego B., De los Rios A., Neilson K.H., Valea S., García-González M.T., Ascaso C. (2013). Ignimbrite as a substrate for endolithic life in the hyper-arid Atacama Desert: Implications for the search for life on Mars. Icarus 224:334-346.

[11] De los Rios, A., Wierzchos J & Ascaso, C. (2014). The lithic microbial ecosystems of Antarctica's Mc Murdo Dry Valleys Antarctic Science. 26(5):459-477.