

DIVERSIDAD BACTERIANA EN LAGOS DE ALTA MONTAÑA: BIOGEOGRAFÍA Y MECANISMOS DE DISPERSIÓN POR AEROSOLES ATMOSFÉRICOS EN EL CONTEXTO DEL CAMBIO GLOBAL

EMILIO O. CASAMAYOR¹

RESUMEN

El polvo originado en los grandes desiertos del planeta, como el Sahara, puede ser inyectado en la troposfera en grandes cantidades y dispersado a miles de kilómetros de distancia sobre vastas extensiones de cientos de miles de km². El cambio global (sequías, cambios de uso del suelo, cambio de patrones climáticos) exacerba este fenómeno. Además de ser un mecanismo ecológico de fertilización remota, también favorece la dispersión global de microorganismos. Los lagos de alta montaña de zonas protegidas, como los del Parque Nacional de Aigüestortes i Estany de St. Maurici, actúan como colectores naturales de alta sensibilidad y, por tanto, como centinelas de la magnitud del proceso, del tipo de microorganismos inmigrantes y de la calidad microbiológica del ecosistema global. En los lagos del Parque se han identificado bacterias aerotransportadas a larga distancia no esporuladas y cosmopolitas que colonizan con éxito el plancton, pero también poblaciones foráneas de *Acinetobacter* latentes, un género bacteriano que contiene un amplio repertorio de patógenos oportunistas, con el potencial de desarrollarse en estos ambientes pero sometidas a un fuerte control poblacional. Este proyecto representa un ejemplo de cómo zonas especialmente sensibles a la degradación y que quizá no son consideradas relevantes en las agendas de protección por su falta de interés faunístico, florístico o paisajístico, juegan un papel clave en la ecología del planeta y tienen un efecto remoto en ecosistemas de alto interés y máximo grado de protección.

Palabras clave: aerosol, bacteria, biogeografía, cambio global, dispersión, lagos alpinos, polvo sahariano.

SUMMARY

Dusty material originated in the large hot deserts on Earth, such as the Sahara, can travel long distances and be dispersed over surfaces in excess of hundreds of thousands of square kilometers. Dust exports are increasing as a consequence of global change and are a source of nutrients to remote ecosystems but also a mechanism for long-range bacterial dispersal. Oligotrophic alpine lakes within the Aigüestortes i Estany de St. Maurici National Park are sentinels of the magnitude of this process, of the fate of bacterial immigrants, and of the global atmospheric microbiological quality. The results found revealed the immigration capacity of certain airborne taxa, and that many of these bacteria are non spore-forming species. Viable long-distance airborne bacteria were identified as successful immigrants in alpine lakes but also viable putative airborne pathogens with the potential to massively grow in re-

¹ Observatorio Limnológico de Pirineos (LOOP). Grupo de Investigación en Biogeodinámica y Biodiversidad. Centro de Estudios Avanzados de Blanes-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CEAB-CSIC). Acc. Cala Sant Francesc, 14, 17300 Blanes (Girona).

E-mail: casamayor@ceab.csic.es

Website: <http://nodens.ceab.csic.es/ecogenomics>

mote alpine areas (*Acinetobacter*-like) but submitted to a strong control in situ. This project is an example on how environments that apparently do not deserve protection, such as arid regions in the Sahel region, have a key role in modulating global ecology and have a remote effect on protected environments of high interest.

Key words: aerosol, alpine lakes, bacteria, biogeography, dispersal, global change, Saharan dust

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son seres vivos extremadamente beneficiosos e indispensables para el desarrollo y mantenimiento de la vida en cualquier ecosistema. Su extensa historia evolutiva (más de 3.000 millones de años de antigüedad) encierra la mayor fuente de biodiversidad y riqueza genética del planeta con un amplio repertorio de moléculas y de vías metabólicas que poseen en exclusividad. La magnitud de sus tamaños poblacionales (del orden de 10^{30} individuos) los convierte en el principal reservorio orgánico de nitrógeno y fósforo del planeta y la cantidad de carbono que almacenan es del mismo orden de magnitud que el que está contenido en las plantas terrestres (WHITMAN *et al.* 1998). Paradójicamente, a pesar de su extensa ubicuidad y abundancias astronómicas, el mundo de los microorganismos nos resulta todavía un universo lejano y desconocido debido a la dificultad metodológica de su estudio y a la propia magnitud de la empresa a la que nos enfrentamos. No es de extrañar, por tanto, que los microorganismos se hayan mantenido hasta fechas muy recientes fuera del interés de naturalistas y ecólogos tradicionales.

Estas limitaciones y otras de índole conceptual hacen que actualmente se desconozca cuál es el número de especies bacterianas presentes en la naturaleza, con estimaciones propuestas por diferentes autores que oscilan varios órdenes de magnitud. El número de especies descritas y depositadas en colecciones oficiales (aproximadamente unas 9.000) se estima que representa entre un 0,001% y un 10% de la biodiversidad bacteriana. El número total de especies podría oscilar entre 10 y 1.000 millones para las estimas más elevadas. Otras corrientes de pensamiento más conservadoras defienden, sin embargo, que debido a

la alta capacidad de supervivencia y bajas tasas de extinción la mayoría de especies bacterianas serían cosmopolitas sin barreras a su dispersión global, con un número de especies que estaría dentro del rango de las decenas de miles. Tampoco se tiene una buena apreciación sobre qué ambientes tienen más posibilidades de albergar una mayor diversidad de especies y cuáles no, ni tampoco sobre la riqueza filogenética que contienen y su grado de novedad. También existe gran debate en cómo definir correctamente el concepto «especie bacteriana», ya que se trata de individuos que se reproducen asexualmente y tienen un repertorio morfológico muy limitado, lo que dificulta en gran manera el encaje de todas estas cuestiones.

Donde sí que existe un mayor consenso científico es en la estructura que presenta la diversidad microbiana en ambientes naturales. En general, en una pequeña muestra de cualquier ambiente se pueden encontrar unas pocas especies (desde un par hasta unas pocas decenas) muy abundantes y una cantidad enorme (miles o centenares de miles) en muy pequeña abundancia (lo que se conoce como la «biosfera rara» o muy poco abundante). También hay un acuerdo más o menos extendido en utilizar la secuencia del gen ribosómico RNA 16S y un rango de valores de identidad en dicha secuencia (97-98%) como aproximación a la unidad biológica de estudio («especie»). Esta definición operacional ha permitido establecer un marco de trabajo comparativo y objetivo para empezar a discernir la magnitud de la biodiversidad microbiana y abordar cuestiones biogeográficas y evolutivas.

Las mejoras metodológicas recientes basadas en el análisis objetivo de las secuencias de ADN y una aproximación teórica conceptualmente más sólida pueden mejorar ampliamente nuestra compren-

sión de los procesos ecológicos que operan en el mundo de los microorganismos. Entender, por ejemplo, los mecanismos de dispersión y las estrategias de supervivencia de las bacterias puede ayudar a discernir hipótesis y a afinar planteamientos. Bajo esta perspectiva, el transporte de microorganismos a largas distancias (miles de kilómetros) por vía aérea mediante aerosoles atmosféricos ha cobrado un renovado interés ligado a los mecanismos de dispersión, ya que supone la movilización anual por todo el planeta del orden de 10 trillones de microorganismos (GRIFFIN *et al.* 2002). La presencia de microorganismos en el aire ya fue demostrada a mediados del siglo XIX por Louis Pasteur. Los estudios epidemiológicos a nivel de hongos y polen presentes en los aerosoles son bien conocidos desde los años 50 del siglo pasado. Sin embargo, la aerobiología de otros grupos biológicos no ha experimentado el mismo desarrollo debido a las limitaciones metodológicas en la identificación y cultivo de estos microorganismos. Estas limitaciones se han visto enormemente reducidas con la aplicación de las técnicas de biología molecular basadas en el análisis y la secuenciación del material genético.

La generación de aerosoles atmosféricos es un fenómeno creciente a escala global que se ha visto acelerado en los últimos años por efectos ligados al cambio global (MOULIN & CHIAPELLO 2006). Este fenómeno cuenta con dos puntos calientes de emisión natural de partículas a escala planetaria: la zona del Sahara-Sahel, en África y la del Gobi- Takla Makan, en Asia. Aquí se generan inmensas masas de polvo en suspensión (miles de millones de toneladas), algunas de ellas equivalentes al tamaño de toda la Península Ibérica (Foto 1), que se desplazan miles de kilómetros de distancia saltándose las barreras oceánicas impulsadas por el régimen general de vientos hacia el oeste y hacia el este, respectivamente (KELLOGG & GRIFFIN 2006). Las características climatológicas regionales en la zona Atlántico-Mediterránea favorecen la entrada periódica de parte de estas masas africanas hacia la zona continental europea, mientras que polvo del desierto del Gobi puede detectarse en Europa después de haber completado casi una vuelta completa alrededor de la Tierra.

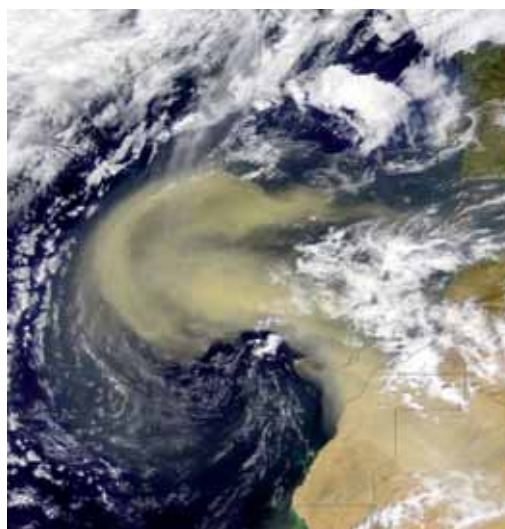


Foto 1. Imagen de satélite de una pluma de polvo sahariano desplazándose hacia el oeste sobre el Océano Atlántico. El tamaño de la masa de polvo es equivalente al de la Península Ibérica (borde superior derecho). Crédito foto NASA.

Picture 1. Satellite photo of a dust cloud off the Sahara desert moving west over the Atlantic Ocean. The size of the dust cloud is equivalent to the Iberian Peninsula (top on the right). Credit photo NASA.

El seguimiento en tiempo real de las masas de polvo aerotransportado mediante satélite (PROSPERO *et al.* 2002) y la inclusión de lagos de alta montaña en zonas protegidas como sistemas centinela frente a microorganismos colonizadores aerotransportados de origen remoto desarrollado en el presente trabajo (HERVÀS & CASAMAYOR 2009; HERVÀS *et al.* 2009; RECHE *et al.* 2009) han permitido abordar el estudio de un fenómeno de magnitud y relevancia global.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha trabajado en diferentes lagos dentro del Parque Nacional de Aigüestortes i Estany de Sant Maurici situados en un rango de altitud entre los 1600 y los 2400 m utilizando la comunidad bacteriana presente en la interfase aire-agua (neuston) y en la columna de agua como sensor de la entrada de bacterias inmigrantes aerotransportadas y del éxito de su colonización, respectivamente. Las muestras de plancton se tomaron sobre el punto de mayor profundidad de los

lagos integrando el primer metro de la columna de agua. El neuston se recogió utilizando una malla de nylon o metálica (Fotos 2 y 3) que permitían muestrear los primeros 400 μm de espesor de la interfase aire-agua (AUGUET & CASAMAYOR 2008). La concentración de bacterias se determinó mediante tinción con un colorante fluorescente específico (DAPI) y recuento por microscopía de epifluorescencia de las células retenidas sobre una membrana de policarbonato de 0,2 μm de diámetro de poro. Los recuentos específicos de *Acinetobacter* se realizaron mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH) utilizando la sonda filogenética específica ACA-652 (5'-ATC CTC TCC CAT ACT CTA-3').



Para los análisis del material genético bacteriano, las células se recogieron mediante filtración por vacío en membranas de policarbonato, se sometieron a procesos de digestión celular, desproteínización del material genético y purificación del ADN. El gen 16S rRNA bacteriano se amplificó selectivamente por PCR utilizando cebadores específicos (HERVÀS & CASAMAYOR 2009; HERVÀS *et al.* 2009). Los amplicones fueron analizados por fingerprinting genético (DGGE), y por clonación y secuenciación (CASAMAYOR *et al.* 2002). La identidad y relación filogenética de las secuencias fueron determinadas mediante *BLASTn* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) y el software *ARB* (www.arb-home.de), respectivamente. Las secuencias recuperadas se encuentran depositadas en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) con los siguientes números de acceso AM421430-AM421460, AM421620-AM421689 y AM946178-AM946229.

Las masas de polvo fueron seguidas mediante la información suministrada en la página web <http://www.calima.ws/> fruto del convenio de colaboración para el estudio y evaluación de la contaminación atmosférica por material particulado en suspensión en España entre la Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental del Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, el CSIC (a través del Instituto de Ciencias de la Tierra «Jaume Almera») y la Agencia Estatal de Meteorología del Ministerio de Medio



Foto 2. Muestreando la interfase aire-agua y recolección del neuston por gravedad en los lagos pirenaicos utilizando malla de nylon (panel superior) o malla metálica (panel inferior).

Picture 2. Sampling the air-water interface and collecting neuston in the study lakes using nylon screen (top panel) and metal screen (bottom panel).



Foto 3. Comparación entre el material retenido en membranas de policarbonato de 0,2 μm de diámetro de poro correspondiente a la interfase aire-agua (neuston) y a una muestra del agua subyacente (plancton).

Picture 3. Comparison of particulate material collected on polycarbonate membranes (0,2 μm pore size) from the air-water interface (neuston) and underlying water (plancton).

Ambiente y Medio Rural y Marino. También se utilizó datos de la sonda TOMS de la NASA (Total Ozone Mapping Spectrometer, http://toms.gsfc.nasa.gov/aerosols/aerosols_v8.html).

Las muestras de polvo atmosférico de las fracciones húmeda y seca se recolectaron mediante un colector pasivo automático conectado a una célula higrosensible (MTXARS 1010, MTX, Bologna, Italy) de 667 cm^2 de área y localizado en las cercanías del lago Llebreta a, aproximadamente, 1.800 metros de altitud y dentro de la zona protegida del Parque Nacional. Las muestras eran recogidas de manera periódica y se relacionaron con los valores de deposición obtenidos a partir de datos de satélite y modelación.

RESULTADOS

En este estudio se han prospectado 13 lagos localizados mayoritariamente en el Parque Nacional de Aigüestortes-Estany de Sant Maurici y su área de influencia (Tabla 1). Tres de ellos (Llebreta, Llong y Redó d'Aigüestortes) fueron seguidos mensualmente a lo largo de un ciclo estacional. Las diferencias altitudinales examinadas estuvieron comprendidas entre los 1620 (Llebreta) y los 2.452 m s.n.m. (l'Illa). La mayoría de lagos estudiados pueden considerarse so-

meros (<15 m de profundidad), oligotróficos, con valores de pH entre 6,5-7,5 y con una temperatura promedio para el conjunto de todos ellos de 9,7°C (rango 4°-20°C). La concentración de bacterias en estas aguas osciló entre 100.000 y 1 millón de individuos por mililitro. No se detectó un efecto altitudinal en la distribución de las abundancias bacterianas pero sí un fuerte componente estacional con máximos de abundancia normalmente observables en los meses de verano, época en la que se pueden llegar a cuadruplicar las abundancias de bacterias observadas tras el deshielo (Fig. 1).

La diversidad y variabilidad presente en el bacterioplancton de estos ambientes lacustres de alta montaña se estudió mediante la secuenciación del gen marcador 16S rRNA. Los diferentes taxa de bacterias encontrados se distribuyeron mayoritariamente dentro de los phyla Bacteroidetes, Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Actinobacteria, Cyanobacteria, Firmicutes, Verrucomicrobia y Planctomycetes (Fig. 2). Esta composición resultó similar a la encontrada tras una prospección global de ambientes lacustres de amplia distribución (BARBERÁN & CASAMAYOR 2010; BARBERÁN & CASAMAYOR 2011). En los ambientes lacustres pirenaicos destacó, sin embargo, la elevada abundancia relativa de Betaproteobacteria (>45% de las secuencias detectadas) y de Bacteroidetes (cerca del 25%) respecto a otros grupos, así como la escasez de Alphaproteobacteria (<4%) y Gammaproteobacteria (<2%).

Estos ambientes remotos de alta montaña tienen parte de su dinámica biogeoquímica condicionada por los aportes atmosféricos de componentes tanto inorgánicos como biológicos. Las entradas de polvo de origen sahariano impulsadas por vientos de componente sur y sureste son fácilmente trazables e identificables y de manera recurrente afectan a estos lagos con máximos de incidencia normalmente localizados en primavera-verano (Fig. 3). Durante los últimos 7 años (período 2004-2010) se han observado valores de deposición sahariana mensual en la zona NE de la Península Ibérica con máximos cercanos a los 20 días, mostrando una gran variabilidad inter-

Lago	Latitud (N)	Longitud (E)	Altitud (m)	Profun. (m)	Temp. (°C)	pH	Conduct. (µS/cm)	Chl a (µg/L)
Bassa Nera	42.638	0,9240	1.890	2	20,1	7,28	53	5,28
Gerber	42.6307	0,9947	2.170	63	4,9	7,13	23,4	1,26
Granotes	42.5733	0,9712	2.330	5	19,6	6,45	9,8	4,57
Ibonet Perramó	42.6427	0,4969	2.293	5	13,6	7,49	33,3	0,6
L'illa	42.6184	0,9935	2.452	18	5,7	6,68	13,3	1,3
Llebre ¹	42.5508	0,8903	1.620	11,5				
Llong ¹	42.5740	0,9510	2.000	12				
Llong Liat	42.8066	0,8740	2.140	32	4,2	7,27	20,8	1,02
Plan	42.6225	0,9307	2.188	11	9,2	7,04	16,7	0,58
Podó	42.6031	0,9391	2.450	20	4,7	6,41	9,4	4,18
Redó AT. ¹	42.5810	0,9580	2.150	10				
Redon	42.6421	0,7795	2.240	73	5,5	6,6	10,6	0,63
Roi	42.5748	0,8034	2.310	10	8,4	7,06	25,8	5,23

¹Seguimiento estacional

Tabla 1. Características generales de los lagos analizados en este estudio. La mayoría se encontraban localizados en el Parque Nacional de Aigüestortes-Estany de Sant Maurici y su área de influencia (Tabla 1). Tres de ellos (Llebre¹, Llong y Redó d'Aigüestortes) fueron seguidos mensualmente a lo largo de un ciclo estacional.

Table 1. Lakes studied in the present work. Most of them were located within the Aigüestortes-Estany de Sant Maurici National Park protected area. Lakes Llebre¹, Llong, and Redó d'Aigüestortes were monthly monitored along a seasonal cycle.

anual pero con un periodo con máximos de incidencia claramente constatables durante el bienio 2007-2008. En 2007, un 25% de los días del año en esta zona tuvieron algún tipo de episodio de entrada de material sahariano, seguido en frecuencia por el año 2008 (casi un 18% de los días de ese año). En promedio, durante el período 2004-2010, un día por semana en esta zona geográfica tuvo polvo africano presente en suspensión en la atmósfera.

Los efectos sobre la calidad del aire y la salud de las personas debido a la presencia de estos componentes aerotransportados han sido motivo de detallados estudios (GRIFFIN 2007). El componente bacteriano que viaja adherido a esas partículas y que recorre distancias superiores a los 3000 kilómetros en unos pocos días es, sin embargo, más desconocido. Este aspecto pudo ser estudiado en este proyecto tanto mediante experimentos de recrecimiento en medio estéril (HERVÀS *et al.* 2009) y análisis de muestras de nieve afectada por deposiciones de polvo, como me-

dante el análisis de la variabilidad de la comunidad biológica (neuston) presente en la interfase aire-agua de la superficie de los lagos (HERVÀS & CASAMAYOR 2009). Los resultados de esos trabajos indicaron una gran abundancia de Betaproteobacteria (más del 65%) así como de Gammaproteobacteria (12%) en las muestras de nieve afectadas por deposición de polvo (HERVÀS & CASAMAYOR 2009). También se apreció una gran reactividad de las Gammaproteobacteria viables presentes en el aerosol sahariano (más de un 70% de las bacterias aerotransportadas que pudieron crecer en medio estéril pertenecieron a este grupo) así como de Alphaproteobacteria (cerca de un 15%), mientras que el grupo Betaproteobacteria tuvo una contribución mucho menor (inferior al 8%) (HERVÀS *et al.* 2009). A pesar de tener una estructura general más próxima al plancton que a los aerosoles, algunas de las poblaciones bacterianas que se detectaron en el neuston fueron muy semejantes a las aerotransportadas (especialmente las poblaciones de *Acinetobacter* dentro de las Gammaproteobacte-

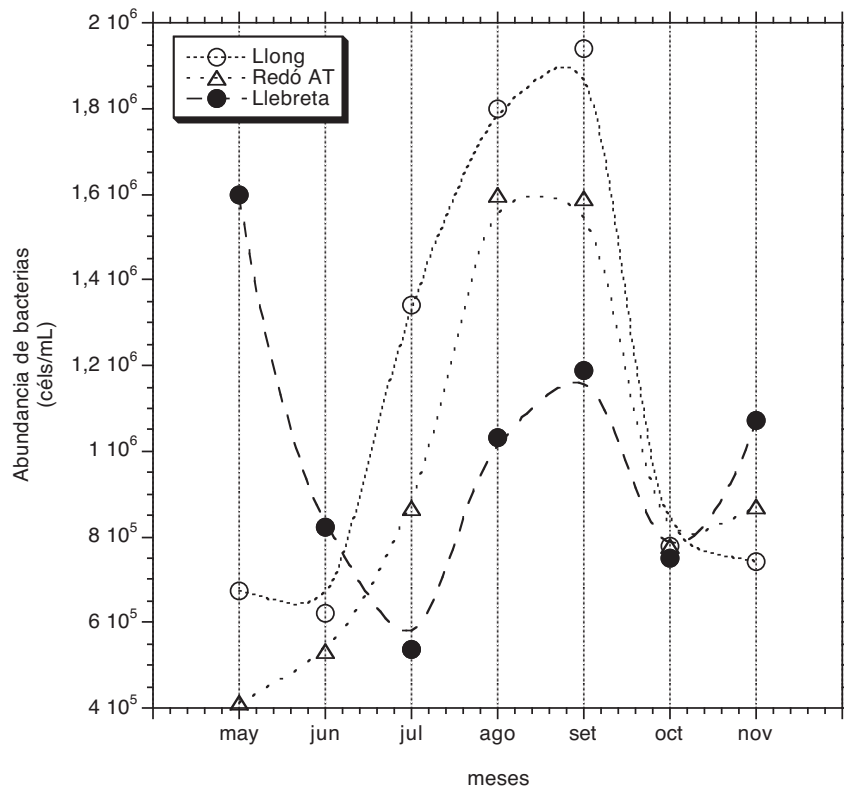


Figura 1. Abundancia bacteriana (recuentos DAPI) a lo largo de un ciclo estacional en los lagos Llebreta, Llong y Redó d'Aigüestortes.
Figure 1. Seasonal changes in bacterial abundance (DAPI counts) in lakes Llebreta, Llong y Redó d'Aigüestortes.

ria y algunas poblaciones de Betaproteobacteria) (HERVÁS & CASAMAYOR 2009). El género *Acinetobacter* se ha descrito como habitante del suelo que contiene variedades patógenas para animales y plantas y patógenos oportunistas humanos típicos responsables de infecciones nosocomiales (las adquiridas en hospitales y quirófanos), pero sin capacidad de producir esporas como mecanismo de resistencia y supervivencia (BERGOGNE-BÉRÉZIN & TOWNER 1996). Dentro de las Betaproteobacteria aerotransportadas sólo se han descrito ejemplos de patógenos potenciales humanos en variedades del género *Duganella*. Estos ejemplos se tratarán específicamente más adelante en este artículo.

A lo largo de una serie de experimentos de fertilización y de enriquecimiento descritos en HER-

VÁS *et al.* (2009) se pudieron tipificar 4 grupos de bacterias presentes en la zona protegida del Parque Nacional (Tabla 2). Para ello se utilizaron diferentes combinaciones tanto de polvo recogido en el desierto (Mauritania) como del polvo presente en aerosoles recolectados en Pirineos e inoculando separadamente agua filtrada y esterilizada de los lagos, así como un análisis exhaustivo de la información de estudios globales depositada en bases de datos genéticos internacionales. Las poblaciones *Tipo I* correspondieron a bacterias estrictamente lacustres, que no se habían detectado nunca ni en el suelo ni en la atmósfera en estudios previos. A esta tipología correspondieron diferentes poblaciones de Betaproteobacteria (clados GKS-16 y *Rhodoferrax*) y de Bacteroidetes. Las poblaciones *Tipo II* (Betaproteobacteria de los clados Airborne Beta-1 y *Duga-*

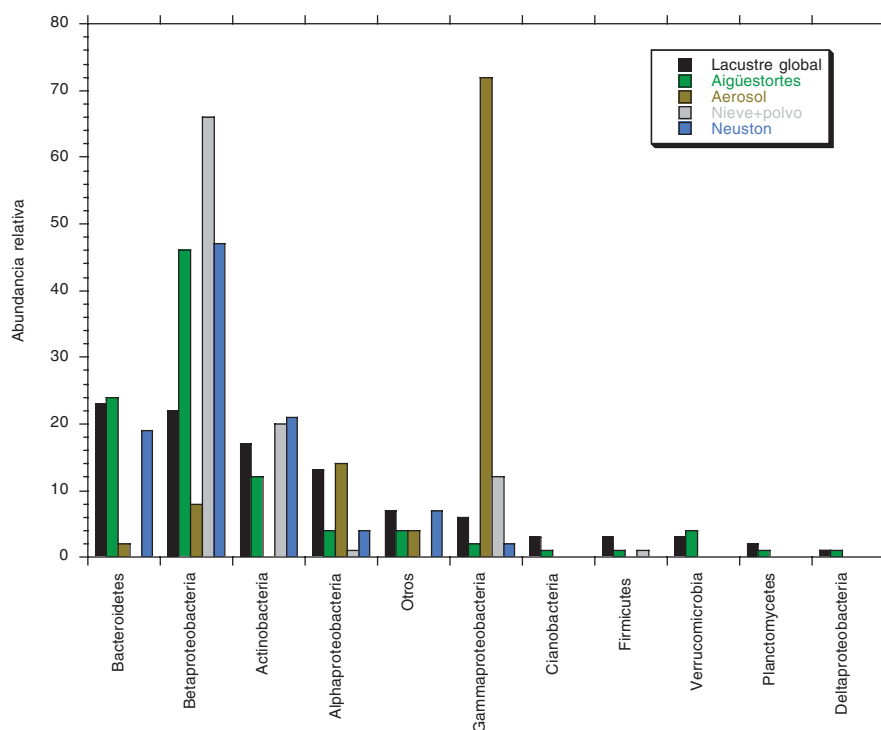


Figura 2. Abundancias relativas de los diferentes taxones bacterianos encontrados en el conjunto de lagos estudiados («Aigüestortes»), en una prospección global de las bases de datos («Lacustre global»), en las muestras de aerosoles que llegan al Parque (HERVÀS *et. al.* 2009) y en muestras de nieve y de neuston del lago Redon (HERVÀS & CASAMAYOR 2009).

Figure 2. Relative abundance of different bacterial taxa found in the study lakes («Aigüestortes»), after a global search of freshwater bacteria in Genbank («Lacustre global»), bacteria present in aerosols (HERVÀS *et. al.* 2009), and in snow and neuston samples from Lake Redon (HERVÀS & CASAMAYOR 2009).

nella) contenían individuos cosmopolitas detectados en los aerosoles saharianos que se pueden considerar inmigrantes exitosos ya que se encontraron en abundancias sustanciales dentro de los lagos del Parque. Las poblaciones *Tipo III* correspondieron a Gammaproteobacteria de los géneros *Pseudomonas* (posiblemente de un origen más local-regional) y *Acinetobacter* (posiblemente de origen intercontinental), así como a Actinobacteria y representantes de Bacteroidetes. Esta tipología englobaría inmigrantes típicos habitantes de suelos pero de colonización no exitosa en los lagos del Parque. Finalmente, el *Tipo IV* se asignó a Alphaproteobacteria detectadas previamente en la atmósfera y en ambientes lacustres pero no en suelos, sugiriendo un transporte ligado a la movilización de aerosoles de origen marino o acuático continental. En este caso se tra-

taría de poblaciones acuáticas cosmopolitas no exitosas en lagos alpinos. Las diferentes tipologías detectadas se encontraron ampliamente extendidas dentro del árbol filogenético (Fig. 4).

En conjunto, los resultados reflejan dos ejemplos contrapuestos de bacterias inmigrantes cosmopolitas aerotransportadas con capacidad de alcanzar en estado viable las zonas de alta protección del Parque Nacional. Por un lado, Betaproteobacteria de los grupos Airborne Beta-1 y *Duganella*, colonizadoras remotas exitosas. En el caso de Airborne Beta-1, se detectó una distribución espacial con un fuerte componente altitudinal, siendo los lagos de mayor altitud y más fríos donde estas poblaciones se establecieron preferentemente alcanzando cerca de un 18% del total

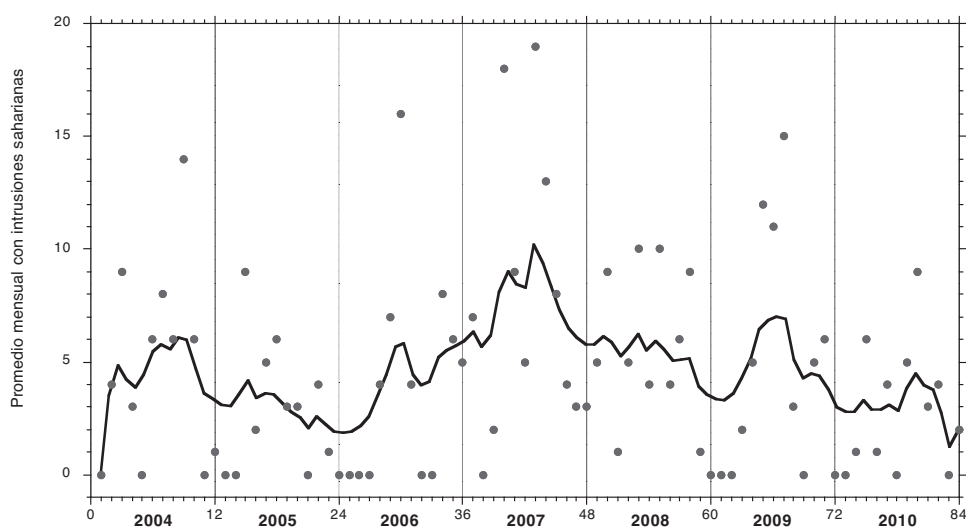


Figura 3. Tendencia interanual (en número de días por mes) de las entradas de polvo sahariano en el NE de la Península Ibérica para el período 2004-2010. Datos obtenidos de www.calima.ws.

Figure 3. Interannual trend (days per month) of Saharan dust intrusions in NE Spain for the period 2004-2010. Data from www.calima.ws.

TIPO	LACUSTRE	ATMOSFERA	SUELO	EJEMPLOS DETECTADOS
I	SI	NO	NO	Betaproteobacteria GKS-16 Betaproteobacteria <i>Rhodoferax</i> Bacteroidetes
II	SI	SI	SI	Betaproteobacteria AIRBORNE-BETA I Betaproteobacteria <i>Duganella</i>
III	NO	SI	SI	Gammaproteobacteria <i>Pseudomonas</i> Gammaproteobacteria <i>Acinetobacter</i> Actinobacteria AIRBORNE-ACT Bacteroidetes AIRBORNE-CFB
IV	SI	SI	NO	Alphaproteobacteria AIRBORNE-ALF

Tabla 2. Diferentes tipologías de bacterias encontradas en los lagos estudiados, en el aerosol y muestras del suelo del desierto del Sahara y en una prospección de bases de datos internacionales (GenBank), con algunos ejemplos de las poblaciones más representativas. Tipo I, bacterias endémicas lacustres; Tipo II, bacterias cosmopolitas inmigrantes exitosas; Tipo III, bacterias cosmopolitas típicas de suelo inmigrantes no exitosas; Tipo IV, bacterias cosmopolitas típicas acuáticas inmigrantes no exitosas. Más detalles en HERVÁS *et al.* 2009.

Table 2. Different bacterial typologies found in the study lakes, in aerosols and soils from the Saharan desert, and after searching in GenBank. Some examples for the most representative populations are shown. Type I, freshwater non-airborne bacteria; Type II, cosmopolitan long-range airborne bacteria successful immigrants; Type III, cosmopolitan airborne soil bacteria non-successful immigrants; Type IV, cosmopolitan airborne aquatic bacteria non-successful immigrants. See more details in HERVÁS *et al.* 2009.

de bacterias analizadas. En lagos más montanos, sin embargo, sus abundancias relativas no sobrepasaron el 3% (Fig. 5). Por otro lado, Gammaproteobacteria de los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter* cuyas abundancias no sobrepasan en ningún caso valores superiores al 3%, no pre-

sentaron un componente altitudinal en su distribución, pero fueron más dependientes de la frecuencia y la duración con la que estos eventos saharianos afectan a los lagos del Parque (Tabla 3). Éstas son las poblaciones que mejor se desarrollan cuando se utiliza como medio de creci-

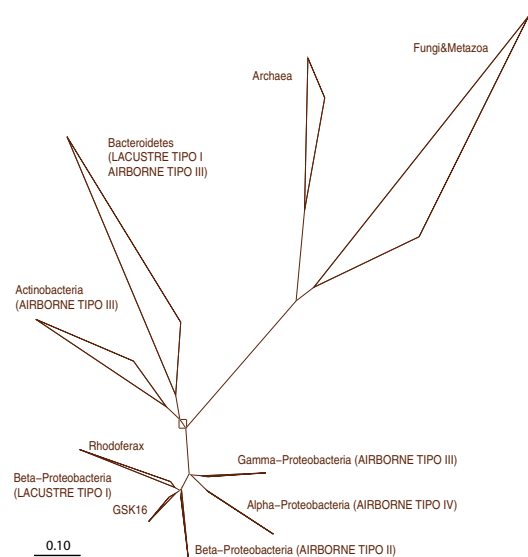


Figura 4. Árbol filogenético mostrando el posicionamiento de las diferentes tipologías de bacterias detectadas en este trabajo. Nomenclatura de acuerdo a Tabla 2.

Figure 4. Phylogenetic tree with the different bacterial typologies found in this work. Naming follows Table 2.

miento agua de los lagos esterilizada y suplementada con polvo aerotransportado sin añadir ningún complemento nutritivo adicional, pudiendo alcanzar hasta más del 75% de las células generadas *de novo* (Tabla 3). Esto indica el gran potencial de estos microorganismos para desarrollarse en estos ambientes. Curiosamente, en condiciones naturales estos géneros de Gammaproteobacteria se encuentran, sin embargo, mayoritariamente en concentraciones *in situ* <1% formando parte de lo que se podría considerar la biosfera rara de estos ambientes lacustres (PEDRÓS-ALIÓ 2007). Estos individuos minoritarios se encontrarían en estado latente pero sin llegar a desarrollarse y formar crecimientos detectables aunque con el potencial de crecer rápidamente frente a un cambio de las condiciones ambientales. A pesar de ser individuos poco abundantes en relación con el resto de sus congéneres, las concentraciones de *Acinetobacter* totales presentes en los lagos analizados oscilaron entre el millón y los cerca de 40 millones de individuos por litro de agua en función de la duración del evento de intrusión sahariana (Tabla 3). Las mayores concentraciones puntuales se detectaron cuanto mayor era el número de días con entradas de polvo sahariano, lo que sugiere un proceso con-

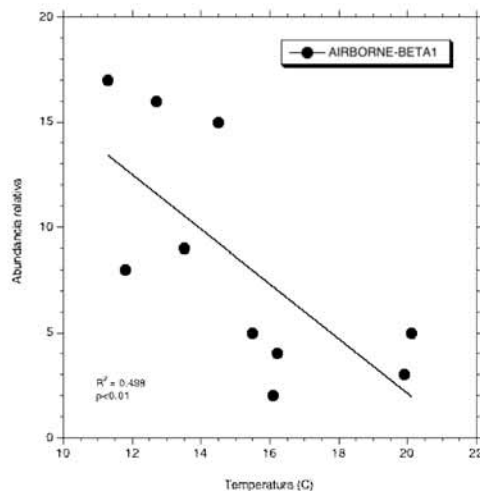
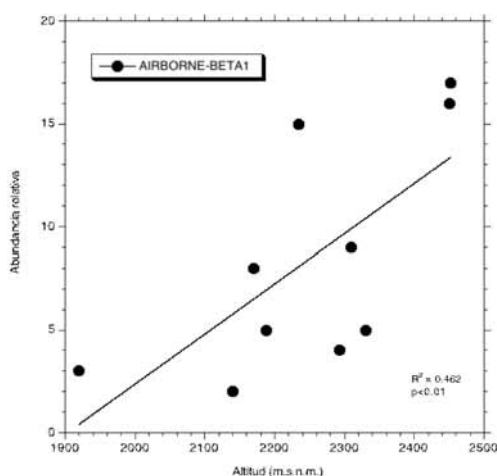


Figura 5. Cambios en la abundancia relativa *in situ* de la población Tipo II inmigrante exitosa Betaproteobacteria Airborne-Beta1, a lo largo de un gradiente altitudinal (gráfico superior) y de temperatura (gráfico inferior) en los lagos de alta montaña estudiados.

Figure 5. Changes in the *in situ* relative abundance of the successful immigrant Type II Betaproteobacteria Airborne-Beta1 along an altitudinal (upper panel) and temperature (lower panel) gradient in the high mountain lakes studied.

Duración evento (días)	<i>Pseudomonas</i> (%)	<i>Acinetobacter</i> (%)	<i>Acinetobacter</i> FISH (cél/s/mL)
1	27	27	nd
2	7	55	nd
3	9	61	1.000
4	nd	nd	3.000
7	4	74	39.000
9	nd	nd	23.000

Tabla 3. Presencia de Gammaproteobacteria de los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter* (valores de abundancia relativa en %) detectadas en experimentos de enriquecimiento con aerosol recolectado tras eventos de intrusión de polvo sahariano de diferente duración. Concentración de células de *Acinetobacter* detectadas en el Estany LLong mediante recuentos FISH con la sonda específica ACA. nd, no determinado.

Table 3. Gammaproteobacteria from the genera *Pseudomonas* and *Acinetobacter* (relative abundance, in %) obtained after Saharan airborne dust enrichments. FISH counts for *Acinetobacter* using the specific probe ACA in Lake Llong. nd, not determined.

tinuo de inmigración en estos sistemas y un fuerte control de las poblaciones inmigrantes posiblemente tanto por las condiciones ambientales que prevalecen *in situ* (temperatura, radiación UV, oligotrofia) como por las interacciones biológicas a las que se enfrentan (competencia, predación). Desconocemos sin embargo, cuál es el porcentaje de individuos en la población de *Acinetobacter* que se encuentran activos, o en estado de dormancia, o en estado de inactividad/muerte, y qué fracción de los individuos activos podría ser potencialmente patógena. Aunque el porcentaje de patógenos respecto al total de *Acinetobacter* detectados fuese inferior al 0,01% todavía serían abundancias con posibles implicaciones sanitarias ya que, por ejemplo, el límite para detectar contaminación fecal en aguas y dejar de ser consideradas aptas para el consumo humano se encuentra tan sólo en 2.000 células de coliformes fecales por litro. Estas consideraciones quedan fuera del alcance de este trabajo pero lo que si se desprende de las investigaciones aquí presentadas es que microorganismos no esporulados y aparentemente no especializados para resistir condiciones de sequedad acusada o altas dosis de radiación ionizante como las que ocurren en la troposfera, son capaces de resistir viajes de miles de kilómetros a una altitud entre 2000 y 4000 metros, llegar en forma viable a ecosistemas remotos y desarrollar capacidades de adaptación y colonización de estos ambientes. Muy probablemente las partículas sólidas de tamaño microscópico que

se encuentran suspendidas en al atmosfera proporcionan a estos microorganismos protección física y suministros vitales para ese largo periplo. El transporte a larga distancia en masas de polvo aerotransportadas aparece por tanto como un mecanismo excelente que favorece el cosmopolitismo y la dispersión global de los microorganismos.

DISCUSIÓN

La movilización atmosférica de polvo a escala global se ha visto acelerada por la persistente sequía que desde hace más de 30 años azota la zona del Sahel y del Sahara y que, junto al crecimiento desmedido de prácticas agrícolas y ganaderas extensivas, han prácticamente desecado extensas zonas acuáticas como el Lago Chad, disminuyendo la cubierta vegetal protectora y aumentando la frecuencia e intensidad de las tormentas de arena. El escaso o nulo control en las prácticas agrícolas y sanitarias en estas regiones de África y la falta de depuración en los vertidos realizados a ríos y lagos hacen que se movilicen de los sedimentos desecados diferentes tipos de contaminantes orgánicos, metales pesados y microorganismos potencialmente patógenos. Se estima que alrededor de 3000 millones de toneladas de componentes del suelo y sedimentos están continuamente flotando en la atmósfera. La mayor cantidad de polvo circulando por el planeta hace

que aumente significativamente la carga microbológica del aire (GRIFFIN 2007).

Aunque conocida su existencia desde el siglo XIX, el componente microbiano presente en los aerosoles atmosféricos no ha recibido la atención necesaria hasta principios de la presente década, especialmente por los vínculos con el cambio global. La magnitud de este fenómeno y sus consecuencias se están empezando a poner de manifiesto en fenómenos como plagas y enfermedades en fauna y flora de ecosistemas acuáticos remotos no adaptadas a las especies microbianas colonizadoras ya que las barreras que podían constituir las enormes distancias que separaban estos ambientes no han mostrado ser tan aislantes y asépticas como en un principio se pensaba. La identificación de cepas de laboratorio obtenidas de aerosoles en la costa este estadounidense indica que microorganismos típicos de suelos africanos, algunos de ellos patógenos, llegan en condiciones óptimas para invadir nuevos ecosistemas (KE-LLOGG & GRIFFIN 2006).

En el presente proyecto se han utilizado lagos y zonas de alta montaña como biosensores de la calidad microbológica del aire y de la salud del ecosistema. Estos lagos se encuentran relativamente poco alterados por la acción humana a escala local y son considerados relativamente libres de interferencias externas próximas. Los resultados indican que se trata de grandes colectores naturales muy útiles para estudiar la incidencia de microbios invasores de origen remoto transportados por el viento ya que ofrecen datos integradores de alto valor diagnóstico. Además, se encuentran presentes en todas las latitudes del planeta permitiendo la extrapolación de estudios locales y regionales a una escala planetaria. En este contexto, el valor de estos ecosistemas reside en su potencial para seguir procesos ecológicos que sobrepasan sus fronteras y que tienen un carácter global. Estos datos resultan imprescindibles para avanzar en el conocimiento de las estrategias ecológicas de dispersión en el mundo de las bacterias y su aplicación a la comprensión de fenómenos como plagas y transmisión de enfermedades. Las implicaciones a nivel sanitario pueden ser, por tanto, de gran relevancia (GRIFFIN 2007).

En los experimentos realizados en este trabajo se identificaron diferentes tipos de bacterias según su área de distribución, desde bacterias cosmopolitas aerotransportadas capaces de colonizar ambientes acuáticos remotos (como las Airborne-Betaproteobacteria), hasta clusters endémicos de agua dulce de bacterias no aerotransportados dentro de los phyla bacterianos Betaproteobacteria y Bacteroidetes (HERVÁS et al. 2009). Además, se detectaron filotipos viables de amplia distribución del género bacteriano *Acinetobacter* que de manera recurrente colonizan estos ambientes remotos pero sin llegar a establecerse como miembros dominantes de la comunidad. Algunos de estos filotipos se encuentran relacionados con patógenos oportunistas presentes en infecciones nosocomiales (adquiridas en hospitales) y otros patógenos potenciales de animales y plantas. La huella genética de la presencia de estas poblaciones en el plancton podría ser utilizada como herramienta de gestión y seguimiento de poblaciones colonizadoras con una perspectiva que engloba, pero al mismo tiempo sobrepasa, las dimensiones de un parque nacional concreto. Establecer observatorios microbianos en estas zonas para el seguimiento y detección temprana de la movilización a escala global de microorganismos de especial interés, así como el seguimiento de la evolución y potencial de colonización de dichos microorganismos a largo plazo en el ecosistema mediante estructuras logísticas que aseguren un seguimiento temporal sostenido (>10 años) son también herramientas que ayudarían a la gestión de estos espacios. Curiosamente, muchas de estas bacterias aerotransportadas que viajan suspendidas en partículas de polvo del desierto africano en condiciones viables y son transportadas por el viento a miles de kilómetros de distancia no tienen mecanismos de resistencia conocidos, como las esporas, lo que apunta a que el número de barreras a la dispersión para las diferentes poblaciones de microorganismos podría ser considerablemente menor a las tradicionalmente considerado. El conocimiento sobre estos mecanismos de dispersión microbianos, barreras a su dispersión y el posible efecto isla para especies endémicas y reservorio de fases latentes viables detectado en los lagos remotos, son de gran utilidad para aplicar al mundo de los microorganismos los conceptos de

la ecología general desarrollados con animales y plantas.

Los estudios realizados dentro de este proyecto han dado énfasis y relevancia al creciente fenómeno de transporte de microbiota a larga distancia y su entrada en ambientes naturales europeos de alta protección. Claramente esta información es crucial para entender la interconexión de ecosistemas, el manejo a escala internacional de políticas y leyes ambientales comunes y la visión global en la aplicación de medidas locales y regionales de desarrollo sostenible. Este proyecto representa un ejemplo de cómo zonas especialmente sensibles a la degradación y que quizá no son consideradas relevantes en las agendas de protección por su falta de interés faunístico, florístico o paisajístico, juegan un papel clave en la ecología del planeta y tienen un efecto remoto en ecosistemas de alto interés y máximo grado de protección. Favorecer políticas ambientales adecuadas en zonas semiáridas susceptibles como el Sahel es apostar por una visión global del reto de la conservación. Los parques nacionales en zonas de alta montaña cumplirían una misión adicional a la de la conservación sirviendo como referentes para evaluar el grado de alteración del entorno y como sistemas de detección temprana y seguimiento de las diferentes facetas del cambio global. Un ejemplo más de que el planeta es uno e interconectado.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se ha realizado gracias a las instalaciones del Observatorio Limnológico de Pirineos dentro de la red LTER (Long Term Ecological Research) y las del Centre de Recerca d'Alta Muntanya-CRAM de la Universitat de Barcelona, junto a la colaboración de las autoridades y guardería del Parque Nacional de Aigües Tortes i Estany de Sant Maurici. Diferentes partes de este estudio han sido financiados por los proyectos ECOSENSOR BIOCON04/009 de la Fundación BBVA, AERBAC 079-2007 del Ministerio de Medio Ambiente-Red de Parques Nacionales y GRACCIE CSD2007-00004 del programa CONSOLIDER del Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) y han sido fruto del trabajo y apoyo logístico y de campo de Anna Hervàs, Carmen Gutiérrez-Provecho, Jean Christophe Auguet, Albert Barberán, Lluís Camarero y Montse Bacardit. Los datos obtenidos de www.calima.ws han sido generados como fruto del Acuerdo de Encomienda de Gestión entre el Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino (MARM) y la Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (a través del Instituto de Ciencias de la Tierra «Jaume Almera») para la realización de trabajos relacionados con el estudio y evaluación de la contaminación atmosférica por material particulado y metales en España.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUGUET, J.C. & CASAMAYOR, E.O. 2008. A hotspot for cold Crenarchaeota in the neuston of high mountain lakes. *Environmental Microbiology* 10: 1080-1086.
- BARBERÁN, A. & CASAMAYOR, E.O. 2010. Global phylogenetic community structure and beta-diversity patterns of surface bacterioplankton metacommunities. *Aquatic Microbial Ecology* 59: 1-10.
- BARBERÁN, A. & CASAMAYOR, E.O. 2011. Euxinic freshwater hypolimnia promote bacterial endemicity in continental areas. *Microbial Ecology* 61: 465-472.
- BERGOGNE-BÉREZIN, E. & TOWNER, K.J. 1996. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clinical Microbiology Reviews* 9: 148-165.
- CASAMAYOR, E.O., PEDRÓS-ALIÓ, C., MUYZER, G. & AMANN, R. 2002. Microheterogeneity in 16S rDNA-defined bacterial populations from a stratified planktonic environment is related to temporal succession and to ecological adaptations. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 1706-1714.
- GRIFFIN, D.W. 2007. Atmospheric movement of microorganisms in clouds of desert dust and implications for human health. *Clinical Microbiology Reviews* 20: 459-477.
- GRIFFIN, D.W., KELLOGG, C.A., GARRISON, V.H. & SHINN, E.A. 2002. The global transport of dust. An intercontinental river of dust, microorganisms and toxic chemicals flows through the Earth's atmosphere. *American Scientist* 90: 228-235.

CASAMAYOR, E. O. «Diversidad bacteriana en lagos de alta montaña: biogeografía y mecanismos de dispersión»

HERVÀS, A. & CASAMAYOR, E.O. 2009. High similarity between bacterioneuston and airborne bacterial community compositions in a high mountain lake area. *FEMS Microbiology Ecology* 67: 219-228.

HERVÀS, A., CAMARERO, L., RECHE, I. & CASAMAYOR, E.O. 2009. Viability and potential for immigration of airborne bacteria from Africa that reach high mountain lakes in Europe. *Environmental Microbiology* 11: 1612-1623.

KELLOGG, C.A. & GRIFFIN, D.W. 2006. Aerobiology and the global transport of desert dust. *Trends Ecology & Evolution* 21: 638-644.

MOULIN, C. & CHIAPELLO, I. 2006. Impact of human-induced desertification on the intensification of Sahel dust emission and export over the last decades. *Geophysical Research Letters* 33:L18808.

PEDRÓS-ALIÓ, C. 2007. Dipping into the rare biosphere. *Science* 315: 192-93.

PROSPERO, J.M., GINOUX, P., TORRES, O., NICHOLSON, S., & GILL, T. 2002. Environmental characterization of global sources of atmospheric soil dust identified with the NIMBUS 7 Total Ozone Mapping Spectrometer (TOMS) absorbing aerosol product. *Review of Geophysics* 40: 1002.

RECHE, I., ORTEGA-RETUERTA, E., ROMERA, O., PULIDO-VILLENA, E., MORALES-BAQUERO, R. & CASAMAYOR, E.O. 2009. Effect of Saharan dust inputs on bacterial activity and community composition in Mediterranean lakes and reservoirs. *Limnology and Oceanography*, 54: 869-879.

WHITMAN, W. B., COLEMAN, D. C. & WIEBE, W. J. 1998. Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings National Academy of Sciences USA* 95: 6578-6583.