

LA BIODIVERSIDAD MICROBIANA DEL SUELO, UN MUNDO POR DESCUBRIR

Daniel Ricardo Toro Castaño. Ms.C.
Profesor de la Universidad de Caldas
Manizales, 2004-07-17 (Rev. 2004-09-18)

RESUMEN

A partir de una conceptualización general de diversidad y biodiversidad, el autor presenta una serie de resúmenes de investigaciones relacionadas con diversas maneras de abordar la diversidad. Presenta además, de forma reiterada, sus inquietudes sobre la dificultad de evaluar la diversidad biológica de los microorganismos, pues los mayores avances científicos de estos estudios se relacionan directamente con la determinación de la diversidad en especies macro.

PALABRAS CLAVE

Biodiversidad, microorganismo, suelo.

ABSTRACT

From a general conceptualization of diversity in general and biological diversity in particular, the author of this article presents a compilation of diversity research digests. It is also remarkable of this article the worries of the author about the difficulty to evaluate biological diversity in microorganisms, due to scientific advances in this area are in macro species.

KEY WORDS

Biodiversity, microorganism, soil.

IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS DE DIVERSIDAD

Para la biología, y en especial para la ecología, los estudios de diversidad representan una buena aproximación a la evaluación de la estabilidad y riqueza de un ecosistema. Así, cuando un ecosistema se encuentra en estado de equilibrio alcanza su máxima diversidad; ésta puede variar dependiendo de la región biogeográfica donde se halle, por ejemplo: se estima que el ecosistema más diverso es el de los manglares y arrecifes costeros, también el de las selvas húmedas tropicales. Si comparamos la diversidad de un bosque de tundra con uno de la zona ecuatorial, encontramos que éste último tiene mayor diversidad.

Otra aplicación de los estudios de diversidad es la de cuantificar el impacto antrópico (acción del hombre) sobre un ecosistema. Para ello, se parte de la hipótesis que mientras más intervenido esté el hábitat menor será su diversidad.

DIVERSIDAD

El término, etimológicamente, proviene del latín *divertere* que significa distraer, apartar, recrear. Entendemos la diversidad en un sentido amplio como el conjunto de formas diferentes, no repetidas, sin importar la cantidad o el espacio que ocupen.

BIODIVERSIDAD

El concepto de biodiversidad se puede entender desde un punto de vista muy amplio, comprendiéndolo desde las formas distintas que presenta la biosfera hasta la diversidad de especies, que es el tema en el que se centra este artículo.

De este modo, aplicamos este concepto a la cantidad de formas vivas diferentes que se encuentran en un espacio determinado. Inicialmente este término se aplicó básicamente a la flora y fauna de un ecosistema dado, o como lo expresa Gentry (1): "... la biodiversidad, en su sentido más aceptado, se refiere a la riqueza de especies de un área dada, a la cual los biólogos hemos dado mayor interés, aunque éste, generalmente, no sea compartido por los políticos..."

Algunos autores como De Wilson (2) calculan en 1.400.000 las especies descritas; la mayor parte de éstas corresponden a insectos y están, en su mayoría, en las zonas ecuatoriales del planeta; pero algunos investigadores del Instituto Smithsonian aislaron con tela y fumigaron un árbol de la selva húmeda y encontraron que el 80% de los insectos no se hallaban clasificados, por lo que estiman en más de 30 millones las especies de insectos de las zonas tropicales. Todos estos intentos de calcular la megadiversidad del planeta se circunscriben solamente a los organismos macro.

¿QUÉ PASA ENTONCES CON LOS MICROORGANISMOS?

En general, no tenemos idea de la magnitud de especies de microorganismos que habitan el planeta. Hasta el momento tenemos conocimiento de aquellos que afectan favorable o desfavorablemente la salud humana y la de los animales y las plantas; hasta el momento se estima un registro de 4.000 especies de virus, 4.000 de bacterias, 72.000 de hongos y 40.000 protozoarios. A pesar de estas cifras, apenas comenzamos el conocimiento de las especies que tienen interacciones o simbiosis con otros organismos.

Realmente desconocemos la gran mayoría de los microbios, algunos autores se atreven a afirmar que no conocemos cerca del 99% de todos los microorganismos del planeta. Se les encuentra desde las aguas azufradas de los volcanes hasta en socavones de 3.800 metros de profundidad (4).

La magnitud de la biodiversidad es tal que hoy día tal vez sólo conozcamos una fracción de su tamaño e importancia, por tal motivo en los diferentes países donde se concentra la mayoría de las especies (Colombia, Brasil, Ecuador...) se están llevando a cabo serias discusiones sobre la posición que se debe afrontar para conservarla y utilizarla racionalmente y del peligro de aprobar las patentes de vida.

LA BIODIVERSIDAD DEL SUELO

Sin dudas es el suelo el lugar donde esta megadiversidad de microorganismos se hace más evidente, el suelo, en especial la zona de la rizósfera, se puede considerar como 'un ser vivo' ya que cumple con las descripciones clásicas para ello: "nace, crece, se reproduce y muere".

Es decir, el suelo presenta una dinámica tal que podríamos afirmar que es el ecosistema más estable y sustentable para el grupo microbiano, los aportes de materia orgánica e inorgánica mantienen una inmensa cantidad de microbios los cuales apenas estamos comenzando a descubrir. Directa o indirectamente los desechos humanos y animales, sus cuerpos y los tejidos de vegetales llegan a la tierra y allí 'se desaparecen' al transformarse en tierra, todo este trabajo es realizado por los microorganismos; además, estos microorganismos liberan sustancias útiles para las plantas de tal manera que sin la actividad microbiana del suelo la vida se extinguiría gradualmente.

Encontramos que fácilmente en un gramo de suelo podemos hallar más de ocho mil millones de bacterias (8x10⁹), simplemente cultivándolos en agares adecuados (3).

VARIABILIDAD EN EL SUELO

La gran variabilidad en la composición de los suelos referida a la cantidad y el tipo de sustancias nutritivas, la humedad, la aireación, la temperatura, el pH, las interacciones, la presencia de raíces y las prácticas agrícolas, entre otras, producen grandes diferencias en la densidad y diversidad de la población microbiana. Además, todos estos factores ocasionan una compleja red trófica o trama alimentaria en el suelo, que permite la sobrevivencia de unos y la inhibición de otros.

VALORACIÓN DE LA DIVERSIDAD

La valoración de la diversidad es un tema de la ecología numérica, para lo cual muchos biomatemáticos han propuesto distintos índices para calcularla. En general, se trata de relacionar la abundancia con la divergencia de especies presentes, que en una ecuación muy simple la podríamos expresar de la siguiente manera:

$D = (\text{Número de especies diferentes} / \text{Número total de individuos})$.

Así, por ejemplo, supongamos que en un ecosistema dado (un lago) existen 100 peces, si todos ellos fuesen de la misma especie la diversidad sería un centésimo, pero si todos ellos fuesen de diferente especie, la diversidad sería uno. Entonces, para nuestro ejemplo, la diversidad se manejaría dentro de estos dos valores (1: máxima diversidad, 0,01: mínima diversidad).

Pero en la práctica el cálculo es más complejo, y el ejemplo anterior es considerado más bien como riqueza de especies, tratando de calcular en la diversidad la abundancia relativa de cada especie, es por ello que existen y existirán diversos modos para calcular la diversidad.

Desafortunadamente todos los estudios de cálculo de la diversidad se han efectuado en flora y fauna (organismos macroscópicos), en el caso de los microorganismos el fenómeno es más complejo porque es muy difícil establecer el concepto de 'especie' ya que en los microorganismos se presenta con gran frecuencia variedades, serotipos, subespecies...

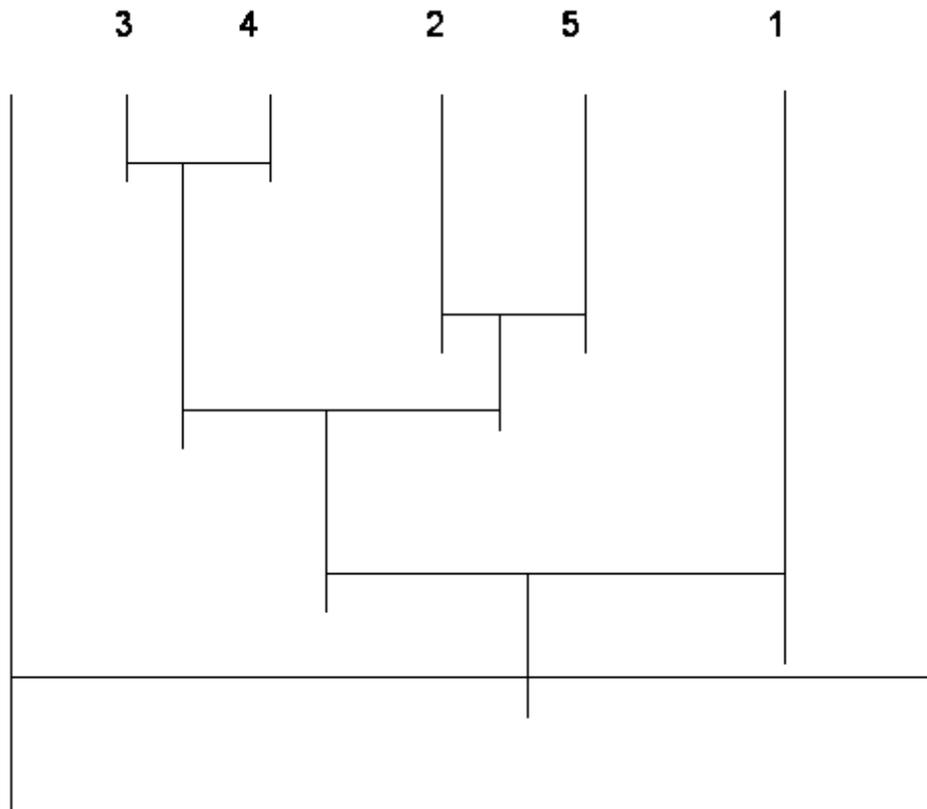
Los microbiólogos, tratando de calcular la diversidad con parámetros diseñados para otros reinos, han acuñado el término 'biotipo', pero de todas formas determinarlo con certeza es difícil.

FENÉTICA

También se denomina taxonomía numérica. Es una aplicación de la sistemática con el fin de clasificar un grupo determinado de individuos; es de mucha utilidad en los estudios de diversidad en poblaciones de microorganismos del suelo o de cualquier otro ecosistema; se fundamenta en buscar un gran número de características comunes y no comunes entre los organismos objeto de estudio, a mayor número de características comunes mayor acercamiento de especies.

Para tal efecto se construye una matriz con los distintos microorganismos y con las características que se van a comparar (se pueden hacer comparaciones fenotípicas usando las propiedades bioquímicas y morfológicas de los microorganismos, o se puede hacer con características genotípicas comparando fragmentos de ADN cromosomal o de ARN ribosomal, el cual se considera actualmente como un reloj biológico para medir la evolución) y se indica su presencia o ausencia con valores de 1 ó 0. Con estos valores y con la ayuda de un programa estadístico apropiado se calculan los índices de disimilitud entre cada uno de los organismos estudiados y luego se construye un fenograma, en él aparecerán en orden de similitud los distintos organismos.

Aunque algunos aseguran que la fenética no nos dice nada sobre los árboles filogenéticos, los fenogramas nos muestran 'cluster' o grupos similares los cuales son de gran ayuda para clasificar organismos, diferenciar los 'biotipos' y valorar la biodiversidad de uno o varios ecosistemas.



Gráfica 1. Se muestra un fenograma fenotípico de cinco especies de bacillus. El microorganismo 1 no pertenece a ninguno de los 'cluster' formados.

Cuando la diversidad y el fenograma son construidos con características como la morfología y las reacciones bioquímicas, se les denomina diversidad fenotípica y cuando se valora la similitud total o parcial del ADN o ARN se denomina diversidad genotípica.

¿CÓMO SE ESTUDIA LA BIODIVERSIDAD DE LOS MICROORGANISMOS?

Hasta el momento la metodología clásica para calcular la biodiversidad de los microorganismos del suelo o de ambientes similares consistía en tomar una muestra de suelo (generalmente a 10 centímetros de profundidad) y sembrarla en agares nutritivos específicos para microorganismos del suelo, luego microscópicamente se separaban de acuerdo a la morfología de la colonia y del microorganismo, finalmente se aplicaban test morfofisiológicos (pruebas bioquímicas), generalmente específicas para el grupo de microorganismos en el que tuviésemos interés. Luego se realizaban cálculos matemáticos adecuados a nuestro estudio (fenética). Dicha metodología sigue siendo válida en muchos casos.

Pero ahora con el desarrollo de métodos de biología molecular, la perspectiva cambia. Algunos autores (4) estiman que sólo el 1% de los microorganismos del suelo crecen en medios de cultivo en el laboratorio entonces, según esto, si pretendemos valorar la diversidad total de microorganismos que existen en un ecosistema dado no podemos sacar conclusiones válidas contando con sólo el 1% de la población.

Tratando de ampliar la muestra analizada se plantea otra alternativa: la muestra de suelo en cuestión no se siembra en medios de cultivo sino que se le extrae el ADN o una fracción determinada de él, se amplifica por PCR y se comparan por electroforesis las diferentes secuencias encontradas, construyéndose así un fenograma genético. De esta forma podemos tener un valor más real de la diversidad de un ecosistema dado y podemos hacer comparaciones entre distintas muestras que pueden pertenecer a diferentes ambientes.

A continuación resumo una serie de trabajos de investigación relacionados con diferentes tópicos de

biodiversidad en microorganismos del suelo, los cuales nos presentan distintos ejemplos de investigaciones que se pueden desarrollar en nuestro entorno:

1. ALTA DIVERSIDAD EN DNA DE BACTERIAS DEL SUELO (4):

El propósito de este trabajo fue determinar, a través de la heterogeneidad del ADN, la cinética de reasociación como una medida de la diversidad genética; en este trabajo el método es aplicado para comparar la diversidad genética de una muestra de suelo con los datos obtenidos de una población aislada de la muestra. Se halló que la diversidad total de la comunidad bacteriana en un suelo de bosque caducifolio es más alta que para otros microorganismos (hongos, protozoos, virus).

2. DIVERSIDAD DENTRO DE UNA COLONIA MORFOTIPO, IMPLICACIONES PARA LA INVESTIGACIÓN EN ECOLOGÍA (5):

Uno de los problemas para valorar la diversidad de los microorganismos es determinar el concepto de especie; en este trabajo se estudió una colonia morfológicamente igual.

Un grupo de bacterias aisladas con la misma morfología de colonia fueron seleccionadas para extenderlas en cajas de Petri. Al realizar un análisis API-rapid-NFT se reveló que las bacterias aisladas con una misma morfología no son las mismas. En el análisis de metilación de ésteres de ácidos grasos de un 'cluster' aislado de microorganismos de la misma especie se encontró variación entre los aislamientos con el biotipo y niveles de cepas.

3. DIVERSIDAD DE LOS ACTINOMYCETES DEL SUELO EN YUNNAN-CHINA (6):

En este trabajo se realizó un estudio de diversidad fenotípica en un grupo de amplia distribución en el suelo y se comparó con diferentes elementos climáticos y ambientales.

Desde 1978 se recolectaron cerca de 4.200 muestras de suelo de 22 regiones de varios tipos de vegetación y de clima en la provincia de Yunnan. Se aislaron, por varios métodos, 29 géneros de Actinomycetes. En la correlación entre diversidad y clima se halló que en el clima tropical y de meseta subtropical presentan mayor diversidad; cuando se correlacionó la diversidad de Actinomycetes con la vegetación se encontró que la diversidad es mayor en bosques primaverales. El nivel superior de Actinomycetes se presentó a 3.500 m.s.n.m., pero se encontraron algunos micrófilos a mayor altura. Los suelos secos, fríos, pobres, presentaron el menor conteo de Actinomycetes pero no así para los Streptomycetes, pues este grupo aparece como el de mayor importancia económica y representan el 90% de toda la diversidad biológica de actinomicetos del suelo de Yunnan.

4. PROBLEMAS EN LA MEDICIÓN DE LA DIVERSIDAD Y UNA POSIBLE SOLUCIÓN (7):

Los índices de diversidad de especies usados por ecólogos para plantas y animales no son apropiados para la diversidad bacteriana, dada la inherente dificultad de definir una especie de bacteria. Arbitrariamente se determinan algunas pautas para definir un biotipo, lo que conduce a un gran problema estadístico. Se sugiere en este trabajo una medida basada en disimilitud para intentar así la definición de una especie basada en una medida estadística.

Se recomienda para los estudios de diversidad de microorganismos del suelo que el índice elegido cumpla con los siguientes parámetros:

Que contemple las siguientes dimensiones: riqueza de especies o número diferente de biotipos, abundancia relativa y distancias taxonómicas.

La escogencia del índice se debe dar por parámetros establecidos que se ajusten a los objetivos del estudio.

Que el índice elegido sea poco sensible a pequeños cambios en los datos.

Que el tamaño de la muestra sea significativo.

Por ejemplo, no es igual comparar en cuatro ecosistemas una cepa de E. coli, que comparar Archeas, Actinomycetes u organismos similares como Clostridium o Bacillus.

Para poder establecer la riqueza de especies y abundancia relativa de una determinada especie se debe tener una gran exactitud en la definición de especie, como esto es difícil en microbiología, el uso de estos valores no son adecuados, además los índices apropiados no se deben basar en diversidad de especies.

5. ESTUDIO DE CAMPO DE UNA COMUNIDAD MICROBIANA EN UN CULTIVO CONTINUO DE ARROZ (8):

Un tema de controversia en la microbiología del suelo es determinar la causa y el efecto. El dilema es: ¿es la vegetación de un determinado sitio consecuencia de los microorganismos que allí se encuentran? o, ¿los microorganismos del suelo son la consecuencia de la presencia de un grupo específico de plantas?

En este trabajo se encontró una dinámica en la presencia de los microbios del suelo en un cultivo de arroz; en tal cultivo se tomaron muestras de suelo en su comienzo, durante el crecimiento de las plantas, en el momento de la cosecha y después de recolectada la cosecha. Se encontró que la biomasa de los microbios del suelo y su biodiversidad cambiaban a medida que las plantas crecían y maduraban.

6. DIVERSIDAD MOLECULAR MICROBIANA EN SUELOS DEL ESTE AMAZÓNICO, EVIDENCIA DE UN MICROORGANISMO INUSUAL Y UNA POBLACIÓN MICROBIAL ASOCIADA AL CAMBIO POR LA DEFORESTACIÓN (9):

Basados en los resultados de las anteriores investigaciones en los que la diversidad del suelo puede ser valorada con el ADN, este trabajo aportó resultados interesantes. Ya que la Amazonía representa un símbolo de biodiversidad en flora y fauna, valorar la diversidad de los microorganismos en un bosque nativo y compararlo con un campo de cultivo es un aporte interesante para la microbiología del suelo.

La cuenca amazónica es bien conocida por su diversidad de fauna y flora, este reporte representa la primera descripción de la diversidad microbiana en los suelos amazónicos y supone una aproximación a los estudios de diversidad en este ambiente. Se encontraron cerca de 100 secuencias de genes que codifican para una pequeña subunidad rRNA al ampliar por PCR con un 'primer' universal. Se hallaron 98 eubacterias y 2 archeobacterias. No se encontraron secuencias repetidas y ninguna descrita anteriormente. El 80% no se encontraba clasificado en ninguna taxa conocida. Se encontraron dos secuencias que pueden servir de unión entre la vasta mayoría de bacterias y un grupo aislado (termofílicas). Cinco secuencias puede representar un 'clade' que puede ser un nuevo grupo: las protobacterias. Además el análisis de espacios intergénicos de rRNA fue usado para demostrar significativamente las diferencias microbianas en poblaciones del suelo de bosque natural y del campo cultivado adyacente (pastura).

Se encontraron grupos dominantes en cada ambiente, así, por ejemplo, se halló que el grupo de Bacillus es más común en el suelo de pastura, en cambio el grupo Clostridium es prevalente en el bosque.

7. COMPARACIÓN ENTRE LA DIVERSIDAD FENOTÍPICA Y LA HETEROGENEIDAD DEL ADN EN UNA POBLACIÓN DE BACTERIAS DEL SUELO (10):

La diversidad fenotípica de 200 cepas bacterianas aisladas del suelo fue comparada con la diversidad genotípica de la misma población. Las cepas fueron caracterizadas fenotípicamente por el test de API 20B. Los resultados de este test fueron sujetos a un análisis de 'cluster', el cual reveló 41 'biotipos' con 80% de similitud, el quinto 'biotipo' dominante contenía el 43% de las cepas. El estudio mostró que la reasociación del DNA aislado de una colección de bacterias es un buen estimativo de la diversidad de la colección y, además, estuvo de acuerdo con la diversidad fenotípica.

8. RECUPERACIÓN DE DNA DE SUELOS Y SEDIMENTOS (12):

Este trabajo es de gran interés por cuanto compara dos métodos para obtener ADN del suelo y sedimentos con comunidades bacterianas, a saber: a. La extracción de células, lisis y extracción de ADN (método de extracción celular) y b. Lisis alcalina y extracción de ADN (método de lisis directa).

Para determinar cuál método fue más eficiente midieron la concentración de ADN recuperado por espectrometría de absorbancia usando como trazador timina tritiada. En ambos procesos se usó el polyninylpolyrrolidone para remover los residuos de ácidos húmicos. Al analizar 100 muestras de suelo y sedimentos se obtuvieron cantidades de miligramos de alta pureza de ADN por el método de extracción directa, el cual fue más eficiente que el método de extracción celular en orden de una magnitud.

9. LA RED TRÓFICA VS DIVERSIDAD:

Caracterizar la red trófica de los organismos macro de un ecosistema es una tarea que han realizado los naturalistas desde hace muchos años, pero en el caso de los microorganismos del suelo la situación es mucho más compleja debido a su tamaño, a la dificultad de cultivarlos en el laboratorio y la complejidad de sus mecanismos bioquímicos.

Cuando realizamos un estudio de diversidad del suelo en un ambiente determinado, sea cual fuere el método que se elija, obtendremos como resultado un 'listado' de microorganismos, pero ¿nos dice esto algo de sus interacciones?, ¿podríamos determinar cuáles son consumidores de primer o segundo orden?

Si bien los estudios de diversidad de los microorganismos del suelo u otro ecosistema son una herramienta para entender la compleja maraña de interacciones que se llevan a cabo en este ecosistema, aún falta mucho para investigar y poder realizar modelos de interacciones tróficas en suelo.

CONCLUSIONES

Los estudios de diversidad de los microorganismos han evolucionado significativamente en los últimos años ya que se ha pasado de aplicar los formulismos clásicos que se utilizan en la ecología de los organismos macros a conceptualizar el problema desde una nueva perspectiva: la microbiológica.

Los métodos propuestos por varios investigadores en los que los estudios de diversidad pasan de un plano fenotípico a uno genotípico han representado un gran aporte a la ecología del suelo, ya que por estos métodos se puede valorar una gran cantidad de microorganismos que no son cultivables en medios de laboratorio y que, según algunos autores, representan más del 99% de la microflora total.

Ahora el camino que se avizora en estas investigaciones se debe encaminar a tratar de dilucidar las interacciones que se presentan en estos ecosistemas para así poder llevar estos conocimientos a la conservación y al mejoramiento de la productividad de los ecosistemas.

NOTAS:

1. FUNDACIÓN ALEJANDRO ÁNGEL ESCOBAR, CEREC. Nuestra diversidad biológica. Santafé de Bogotá: La Fundación, 1993.
2. MEMORIAS DEL PRIMER SEMINARIO INTERNACIONAL DE LA BIODIVERSIDAD. Bogotá, octubre de 1992.
3. PELCZAR et. al. Microbiología. México : McGraw Hill, 1983.
4. VIDGIS et. al. High diversity in DNA of soil bacteria. Appl. Environ. Microbiol, 1990. 56 :782-87.
5. DANA L. and PENNY S. Diversity within a colony morphotype: implications for ecological research. Appl. Environ. Microbiol, 1993. 59 :933-35.
6. LI-HUA and CHEN-LIN. Diversity of soil actinomycetes in Yunnan , China . Appl. Environ. Microbiol, 1996. 62 :244-48.
7. MILIND G. and RAJEEV G. Problems in mesurin bacterial diversity and a possible solution. Appl. Environ. Microbiol, 1996. 62 :4.299-301.
8. REICHARDT et. al. Microbial communities of continuously cropped, irrigated reice fields. Appl. Environ. Microbiol, 1997. 63 :233-38.
9. JAMES B. and ERIC W. Molecular microbial diversity in soil from eastern Amazonia : evidencia for unusual microorganisms an microbial populations shifts associated with deforestation. Appl. Environ. Microbiol, 1997. 63 :2.647-53.
10. VIDGIS et. al. Comparison of phenotypic diversity an DNA heterogeneity in a population of soil bacteria. Appl. Environ. Microbiol, 1990. 56 :776-81.
11. ROBERT et. al. Recovery of DNA from soil and sediments. Appl. Environ. Microbiol, 1998. 54:2.908-15.
12. LARS B. Separation and purification of bacteria from soil. Appl. Environ. Microbiol, 1985. 49 :1.482-87.

Close Window