

HABITANTES MICROSCÓPICOS DE LOS GLACIARES

LEVADURAS

Las levaduras son hongos unicelulares de amplia distribución mundial. Vamos a conocer nuevas especies que habitan los glaciares patagónicos y algunas de sus características, de gran importancia ecológica e interés biotecnológico.

Virginia de García y María Rosa Giraudo de van Broock

Las levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares microscópicos, es decir se encuentran compuestos por una sola célula, a diferencia de otros hongos que pueden observarse a simple vista. Las levaduras forman parte de la biodiversidad de los ambientes naturales y se encuentran distribuidas en todo el mundo, incluso en los ambientes considerados extremos (fríos, ácidos, con altas radiaciones solares o altas concentraciones de sal, etc.). Cumplen diferentes roles en la naturaleza; son capaces de transformar los nutrientes y dejarlos disponibles para otros organismos, colaborando así en el reciclado de restos vegetales y animales, y pueden tener diferentes relaciones con estos. Estas relaciones van desde competencia, parasitismo o patogenicidad (algunas levaduras pueden producir enfermedades), a presentar relaciones beneficiosas, tanto para la levadura, como para el otro organismo involucrado (relación mutualista). Entre estas últimas, la más estudiada es la relación con insectos (moscas, abejas, etc.).

Palabras clave: levaduras, glaciares, enzimas.

Virginia de García

Dra. en Bioquímica

Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) (CONICET-UNCo), Argentina

vdegarcia@comahue-conicet.gob.ar

María Rosa Giraudo de van Broock

Dra. en Bioquímica

Centro Regional Universitario Bariloche (CRUB), Universidad Nacional del Comahue (UNCo) - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CCT Patagonia Norte, Argentina

queenie_gvb@yahoo.com.ar

Recibido: 28/03/2014. Aceptado: 13/05/2014

Las levaduras conforman, hasta ahora, un reducido conjunto de especies conocidas (2.000 especies aproximadamente), si se lo compara con lo que se conoce de otros microorganismos (bacterias, algas, etc.). En los últimos años este número de especies se ha incrementado exponencialmente; de hecho, se estima que el número de especies conocidas representa alrededor del 1% de la biodiversidad de levaduras real existente en los ambientes naturales.

El rol de las levaduras en la industria

Las levaduras son conocidas por su utilización para la elaboración de pan, cerveza, vino, sidra y champagne, entre otros. Además de las aplicaciones tradicionales en la industria de los alimentos y bebidas, estos microorganismos se están empleando cada vez más en otras áreas, por su facilidad de manejo en laboratorio y a escala industrial. Las levaduras presentes en la naturaleza tienen características metabólicas particulares y novedosas, que las convierten en fuentes potenciales de compuestos de origen natural (vitaminas, pigmentos antioxidantes, suplementos dietarios, enzimas, etc.).

El estudio de la biodiversidad de levaduras presentes en ambientes naturales inexplorados aporta datos valiosos referidos al papel de las mismas en estos ambientes y a sus mecanismos de adaptación; siendo una fuente para la obtención de compuestos químicos de origen natural que sustituyan gradualmente a los obtenidos por métodos químicos tradicionales, de alto costo e impacto en el ambiente, aportando al desarrollo de biotecnologías.

Levaduras en ambientes fríos

Las levaduras son parte de la biodiversidad de muchos ambientes, aun los considerados más extremos (ácidos, salinos, volcánicos, etc.) y los ambientes fríos (como glaciares de montaña, profundidades marinas o los polos) no son la excepción. Las levaduras que se encuentran en estos ambientes, necesitan de las bajas temperaturas para poder crecer, ya que la mayoría no puede desarrollarse por encima de los 20°C.

Imagen: V. de García.



Imagen: N. Fernández.



Figura 1: Fotografías de (A) Monte Tronador en el Parque Nacional Nahuel Huapi; y (B) Glaciar Perito Moreno en el Parque Nacional Los Glaciares.

incluyen diferentes modificaciones, como por ejemplo la producción de enzimas que son activas a bajas temperaturas.

Ambientes fríos (glaciares y mar)

La mayor parte de la superficie del planeta, incluidas las regiones polares, las de alta montaña y las profundidades marinas (ya que el 90 % del agua de mar está a menos de 5°C), presenta bajas temperaturas medias, entre 0 y 20 °C. El Océano Atlántico se caracteriza por sus aguas profundas y por presentar una temperatura media entre 2 y 4°C. La Antártida, así como el mar que la rodea, se encuentra constantemente a bajas temperaturas, debido a que sus aguas están alimentadas durante los meses de verano con agua y hielo de los glaciares circundantes.

La presencia constante o estacional de hielo es una característica común de muchos ambientes fríos. Cuando el hielo es permanente se lo denomina glaciar. Un glaciar es una gran masa de hielo que se origina por acumulación, compactación y recristalización de la nieve. Estos se forman en áreas donde se acumula más nieve en invierno de la que se funde en verano, por lo que la mayoría se encuentra en zonas cercanas a los polos y en zonas de alta montaña. Los glaciares se encuentran entre los elementos más bellos e imponentes de la naturaleza y, si bien a primera vista parecen estáticos, se encuentran en permanente

Las bajas temperaturas influyen sobre la vida de todos los organismos de varias formas; por ejemplo, reducen las tasas de crecimiento, aumentan la viscosidad del medio en el que se encuentran y disminuyen la disponibilidad de nutrientes.

Los microorganismos que habitan en el hielo deben combinar la tolerancia al congelamiento con la tolerancia a la deshidratación, ya que, cuando el agua se congela, deja de estar disponible. Al fundirse el hielo, los microorganismos que se encontraban «atrapados» en éste son liberados y se encuentran expuestos súbitamente a condiciones muy diferentes. Estos hongos pueden crecer en condiciones donde el agua disponible es poca, incluso toleran la falta de agua mejor que las bacterias, y por lo tanto son capaces de sobrevivir a fuertes fluctuaciones en el medio. La adaptación al frío requiere ajustes complejos que les permitan a las células crecer y desarrollarse. Estas adaptaciones

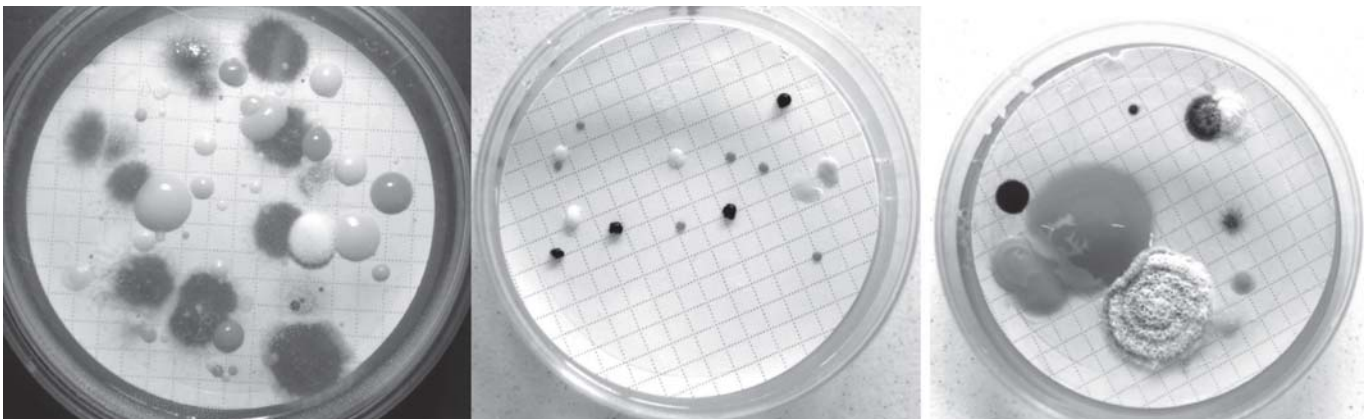


Imagen: V. de García.

Figura 2: Colonias de levaduras creciendo en medio de cultivo específico. Muestras de hielo marino Antártico.

Imagen: V. de García.

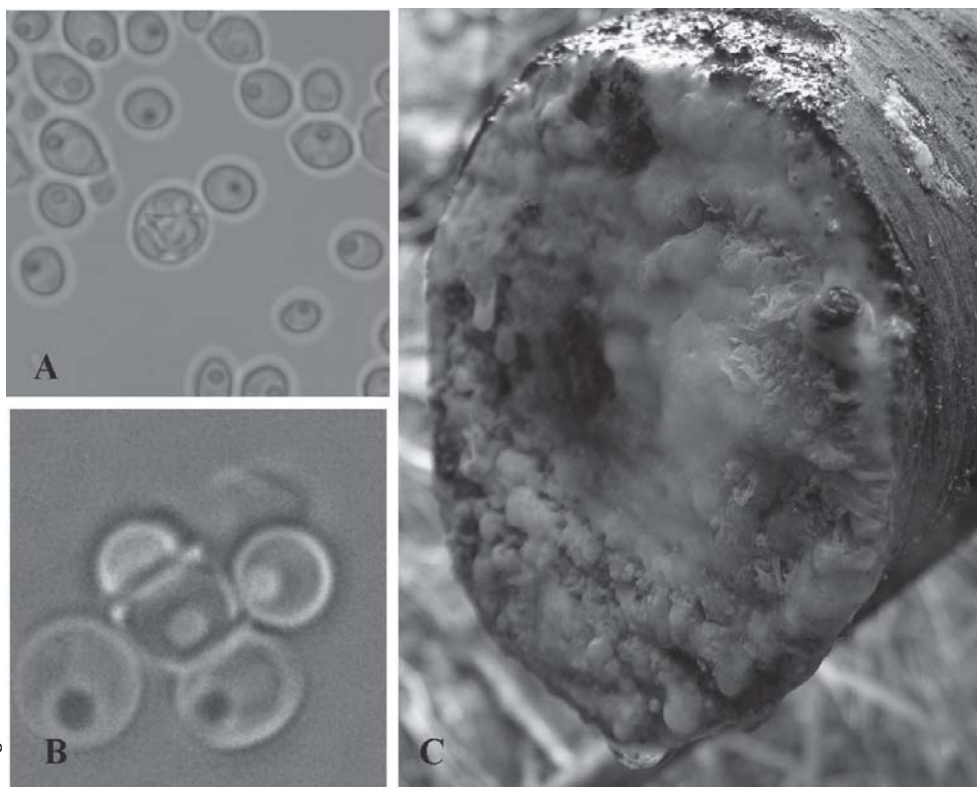


Figura 3: Nueva especie *Wickerhamomyces patagonicus*.
(A) Microfotografía de células vegetativas.
(B) Microfotografía de espora sexual con forma de sombrero, típica del género.
(C) Fotografía de exudado de coihue del cual fueron obtenidas células de esta especie.

movimiento. El 10% de la superficie de la Tierra está cubierta de hielos de origen glaciar que almacenan cerca de 33 millones de km³ de agua dulce, constituyéndose así en los mayores reservorios de este recurso.

El agua producida al derretirse la superficie del glaciar fluye por diferentes grietas, generando ríos y arroyos. Estos ríos o arroyos de origen glaciar se consideran ambientes sub-glaciares por arrastrar sedimentos que se encontraban atrapados dentro del hielo o ubicados en el suelo donde éste se encuentra.

Ambientes glaciares en Argentina

El primer informe del inventario nacional de glaciares (Ley Nº 26639 de Presupuestos Mínimos para la Preservación de Glaciares y del Ambiente Periglacial en la República Argentina), llevado a cabo por el Instituto Argentino de Nivología, Glaciología y Ciencias Ambientales (IANIGLA) del CONICET, reveló hasta el momento más de 4.000 cuerpos de hielo en distintas sub-cuencas de las provincias de Catamarca, Mendoza, Río Negro, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego. En total, la sumatoria de estos cuerpos cubre una superficie mayor a 3.700 kilómetros cuadrados, más de 17 veces el tamaño de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Entre éstos se encuentran incluidos el Monte Tronador y los Hielos Patagónicos (ver Figura 1). El Monte Tronador es un viejo volcán extinto localizado en el Parque Nacional Nahuel Huapi. Su punto más alto se encuentra a 3.478 metros sobre el nivel del mar y está cubierto por una capa permanente de hielo que da origen a diez glaciares. Cuatro de estos

glaciares se encuentran en Argentina (Río Manso, Castaño Overo, Alerce y Frías) y los seis restantes en Chile.

En el Parque Nacional Los Glaciares se encuentran los campos de Hielos Patagónicos, las mayores masas de hielo temperado (refiere a hielo que se encuentra a 0°C) en el Hemisferio Sur, que representan el 60% del área glaciar total del hemisferio fuera de la Antártida. Están localizados en una latitud con un gran gradiente climático y cubren una superficie total aproximada de 2.600 kilómetros cuadrados, ocupando más de un 30% de la superficie del Parque. Desde éstos se desprenden 47 glaciares mayores. El más conocido es el glaciar Perito Moreno, que se expande sobre las aguas del Brazo Sur del Lago Argentino, con un frente de cinco kilómetros y una altura de 60 metros sobre el nivel del lago.

El estudio de los glaciares de montaña en general y en particular de la Argentina provee un gran aporte a diferentes áreas de la ciencia como geología, microbiología, biotecnología, ecología, etc. En especial, las interacciones glaciar/clima en esta región son de gran relevancia para el entendimiento del cambio climático. Dado que la mayoría de los glaciares continentales del mundo están en proceso de retroceso, estos estudios son importantes ya que permiten la conservación de los recursos presentes en estos, desde el agua dulce a los organismos que habitan estos ambientes extremos.

Levaduras y glaciares patagónicos

Desde los años 90 se han realizado estudios sobre la biodiversidad de levaduras en ambientes naturales de la Patagonia argentina, tanto terrestres como acuáticos. En los ambientes terrestres, los elementos analizados abarcan desde flores, hojas, cortezas de árboles y el conocido hongo llao-llao, hasta exudados vegetales (sustancias secretadas por las plantas, como la resina), rizósfera (interacción entre las raíces y

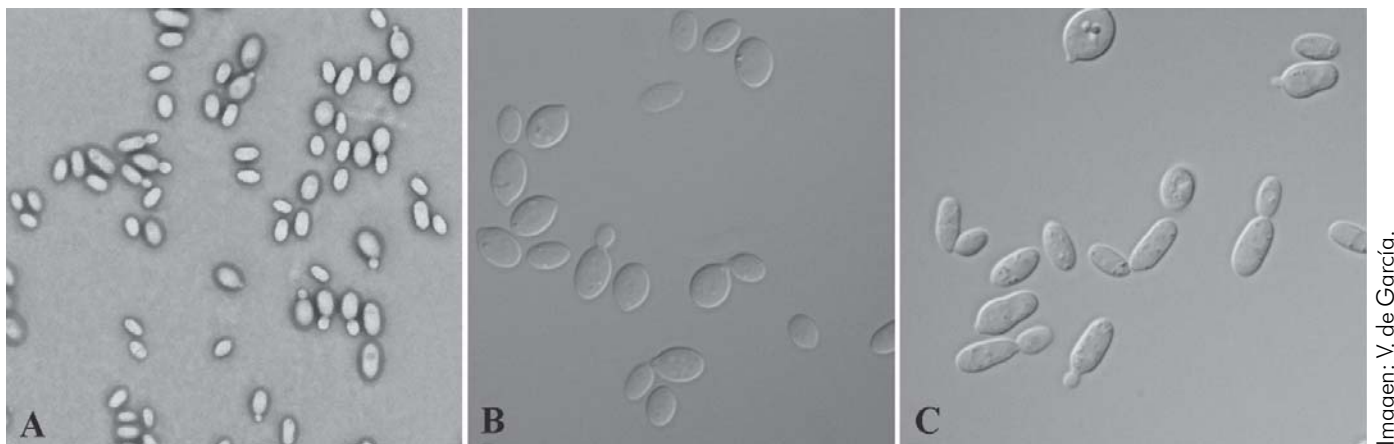


Imagen: V. de García.

Figura 4: Microfotografía de células de las especies *Cryptococcus spencermartinsiae* (A), *Cryptococcus tronadorensis* (B) y *Cryptococcus frias* (C).

microorganismos del suelo) y suelos. Estas investigaciones han permitido la caracterización de comunidades de levaduras nativas, la descripción de nuevas especies y el descubrimiento de una amplia diversidad con un invaluable valor científico-tecnológico. De las levaduras aisladas en estos ambientes, una fracción importante la constituyen especies hasta ahora desconocidas, permitiendo así la descripción formal de nuevas especies. Además, se han distinguido varios grupos con alto potencial biotecnológico. Ejemplos de ellos son las levaduras productoras de enzimas activas a bajas temperaturas, levaduras capaces de bioacumular metales pesados y levaduras que producen compuestos antioxidantes y de absorción de radiación UV.

Entre los diferentes ambientes acuáticos de la Patagonia Argentina donde se han realizado estudios hasta el momento se destacan el agua de deshielo de glaciares del Monte Tronador (Ventisquero Negro, Glaciar Manso, Glaciar Castaño Overo, Glaciar Frías), el hielo del Glaciar Frías y del glaciar Perito Moreno, el hielo marino de la Antártida y el agua de mar del Mar Austral Argentino y de los mares antárticos (Bellingshausen, Scotia y Weddell). En base a estos estudios se ha descrito la presencia de comunidades compuestas por levaduras cosmopolitas, es decir que pueden ser encontradas en la mayoría de los ambientes alrededor del mundo, y por un grupo de especies con adaptaciones que les permiten sobrevivir en estas condiciones extremas.

Las densidades celulares (levaduras por litro de agua) encontradas en estos ambientes han sido entre 100 a 300 células por litro en agua de deshielo del Monte Tronador, en agua de mar Austral y de mares antárticos, y de 300 a 1.000 células por litro para hielo glaciar continental. Estos valores resultan similares a los obtenidos en otros ambientes fríos del mundo.

De todos estos ambientes y sustratos se han aislado un total de aproximadamente 400 cepas de levaduras. En la Figura 2 se muestran placas de Petri con

colonias de levaduras obtenidas de muestras de hielo marino de la Antártida.

Las levaduras identificadas fueron clasificadas y estudiadas, respecto de su capacidad de crecer a diferentes temperaturas (entre 4 y 30 °C), así como de su capacidad para producir diferentes compuestos de interés biotecnológico a bajas temperaturas, como enzimas y compuestos foto-protectores.

Se logró identificar más de 50 especies diferentes, de las cuales un 40% podrían ser especies nuevas. Estos porcentajes son comparables con estudios realizados en suelo de la Antártida.

Hasta el momento fue posible describir seis especies nuevas. La levadura *Wickerhamomyces patagonicus*, fue encontrada en el agua del río originado por el deshielo del glaciar Frías y además en exudados de coihue en la misma zona. En la Figura 3 se muestran fotos de células y esporas sexuales de esta levadura y una foto del exudado de coihue de donde se tomaron las muestras. Otras tres especies encontradas fueron *Cryptococcus spencermartinsiae*, *Cryptococcus tronadorensis* y *Cryptococcus frias*, aisladas de agua de deshielo de diferentes glaciares del Monte Tronador en el Parque Nacional Nahuel Huapi (ver Figura 4). Por último, se describieron las especies *Cryptococcus fonsecae* y *Cryptococcus psychrotolerans*. La primera se encontró en agua marina del Mar Austral Argentino, en hielo glaciar en Svalbard (archipiélago situado en el océano Glacial Ártico) y en otros ambientes marinos fríos del mundo, mientras que la segunda se obtuvo de agua de mar del Cabo de Hornos en el mar Austral Argentino y de otros ambientes marinos fríos del mundo. En la Figura 5 se presentan fotos de células de estas levaduras.

Además de las nuevas especies encontradas, los estudios que describen la diversidad de levaduras presentes en los ambientes fríos de la Patagonia Argentina, han permitido hacer aportes interesantes al estudio de la taxonomía de estas levaduras.

Imagen: V. de García.

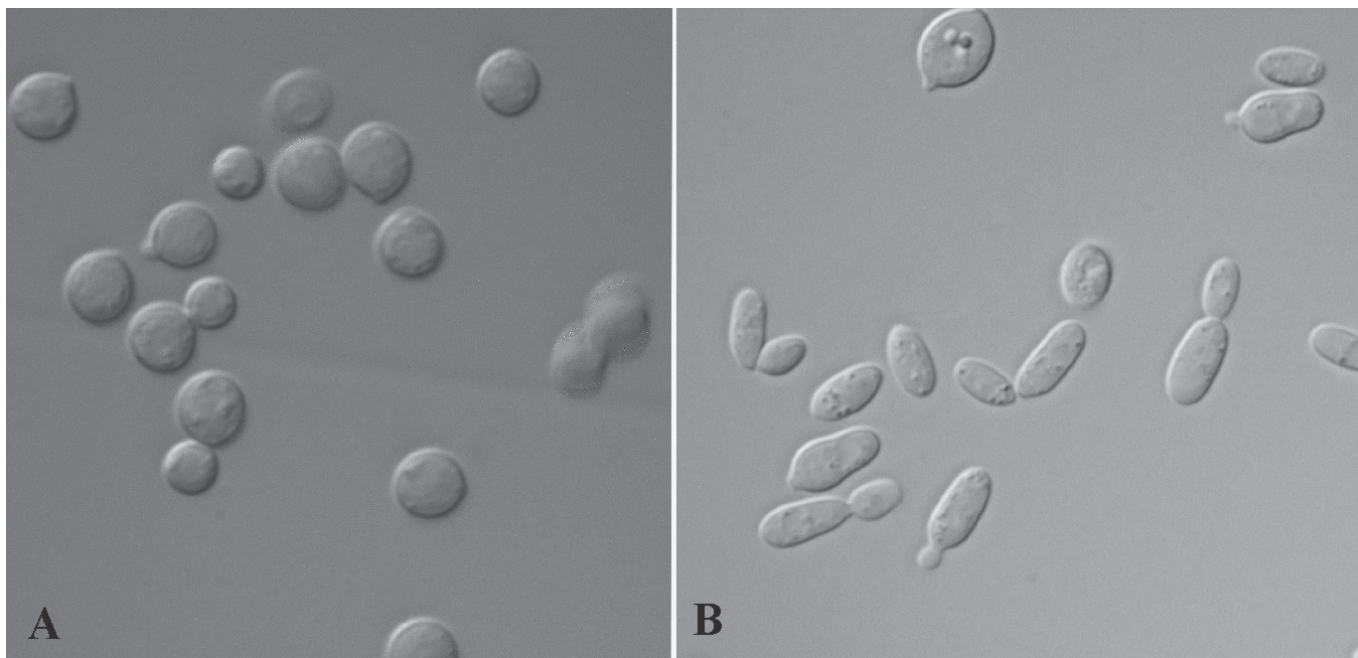


Figura 5: Microfotografía de células de las especies *Cryptococcus fonsecae* (A) y *Cryptococcus psychrotolerans* (B).

Enzimas activas a bajas temperaturas

Las levaduras son microorganismos heterótrofos, es decir, obtienen su energía de materia orgánica disponible en el ambiente que habitan. Una estrategia para degradar estas moléculas orgánicas es liberar enzimas fuera de la célula, de modo que estas enzimas «rompan» la materia orgánica para que la célula pueda utilizarla como alimento. En este sentido, se ha estudiado la capacidad de levaduras aisladas de glaciares y ambientes marinos de la Patagonia para producir

enzimas activas a bajas temperaturas. Entre las más destacadas se encuentran aquellas capaces de degradar almidón, proteínas, lípidos, etc. Estas enzimas podrían ser utilizadas como aditivos en jabones para el lavado de ropa a bajas temperaturas o en la industria alimenticia, fundamentalmente en torno a procesos en los que el calor reduce la calidad nutritiva de los alimentos. También podrían utilizarse para el tratamiento de aguas residuales, para la producción de biodiesel y para biocontrol en cámara fría, evitando el uso de controladores químicos, entre otros.

Imagen: V. de García.

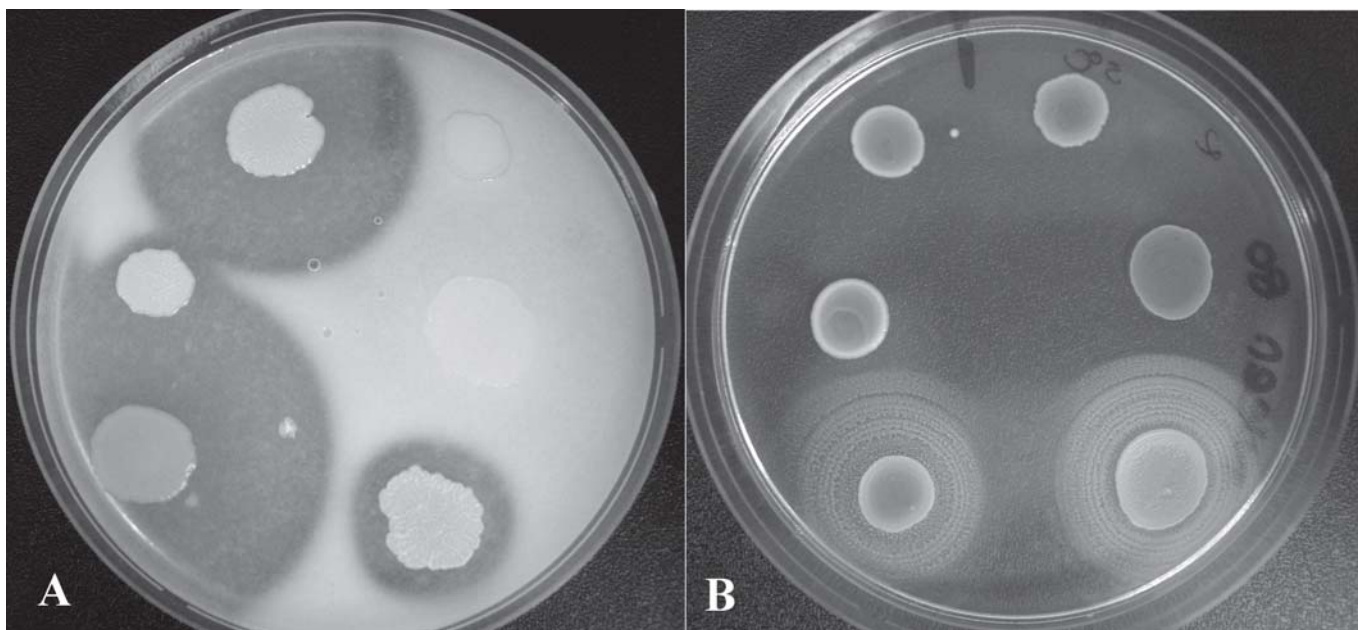


Figura 6: Detección de actividades enzimáticas en medio de cultivo sólido. (A) Actividad proteasa: la degradación de proteínas se observa como un halo transparente alrededor de la colonia de levadura. (B) Actividad lipasa: la degradación de lípidos se visualiza como halo opaco.

Diversos experimentos fueron realizados para comparar la actividad de enzimas degradadoras de proteínas y lípidos a diferentes temperaturas (entre 4 y 25°C) entre algunas levaduras aisladas de ambientes acuáticos de la Patagonia Argentina y levaduras aisladas de bosques tropicales de Brasil. En estos experimentos se observó que las enzimas obtenidas de las levaduras de la Patagonia presentaron mayor actividad a bajas temperaturas (entre 4 y 15 °C) que las enzimas provenientes de las cepas aisladas de los bosques tropicales. En estas últimas, la actividad enzimática fue drásticamente afectada por la caída de la temperatura y sus actividades estuvieron limitadas mayormente a 20 y 25 °C. De hecho, como ya hemos mencionado, las enzimas activas a bajas temperaturas pueden ser hasta diez veces más activas a temperaturas bajas y moderadas que sus homólogas de temperaturas altas.

Los resultados de estos estudios indicaron que, de las levaduras obtenidas en los ambientes fríos de la Patagonia argentina, el 85% tuvo la capacidad de producir enzimas activas a bajas temperaturas y que las enzimas de estas levaduras presentaban en general mayor actividad a 4°C que a 20°C. En la Figura 6 se muestra cómo las enzimas proteasa y lipasa liberadas fuera de las células degradan sustratos específicos produciendo un halo alrededor de las colonias de levaduras.

La importancia de las levaduras y los ambientes fríos

Los estudios de microorganismos de ambientes extremos son esenciales para el desarrollo de tecnologías con aplicación en la industria. En general, los ambientes que presentan extrema dificultad para los asentamientos humanos, debido a su aislamiento geográfico y/o condiciones ambientales extremas, se presentan como ideales para estudiar las especies de levaduras conservadas en ellos. La Argentina posee un vasto territorio con una riqueza microbiológica muy amplia y no muy estudiada, por lo que el estudio y conservación de los recursos microbiológicos propios de nuestros ecosistemas resulta esencial para evitar la pérdida de biodiversidad y el acceso a genomas y oportunidades diferentes a las de otras regiones geográficas. Considerando que la mayoría de los glaciares continentales del mundo están en proceso de retroceso, parece imprescindible trabajar para la conservación de los recursos presentes en éstos.

Existen varios trabajos sobre la diversidad de levaduras en glaciares alpinos y de Alaska, Rusia y el Polo Norte. Los estudios realizados en los glaciares de la Patagonia argentina, son los primeros estudios sobre diversidad de levaduras en glaciares continentales en el Hemisferio Sur (fuera de la Antártida).

Las particulares características físicas y ambientales de los Andes patagónicos determinan que la zona posea un altísimo potencial para estudios glaciológicos, paleoclimáticos y microbiológicos. Los glaciares de la Patagonia argentina ofrecen ambientes inexplorados, verdaderos reservorios de levaduras que han desarrollado estrategias de adaptación al frío a lo largo de inmensos períodos de tiempo. Por estos motivos es lógico pensar que las levaduras obtenidas presenten características novedosas que permitirán aportar conocimiento a diversas disciplinas relacionadas, como la ecología microbiana, la taxonomía de grupos cuya filiación no es clara, la evolución (aportando conocimiento del origen de caracteres que hoy son diagnósticos) y la biotecnología.

Glosario

Bioacumulación: Acumulación de sustancias químicas en organismos vivos, de forma tal que éstos alcanzan concentraciones más elevadas que las concentraciones en el medio ambiente o en los alimentos.

Biotechnología: Aplicación de la ciencia para la transformación de los materiales, mediante organismos vivos o sus productos metabólicos (ej. enzimas), con el fin de producir bienes o servicios.

Biodiversidad o diversidad biológica: Refiere a la amplia variedad de seres vivos sobre la tierra y las condiciones físico-químicas naturales que la conforman.

Sustrato: En términos biológicos, un sustrato es la superficie donde un organismo vive. Puede incluir materiales bióticos o abióticos.

Colonias: Conjunto de células originadas a partir de la división sucesiva de una única célula.

Enzimas: Moléculas (proteínas) que catalizan reacciones químicas.

Taxonomía: Rama de la biología que ordena, describe y clasifica a los seres vivos, teniendo como unidad de clasificación a la especie.

Lecturas sugeridas

Desde filtros solares a antioxidantes, con levaduras de la Patagonia. En URL: http://www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2011/10/111025_levaduras_patagonia_am.shtml

Inventario Nacional de Glaciares. En URL: <http://www.glaciares.org.ar/paginas/index/inventario>

Villarosa, G., Outes, V., Masiokas, M., Villalba, R. y Rivas, S. (2008). El Monte Tronador: Historias de hielo y fuego. En: Rastelli, D. (Ed.), *Sitios de Interés Geológico de la República Argentina* (pp. 627-641). Buenos Aires: SEGEMAR (Servicio de Geología y Minería de la República Argentina).