

MICROBIOS BAJO EL SOL

Los microorganismos también deben protegerse de los efectos de la radiación solar, en particular en los lagos andino-patagónicos. Las levaduras, como nosotros, poseen pigmentos y pantallas solares para su foto-protección.

Diego Libkind

¿Hay levaduras en lagos y ríos?

Los ambientes acuáticos se encuentran habitados por una gran diversidad de microorganismos, entre los que se incluyen bacterias, algas, protozoos y hongos. Uno de los componentes microbianos menos estudiados de los sistemas acuáticos son los hongos y, específicamente, los hongos unicelulares, también denominados levaduras. Las levaduras son microorganismos ampliamente conocidos por sus diversas aplicaciones industriales y biotecnológicas, que tienen como resultado variados productos alimenticios importantes como el pan, la cerveza, el vino, entre otros. A pesar de esta estrecha y antigua relación con el hombre y en comparación con otros microorganismos como las bacterias, se conoce poco sobre la ecología de las levaduras en ambientes naturales. En una nota aparecida en el número anterior de esta revista, las investigadoras Virginia de García y María Rosa Giraud de van Broock (ver Desde la Patagonia, difundiendo saberes, Vol. 11, N°17) nos mostraron la presencia de estos microorganismos en los glaciares andino-patagónicos. En esta oportunidad, nos enfocaremos en la biología y ecología de las levaduras en los ambientes acuáticos de origen glaciario.

Si bien el hecho de que las levaduras formen parte de la microbiota acuática ya se encontraba documentado, hasta hace diez años atrás nada se conocía sobre su presencia en lagos y ríos de la Patagonia argentina. En el marco de diversos proyectos de investigación, el Laboratorio de Microbiología Aplicada

y Biotecnología Bariloche (MABB) viene estudiando dichos microorganismos en los ambientes acuáticos nor-patagónicos (en particular, en el Parque Nacional Nahuel Huapi), con el fin de caracterizar la biodiversidad nativa y evaluar sus potenciales aplicaciones biotecnológicas.

Buscando levaduras en los ambientes acuáticos patagónicos

Los primeros estudios se centraron en el aislamiento de levaduras de muestras de aguas superficiales provenientes de diversos lagos de la región andino-patagónica. Entre ellos se incluyeron lagunas de alta montaña (ver Figura 1), lagos de origen glaciario y ríos de montaña y de estepa. Estos cuerpos de agua se caracterizan por su baja concentración de nutrientes (es decir, por la escasez de sustancias alimenticias para microorganismos), por lo que son considerados en muchos casos ultra-oligotróficos (escasos en nutrientes). Para estudiar las levaduras fue necesario filtrar el agua por membranas con poros muy pequeños (de 0,45 micrones de diámetro), de forma tal que las células quedaran retenidas, y luego, para reproducirlas, se colocaron las membranas sobre medios de cultivo apropiados. A estos medios de cultivo (que contienen nutrientes para las levaduras) se les agregaron antibióticos, a fin de inhibir el crecimiento de las bacterias que se encuentran en mayor número que las levaduras. Luego de aproximadamente cinco días de incubación, en la superficie de las membranas se observó el desarrollo de colonias de levaduras, caracterizadas por un aspecto cremoso o mucoso y variadas coloraciones: blanco, crema, amarillo, rosa, naranja y rojo (ver Figura 2).

La pigmentación de las colonias en algunas especies de levaduras se debe a la producción y acumulación de pigmentos carotenoides dentro de la célula. Se ha postulado que la acumulación de estos pigmentos (con actividad antioxidante) es un mecanismo de protección frente al daño oxidativo que ejerce, entre otros factores, la radiación ultravioleta. Los ambientes acuáticos de la región noroccidental patagónica

Palabras Clave: levaduras, carotenoides, micosporinas, radiación UV.

Diego Libkind

Dr. en Bioquímica
Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA) (CONICET-UNCo), Argentina.
libkindfd@comahue-conicet.gob.ar

Recibido: 30/09/2014. Aceptado: 21/11/2014



Figura 1. Fotos de Lagos y lagunas de montaña de la Patagonia Andina. A: Laguna Negra. B: Laguna Ilón. C: Laguna Azul. D: Laguna Verde.

Imagen: D. Libkind

se caracterizan por ser de aguas transparentes y, por lo tanto, con alta incidencia de radiación ultravioleta; estas cualidades representan una presión selectiva a favor del desarrollo de estrategias de fotoprotección, como por ejemplo la producción de pigmentos. Nuestros estudios demostraron que las levaduras son miembros frecuentes de la microbiota de los ambientes acuáticos de la región andino-patagónica. Sus aguas albergan levaduras en concentraciones de 122 células por litro en promedio, con casos extremos de 1600 células en ambientes costeros con alta influencia humana o antrópica (por ejemplo, la costa del lago Nahuel Huapi, en el sector céntrico de la ciudad de S. C. de Bariloche). Las levaduras pigmentadas representan en general un 20-30% de las levaduras totales, encontrándose proporciones más altas (80-90%) en aguas lejanas a la costa y muy transparentes. Estos resultados fomentaron nuestro interés por el estudio de los mecanismos de fotoprotección de las levaduras de estos ambientes acuáticos.

¿Cómo se protegen del sol las levaduras?

Se estudió la composición de pigmentos carotenoides de diversas levaduras patagónicas empleando un Cromatógrafo Líquido de Alta Performance (HPLC), un equipo analítico que permite la separación de distintos compuestos presentes en una mezcla y su identificación a través de sus propiedades físicas y químicas. De esa forma fue posible separar los principales carotenoides de las levaduras e identificarlos, dado que los hongos producen una mezcla de diferentes pigmentos. Para esto fue necesario extraerlos del interior de las levaduras empleando diferentes solventes orgánicos como acetona, hexano y dimetilsulfóxido. Estos solventes facilitan la ruptura de las células y la solubilización de compuestos no polares (insolubles en agua), como

Figura 2. Colonias de levaduras y hongos filamentosos (HF) desarrollándose sobre una membrana a través de la cual se filtraron 500 ml de agua superficial del lago Nahuel Huapi. P: levaduras pigmentadas. B: Levaduras no pigmentadas o blancas.

los pigmentos carotenoides. Los resultados indicaron que los pigmentos producidos por la mayoría de las levaduras son: beta-caroteno, torularodina y toruleno. Mientras que el beta-caroteno es utilizado ampliamente en la industria farmacológica por sus propiedades antioxidantes y de pro-vitamina A, los dos últimos, aunque también cuentan con estas propiedades, no han sido aún explotados biotecnológicamente. A través de estudios subsiguientes, fue también posible establecer que los pigmentos carotenoides poseen un papel fotoprotector, protegiéndolas a las levaduras de la exposición a elevados niveles de radiación ultravioleta (UV) tanto la UV-A (onda larga) y/o UV-B (onda media). La UV-A es la fracción de la radiación UV que llega a la tierra con mayor intensidad y la responsable de la irritación en la piel (eritema) mientras que la UV-B llega en menor intensidad pero es la más potente siendo la causante del cáncer de piel.

Uno de los hallazgos más importantes, y quizás, el de mayor perspectiva aplicada, ha sido la descripción por primera vez, de la capacidad de ciertas levaduras de acumular compuestos que absorben naturalmente la radiación ultravioleta (UV). Estos compuestos, deno-

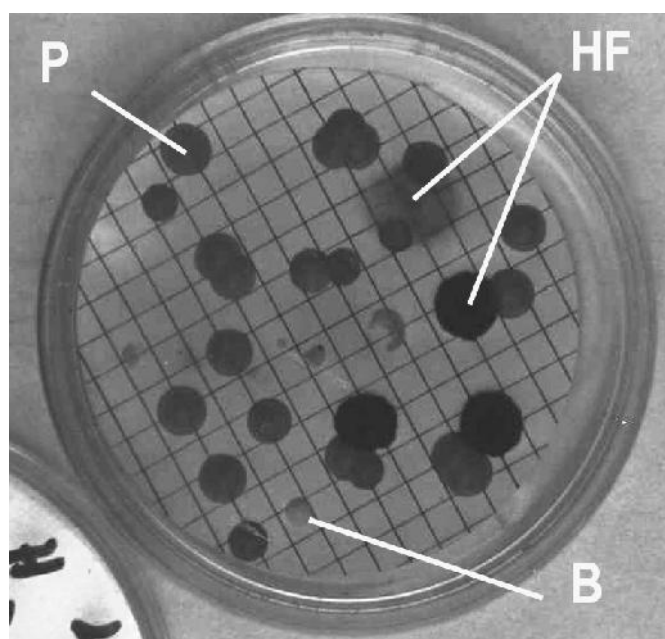


Imagen: D. Libkind

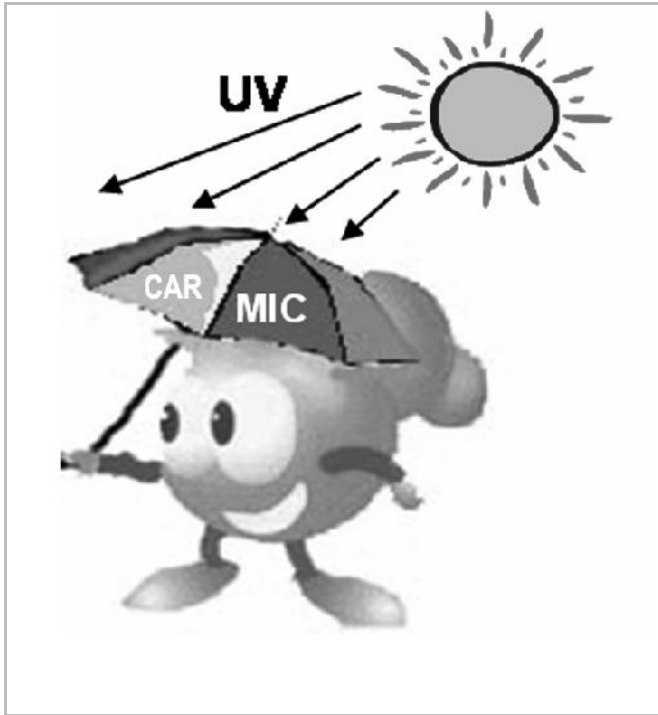


Imagen: L. Libkind

Figura 3. Ilustración que simula una levadura protegiéndose de la radiación solar, en particular de la radiación ultravioleta (UV). CAR: pigmentos carotenoides. MIC: micosporinas.

minados micosporinas, poseen un máximo de absorción en el UV (longitud de onda: 309-310 nanómetros), más específicamente dentro del rango del UV-B; una de las radiaciones más dañinas que alcanzan la

superficie de la tierra. La síntesis de micosporinas se ve inducida en las levaduras por la presencia de luz visible y, en mayor medida, por la radiación UV, lo cual indica que se trata de moléculas foto-inducibles. Estas dos características -la capacidad de absorber longitudes de onda dentro del rango del UV y la foto-inducción en presencia de este mismo tipo de radiación- sugieren fuertemente la posibilidad de que las micosporinas posean funciones de fotoprotección (ver Figura 3).

Hasta el momento, todas las levaduras estudiadas producirían un único compuesto responsable de dicha absorción en el rango del UV, el cual fue identificado como micosporina-glutaminol-glucósido. Posteriormente, mediante el trabajo del Dr. Martín Moliné, Dr. en Bioquímica y especialista en fotoprotectores fúngicos del Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente, se procedió a la purificación parcial de dicha molécula a partir de extractos de levaduras.



Ciencia, Tecnología e Innovación al servicio de todos, desde la Patagonia Argentina



INIBIOMA



Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente

Convenios de Asistencia Técnica Institucional - Convenios de I+D+i - Estudios de Impacto Ambiental
Parques y Polos Tecnológicos - Servicios Tecnológicos de Alto Nivel - Investigadores y Becarios en Empresas

Quintral 1250 - San Carlos de Bariloche - Río Negro - Argentina - Tel. 02944 433040



Figura 4. Fotos obtenidas en microscopio óptico de células de levaduras de especies nuevas de nuestra región. Sus tamaños rondan los 3 a 8 micrómetros.

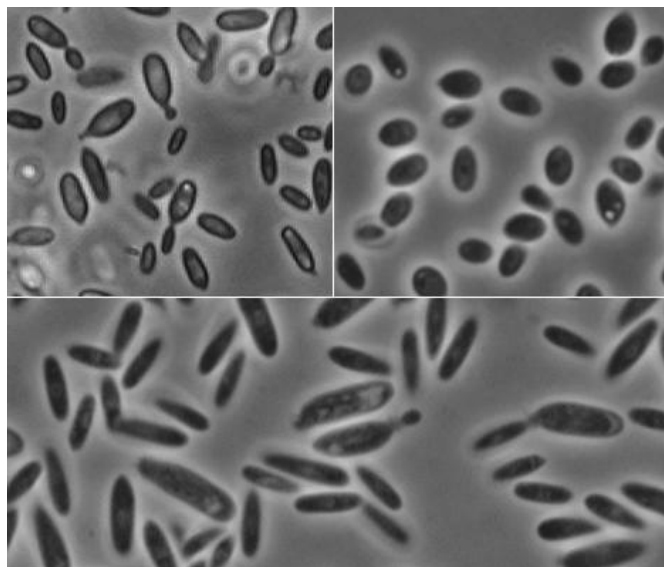


Imagen: D. Libkind

Las micosporinas son moléculas hidrosolubles por lo que su extracción se realizó con soluciones acuosas de metanol y/o alcohol y tratamientos de calor que ayudan a romper las células. La purificación se realizó con columnas de intercambio iónico y HPLC. De esta forma, fue posible caracterizar la estabilidad química y la foto-estabilidad de dicha molécula, obteniéndose resultados que refuerzan aún más la hipótesis de que se trataría de una molécula de acción fotoprotectora.

¿Qué especies de levaduras habitan los cuerpos de agua patagónicos?

¿Existen especies desconocidas?

La identificación de las levaduras encontradas se realiza actualmente mediante la utilización de técnicas de biología molecular, que incluyen la secuenciación de pequeñas regiones de ADN. De esta manera, se clasificaron más de 250 cepas (variedades) de levaduras en 26 especies y 9 géneros diferentes. Muchas de las especies halladas ya eran conocidas en ambientes acuáticos de otros lugares del mundo. Sin embargo, al menos 5 especies halladas en la región presentan marcadas diferencias fisiológicas y genéticas respecto de las ya conocidas, por lo que se las consideró especies nuevas. Es así como se llegaron a describir formalmente las primeras especies nuevas de levaduras nativas de ambientes naturales de la Argentina (ver Figura 4), en particular de la Patagonia. Las primeras especies descritas (en el año 2005) fueron *Sporobolomyces patagonicus*, *Sporidiobolus longiusculus* y *Cystofilobasidium lacus-mascardii*. Al día de hoy, ya se han descrito un total de 17 especies nuevas de levaduras y se han encontrado poblaciones únicas de otras 5 especies de interés industrial pertenecientes a los géneros *Saccharomyces*, *Rhodotorula* y *Phaffia*. Actualmente, nuestro grupo de investigación se encuentra en el proceso de describir otras 10 nuevas especies de levaduras patagónicas.

¿Por qué es importante investigarlas?

Las levaduras forman parte de la comunidad microbiana acuática de los cuerpos de agua patagónicos y poseen una considerable diversidad de especies, incluyendo algunas aún desconocidas para la ciencia. Sus funciones ecológicas dentro de las cadenas alimentarias en el ecosistema acuático constituyen aún una asignatura pendiente en materia de conocimiento científico. Sin embargo, como resultado de la interacción con otros grupos de investigación como el del Dr.

Zagarese, del Laboratorio de Ecología y Fotobiología Acuática (IIB-INTECH) de Chascomús y el de las Dras. Dieguez y Perez, del Laboratorio de Fotobiología del INIBIOMA, dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Universidad Nacional del Comahue (UNCo), se han logrado avances importantes en lo que se refiere a la foto-ecología de estos microorganismos en los ambientes acuáticos patagónicos, significando un valioso aporte a la investigación, otorgándole una visión ecológica y foto-biológica a nuestras líneas de trabajo. Como fruto de estos estudios, se desprende además, que los diversos ambientes naturales de la Patagonia albergan levaduras de alto valor científico y tecnológico, y que su estudio es de suma importancia en vistas de la velocidad en que estos ecosistemas prístinos se ven reducidos y transformados por la creciente actividad humana.

Lecturas sugeridas

- de García, V. y Giraudo de van Broock, M. R. (2014). Habitantes microscópicos de los glaciares. *Desde la Patagonia, difundiendo saberes*, (11)17, pp. 10-15.
- BBC (2011). Desde filtros solares a antioxidantes, con levaduras de la Patagonia. En URL: www.bbc.co.uk/mundo/noticias/2011/10/111025_levaduras_patagonia_am.shtml
- Libkind, D., Moliné, M. y van Broock, M. R. (2004). Posibles mecanismos de fotoprotección en levaduras. *Radiobiología*, 4, pp. 84-88.
- Libkind, D., Moline, M., Sampaio, J. y van Broock, M. (2009). Yeasts from high altitude lakes: influence of UV radiation. *FEMS Microbiology Ecology*, 69, pp. 353-362.