

LAS TOBAS EN ESPAÑA

TÍTULO ORIGINAL:

Las Tobas en España

EDICIÓN

María José González Amuchastegui

Juan Antonio González Martín

DISEÑO DE PORTADA.

Concepción Fidalgo Hijano

Las fotografías de portada pertenecen a los autores del presente libro y al Grupo Gemosclera.

MAQUETACIÓN

Alejandro Kurtz de Griñó

Depósito legal: BA-355/2014

Impresión: TECNIGRAF, Badajoz, 2014

5. ECOBIOLOGÍA DE LAS ACUMULACIONES TOBÁCEAS: LOS ORGANISMOS CONSTRUCTORES

Virginia Souza-Egipsy¹, Asunción de los Ríos¹ y Carmen Ascaso¹

1. Centro Ciencias Medioambientales CSIC, Instituto de Recursos Naturales, Serrano 115bis, 28006 Madrid, España. souzaev@ccma.csic.es, arios@ccma.csic.es, ascaso@ccma.csic.es

1. LOS ORGANISMOS CONSTRUCTORES DE LAS TOBAS CALCÁREAS

Los microorganismos colonizan todos los ambientes de la Tierra y por tanto su influencia en los ciclos de los elementos en el planeta es indiscutible (Ehrlich, 2002). En el caso de las tobas calcáreas, los organismos implicados suelen ser fundamentalmente bacterias y algas (Golubic, 1991, Pentecost and Whitton, 2000), aunque también existen importantes interacciones con plantas, hongos e invertebrados acuáticos (Ford and Pedley, 1996). La estructura de las tobas suele variar a lo largo de las estaciones sobre todo en las regiones templadas donde el mayor crecimiento de las capas se produce durante el verano y otoño formándose láminas de diferente textura. En los climas templados, durante invierno y la primavera se producen capas de calcita porosa microespartita mientras que en verano y otoño las capas son de micrita. Para algunos autores estos contrastes suelen estar relacionados con las condiciones ambientales (Pedley et al., 1996) pero para otros son las diferentes comunidades de organismos encontradas en las tobas las que tienen un papel primordial (Freytet and Plet, 1996; Janssen et al., 1999; Freytet et Verecchia, 1998)

En general, los organismos fotosintéticos debido a la presencia de pigmentos son más conspicuos en las formaciones tobáceas pero las bacterias (Fig. 5.1) suelen ser el componente más abundante de la biodiversidad encontrada como ha podido ser descrito al utilizar técnicas moleculares (Nga et al., 2006; Cousin et al., 2008; Shiraishi et al., 2008a) En estas primeras investigaciones, la proporción de secuencias relacionadas con *Proteobacteria* superaba a las de *Cyanobacteria* (36 % frente a un 30 %) y la diversidad bacteriana se completaba con secuencias relacionadas con grupos de *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Firmicutes* y secuencias vinculadas a las encontradas en suelos agrícolas. El papel de las bacterias heterotróficas en la precipitación de carbonatos no ha sido muy tenido en cuenta en las formaciones de toba aunque en otros ambientes su participación en la precipitación de los carbonatos es fundamental (Rivadeneira et al., 1999; van Lith et al., 2003; Papineau et al., 2005; Braissant et al., 2007)

En las tobas se pueden distinguir varios tipos de comunidades de cianobacterias. Las zonas de rápido crecimiento presentan comunidades criptoendolíticas de cianobacterias unicelulares y filamentosas entre las que destacan respectivamente, *Chroococcus* y *Phormidium incrustatum* (Pentecost, 1995; Freytet and Plet, 1996; Arp et al., 1999; Janssen et al., 1999; Pentecost, 2003). Las superficies de las tobas muestran biopelículas generalmente formadas por *Rivularia* (Pentecost, 1987, Pedley, 1992) que aparecen mezcladas con comunidades de algas verdes como *Vaucheria* y *Cladophora* (Janssen et al., 1999).

En las zonas sumergidas con poca profundidad abundan las biopelículas de diatomeas como *Chamaesiphon incrustans*, *Homoeothrix*, *Hydrococcus*, *Synedra*, *Cymbella*, *Achnantes microcephala*,

Gomphonema, *Nitzschia* y *Navicula* (Winsborough and Golubic, 1987; Freytet and Verrecchia, 1998; Janssen et al., 1999; Plenkovic-Moraj et al., 2002) En las zonas sumergidas con mayor nivel de agua suelen abundar las formaciones de *Chara* (Cirujano et al., 2002) que también contribuyen a la precipitación de calcita (Kufel and Kufel, 2002) y con el tiempo debido al cambio en los cursos de agua pueden quedar totalmente embebidas en los carbonatos.

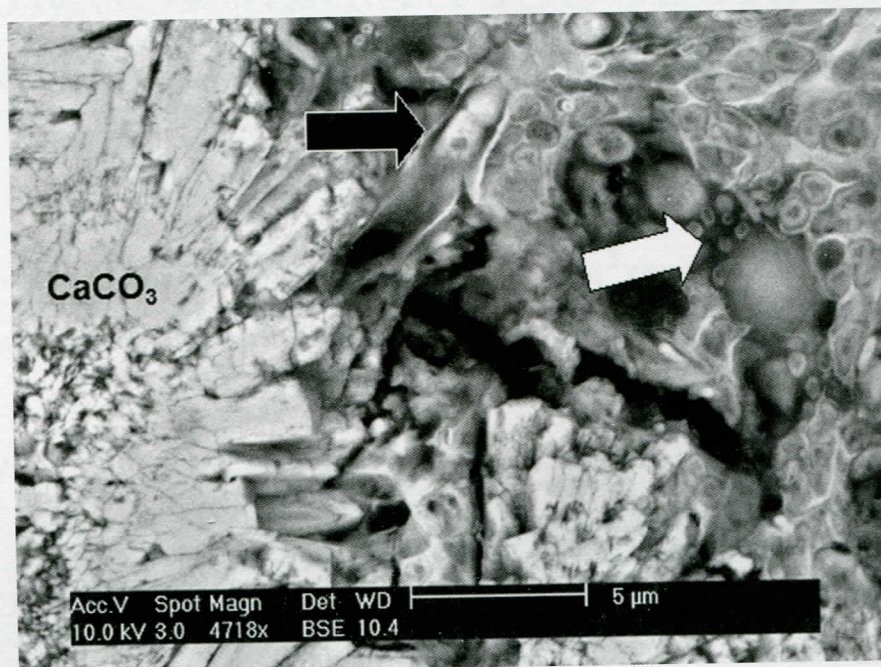


Figura 5.1. Imagen de microscopía electrónica de barrido en modo de electrones retrodispersados (SEM-BSE) de la estructura de las biopelículas criptoendolíticas en una formación de toba en Mono Lake (California). Además de cianobacterias filamentosas (flecha negra) también hay gran cantidad de bacterias (flecha blanca).

En las zonas de cascada donde el agua salpica y se produce la precipitación de carbonatos abundan las comunidades de musgos y hepáticas (Pentecost, 1996) Entre las especies descritas en tobas destacan. *Fissidens crassipes*, *Hygroamblystegium fluviatile*, *Pellia endiviifolia*, *Rhynchostegium riparoides*, *Thamnium alopecurum* (Janssen et al., 1999). Las especies suelen variar según las regiones geográficas pero lo importante es que, en este caso, la precipitación ocurre alrededor de las estructuras celulares y se han descrito como cristales euhédricos de calcita (Janssen et al., 1999), esto provoca la formación de capas tobáceas muy porosas y en las que sólo en contadas ocasiones se produce la infiltración de los carbonatos en la estructura celular de los musgos (Souza-Egipsy et al., 2006)

La presencia de hongos así como de líquenes y su papel en la precipitación de oxalatos cálcicos se ha descrito en las formaciones tobáceas (Freytet and Verrecchia, 1995) Los líquenes generalmente aparecen en las zonas expuestas pero los hongos y levaduras aparecen relacionados con las algas y cianobacterias filamentosas y su presencia puede detectarse en los precipitados.

2. LOS MECANISMOS DE BIOMINERALIZACIÓN

La precipitación mineral debida a la actividad o presencia de organismos es una de las principales formas de acumulo de carbonatos en la Tierra. Este proceso llamado biomineralización puede ocurrir de dos formas diferentes. La primera provoca la precipitación de carbonatos en el medio sin control aparente por la célula. Este proceso fue definido por Lowenstam (1981) como "biomineralización inducida" En este tipo de biomineralización la precipitación mineral acontece al favorecerse la nucleación de los carbonatos sobre las paredes celulares de los organismos. En este caso el resultado son minerales que están en equilibrio con las condiciones ambientales que rodean

a las células y dependen de la composición de los fluidos en los que se forman. En contraste, en el segundo mecanismo denominado "biomineralización controlada" la precipitación está completamente regulada por la célula por lo que las concentraciones de iones son controladas por aquella para alcanzar los estados de saturación independientemente de las condiciones en el exterior. El resultado son minerales que no están en equilibrio termodinámico con las circunstancias ambientales y que, por tanto, no se precipitarían sin la medición celular. Así, a diferencia de los organismos que pasivamente precipitan sílice, algunas algas, como las diatomeas, controlan la deposición de sílice en sus estructuras celulares de una forma tan eficaz que llega a ser del orden de 10^6 veces mayor que la formación abiótica a partir de soluciones supersaturadas (Gordon and Drum, 1994).

Además de producirse la biomineralización inducida que puede provocar la completa incrustación de las células, éstas pueden quedar mineralizadas debido a la permineralización de las estructuras celulares. En este proceso se produce la infiltración de los cationes en la estructura molecular de las paredes celulares y, posteriormente, estos atraen a los iones y quedan mineralizadas (Ferris et al., 1988; Verrecchia et al., 1995). Este proceso por el que los organismos de paredes blandas pueden quedar preservados en los sedimentos ocurre fundamentalmente mediante cationes de sílice y la formación de sílice amorfa. Otros cationes como el Ca^{2+} y el Mg^{+} también son atraídos por las matrices extracelulares y su unión con los iones de carbonato producen la infiltración de las paredes celulares pero debido a su mayor tamaño la preservación de las estructuras celulares no es tan exacta (Fig. 5.2).

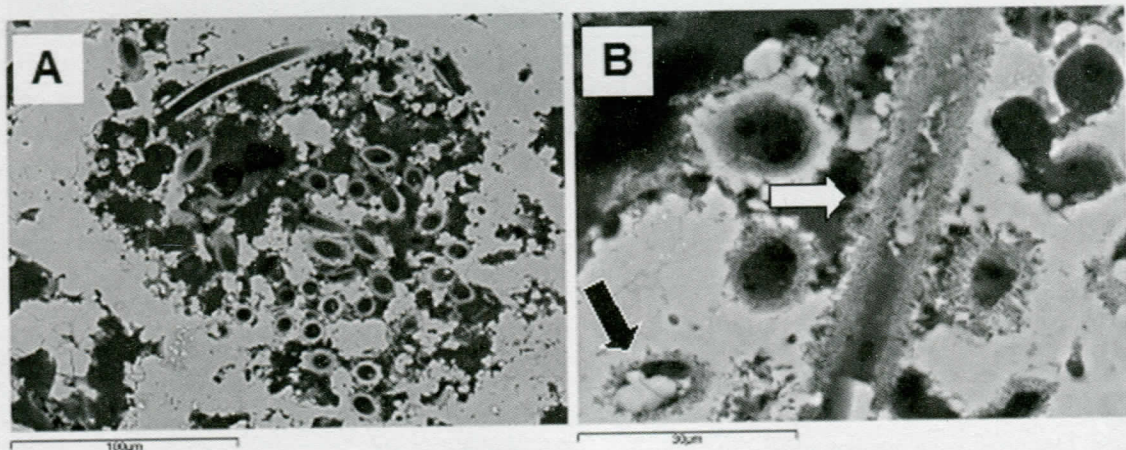


Figura 5.2: Imagen de microscopía electrónica de barrido mediante electrones retrodispersados de tobas recogidas en las Lagunas de Ruidera. A. Las cianobacterias filamentosas aparecen englobadas en los precipitados de carbonato. B. Las paredes celulares aparecen permineralizadas por los carbonatos mostrando relación con la estructura fibrilar de las vainas (flecha blanca) pero la estructura fina no queda preservada en los sedimentos por la nucleación continuada de los carbonatos (flecha negra)

2.1 LOS ORGANISMOS CONSTRUCTORES Y LA MATRIZ EXTRACELULAR

Los microorganismos presentes en las tobas suelen estar rodeados de sustancias extracelulares alrededor de la membrana citoplasmática y la pared celular que favorecen la nucleación mineral (Pentecost and Riding, 1986; Ferris and Beveridge, 1986). Hay varios tipos de capas extracelulares (Beveridge and Graham, 1991) siendo las más comunes las construidas por polímeros que pueden llegar a formar capsulas compactas o capas más laxas (Sutherland, 1999). Algunas bacterias filamentosas poseen capas llamadas vainas, que son fibrosas y ricas en carbohidratos como las de las cianobacterias (Weckesser et al., 1988). Para algunos autores, estas vainas representan un filtro impermeable frente a moléculas grandes potencialmente tóxicas (Phoenix et al., 2002). Un tipo más organizado de capa extracelular considerado casi paracristalino es la capa-S (Koval, 1988). Las capas-S están formadas mayoritariamente por proteínas con una pequeña proporción de

carbohidratos y están presentes en casi todos los grupos taxonómicos de organismos procarióticos. Estas capas-S son más complejas y estructuradas que las vainas pero cumplen funciones similares de filtrado y protección (Steward and Beveridge, 1980). En el caso de los hongos, la capa interna de la pared celular que rodea a la membrana plasmática suele ser de quitina y glucanos, mientras que la capa más externa amorfa es de quitosán y otros componentes menores como proteínas, lípidos, polifosfatos, fenol, melanina e iones inorgánicos (Gadd, 1993). En el caso de los hongos su capacidad de excretar al medio ácido cítrico y oxálico tiene gran importancia en los ciclos biogeoquímicos ya que suelen unirse a cationes metálicos presentes en el medio (Gadd, 1999).

La mayoría de las algas tienen en la pared celular una capa principal de celulosa y otra amorfa formada por polisacáridos específicos para los diferentes grupos (Hunt, 1986). Los grupos funcionales más importantes son los carboxilos asociados al ácido urónico de los alginatos que son capaces de neutralizar un gran número de cationes metálicos (Majidi et al., 1990). En algunos grupos de algas, la pared celular está especialmente fortalecida por la precipitación de carbonatos o sílice debida a procesos de biomineralización controlada como ocurre en la mayoría de las plantas acuáticas y en las diatomeas.

La principal característica de las sustancias extracelulares es que presentan grupos funcionales expuestos al exterior que son anfotéricos y pueden liberar o adquirir protones dependiendo del pH de la solución que les rodea. Así en el caso de los grupos hidroxilo, carboxilo, sulfhidrilo y fosfato se forman aniones y se liberan protones a la solución. Mientras que en los grupos amino y amida estos son neutros cuando están desprotonados y pueden cargarse positivamente al adquirir un protón de la solución que les rodea. La ionización de los grupos funcionales en la pared celular o de las sustancias extracelulares produce una carga eléctrica en la superficie de la célula que afecta a la concentración y distribución espacial de los iones en la interfase célula-agua. Esta carga eléctrica puede ser modificada en soluciones concentradas por la adsorción de iones a estos grupos funcionales (Obst et al., 2006). Esta circunstancia permite calcular la capacidad tamponadora de las sustancias extracelulares, a un determinado pH sabiendo el número de moles de grupos funcionales presentes en ellas (Fein et al., 1997). Los grupos funcionales implicados en la capacidad tamponadora de los diferentes organismos son identificados utilizando diferentes técnicas de espectroscopía (Benning et al., 2003, 2004).

Beveridge and Murray (1976) propusieron un mecanismo en dos etapas para explicar el proceso de adsorción de metales a las células. Primero se establece una interacción electrostática entre los cationes metálicos y los grupos funcionales aniónicos de las matrices extracelulares o paredes celulares. Después esta interacción actúa como un lugar de nucleación para el inicio de la precipitación mineral (Fig. 5.3). En el caso de las tobas de las Lagunas de Ruidera se observó cómo las sustancias extracelulares que rodeaban a las diatomeas y cianobacterias acumulaban Ca y eran ricas en P (Fig. 5.4) y, posteriormente, se producía la precipitación de carbonatos (Souza-Egipsy et al., 2006). Otros autores han mostrado este mismo fenómeno indicando que estas sustancias presentan lugares para la adsorción de cationes pero al principio también actúan como inhibidores de la precipitación (Kawaguchi and Decho, 2002a). En el medio natural, los cationes presentes en las aguas pueden variar dando lugar a diferentes tipos de carbonatos, calcita/aragonito (CaCO_3); dolomita ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), estroncianita (SrCO_3) y magnesita (MgCO_3) (Schultze-Lam et al., 1992; Schultze-Lam and Beveridge, 1994). Además de la capacidad de adsorber cationes, las sustancias extracelulares pueden presentar diferencias en composición que determinan la precipitación de distintos cristales (Kawaguchi and Decho, 2002b; Braissant et al., 2003; Bosak and Newman, 2005).

2.2. LOS ORGANISMOS CONSTRUCTORES Y LA ACTIVIDAD METABÓLICA

La precipitación de carbonatos en las formaciones de toba ha sido explicada como un mecanismo con dos etapas fundamentales (Ford and Pedley, 1996). En la primera etapa, el agua de lluvia se equilibra con la atmósfera del suelo que tiene una mayor presión parcial de CO_2 debido a la actividad

de los microorganismos o a la disolución de la roca. Cuando el agua vuelve a salir a la superficie el CO_2 en exceso pasa a la atmósfera, desplazando el equilibrio del carbonato hacia incrementar la supersaturación del CaCO_3 . Este proceso provoca la precipitación espontánea del CaCO_3 y por tanto para algunos autores la formación de las tobas sería un mecanismo fundamentalmente de biomineralización inducida (Merz-Preiß and Riding, 1999; Merz-Preiß, 2000; Arp et al., 1999) En consonancia con esta idea los datos de incorporación radioactiva de CO_2 (Pentecost, 1978b) y los registros de isótopos de carbono (Pentecost and Spiro, 1990; Pentecost, 2000; Schidlowski, 2000) mostraron una mínima señal de incorporación biológica en las tobas relacionada con la fotosíntesis.

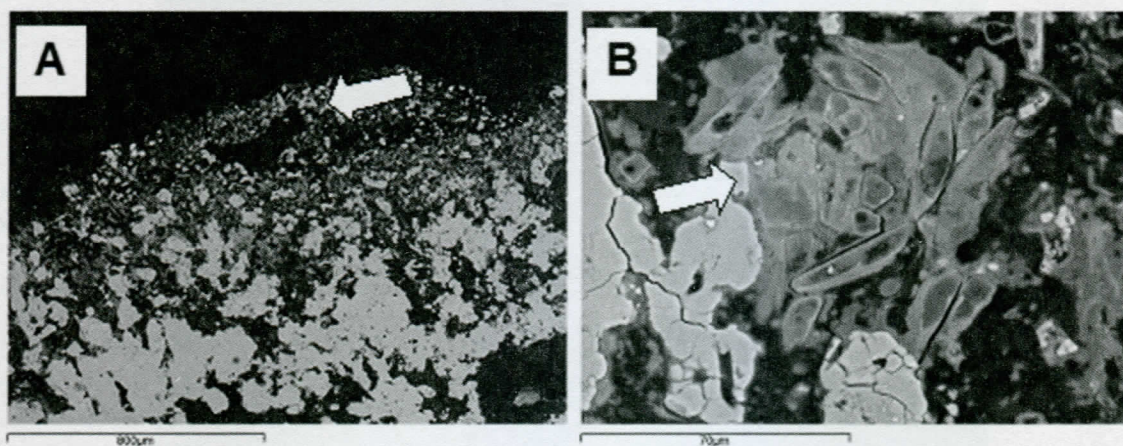


Figura 5.3: Imagen de microscopía electrónica de barrido mediante electrones retrodispersados de tobas recogidas en las Lagunas de Ruidera. A. Las biopelículas de diatomeas colonizan la superficie de las tobas (flecha blanca) y generan una precipitación de carbonatos diferente a la encontrada alrededor de las cianobacterias filamentosas (flecha negra). B: Las sustancias extracelulares alrededor de las diatomeas absorben cationes Ca^{2+} y son ricas en P (flecha negra) y posteriormente producen la nucleación de los carbonatos (flecha blanca).

Por otro lado, dependiendo de la fisiología de los organismos se puede observar como en algunos casos es la precipitación de carbonatos la que favorece la asimilación del bicarbonato en las células (McConnaughey and Whelan, 1997) y, por tanto, la actividad biológica tendría un papel importante en la precipitación de carbonatos. Ogawa y Kaplan (1987) observaron una dependencia entre la expulsión de H^+ y la adquisición de HCO_3^- por las cianobacterias. Varios estudios han descrito que existe un ratio estequiométrico 1.1 entre la fotosíntesis y la calcificación que se produce asociada con las cianobacterias y algas presentes en aguas ricas en carbonatos (Merz-Preiß, 1992; McConnaughey and Falk, 1991) y que estos últimos precipitados por mediación biológica presentan diferencias isotópicas específicas (González and Lohman, 1985; McConnaughey, 1989a, 1989b) Estudios *in situ* utilizando microelectrodos han descrito que en la superficie de una toba rica en cianobacterias filamentosas se producía un incremento del pH bajo condiciones de iluminación, mientras que lo contrario ocurría en los periodos de oscuridad (Shiraishi et al., 2008b) Sin embargo, el pH no mostraba cambios cuantitativos en las zonas donde predominaban las comunidades de diatomeas. Esto sugiere que no todas las biopelículas presentes en la toba fomentan la precipitación de CaCO_3 .

La descomposición de las matrices extracelulares por bacterias heterotróficas incrementaría de nuevo las concentraciones de Ca^{2+} y la alcalinización del medio provocando condiciones que pueden favorecer la precipitación de carbonatos (Arp et al., 1998; López-García et al., 2004). Pero el papel de estas comunidades de bacterias heterotróficas no está del todo claro, ya que se ha descrito que pueden promover o inhibir la precipitación y/o causar la disolución de los carbonatos (Visscher et al., 2000; Dupraz and Visscher, 2005) Durante la respiración los microorganismos producen un bombeo continuo de protones al exterior y éstos pueden actuar protonando los grupos funcionales de las matrices extracelulares volviéndolos neutros (Koch, 1986) Este proceso modificaría las condiciones apropiadas para la nucleación de los minerales en contacto con las biopelículas. En contraste, las células muertas no ofrecen este gradiente de protones y por esa razón es más probable que

muestren unas características aniónicas en su superficie (Urrutia et al., 1992) lo que favorecería la atracción de cationes y la nucleación mineral (Arp et al., 1998) Así en el caso de las bacterias que presentan diferentes capas extracelulares existirá un complejo microambiente alrededor de las células dependiendo de las características de las sustancias extracelulares que las rodean y de su actividad metabólica.

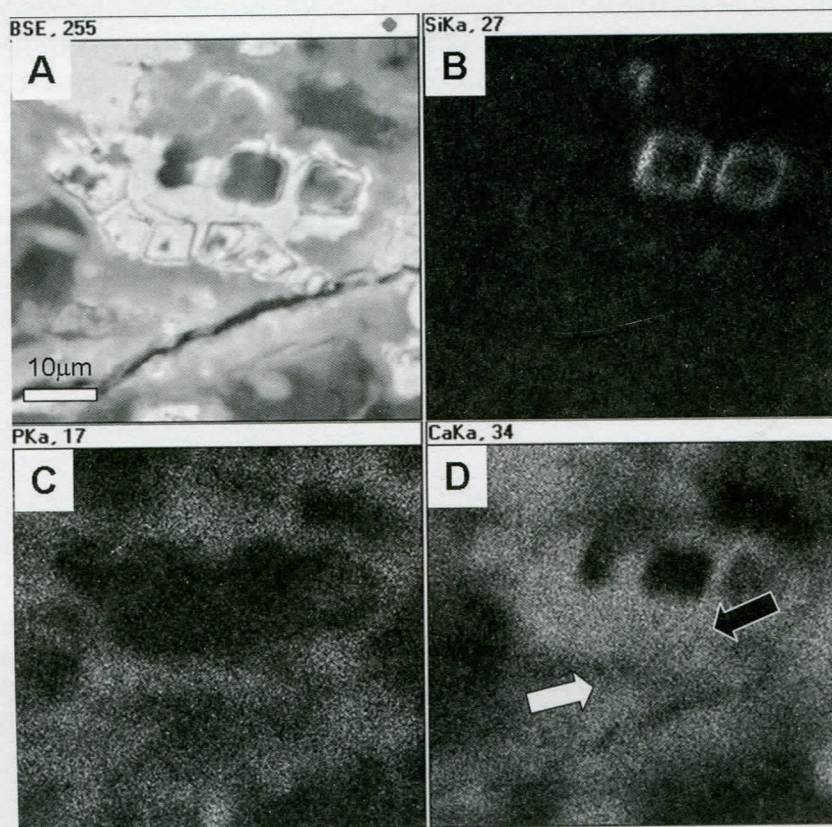


Figura 5.4: A. Imagen de microscopía electrónica de barrido mediante electrones retrodispersados de diatomeas sobre la superficie de tobas recogidas en las Lagunas de Ruidera. B: Mapa digital de la distribución del Si en la misma zona mostrada en la figura 4A. Los frustulos de las diatomeas son claramente visibles por su contenido en sílice. C: Mapa digital de la distribución del P. Las sustancias extracelulares alrededor de las diatomeas son ricas en este elemento. D: Mapa digital de la distribución del Ca. Las sustancias extracelulares acumulan Ca (flecha blanca) y los carbonatos precipitan alrededor y en el interior de los frustulos (flecha negra).

Varios estudios han descrito que algunas especies de cianobacteria, como el genero *Calothrix*, presenta dos zonas con cargas diferentes, siendo la pared celular electronegativa y la vaina electro-neutra lo que influiría en su capacidad de precipitar carbonatos (Phoenix et al., 2002) En el caso de algunas algas macrofitas como *Chara* se han descrito zonas alrededor de las células donde el pH es alcalino mientras que en otras donde es ácido siendo esta diferenciación independiente de la actividad fotosintética (McConnaughey and Falk, 1991) Esta diferenciación de cargas eléctricas en función de la actividad biológica o del tipo de estructura celular tendría importantes consecuencias en la capacidad específica para nuclear los minerales presentes en el medio y por tanto regularía la precipitación de carbonatos en la naturaleza.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a M^a Ángeles García del Cura y a Juan Antonio González Martín que les introdujeran en el mundo de las formaciones tobáceas de Las Lagunas de Ruidera. Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación obtenida a través del programa Ramón y Cajal (V. S.-E. y A. R.) y al proyecto CGL2006-04658.