

BIOTECNOLOGIA I MEDI AMBIENT

ANICET R. BLANCH

Departament de Microbiologia, Universitat de Barcelona.

Adreça per a la correspondència: Anicet R. Blanch. Departament de Microbiologia, Universitat de Barcelona. Diagonal, 645. 08028 Barcelona.
Adreça electrònica: ablanch@ub.edu.

RESUM

La biotecnologia ambiental comprèn el conjunt d'activitats tecnològiques que ens permeten comprendre i gestionar els sistemes biològics en el medi ambient, per tal de proveir productes i serveis. Actualment la gestió del medi ambient i dels seus recursos naturals no s'entén si no es realitza de manera sostenible. L'avenç del coneixement científic i tecnològic permet a la biotecnologia ambiental desenvolupar noves eines i aplicacions per respondre als principals reptes ambientals actuals. Entre aquests cal destacar la disponibilitat de recursos hídrics i energètics. El paper essencial que tenen els consorcis microbians, no solament en el cicle dels elements sinó també en el funcionament dels ecosistemes naturals, ha comportat una estreta relació entre la biotecnologia ambiental i l'ecologia microbiana. El desenvolupament de noves metodologies basades en la genòmica, proteòmica i metabolòmica, han permès a la biotecnologia ambiental plantejar noves perspectives a partir del coneixement estructural i funcional d'aquests consorcis microbians. Els principals àmbits d'interès actual de la biotecnologia ambiental són els aspectes mediambientals relacionats amb el canvi climàtic, la cerca de noves fonts energètiques renovables i alternatives, la millora dels processos de reciclatge, l'aprofitament i gestió dels recursos hídrics i la millora de les interaccions entre salut i medi ambient.

Paraules clau: medi ambient, consorcis microbians, recursos naturals, sostenibilitat, mètodes moleculars.

BIOTECHNOLOGY AND ENVIRONMENT

SUMMARY

Environmental biotechnology comprises technological activities to allow understanding and managing biological systems in the environment in order to provide goods and services. Sustainability is an essential request on the management of environment and

their natural resources. New technological and scientific knowledge supports environmental biotechnology on the development of new tools and applications by providing answers to environmental challenges, such as the availability of water and energy resources. The essential role of microbial consortia, not only on the cycling of elements but also in the functioning of natural ecosystems, confers an inherent relation between environmental biotechnology and microbial ecology. New methodologies—based on genomics, proteomics and metabolomics—allow environmental biotechnology to consider new perspectives supported by recent understanding of the structure and function of microbial consortia. At present, main fields of interest in environmental biotechnology are topics related to climatic change, renewable and alternative energy sources, improvement of recycling process, proper use and management of water resources, and upgrading health and environmental interactions.

Key words: environment, microbial consortia, natural resources, sustainability, molecular methods.

INTRODUCCIÓ

La gestió del medi ambient s'enfronta actualment amb una demanda social imperativa: la sostenibilitat. Diferents activitats biotecnològiques han esdevingut unes eines metodològiques determinants per mantenir i preservar els recursos naturals, i al mateix temps facilitar el desenvolupament de les activitats humanes en una societat pròspera. Habitualment, el conjunt d'aquestes activitats es reuneix sota la denominació de *biotecnologia ambiental*. El seu desenvolupament depèn en gran part dels avenços de diferents àrees científiques, així com del coneixement dels materials.

La biotecnologia ambiental ha adquirit en els darrers anys un paper destacat entre les diferents activitats de la biotecnologia. Aquest fet resulta entenedor si tenim en compte que dins de les necessitats determinades per la sostenibilitat trobem dos recursos que han esdevingut els principals reptes del segle xx: l'aigua i l'energia.

El proveïment d'aigua presenta de manera inherent un compromís de qualitat, que comporta sovint diferents tractaments per eliminar o mitigar riscos sanitaris i millorar les característiques organolèptiques de l'aigua. A més, aquest proveïment s'ha

de realitzar de manera contínua i sostenible, assegurant el retorn de l'aigua usada a la natura amb uns nivells de qualitat, tant des del punt de vista del sanejament per a la protecció de la salut humana, com des de l'impacte de l'aigua contaminada en els ecosistemes naturals. S'estima que actualment hi ha al voltant d'un 20 % de la població humana que no disposa d'un proveïment d'aigua de qualitat, i quasi un 40 % que no disposa de sistemes de sanejament acceptables. Per tant, el subministrament i el sanejament de l'aigua tenen un protagonisme important dins de les aplicacions biotecnològiques en el medi ambient.

La disponibilitat d'energia és una necessitat determinant per al funcionament de les societats desenvolupades. Els requeriments energètics són necessaris en els diferents àmbits de les activitats humanes, tant les domèstiques com les industrials, agrícoles i ramaderes, o també aquelles relacionades amb el lleure o els serveis. L'increment de la població humana i una positiva extensió d'una major qualitat de vida per a un major nombre d'humans en el darrer segle ens han situat davant d'un escenari de crisi energètica global. Aquests dos aspectes han fet que en les darreres dècades la utilització de fonts energètiques fòssils s'hagi accele-

rat i, atenent a la seva limitada disponibilitat i al plantejament de sostenibilitat abans indicat, ens enfrontem a un imminent repte tecnològic: la disponibilitat de fonts energètiques renovables i que veritablement resultin alternatives. La biotecnologia ambiental contribueix en gran part al desenvolupament de processos de conversió de fonts energètiques renovables (principalment biomassa i energia solar) a reserves energètiques útils. Aquestes bioenergies renovables poden esdevenir una aportació important per alleugerir una crisi energètica global. Els esforços més importants s'estan fent en el desenvolupament de mètodes alternatius de producció d'electricitat. Aquests mètodes pretenen produir energia a partir de recursos renovables sense una emissió neta de diòxid de carboni. Hi tenim com a exemple la bioelectricitat produïda pels generadors microbians d'electricitat (*microbial fuel cell*) (Du *et al.*, 2007). D'altres potencials fonts energètiques alternatives cconsideren la utilització del metabolisme microbià per produir gas natural (metà), etanol o hidrogen.

És evident que, tot i que l'aigua i l'energia resulten recursos molt importants en la societat actual, l'aportació de la biotecnologia ambiental en la gestió del medi ambient té implicacions científiques i tecnològiques més enllà d'aquests dos requeriments. En els propers apartats analitzarem el domini d'estudi de la biotecnologia ambiental i la seva estreta relació amb l'ecologia microbiana, les seves bases científiques conceptuals, els avantatges i limitacions de les metodologies tradicionals i les noves aproximacions moleculars i les activitats actuals de major interès.

DOMINI DE LA BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

Les aplicacions biotecnològiques que tra-

dicionalment s'han relacionat amb la gestió del medi ambient o amb l'aprofitament dels recursos naturals han estat aquelles que s'apliquen als sistemes biològics per prevenir, mitigar o eliminar la presència de compostos contaminants en el medi ambient (Watanabe i Baker, 2000). Tal i com s'ha comentat anteriorment, tradicionalment ens hem referit a aquestes activitats tecnològiques com a *biotecnologia ambiental*. L'avantatge d'utilitzar aquests tractaments biològics en lloc d'altres de tipus físic o químic ha estat que els processos biològics presenten un cost relativament més baix i comporten una menor alteració del medi ambient. Aquests mètodes biològics comporten una degradació dels compostos orgànics contaminants a compostos inorgànics que, en els casos ideals, resulten innocus (per exemple, CO_2 , H_2O , Cl^- , etc.). A més, els procediments de tractament dels contaminants en l'ambient per mètodes físics i químics sovint simplement transfereixen el contaminant a una ubicació diferent per mitigar o controlar-lo més adequadament.

Durant molts anys, les activitats biotecnològiques relacionades amb el medi ambient han fet que la biotecnologia ambiental se centrés i fonamentés principalment en la capacitat degradadora dels compostos contaminants per part de l'activitat metabòlica que presenten els consorcis microbians presents en els ecosistemes naturals. Aquesta visió tradicional de la biotecnologia ambiental, basada en l'ús dels processos de biodegradació microbiana, ha fet que durant molt de temps l'esforç tecnològic i de recerca s'orientés a: *a)* aïllar bacteris del medi ambient, *b)* classificar-los i caracteritzar-los fisiològicament, *c)* analitzar les seves capacitats enzimàtiques degradadores i *d)* en alguns casos intentar realitzar amb aquests una millora genètica per obtenir soques altament eficients en la degradació de compostos orgànics contaminants (Watanabe, 1997).

Ara bé, sovint s'ha observat que hi ha discrepàncies fisiològiques entre la capacitat metabòlica del bacteri degradador aïllat i la capacitat de biodegradació natural que presenten els consorcis microbians en els ecosistemes. Això ha fet considerar en alguns casos els consorcis microbians naturals com a «caixes negres» amb capacitats degradadores (Bragg *et al.*, 1994; Swannell *et al.*, 1996).

El desenvolupament de nous mètodes moleculars i la seva aplicació en els estudis d'ecologia microbiana ens ha permès constatar que les poblacions microbianes del medi ambient són molt més diverses que els microorganismes aïllats i estudiats en condicions de cultiu pur en el laboratori. Aquest darrer procediment d'estudi és el que s'ha utilitzat durant molt de temps per a les aplicacions tradicionals de la biotecnologia ambiental. Els avenços metodològics facilitats per l'aplicació dels nous mètodes moleculars en l'ecologia microbiana han permès noves aproximacions conceptuals a aquesta branca de la microbiologia. Així, tant les noves tecnologies moleculars com les noves aproximacions conceptuals de l'ecologia microbiana han estat la base per a un avenç diferencial en el coneixement dels consorcis microbians i la gestió de processos en la biotecnologia ambiental. La conseqüència ha estat un estret lligam del desenvolupament de l'ecologia microbiana amb el de la biotecnologia ambiental. Aquesta relació ha fet en els darrers anys estendre l'àmbit de les aplicacions biotecnològiques derivades de la comprensió dels consorcis microbians més enllà dels processos degradadors de compostos contaminants en el medi ambient. Com a conseqüència, l'ecologia microbiana proveeix els fonaments científics per al desenvolupament de processos aplicats, que són els objectius pràctics perseguits per la biotecnologia ambiental. Per altra banda, els processos derivats de la biotecnologia ambiental faciliten l'estudi d'ecosistemes

interessants per a l'ecologia microbiana, fet que li permet avançar conceptualment i desenvolupar noves metodologies (Rittman, 2006).

Aquesta estreta relació, i sobretot la disponibilitat de noves metodologies moleculars i nous conceptes bàsics per entendre el funcionament dels sistemes microbians en el medi ambient, ha ampliat l'àmbit de les activitats previstes per la biotecnologia ambiental més enllà de la seva definició tradicional. Així, actualment cal definir la biotecnologia ambiental com el conjunt d'activitats tecnològiques que ens permeten comprendre i gestionar els sistemes biològics (principalment els sistemes microbians) en el medi ambient per proveir productes i serveis a la societat.

Conseqüentment, la biotecnologia ambiental no pot només considerar la microbiota present en l'aigua, l'aire i el sòl que ens envolta per desenvolupar aplicacions biotecnològiques mediambientals, sinó que també ha de tenir en compte, per exemple, les poblacions microbianes presents en el tracte gastrointestinal. Aquestes poblacions són una part del món exterior en l'interior dels animals vius. Resta oberta la discussió sobre si hem de considerar aquestes comunitats microbianes com uns consorcis accidentals o com a unitats funcionals metagenòmiques (Tringe *et al.*, 2005). Ara bé, el que és evident és que són un enorme recurs de gens i de funcions biològiques, fins i tot probablement més enllà del que s'estima actualment mitjançant tècniques metagenòmiques per a la caracterització molecular de poblacions microbianes.

Un dels reptes per a les properes dècades de la microbiologia (i, més particularment, de la biotecnologia microbiana aplicada al medi ambient) és el coneixement i la gestió d'aquests recursos microbians. En els darrers anys, els estudis impartits en les escoles d'estudis empresarials i de negocis han

introduït i utilitzat el concepte de la gestió dels recursos humans com una eina essencial per poder dirigir empreses i establir plans estratègics. De la mateixa manera podem considerar que durant els propers anys serà essencial per a la biotecnologia ambiental comprendre i gestionar els recursos microbians en el medi ambient (concepte que s'anomena, en anglès, *microbial resource management*, MRM) per proveir productes i serveis biotecnològics a la nostra societat. Aquesta nova aproximació conceptual i metodològica ens pot permetre entendre, utilitzar i gestionar adequadament el nostre entorn (Verstraete, 2007).

BASES CONCEPTUALS I NOVES APROXIMACIONS METODOLÒGIQUES PER A L'ESTUDI DE LA MICROBIOTA AMBIENTAL

Normalment aquestes comunitats microbianes són sistemes biològics molt complexos que resulten de difícil estudi i, conseqüentment poden esdevenir d'utilització o aplicació biotecnològica gairebé impossibles. Per poder-les entendre i gestionar, la biotecnologia ambiental continua basant-se en una sèrie de conceptes científics bàsics (Verstraete, 2007):

a) El concepte de Beijerinck: la majoria dels microorganismes hi són a tot arreu, però s'accepta que en hi ha casos en què el processos de bioaugment (increment condicionat d'una població microbiana que ens interessa en un procés determinat) resulten imprescindibles per millorar o recuperar un entorn natural alterat (Boon *et al.*, 2002; Vaithiyanathan *et al.*, 2005).

b) El concepte d'associació nínxol-organisme de Darwin: ens proposa que existeix una adaptació d'un microorganisme a les tasques que presenta un nínxol en el medi ambient.

c) La teoria neutral de Hubbel: l'entrada de noves espècies en un ecosistema resulta determinant en la creació de nous nínxols ecològics, i el microorganisme és qui genera les seves pròpies tasques i nínxols (Hubbell i Borda-De-Agua, 2004). Aquesta teoria contrasta i ens condiciona el concepte anterior, en què el microorganisme no presenta un paper determinant.

d) El principi de Pareto 80/20: ens planteja que la distribució d'espècies respon al principi 80/20 de Pareto, pel qual hem d'assumir que el 80 % de l'energia d'un ecosistema microbià (les activitats metabòliques en el cas dels consorcis microbians del nostre interès) està directament relacionada amb el 20 % de les poblacions microbianes presents (Dejonghe *et al.*, 2001).

e) La successió de poblacions microbianes en un consorci: ens planteja que hi ha un canvi continuat i una successió cooperativa en el consorci microbià d'un entorn en concret, més que una comunitat microbiana estable (Curtis i Sloan, 2004). Llavors resulta determinant poder conèixer quan i en quina freqüència es donen aquests canvis o successions cooperatives, i quina és la persistència de les comunitats microbianes a situacions d'estrès.

Adicionalment a aquests conceptes científics bàsics, l'ecologia microbiana disposa actualment d'un conjunt de nous mètodes moleculars que permeten a la biotecnologia ambiental plantejar l'estudi de quatre aspectes fonamentals:

- L'estructura i composició de les poblacions microbianes en els consorcis.

- El potencial fenotípic de la comunitat entès com les capacitats dels microorganismes del consorci per realitzar les transformacions bioquímiques que ens interessin.

- Les reaccions bioquímiques que cada membre del consorci realitza dins de l'activitat metabòlica global de la comunitat microbiana.

- Les interaccions entre els membres

constituents del consorci i les seves interaccions amb el medi.

Aquesta nova informació, conjuntament amb les bases conceptuals indicades anteriorment, proporciona a la biotecnologia ambiental un horitzó més ampli d'actuació basant-se en la gestió dels recursos microbians naturals (MRM).

AVANTATGES I LIMITACIONS DELS MÈTODES TRADICIONALS I ELS NOUS MÈTODES MOLECULARS

Hi ha hagut tradicionalment dues maneres metodològiques de realitzar els estudis en la biotecnologia ambiental:

a) Les metodologies basades en l'aïllament del microorganisme d'interès i en la caracterització de les seves funcions metabòliques a partir del seu estudi en el laboratori mitjançant el cultiu pur. El coneixement que ens permet aquesta aproximació metodològica té la limitació que les situacions generades en el laboratori i la informació que en deriva sota condicions de cultiu pur sovint no resulten fàcils de transferir al que ocorre en el medi natural, o fins i tot no resulta possible d'interpretar quan s'analitzen aquestes funcions metabòliques com una part de tot l'ecosistema. Aquesta limitació es deu a la complexitat dels consorcis microbians i les seves interaccions amb l'entorn.

b) Les metodologies basades en l'anàlisi del consorci microbià considerant-lo tot com una unitat funcional. Tot i que aquesta aproximació pot resultar més empírica, en algunes circumstàncies pot resultar més pràctica. No obstant això, presenta la limitació que no detectem les estructures o els grups rellevants fisiològicament en el consorci, i perdem possibilitats d'intervenció sobre aquests.

La combinació de les dues aproximacions metodològiques s'ha vist facilitada des de

la dècada dels anys vuitanta pel desenvolupament de les noves tècniques moleculars. Aquestes noves tècniques de biologia molecular ens permeten encarar els estudis dels consorcis microbians *in situ*, avaluant la composició i estructura de poblacions presents, les funcions metabòliques que realitzen, la identificació dels microorganismes rellevants en el consorci (*environmental relevant microorganisms*), l'aïllament d'aquests microorganismes i la manipulació o gestió dels processos desenvolupats pel consorci.

En un principi, l'observació microscòpica i les tècniques de cultiu foren pràcticament els únics mètodes utilitzats per identificar els microorganismes (principalment els bacteris) presents en el medi ambient. La simplicitat i l'elevada similitud morfològica de moltes espècies bacterianes resultava un factor limitant per als estudis amb microscòpia. Cal també afegir que algunes espècies bacterianes poden adoptar diferents morfologies sota condicions fisiològiques diferents (Roszak i Colwell, 1987; Edwards, 2000). Per altra banda, les tècniques de cultiu (enumeració de cèl·lules viables i cultivables sobre placa o la tècnica del nombre més probable) s'han utilitzat per a una quantificació de cèl·lules actives en mostres ambientals. Ara bé, els medis de cultiu comporten una selecció d'aquells microorganismes que estan en un estat metabòlicament viable i que, a més, resulten cultivables en les especificitats que determinen els components del medi. Els microorganismes que es troben en una situació no cultivable o no viable no seran capaços de multiplicar-se en aquests medis i, per tant, ens esbiaixaran qualsevol anàlisi estructural o funcional del consorci microbià (Colwell, 2000; Ramaiah *et al.*, 2002; Mar Lleó *et al.*, 2005). Aquest problema ha estat identificat quan s'han combinat tècniques d'enumeració en cultiu amb tècniques d'enumeració basades en microscòpia, veient que el nombre de microorganismes comptats amb aquestes dar-

res tècniques superava en alguns ordres de magnitud els nombres detectats amb el cultiu (Torsvik *et al.*, 1990; Hoefel *et al.*, 2003; Kirk *et al.*, 2004). En la majoria dels casos, els mètodes tradicionals basats en el cultiu només detecten una fracció molt petita dels microorganismes presents en un consorci.

Contrastant amb els mètodes tradicionals ens trobem els nous mètodes moleculars que ens permeten descriure l'estructura i les activitats metabòliques de les poblacions presents en el consorci microbià. Un nombre important de les tècniques moleculars es fonamenta en les seqüències específiques que presenten els àcids nucleics en els éssers vius. Així, l'amplificació ràpida i selectiva del DNA amb una varietat de tècniques basades en la reacció en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*) i les tècniques d'hibridació d'àcids nucleics amb oligonucleòtids específics ens proveeixen informació genòmica tant dels microorganismes individualment com de les seves poblacions senceres (Olsen *et al.*, 1986; Amann *et al.*, 1995). Aquestes anàlisis poden realitzar-se mitjançant un ampli ventall de mètodes que ens faciliten diferent informació en un dels àmbits següents:

- Identificació filogenètica dels microorganismes. Principalment, l'estudi de les seqüències de les unitats petites de l'RNA ribosòmic (16S en procariotes i 18S en eucariotes) ha proporcionat una nova eina per a la identificació microbiana i els estudis filogenètics.

- Genotipatge i fenotipatge d'individus i poblacions. Disposem d'un ampli ventall de tècniques miniaturitzades per al fenotipatge, i mètodes per al genotipatge, com són l'amplificació selectiva de determinats gens diferencials i l'estudi posterior dels fragments amplificats (per exemple: DGGE, *denaturing gradient gel electrophoresis*; RT-PCR, *reverse-transcription polymerase chain reaction*), i l'anàlisi dels perfils dels fragments de digestió mitjançant enzims de restric-

ció (per exemple, la tècnica RFLP, *restriction fragment length polymorphism*). Aquestes metodologies estan facilitant analitzar la diversitat microbiana en els ecosistemes (Muyzer, 1999; Freeman, 1999).

- Estructuració i organització del consorci. L'anàlisi dels RNA missatgers presents en un consorci microbià ens permet conèixer quins gens s'estan expressant en un moment concret i, per tant, quines funcions s'estan donant per part del consorci. Si addicionalment es realitza un estudi mitjançant microscòpia amb visualització de les dianes de l'RNA expressat amb tècniques d'hibridació *in situ* (FISH, *fluorescence in situ hybridization*), podem obtenir informació sobre l'estructura, organització i funcions del consorci microbià (Amann *et al.*, 1990; Amman *et al.*, 2001).

Per tant, el desenvolupament de tècniques genòmiques més o menys sofisticades ha resultat de gran utilitat per descriure l'estadi en què es troben un nombre important de gens en un moment determinat en un entorn específic (Lajoi *et al.*, 2002; Gentry *et al.*, 2006). Tot i així, aquestes tècniques d'anàlisi genòmica o metagenòmica en poblacions microbianes ambientals no ens permeten encara comprendre com els sistemes naturals contenen desenes de milers de microorganismes diferents, tal i com ens els trobem en el tracte intestinal o en un llot actiu d'una planta depuradora d'aigües. Actualment es proposa el concepte de *metaboloma*, que ens ajudaria a comprendre quins microorganismes són essencials i com es beneficien selectivament de les seves accions metabòliques pròpies dins d'un ecosistema en concret.

Sabem que els processos naturals de selecció microbiana desplacen fàcilment qualsevol metabolisme accidental que ens interessi a nosaltres i, per tant, l'èxit de processos d'intervenció ambiental necessita mecanismes actius per al manteniment d'un determinat metabolisme. També s'ha

plantejat la introducció de microorganismes manipulats genèticament per realitzar tasques específiques en el medi, però aquests microorganismes seleccionats de manera artificial resulten sovint competidors molt dolents en entorns naturals. Sovint no poden superar els diferents condicionants ambientals per al creixement o fins i tot per a la supervivència. Per tant, podria ser que ens haguéssim de preocupar més de disposar de tècniques que ens permetin l'ús de soques microbianes naturals mantingudes adequadament dins d'una comunitat natural, que de generar sofisticats microorganismes manipulats genèticament per obtenir noves combinacions artificials de gens (Boon *et al.*, 2002; Watanabe *et al.*, 2002; Vaithiyanathan *et al.*, 2005). Això permetria establir aquestes soques naturals de microorganismes o bé facilitar que els seus gens que codifiquen les propietats del nostre interès puguin ser transferits horitzontalment a altres poblacions microbianes presents en el mateix ecosistema (Taghavi *et al.*, 2005).

A més de poder establir un llistat d'espècies bacterianes i els seus gens que es troben específicament en un ecosistema concret mitjançant les noves tècniques moleculars, caldrà establir durant els propers anys les relacions entre la diversitat i el volum (quantitat de microorganismes en un ecosistema) (Gast *et al.*, 2006) i les transformacions metabòliques que es realitzen per part dels microorganismes, així com valorar el balanç energètic (Ishii *et al.*, 2005; Ishii *et al.*, 2006).

ÀMBITS ACTUALS D'INTERÈS EN LA BIOTECNOLOGIA AMBIENTAL

Podem diferenciar cinc grans àmbits d'aplicació de la biotecnologia ambiental, en què probablement hi haurà contribucions destacables durant els propers anys:

a) El canvi climàtic. El control de les emissions de CO₂ per part del sòl i la possibilitat de segrestar quantitats important de carboni en el sòl mitjançant canvis significatius en les pràctiques agrícoles rutinàries pot esdevenir una de les contribucions en la regulació del canvis climàtics que podrien afectar-nos en les properes dècades (Rosenberg i Izaurre, 2001). També podem afegir-hi el control o la prevenció de les emissions de metà procedent dels residus, de pràctiques agrícoles i de sistemes naturals. Existeixen algunes aproximacions metodològiques que es basen en l'objectiu d'eliminar metà atmosfèric a través de bacteris metanotròfics del sòl (Boecks *et al.*, 1997; Mohanty *et al.*, 2006).

b) Energies alternatives. Tal i com s'ha indicat anteriorment, la disponibilitat de noves fonts energètiques renovables està esdevenint un dels objectius tecnològics més destacables del segle XXI. Tot i que fins al moment les possibles contribucions per part de microorganismes són limitades i algunes de les propostes s'han quedat a escala experimental de laboratori o de planta pilot, cal no menystenir algunes aportacions potencials. Entre aquestes poden destacar la síntesi d'hidrogen per part de noves soques d'arqueus o la producció de l'anomenada *bioelectricitat* mitjançant els generadors microbians d'energia (*microbial fuel cells*). Aquestes unitats estan basades a generar electricitat directament a partir de l'oxidació de compostos orgànics per part del metabolisme bacterià (soques dels gèneres *Geobacter* o *Rhodospirillum*) en transferir els electrons a un ànode en lloc de fer-ro a un acceptor tradicional d'electrons (Lovley, 2006; Rabaey *et al.*, 2003; Rabaey i Verstraete, 2005; Du *et al.*, 2007). També caldrà valorar en un futur els progressos que s'aconsegueixin en l'augment del rendiment energètic a gran escala de les diferents fonts de bioenergia (metà, etanol i hidrogen, principalment). Aquestes procedeixen de la degradació de la matèria

orgànica en diverses rutes del catabolisme microbià, i presenten diferents eficiències energètiques (Rittman, 2006).

c) Processos de reciclatge. La sostenibilitat mediambiental de determinades activitats humanes està estretament relacionada amb un reciclatge efectiu de molts elements i compostos en els ecosistemes. La comprensió de l'estructura i de les funcions dels consorcis microbians ens pot proporcionar eines per a la descontaminació de sòls i sediments, l'eliminació de contaminants en l'aire i la degradació de compostos recalcitrants procedents de diferents activitats humanes. Tenim com a exemple la biodegradació de compostos aromàtics, que resulta essencial per mantenir el cicle del carboni al planeta. Aquesta degradació es pot aconseguir principalment amb diversos microorganismes (Harayama i Timmis, 1992). En els darrers anys hi ha hagut un especial interès per estudiar les capacitats de degradació dels compostos aromàtics derivats de les activitats industrials per part de diferents grups de microorganismes. Tot i que hi ha diferents gèneres que poden degradar els compostos aromàtics, el gènere *Pseudomonas* ha estat el més estudiat i utilitzat, però no es descarta l'ús d'altres grups bacterians (Díaz *et al.*, 2001).

d) Els recursos hídrics. Un bon exemple el tenim al nostre territori en l'aprofitament i la gestió optimitzada dels recursos hídrics (Jofre, 2007). La qualitat en el subministrament d'aigua potable (Mendez *et al.*, 2004), el sanejament de les aigües residuals (Lucena *et al.*, 2001) i la seva potencial regeneració està esdevenint un repte cabdal per poder garantir recursos hídrics amb la qualitat adient per satisfer les diferents activitats humanes en el nostre entorn geogràfic. La regeneració d'aigües és un factor ambiental estratègic en el nostre territori, com per exemple en els casos de recuperació d'aqüífers, la gestió integral de conques fluvials o zones costaneres, o el proveïment

de recursos hídrics alternatius a les aigües potables de subministrament per a diferents activitats industrials i de lleure (Jofre, 2007). En els darrers anys s'estan fent esforços importants en el desenvolupament de metodologies per detectar l'origen de la contaminació fecal en les aigües superficials (terme anomenat, en anglès, *microbial source tracking*). Els riscos sanitaris associats deguts a la presència d'aquesta contaminació fecal resulten diferents atenent al fet si és d'origen humà o animal. Això ha fet que darrerament s'hagin proposat diferents mètodes microbiològics o químics per a la determinació de l'origen de la contaminació fecal (Blanch *et al.*, 2006). Addicionalment, hi ha hagut un major interès en la detecció de contaminants i patògens en l'aigua per determinar els riscos sanitaris i prendre mesures per al control o l'eliminació. Això ha fet potenciar el desenvolupament de noves tècniques per a la detecció de patògens en aigües (García-Aljaro *et al.*, 2005), l'avaluació de la transferència horitzontal potencial de gens que codifiquen factors de virulència (García-Aljaro *et al.*, 2004; Muniesa *et al.*, 2004a) o la resistència a antibiòtics (Muniesa *et al.*, 2004b; Kühn *et al.*, 2005).

e) Salut i medi ambient. Les expectatives que havien fet alguns analistes a partir de l'èxit en l'aplicació clínica dels antibiòtics que els van fer anunciar l'eradicació de les malalties infeccioses en unes poques dècades han quedat sense fonament. Ben al contrari, actualment ens trobem amb una nova situació sanitària a causa de l'aparició dels anomenats *patògens emergents*. L'increment de la mobilitat de les persones per tot el planeta, conjuntament amb una economia globalitzada, que permet la mobilitat de recursos materials i, conseqüentment de microorganismes, ha facilitat l'extensió de determinades malalties infeccioses que estaven limitades territorialment. D'altra banda, els antibiòtics s'han utilitzat rutinàriament en medicina humana i veterinària

per al tractament i la prevenció de malalties, però també com a promotors de creixement en la producció ramadera. L'ús excessiu d'aquestes pràctiques ha portat com a resultat la selecció de resistències a alguns antibiòtics en les poblacions bacterianes del tracte intestinal dels animals utilitzats en la cadena alimentària humana. Això ha comportat l'aparició de soques de patògens resistents als antibiòtics en la medicina humana. Actualment, estan adquirint un paper essencial el coneixement i la gestió de les poblacions bacterianes intestinals (tant dels humans com dels animals relacionats amb la cadena alimentària), i d'altres poblacions microbianes extraintestinals, ja siguin simbiotes o comensals (principalment en mucoses i epidermis), que estan directament o indirectament relacionades amb l'estat sanitari. Aquests coneixements permetran establir nous processos actius i alternatius de prevenció i control dels agents causals de malalties. Entre aquests processos poden destacar la utilització dels auto-inductors i inhibidors dels mecanismes de percepció de quòrum bacterians (Waters i Bassler, 2005). Aquests mecanismes permeten la coordinació poblacional de l'expressió gènica relacionada amb la concentració cel·lular d'una població bacteriana. També tenim la utilització dels bacteriòfags per al control de patògens emergents o com a alternatives a les resistències als antibiòtics. Tots dos mecanismes d'actuació estan adquirint un paper destacat per a la seva potencial aplicació en l'àmbit sanitari (Marks i Sharp, 2000; Petty *et al.*, 2007; Verthe *et al.*, 2004; O'Flaherty *et al.*, 2005).

CONCLUSIONS

La biotecnologia ambiental ens està proporcionant d'una manera progressiva noves eines metodològiques per a una gestió sostenible dels recursos naturals i del medi

ambient, i ens facilita al mateix temps una millora global de la qualitat de vida dels humans. Aquests avenços esdevenen possibles gràcies als nous coneixements provinents de diferents camps científics, però molt especialment de l'ecologia microbiana. El desenvolupament de noves metodologies moleculars que ens permeten una nova aproximació a l'estudi de la composició i les funcions dels consorcis microbians presents en els ecosistemes naturals ens proporcionen en gran part aquests nous coneixements. La integració de la informació que es derivi dels futurs estudis de genòmica, proteòmica i metabolòmica de les poblacions microbianes, conjuntament amb altres àrees del coneixement, ens ha de permetre en un futur noves aplicacions metodològiques en el control dels contaminants, en la regulació del cicle dels elements, en la gestió dels recursos hídrics i energètics i en la millora de la situació sanitària.

AGRAÏMENTS

Vull agrair a Joan Jofre els comentaris que m'ha fet sobre el contingut d'aquest capítol, així com aquelles estones en les quals hem pogut dissertar sobre diferents temàtiques científiques relacionades principalment amb la microbiologia.

BIBLIOGRAFIA

- AMANN, R. I.; KRUMHOLZ, L.; STAHL, D. A. (1990). «Fluorescent-oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology». *J. Bacteriol.*, 172: 762-770.
- AMANN, R. I.; LUDWIG, W.; SCHLEIFER, K. H. (1995). «Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation». *Microbiol. Rev.*, 59: 143-169.
- AMANN, R.; FUCHS, B. M.; BEHRENS, S. (2001). «The identification of microorganisms by fluorescence in situ hybridisation». *Curr. Opin. Biotechnol.*, 12: 231-236.

- BLANCH, A. R.; BELANCHE-MUNOZ, L.; BONJOCH, X.; EBDON, J.; GANTZER, C.; LUCENA, F.; OTTOSON, J.; KOURTIS, C.; IVERSEN, A.; KÜHN, I.; MOCE, L.; MUNIESA, M.; SCHWARTZBROD, J.; SKRABER, S.; PAPAGEORGIOU, G. T.; TAYLOR, H.; WALLIS, J.; JOFRE, J. (2006). «Integrated analysis of established and novel microbial and chemical methods for microbial source tracking». *Appl. Environ. Microbiol.*, 72: 5915-5926.
- BOECKS, P.; CLEEMPUT, O. VAN; VILLARAÍVO, I. (1997). «Methane oxidation in soils with different textures and land use». *Nutr. Cycl. Agroecosys.*, 49: 91-95.
- BOON, N.; GELDER, L. DE; LIEVENS, H.; VERSTRAETE, W. (2002). «Bioaugmenting bioreactors for the continuous removal of 3-chloroaniline by slow release approach». *Environ. Sci. Technol.*, 36: 4698-4704.
- BRAGG, J. R.; PRINCE, R. C.; HARNER, E. J.; ATLAS, R. M. (1994). «Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill». *Nature*, 368: 413 - 418.
- COLWELL, R. R. (2000). «Viable but nonculturable bacteria: a survival strategy». *J. Infect. Chemother.*, 6: 121-125.
- CURTIS, T. P.; SLOAN, W. T. (2004). «Prokaryotic diversity and its limits: microbial community structure in nature and implications for microbial ecology». *Curr. Opin. Microbiol.*, 7: 221-226.
- DEJONGHE, W.; BOON, N.; SEGHERS, D.; TOP, E. M.; VERSTRAETE, W. (2001). «Bioaugmentation of soils by increasing microbial richness: missing links». *Environ. Microbiol.*, 3: 649-657.
- DÍAZ, E.; FERNÁNDEZ, A.; PRIETO, M. A.; GARCÍA, J. L. (2001). «Biodegradation of aromatic compounds by *Escherichia coli*». *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 65: 523-569.
- DU, Z.; LI, H.; GU, T. (2007). «A state of the art review on microbial fuel cells: A promising technology for wastewater treatment and bioenergy». *Biotechnol. Advances*, 25: 464-482.
- EDWARDS, C. (2000). «Problems posed by natural environments for monitoring microorganisms». *Mol. Biotechnol.*, 15: 211-223.
- GARCIA-ALJARO, C.; BONJOCH, X.; BLANCH, A. R. (2005). «Combined use of an immunomagnetic separation method and immunoblotting for the enumeration and isolation of *Escherichia coli* O157 in wastewaters». *J. Appl. Microbiol.*, 98: 589-597.
- GARCIA-ALJARO, C.; MUNIESA, M.; JOFRE, J.; BLANCH, A. R. (2004). «Prevalence of the *stx*₂ gene in coliform populations from aquatic environments». *Appl. Environ. Microbiol.*, 70: 3535-3540.
- GAST, C. J. VAN DE; JEFFERSON, B.; REID, E. (2006). «Bacterial diversity is determined by volume in membrane bioreactors». *Environ. Microbiol.*, 8: 1048-1055.
- GENTRY, T. J.; WICKHAM, G. S.; SCHADT, C. W. (2006). «Microarray applications in microbial ecology research». *Microb. Ecol.*, 52: 159-175.
- HARAYAMA, S.; TIMMIS, K. N. (1992). «Aerobic biodegradation of aromatic hydrocarbons by bacteria». A: SIGEL, H.; SIGEL, A. [ed.]. *Metal ions in biological systems*. Nova York: Marcel Dekker: 99-156.
- HOEFEL, D.; GROOBY, W. L.; MONIS, P. T.; ANDREWS, S.; SAINT, C. P. (2003). «Enumeration of water-borne bacteria using viability assays and flow cytometry: a comparison to culture-based techniques». *J. Microbiol. Methods*, 55: 585-597.
- HUBBELL, S. P.; BORDA-DE-AGUA, L. (2004). «The unified neutral theory of biodiversity and biogeography». *Ecology*, 85: 3175-3178.
- ISHII, S.; KOSAKA, T.; HORI, K.; HOTTA, Y.; WATANABE, K. (2005). «Coaggregation facilitates interspecies hydrogen transfer between *Pelotomaculum thermopropionicum* and *Methanothermobacter thermautotrophicus*». *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 7838-7845.
- ISHII, S.; KOSAKA, T.; HOTTA, Y.; WATANABE, K. (2006). «Simulating the contribution of coaggregation to interspecies hydrogen fluxes in syntrophic methanogenic consortia». *Appl. Environ. Microbiol.*, 72: 5093-5096.
- JOFRE, J. (2007). *Oportunitats relacionades amb el cicle integral de l'aigua per a les empreses de l'Àrea Metropolitana de Barcelona*. Barcelona: Pla Estratègic Metropolità de Barcelona. (Estratègica; 5).
- KIRK, J. L.; BEAUDETTE, L. A.; HART, M.; MOUTOGLIS, P.; KLIRONOMOS, J. N.; LEE, H.; TREVORS, J. T. (2004). «Methods of studying soil microbial diversity». *J. Microbiol. Methods*, 58: 169-188.
- KÜHN, I.; IVERSEN, A.; FINN, M.; GREKO, C.; BURMAN, L. G.; BLANCH, A. R.; VILANOVA, X.; MANERO, A.; TAYLOR, H.; CAPLIN, J.; DOMINGUEZ, L.; HERRERO, I. A.; MORENO, M. A.; MÖLLBY, R. (2005). «Occurrence and relatedness of vancomycin-resistant Enterococci in animals, humans, and the environment in different European regions». *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 5383-5390.
- LAJOIE, C. A.; SAYLER, G. S.; KELLY, C. J. (2002). «The activated sludge biomolecular database». *Water Environ. Res.*, 74: 480-487.
- LOGAN, B. E. (2004). «Extracting hydrogen and electricity from renewable resources». *Environ. Sci. Technol.*, 38: 160A-167A.
- LOVLEY, D. R. (2006). «Microbial energizers: fuel cells that keep on going». *Microbe*, 1: 323-329.
- LUCENA, F.; DURAN, A. E.; MORON, A.; CALDERON, E.; CAMPOS, C.; GANTZER, C.; SKRABER, S.; JOFRE, J. (2001). «Reduction of bacterial indicators and bacteriophages infecting faecal bacteria in primary and secondary wastewater treatments». *J. Appl. Microbiol.*, 97: 1069-1076.
- MAR LLEÒ, M. DEL; BONATO, B.; BENEDETTI, D.; CANEPARI, P. (2005). «Survival of enterococcal species in

- aquatic environments». *FEMS Microbiol. Ecol.*, 54: 189-196.
- MARKS, T.; SHARP, R. (2000). «Bacteriophages and biotechnology: a review». *J. Chemical Technol. Biotechnol.*, 75: 6-17.
- MENDEZ, J.; AUDICANA, A.; CANCER, M.; ISERN, A.; LLANEZA, J.; MORENO, M.; NAVARRO, M.; TARANCON, M. L.; VALERO, F.; RIBAS, F.; JOFRE, J.; LUCENA, F. (2004). «Assesment of drinking water quality using indicator bacteria and bacteriophages». *J. Water Health*, 2: 201-214.
- MOHANTY, S. R.; BODELIER, P. L. E.; FLORIS, V.; CONRAD, R. (2006). «Differential effects of nitrogenous fertilizers on methane-consuming microbes in rice field and forest soils». *Appl. Environ. Microbiol.*, 72: 1346-1354.
- MUNIESA, M.; GARCIA, A.; MIRÓ, E.; MINELIS, B.; PRATS, G.; JOFRE, J.; NAVARRO, F. (2004a). «Bacteriophages and diffusion of β -lactamase gens». *Emerg. Infect. Dis.*, 10: 1134-1137.
- MUNIESA, M.; SERRA-MORENO, R.; JOFRE, J. (2004b). «Free Shiga-toxin bacteriophages isolated from sewage showed diversity although the *stx* genes appeared conserved». *Environ. Microbiol.*, 6: 716-725.
- MUYZER, G. (1999). «DGGE/TGGE, a method for identifying genes from natural ecosystems». *Curr. Opin. Microbiol.*, 2: 317-322.
- O'FLAHERTY, S.; ROSS, R. P.; MEANEY, W.; FITZGERALD, G. F.; ELBREKI, M. F.; COFFEY, A. (2005). «Potential of the polyvalent anti-*Staphylococcus* bacteriophage K for control of antibiotic-resistant Staphocci from hospitals». *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 1836-1842.
- OLSEN, G. J.; LANE, D. J.; GIOVANNONI, S. J.; PACE, N. R.; STAHL, D. A. (1986). «Microbial ecology and evolution: a ribosomal RNA approach». *Annu. Rev. Microbiol.*, 40: 337-365.
- PETTY, N. K.; EVANS, T. J.; FINERAN, P. C.; SALMOND, G. P. (2007). «Biotechnological exploitation of bacteriophage research». *Trends Biotechnol.*, 25: 7-15.
- RABAAY, K.; LISSSENS, G.; SICILIANO, S.; VERSTRAETE, W. (2003). «A microbial fuel cell capable of converging glucose to electricity at high rate and efficiency». *Biotechnol. Lett.*, 25: 1531-1535.
- RABAAY, K.; VERSTRAETE, W. (2005). «Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation». *Trends Biotechnol.*, 23: 291-298.
- RAMAIAH, N.; RAVEL, J.; STRAUBE, W. L.; HILL, R. T.; COLWELL, R. R. (2002). «Entry of *Vibrio harveyi* and *Vibrio fischeri* into the viable but nonculturable state». *J. Appl. Microbiol.*, 93: 108-116.
- RITTMANN, B. E. (2006). «Microbial ecology to manage processes in environmental biotechnology». *Trends Biotechnol.*, 24: 261-266.
- ROSENBERG, N. J.; IZAURRALDE, R. C. (2001). *Storing Carbon in Agricultural Soils: A Multi-Purpose Environmental Strategy*. Amsterdam: Kluwer Academic.
- ROSZAK, D. B.; COLWELL, R. R. (1987). «Survival strategies of bacteria in the natural environment». *Microbiol. Rev.*, 51: 365-379.
- SWANNELL, R. P. J.; LEE, K.; McDONAGH, M. (1996). «Field evaluation of marine oil spill bioremediation». *Trends Biotechnol.*, 11: 344-352.
- TAGHAVI, S.; BARAC, T.; GREENBERG, B. (2005). «Horizontal gene transfer to endogenous endophytic bacteria from poplar improves phytoremediation of toluene». *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 8500-8505.
- TORSVIK, V.; GOKSØYR, J.; DAAE, F. L. (1990). «High diversity in DNA of soil bacteria». *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 782-787.
- TRINGE, S. G.; MERING, C. VON; KOBAYASHI, A.; SALAMOV, A.; CHEN, K.; CHANG, H. W.; PODAR, M.; SHORT, J. M.; MATHUR, E. J.; DETTER, J. C.; BORK, P.; HUGENHOLTZ, P.; RUBIN, E. M. (2005). «Comparative metagenomics of microbial communities». *Science*, 308: 554-557.
- VAITHIYANATHAN, S.; SHEIKH, Q.; KU, R. (2005). «Effect of transinoculation of goat rumen liquor on degradation and metabolism of mimosine in sheep fed with *Leucaena leucocephala* leaves». *Asian Austral. J. Anim.*, 18: 332-339.
- VERSTRAETE, W. (2007). «Microbial ecology and environmental biotechnology». *ISME J.*, 1: 4-8.
- VERTHE, K.; POSSEMIERS, S.; BOON, N.; VANECHOUTTE, M.; VERSTRAETE, W. (2004). «Stability and activity of an *Enterobacter aerogenes*-specific bacteriophage under simulated gastro-intestinal conditions». *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 65: 465-472.
- WATANABE, K. (1997). «Identification of functionally important catabolic populations in microbial consortium». *Recent Res. Develop. Microbiol.*, 1: 65-76.
- WATANABE, K.; BAKER, P. W. (2000). «Environmentally relevant microorganisms». *J. Biosci. Bioeng.*, 89: 1-11.
- WATANABE, K.; TERAMOTO, M.; HARAYAMA, S. (2002). «Stable mentation of activated sludge with foreign catabolic genes harboured by an indigenous dominant bacterium». *Environ. Microbiol.*, 4: 577-583.
- WATERS, C. M.; BASSLER, B. L. (2005). «Quorum Sensing: cell-to-cell communication in bacteria». *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 21: 319-346.