

# MANANTIALES SALINOS DE LOS ANDES COLOMBIANOS: HALLAZGOS DESDE LA MICROBIOLOGÍA

(Saline springs in the Andean Region: Findings from the Microbiology)

Carolina Díaz, Carolina Rubiano, Sandra Baena\*

Unidad de Saneamiento Ambiental (USBA), Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,  
Pontificia Universidad Javeriana, Colombia

\*baena@javeriana.edu.co

(Recibido el 16 de julio de 2009 y aceptado el 03 de agosto de 2009)

## Resumen:

El objetivo general de este estudio fue el de identificar la composición de la diversidad microbiana de tres manantiales salinos ubicados en el sistema montañoso de los Andes colombianos (Departamentos de Risaralda y Boyacá). Para la realización de este trabajo, se seleccionaron dos manantiales salinos ubicados en la Cordillera Central (Salado de Consotá y La Cristalina) y uno ubicado en la Cordillera Oriental (Salpa). El manantial Salado de Consotá se caracteriza por sus hallazgos arqueológicos, su alta salinidad, pH cercanamente neutro, oscilando entre 6,7 y 7,4, alto contenido de calcio, cloruros y sulfatos, mientras que el manantial La Cristalina (Arabia) tiene un pH alcalino cercano a 8,5, un menor contenido de calcio, pero también valores altos de sulfatos y cloruros. El manantial salino Salpa, cuya composición química se caracteriza por la alta concentración de sulfato es usado actualmente para la producción comercial de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

Los resultados obtenidos muestran que estos hábitat son altamente diversos y que aún queda mucho por conocer sobre su diversidad; sin embargo, es evidente que la composición microbiana es dominada por organismos de la clase alfa y gamma proteobacteria.

**Palabras clave:** manantial salino, diversidad microbiana, subducción

## Abstract:

The aim of this study was to identify the composition of the microbial diversity on three terrestrial saline springs in Colombian Andes (Departments of Risaralda and Boyacá). For the accomplishment of this work two located saline springs in Central Mountain range (*Salado de Consotá* and *Salado La Cristalina*) and one located in the Eastern Mountain range were selected (Salpa). The saline spring *Salado de Consotá* is characterized by its archaeological findings, their high salinity, pH neutral oscillating between 6,7 and 7,4, and high values of calcium, chlorides and sulphates. Whereas the spring *La Cristalina* one (Arabia) has pH alkaline near 8,5, a contained calcium minor, but also high values of sulphates and chlorides. The saline spring Salpa, whose chemical composition is characterized by the high sulphate concentration is used at the moment for the commercial production of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

The obtained results show that these habitat are highly diverse and that still it is left much to know on his diversity, nevertheless, is evident that the microbial composition is dominated by organisms of the class alpha and gamma proteobacteria.

**Key words:** saline springs, microbial diversity, subduction

## 1. INTRODUCCIÓN

En Colombia, la presencia de manantiales salinos se ha reportado principalmente en las cordilleras Central y Oriental de los Andes colombianos, y se caracterizan por aflorar sobre, o cerca, de un trazo de falla geológica, a pocos metros de drenajes mayores (Cardona y Cortés, 2006). Existen reportes de utilización de estos manantiales desde épocas precolombinas, para la extracción de sal, con diferentes fines: desde consumo humano hasta orfebrería (Acevedo y Martínez, 2004; Tistl, 2004). Sin embargo, es poco lo que se conoce sobre la biota presente en estos ambientes, y no hay reportes previos que describan la composición y, en consecuencia, los patrones de distribución de las comunidades microbianas en este tipo de hábitat. El objetivo general de este estudio fue identificar la composición de la diversidad microbiana de tres manantiales salinos ubicados en el sistema montañoso de los Andes colombianos (Salado La Cristalina, Salado de Consotá y Salpa).

En términos geotectónicos, las fuentes de las aguas saladas de La Cristalina y El Salado de Consotá están situadas dentro de un régimen de subducción anterior al

arco volcánico. Esta región, el piedemonte de la Cordillera Central, está dominada por una zona de fallas importantes, que se resume bajo el término "Falla de Romeral". Debido al aumento de temperatura y presión, durante todo el proceso de subducción, la corteza oceánica y sus sedimentos liberan agua. Primero, el agua contenido en los poros, y después, con las transiciones de fases de los minerales con grupos hidróxidos ( $\text{OH}^-$ ). Las aguas termales de Nuquí, en la costa del Pacífico, y los volcanes de lodo en Córdoba son ejemplos de la deshidratación de la placa subducida en el Forearc, mientras los manantiales salinos en estudio son ejemplos de la deshidratación de la placa subducida cerca al arco volcánico. Estas aguas provienen de grandes profundidades con altas temperaturas (Tistl, 2009, com. Pers.). De otra parte, el origen del manantial salino Salpa está relacionado con la presencia de depósitos evaporíticos no marinos (Alfaro *et al.* 2002).

Dadas las características de la composición química del agua de cada uno de los manantiales salinos estudiados y su distancia geográfica, estos ambientes se consideran puntos de partida interesantes para el estudio de la composición y patrones de distribución de la diversidad microbiana de manantiales salinos.

## 2. METODOLOGÍA

Se realizaron muestreos en cada manantial salino y se determinaron *in situ* la temperatura, pH, concentración de sólidos disueltos totales y/o conductividad. Se recolectaron muestras puntuales de dos litros para análisis de diversidad biológica, utilizando bibliotecas genómicas del gen 16S rRNA, para el análisis de la composición y estructura microbiana de los manantiales, siguiendo los protocolos de Schauer *et al.* (2000), para extracción de DNA; de Posada *et al.* (2004), para amplificación de DNA, y de Maturrano *et al.* (2006), para construcción de bibliotecas genómicas. Además, se recolectaron muestras para análisis microbiológicos de calidad de aguas y fisicoquímicos *ex situ*. Se seleccionaron aleatoriamente 130 clones de cada una de las bibliotecas y se secuenciaron en un laboratorio externo. Posteriormente, se verificó de la calidad de las secuencias obtenidas, y se analizaron utilizando la herramienta de clasificación del RDP II (Ribosomal Database Project (RDP)-Maidak *et al.*, 2001).

## 3. RESULTADOS OBTENIDOS

Las principales características fisicoquímicas de los manantiales evaluados se encuentran en la tabla 1. El manantial Salado de Consotá presentó un concentración de cloruros de alrededor de 14.000 mg/l, pH cercanamente neutro, oscilando entre 6,7 y 7,4, alto contenido de calcio, cloruros y sulfatos, mientras que el manantial La Cristalina (Arabia) tiene un pH alcalino cercano a 8,5, un menor contenido de calcio, pero también valores altos de ión sulfato y cloruros (10.000 mg/l). El manantial salino Salpa, cuya composición química se caracteriza por la alta concentración de sulfato, es usado actualmente para la producción comercial de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (> 50.000 mg/l) y de cloruros de 5400 mg/l.

El análisis de las secuencias de los clones evaluados de cada manantial salino muestra que la diversidad microbiana a nivel de filum es similar en los tres manantiales, predominando clones cercanos al filum

proteobacteria y, específicamente, cercanos a las clases alfa y gamma proteobacteria. Sin embargo, si el análisis de la diversidad se hace a nivel de género, se encuentran marcadas diferencias entre estos tres ambientes salinos, probablemente relacionadas con las características fisicoquímicas de cada ambiente. En Salpa predominan los géneros *Lysobacter*, *Terasakiella*, *Acinetobacter*, *Thiomicrospira*, *Marinomonas* y el filum cianobacteria en menor proporción, que han sido reportados en un amplio espectro de ambientes salinos y de aguas dulces. La composición de organismos fototróficos en Salpa está relacionada con cianobacterias y bacterias verdes y púrpuras del azufre y bacterias verdes no azufradas. Además, cabe destacar que al género *Thiomicrospira* pertenecen organismos con metabolismo energético relacionados directamente con el azufre. La presencia de estos organismos puede ser explicada por las altas concentraciones de sulfato que se encuentra en este hábitat.

Los manantiales salinos de Risaralda presentan en común una diversidad microbiana asociada a ambientes marinos, a diferencia de lo observado en Salpa. En la genoteca del Salado de Consotá se observó una alta presencia de clones relacionados con la especie *Marinomonas pontica*, aislada del Mar Negro. El género *Marinomonas* está ampliamente disperso en aguas costeras, y algunas cepas de *Marinomonas* son particularmente pigmentadas, debido a la melanina y a metabolitos producidos que pueden ser de gran valor biotecnológico. En el Salado de Consotá predominaron también clones pertenecientes a los géneros *Terasakiella*, *Pseudomonas*, *Vibrio* y *Sulfurimonas*.

En el Salado La Cristalina predominaron géneros no reportados en el Salado de Consotá, pese a su cercanía geográfica. Los géneros predominantes fueron *Marinobacter*, típicos de ambientes marinos, y además asociados a la degradación de hidrocarburos. El género *Oceanicaulis* también se encontró abundantemente, *Marichromatium* y *Desulfotignum*, *Hoeflea*, y *Thiomicrospira*, todos estos reportados en aguas oceánicas.

La diversidad de nuevas especies de microorganismos, cuyos procesos energéticos podrían estar asociados con la oxidación de compuestos reducidos de azufre, se ve reflejada en la presencia de clones del filum *Proteobacteria* (*Gamma* y *Epsilon*), distantemente relacionadas con organismos de los géneros *Thiomicrospira* y *Sulfurimonas*, de Salpa y Salado de Consotá, respectivamente. Reportes previos han señalado que estos géneros están típicamente distribuidos en ambientes en los que el metabolismo relacionado con el azufre es un proceso primario de energía. Otra característica interesante es la presencia de clones de la clase delta-proteobacteria, sin filiación con organismos

**Tabla 1.** Principales características de la composición iónica de los manantiales Salado de Consotá (SC), Salado La Cristalina (LC) y Salpa (SP).

Características	Unidades	SC	LC	SP
pH		6.89	8.6	6.5
Temperatura	°C	21	21	21
Acidez	mg CaCO <sub>3</sub> /l	Nd	Nd	Nd
Alcalinidad	mg CaCO <sub>3</sub> /l	44.4	54.5	Nd
Cloruros	mg Cl/l	14700	10915	5455
Conductividad	µS/cm	29300	32400	46000
Fosforo total	mg P-PO <sub>4</sub> /l	Nd	0.12	Nd
Hierro	mg/l	0.52	0.06	0.2
Calcio	mg/l	3200	952	175
Sodio	mg/l	6750	5600	36000
Magnesio	mg/l	23.3	0.78	22.5
Nitratos	mg N-NO <sub>3</sub> /l	9.7	1.44	Nd
Nitritos	mg N-NO <sub>2</sub> /l	1.2	Nd	Nd
Cobre	mg/l	9.7	Nd	Nd
Sulfato	mg SO <sub>4</sub> /l	955	1259	53000
Potasio	mg/l	40.8	46.7	1637
Manganeso	mg/l	1.2	0.91	1.7

cultivados. Estos resultados indican que aún queda mucho por conocer sobre la microbiología de organismos reductores de sulfato y/o azufre en estos hábitat.

#### 4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que estos hábitat son altamente diversos y que aún queda mucho por conocer sobre su diversidad; sin embargo, es evidente que la composición microbiana es dominada por organismos de la clase alfa y gamma proteobacteria. Estos resultados son similares a los reportados en diferentes ambientes salinos, incluyendo lagos, estuarios, y lagunas de salinización (Benlloch *et al.*, 2002) y estudios del océano ártico, indicando que una parte de las especies bacterianas reportadas en estos hábitat son cosmopolitas, con una alta adaptabilidad a diversos ambientes salinos.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen al Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología (Colciencias) y al International Foundation for Science (IFS). Especiales agradecimientos al doctor Michael Tistl.

#### 6. REFERENCIAS

- Acevedo, A. y S. Martínez. (2004). La sal y las mercancías en las provincias Quimbaya. En: López, C. y Cano, M. (ed.) Cambios ambientales en perspectiva histórica. Ecorregión del Eje Cafetero. Universidad Tecnológica de Pereira, Programa Ambiental GTZ. Pereira, Colombia. pp. 167-187.
- Alfaro, C.; Aguirre, A.; Jaramillo, L. F. (2002). Inventario de fuentes termales en el Parque Nacional Natural de Los Nevados. Ministerio de Minas y Energía. INGEOMINAS. Bogotá. 101 p.
- Benlloch, S.; López-López, A.; Casamayor, E. O.; Øvreås, L.; Goddard, V.; Daae, F. L.; *et al.* (2002) Prokaryotic genetic diversity throughout the salinity gradient of a coastal solar saltern. *Environ Microbiol* 4: 349-360.
- Cardona, J.J. y Cortes. L. (2006). Cartografía geológica detallada para el Salado de Consotá y sus alrededores. En: López, C.; Cano, M.; Rodríguez, D. M. (ed) Cambios ambientales en perspectiva histórica. Ecología histórica y cultura ambiental. Volumen 2. UTP. Pereira, Colombia. 93-109 p.
- Maturrano L.; Santos F.; Rosselló-Mora R., & Antón J. (2006). Microbial diversity in maras salterns, a hypersaline environment in the peruvian Andes. *Appl Environ Microbiol* 72 (6), 3887-3895.
- Maidak, B. L.; Cole, J. R.; Lilburn, T. G.; Parker, C. T., Jr; Saxman, P. R.; Farris, R. J.; Garrity, G. M.; Olsen, G. J.; Schmidt, T. M. & Tiedje, J. M. (2001). The RDP-II (Ribosomal Database Project). *Nucleic acids res* 29, 173-174.
- Posada, Y.; Pachon, L.; Agudelo, A.; Álvarez, E.; Díaz, C.; Fardeau, M.L.; Joulian C.; Ollivier, B., & Baena, S. (2004). Cuantificación, aislamiento e identificación de comunidades anaerobias amilolíticas de un yacimiento termal de Paipa, Boyacá. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 6: 90-100.
- Schauer, M.; Massana, R., & Pedrós-Alió, C. (2000). Spatial differences in bacterioplankton composition along the Catalan coast (NW Mediterranean) assessed by molecular fingerprinting. *FEMS. Microbiol. Ecol.* 33:51-59.
- Tistl, M. (2004). Sal, cobre y oro en el Consotá. En: López, C. y Cano, M. (ed.) Cambios ambientales en perspectiva histórica. Ecorregión del Eje Cafetero. Universidad Tecnológica de Pereira, Programa Ambiental GTZ. Pereira, Colombia. pp. 41-53.