

La sulfuraria de Baños de Montemayor (Cáceres): características morfológicas y funcionales de la comunidad microbiana constituyente

Francisco TORRELLA MATEU

Prof. Titular. Departamento de Genética y Microbiología.
Facultad de Biología - Universidad de Murcia
torrella@um.es

RESUMEN

El balneario de Baños de Montemayor (Cáceres, España) utiliza en hidroterapia el agua termal del manantial Arqueta (40-42°C), de mineralización débil (260-290 mg/L de residuo seco a 110°C), bicarbonatada y sulfurada (7-10 mg/L). Hasta la década de los noventa del siglo XX, durante el periodo anual de cierre al público, el agua del manantial inundaba en continuo el suelo de una habitación subterránea oscura, lo que después de varios meses daba lugar a un grueso biofilm microbiano («baregina de Montemayor») con abundancia de bacterias oxidadoras de azufre y una bioglea microbiana de hasta 5 cm de espesor en algunos puntos. En este trabajo se describe y modeliza la estructura macro y microscópica de la «baregina» y el ecosistema microbiano —un tipo de sulfuretum—, tanto por lo que respecta a la diversidad morfológica de los microorganismos y sus comunidades, como a la relación trófica entre sus componentes. El trabajo se basa en medidas y muestras tomadas en 1987, antes de que fuera abandonada la práctica de la producción de baregina. La microscopía pone de relieve una notable diversidad morfológica bacteriana, destacando las masas blancas de *Beggiatoa*, así como predadores eucarióticos bacteriovóricos, especialmente amebas y el ciliado *Cyclidium cf glaucoma*.

Palabras clave: Sulfuraria; sulfuretum; baregina; microbiología de balnearios; diversidad microbiana; microscopía de comunidades bacterianas, *Beggiatoa*.

The Baños of Montemayor (Cáceres): morphological and functional characteristics of the constituting microbial community

SUMMARY

The Baños de Montemayor spa (Cáceres, Spain) employs in hydrotherapeutic treatments the «Arqueta» source thermal water (40-42°C), which has low dissolved solids (260-290 mg/L at 110°C), is bicarbonated and contains sulphides (7-10 mg/L). Up to the nineties of the XX century, during the part of the year that the spa was closed to the public, the «Arqueta» water was allowed to flood the floor of a dark room at the basement of the spa. After a few months, a thick (up to 5 cm in some points) microbial biofilm (the «baregine of Montemayor») with abundant sulphur oxidating bacteria and a gelatinous microbial mass (bioglea) had developed. This work deals with the macroscopic and microscopic description of the structure of the «baregine» and the associated microbial ecosystem which is a type of sulfuretum. The morphological diversity of the microorganisms and their communities has

been studied with optical microscopy, and the system's trophic structure has been schematized in a model. The work is based on the samplings done in 1987, before the annual production of baregine was abandoned. The microscopy shows an outstanding diversity of bacterial morphologies, including the white masses of *Beggiatoa* and a variety of bacterivorous eukaryotes particularly amoebae and the ciliate *Cyclidium* cf. *glaucoma*.

Key words: Sulfuretum; sulfur-turf; microbial mats; spa microbiology; microbial diversity; microscopy of microbial communities, *Beggiatoa*.

INTRODUCCIÓN

La investigación sobre la microbiología de las aguas de manantial utilizadas en los balnearios para tratamientos hidroterapéuticos —aguas que entran en la categoría de minero-medicinales—, habitualmente atiende a aspectos relativos al control de la calidad higiénico-sanitaria del agua. Las normativas al respecto contemplan los parámetros microbiológicos habituales en el control de la calidad de las aguas de baño y de consumo: indicadores de contaminación fecal y patógenos de este origen, así como las bacterias del género *Legionella*. Ver resumen de la situación general en Oliver-Rodés¹ y el Real Decreto² por lo que respecta al control del riesgo por legionelas y Zafra³ respecto de los microorganismos en la normativa de agua de consumo. Asimismo Maraver⁴ publicó un resumen de normativa en este campo en el que se especifica la normativa general y la de las Comunidades Autónomas de España.

No obstante, y como es bien sabido, aunque las aguas de manantial no estén contaminadas por gérmenes de riesgo para la salud humana, no son estériles y contienen muchos otros microorganismos que, o bien son propios de los acuíferos o van a parar a los mismos por infiltración desde superficie. Goldscheider et al.⁵ han publicado una reciente revisión con mucha bibliografía sobre el tema. En España, la diversidad de las bacterias no patógenas de las aguas mineromedicinales, especialmente las de rápido crecimiento en los medios de cultivo habituales, ha sido estudiada de forma sistemática por M.C. de la Rosa y M.A. Mosso y colaboradores⁶⁻⁷⁻⁸⁻⁹⁻¹⁰⁻¹¹⁻¹²⁻¹³⁻¹⁴⁻¹⁵ así como otros autores¹⁶⁻¹⁷. Además de los microorganismos de crecimiento fácil, en alguna ocasión y en aguas de manantial, se ha descrito la presencia de otros grupos tales como bacterias del azufre¹⁸.

Entre las bacterias heterótrofas de rápido desarrollo se encuentran estirpes del grupo de los *Pseudomonas* y géneros afines en los que ha sido dividido este taxon clásico (*Comamonas*, *Stenotrophomonas*, etc), flavobacterias, *Acinetobacter* y otros géneros de gramnegativos, así como micrococcos, bacilos endosporulados, algunos actinomicetos y géneros típicos de bacterias del suelo

como *Arthrobacter*, entre los grampositivos³⁻¹³⁻¹⁹⁻²⁰. Pero las aguas de manantial pueden contener muchos más microorganismos que no son capaces de desarrollarse en los medios de cultivo recomendados por las normativas de análisis de agua. Son bacterias nombradas con frecuencia como «no cultivables», aunque en realidad deberían ser denominadas «todavía no cultivadas». Ver referencias⁵⁻²⁰⁻²¹ y bibliografía allí indicada.

Las aguas de los diferentes manantiales contienen microbiotas características que les son propias. Sin embargo, el hecho de que gran parte de las bacterias propias del agua en cuestión no pueda ser cultivada de forma fácil, dificulta la utilización de algunos microorganismos que quizás tendrían interesantes propiedades «bioindicadoras» de determinados tipos de agua. Sin duda la búsqueda de bioindicadores de las características de un agua mineral o minero-medicinal, más allá de los indicadores de contaminación que se usan en los controles higiénico-sanitarios es un tema abierto a la investigación futura⁵⁻²².

Las aguas que contienen sulfuros u otros compuestos químicos reducidos como el hierro ferroso que pueden ser usados como fuentes de energía por algunos microorganismos procarióticos, determinan el crecimiento de formas microbianas conspicuas que son verdaderos indicadores del tipo de agua en el que se desarrollan. En el presente artículo se muestra iconografía de bacterias de uno de estos grupos en el caso específico del balneario de Baños de Montemayor. Otros tipos de fuentes de energía comunes en aguas de superficie, tales como los compuestos orgánicos reducidos, son escasas en las aguas minerales, a menos que el acuífero esté contaminado por infiltraciones de materia orgánica desde la superficie. Las aguas subterráneas no contaminadas presentan habitualmente concentraciones de carbono orgánico biodegradable de 0,5 a 2,0 mg/L⁵⁻²²⁻²³. Todo lo anterior, determina que, en general y en los puntos de emergencia de aguas subterráneas, si éstos no están iluminados, los biofilms y otros crecimientos microbianos no son visibles macroscópicamente. No obstante, en las aguas sulfuradas, la presencia de compuestos de azufre reducido determina que, incluso en la oscuridad y en base a su oxidación microbiana, se desarrollen masas macroscópicas de bacterias oxidadoras del azufre. Estos microorganismos constituyen la base de una compleja pirámide trófica microbiana. Los crecimientos macroscópicos microbianos en los manantiales, con bacterias oxidadoras del azufre, entre otras, forman un material mezcla de mucílago y biomasa microbiana llamado *baregina* («de la estación termal de Barèges en los Pirineos franceses») o *sulfuraria*, y constituyen comunidades microbianas con gran biodiversidad: los «*sulfureta*». En terminología inglesa se emplea la denominación «*sulfur turfs*» cuando estos crecimientos se dan en manantiales de aguas corrientes sulfuradas. En la actualidad, el estudio de estas comunidades microbianas presenta un gran interés tanto por las descripciones de biodiversidad microbiana²⁴⁻²⁵⁻²⁶ las hipótesis sobre el origen de la vida y el campo de la astrobiología²⁵⁻²⁷.

Durante una visita al balneario de Baños de Montemayor (Cáceres) realizada en primavera de 1987 junto con el Dr. F. Maraver, el autor tuvo la oportunidad de tomar algunas muestras y realizar una limitada caracterización de la

«baregina de Montemayor», una gruesa capa de material mucilaginoso que se formaba en el suelo de la habitación Rebosadero, como consecuencia de que el agua termal sulfurada del manantial Arqueta inundaba el suelo y promovía el crecimiento de la misma. La baregina era utilizada como ingrediente en un jabón especial que se vendía en el balneario durante la apertura al público del establecimiento. En el presente artículo se reúnen los resultados de las medidas tomadas y las observaciones realizadas, especialmente por lo que respecta a la iconografía de las comunidades microbianas, así como la modelización del funcionamiento del sistema. Con independencia de la información científica del presente artículo, la información que se aporta en el mismo constituye un testimonio de una vieja práctica: la de «facilitar el desarrollo y cosechar la baregina de Baños de Montemayor». El cultivo y aprovechamiento de baregina en Montemayor desapareció años después del muestreo de 1987 debido a los cambios efectuados en las conducciones y uso del agua del manantial Arqueta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Origen de las muestras: La baregina objeto del presente estudio fue recogida en la primavera del año 1987 durante el periodo en que el establecimiento estaba cerrado al público, del suelo de una habitación oscura llamada Rebosadero, inundada por el agua sulfurada termal del manantial Arqueta del balneario de Baños de Montemayor (Cáceres, España). Se tomaron muestras de baregina por duplicado de distintos puntos y profundidades con la ayuda de una espátula y tubos de Pirex de boca ancha de 20 ml estériles. Uno de los duplicados fue fijado in situ con solución de formaldehído al 35% neutralizada con CO_3Mg , a una concentración final de fijador del 5 % y se guardó en nevera. Los tubos con los duplicados del material fresco no fijado se guardaron refrigerados en nevera portátil y se examinaron con el microscopio en el plazo de 24 a 48 horas después de la recogida de muestras.

Parámetros fisicoquímicos del agua: En el momento del muestreo se tomaron medidas de temperatura, conductividad, pH, Eh y oxígeno disuelto en los distintos puntos de muestreo, mediante instrumentos Hanna Inst. (Padova, Italia) provistos de los correspondientes electrodos, sonda de oxígeno y de temperatura. La débil intensidad lumínica de luz diurna que penetraba a través de una pequeña ventana de respiración de la habitación, se midió en distintos puntos mediante un medidor OIP (Gent, Bélgica). La concentración de algunas especies químicas de la Tabla 1, se obtuvo de la bibliografía indicada en la misma tabla.

Microscopía: Las muestras fueron estudiadas mediante microscopía óptica de campo claro, campo oscuro y contraste de fases, con un microscopio Olympus BH2 provisto de microfotografía.

RESULTADOS Y DISCUSION

Características físico-químicas y macroscópicas del sulfuretum («sulfuraria») de Baños de Montemayor

La Tabla 1 muestra los valores de los parámetros físico-químicos medidos in situ durante el muestreo o de la bibliografía disponible en 1987. Los valores de temperatura pH y Eh se midieron en tres puntos, A, B y C de un transecto trazado entre el punto de entrada del agua del manantial Arqueta (A), a la salida en el extremo opuesto de la habitación Rebosadero (C). Para valores de parámetros físico-químicos más recientes y completos puede consultarse (10). Los valores de temperatura muestran una disminución de la misma de 3°C entre el punto A (40,1 °C) y C (37,3°C). Los valores de pH, iguales o superiores a 8,0 son propios de aguas bicarbonatadas y muestran un incremento hasta pH 8,3 (punto C), ya sea debido al ajuste del equilibrio de los carbonatos con la presión parcial de CO₂ de la atmósfera, ya sea por el consumo de CO₂ por las poblaciones de bacterias autotrofas de la baregina que fijan el carbono disuelto y desplazan el equilibrio de los carbonatos hacia valores más básicos. Los valores negativos del potencial redox, -370 mv en A y -305 mv en C, debidos a la presencia de sulfuros disueltos en el agua, muestran indirectamente una disminución del contenido de sulfuros del agua a lo largo del transecto. Esta disminución es debida tanto a la oxidación biológica de los sulfuros por bacterias (ver más adelante), como a la oxidación química abiótica que tiene lugar en la capa superficial del agua en la interfase de contacto agua-atmósfera. Por lo que respecta a la energía lumínica de luz de día que podía entrar en el recinto por la ventana de respiración, su intensidad era despreciable ya que sólo acercando el sensor al punto más iluminado, cercano a la ventana, se pudo medir décimas de milivatio. El recinto permanecía pues sin luz y por este motivo no se detectaron bacterias fotosintéticas en la masa de baregina de Montemayor, algo por otra parte muy común en otros sulfureta expuestos al ciclo natural día-noche.

La Fig. 1 muestra un perfil de la habitación Rebosadero con la situación del transecto A-B-C en el que se tomaron medidas de parámetros físico-químicos, así como un esquema de un corte vertical de la baregina, formada por una masa de bioglea microbiana («microorganismos incluidos en mucílago producido por ellos mismos»), cubierta por una capa de bacterias oxidadoras de sulfuros y bañada por el agua termal sulfurada. En la misma Fig.1 se indica asimismo la disposición de las distintas comunidades microbianas, algunos de cuyos componentes se muestran más adelante en la micrografías del presente artículo; también quedan reflejados detalles de interés para la interpretación de la vida microbiana en el sistema, tales como las especies de carbono inorgánico del agua y su equilibrio con la atmósfera, o la existencia de una zona en superficie microaerofílica en la que contactan el oxígeno de la atmósfera y el agua sulfurada circulante. En los microhábitats con bajas concentraciones de O₂, se desarrollan microorganismos aerobios adaptados a bajas tensiones parciales de oxígeno disuelto como son las bacterias del género *Beggiatoa*.

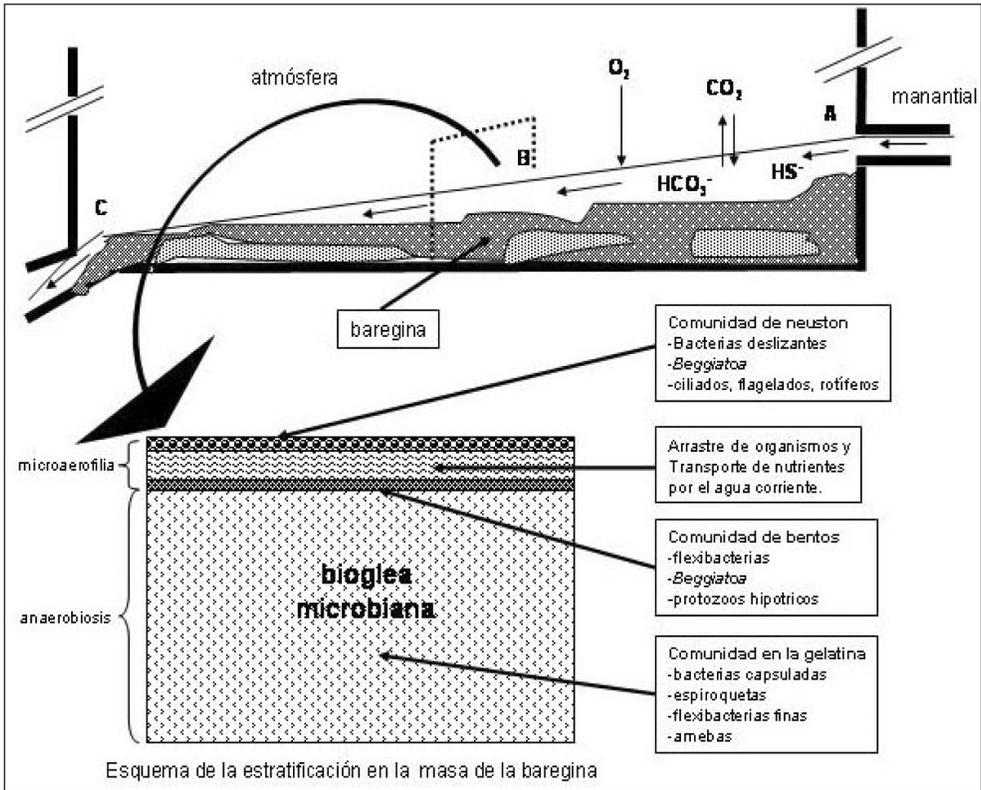
Tabla 1. Valores de parámetros físico-químicos de las aguas del manantial Arqueta y de los puntos del transecto en la habitación Rebosadero (ver Fig. 1) medidos durante el muestreo de primavera de 1987 o tomados de las referencias²⁸⁻²⁹. Para datos más completos y recientes, ver³⁰.

Valores en el transecto manantial-rebosadero (Ver Fig.1)			
Parámetro	Punto A	Punto B	Punto C
Temperatura (°C)	40,1	37,3	37,3
pH (+/- 0,1)	8,08	8,36	8,24
Eh (mv)	370	-312	-305
Otros parámetros físicoquímicos			
Sulfuro de hidrógeno	7,21 mg/L ⁽¹⁾	Oxígeno	0-1 mg/L (*)
Sulfatos	33,2 mg/L ⁽¹⁾	Nitrato	0,33 mg/L ⁽¹⁾
Fosfatos	27,0 mg/L ⁽²⁾	Hierro	0,106 mg/L ⁽³⁾
Luz	0 a 0,1 mW	La escasa luz diurna que penetraba por el«respiradero» de la habitación, sólo iluminaba una pequeña zona.	

(*) = Trazas de oxígeno detectadas sólo en el agua de superficie.

En el agua del manantial Arqueta, la concentración de algunos nutrientes necesarios para el desarrollo microbiano es escasa, particularmente por lo que respecta a las fuentes de nitrógeno combinado. Los valores de la Tabla 1 y los de la bibliografía López²⁸ indican un contenido en nitratos de entre < 1 mg/L y 2,3 mg/L. La escasez de nitrógeno combinado disuelto, la microaerofilia de la superficie del sistema y la anoxia en la masa de bioglea microbiana, así como la misma presencia de grandes cantidades de mucílago que dificulta sobremanera de difusión del O₂, apunta a la posibilidad de que en el ecosistema microbiano objeto del estudio de 1987, podían jugar un importante papel las bacterias fijadoras de N₂. Por desgracia, cuando se tomaron las muestras, no se realizó ningún análisis de presencia de nitrogenasa o prueba equivalente. Por otra parte, y por lo que respecta al escaso contenido en nitratos, en un medio eminentemente anóxico como es el que ocupó este estudio, el anión nitrato no sólo puede ser considerado una posible fuente de nitrógeno para la nutrición celular bacteriana, sino un aceptor de electrones en procesos metabólicos de desnitrificación. Esto último determina la rápida desaparición del nitrato del medio en forma de N₂ que pasa a la atmósfera, lo que hace todavía más plausible la posible presencia de microorganismos fijadores de N₂ en la bioglea microbiana de la baregina de Montemayor.

Fig.1 Esquema de la situación y estructura de la baregina en la habitación Rebosadero del balneario de Baños de Montemayor inundada por el agua del manantial Arqueta, con indicación de la posición de las comunidades bacterianas que la formaban tal como se observó en 1987.

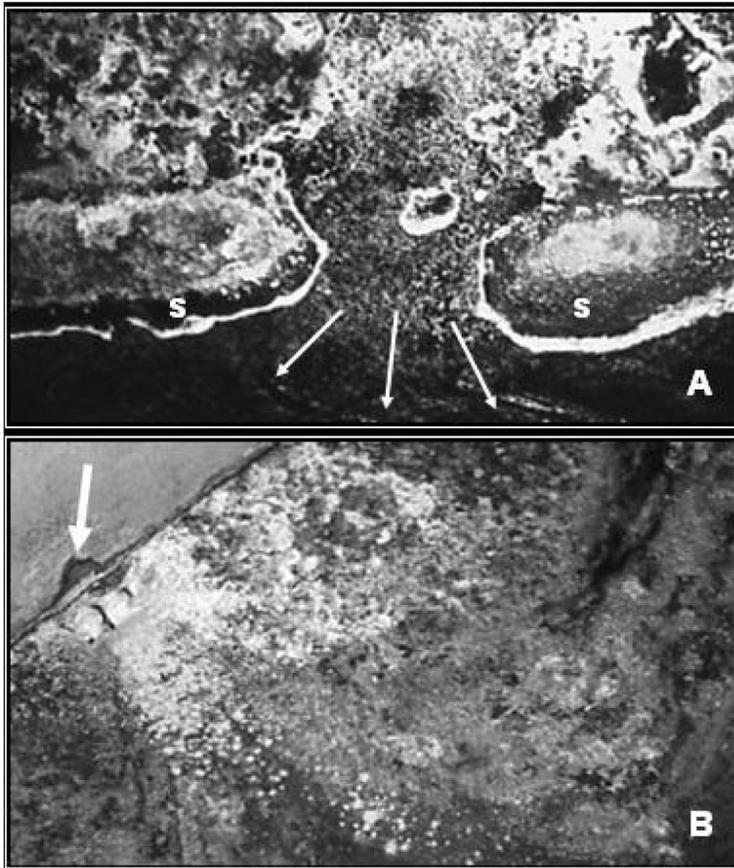


Por lo que respecta a la fuente de fósforo en forma de fosfatos, los antiguos análisis de Lletget y Moreno referenciados en Armijo²⁸, indican un relativamente alto contenido de este nutriente microbiano en las aguas (27 mg/L). Aunque en 1987 no se disponía de otros datos referentes a este anión, ni en la actualidad el autor ha encontrado datos más recientes, la misma existencia de los abundantes crecimientos microbianos observados cuando se muestreó la baregina de Montemayor, son prueba de que había suficiente fósforo en las aguas.

La Fig. 2 muestra dos fotografías del suelo de la habitación Rebosadero: de una zona central de la misma (A) y del orificio del desagüe (B). Las zonas blancas de las fotografías corresponden a acúmulos de azufre elemental (S^0), ya sea en forma de inclusiones dentro de células bacterianas, ya sea libres en el medio (ver detalles en otras figuras). En Fig.2-A se observan dos acúmulos de sedimentos («s») de entre los muchos que había en el suelo de la habitación, los cua-

les embalsaban parcialmente el agua y enlentecían su curso. El agua sulfurada circulaba por canales («flechas») entre los sedimentos. La salida del agua por el orificio que muestra la Fig.2-B determinaba que el ecosistema microbiano funcionara como un sistema abierto, en continuo. Las zonas grisáceas de la Fig.2-B son masas de baregina más o menos cubiertas de azufre elemental (color blanco en la imagen).

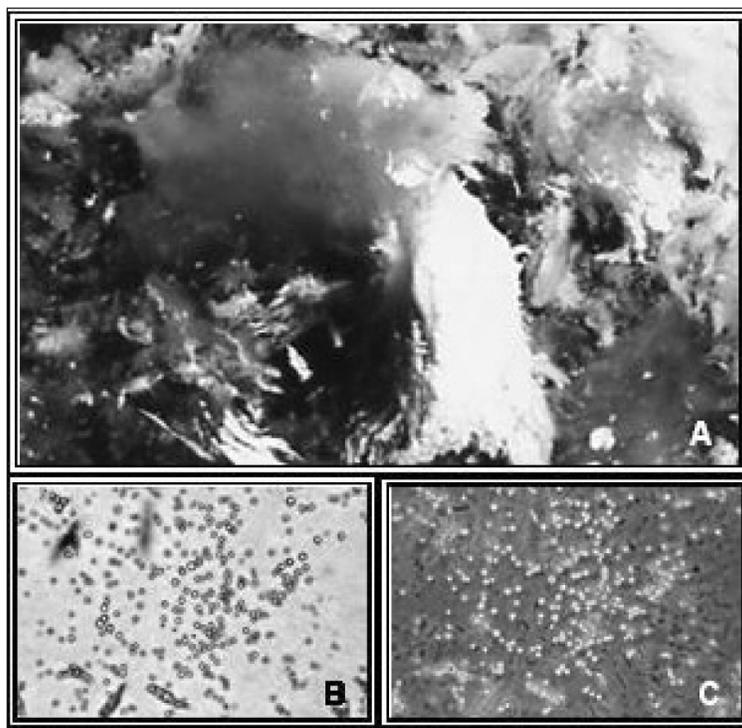
Fig. 2. Fotografías del suelo de la habitación Rebosadero cuando fueron tomadas las muestras en 1987, con abundante crecimiento de baregina. En A, zona central; en B, zona de desagüe. (Ver más información en texto).



La Fig. 3-A muestra una macrofotografía de un fragmento de la baregina arrancado para poder observar el aspecto de la superficie del material y la «gelatina» subyacente. El color blanco es debido a las acumulaciones de azufre elemental en la zona superficial opaca. La zona interna de la bioglea microbiana era

transparente, de consistencia mucilaginosa firme y coloración débilmente parda, característica ésta que no puede ser distinguida en la imagen en blanco y negro. Las microfotografías B y C de la Fig.3 muestran imágenes en campo claro (B) y contraste de fase (C) de «gotículas esféricas» de azufre elemental en fase amorfa y algunos cristales irregulares de azufre rómbico, en ambos casos, de origen muy probablemente abiótico, fruto de la oxidación espontánea del H_2S al entrar en contacto con el O_2 atmosférico en la capa superficial de la baregina.

Fig. 3. Detalle de un fragmento de baregina arrancado del sustrato (A), e imágenes de azufre elemental obtenidas con el objetivo de 100x de inmersión en aceite, en campo claro (B) y contraste de fase (C). (Aumentos finales aprox. 600x)

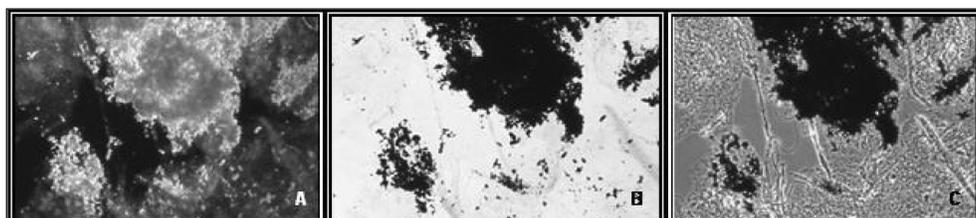


Debido a que las macrofotografías de las Figs. 2 y 3-A no muestran los colores del material original, no se puede distinguir el color negro de algunas zonas, particularmente en los sedimentos y la capa de la baregina que tocaba el suelo de la habitación. Este color negro es la prueba indirecta de que en el sistema también proliferaban las bacterias reductoras de sulfato que en base a la materia orgánica producida por otros microorganismos, reducían los sulfatos a sulfuros que precipitaban en forma de FeS negro.

Características de los microorganismos de la baregina de Baños de Montemayor

En la Fig. 4 se muestran tres imágenes del mismo campo microscópico de la baregina, a bajo aumento y con tres técnicas de microscopía diferentes. Bajo campo oscuro (A) se observan tanto los acúmulos de azufre como las masas de bioglea microbiana débilmente refringentes; con el campo claro (B), las masas opacas de azufre elemental son lo único claramente diferenciable; en la imagen de contraste de fase (C), se observan tanto las masas de azufre como los abundantes microorganismos de la bioglea, que a este bajo aumento se ven como material particulado grisáceo.

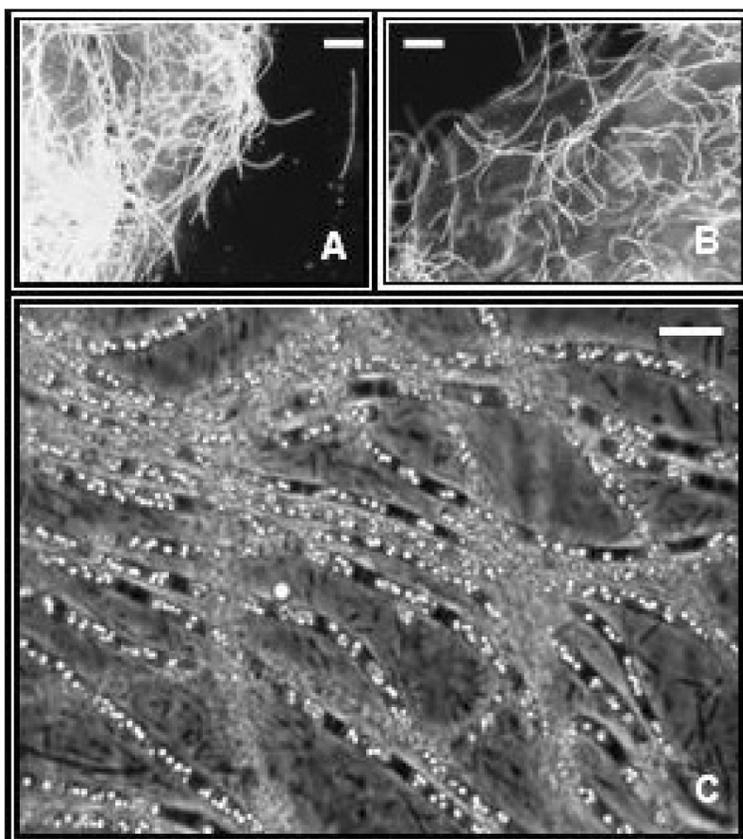
Fig. 4. Microfotografías a bajo aumento (Obj. de 10x) del aspecto microscópico de un pequeño fragmento de baregina, bajo campo oscuro (A), campo claro (B) y contraste de fase (C). (Aumentos finales aprox. 60x)



Uno de los tipos microbianos más abundantes de los sulfureta, especialmente en las interfases en las que entran en contacto el H_2S y los sulfuros con el gas O_2 atmosférico, son las bacterias oxidadoras de azufre reducidos deslizantes del género *Beggiatoa*. La Fig. 5 muestra varias microfotografías de este tipo de ambiente microaerófilico en muestras de baregina de Montemayor. En este caso, el grosor de los filamentos de *Beggiatoa*, fácilmente diferenciables por las inclusiones de azufre elemental de sus células, coincide con la descripción del taxon *Beggiatoa alba* (Fig.5-C). El microhábitat bentónico, sobre el sustrato mucilaginoso de la baregina, favorece la colonización del lugar por las «beggiatoas» pues son microorganismos que se desplazan por movimiento deslizante. Por debajo de la capa de *Beggiatoa*, la imagen de contraste de fase de la Fig.5-C revela numerosas bacterias incluidas en el mucílago de la bioglea microbiana de la baregina. Las microfotografías A y B de la Fig. 5 muestran imágenes en campo oscuro a bajos aumentos (obj. 10x) de la zona del mucílago de la baregina colonizada por *Beggiatoa*. En A, los filamentos de *Beggiatoa* están en la misma superficie del mucílago, mientras que en B, muchos filamentos penetran el sustrato mucilaginoso. Los filamentos de estas bacterias se diferencian claramente sobre el fondo oscuro debido a la elevada refringencia de las inclusiones de azufre de sus células, fruto de la oxidación de los sulfuros y acumulación de azufre

elemental. *B. alba* no sólo es capaz de utilizar los sulfuros como fuente de energía («metabolismo quimiolitotrofo»), sino que puede fijar CO_2 («metabolismo autótrofo»), con lo que su papel era muy importante en la producción primaria del ecosistema microbiano que constituía la baregina de Montemayor muestreada en 1987.

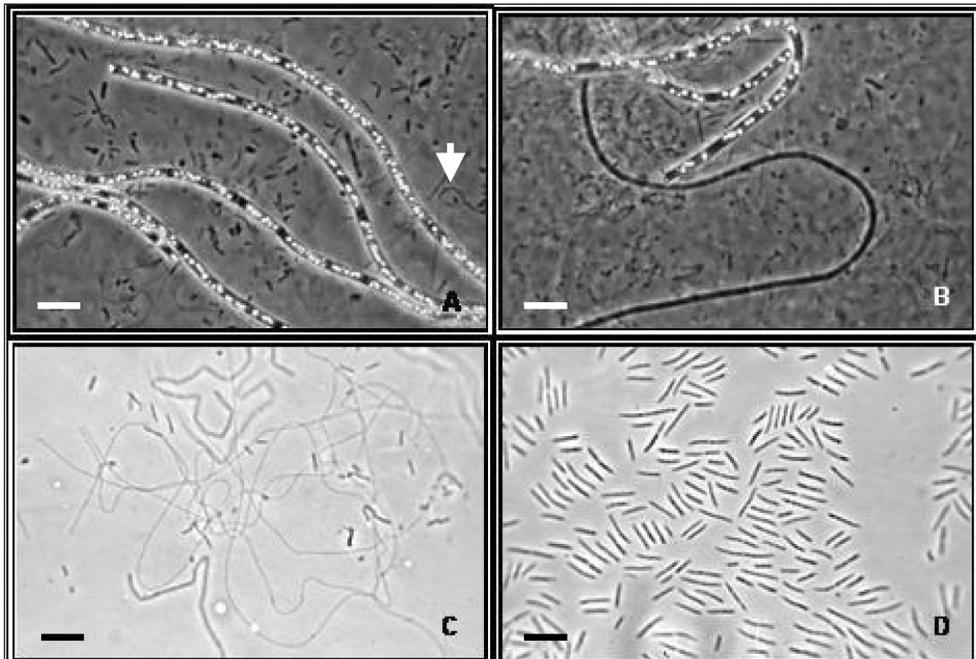
Fig. 5. Los microorganismos característicos de la capa opaca superficial blanca de la baregina: bacterias deslizantes oxidadoras de sulfuros del género *Beggiatoa*. En A y B, campo oscuro a bajos aumentos (Obj. 10x, barras 10 μm); en C, contraste de fase (Obj. 100x inmersión, barra 5 μm).



La diversidad morfológica microbiana de la baregina de Montemayor queda patente en las micrografías de la Fig.6, en donde en A y B se muestran zonas de la bioglea microbiana penetradas por «beggiatoas» deslizantes, así como otra gran bacteria filamentosa que no acumula inclusiones de azufre elemental. Asimismo, e incluidas en la masa de mucílago, se observa gran cantidad de bacterias, algunas de ellas responsables de la síntesis de los polisacáridos de la pro-

pia bioglea. La mayoría de los microorganismos incluidos en el mucílago eran inmóviles cuando se observaron las muestras en fresco, pero en el caso de las espiroquetas, su peculiar movimiento y forma helicoidal les permitía penetrar el mucílago. A la derecha de la Fig.6-A se observa parte de una fina espiroqueta probablemente del género *Leptospira*. En la Fig.6 C y D se presentan imágenes en contraste de fase de otras formas de procariotas de las comunidades microbianas de la lámina superficial del agua en zonas remansadas. En C se observan procariotas filamentosos muy delgados, de adscripción taxonómica desconocida, cuyo grosor está en el límite de la resolución de la microscopía óptica, colonizadores de la fina película superficial del neuston de las aguas. En D se muestra un cultivo puro de una bacteria fusiforme deslizante, probablemente un *Flexibacter*, aislado del mismo micronicho superficial.

Fig.6. Diversidad de morfologías de microorganismos procarióticos observados en la baregina de Baños de Montemayor. En A, B y C se muestran comunidades naturales; en D, un cultivo puro (ver más detalles en texto). (Contraste de fase, obj. 100x de inmersión. Barras dimensionales = 5 μ m)

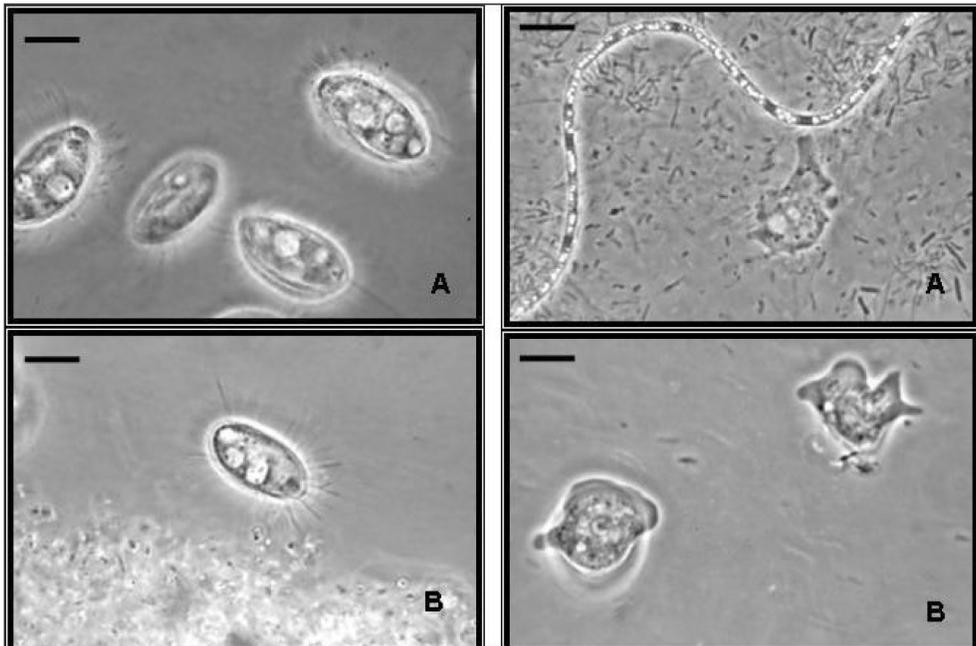


La baregina de Montemayor no sólo contenía formas de vida procariótica, sino también eucariotas del grupo de los protozoos y algunos rotíferos entre los metazoos. Estos últimos no fueron identificados taxonómicamente. Los rotíferos fueron observados en la capa superior del agua, en zonas en las que se supone debía llegar algo del oxígeno atmosférico. Las Fig. 7 y 8 muestran ejemplos de

dos de los tipos de protozoos más comunes en las muestras frescas tomadas en 1987. Todas estas formas de vida eucariótica, tanto protozoos como rotíferos-, se caracterizaban por ser bacteriovóricos, es decir, activos consumidores de la producción de células bacterianas en el ecosistema. La Fig. 7 muestra imágenes en contraste de fase de uno de los protozoos más frecuentes, un ciliado himenostomático («membranelas ciliares en la boca o citostoma») identificado como *Cyclidium cf glaucoma*. En Fig.7-A se observan varios individuos nadando en el agua libre, mientras que en Fig.7-B, se muestra un individuo próximo a la zona de bioglea microbiana de donde obtiene el alimento particulado constituido por bacterias que consume activamente. Las imágenes de contraste de fase permiten visualizar dentro de las células de *Cyclidium*, varias vacuolas digestivas con bacterias ingeridas en proceso de digestión; algunas vacuolas pulsátiles sin partículas internas se diferencian en la parte posterior del soma celular, así como en algún caso el macronúcleo de la célula («partícula gris densa») en la zona apical. Esta especie de protozoo es muy común en aguas con materia orgánica en descomposición y trazas de sulfuro de hidrógeno.

Fig.7. Uno de los protozoos bacteriovóricos más comunes en la baregina era *Cyclidium cf glaucoma*. (Contraste de fase, obj. de inmersión 100x; barra = 10 µm)

Fig.8. Imágenes de amebas, protozoos rizópodos del género *Amoeba* en la superficie y en el interior del mucílago de la baregina. (Contraste de fase, obj. de inmersión 100x; barra = 10 µm)



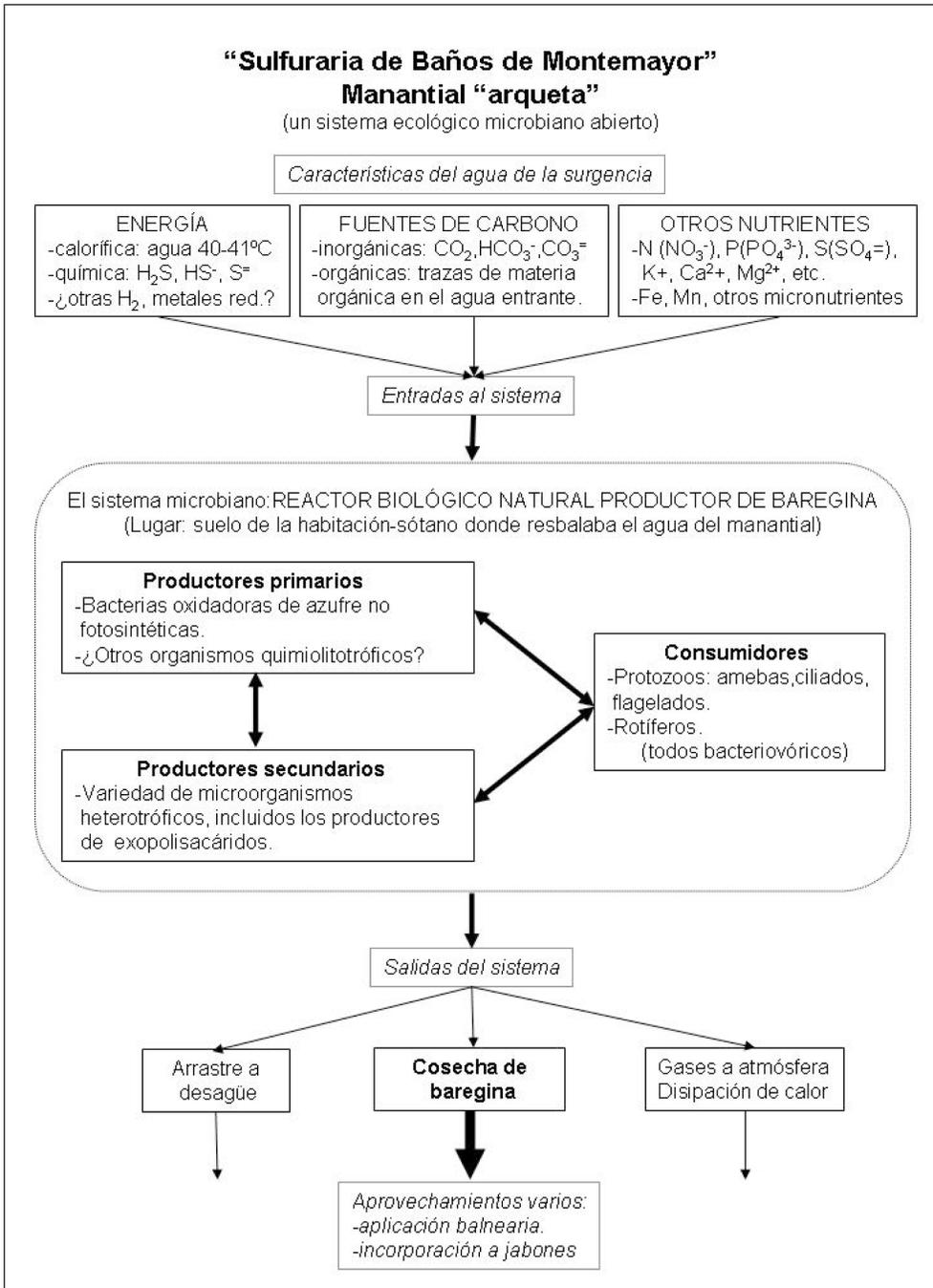
La observación cuidadosa de la masa mucilaginosa de la bioglea microbiana permitió detectar la presencia de otro grupo de protozoos especialmente adaptado para penetrar medios viscosos: las amebas. La Fig. 8 muestra ejemplos de individuos de *Amoeba sp.* En la superficie de la baregina (Fig.8-A) y dentro del mucílago (Fig.8-B). El cuerpo unicelular deformable de estos protozoos emite pseudópodos que son usados tanto para el movimiento dentro de la masa viscosa del mucílago como para la alimentación depredadora de bacterias mediante fagocitosis, como puede verse en la ameba de la imagen A que está fagocitando una partícula. La presencia de H_2S y sulfuros junto con formas de vida eucariótica como las descritas en este apartado, así como con la gran diversidad procariótica presente, pone de manifiesto el especial interés del estudio del metabolismo de los seres vivos que viven en los sulfureta, especialmente en los casos en que la concentración de sulfuros y gas sulfhídrico es baja, ya que recientemente se han descubierto novedosas funciones del tipo «señal metabólica» para el sulfuro de hidrógeno, considerado clásicamente sólo como un gas tóxico por lo que respecta a sus efectos sobre la vida³¹.

Modelo de funcionamiento del ecosistema microbiano del sulfuretum («sulfuraria») de Baños de Montemayor

La Fig. 9 resume de forma integral en un esquema, un modelo de estructura y funcionamiento del ecosistema microbiano que era responsable de la formación de la baregina en la habitación Rebosadero del balneario de Baños de Montemayor. En el modelo se pone de manifiesto la naturaleza abierta de un sistema que funciona en continuo; las entradas al sistema: fuentes de carbono y de energía química que usan los productores primarios microbianos, otros nutrientes, energía exosomática del agua termal, etc. Asimismo, queda reflejado en la Fig.9 la estructura de la cadena trófica —exclusivamente microbiana—, con indicación de los productores primarios, los productores secundarios y los consumidores. Finalmente, se indican también las salidas del sistema.

De acuerdo con los datos físico-químicos y las observaciones realizadas in situ durante el muestreo de 1987, así como el estudio microscópico de las muestras, el sulfuretum («sulfuraria») del Rebosadero del balneario de Baños de Montemayor, demostró ser un ecosistema microbiano sin microorganismos fotosintéticos, dependiente de la producción primaria derivada, como mínimo, de las bacterias oxidadoras de compuestos reducidos de azufre, sin descartar la posible presencia de otros grupos tales como los oxidadores de hidrógeno o de metales de transición reducidos, aspecto este último no estudiado. Sobre esta producción primaria se establece una compleja red trófica con una gran diversidad morfológica de bacterias responsables de la producción secundaria, cuyo crecimiento contribuye a la generación de una espesa bioglea microbiana que da cuerpo a la baregina formada. Dada la escasez de nitrógeno combinado en el agua del manantial Arqueta, así como las condiciones físico-químicas bajo las que se des-

Fig.9. Modelo del funcionamiento y relaciones tróficas del ecosistema microbiano responsable de la producción de la baregina de baños de Montemayor.



arrolla el ecosistema microbiano, se sospecha la presencia de bacterias fijadoras de N_2 , lo que explicaría en parte la abundante baregina formada. No obstante, esta interpretación queda como hipótesis que sólo podría ser comprobada caso de que se volviera a recuperar una práctica, la del cultivo y cosecha de baregina de Montemayor, abandonada en la actualidad. La materia orgánica y biomasa microbiana producida en el sistema, es activamente consumida por diversos tipos de microorganismos eucarióticos bacteriovóricos, en especial, pequeños flagelados, amebas y ciliados adaptados a aguas con bajas concentraciones de sulfuro de hidrógeno. Caso de que el sistema de producción de baregina de Montemayor se hubiera conservado, el hecho tendría en la actualidad un gran interés científico en el campo de la astrobiología dada la actualidad de los estudios de ambientes modelo y ecosistemas microbianos primitivos.

Por lo que respecta a la utilización de la baregina de Montemayor como ingrediente de jabón cosmético y/o medicinal, es evidente que el mismo proceso de fabricación y la naturaleza tensioactiva del producto, habrían determinado la lisis celular de la inmensa mayoría de los microorganismos de la baregina, además de la incorporación al producto final de los polisacáridos mucilaginosos y del azufre elemental. Todo ello hace pensar en que el mencionado jabón sería muy rico en principios activos, orgánicos e inorgánicos, de posible acción cosmética y terapéutica.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Oliver-Rodés B. Control de calidad de las aguas minero-medicinales. En: López-Geta JA, Pinuagua JL, editores. Panorama actual de las aguas minerales y minero-medicinales en España. Madrid: IGME; 2000. 75-86.
- 2 Real Decreto 865/2003 de 4 de Julio sobre Criterios Higiénico-Sanitarios para la Prevención y el Control de la Legionelosis. Ministerio de Sanidad y Consumo. BOE 171: 28055-28069.
- 3 Zafra I. Aspectos legales de las aguas de bebida envasadas. En: López-Geta JA, Pinuagua JL, editores. Panorama actual de las aguas minerales y minero-medicinales en España. Madrid: IGME; 2000. 169-182.
- 4 Maraver F. Marco legal. En: Maraver F, editor. Vademecum de aguas mine-romedicinales españolas. Madrid: Instituto de Salud Carlos III; 2003. 305-308.
- 5 Goldscheider N, Hunkeler D, Rossi P. Microbial biocenosis in pristine aquifers and an assesment of investigative methods. Hydrogeology J. 2006;14: 926-941.
- 6 Rosa MC, Moro I. Estudio microbiológico de los manantiales de aguas minero-medicinales de Caldas de Bohí. An R Acad Nac Farm. 1986;52: 553-562.
- 7 Mosso MA, Díaz F, Rosa MC. Microbiología de las aguas mineromedicinales de Archena. An R Acad Nac Farm. 1986;12: 23-32.

- 8 Rosa MC, Mosso MA, Díaz F, Castellanos JA. Microbiología de los manantiales de aguas mineromedicinales del Balneario de Fortuna. *An R Acad Nac Farm.* 1987;13: 19-25.
- 9 Mosso MA, Rosa MC, Díaz F. Microbiología del manantial de aguas mineromedicinales y de los lodos del Balneario de Arnedillo. *An R Acad Nac Farm.* 1988;14: 23-28.
- 10 Mosso MA, Rosa MC, Díaz F. Microbiología del manantial de aguas mineromedicinales de Alange. *R. An R Acad Nac Farm.* 1990;16: 27-40.
- 11 Mosso MA, Rosa MC, Vivar MC, Arroyo G, Díaz F. Microbiología de las aguas mineromedicinales del manantial del Balneario de Lugo. *An R Acad Nac Farm.* 1994;20: 43-52.
- 12 Rosa MC, Mosso MA, Vivar MC, Arroyo G. Microbiología de las aguas mineromedicinales del Balneario de Blancafort. *An R Acad Nac Farm.* 1995;21: 45-52.
- 13 Rosa MC, Mosso MA. Diversidad microbiana de las aguas minerales termales. En: López-Geta JA, Pinuagua JL, editores. *Panorama actual de las aguas minerales y minero-medicinales en España.* Madrid: IGME; 2000. 153-158.
- 14 Rosa MC, Anduela F, Sánchez MC, Rodríguez MC, Mosso MA. Microbiología de las aguas mineromedicinales de los balnearios de Jaraba. *An R Acad Nac Farm.* 2004; 70: 521-542.
- 15 Mosso MA, Sánchez MC, Rodríguez C, Rosa MC. Microbiología de los manantiales mineromedicinales del balneario de Cervantes. *An R Acad Nac Farm.* 2006; 72: 285-304.
- 16 Quevedo-Sarmiento J, Ramos-Cormenzana A, González-López J. Isolation and characterization of aerobic heterotrophic bacteria from natural spring waters in the Lanjaron area (Spain). *J. Appl. Bacteriol.* 1986;61(4): 365-372.
- 17 Ramos-Cormenzana A, Nieto-Sánchez MC, Olivares-Pascual J. Estudio microbiológico de las aguas de Lanjarón. *An R Acad Nac Farm.* 1980;7: 59-64.
- 18 Rosa MC, Mosso MA, Díaz F, Vivar MC. Microbiología de los Manantiales de Aguas Minero-Medicinales de Caldas de Bohí. *An R Acad Nac Farm.* 1989;15: 23-30.
- 19 Leclerc H, Costa MS. The microbiology of natural mineral water. In: D.A.G. and Ashurst PR, editors. *Technology of bottled water.* Sheffield: Sheffield Acad. Press; 1998. 223-273.
- 20 Leclerc H, Moreau A. Microbiological safety of natural mineral water. *FEMS Microbiol Rev.* 2002;26: 207-222.
- 21 Ultee A, Souvatzi N, Maniadi K, König H. Identification of the culturable and nonculturable bacterial population in groundwater of a municipal water supply in Germany. *J Appl Microbiol.* 2004;96: 560-568.
- 22 Farnleitner AH, Wilhartitz I, Ryzinnska G, Kirschner AK, Stadler H, Burtscher MM et al. Bacterial dynamics in spring water of alpine karst aqui-

- fiers indicates the presence of stable autochthonous microbial endokarst communities. *Environm Microbiol.* 2005;7: 1248-1259.
- 23 Pabich WJ, Valiela I, Hermond HF. Relationship between DOC concentration and vadose zone thickness and depth below water table in groundwater of Cape Cod, USA. *Biogeochemistry.* 2001;55: 247-268.
 - 24 Elshashed MS, Senko JM, Najr FZ, Kenton SM, Roe BA, Dewers TA et al. Bacterial diversity and sulfur cycling in a mesophilic sulphide-rich spring. *Appl Environm Microbiol.* 2003;69:5609-5621.
 - 25 Hiraishi A, Umezawa T, Yamamoto H, Kato K, Maki Y. Changes in quinone profiles of hot spring microbial mats with a thermal gradient. *Appl Environm Microbiol.* 1999;65: 198-205.
 - 26 Teske et al., 2002
 - 27 Maki Y, Kazutoshi O, Akira S. A model for syntrophic cooperations in microbial mats on pristine Earth: structure-function relationship of sulfur-oxidation in sulfur-turf microbial mat vegetating in hot spring effluents. *Viva Origino.* 2004;32: 96-108.
 - 28 Armijo F, Maraver F, San Martín J. Análisis de las aguas de Baños de Montemayor. *Anal Bromatol.* 1988;XL(1): 147-153.
 - 29 López JM. Consideraciones sobre el manantial minero-medicinal de Caldas de Montemayor. *An R Acad Nac Farm.* 1974;3: 101-106.
 - 30 Armijo F, Hurtado I, Maraver F. Balneario Baños de Montemayor. En: Maraver F, editor. *Vademecum de aguas mineromedicinales españolas.* Madrid: Instituto de Salud Carlos III; 2003. 189.
 - 31 Lloyd D. Hydrogen sulfide: clandestine microbial messenger?. *Microbiology.* 2006;14(10): 456-462.