

Microbiología de Aguas Subterráneas

F. Grant Ferris, Natalie Szponar and Brock A. Edwards

Traducción: Juan Carlos Richard-Cerda, María Prieto-Espinoza, Joaquín Riquelme Fenner,
Ma. Vicenta Esteller Alberich

Microbiología de Aguas Subterráneas

The Groundwater Project

i

F. Grant Ferris

*Professor
Department of Earth Sciences
University of Toronto
Toronto, Ontario, Canada*

Natalie Szponar

*Doctor of Philosophy,
Department of Earth Sciences
University of Toronto
Toronto, Ontario, Canada*

Brock A. Edwards

*Doctor of Philosophy Candidate,
Centre for Earth Observation Science
University of Manitoba
Winnipeg, Manitoba, Canada*

*Traducción: Juan Carlos Richard-Cerda,
Maria Prieto-Espinoza, Joaquin Riquelme Fenner,
Ma. Vicenta Esteller Alberich*

***Microbiología de Aguas
Subterráneas***

*The Groundwater Project
Guelph, Ontario, Canada*

The Groundwater Project cuenta con financiamiento privado
para la producción de libros y la gestión del Proyecto.

Por favor, considere hacer una donación a The Groundwater Project ↗
para que los libros sigan estando disponibles gratuitamente.

Muchas gracias.

Todos los derechos reservados. Esta publicación está protegida por derechos de autor. Queda prohibida la reproducción total o parcial de este libro, en cualquier forma o por cualquier medio, sin la autorización por escrito de los autores (para solicitar autorización, diríjase a: permissions@gw-project.org). La distribución y reproducción comercial están estrictamente prohibidas.

Las obras de Groundwater-Project (GW-Project) están protegidas por derechos de autor y pueden descargarse gratuitamente de gw-project.org. Cualquiera puede utilizar y compartir los enlaces de gw-project.org para descargar el trabajo de GW-Project. No está permitido publicar documentos del GW-Project en otros sitios web ni enviar copias de los documentos directamente a otras personas. Tenga la amabilidad de honrar esta fuente de conocimiento gratuito que le beneficia a usted y a todos aquellos que quieran aprender sobre las aguas subterráneas.

Derechos de autor © 2021 F. Grant Ferris, Natalie Szponar, and Brock A. Edwards
(Los Autores)

Publicado por el Groundwater Project, Guelph, Ontario, Canada, 2021.

Ferris, F. Grant.

Microbiología de aguas subterráneas / F. Grant Ferris, Natalie Szponar, and Brock A. Edwards - Guelph, Ontario, Canada, 2021.

66 páginas

ISBN: 978-1-77470-108-9

Considere la posibilidad de inscribirse en la lista de correo del GW-Project para mantenerse informado sobre la publicación de nuevos libros, eventos y formas de participar en el GW-Project. Al inscribirse en nuestra lista de correo electrónico, nos ayuda a construir una comunidad mundial de aguas subterráneas. [Suscríbese](#).

APA (7ma ed.) Cita

Ferris, F. Grant, Natalie Szponar, and Brock A. Edwards, 2021, Groundwater Microbiology. The Groundwater Project, Guelph, Ontario, Canada.



Editores de dominio: Eileen Poeter and John Cherry.

Junta: John Cherry, Shafick Adams, Richard Jackson, Ineke Kalwij, Renée Martin-Nagle, Everton de Oliveira, Marco Petitta, and Eileen Poeter.

Imagen de portada: F. Grant Ferris, 2006

Traducido por: Juan Carlos Richard-Cerda, Maria Prieto-Espinoza, Joaquin Riquelme Fenner, Ma. Vicenta Esteller Alberich

Tabla de Contenidos

AUTORES	II
COPYRIGHT	IV
TABLA DE CONTENIDOS	V
PRÓLOGO DE “THE GROUNDWATER PROJECT”	VII
PRÓLOGO	VIII
PREFACIO	X
AGRADECIMIENTOS	XI
1 INTRODUCCIÓN	1
2 MICROBIOLOGÍA	3
2.1 ESTRUCTURA DE LA CÉLULA PROCARIOTA	4
2.2 CRECIMIENTO CELULAR Y ENTORNO.....	8
2.3 TRANSPORTE DE MASAS Y CONSIDERACIONES BIOENERGÉTICAS.....	15
2.4 GRUPOS METABÓLICOS.....	21
3 LOS SISTEMAS DE AGUAS SUBTERRÁNEAS COMO HÁBITATS PARA LA VIDA MICROBIANA	24
4 INFLUENCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LA QUÍMICA DE LAS AGUAS SUBTERRÁNEAS	28
4.1 EQUILIBRIO QUÍMICOS Y TASAS DE REACCIÓN EN AGUAS SUBTERRÁNEAS.....	28
4.2 EQUILIBRIO DE LOS CARBONATOS Y PH DEL AGUA SUBTERRÁNEA.....	30
4.3 CONDICIONES REDOX.....	32
4.4 COMPORTAMIENTO DE LAS BACTERIAS COMO SÓLIDOS GEOQUÍMICAMENTE REACTIVOS	36
4.5 DISOLUCIÓN Y PRECIPITACIÓN MINERAL	40
5 TRANSPORTE DE MICROBIOS EN AGUAS SUBTERRÁNEAS	45
6 MICROBIOLOGÍA DE LAS AGUAS SUBTERRÁNEAS APLICADA	49
6.1 BIORREMEDIACIÓN MICROBIANA Y ELIMINACIÓN DE CONTAMINANTES DE LAS AGUAS SUBTERRÁNEAS	49
6.2 APLICACIONES DE LA PRECIPITACIÓN MINERAL INDUCIDA POR MICROBIOS	51
7 CIERRE	56
8 EJERCICIOS	57
EJERCICIO 1	57
EJERCICIO 2	57
EJERCICIO 3	57
EJERCICIO 4	57
EJERCICIO 5	57
EJERCICIO 6	57
EJERCICIO 7	57
EJERCICIO 8	58
EJERCICIO 9	58
EJERCICIO 10	58
EJERCICIO 11	58
EJERCICIO 12	58
EJERCICIO 13	59
EJERCICIO 14	59
EJERCICIO 15	59
EJERCICIO 16	59
EJERCICIO 17	59

EJERCICIO 18	59
EJERCICIO 19	60
EJERCICIO 20	60
9 REFERENCIAS	61
10 SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS	71
SOLUCIÓN A EJERCICIO 1	71
SOLUCIÓN A EJERCICIO 2	71
SOLUCIÓN A EJERCICIO 3	71
SOLUCIÓN A EJERCICIO 4	71
SOLUCIÓN A EJERCICIO 5	71
SOLUCIÓN A EJERCICIO 6	72
SOLUCIÓN A EJERCICIO 7	72
SOLUCIÓN A EJERCICIO 8	72
SOLUCIÓN A EJERCICIO 9	72
SOLUCIÓN A EJERCICIO 10	72
SOLUCIÓN A EJERCICIO 11	73
SOLUCIÓN A EJERCICIO 12	73
SOLUCIÓN A EJERCICIO 13	73
SOLUCIÓN A EJERCICIO 14	73
SOLUCIÓN A EJERCICIO 15	73
SOLUCIÓN A EJERCICIO 16	74
SOLUCIÓN A EJERCICIO 17	74
SOLUCIÓN A EJERCICIO 18	74
SOLUCIÓN A EJERCICIO 19	75
SOLUCIÓN A EJERCICIO 20	75
11 SOBRE LOS AUTORES.....	76
12 SOBRE EL TRADUCTOR	78
MODIFICACIONES DE LA VERSIÓN ORIGINAL.....	A

Prólogo de “The Groundwater Project”

El lema de las Naciones Unidas para el Día Mundial del Agua, el 22 de marzo de 2022, es "Aguas subterráneas: hacer visible lo invisible". Esto se alinea con la esencia del Proyecto de Aguas Subterráneas (GW-Project), que tiene como objetivo aumentar la conciencia sobre las aguas subterráneas y fortalecer la sabiduría sobre las aguas subterráneas en todo el mundo, y se está logrando mediante la publicación de libros y materiales de apoyo sobre "todo-lo-que-sea-aguas-subterráneas".

El GW-Project, una organización sin ánimo de lucro registrada en Canadá en 2019, se compromete a contribuir al avance de la educación y aportar un nuevo enfoque a la creación y difusión de conocimientos para la comprensión y la resolución de problemas. El GW-Project opera el sitio web <https://gw-project.org/> como una plataforma global para la democratización del conocimiento de las aguas subterráneas y se basa en el siguiente principio:

“El conocimiento debe ser gratuito y el mejor conocimiento debe ser conocimiento gratuito”.
Anónimo

La misión del GW-Project es proporcionar materiales educativos accesibles, atractivos y de alta calidad, accesible y gratuito en línea en muchos idiomas, a todos los que quieran aprender sobre las aguas subterráneas y comprender cómo éstas se relacionan con los sistemas ecológicos y la humanidad, y cómo los sustentan. Se trata de un nuevo tipo de esfuerzo educativo global, ya que se basa en el voluntariado de profesionales de diferentes disciplinas e incluye a académicos, consultores y jubilados. En el GW-Project participan cientos de voluntarios asociados a más de 200 organizaciones de más de 14 países y seis continentes, con una participación cada vez mayor.

El GW-Project, que comenzó a publicar libros en agosto de 2020, es un esfuerzo continuo y continuará con cientos de libros que se publicarán en línea en los próximos años, primero en inglés y luego en otros idiomas, para su descarga en cualquier lugar en el que Internet esté disponible. Las publicaciones del GW-Project también incluyen materiales de apoyo como vídeos, clases, demostraciones de laboratorio y herramientas de aprendizaje, además de proporcionar, o enlazar con, software de dominio público para diversas aplicaciones de aguas subterráneas que apoyan el proceso educativo.

El GW-Project es una entidad viva, por lo que de vez en cuando se publicarán ediciones posteriores de los libros. Los usuarios están invitados a proponer revisiones.

Te agradecemos que formes parte de la comunidad GW-Project. Esperamos recibir noticias tuyas sobre tu experiencia con el uso de los libros y materiales relacionados. ¡Agradecemos ideas y voluntarios!

El Comité Directivo de The Groundwater Project

Julio 2021

vii

Prólogo

La microbiología de las aguas subterráneas es el estudio de los organismos microscópicos, principalmente bacterias, que residen en los sistemas de aguas subterráneas. De los temas que componen la ciencia de las aguas subterráneas, la microbiología de las aguas subterráneas ha experimentado grandes avances en los últimos 40 años. Los microbios viven en casi todas partes del subsuelo, incluso en condiciones extremas de alta temperatura y salinidad a gran profundidad. Los microbios influyen y generalmente controlan los procesos geoquímicos y, por lo tanto, son importantes para la calidad natural del agua subterránea, como las concentraciones de hierro, manganeso y arsénico, y, sumado al potencial de oxido-reducción y el pH, determinan el olor y el color del agua de pozo. Los microbios determinan cuándo la obstrucción de los pozos es un problema y, a menudo, determinan si los productos químicos antropogénicos (contaminantes) desaparecen o permanecen en las aguas subterráneas.

Normalmente, los microbios han residido en un estrato geológico por un tiempo geológico y son activados cuando cambian las condiciones. Al igual que los seres humanos, necesitan energía y nutrientes (por ejemplo, comida) para sobrevivir, pero los microbios pueden permanecer durante milenios con pocos de estos elementos esenciales para la vida. Sin embargo, cuando las condiciones aportan más de sus necesidades de sustento vital, los microbios se multiplican y cambian la hidroquímica. Los cambios también pueden ocurrir en respuesta a las alteraciones humanas del paisaje y la hidrología. A medida que el agua subterránea se mueve a lo largo de su trayectoria de flujo desde las áreas de recarga hasta la de descarga, puede atravesar estratos que no contienen microbios y luego ingresar a una zona donde las condiciones son más favorables para los microbios lo que cambia notablemente el agua subterránea. La química del agua subterránea puede estar gobernada por los minerales en contacto con el agua a lo largo de sus trayectorias de flujo y/o los microbios pueden controlar la química. Las zonas de actividad microbiana sustancial pueden ocupar sólo una pequeña parte del sistema de aguas subterráneas y, sin embargo, ser la influencia dominante sobre la composición química del agua en gran parte del sistema. Es importante lo que el agua subterránea transporta en una zona, lo que pasa en la zona y lo que es transportado fuera de la zona. Este libro introduce los principios de la microbiología de las aguas subterráneas, incluida la estructura y el crecimiento de las células microbianas, la bioenergética y el metabolismo de los microorganismos, las influencias geoquímicas y físicas sobre los microbios, con énfasis en la calidad natural del agua, pero también considerando el papel de los microbios en las aguas subterráneas contaminadas.

Este es el primer libro de Groundwater Project escrito por un profesor en colaboración con estudiantes graduados. El GW-P alienta este tipo de esfuerzo en equipo. El Dr. Grant Ferris es profesor experimentado en el Departamento de Ciencias de la Tierra

de la Universidad de Toronto, Canadá, y dirige investigaciones en microbiología ambiental en muchos lugares del mundo. Ese departamento también es el hogar académico de Natalie Szponar, donde, después de una década como hidrogeóloga consultora, es candidata a Doctora en Filosofía enfocada en geoquímica acuosa e isótopos en geoquímica. Brock Edwards, cuya investigación está enfocada en las emisiones de gases de los volcanes activos, es candidato a Doctor en Filosofía en el Centro de Ciencias de Observación de la Tierra de la Universidad de Manitoba, Canadá.

John Cherry, líder de The Groundwater Project

Guelph, Ontario, Canadá, julio de 2021

Prefacio

La microbiología de las aguas subterráneas es el estudio de los organismos microscópicos que habitan en ellas. Durante muchos años se asumió que los materiales geológicos que se encuentran bajo nuestros pies eran depósitos de organismos muertos desde hace mucho tiempo y no hábitats de organismos vivos. Los recientes descubrimientos de las últimas décadas han demostrado la existencia de un mundo diverso de microorganismos que viven en el subsuelo, independientes de la luz solar y el oxígeno y que a menudo prosperan en condiciones ambientales extremas y con limitaciones de nutrientes.

Los sistemas de aguas subterráneas son entornos especialmente favorables para los microorganismos, con temperaturas relativamente estables, nutrientes suministrados por el flujo de estas, y la presencia de abundantes superficies minerales y de fractura para colonizar. De esta manera, cualquier consideración sobre los sistemas de aguas subterráneas debe tener en cuenta a los microorganismos que viven en ellos, siendo que no son habitantes pasivos. Por el contrario, las singulares capacidades metabólicas de los microbios los implican como agentes clave en el flujo de energía y el procesamiento de compuestos orgánicos e inorgánicos en los entornos subterráneos, afectando a la composición química de las aguas subterráneas, así como a las propiedades físicas de los sedimentos y las formaciones rocosas por las que se mueven estas aguas ocultas.

Este libro presenta los principios de la microbiología de las aguas subterráneas, desde los aspectos de la estructura y el crecimiento celular, pasando por la bioenergética y el metabolismo de los microorganismos del subsuelo, hasta las influencias geoquímicas y físicas de la actividad microbiana generalizada en los sistemas de aguas subterráneas y la calidad del agua. Como se resume en las últimas secciones del libro, el acoplamiento de los microorganismos con su entorno geológico -un vínculo establecido hace miles de millones de años cuando la vida se afianzó en nuestro planeta- es de especial valor en las aplicaciones de biorremediación y precipitación mineral inducida por microbios, como la limpieza de sistemas de aguas subterráneas contaminadas y la reducción de la permeabilidad de los acuíferos.

Como se revela en este libro, la microbiología desempeña un papel fundamental en la determinación de los patrones de la química de las aguas subterráneas. Los estudios sobre la contaminación de las aguas subterráneas y su remediación que no incorporan la visión microbiológica probablemente pasarán por alto las oportunidades de comprender los importantes procesos que rigen las condiciones del lugar y, por tanto, no reconocerán las opciones de tratamiento alternativas. Por lo tanto, recomendamos la inclusión de un miembro del equipo con experiencia en microbiología en cada investigación importante sobre la contaminación de las aguas subterráneas y su remediación.

Agradecimientos

Agradecemos profundamente las minuciosas y útiles revisiones y contribuciones a este libro de las siguientes personas:

- ❖ Francis Chapelle, Servicio Geológico de los Estados Unidos, Estados Unidos de América;
- ❖ Bruce Rittman, Universidad Estatal de Arizona, Estados Unidos de América;
- ❖ Doug Mackay, Universidad de California Davis, Estados Unidos de América;
- ❖ Jim Barker, Universidad de Waterloo, Canadá;
- ❖ Jim Spain, Instituto de Tecnología de Georgia, Estados Unidos de América;
- ❖ Dave McWhorter, Universidad Estatal de Colorado, Estados Unidos de América;
- ❖ Everton de Oliveira, Hidroplan, Brasil; y,
- ❖ Hugh Whiteley, Universidad de Guelph, Canadá.

Agradecemos a Amanda Sills por la supervisión de este libro y a Juliana Apolonio por la corrección de textos, ambas del Groundwater Project, Guelph, Ontario, Canadá. Agradecemos a Eileen Poeter (Escuela de Minas de Colorado, E.U.A.) por la edición técnica, la maquetación y la producción de este libro.

1 Introducción

Como parte integral del ciclo hidrológico, los sistemas de aguas subterráneas tienen influencias de una serie de procesos físicos, ambientales, hidráulicos y biogeoquímicos. Entre ellos se encuentran los cambios estacionales en el clima y las precipitaciones, las variaciones locales y regionales en la porosidad y permeabilidad de los materiales del subsuelo, la formación y disolución de minerales a lo largo de las vías de flujo de las aguas subterráneas, así como el transporte de reactivos en masa y el ciclo de sustancias químicas por parte de los microorganismos. Al comprender que las aguas subterráneas son un recurso global crítico de cantidad y calidad muy variable, el papel de la microbiología en los procesos biogeoquímicos ha surgido como un tema esencial en hidrogeología.

Durante muchos años, se pensaba que el subsuelo de la Tierra carecía de vida en su mayor parte. Se creía que la presencia de organismos vivos se limitaba principalmente a los entornos del suelo y la rizosfera (raíces de las plantas). Sin embargo, los descubrimientos de las últimas décadas revelaron una biosfera microbiana vasta y diversa que se extiende varios kilómetros por debajo de la superficie de la Tierra (Kallmeyer et al., 2012; Bar-On et al., 2018; Magnabosco et al., 2018). Estos avances han surgido de la creciente constatación de que los ingredientes que se consideran necesarios para la vida en la superficie -luz solar, oxígeno, abundante carbono orgánico- son irrelevantes para muchos microorganismos. Los diversos microbios utilizan una gran variedad de fuentes de energía "no convencionales", incluyendo un enorme surtido de compuestos inorgánicos, así como algunos compuestos orgánicos que son tóxicos para otros organismos. Estas capacidades metabólicas únicas implican a los microorganismos como agentes clave en el flujo de energía y el recambio de la materia condensada (es decir, sólidos y líquidos cristalinos y amorfos, incluidos los cristales líquidos, los vidrios, los polímeros y los geles) en los procesos de transporte reactivo que vinculan los sistemas de aguas subterráneas con los entornos superficiales en el ciclo hidrológico (Falkowski et al., 2008; Lin et al., 2012).

Como hábitat exclusivo para los microorganismos, el subsuelo se caracteriza por una ausencia total de luz, temperaturas relativamente constantes y escasez de nutrientes, incluido el carbono orgánico. El metabolismo microbiano en estas condiciones tan poco propicias puede ser mucho más lento que en la superficie de la Tierra, calibrándose más a la duración y a las escalas de tiempo de los procesos hidrogeológicos que a los ciclos diarios y estacionales dominados por la luz solar. Sin embargo, las condiciones relativamente estables del subsuelo hacen que las poblaciones de microorganismos puedan sobrevivir o incluso prosperar durante largos periodos de tiempo y, al hacerlo, ejercer una importante influencia biogeoquímica en su entorno. Esto es especialmente importante en un contexto social porque la actividad microbiana afecta directamente a la composición química y a la calidad de las aguas subterráneas, que constituyen un recurso de agua potable fundamental para gran parte de la población mundial. La presencia de microorganismos puede ser

beneficiosa, por ejemplo, al contribuir a la degradación de sustancias tóxicas, o perjudicial, como en el caso de la contaminación de los acuíferos por microbios patógenos procedentes de los residuos de las aguas residuales.

Este libro profundiza en los aspectos esenciales de la microbiología de las aguas subterráneas, comenzando con los rasgos característicos de los microorganismos y su abrumador predominio en los entornos subterráneos de la Tierra. Se introducen la estructura, el crecimiento, la ecología y la bioenergética de las células microbianas para familiarizarse con el extenso tema de la microbiología. El concepto de sistemas de aguas subterráneas como hábitat de microorganismos se discute en términos de limitaciones físicas y la distribución en profundidad de la vida en ambientes subterráneos. Los aspectos de los equilibrios y el pH del carbono inorgánico disuelto, los procesos de oxidación-reducción (Redox), las reacciones de precipitación y disolución de minerales y el comportamiento de las células microbianas como sólidos geoquímicamente reactivos se consideran al examinar la influencia de la actividad microbiana en los procesos químicos en las aguas subterráneas. Las secciones finales del libro abordan el transporte y movimiento de los microorganismos a través de los sistemas de aguas subterráneas, así como algunas funciones conocidas y potenciales de los microorganismos en la hidrogeología y la remediación de contaminantes.

2 Microbiología

La microbiología es el estudio de formas de vida extremadamente pequeñas que no se pueden ver sin una lupa o un microscopio (Heim et al., 2017). Esta definición operativa se aplica a los organismos unicelulares que tienen un tamaño inferior a unos 10^{-4} m (0.1 mm o 100 μm) (**Figura 1**). El mundo microscópico también incluye los virus, que son las entidades biológicas más pequeñas de la naturaleza (diámetro de $\sim 10^{-7}$ m) que contienen proteínas y material genético, ya sea ácido ribonucleico (ARN) o ácido desoxirribonucleico (ADN). Son agentes infecciosos que dependen de los procesos metabólicos de la célula huésped para reproducirse, por lo que existe cierto debate sobre si los virus están realmente vivos.

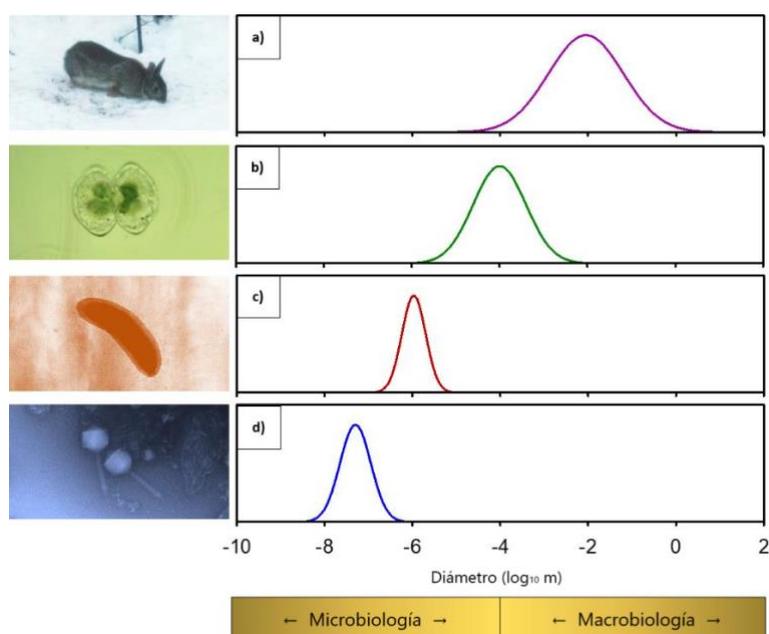


Figura 1 - Distribuciones de tamaño a) macroeucariotas, b) microeucariotas, c) procariotas y d) virus.

Más allá del tamaño, el campo de la microbiología es muy amplio. Abarca los tres dominios de la vida con diferentes microorganismos clasificados como Bacteria, Archaea o Eukarya. Todos los miembros de los dos primeros dominios son microorganismos procarióticos que carecen de núcleos membranosos. El apodo "bacteria" se utiliza a menudo, como en este libro, para referirse a los procariotas en general, ya que las bacterias se clasificaban como eubacterias, mientras que las arqueas se clasificaban como arqueobacterias. El tercer dominio, Eukarya, son eucariotas que tienen verdaderos núcleos unidos a la membrana. Esta característica definitoria es común no solo a plantas y animales, sino también a una variedad de microorganismos, incluidos hongos, protozoos y algas.

La clasificación de organismos ha sido revolucionada por avances extraordinarios en biología molecular que permiten la secuenciación de cromosomas en su totalidad. Entre

las procariotas, estos métodos han expuesto una abrumadora cantidad de diversidad genética difícil de conciliar dentro de la jerarquía tradicional de categorías taxonómicas. Una parte importante del problema es que la reproducción sexual como característica definitoria a nivel taxonómico de una especie no se aplica a las procariotas, que generalmente se multiplican por fisión binaria asexual. Otra parte intrigante de este dilema es que ahora es posible identificar microorganismos en la naturaleza que no se pueden aislar y cultivar en cultivos de laboratorio. Tales esfuerzos sugieren que los microorganismos no cultivables representan más del 90% de la diversidad total de la mayoría de las poblaciones microbianas procariotas.

En comparación con las eucariotas, las procariotas se encuentran entre los organismos más abundantes, extendidos y funcionalmente diversos de la Tierra. Por lo general, hay de 10^5 a 10^6 células en un mililitro de agua dulce y de 10^8 a 10^9 células en un gramo de suelo. Los inventarios globales indican que casi 10^{30} células de bacterias habitan la Tierra e incluyen hasta 10^{12} (es decir, un billón) de especies diferentes, según algunos modelos ecológicos (Mora et al., 2011; Locey y Lennon, 2016; Louca et al., 2019). Esto es varios órdenes de magnitud mayor que el número de 10^8 a 10^9 especies pronosticado para eucariotas. En lo que respecta a la biomasa total, las estimaciones globales son del orden de 500 a 700 GtC (giga toneladas métricas de carbono), con $1 \text{ GtC} = 10^{12} \text{ kg}$ de carbono. Se estima que, en conjunto, los procariotas representan entre el 15% y el 48% (81 a 327 Gt C) de la masa total de carbono en la Tierra, con hasta el 90% de la biomasa procariota que reside en sistemas de aguas subterráneas terrestres y debajo del lecho marino (Kallmeyer et al., 2012; Bar-On et al., 2018; Magnabosco et al., 2018).

2.1 Estructura de la célula procariota

Los procariotas son entidades vivientes con un tamaño característico y una estructura celular distinta. Están rodeadas por complejos envoltorios de múltiples capas que sirven como límite protector entre el interior y el exterior de las células individuales (Konhauser, 2007; Kleanthous y Armitage, 2015). La envoltura celular también proporciona fuerza física y forma a las bacterias, apoya la generación de energía para el crecimiento y la división, permite el paso selectivo de nutrientes desde el exterior y productos de desecho desde el interior, facilita la motilidad y permite que las células interactúen con su entorno. La envoltura celular de casi todas las bacterias consta de dos capas principales: una membrana citoplasmática interna (también conocida como membrana plasmática) y una pared celular externa.

La membrana citoplasmática está formada por una bicapa de lípidos y proteínas que contribuyen al transporte activo de solutos, a los procesos metabólicos y a la comunicación entre la célula y el medio ambiente. La mayoría de los lípidos son fosfolípidos compuestos por ácidos grasos unidos a un fosfato de glicerol mediante enlaces éster en las bacterias y enlaces éter en las arqueas. Las moléculas polares pequeñas pueden

difundirse a través de la bicapa lipídica, pero el paso de iones y moléculas polares grandes está restringido y depende de proteínas de transporte específicas incrustadas en la membrana. La viabilidad de las células procariotas depende en gran medida de la integridad física de la membrana citoplasmática, ya que un fallo estructural provoca la muerte celular.

Existen dos tipos básicos de paredes celulares procariotas que se distinguen por su respuesta a la tinción de Gram, una antigua prueba para la clasificación de bacterias mediante microscopía óptica (**Figura 2**). Las paredes celulares de las bacterias Gram positivas están formadas por peptidoglicano (un entramado de mucopolisacáridos reticulados en tres dimensiones por puentes peptídicos) y diversos polímeros secundarios (ácidos teicoicos o teichurónico y proteínas). En cambio, las paredes de las bacterias Gram negativas contienen lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas dispuestos en una bicapa de membrana (la membrana externa). Entre la membrana externa y la membrana citoplasmática hay una fina capa de peptidoglicano. Algunas bacterias tienen paredes celulares que no son ni Gram positivas ni Gram negativas. Las paredes celulares de las arqueas carecen del tipo de peptidoglicano que se encuentra en las bacterias y, en su lugar, contienen pseudopeptidoglicano, glicoproteínas o solo proteínas. Además, las paredes celulares procariotas son diferentes de las de las plantas eucariotas y los hongos, que están compuestas de celulosa y quitina, respectivamente.

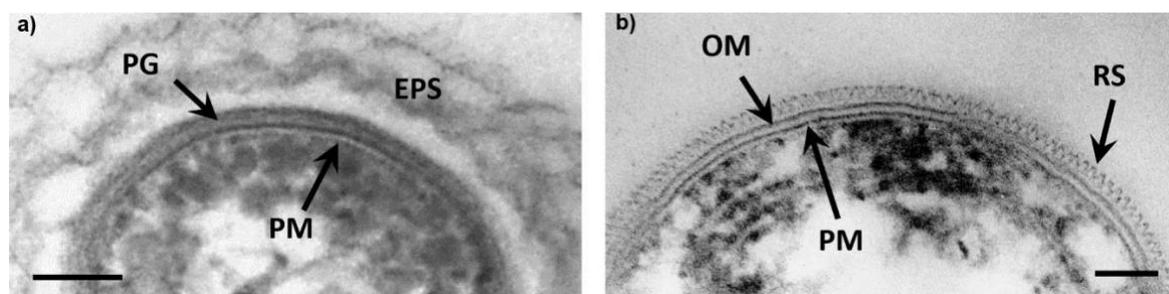


Figura 2 - Micrografías electrónicas de transmisión de sección delgada que muestran ejemplos de células bacterianas Gram-positivas a) y Gram-negativas b). Las células están rodeadas por una membrana plasmática (MP). Una pared celular de peptidoglicano (PG) rodea la célula Gram positiva, mientras que la pared celular Gram negativa tiene una membrana externa (OM); entre la membrana externa y la membrana citoplasmática hay una fina capa de peptidoglicano. Las sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por sus siglas en inglés), que son producidas por muchos tipos de bacterias, son evidentes en la célula Gram-positiva. En la célula bacteriana Gram negativa existe una capa superficial proteínica de estructura regular (RS, por sus siglas en inglés). Barras de escala = 80 nm.

La pared celular es la responsable de dar soporte estructural y forma a las células procariotas. En el caso que agentes como las lisozimas o los antibióticos dañen la capa de peptidoglicano que soporta la tensión, se producirá la lisis celular (rotura de la membrana de una célula) debido a la presión que produce la turgencia del citoplasma sobre la pared celular. Una buena analogía de la turgencia es la fuerza que empuja hacia fuera un globo lleno de agua. En cuanto a la forma de la célula, la mayoría de las bacterias presentan una de las tres morfologías básicas: cocos esféricos, bacilos con forma de bastón o variedades curvas que van desde el vibrio con forma de coma hasta las espirales alargadas. Aunque

muchas existen como células solitarias, algunas permanecen unidas en parejas, tétradas cuboidales, cadenas o cúmulos aleatorios, dependiendo de la geometría de la división celular (**Figura 3**).

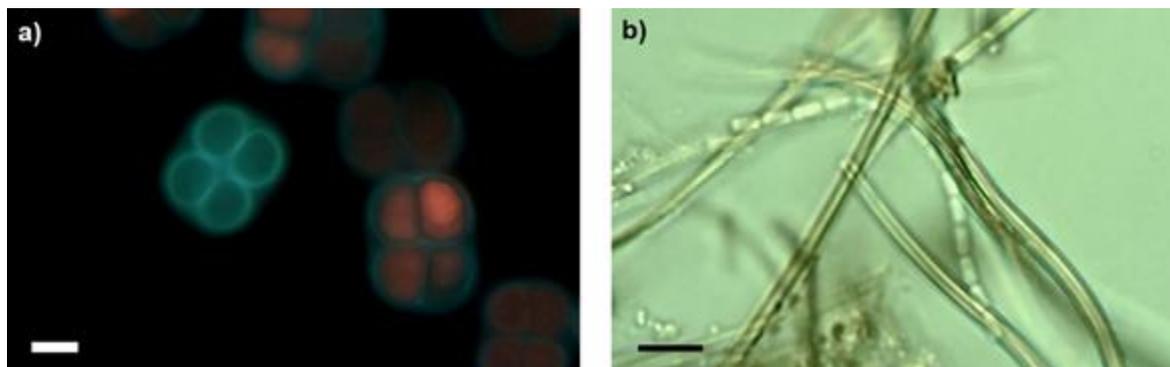


Figura 3 - a) Fotomicrografía de epifluorescencia de células bacterianas con forma de cocos que crecen en tétradas. b) Fotomicrografía de contraste de interferencia diferencial de bacterias con forma de bastón que crecen en cadena entre vainas bacterianas filamentosas vacías. Barras de escala = 4.0 μm .

Las sustancias poliméricas extracelulares (EPS, por sus siglas en inglés) compuestas principalmente por polisacáridos ácidos (carbohidratos de moléculas de azúcar enlazadas) y proteínas son a menudo secretadas en cantidades copiosas por procariotas para formar revestimientos externos hidratados alrededor de las células (**Figura 2a**). Estas capas de EPS muestran un alto grado de variabilidad estructural, que va desde capas viscosas difusas hasta cápsulas y vainas altamente organizadas. Dos propiedades fisicoquímicas de las EPS contribuyen a sus funciones. En primer lugar, estas capas que recubren la superficie celular están muy hidratadas y la protegen contra el déficit de humedad y la pérdida de agua. En segundo lugar, la desprotonación (la transferencia de un protón en una reacción ácido-base) de los grupos funcionales ácidos fomenta el desarrollo de una carga superficial negativa neta. Esto permite que las EPS funcionen como una resina de intercambio iónico (sorbente) para la captura de nutrientes disueltos y la protección contra agentes químicos tóxicos. Las EPS desempeñan otras funciones importantes, entre las que se incluyen la colaboración en el reconocimiento de otras células, la adhesión a las superficies y la formación de biofilm.

Muchos procariontes poseen regularmente matrices superficiales proteicas estructuradas (capas RS o S) en el exterior de sus paredes celulares (**Figura 2b**). Estos son conjuntos de subunidades de proteínas dispuestas en formatos de empaquetamiento lineal, cuadrado, tetragonal o hexagonal. Los poros se encuentran entre las subunidades de proteínas que se extienden completamente a través de la matriz, proporcionando canales abiertos de 2 a 3 nm de diámetro a la pared celular subyacente. Esto permite que las capas de RS funcionen como un tamiz molecular, permitiendo el paso de moléculas pequeñas y excluyendo grandes agentes letales como las enzimas degradantes de la pared, así como protegiendo las células del ataque de virus bacteriófagos o bacterias depredadoras como *Bdellovibrio*.

Entre las bacterias, los flagelos son filamentos de proteínas helicoidales de aproximadamente 20 nm de diámetro y hasta 20 μm de longitud que son responsables de la motilidad de natación (**Figura 4a**). Pueden ubicarse en uno o en ambos extremos de una célula o estar dispuestos de manera uniforme (peritricosa) alrededor de una célula. Los cuerpos basales de los flagelos están anclados en la membrana citoplasmática y consisten en estructuras de anillo que actúan como un motor eléctrico en miniatura. La rotación flagelar es impulsada por la energía obtenida del transporte activo de iones a través de la membrana citoplasmática. Cuando los flagelos giran en el sentido de las agujas del reloj, las células nadan hacia adelante, mientras que la rotación en sentido contrario a las agujas del reloj produce un movimiento de voltereta.

Los pili (también llamados fimbrias) son apéndices de proteínas filamentosas finas que tienen de 2 a 10 nm de diámetro y hasta varios micrómetros de longitud (**Figura 4b**). Se extienden hacia el exterior desde la membrana citoplasmática a través de la pared celular, pero no tienen estructuras de anclaje complejas análogas a los cuerpos basales flagelares. Algunos pili juegan un papel en la facilitación de la unión de los procariontes a las superficies, mientras que otros permiten la transferencia de material genético entre las células en un proceso llamado conjugación. Otro grupo, conocido como pili de tipo IV, es capaz de contraerse y causar un movimiento de espasmo que a veces es exhibido por células adheridas a superficies. Evidencia adicional sugiere que la motilidad de deslizamiento de algunas bacterias sobre superficies sólidas depende, al menos parcialmente, de la producción de pili de tipo IV. Otras indicaciones sugieren que los flagelos de *Archaea* se parecen a los pili de tipo IV, en contraste con los de las bacterias.

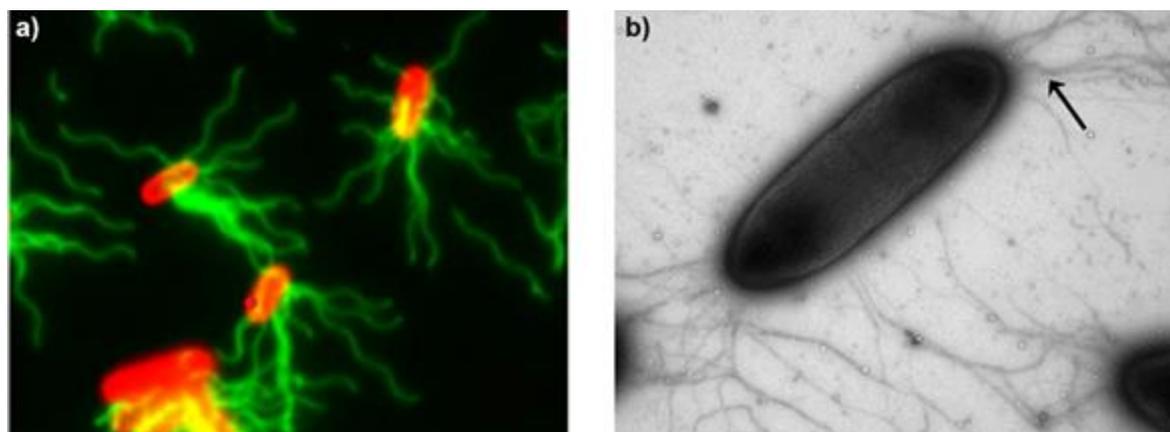


Figura 4 - a) Se muestra una microfotografía de epifluorescencia de células de *Bacillus subtilis* con flagelos peritricos marcados con una tinción fluorescente verde (reproducida bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution 3.0 de Wang et al., 2017). b) Se observa una tinción negativa de micrografía electrónica de transmisión de pili tipo IV (flecha) en *Pseudomonas aeruginosa* (reproducida bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution 3.0 de Chanyi y Koval, 2014). Barras de escala = 500 nm.

Para sobrevivir a períodos de estrés ambiental, algunos géneros de bacterias (como *Bacillus* y *Clostridium*) forman estructuras inactivas, resistentes y no reproductivas llamadas endosporas. Las células individuales que se someten a esporulación producen una única

endospora internamente dentro del citoplasma. La endospora, una vez ensamblada, contiene un núcleo de ADN y ribosomas rodeado por una capa protectora con múltiples capas de peptidoglicano y proteínas. Las endosporas son inactivas y no muestran metabolismo detectable. Pueden sobrevivir a tensiones físicas y químicas extremas, como radiación ultravioleta, temperaturas extremas, desinfectantes y desecación. En este estado inanimado, las endosporas pueden permanecer viables durante cientos o miles, quizás incluso millones de años.

2.2 Crecimiento celular y entorno

Si bien los procariotas son abundantes y están ampliamente distribuidos en la naturaleza, sus tasas de crecimiento y funciones metabólicas son sensibles a las condiciones ambientales. Esto incluye parámetros físicos y químicos como la temperatura, la presión, el pH, el potencial de oxidación-reducción (redox), la fuerza iónica y la disponibilidad de nutrientes. En algunos entornos con condiciones extremas, como temperaturas elevadas o pH bajo, los procariotas son la única forma de vida capaz de sobrevivir y crecer.

De todas las propiedades ambientales, la temperatura ejerce un efecto particularmente fuerte sobre el crecimiento procariota. Esto se debe a que las tasas de reacción química y metabólica aumentan con la temperatura siguiendo la relación de Arrhenius, tal y como se muestra en la ecuación (1).

$$k = A e^{-Ea/RT} \quad (1)$$

donde:

- k = coeficiente de velocidad de reacción (1/T)
- A = factor de frecuencia de colisión (1/T)
- Ea = energía de activación de la reacción (ML²)/(T²mol)
- R = constante universal de los gases (ML²)/(T²°K mol)
- T = temperatura absoluta (°K)

Los procariotas suelen crecer mejor cerca de una temperatura óptima característica. La temperatura óptima de crecimiento de los procariotas psicrófilos (amantes del frío) ronda los 10 °C, mientras que los termófilos (amantes del calor) prefieren temperaturas superiores a 40 °C. Los procariotas mesófilos crecen bien a temperaturas medias entre 20 y 40°C. En los extremos, los procariotas sobreviven a temperaturas tan bajas como -20 °C y tan altas como 120 °C, siempre que el agua se mantenga en estado líquido por sales disueltas y alta presión, respectivamente.

La exposición a altas presiones tiende a impedir el crecimiento de los procariotas acostumbrados a la presión atmosférica. Pero entre los que viven en entornos oceánicos profundos y subsuperficiales de alta presión, se han encontrado microbios clasificados

tanto como barotolerantes (capaces de tolerar altas presiones) como barófilos (que necesitan altas presiones para funcionar). Estos procariotas son capaces de estabilizar sus membranas citoplasmáticas alterando la composición de ácidos grasos de los fosfolípidos para compensar los gradientes de presión extremos entre el interior y el exterior de las células.

Definido como el logaritmo negativo de la concentración molar de protones (ion hidrógeno, H), el pH se considera una variable maestra en química y biología. El pH se define en la ecuación (2).

$$pH = -\log[H^+] \quad (2)$$

Esto se debe a que los protones intervienen en casi todos los tipos de reacciones químicas y metabólicas, incluidas las reacciones ácido-base, de complejación acuosa, de adsorción superficial y redox. La gran mayoría de los procariotas se sienten cómodos creciendo en el intervalo de pH neutro de la mayoría de las aguas naturales, desde alrededor de 5.7 para el agua meteórica prístina hasta alrededor de 8,0 para el agua de mar. Los acidófilos, en cambio, están adaptados a $pH < 3.0$, por ejemplo, en el drenaje ácido de las minas y en las aguas termales ácidas. En el otro extremo del espectro de pH se encuentran los alcalifilos, que viven a $pH > 10$ en lagos salinos alcalinos y suelos calizos alcalinos.

Los potenciales redox ambientales, medidos con un electrodo de platino, se suelen describir en términos de presencia (aeróbico, óxico) o ausencia (anaeróbico, anóxico) de oxígeno. Se trata de una simplificación del significado electroquímico del potencial de oxidación-reducción (Eh), que se define en relación con el electrodo estándar de hidrógeno para una reacción genérica de semicelda en la que intervienen oxidante (ox) y reductor (red) conjugado (ecuación (3)) mediante la ecuación de Nernst (ecuación (4)).



$$Eh = Eh^0 + \frac{2.303RT}{nF} \log \frac{[ox][H^+]^n}{[red]} \quad (4)$$

Basándose en la ecuación de Nernst, los potenciales redox (Eh) elevados son indicativos de condiciones oxidantes (mayor abundancia de especies químicas oxidadas), mientras que los valores de Eh más bajos corresponden a condiciones reductoras (dominan las especies químicas reducidas). Además, el Eh tiende a disminuir con el aumento del pH debido a la dependencia logarítmica de la concentración de protones. Cuando las concentraciones de oxidantes (ox) y reductores (red) son iguales a $pH = 0$ (las llamadas condiciones estándar), entonces Eh es igual al potencial estándar de media célula Eh_0 .

El uso de electrodos de platino para medir potenciales redox ambientales se basa históricamente en el trabajo de C.E. Zobell con sedimentos marinos (Zobell, 1946). Sin embargo, los sedimentos y los sistemas de aguas subterráneas rara vez se encuentran en equilibrio termodinámico con respecto a las reacciones de oxidación-reducción. Además, muchos oxidantes (como el oxígeno molecular) y reductores (como el carbono orgánico) importantes no reaccionan de forma reversible en electrodos de platino. Por estas razones, las mediciones de Eh no han demostrado ser cuantitativamente significativas en entornos acuosos, incluidos los sistemas de aguas subterráneas (Lindberg y Runnells, 1984).

Cuando se trata del crecimiento procariota, la distinción entre condiciones aeróbicas (presencia de oxígeno molecular) y anaeróbicas (ausencia o bajo nivel de oxígeno molecular) es más importante que el hecho de que un entorno específico sea oxidante o reductor. Muchos procariotas, y casi todos los eucariotas, necesitan oxígeno para sobrevivir y crecer. El límite inferior para estos aerobios estrictos es aproximadamente el 1 por ciento (denominado punto Pasteur) de la concentración de oxígeno atmosférico ($pO_2 = 0.21 \text{ atm}$); sin embargo, un gran número de otros procariotas pueden crecer en ausencia de oxígeno como anaerobios facultativos o estrictos (Stolper et al., 2010). Este es el principal motivo por el que las comunidades procariotas complejas prosperan en entornos aislados del contacto directo con la atmósfera, como los sedimentos y los sistemas de aguas subterráneas.

La fuerza iónica de las aguas naturales tiene múltiples implicaciones para el crecimiento procariota, especialmente en términos de actividad del agua y equilibrio osmótico. Como medida de la concentración de iones en solución, la fuerza iónica molar I (mol/L) se calcula para n especies iónicas como se muestra en la Ecuación (5).

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n c_i z_i^2 \quad (5)$$

donde:

c_i = concentración molar de especies iónicas i (mol/L²)

z_i = carga iónica (sin dimensiones)

Debido a que no siempre es posible (o factible) obtener un análisis químico completo de todos los iones disueltos en la solución, una aproximación conveniente para la fuerza iónica molar en función de los sólidos disueltos totales (TDS en mg/L) viene dada por la Ecuación (6).

$$I = (2.5 \times 10^{-5}) TDS \quad (6)$$

Un aumento de la fuerza iónica hace que la solución se aleje del comportamiento ideal, haciendo que las interacciones iónicas y moleculares dependan más de las actividades (concentraciones efectivas adimensionales, a_i) que de las concentraciones

absolutas. Considerando la concentración de la especie química i en la solución en relación con una concentración estándar c_p (tomada como unidad para una fase pura) y el correspondiente coeficiente de actividad γ_i (que disminuye en función del aumento de la fuerza iónica), la actividad se calcula como se muestra en la Ecuación (7).

$$a_i = \gamma_i \frac{c_i}{c_p} \quad (7)$$

En el caso de los procariotas, una mayor fuerza iónica y una menor actividad de los solutos pueden impedir el crecimiento al ralentizar la velocidad de las reacciones químicas y metabólicas (Small et al., 2001). Una consecuencia mucho más grave es la disminución de la actividad del agua que acompaña al aumento de los TDS y de la fuerza iónica. De hecho, pocos procariotas pueden tolerar actividades del agua muy por debajo de 0.98, que corresponde aproximadamente a la salinidad del agua de mar. Con una actividad del agua inferior, el agua es extraída de las células por ósmosis, lo que interrumpe el crecimiento celular normal. No obstante, algunos procariotas (halófilos) consiguen crecer en salmueras (> 20% NaCl en peso) con niveles de actividad del agua extremadamente bajos (hasta 0.80 aproximadamente).

El crecimiento de los procariotas implica generalmente un aumento del número de células individuales (Allan y Waclaw, 2019). En condiciones ideales de laboratorio con un suministro ilimitado de nutrientes, la tasa diferencial de aumento del número de células con respecto al tiempo (t) depende de la frecuencia de división celular, especificada por la constante de velocidad de crecimiento (μ), y del número de procariotas que están creciendo (N), como muestra la Ecuación (8).

$$\frac{dN}{dt} = \mu N \quad (8)$$

La integración da como resultado la conocida ecuación de crecimiento exponencial (Ecuación (9)), es decir, el aumento progresivo del número de células procariotas a lo largo del tiempo (**Figura 5**).

$$N_t = N_0 e^{\mu t} \quad (9)$$

con un tiempo de duplicación característico $T = \ln(2)/\mu = 0.693/\mu$ (Allan y Waclaw, 2019).

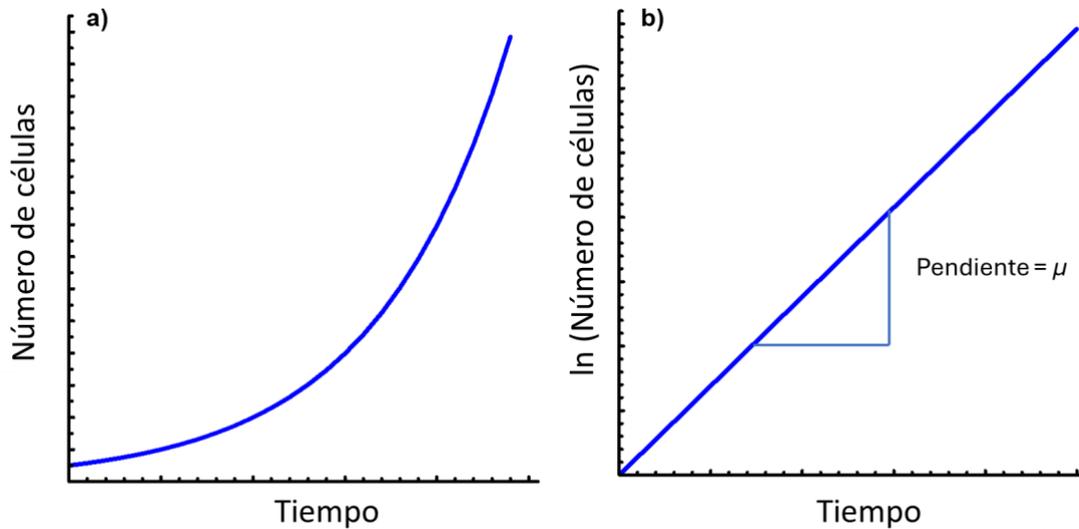


Figura 5 - a) Ilustración del crecimiento microbiano y del aumento exponencial del número de células en función del tiempo. b) Gráfico del logaritmo natural del número de células en función del tiempo, donde la constante de velocidad de crecimiento μ es la pendiente de la línea.

Una limitación importante del modelo de crecimiento exponencial es que no tiene en cuenta la influencia de la disponibilidad de nutrientes en la velocidad de crecimiento de los procariontes. Esta situación se describe mediante la ecuación de Monod ampliada que se muestra en la ecuación (10).

$$\mu = \frac{(\mu_{max} + m) S}{(K_s + S)} - m \quad (10)$$

En donde:

μ_{max} = constante de velocidad de crecimiento máxima (1/T)

S = concentración de un único nutriente limitante (es decir, cuando hay un exceso de otros nutrientes) (M/L³)

K_s = concentración de nutrientes que corresponde a la mitad de μ_{max} (M/L³)

m = coeficiente de energía de mantenimiento de los procesos metabólicos que mantienen vivas las células (1/T) (**Figura 6**)

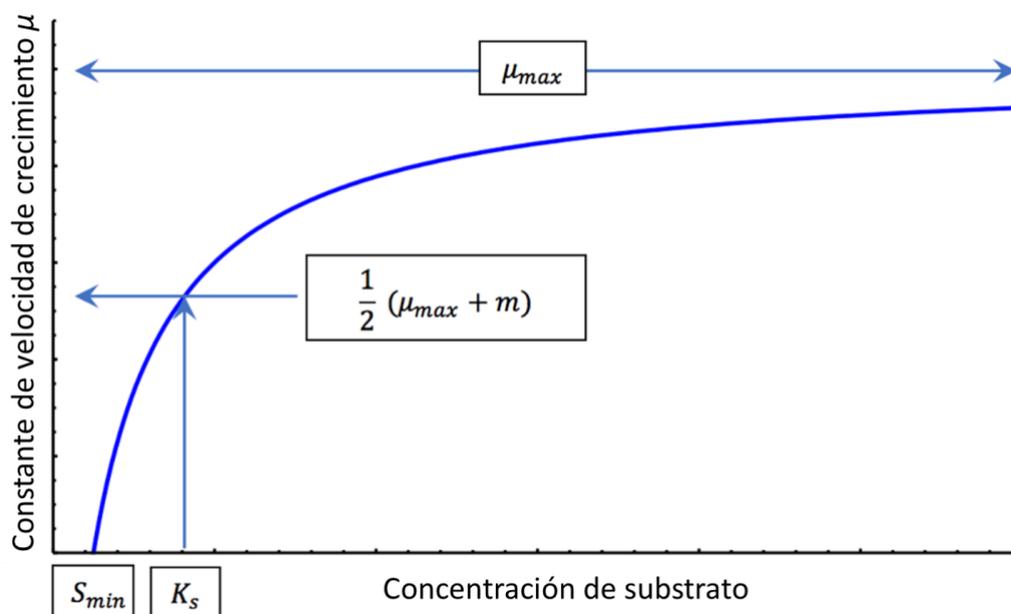


Figura 6 - Dependencia de la constante de velocidad de crecimiento μ en función de la concentración de sustrato según la ecuación de Monod ampliada. A medida que aumenta la concentración de sustrato, el valor de μ se aproxima asintóticamente a la constante de velocidad de crecimiento máxima μ_{max} . La concentración de sustrato, igual a K_s , corresponde al punto en el que μ es igual a la mitad de $(\mu_{max} + m)$. La concentración mínima de sustrato necesaria para el mantenimiento de la energía equivale a S_{min} .

La ecuación de Monod indica que un suministro creciente de nutrientes promueve una mayor frecuencia de división celular y velocidades de crecimiento más rápidas; sin embargo, existe un límite metabólico finito a la velocidad a la que pueden crecer las células (μ_{max}) más allá del cual las velocidades de crecimiento se vuelven independientes de la disponibilidad de nutrientes. También existe una concentración mínima de sustrato (S_{min}) impuesta por las necesidades energéticas de mantenimiento. En S_{min} , el crecimiento celular se detiene ($\mu = 0$). Si se reordena la ecuación (10) para las células que permanecen vivas pero no crecen, se obtiene la ecuación (11).

$$S_{min} = \frac{mK_s}{\mu_{max}} \quad (11)$$

En entornos naturales, especialmente en sistemas de aguas subterráneas, las concentraciones de nutrientes están normalmente mucho más cerca de S_{min} que de K_s . En estas condiciones cercanas a la inanición, los procariontes crecen lentamente, si es que lo hacen (Hoehler y Jorgensen, 2013; LaRowe y Amend, 2015, 2019). El número de células suele ser bajo y tiende a permanecer constante a lo largo del tiempo en un equilibrio entre el crecimiento celular y la pérdida de células debido a la muerte o a la eliminación física del sistema. En esta situación, el cambio en el número de células a lo largo del tiempo adopta la forma de la ecuación (12).

$$\frac{dN}{dt} = \mu N - k_d N = (\mu - k_d)N \quad (12)$$

Se añade una constante de decaimiento k_d para tener en cuenta la velocidad a la que se pierde el número de células (Allan y Waclaw, 2019). Si la velocidad de crecimiento y pérdida son iguales, el número de células no cambiará con el tiempo. Esta situación es representativa de una condición de estado estacionario. Cuando la velocidad de crecimiento es mayor que la tasa de pérdida, el número de células aumentará. Por otro lado, el número de células disminuirá si la velocidad de crecimiento es menor que la tasa de pérdida de células.

Aunque la relación de Monod tiene en cuenta el suministro de nutrientes, no aborda la cuestión de la calidad de los mismos. Los nutrientes esenciales necesarios para el crecimiento celular incluyen fuentes de carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, magnesio, calcio, oxígeno y hierro. Los nutrientes traza incluyen elementos como el manganeso, el cobre, el cobalto, el zinc y el molibdeno. Todos estos nutrientes pueden obtenerse para satisfacer las necesidades específicas de crecimiento de diferentes microorganismos procariotas a partir de una amplia variedad de materiales orgánicos e inorgánicos. Pero la disponibilidad por sí sola no hace que un compuesto nutritivo sea mejor que otro. Hay otros factores que entran en juego, como el tamaño y la estructura molecular, la solubilidad y la carga iónica. Por ejemplo, el valor nutritivo de los materiales insolubles de gran tamaño suele ser inferior al de las moléculas solubles más pequeñas. Del mismo modo, la ramificación y las estructuras anulares en la columna vertebral de carbono de los compuestos orgánicos complejos restringen el procesamiento metabólico. Cuando se trata de la absorción de nutrientes iónicos, las células deben recurrir al transporte activo porque los iones no pueden difundirse libremente a través de la membrana citoplasmática.

Las células procariotas son en su mayor parte agua (80%), por lo que su densidad aparente es casi la misma que la del agua. Esto hace que los procariotas sean bastante flotantes, lo que permite un crecimiento planctónico libre y no confinado en suspensión acuosa (**Figura 7a**). También hace que los procariotas sean susceptibles al transporte advectivo y a la dispersión como partículas en suspensión en aguas en movimiento. Algunos procariotas están bien adaptados al crecimiento planctónico y pueden sobrevivir largos periodos de inanición en las condiciones de escasez de nutrientes diluidos que prevalecen en la mayoría de las aguas naturales; sin embargo, la realidad es que la mayoría de los procariotas crecen en biopelículas adheridas a superficies (McDougald et al., 2012; Marshall, 2013). Estas comunidades procariotas adherentes están formadas principalmente por EPS y otros biopolímeros que inmovilizan las células vivas en las superficies (**Figura 7b**). En comparación con sus homólogos planctónicos, los procariotas que crecen en biopelículas se benefician directamente de las fuerzas interfaciales sólido-líquido, como

la tensión superficial y la adsorción de iones, que contribuyen a la acumulación y mayor accesibilidad metabólica de los nutrientes.

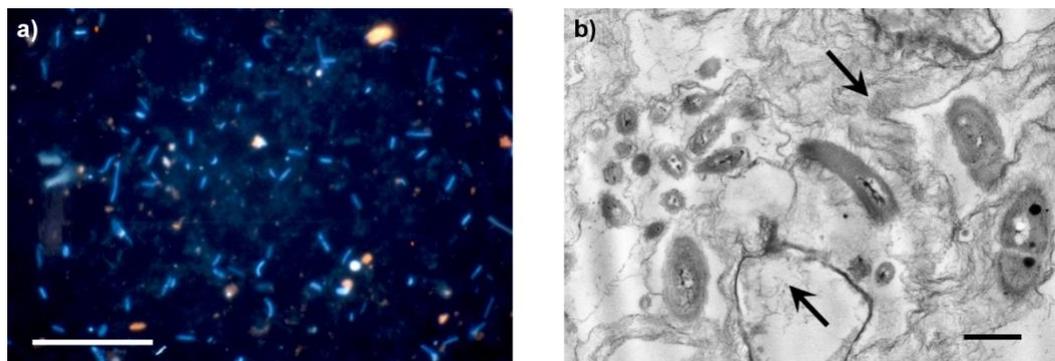


Figura 7 - a) Microfotografía de epifluorescencia de bacterias planctónicas de una muestra de agua dulce. Barra de escala = 20 µm. b) Micrografía electrónica de transmisión de sección delgada que muestra microcolonias de bacterias de biopelícula epilítica (indicadas con flechas) rodeadas de grandes cantidades de sustancias poliméricas extracelulares fibrosas. Barra de escala = 1.0 µm.

Por regla general, la abundancia numérica de los organismos vivos aumenta a medida que disminuye su tamaño. Las entidades biológicas más pequeñas y abundantes en la naturaleza son los virus, seguidos de los procariotas y, a continuación, los eucariotas. Por término medio, el número de virus suspendidos en una muestra típica de agua subterránea superficial o poco profunda se aproxima a 10^7 por mL, seguido de 10^5 procariotas por mL y 10^2 organismos eucariotas unicelulares por mL (Kyle et al., 2008). Las cifras totales son aún mayores en muestras de suelos y sedimentos, que pueden contener hasta 10^{10} virus, 10^9 procariotas y 10^5 eucariotas por gramo. Esto implica que una gran mayoría de los microorganismos de los entornos subsuperficiales crecen en biopelículas adherentes sobre superficies minerales (McDougald et al., 2012; Marshall, 2013).

2.3 Transporte de masas y consideraciones bioenergéticas

El reconocimiento de la abundancia y de la enorme diversidad genética de los procariotas se compensa con las inevitables limitaciones que la física y la química imponen a la vida. Los principales procesos físicos que afectan a la vida procariota están relacionados con la dinámica de fluidos y el transporte de masas de solutos, incluidos los nutrientes esenciales y los productos de desecho metabólicos. Al mismo tiempo, ningún organismo vivo puede escapar a las leyes de la termodinámica química que rigen la espontaneidad y el progreso de los procesos metabólicos, incluidas las reacciones catabólicas que producen energía y las reacciones anabólicas biosintéticas.

Debido a su pequeño tamaño, las células procariotas existen en condiciones en las que las fuerzas viscosas dominan sobre las fuerzas inerciales. La relación adimensional entre las fuerzas inerciales y las viscosas corresponde al número de Reynold (Re), que se utiliza en dinámica de fluidos para predecir diferentes patrones de flujo en función de la

densidad del fluido (ρ), la velocidad relativa del flujo (u), la escala de longitud lineal característica (L) y la viscosidad dinámica (μ), como se muestra en la ecuación (13).

$$Re = \frac{\rho u L}{\mu} \quad (13)$$

A bajos números de Reynold característicos de procariotas en el rango de tamaño de 10-6 m ($Re \ll 1$), el agua fluye en dirección paralela a las superficies celulares de forma laminar suave. En efecto, esto aísla a las células procariotas dentro de una capa límite viscosa de agua, incluso en presencia de altas velocidades de flujo de agua subterránea (> 100 m/d) y turbulencia que se produce en algunos acuíferos kársticos (Shoemaker et al., 2008).

Los solutos disueltos son arrastrados por advección a la misma velocidad relativa y en la misma dirección que el agua en la capa límite de flujo laminar alrededor de las células. Dado que el flujo de agua discurre paralelo a la superficie de las células, no es posible el acceso directo a los nutrientes esenciales ni la dispersión de los productos de desecho metabólicos mediante el transporte de masa advectivo. Para superar esta limitación, los procariotas recurren a la difusión molecular para mediar en el transporte lateral de masa de solutos hacia las células y lejos de ellas.

De acuerdo con la primera ley de Fick, el flujo difusivo (F_x ; moles/m²·s) en una dirección perpendicular a la superficie de una célula depende del coeficiente de difusión (D ; m²/s) y del cambio en la concentración de un soluto con respecto a la distancia desde la superficie de la célula (dC/dx ; moles/m⁴) como indica la ecuación (14).

$$F_x = D \cdot \frac{dC}{dx} \quad (14)$$

Esta relación implica que los gradientes de concentración más altos (más pronunciados) aumentarán las tasas de transferencia de masa difusional para los microorganismos procariotas.

Las tasas metabólicas de absorción de nutrientes y excreción de residuos desempeñan un papel decisivo en el desarrollo y mantenimiento de los gradientes de concentración alrededor de las células. En concreto, la absorción de nutrientes tenderá a reducir las concentraciones de solutos en la superficie celular en relación con las concentraciones de la corriente principal circundante, estableciendo así un gradiente de concentración hacia la célula. La excreción de residuos tendrá el efecto contrario en las concentraciones de solutos, lo que dará lugar a un gradiente de concentración que se aleja de la célula. Por otro lado, las concentraciones más altas de solutos nutrientes en la corriente

principal o las concentraciones más bajas de residuos en relación con las concentraciones de la superficie celular servirán para aumentar los gradientes de concentración y la transferencia de masa difusional en beneficio de las células microbianas. Por el contrario, una disminución de las concentraciones de nutrientes principales o un aumento de las concentraciones de residuos tendrán un efecto opuesto en los gradientes de concentración, lo que provocará un recorte de la transferencia de masa difusional y una posible desnutrición metabólica.

La adopción de un tamaño de célula mayor con una mayor superficie parece que sería una estrategia útil para mitigar las limitaciones de difusión. Sin embargo, la distancia de difusión hasta el centro de la célula bacteriana cocoide esférica (el radio de la célula) es mayor que para una célula en forma de bastón del mismo volumen (**Figura 8**). Además, el tiempo de difusión (t) varía en proporción al cuadrado de la distancia de difusión (l) y del coeficiente de difusión molecular (D), como muestra la ecuación (15).

$$t = \frac{l^2}{2D} \quad (15)$$

Para duplicar el tamaño (volumen) de una célula cocoide con un radio inicial de 1.0 μm , la distancia de difusión respectiva aumentará un 30% hasta 1.3 μm y el tiempo de difusión del soluto correspondiente aumentará casi un 70%. Por el contrario, las distancias y los tiempos de difusión permanecen invariables en una célula en forma de bastón de radio fijo que duplica su volumen por elongación en lugar de expandirse hacia el exterior.

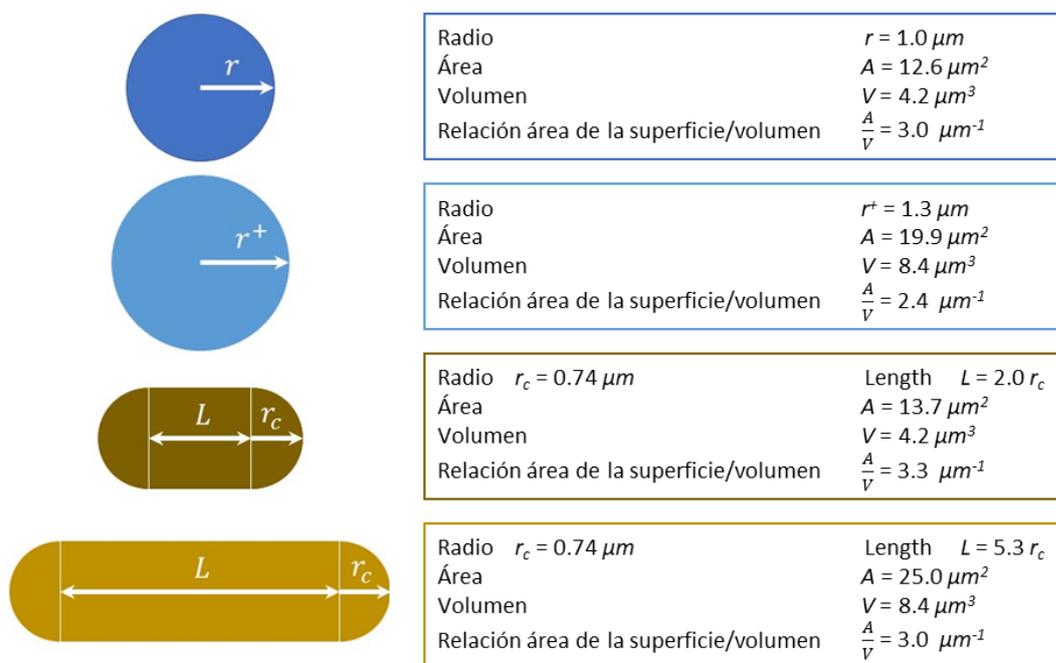


Figura 8 - Relaciones entre las escalas de longitud características (radio) de las células bacterianas en forma de cocoide esferoidal y de bastón con las correspondientes superficies celulares, volúmenes celulares y relaciones superficie/volumen.

La cuestión de la termodinámica se reduce a cómo los diferentes tipos de microorganismos generan y conservan la energía necesaria para el crecimiento y la reproducción por división celular (Bethke et al., 2011; Bird et al., 2011). Todas las formas de vida, incluidos los microorganismos, dependen estrictamente de las reacciones de oxidación para generar energía. En estas reacciones, una sustancia química reducida sufre una oxidación con transferencia de electrones a otra sustancia química más oxidada. Estas reacciones son espontáneas y exergónicas, lo que corresponde a una energía de Gibbs de reacción negativa (ΔG_r). La cantidad de energía que se libera es directamente proporcional a la diferencia del potencial redox (ΔEh) entre las reacciones de semicelda (o semirreacción) del donante de electrones reducido y del aceptor de electrones oxidado, como se muestra en la ecuación (16).

$$\Delta G_r = -nF\Delta Eh = -nF (Eh_{\text{aceptor de electron}} - Eh_{\text{donante de electron}}) \tag{16}$$

En donde:

- n = número de electrones transferidos en la reacción
- F = constante de Faraday (C/mol)

Los valores Eh del aceptor y del donante de electrones vienen dados por la ecuación de Nernst (ecuación (4)).

Los dos tipos principales de vías de generación de energía son la respiración y la fermentación. La respiración implica la transferencia de electrones a través de una cadena de intermediarios metabólicos, terminando finalmente con un aceptor terminal de electrones. En varios pasos de la cadena de transporte de electrones, la energía liberada se captura en forma bioquímica como trifosfato de adenosina (ATP). En la fermentación, el ATP se forma cuando un compuesto químico de estado de oxidación mixto se divide en dos, con una parte oxidada y la otra reducida. En comparación con la respiración, el rendimiento energético de la fermentación tiende a ser menor. Por este motivo, la respiración es la vía de generación de energía preferida de la mayoría de los organismos de la Tierra.

La respiración aeróbica que utiliza oxígeno molecular como aceptor terminal de electrones produce la mayor cantidad de energía. Ello se debe al elevado potencial redox estándar ($E^{\circ} = 1.23 \text{ V}$) de la semirreacción oxígeno-agua en relación con el de las sustancias químicas que pueden servir como donadores de electrones (**Tabla 1**). Pero lo que realmente diferencia a los microorganismos (especialmente los procariotas) de otras formas de vida es la amplia gama de otros aceptores terminales de electrones que se utilizan cuando no hay oxígeno disponible. Es lo que se denomina respiración anaeróbica.

Tabla 1 - Potenciales estándar de algunas semirreacciones de aceptor y donante de electrones.

Aceptores de electrones	Eh^0 (V)
$1/4 O_2 + H^+ + e^- = 1/2 H_2O$	1.23
$1/5 NO_3^- + 6/5 H^+ + e^- = 1/10 N_2 + 3/5 H_2O$	1.24
$1/2 MnO_2 + 2H^+ + e^- = 1/2 Mn^{2+} + H_2O$	1.22
$Fe(OH)_3 + 3H^+ + e^- = Fe^{2+} + 3H_2O$	1.07
$1/8 SO_4^{2-} + 9/8 H^+ + e^- = 1/8 HS^- + 1/2 H_2O$	0.25
$1/8 CO_2 + H^+ + e^- = 1/8 CH_4 + 1/4 H_2O$ (metano)	0.17
Donores de electrones	
$H^+ + e^- = 1/2 H_2$	0.00
$1/6 CO_2 + H^+ + e^- = 1/6 CH_3OH + 1/6 H_2O$ (metanol)	0.03
$1/4 CO_2 + H^+ + e^- = 1/4 CH_2O + 1/4 H_2O$ (formaldehído)	-0.07
$1/2 CO_2 + H^+ + e^- = 1/2 HCOOH$ (ácido fórmico)	-0.20
$CO_2 + H^+ + e^- = 1/2 C_2H_2O_4$ (ácido oxálico)	-0.48
$1/6 CO_2 + H^+ + e^- = 1/12 C_2H_4 + 1/3 H_2O$ (etileno)	0.07
$1/6 CO_2 + H^+ + e^- = 1/12 C_2H_5OH + 1/4 H_2O$ (etanol)	0.09
$1/8 CO_2 + H^+ + e^- = 1/8 CH_3COOH + 1/4 H_2O$ (ácido acético)	0.12
$1/4 CO_2 + H^+ + e^- = 1/24 C_6H_{12}O_6 + 1/4 H_2O$ (glucosa)	-0.01

La forma convencional de explicar la respiración anaeróbica utiliza la imagen icónica de los peldaños de una escalera energética, en la que cada intervalo descendente corresponde a una semirreacción de aceptor de electrones terminal con un potencial redox estándar más bajo. Así, la secuencia de aceptores de electrones terminales para la respiración anaeróbica, citada a menudo y que merece la pena memorizar, es la siguiente: nitrato, seguido de Mn(IV), Fe(III), sulfato y, por último, dióxido de carbono. Los correspondientes reductores conjugados de los aceptores terminales de electrones son nitrógeno, Fe(II) y Mn(II), sulfuro y metano/ácido acético.

Al mismo tiempo, la imagen de una escalera redox para la respiración anaerobia en varios aspectos no hace justicia a lo que ocurre en la naturaleza. En primer lugar, la escalera se parece más a un tobogán, o continuo, porque ΔGr no depende únicamente de Eh^0 (Figura 9); en cambio, Eh es una variable crítica determinada por las concentraciones reales de oxidantes y reductores conjugados según la ecuación de Nernst (ecuación (4)). En

segundo lugar, la lista convencional de aceptores terminales de electrones no refleja plenamente la gran cantidad de oxidantes potenciales disponibles para la respiración anaeróbica en entornos naturales. Entre ellos se incluyen diversas sustancias inorgánicas y orgánicas, algunas de las cuales son tóxicas para otros organismos. En tercer lugar, la captación de energía puede producirse simultáneamente en diferentes "peldaños" de la escala redox dentro de un entorno medioambiental determinado, por diferentes grupos de microorganismos o por una única comunidad microbiana que cambia de fuente de energía.

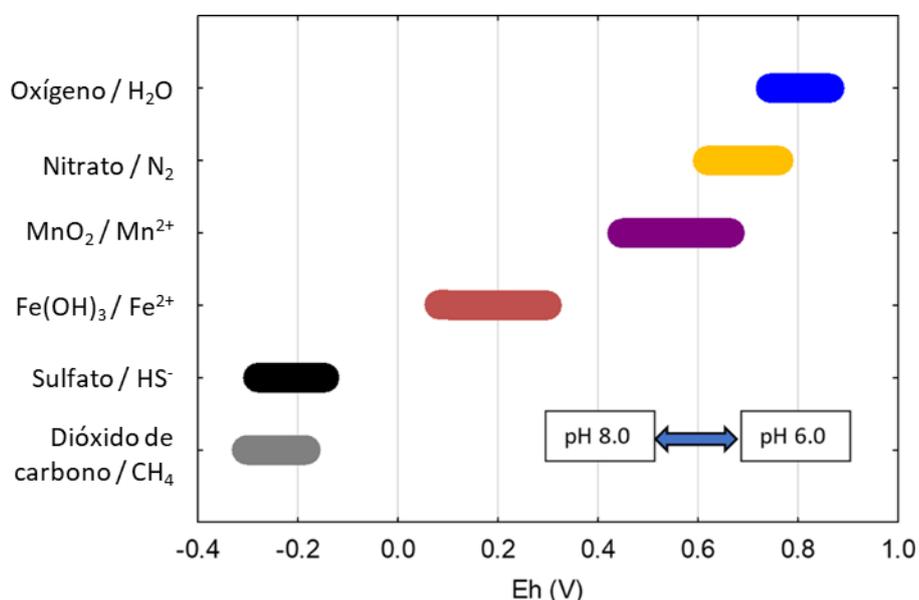


Figura 9 - Rango de potenciales de oxidación-reducción (Eh) para aceptores de electrones terminales comunes desde pH 6.0 (valores superiores) hasta pH 8.0 (valores inferiores). Los valores Eh se calcularon mediante la ecuación de Nernst (ecuación (4)) a partir de las semirreacciones que figuran en la **Tabla 1**. Se asumió una concentración de 10^{-5} M para todas las especies químicas disueltas distintas de los aceptores de electrones terminales. Se asumió una concentración de 10^{-5} M para todas las especies químicas disueltas distintas del H^+ , y una actividad unitaria para las fases minerales sólidas y el agua con valores atmosféricos de $pCO_2 = 10^{-3.50}$, $pO_2 = 10^{-0.68}$ y $pN_2 = 10^{-0.11}$ atm.

2.4 Grupos metabólicos

La clasificación de microorganismos procariontes tomando en cuenta su capacidad metabólica y su fisiología es muy empleada para describir cuáles son las funciones específicas que tienen los microbios en el funcionamiento de un ecosistema (Amend y Teske, 2005; Anderson et al., 2006; Shirokova y Ferris, 2013). Hay que señalar que los grupos que se definen con base en estos criterios pueden incluir microorganismos que en un principio no podrían ser clasificados como de este tipo si se considerasen solamente los criterios filogenéticos que se emplean en taxonomía. Por ejemplo, los microorganismos procariontes de varias líneas filogenéticas diferentes, incluidos varios filos y géneros en el dominio de *Bacteria*, así como algunas especies de *Archaea*, respiran de forma anaerobia gracias a la reducción del sulfato. A pesar de sus grandes diferencias filogenéticas, estos microorganismos procariontes reductores de sulfato representan un grupo metabólico

(fenotípico) distinto que desempeña un papel ecológico de gran importancia en el ciclo biogeoquímico del azufre y del carbono.

Además de esta categorización ecofisiológica basada en ser aceptores de electrones, se pueden utilizar otros dos criterios adicionales para definir los grupos metabólicos de los microorganismos procariotas: la fuente de energía que se emplea para alimentar el metabolismo celular y el proceso utilizado para adquirir el carbono que se necesita para soportar el crecimiento celular.

Los microorganismos procariotas capturan energía de reacciones catalizadas por la luz (fotótrofos) o de la oxidación de compuestos químicos reducidos (quimiótrofos) (**Figura 10**). Si bien la disponibilidad de energía luminosa del sol restringe el hábitat de los fotótrofos a ambientes superficiales, los quimiótrofos prosperan incluso en la oscuridad total que se puede encontrar en las profundidades del océano y en los hábitats subterráneos. Entre los quimiótrofos, se identifican los organotrofos que oxidan sustancias orgánicas reducidas, mientras que los litotrofos oxidan sustancias inorgánicas como el amonio (NH_4^+), el sulfuro (S_2^-) o el hierro ferroso (Fe^{2+}). En lo referente a la adquisición de carbono, los autótrofos dependen de la reducción del dióxido de carbono para producir material orgánico celular. Por el contrario, los heterótrofos (a menudo se consideran sinónimos de organotrofos) utilizan moléculas orgánicas preexistentes para fomentar el crecimiento y la división celular. Los fotoheterótrofos dependen de la luz para generar energía y de la materia orgánica como fuente de carbono. Estos diversos términos brindan definiciones ecofisiológicas prácticas para los diferentes grupos metabólicos de microorganismos procariotas que se encuentran en los sistemas naturales (**Figura 10**).

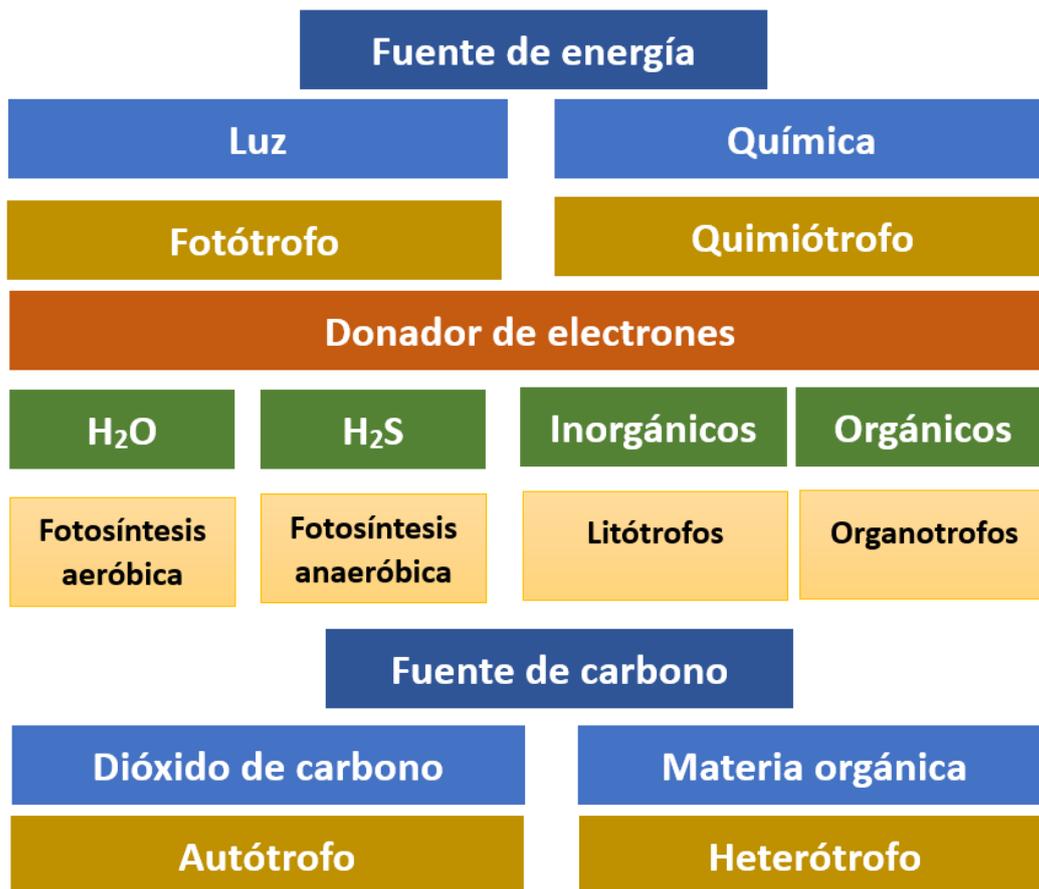


Figura 10 - Clasificación de los grupos funcionales de los microorganismos basada en la fuente de energía y de carbono.

3 Los sistemas de aguas subterráneas como hábitats para la vida microbiana

Los tipos de lugares en los que crecen y se multiplican los organismos vivos suelen describirse como hábitats. Cada hábitat se caracteriza por un conjunto de rasgos físicos y químicos esenciales para sustentar la vida. En el contexto de la hidrogeología, uno de los parámetros físicos más importantes para describir los distintos hábitats es la magnitud de la escala de longitud. En los sistemas de aguas subterráneas, las escalas de longitud se extienden desde grandes distancias de 10^3 m (1 km) hasta distancias tan pequeñas como 10^6 m ($1 \mu\text{m}$), dependiendo de cómo se defina el tamaño del hábitat. La escala de longitud es fundamental porque define otras propiedades físicas importantes para la habitabilidad, como las áreas de superficie y los volúmenes relativos de sólidos, agua, aire y otros fluidos. Estos factores no solo determinan dónde es posible que se refugie la vida, sino que también influyen en el movimiento del agua (con vínculos a la ley de Darcy a través de la conductividad hidráulica), la química de las aguas subterráneas y los procesos de transporte de masas reactivas (con vínculos a las relaciones de advección, dispersión y reacción).

A escala global, la enorme cantidad de agua que existe bajo tierra es difícil de imaginar, con estimaciones de volumen que se disparan hasta, y por encima de, decenas de millones de kilómetros cúbicos (Gleeson et al., 2015). Es casi tanta agua como la que hay en algunas cuencas oceánicas. Pero, sorprendentemente, toda esa agua subterránea es en su mayor parte invisible a la observación macroscópica ($> 10^{-4}$ m) porque está oculta en espacios porosos intersticiales microscópicos ($< 10^{-4}$ m) entre los granos minerales de los sedimentos, así como a lo largo de diaclasas y planos de fractura en el lecho rocoso. En consecuencia, la relación superficie mineral/volumen de agua en los sistemas de aguas subterráneas supera con creces la de los medios superficiales. Sin embargo, en lo que respecta al espacio vital real, la mayoría de los entornos subsuperficiales solo son accesibles para los microorganismos.

Para hacerse una idea de las limitaciones del espacio físico en los entornos subterráneos, la **Figura 11** compara el rango de tamaño de diferentes formas de vida con los diámetros de poro en arcillas y arenas no consolidadas, junto con los valores correspondientes para esquistos, areniscas, dolomitas y anchos de apertura en rocas fracturadas/articuladas. Aparte de algunas aberturas de fracturas y diaclasas más anchas que ocurren en las rocas, los macroeucariotas son demasiado grandes para vivir en entornos de aguas subterráneas. Incluso los microeucariotas no consiguen caber, ya que su rango de tamaño es similar al diámetro de los poros de las arenas, lo que significa que tienen muy poco espacio para crecer y dividirse. En cambio, el menor tamaño de los procariontes les permite vivir cómodamente dentro de la mayoría de las arenas porosas no consolidadas. Aunque es posible el crecimiento planctónico y el movimiento entre poros,

la mayoría de las células crecen en biopelículas adheridas a granos minerales o superficies rocosas. En general, los microorganismos adheridos dominan los sistemas de aguas subterráneas en términos de biomasa y actividad; sin embargo, existe un equilibrio dinámico entre los procesos de adhesión y desprendimiento, ya que las bacterias transitan entre los modos de crecimiento planctónico y adherido en respuesta a los cambios en las condiciones ambientales, como la disponibilidad de nutrientes o las fluctuaciones en el potencial de oxidación-reducción. En los confines más estrechos de los poros de las arcillas y las rocas sedimentarias consolidadas, como las *shales*, el espacio empieza a convertirse en un factor limitante no solo para las células procariotas, sino también para las partículas virales individuales (Rebata-Landa y Santamarina, 2006).

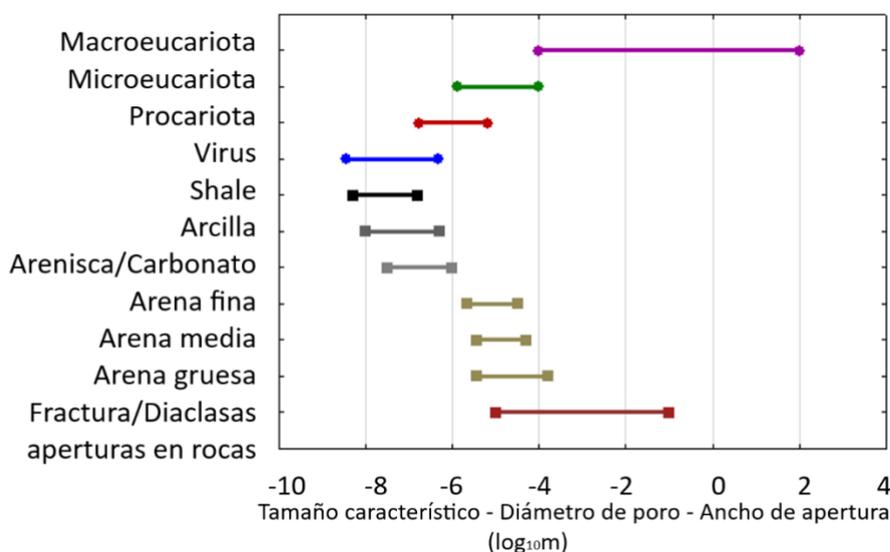


Figura 11 - Comparación de los diámetros característicos de los poros en sedimentos y de los anchos de las aberturas de fracturas/juntas en rocas con el rango de tamaños de virus, procariotas, microeucariotas y macroeucariotas. La línea discontinua azul representa el límite superior de tamaño de todos los microorganismos, mientras que la línea discontinua roja define el límite inferior de tamaño de los procariotas.

El descenso constante de las concentraciones de células microbianas a medida que aumenta la profundidad del subsuelo está bien documentado. En los sistemas de aguas subterráneas cercanas a la superficie, a profundidades inferiores a 100 m, el número de células es, por término medio, de $10^7/g$ en las muestras de sedimentos y de unos $10^5/mL$ en las muestras de aguas subterráneas. Estas concentraciones celulares disminuyen hasta valores medios respectivos de aproximadamente $10^4/g$ y $10^3/mL$ a profundidades >1000 m. El aumento de la fuerza iónica con la profundidad se ha identificado como un factor particularmente importante que contribuye a reducir el número de células en el subsuelo profundo. En la zona del suelo, la disminución del número de microorganismos en un intervalo de profundidad de 1 a 2 m suele correlacionarse con la disminución de la concentración de carbono orgánico. Esto se debe a que los heterótrofos aeróbicos degradan y consumen materia orgánica rica en celulosa procedente de las plantas. A mayores profundidades, la relación entre las concentraciones de células microbianas y el carbono

orgánico se atenúa, lo que implica un mayor papel de los microorganismos litoautótrofos en el ciclo del carbono subsuperficial profundo.

Otro parámetro físico importante que define los hábitats en los sistemas de aguas subterráneas es la temperatura (Amend y Teske, 2005; Taylor y Stefan, 2009; Bonte et al., 2013a,b). La temperatura es un factor crítico, ya que controla cuándo y dónde el agua existe en estado líquido, lo cual es un requisito absoluto para la vida. En el caso del agua pura, es entre 0 y 100 °C a una presión estándar de 1 atm. Las tasas de los procesos metabólicos y las reacciones químicas, así como la estabilidad de las biomoléculas, dependen de la temperatura. La densidad y la viscosidad del agua también son sensibles a la temperatura, al igual que el transporte de metabolitos y otras sustancias químicas por difusión molecular.

A diferencia de las variaciones climáticas estacionales en la superficie, el elevado calor específico del agua, las propiedades aislantes de los materiales geológicos y la falta de irradiación solar mantienen las aguas subterráneas poco profundas cerca de la temperatura media anual del aire (Menberg et al., 2014; Benz et al., 2017). A excepción de las regiones polares, esto significa que la mayoría de los sistemas de aguas subterráneas poco profundas (a no más de 60 m de profundidad) de todo el mundo se encuentran muy dentro del rango de temperatura de hábitat requerido por los microorganismos (**Figura 12**).

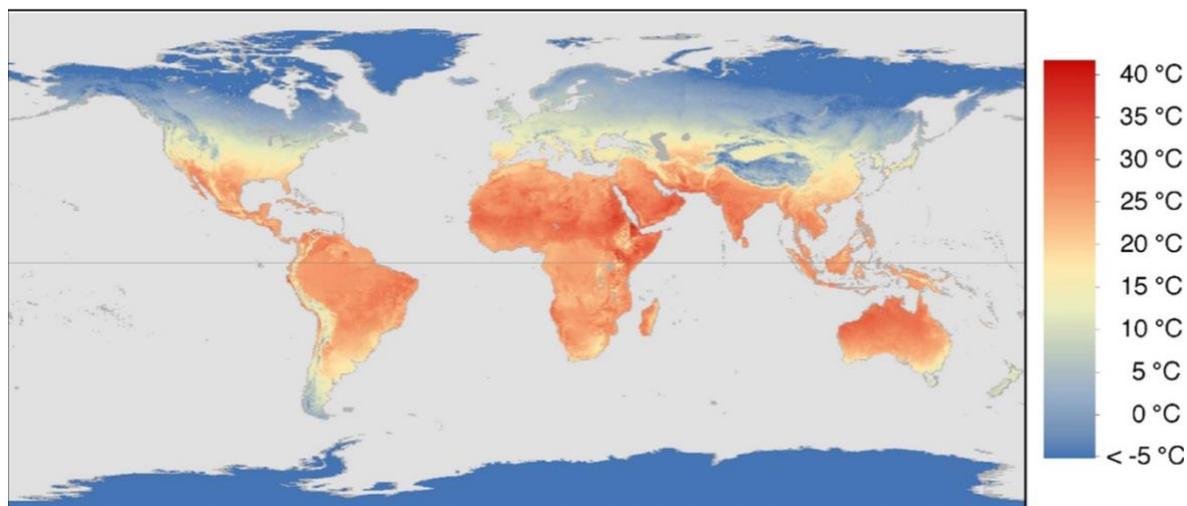


Figura 12 - Estimaciones globales de la temperatura de las aguas subterráneas poco profundas (< 60m) (Reproducido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution 3.0 de Benz et al., 2017).

La temperatura tiende a aumentar con la profundidad del subsuelo debido a las múltiples fuentes de calor que existen en el interior de la Tierra, como la desintegración radioactiva y el calor latente de la cristalización del núcleo. Aunque es variable, especialmente en las regiones volcánicas calientes, el gradiente geotérmico típico en la mayoría de las zonas del mundo es de unos 25 a 30°C/km. Esto significa que las temperaturas se acercarán a los 100°C a profundidades de 3 a 4 km, lo que da una idea

aproximada de la profundidad a la que puede existir vida microbiana en los sistemas de aguas subterráneas (Colwell y D'Hondt, 2013).

Numerosas propiedades químicas son relevantes para la caracterización de los hábitats microbianos en los sistemas de aguas subterráneas, incluyendo el pH (ecuación (2)), el potencial redox (Eh) (ecuación (4)) y la fuerza iónica (ecuación (5)). Además, las concentraciones de diferentes materiales sólidos, gases y solutos disueltos influyen en la definición de las condiciones químicas generales de un hábitat, especialmente en términos de disponibilidad de nutrientes y suministro de energía. Estas concentraciones se suelen indicar en diferentes unidades, por ejemplo, como porcentajes, partes por millón o molaridad. Del mismo modo, en el caso de los gases, las partes por millón por volumen y la presión parcial suelen utilizarse indistintamente. Por lo tanto, es importante poder convertir de una unidad a otra en cualquier investigación cuantitativa de estos parámetros dentro de los sistemas de aguas subterráneas.

4 Influencia de los microorganismos en la química de las aguas subterráneas

La composición química de las aguas subterráneas está regulada por interacciones heterogéneas entre la fase sólida, líquida y gaseosa (Glynn y Plummer, 2005). Estos sistemas reactivos presentan múltiples contribuciones de reacciones ácido-base, complejación superficial y acuosa, y de reacciones óxido-reducción, así como la frecuente participación de microorganismos procariontes. También entran en juego procesos de transporte de masas como la advección y la dispersión, que dan lugar a cambios en la química de las aguas subterráneas en una amplia gama de escalas de tiempo y longitudes de trayectorias de flujo.

Los procariontes contribuyen a las reacciones químicas en los sistemas de aguas subterráneas de dos maneras. En primer lugar, la actividad metabólica de las enzimas puede acelerar (catalizar) las reacciones lentas y obligar a que los cocientes de reacción correspondientes se desplacen rápidamente hacia o desde el equilibrio. En segundo lugar, las células procariontes se comportan como sólidos reactivos microscópicos debido a la reactividad química de los grupos funcionales, como los sustitutos carboxilo o fosforilo, en los componentes macromoleculares de las paredes celulares, las vainas externas y los EPS. La intervención metabólica de los microbios en las reacciones químicas afecta a muchos aspectos de la química de las aguas subterráneas, como el pH, las condiciones redox, los procesos de disolución y precipitación de minerales y la especiación química de los solutos (Chapelle, 2000). Como sólidos reactivos, las bacterias no sólo contribuyen a la sorción (complejación superficial) de los iones disueltos, sino que también sirven como sitios de nucleación heterogénea para la precipitación de minerales.

4.1 Equilibrio químicos y tasas de reacción en aguas subterráneas

Las descripciones de los procesos químicos en los sistemas de aguas subterráneas suelen formularse en términos de acción y equilibrio de masas, así como de cinética de reacción. La aplicación de estos aspectos básicos de la química física y la termodinámica proporciona una visión cuantitativa del alcance, la dirección y la velocidad de las reacciones químicas, incluidas las que implican a los microorganismos. Una reacción general se presenta en la ecuación (17).



La correspondiente constante de equilibrio de acción de masas K se calcula como se presenta en la ecuación (18).

$$K = \frac{\{C\}^c\{D\}^d}{\{A\}^a\{B\}^b} = e^{\frac{-\Delta G^0}{RT}}; \Delta G^0 = -RT \ln K \quad (18)$$

donde:

$\{A\}, \{B\}$ = actividad de los reactivos (sin dimensiones)

$\{C\}, \{D\}$ = actividad de los productos *en el equilibrio* con coeficientes estequiométricos dados en minúsculas (sin dimensiones)

R = constante universal de los gases (ML²)/(T²°K mol)

T = temperatura (°K)

ΔG^0 = energía de Gibbs estándar de la reacción (ML²)/(T² mol)

Para una reacción reversible en equilibrio, las concentraciones de reactivos y productos permanecen constantes. Esta condición requiere que las tasas de las reacciones hacia adelante (R_f) y hacia atrás (R_r) sean iguales, como se presenta en la ecuación (19), de manera que la constante de equilibrio puede expresarse como la ecuación (20) con los correspondientes coeficientes de tasa hacia adelante (k_f) y hacia atrás (k_r).

$$R_f = k_f\{A\}^a\{B\}^b = R_r = k_r\{C\}^c\{D\}^d \quad (19)$$

$$K = \frac{k_f}{k_r} = \frac{\{C\}^c\{D\}^d}{\{A\}^a\{B\}^b} \quad (20)$$

La dependencia de los coeficientes de velocidad de la temperatura y de la energía de activación de la reacción es evidente a partir de la relación de Arrhenius (ecuación (1)).

Una condición mucho más interesante, especialmente para los sistemas de aguas subterráneas, es cuando una reacción no está en equilibrio. En este caso, la energía de Gibbs para que se produzca una reacción (ΔG_r) se describe mediante la ecuación (21).

$$\Delta G_r = \Delta G^0 + RT \ln \frac{\{C\}^c\{D\}^d}{\{A\}^a\{B\}^b} \quad (21)$$

Para las actividades de reactivos y productos observados lejos del equilibrio, definiendo el cociente de reacción de los productos a los reactivos como Q , se obtiene la ecuación (22).

$$\Delta G_r = \Delta G^0 + RT \ln Q = RT \ln \frac{Q}{K} \quad (22)$$

A partir de esta expresión, se encuentra que en el equilibrio Q es igual a K , por lo que $\Delta G_r = 0$. Si Q es menor que K , ΔG_r es negativo. Esto significa que la reacción es espontánea. Por el contrario, ΔG_r es positivo cuando Q es mayor que K , lo que indica que la reacción no es posible (a menos que se suministre energía desde otra reacción espontánea). La capacidad de utilizar reacciones espontáneas que producen energía para impulsar reacciones energéticamente desfavorables es una característica que define los procesos biosintéticos en el metabolismo microbiano.

La comparación de los cocientes de reacción con las constantes de equilibrio se aplica ampliamente al estudio de las reacciones de disolución y precipitación de minerales; sin embargo, existen sutiles diferencias de terminología e interpretación. Para las reacciones de disolución, la constante de equilibrio se conoce como constante del producto de solubilidad (K_{sp}) y el cociente de reacción se denomina producto de actividad iónica (IAP). El índice de saturación (SI) se define mediante la ecuación (23).

$$SI = \log_{10} \frac{IAP}{K_{sp}} \quad (23)$$

Cuando el IAP es igual a K_{sp} , $SI = 0$ y se dice que la solución está en equilibrio con respecto al mineral en consideración. Si el IAP es mayor que K_{sp} , el SI será positivo, lo que indica que la solución está sobresaturada y es posible la precipitación del mineral. Si el IAP es menor que K_{sp} , el SI será negativo, lo que indica que la solución está sobresaturada y es posible la disolución del mineral.

4.2 Equilibrio de los carbonatos y pH del agua subterránea

El pH inicial del agua subterránea es el resultado del equilibrio entre el agua meteórica que se infiltra y el dióxido de carbono de origen atmosférico (Langmuir, 1997). Este equilibrio da como resultado la formación de ácido carbónico diprótico (un ácido diprótico produce dos iones H^+ por molécula de ácido), que posteriormente se disocia para formar primero el ion bicarbonato y luego el ion carbonato. Ya que el primer producto de desprotonación del ácido carbónico es el bicarbonato, el comportamiento anfótero de este ión (es decir, su capacidad para reaccionar como ácido monoprótico o como base) es particularmente importante pues controla el pH del agua subterránea.

Las interacciones entre especies inorgánicas disueltas son complejas; sin embargo, el efecto del equilibrio de los carbonatos en el pH del agua se puede estudiar considerando el balance, con base en la carga iónica, que se alcanzaría considerando un agua meteórica prístina tal y como se muestra en la ecuación (24).

$$[\text{H}^+] = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{OH}^-] \quad (24)$$

En el rango de pH en el que se encuentran la mayoría de las aguas naturales, las concentraciones de iones carbonato e hidroxilo son mucho menores que la concentración del ion bicarbonato, lo que simplifica el balance de cargas como se muestra en la ecuación (25).

$$[\text{H}^+] = [\text{HCO}_3^-] \quad (25)$$

Combinando este balance de cargas con las constantes de equilibrio de la acción de masas para la formación de ácido carbónico ($K_H = 10^{-1.47}$) y la disociación en bicarbonato ($K_1 = 10^{-6.35}$) se obtiene la concentración de protones en función de la presión parcial del dióxido de carbono ($p\text{CO}_2 = 10^{-3.5}$) como se muestra en la ecuación (26).

$$[\text{H}^+] = \sqrt{(K_1 K_H p\text{CO}_2)} \quad (26)$$

Esta ecuación da como resultado un pH de 5,7 (correspondiente a $-\log[\text{H}^+]$; ecuación (2)). La ecuación también permite deducir que un aumento en la presión parcial del dióxido de carbono tenderá a disminuir el pH, mientras que una disminución en la presión parcial del dióxido de carbono dará como resultado un aumento en el pH.

En el agua subterránea, el dióxido de carbono se produce por la degradación de la materia orgánica provocada por la presencia de microorganismos heterótrofos, sobre todo cuando el agua meteórica se infiltra a través del suelo y la zona no saturada. Como consecuencia, las presiones parciales de dióxido de carbono bajo la superficie del suelo suelen ser más altas que en la atmósfera a nivel del suelo. Este proceso provoca el aumento en la formación de más ácido carbónico, que es la principal fuente de los protones que fomentan las reacciones de meteorización y disolución de minerales en los sistemas acuíferos (Kump et al., 2000; Wilson, 2004).

Hay que tener en cuenta que la actividad microbiana heterótrofa tiende a aumentar la presión parcial del dióxido de carbono, mientras que los microorganismos autótrofos tienden al efecto contrario, ya que dependen de la absorción y reducción de dióxido de carbono para producir material orgánico celular. Si la demanda metabólica de carbono es suficientemente alta, puede producirse una reducción de la presión parcial de dióxido de carbono. Para compensar, el pH aumenta a medida que los protones se recombinan con el ion bicarbonato para subsanar la disminución en las concentraciones de ácido carbónico.

En el subsuelo, la influencia de los microorganismos autótrofos sobre el equilibrio de los carbonatos y el pH no suele ser tan pronunciada como la de los heterótrofos, sobre todo en aquellos sistemas amortiguados por concentraciones más elevadas de carbono inorgánico disuelto.

4.3 Condiciones redox

Las reacciones de oxidación-reducción mediadas por microorganismos desempeñan un papel importante en la regulación de las condiciones redox en los sistemas de aguas subterráneas (Kuma y Riyazuddin, 2012; Liebensteiner et al., 2014; Tesoriero et al., 2015; Enright y Ferris, 2016; Enright et al., 2019). Esto se debe a que los microorganismos recurren a la transferencia de electrones desde donantes de electrones reducidos a aceptores de electrones terminales oxidados como fuente de energía para el crecimiento y la división celular. La energía de Gibbs total de tales reacciones está determinada por la diferencia entre los potenciales redox de semirreacción del oxidante (aceptor de electrones) y del reductor (donante de electrones) (ecuación (16)). Las reacciones que proporcionan la máxima cantidad de energía son favorecidas por los microorganismos y suelen dominar sobre las reacciones competidoras. Los donantes de electrones más comunes en los sistemas de aguas subterráneas son el carbono orgánico disuelto y en partículas (Shen et al., 2015). En algunos casos, las formas reducidas de nitrógeno, hierro y azufre son importantes. Entre los aceptores de electrones comúnmente disponibles, el oxígeno produce más energía que cualquier otro oxidante en la respiración aeróbica. Cuando se agota el oxígeno, el siguiente aceptor de electrones energéticamente más favorable en la respiración anaeróbica es el nitrato, seguido del manganeso, el hierro férrico, el sulfato y, por último, el dióxido de carbono.

La naturaleza secuencial de la utilización de aceptores de electrones por parte de los microorganismos, que se presentó en la Sección 3 como la "escalera redox", tiende a promover el desarrollo de condiciones cada vez más reductoras a lo largo de las vías de flujo de las aguas subterráneas en función de la disponibilidad de donantes de electrones (**Figura 13**). A medida que cambian las condiciones redox, la identificación de zonas específicas en las que la actividad microbiana está dominada por un único proceso de aceptación de electrones puede servir para identificar el agotamiento secuencial de oxidantes y la correspondiente producción de reductores conjugados característicos (Groffman y Crossey, 1999; McMahon y Chapelle, 2008). En la **Tabla 2** se indican las concentraciones umbral características que se han sugerido para la identificación de zonas redox en sistemas de aguas subterráneas. Es importante tener en cuenta que se debe tener cierto cuidado al interpretar estas concentraciones para tener en cuenta factores como las diferencias en la composición de la comunidad microbiana, la disponibilidad de donantes de electrones y la escala a la que se realiza el muestreo de aguas subterráneas.

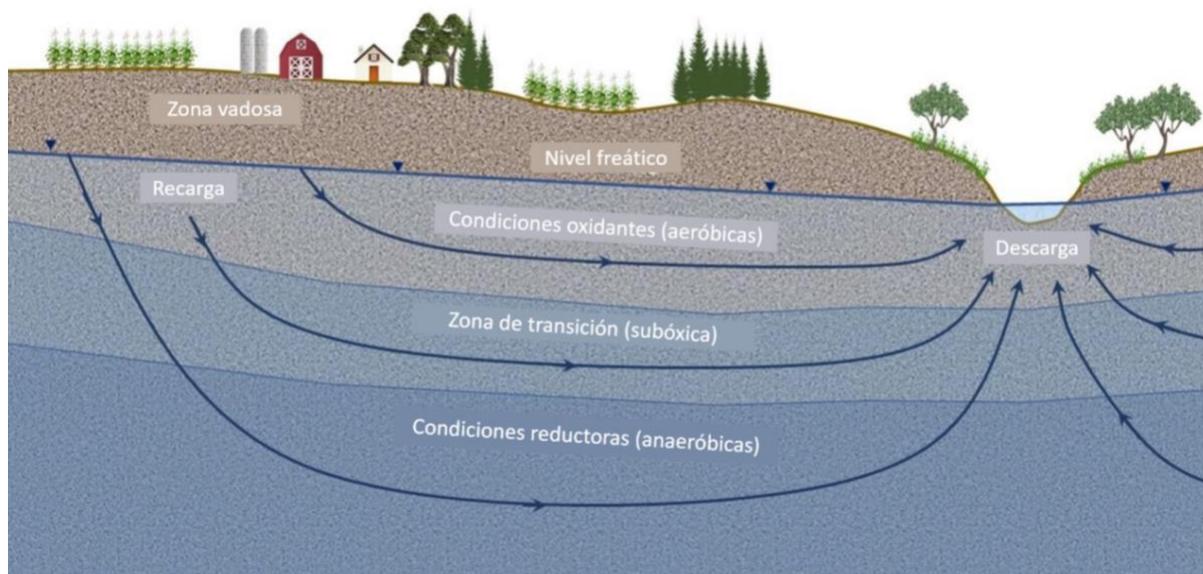


Figura 13 - Evolución de las condiciones redox a lo largo de las trayectorias de flujo de las aguas subterráneas. Normalmente, las condiciones redox tienden a ser más reductoras con el aumento de la distancia recorrida y el tiempo de residencia del agua en el subsuelo. Las condiciones redox en las zonas de descarga tienden a ser variables debido a la mezcla de aguas subterráneas y superficiales.

Tabla 2 - Concentraciones umbral sugeridas para identificar procesos redox microbianos en sistemas de aguas subterráneas (McMahon y Chapelle, 2008).

Concentración mg/L				
Aeróbico (óxico)				
Reducción de O ₂	≥0.5		<0.05	<0.1
Anaeróbico (anóxico)				
Reducción de NO ₃ ⁻	<0.5	≥2.2	<0.05	<0.1
Reducción de Mn(IV)	<0.5	<2.2	≥0.05	<0.1
Reducción de Fe(III)/SO ₄ ²⁻	<0.5	<2.2	≥0.1	≥0.5
Reducción de CO ₂	<0.5	<2.2	>0.1	<0.5

El primer aceptor de electrones que es consumido a lo largo de las vías de flujo de las aguas subterráneas es el oxígeno. Se cree que la transición de la respiración aeróbica a la anaeróbica tiene lugar cuando las concentraciones de oxígeno caen por debajo de un nivel de aproximadamente 0.5 mg/L. Para el inicio de la reducción de nitratos (desnitrificación), el umbral de concentración de oxígeno podría ser tan alto como 2.0 mg/L, lo que implica un grado moderado de solapamiento con la respiración aeróbica. Esto es coherente con el crecimiento de algunos microorganismos heterótrofos como anaerobios facultativos, que utilizan tanto la respiración aeróbica como la anaeróbica. La reducción del nitrato también es utilizada por varios litótrofos en la oxidación de donantes de electrones inorgánicos como el sulfuro o el hierro ferroso. Las fuentes de nitrato en las aguas subterráneas incluyen los fertilizantes agrícolas, así como la oxidación microbiana litotrófica del amonio liberado de la descomposición de sustancias orgánicas ricas en nitrógeno por microorganismos.

En los sistemas de aguas subterráneas, el Mn(IV) y el Fe(III) son relativamente abundantes, pero suelen aparecer como precipitados minerales de óxido insolubles en lugar de como especies iónicas disueltas. Por este motivo, las concentraciones elevadas de Mn^{2+} y Fe^{2+} disueltos producidas por la disolución reductora de óxidos de hierro y manganeso se utilizan como indicadores para identificar zonas de reducción microbiana activa de Mn(IV) y Fe(III). La susceptibilidad del Mn^{2+} y el Fe^{2+} a la oxidación química y microbiana, la precipitación mineral y los procesos de sorción en fase sólida añaden otra capa de complejidad biogeoquímica que podría dar lugar a una subestimación del alcance de la reducción del Mn(IV) y el Fe(III).

Una vez agotados el oxígeno y el nitrato, a veces es difícil distinguir entre las zonas de reducción activa del Fe(III) y del sulfato. Esto está relacionado con la dependencia energética de la reducción de Fe(III) de la forma cristalina de los óxidos de hierro presentes en un sistema de aguas subterráneas, así como con la variabilidad natural de las concentraciones de sulfato disuelto. Como regla general, los óxidos férricos hídricos poco ordenados son más fácilmente reducibles por los microorganismos que las variedades cristalinas como la goethita o la hematites (Roden et al., 2004; Langley et al., 2009a). Estos óxidos férricos de baja complejidad pueden considerarse más biodisponibles, del mismo modo que los azúcares monosacáridos simples son más adecuados para los microorganismos de levadura que los polisacáridos de cadena larga. Además, las concentraciones más altas de sulfato (≥ 0.5 mg/L) son energéticamente más favorables para la reducción del sulfato. Las concentraciones elevadas de sulfuro también pueden usarse como un proxy para la reducción de sulfato, sujeto a las mismas advertencias que se aplican a los proxies de Mn y Fe para la reducción de Mn(IV) y Fe(III), respectivamente.

Las condiciones redox en las que la reducción del dióxido de carbono se convierte en el proceso respiratorio anaeróbico predominante suelen ser altamente reductoras debido a concentraciones reducidas de aceptores de electrones más fuertemente oxidantes como el sulfato (< 0.5 mg/L). Resulta tentador utilizar la presencia de metano como indicador de la reducción microbiana del dióxido de carbono; sin embargo, esto puede inducir a error, ya que algunos microbios metanogénicos producen metano a partir de la fermentación del ácido acético en lugar de la reducción del dióxido de carbono. Otros microorganismos producen ácido acético a partir de la reducción de dióxido de carbono en lugar de la reducción de metano.

Una forma adicional de seguir las variaciones en las condiciones redox a lo largo de un flujo de agua subterránea es seguir la evolución de la composición de la comunidad microbiana desde la zona vadosa no saturada hasta la zona saturada inmediatamente por debajo del nivel freático. Esto puede lograrse utilizando técnicas de biología molecular para identificar y cuantificar diferentes grupos metabólicos de microorganismos. Un estudio sobre un acuífero de arena prístina poco profundo descubrió que la abundancia relativa de microorganismos que utilizan oxígeno como aceptor de electrones disminuye a medida que

el agua se infiltra a través de la zona vadosa y se aísla cada vez más de la atmósfera (Figura 14). La aparente preferencia por el nitrato como aceptor de electrones puede atribuirse a la capacidad de algunos microorganismos para crecer como anaerobios facultativos. Por debajo del nivel freático, la utilización del oxígeno como aceptor de electrones disminuye, mientras que el nitrito, el Fe(III) y el sulfato adquieren mayor importancia. En cuanto a los donantes de electrones (la fuente de energía), la materia orgánica y los procesos heterótrofos dominan por encima y por debajo del nivel freático. A excepción de los microorganismos que oxidan el Fe(II) en la zona no saturada, la abundancia relativa de litótrofos que utilizan donantes de electrones inorgánicos es menor que la de sus homólogos heterótrofos. Los minerales reducidos que contienen Fe(II), como la biotita y los anfíboles, son candidatos como posibles fuentes de Fe(II) para apoyar el crecimiento microbiano litotrófico, particularmente en condiciones relativamente oxidantes por encima del nivel freático.

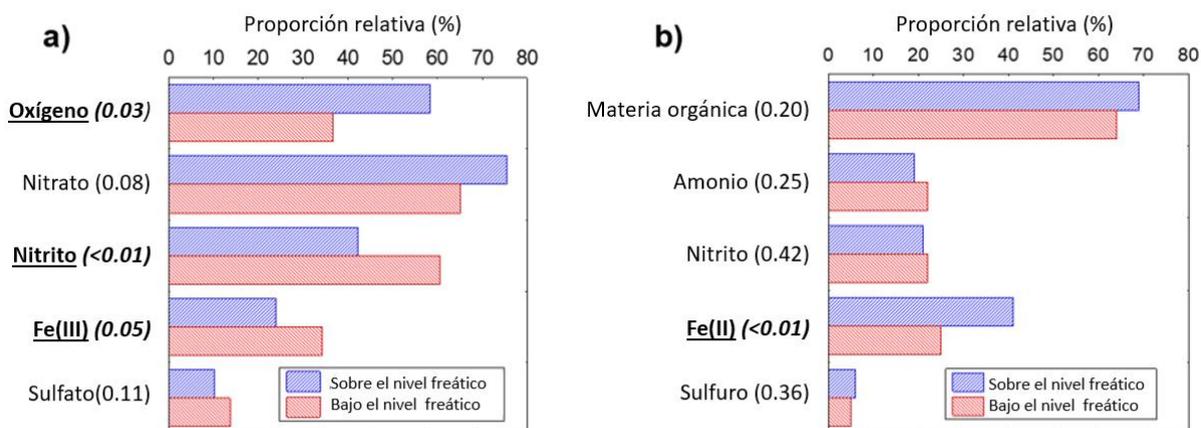


Figura 14 - Proporción relativa del uso potencial de a) aceptores de electrones y b) donantes de electrones entre las bacterias de muestras de testigos obtenidas por encima y por debajo del nivel freático en un acuífero de arena prístina poco profundo en el Escudo Canadiense. Los valores p de las pruebas t para la diferencia en la media de las proporciones relativas de bacterias por encima y por debajo del nivel freático figuran entre paréntesis; los valores significativos ($p < 0.05$) están en cursiva y los grupos metabólicos correspondientes están subrayados en negrita (adaptado de Shirokova y Ferris, 2013).

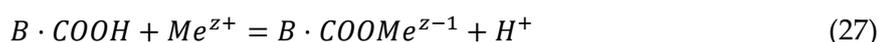
Las contribuciones microbianas a las transformaciones redox en los sistemas de aguas subterráneas no se limitan estrictamente a los aceptores de electrones comunes que dominan en la respiración anaeróbica. De hecho, los posibles oxidantes para los procesos metabólicos en condiciones reductoras incluyen una amplia variedad de sustancias inorgánicas y orgánicas, muchas de las cuales son contaminantes ambientales. Los reductores conjugados que surgen del uso de estos aceptores de electrones atípicos por parte de los microorganismos suelen mostrar propiedades físicas, químicas y biológicas diferentes a las de los compuestos originales. Tomando el cromo como ejemplo, la reducción microbiana de Cr(VI) en forma de cromato disuelto (CrO_4^{2-}) a Cr(III) produce el ion Cr^{3+} , que es altamente insoluble. Una diferencia importante entre los estados de

oxidación del Cr(VI) y del Cr(III) es que el cromo hexavalente es altamente tóxico, mientras que el cromo trivalente es un importante nutriente traza. El arseniato (AsO_4^{3-}) es otro aceptor de electrones destacable en las aguas subterráneas porque la intoxicación por arsénico es un riesgo para la salud humana (Gorra et al., 2012). Entre los contaminantes orgánicos de las aguas subterráneas, se sabe que los disolventes clorados altamente oxidados, como el tetracloroetano (PCE) y el tricloroetano (TCE), se comportan como aceptores de electrones y sufren una dechloración reductora gradual en el metabolismo microbiano. Si bien esto contribuye a la atenuación del PCE y el TCE, un resultado indeseable en algunos entornos es la producción y acumulación del producto intermedio cancerígeno, el cloruro de vinilo (CV).

4.4 Comportamiento de las bacterias como sólidos geoquímicamente reactivos

La reactividad de las células microbianas en fase sólida está relacionada con la presencia de grupos funcionales orgánicos ácidos, como son el carboxilo y el fosforilo, en los polímeros estructurales de sus paredes celulares, en capas externas y en los polisacáridos extracelulares (Kulczycki et al., 2002, 2005; Kennedy et al., 2011; Hao et al., 2013). La desprotonación de estos grupos funcionales contribuye a que aparezca una carga superficial en las células lo que proporciona sitios que favorecen la formación de complejos que permiten la sorción electrostática de cationes disueltos en estos sitios (Martínez y Ferris 2001; Smith y Ferris, 2001; Sokolov et al., 2001; Phoenix et al., 2007). Estas reacciones son de gran interés, sobre todo, cuando se produce la partición en fase sólida de los iones disueltos en el agua subterránea, y cuando los iones se presentan en una concentración inferior a la determinada por la solubilidad de cualquier mineral que esté presente en la fase sólida.

La ecuación (27) representa una reacción general de sorción competitiva entre un protón (H^+) y un catión metálico (Me^{z+}) en un sitio de unión carboxilo superficial protonado en una célula microbiana ($\text{B} \cdot \text{COOH}$):



La liberación de protones y la sorción de cationes metálicos se puede describir mediante la constante de velocidad aparente (K_{app}) y la constante de sorción del pH (K_{pH}) (ecuación (28)).

$$K_{pH} = \frac{K_{app}}{[\text{H}^+]} = \frac{[\text{B} \cdot \text{COOMe}^{z-1}]}{[\text{B} \cdot \text{COOH}][\text{Me}^{z+}]} \quad (28)$$

Esta expresión de la ley de acción de masas permite deducir que la sorción de iones por parte de los microorganismos depende no sólo de la concentración de los protones (pH) y cationes metálicos disueltos, sino también del número de grupos químicos reactivos que hay en cada célula.

La dependencia del pH de las reacciones de sorción de iones es una característica intrínseca relevante de los sorbentes en fase sólida, incluidos los microorganismos. Para aquellos metales que, normalmente, se presentan como cationes en solución, la sorción aumenta significativamente a medida que se incrementa el pH y los grupos superficiales se desprotonan. Por el contrario, si se presentan como oxoaniones metálicos y metaloides se absorben más fácilmente a valores de pH bajos a medida que los grupos superficiales se protonan.

Las propiedades químicas de los iones sorbato también influyen en el comportamiento del proceso de sorción. Un factor particularmente importante es el potencial iónico, o la relación entre la carga eléctrica y el radio de un ion, ya que la adsorción de aquellos iones más pequeños y altamente cargados es más fácil que la de los iones más grandes y débilmente cargados. Un efecto similar se produce cuando se da un cambio en la carga iónica como resultado de las reacciones de complejación acuosas ya que la fuerza de sorción tiende a disminuir cuando los iones se complejan.

Para describir la cantidad de una especie química disuelta que es adsorbida por un sorbente en función del aumento de la concentración a una temperatura constante se puede utilizar la isoterma de sorción. Hay tres tipos principales de isotermas de sorción para cuantificar las reacciones de sorción que involucran bacterias y otros sólidos sorbentes. Un primer tipo de isoterma de sorción, considerando un catión metálico como sorbato, es la definida por la ecuación (29) donde se identifica una variable que representa el coeficiente de distribución (partición) lineal (K_d):

$$[B \cdot Me^{z-1}] = K_d [Me^{z+}] \quad (29)$$

Una limitación importante de esta isoterma de distribución lineal (**Figura 15a**) es que no considera que existe un número finito de sitios de sorción en el sorbente presente en fase sólida. Es común que, en lugar de aumentar la cantidad absorbida de forma constante al incrementar a su vez las concentraciones de sorbato, esta cantidad tienda a disminuir progresivamente a medida que se ocupan los sitios de sorción. Este hecho puede llevar a sobreestimar la cantidad de una especie química que se absorbe, sobre todo en los casos en que las concentraciones de sorbato son altas. La desviación de este comportamiento lineal se puede representar, hasta cierto punto, con la isoterma empírica de sorción de Freundlich que se describe en la ecuación (30).

$$[B \cdot Me^{z-1}] = K_F [Me^{z+}]^{1/n} \quad (30)$$

En donde:

K_F = Coeficiente de sorción de Freundlich (L^3/M)

$1/n$ = exponente de no linealidad (**Figura 15b**)

Cuando $n = 1$, la isoterma de Freundlich adquiere la expresión de una isoterma de distribución lineal. La isoterma de Freundlich tiene también sus limitaciones porque tampoco incluye, de forma explícita, cual es el número de sitios de sorción disponibles, ni permite representar variaciones del pH y de la fuerza iónica de la solución. Todo ello dificulta la comparación entre diferentes casos de estudio de interpretaciones que se dan de los datos de sorción.

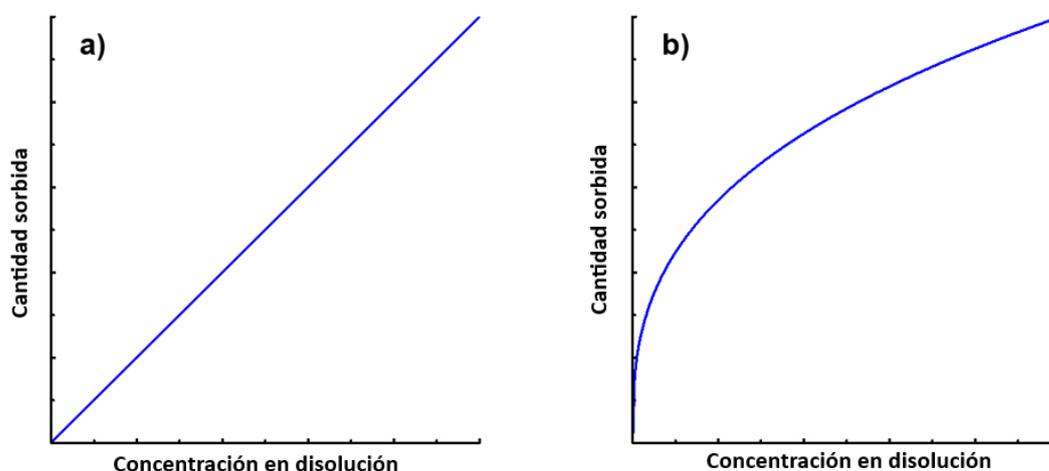


Figura 15 - Comparación de la cantidad adsorbida en función del aumento de la concentración de sorbato disuelto en equilibrio predicha según: a) una isoterma de distribución lineal, y b) una isoterma de sorción de Freundlich.

La isoterma de sorción de Langmuir es el tercer tipo de isoterma de sorción (**Figura 16**). La isoterma de Langmuir, deducida a partir de la ley de acción de masas y de las constantes de equilibrio, es utilizada frecuente en áreas de la geoquímica ambiental y microbiana.

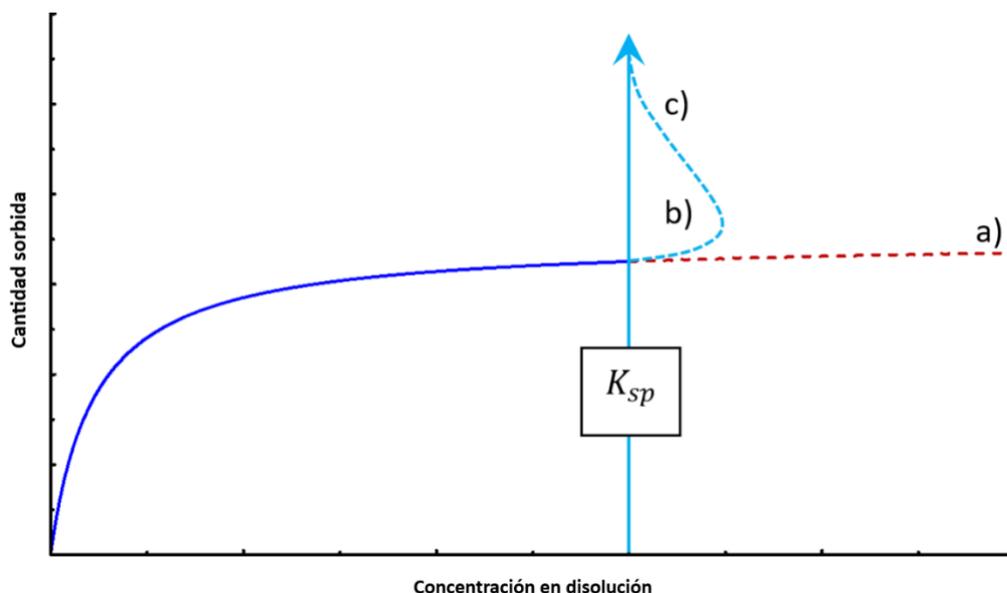


Figura 16 - Ilustración de una isoterma de sorción de Langmuir. a) La cantidad adsorbida aumenta asintóticamente con la concentración de sorbato disuelto en equilibrio hasta que todos los sitios de sorción están llenos y saturados. b) Si la concentración de sorbato disuelto excede el límite de solubilidad de una fase mineral (K_{sp}), puede ocurrir precipitación en la superficie y como resultado se produce un aumento aparente de la cantidad sorbida. c) Si los precipitados superficiales iniciales son de pequeño tamaño y más solubles que los cristales maduros más grandes, las concentraciones disueltas pueden aumentar más allá del límite de K_{sp} antes de disminuir a medida que los precipitados minerales superficiales aumentan de tamaño.

Si se considera que existe un número de sitios de sorción disponibles total (B_{Total}), se puede estimar el número de sitios desocupados mediante la ecuación (31).

$$[B \cdot COOH] = B_{Total} - [B \cdot Me^{z-1}] \tag{31}$$

La sustitución de la ecuación (31) en la expresión de la ecuación (27) y su reordenación da como resultado la ecuación (32).

$$[B \cdot Me^{z-1}] = \frac{B_{Total}K_{pH}[Me^{z+}]}{(1 + K_{pH}[Me^{z+}])} = \frac{B_{Total}K_{app}[Me^{z+}][H^+]^{-1}}{(1 + B_{Total}K_{app}[Me^{z+}][H^+]^{-1})} \tag{32}$$

Una característica clave de la isoterma de sorción de Langmuir es que, a altas concentraciones de los iones sorbato (y con un pH alto en el caso de la sorción de cationes), la cantidad adsorbida de la solución se acerca asintóticamente (satura) al número total de sitios disponibles de sorción. Una vez que todos los sitios de sorción estén llenos, no se producirá más sorción. Si las concentraciones de iones disueltos continúan aumentando, la solución puede sobresaturarse, eventualmente, con respecto a alguna fase mineral. Todo ello puede desencadenar una nucleación heterogénea y una precipitación superficial de minerales en los sorbentes, como podrían ser las células bacterianas. La transición entre la

sorción y la precipitación superficial es representativa de un medio donde se producen de forma continua reacciones de partición en fase sólida para los iones presentes en disolución, tanto en sistemas prístinos como contaminados (Warren y Ferris, 1998).

4.5 Disolución y Precipitación Mineral

El agua subterránea suele estar en contacto simultáneo con conjuntos mixtos de diferentes minerales sólidos. A poca profundidad, la infiltración de agua meteórica diluida y subsaturada suele promover la disolución de los minerales. La disolución de los minerales no sólo contribuye a la adquisición de solutos por parte del agua subterránea, sino que también fomenta el desarrollo de la porosidad secundaria y el aumento de la conductividad hidráulica. Esto es especialmente pronunciado en los sistemas kársticos que se dan en zonas con lecho de roca carbonatada. Al aumentar la profundidad y el tiempo de residencia en el subsuelo, el agua subterránea se aproxima gradualmente al equilibrio con respecto a los minerales presentes. Al mismo tiempo, las reacciones químicas y microbiológicas pueden hacer que las aguas subterráneas se sobresaturen o infrasaturen y provoquen la precipitación o disolución de los minerales, respectivamente. A diferencia de las reacciones de disolución, los procesos de precipitación de minerales en los sistemas de aguas subterráneas promueven la formación de recubrimientos en las superficies de los granos minerales y de las aberturas de las fracturas. Esto puede conducir a la cementación y al cierre de las gargantas de los poros, con la consiguiente disminución de la porosidad y la conductividad hidráulica.

Los procesos de disolución mineral se clasifican como reacciones congruentes o incongruentes. La disolución congruente se refiere a los minerales que se disuelven completamente en sus iones constituyentes, mientras que la disolución incongruente se aplica a los minerales que se disuelven parcialmente y dejan un producto meteorológico sólido residual. Ambos tipos de procesos de disolución de minerales tienden a consumir protones como reactivos, lo que obliga a la liberación de cationes sorbidos en la solución para conservar la electroneutralidad.

La fuente más común de protones en las reacciones de disolución de minerales es el ácido carbónico, que se genera a partir de la degradación de la materia orgánica por la actividad microbiana heterótrofa. Los microorganismos también producen otros ácidos inorgánicos y orgánicos. Entre ellos se encuentra el ácido sulfúrico procedente de la oxidación de minerales sulfurosos, así como una amplia variedad de ácidos carboxílicos como el ácido acético y el ácido oxálico. Entre ellos, se sabe que los ácidos orgánicos contribuyen a las reacciones de disolución de minerales promovidas por el ligando al formar complejos con los cationes liberados. En estas reacciones, la base (L^-) de un ácido (HL) es el ligando complejante del catión metálico (Me^{z+}), como se muestra en la ecuación (33).



En la disolución promovida por el ligando, la formación del complejo del ligando metálico elimina esencialmente el catión metálico libre (producto de la reacción de disolución) de la solución. Esto provoca un alejamiento del equilibrio y mantiene la disolución adicional de acuerdo con el principio de Le Chatelier. El mismo desplazamiento en la solubilidad de equilibrio de un mineral se genera cuando se produce un cambio en el estado de oxidación de un producto de disolución. Por ejemplo, la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} a partir de la disolución de minerales de silicato que contienen Fe(II) por parte de bacterias oxidantes de Fe(II) litotróficas promueve la reacción de disolución (Shelobolina et al., 2012; Shirokova et al., 2016).

De los diversos microorganismos activos en condiciones anaeróbicas, destacan los reductores disimilares de hierro y manganeso como agentes activos en la disolución reductora de los minerales de óxido. Los óxidos de hierro y manganeso utilizados por estos microorganismos como fuente de aceptación de electrones para la respiración anaeróbica se presentan típicamente como finos recubrimientos sobre otros granos minerales, así como sobre materiales orgánicos particulados. La disolución de estos recubrimientos por reducción microbiana en condiciones de poco oxígeno suele dar lugar a características de color gleyico (verde azulado grisáceo), como las que resultan evidentes en muestras manuales de recortes de pozos y núcleos de zonas de reducción de Mn(IV) y Fe(III) en sistemas de aguas subterráneas (**Figura 17**).

La energía de Gibbs para la nucleación de los cristales está limitada por la energía libre de la solución (ΔG_{bruta}) y la energía libre interfacial de la fase sólida correspondiente ($\Delta G_{interfase}$) como se muestra en la ecuación (34).

$$\Delta G_r = \Delta G_{bruta} + \Delta G_{interfase} \quad (34)$$

El término de energía libre bruta es una función del grado de sobresaturación de la solución (ecuación (21)), como se expresa en la ecuación (35),

$$\Delta G_{bruta} = -RT \ln \frac{IAP}{K_{so}} = -2.303RT \log_{10} \frac{IAP}{K_{so}} = -2.303RT (SI) \quad (35)$$

mientras que la energía libre interfacial depende de la tensión superficial interfacial de la fase mineral (γ) y de la superficie molar del núcleo en contacto con el agua (A_{cw}), como se describe en la ecuación (36).

$$\Delta G_{interfase} = A_{cw}\gamma \quad (36)$$

El término de energía libre interfacial representa el trabajo que debe realizarse para crear una nueva superficie mineral. En conjunto, estas relaciones proporcionan un modelo útil para comprender mejor las contribuciones microbianas a la precipitación de minerales.

La actividad microbiana suele desencadenar un cambio en la química de la solución que conduce a la sobresaturación y a un mayor valor del SI. Por ejemplo, la oxidación bacteriana de Fe(II) a menudo da lugar a concentraciones de Fe³⁺ disuelto que superan con creces la solubilidad de los óxidos de hierro (Emerson et al., 2010; Edwards et al., 2018). Esto por sí solo puede inducir la precipitación de minerales al disminuir el término de energía libre a granel para las reacciones de nucleación homogéneas y heterogéneas. Sin embargo, los sitios químicamente reactivos en las células microbianas que facilitan la sorción de iones en los sitios de nucleación tenderán a reducir la energía superficial interfacial media de la fase sólida y a disminuir la superficie del núcleo en contacto con la solución a granel. El resultado esperado es una reducción de la energía libre interfacial global, que favorece la nucleación heterogénea y la precipitación.



Figura 17 - Una excavación que expone la decoloración gleyica gris azulada producida en la base de una ladera boscosa (perfil inferior) en respuesta a la infiltración de agua hacia abajo y a la reducción microbiana de los minerales de óxido de hierro marrón rojizo (dos perfiles superiores) en condiciones anaeróbicas. La distancia a lo largo de la excavación es de aproximadamente 2.0 m y la profundidad del perfil inferior gleyado es de unos 0.6 m. (Reproducido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution 3.0 de Schwarz et al., 2018).

Los microorganismos contribuyen a la precipitación de una amplia variedad de minerales, incluyendo óxidos, fosfatos, carbonatos, sulfuros y silicatos, como se muestra en la **Figura 18** (Fortin et al., 1997; Ferris et al., 2000). Los mecanismos de precipitación mineral microbiana son diversos, pero generalmente implican dos fases distintas: nucleación y crecimiento de los cristales. La nucleación es la fase más crítica de la precipitación mineral y se produce de forma homogénea o heterogénea. En las reacciones homogéneas, los

núcleos minerales se forman por la colisión aleatoria de los iones en la solución. Por el contrario, la nucleación heterogénea implica la formación de núcleos de cristal en las superficies de minerales homólogos (superficies cristalográficas similares) o de sólidos extraños, como las células microbianas. De estos dos procesos de nucleación, la nucleación heterogénea domina en los sistemas de aguas subterráneas. Una vez que se ha formado un núcleo estable, el crecimiento del cristal puede proceder espontáneamente siempre que las concentraciones de iones en la solución sigan superando el producto de solubilidad de la fase mineral sólida (la solución debe estar sobresaturada).

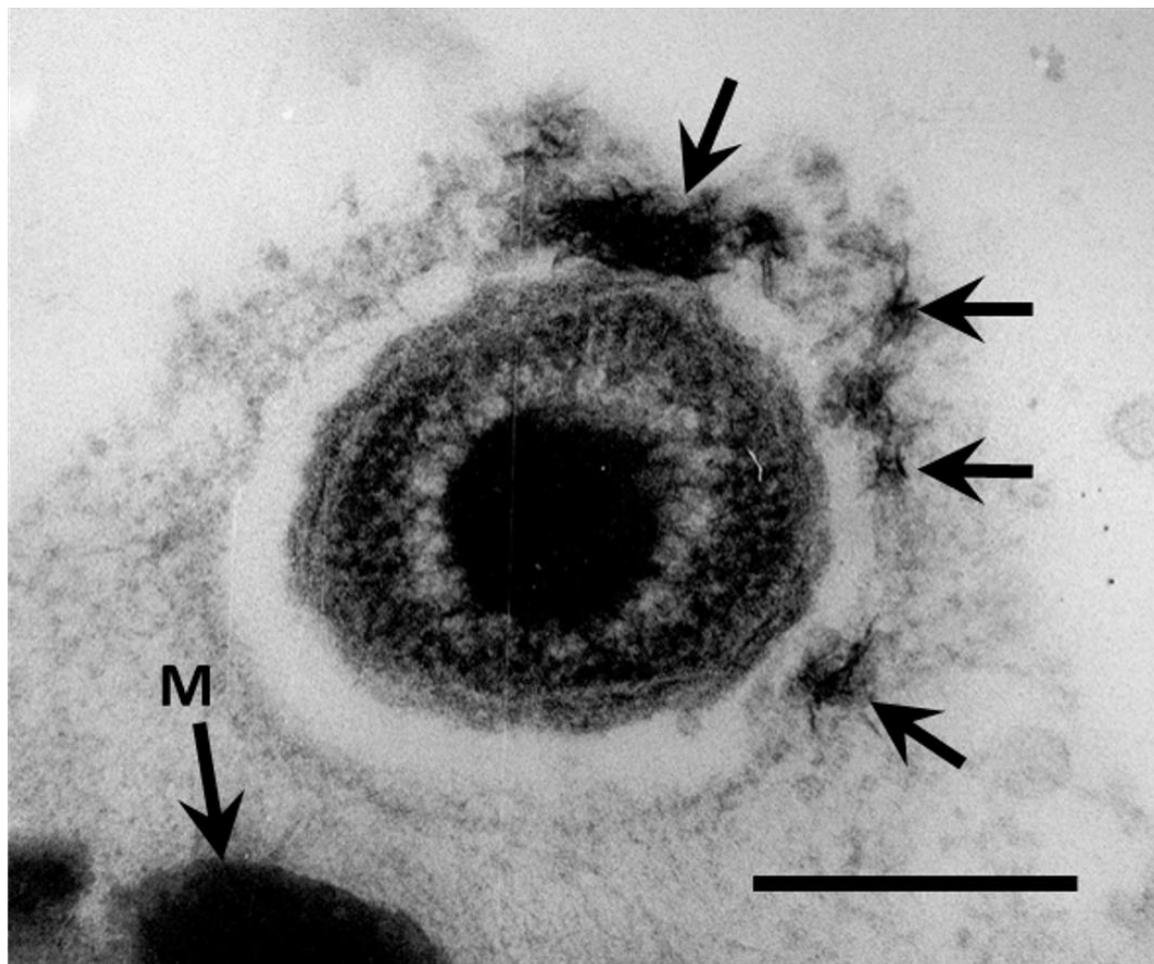


Figura 18 - Micrografía electrónica de transmisión de una sección delgada que muestra la nucleación heterogénea y la precipitación de una fase mineral sólida (indicada por las flechas) en una célula bacteriana adherida a un grano mineral (M). Barra de escala = 360 nm.

5 Transporte de microbios en aguas subterráneas

Los microorganismos de los sistemas de aguas subterráneas pueden clasificarse en función de su origen y grado de aislamiento de los ambientes superficiales. Los microbios autóctonos son los que residen de forma permanente y a largo plazo en el subsuelo, mientras que las especies alóctonas proceden de otros entornos, como las aguas superficiales o la zona de suelo. El aislamiento físico y la adaptación de los microorganismos autóctonos a la vida subterránea es un claro ejemplo de especiación y evolución alopátrica (no solapada) durante largos periodos de tiempo, tal vez miles de millones de años en el caso de algunos entornos de aguas subterráneas profundas (> 1000 m de profundidad; Magnabosco et al., 2018). La mayoría de las veces, los microorganismos alóctonos se transportan hacia el subsuelo durante la recarga, a través de la percolación descendente del agua superficial. Con el tiempo, los microorganismos alóctonos pueden pasar a formar parte de la comunidad microbiana autóctona a medida que se adaptan a las condiciones de vida bajo tierra.

En los sistemas de aguas subterráneas, los microorganismos planctónicos flotantes sufren un transporte advectivo como partículas en suspensión que se desplazan junto con el agua de los poros. Su velocidad de transporte se rige por el gradiente de presión hidráulica, la porosidad y la distribución de la permeabilidad de acuerdo con la ley de Darcy. El transporte de microorganismos en aguas subterráneas también está sujeto a los efectos de la difusión y la dispersión hidrodinámica. El movimiento de nutrientes disueltos y aceptores de electrones está acoplado a los mismos procesos, que se describen mediante la ecuación de advección-dispersión (ecuación (37)) para la tasa de transporte de masa (Brun y Engesgaard, 2002; Steefel et al., 2005; Tufenkji, 2007).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \left[D_x \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + D_y \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} + D_z \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} \right] - \left[v_x \frac{\partial C}{\partial x} + v_y \frac{\partial C}{\partial y} + v_z \frac{\partial C}{\partial z} \right] \quad (37)$$

Donde:

- x, y, z = Principales direcciones de transporte en tres dimensiones (L)
- C = Concentración de soluto disuelto o particulado suspendido (M/L³)
- D = Coeficientes de dispersión hidrodinámica (L²/T)
- v = Velocidad lineal promedio (L/T)
- t = Tiempo (T)

Los microorganismos están sujetos a un fenómeno de transporte conocido como exclusión por tamaño. Cuando esto ocurre, las partículas en suspensión transportadas parecen moverse más rápidamente y experimentar una menor dispersión que los solutos conservadores (no reactivos). La exclusión por tamaño en el transporte de microorganismos

es evidente en las curvas de penetración a partir de un rango más pequeño de concentraciones normalizadas (C_t/C_0) y en los tiempos de retención más cortos de los microbios en comparación con un trazador disuelto (**Figura 19**). Los experimentos de campo indican que las células microbianas pueden ser transportadas a velocidades hasta un 70% superiores a la velocidad lineal media del agua de poros.

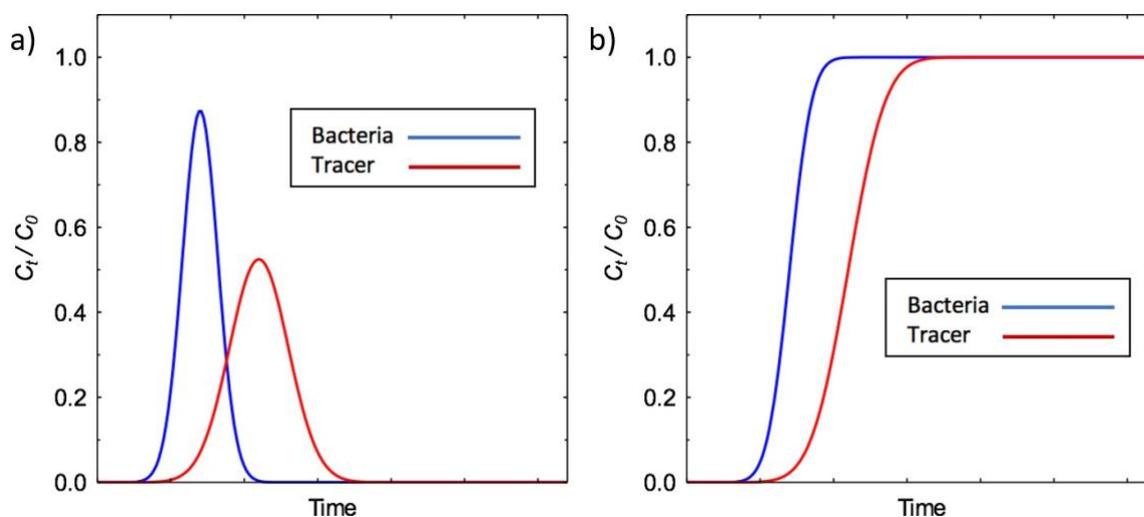


Figura 19 - Curvas de penetración de concentraciones normalizadas en el tiempo: a) después de una inyección en pulso, y b) durante inyección continua (derecha) de una suspensión bacteriana con un trazador disuelto.

La razón de que el transporte de microorganismos sea más rápido como resultado de la exclusión por tamaño está relacionada con la distribución hiperbólica de las velocidades del agua en el interior de los poros. La velocidad máxima se produce a lo largo de la línea central, mientras que la fricción y otras fuerzas reducen la velocidad del agua en las paredes de los poros a cero. En la escala molecular de los solutos disueltos, la distribución completa de las velocidades del agua se muestrea en los procesos de transporte. Por el contrario, en virtud de su mayor tamaño, los microbios y otras partículas en suspensión experimentan velocidades más altas cerca de la línea central de los poros, lo que conduce a una velocidad media que es más rápida que la de un trazador disuelto.

La eliminación de las bacterias en suspensión de las aguas subterráneas se realiza mediante procesos de tamizaje y filtración. El tamizaje consiste en el atrapamiento de microorganismos en los poros o en las aberturas de las fracturas que son demasiado pequeñas para permitir su paso. Este proceso no sólo depende de la porosidad, sino también de la geometría de los poros y de la tortuosidad de las vías de flujo de las aguas subterráneas. La filtración física se refiere a la eliminación de bacterias en suspensión de las aguas subterráneas por colisión y deposición en las superficies de las paredes de los poros. La probabilidad de resuspensión tras la filtración depende de la interacción entre el cizallamiento hidrodinámico y las fuerzas adhesivas interfaciales (afinidad de sorción). Tras la deposición, las células microbianas pueden secretar grandes cantidades de sustancias poliméricas extracelulares, EPS (por sus siglas en inglés *extracellular polymeric substances*) para aumentar la adherencia e iniciar la formación de biofilms.

Cuando las células bacterianas en suspensión son transportadas por las aguas subterráneas, pueden absorber sustancias disueltas en la solución y arrastrarlas, haciéndose pasar por partículas sólidas. Este proceso se conoce como transporte facilitado. Si la especie química absorbida procede de una fuente puntual, como un derrame de contaminante, los procesos de exclusión por tamaño en el transporte bacteriano pueden reducir el tiempo y aumentar la distancia a la que se desplaza un contaminante. Del mismo modo, el transporte facilitado tiene un potencial considerable para ayudar en la transferencia de nutrientes de una zona rica en nutrientes a una zona pobre en nutrientes, estimulando así la actividad microbiana a lo largo de trayectorias más largas del flujo de aguas subterráneas.

Una fracción significativa de las enfermedades transmitidas por el agua en todo el mundo está causada por la introducción y el transporte de microorganismos patógenos alóctonos (protozoos, bacterias, virus) en los sistemas de aguas subterráneas. Muchos, si no la mayoría, de los patógenos microbianos de las aguas subterráneas son contaminantes derivados de residuos fecales humanos y animales. Las principales fuentes de estos microbios patógenos son las fosas sépticas defectuosas, las filtraciones de los estanques residuos, las fugas en las tuberías de alcantarillado y los vertederos viejos o mal sellados (Macler y Merkle, 2000). Los acuíferos no confinados poco profundos están especialmente en riesgo debido a su mayor proximidad a las fuentes superficiales de contaminación microbiana (Jin y Flury, 2002; Pandey et al., 2014).

El gran tamaño de protozoos patógenos como *Giardia* y *Cryptosporidium* es una característica que contribuye al tamizaje, lo que limita el transporte a distancias cortas a través de los sistemas de aguas subterráneas (**Figura 20**). Por este motivo, la presencia de protozoos en acuíferos más profundos implica una introducción directa de agua superficial procedente de un flujo descendente a través de roca fracturada o karst con limitadas capas de suelo suprayacente no consolidado (Jin y Flury, 2002). Por otro lado, es más probable que los patógenos microbianos más pequeños, como bacterias y virus, experimenten exclusión por tamaño y sean transportados a mayores distancias en las aguas subterráneas que los protozoos (**Figura 20**; Taylor et al., 2004; Tufenkji, 2007).

Los procesos de tamizaje, filtración y exclusión por tamaño subrayan la importancia de tener en cuenta la naturaleza y el espacio poroso relativo de los medios geológicos a la hora de evaluar el destino y el transporte de patógenos y la vulnerabilidad de las aguas subterráneas. Otros factores, como la química de la solución, las características del virus y de la superficie celular, las propiedades del suelo y la temperatura influyen en la supervivencia, el transporte y la sorción de patógenos microbianos en medios porosos (Jin y Flury, 2002; United States Environmental Protection Agency [USEPA], 2002; Pang et al., 2004). Estas consideraciones son especialmente importantes a la hora de evaluar la distancia de las fosas sépticas a los pozos de agua y a las costas. Para más información sobre la gestión de los sistemas sépticos para evitar la contaminación de las aguas subterráneas, consulte el sitio web de la USEPA y a Pang et al. (2004).

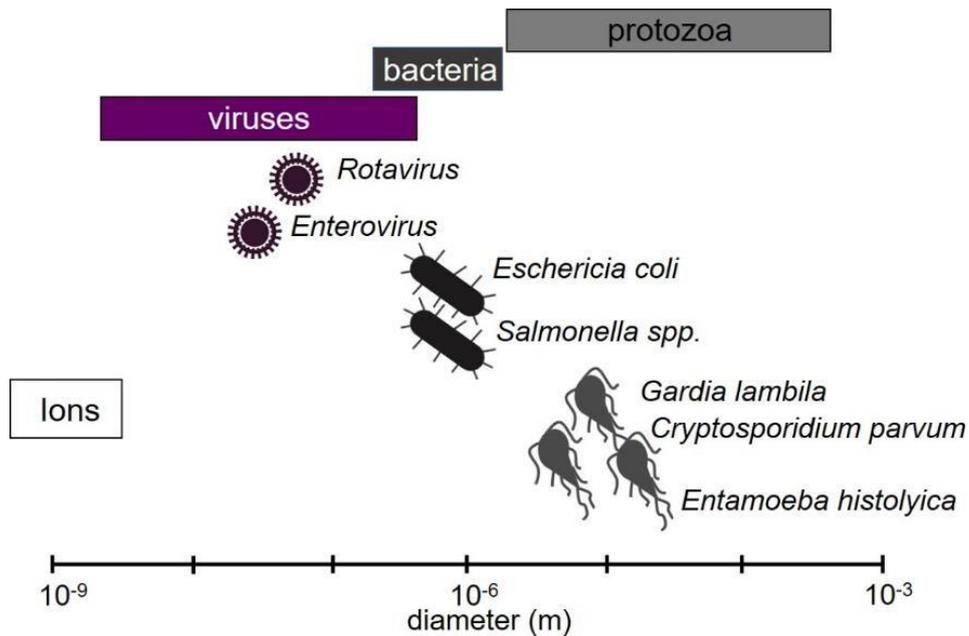


Figura 20 - Ejemplos de patógenos microbianos encontrados en aguas superficiales y subterráneas que son preocupantes para la salud humana y ecológica. Debido a su gran tamaño y susceptibilidad al filtrado, los protozoos son indicadores generales de contaminación de aguas superficiales. Por otra parte, las bacterias y los virus más pequeños pueden ser transportados a las aguas subterráneas (McKay et al., 1993; Taylor et al., 2004). La presencia de patógenos microbianos en las aguas subterráneas se infiere a menudo por la detección de bacterias indicadoras fecales, incluidas las bacterias coliformes totales, *Escherichia coli*, *Enterococos* y colifagos (virus que infectan a las bacterias coliformes). Estos microorganismos indicadores, al igual que otros patógenos, no suelen crecer fuera de sus entornos naturales en las aguas subterráneas. Su capacidad para sobrevivir en entornos de aguas subterráneas está limitada por condiciones como la temperatura, la competencia con otras bacterias, la depredación por otros organismos y el atrapamiento en espacios porosos (Macler y Merkle, 2000; Jin y Flury, 2002). Por lo tanto, encontrar bacterias indicadoras fecales en las aguas subterráneas en cantidades mensurables significa que hay una mayor probabilidad de que agentes patógenos también estén presentes.

6 Microbiología de las aguas subterráneas aplicada

La microbiología de las aguas subterráneas se puede aplicar en una gran variedad de procesos que se han desarrollado no sólo para la biorremediación in situ de contaminantes orgánicos e inorgánicos, sino también para el control y gestión de acuíferos. El éxito de estas aplicaciones se basa en la gran flexibilidad metabólica que existe en los diferentes microorganismos y su influencia en la geoquímica del agua subterránea, incluyendo la adsorción heterogénea en fase sólida y las reacciones de precipitación de minerales. Otro factor importante que a menudo se da por sentado, pero que hay que enfatizar, es el pequeño tamaño de las células microbianas. Este atributo físico permite a los microorganismos acceder y residir en hábitats subterráneos que están contaminados o ser considerados para la gestión de los acuíferos.

En el ámbito de la biorremediación in situ, un primer factor a considerar es el estado de oxidación de los contaminantes, que determina si los contaminantes pueden ser metabolizados por microorganismos como donadores de electrones (reductores), aceptores de electrones (oxidantes) o no pueden ser metabolizados (como es el caso del estroncio o del cadmio, elementos que carecen de varios estados de oxidación). Si un contaminante puede ser objeto de una reacción metabólica microbiana, puede eliminarse del agua subterránea mediante su transformación (por degradación oxidativa o reductiva) en productos inertes. Si es un contaminante que no puede metabolizarse, este contaminante podría ser inmovilizado por adsorción o coprecipitar junto con minerales como respuesta a la actividad metabólica microbiana.

6.1 Biorremediación microbiana y eliminación de contaminantes de las aguas subterráneas

La biorremediación microbiana se ha convertido en una tecnología ampliamente utilizada y se considera un enfoque más sostenible y económico en comparación con otros métodos de tratamiento (por ejemplo, los sistemas de bombeo y tratamiento). Se ha aplicado con éxito en muchas operaciones de limpieza de aguas subterráneas contaminadas con contaminantes orgánicos como hidrocarburos de petróleo y solventes orgánicos clorados, así como en la gestión y el control de plumas de contaminación por lixiviados procedentes de vertederos (USEPA, 1998, 2002, 2013). Los contaminantes de hidrocarburos de petróleo abarcan una amplia gama de sustancias químicas orgánicas reducidas, incluidos los compuestos BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) que suelen utilizarse como donantes de electrones en el metabolismo microbiano. Lo contrario ocurre con los solventes clorados, como el tetracloruro de carbono (PCE) y el tricloroetileno (TCE), que están muy oxidados y se metabolizan como aceptores de electrones.

En la biorremediación de aguas subterráneas se utilizan tres estrategias diferentes. Entre ellas se incluyen:

- La atenuación natural en la que se deja que la comunidad microbiana autóctona (natural) elimine el contaminante en cuestión sin intervención humana, basándose en procesos físicos, químicos y microbiológicos que ocurren de forma natural dentro de una pluma contaminante;
- La bioestimulación en donde se estimula a la comunidad microbiana natural para que elimine el contaminante en cuestión mediante la adición de nutrientes esenciales; y
- La bioaumentación en donde además de nutrientes, pueden inyectarse cepas seleccionadas de bacterias en el subsuelo para promover la eliminación del contaminante en cuestión.

El éxito de estas estrategias depende de la disponibilidad de aceptores y donadores de electrones apropiados, de si el contaminante en cuestión se encuentra en estado reducido (por ejemplo, hidrocarburos de petróleo) u oxidado (por ejemplo, disolventes clorados), y de si las tasas de flujo del agua subterránea son lo suficientemente lentas como para permitir que se produzca la degradación (Christensen et al., 2000).

Cuando no hay oxígeno, la biodegradación, en este caso anaeróbica, se puede producir si existen otros aceptores de electrones como puede ser el nitrato o el sulfato y de esta forma, si es posible que tenga lugar la oxidación metabólica del contaminante. Este enfoque es muy utilizado en aquellos lugares contaminados con hidrocarburos de petróleo donde se ha agotado el oxígeno (Chandra et al., 2013; Meckenstock et al., 2016; Varjani y Upasani, 2017). Esta biodegradación anaeróbica, se puede estimular agregando una enmienda que contenga un aceptor de electrones como es el sulfato para así promover la degradación microbiana de los hidrocarburos del petróleo (USEPA, 2013).

Otro ejemplo de biodegradación anaerobia es la descloración inicial de disolventes orgánicos altamente clorados como son el PCE y el TCE, que actúan como aceptores de electrones en lugar de donadores de electrones (Hopkins et al., 1993; Meckenstock et al., 2015). A medida que estos compuestos se metabolizan, los átomos de cloruro se eliminan y se reemplazan por átomos de hidrógeno para formar otros productos que están menos oxidados que el compuesto clorado original (reductores conjugados). En algunos casos, los productos no se oxidan lo suficiente como para servir como aceptores de electrones y sólo pueden degradarse aún más siendo donadores de electrones en la respiración aeróbica. Por ejemplo, el PCE y el TCE están altamente oxidados y solo pueden ser sufrir una descloración reductora parcial, que da lugar a la aparición de compuestos menos oxidados como el dicloroetano (DCE), el cloruro de vinilo (VC) y el cloroetano (CE) (Mohn y Tiedje, 1992; Kielhorn et al., 2000). Por su parte, la oxidación posterior de DCE, VC y CE a formas no tóxicas de etileno, etano o etanol va a requerir condiciones aeróbicas (p. ej., Semprini et al., 1990; Semprini y McCarty, 1991; Hopkins et al., 1993).

Los microorganismos pueden utilizarse para eliminar contaminantes inorgánicos como los compuestos nutritivos nitrogenados (por ejemplo, nitrato o amoníaco) que existen en las aguas subterráneas en cantidades superiores a las disposiciones reglamentarias, así como metales tóxicos redox activos y metaloides. Sin embargo, a diferencia de los contaminantes orgánicos que los microbios pueden degradar por oxidación a dióxido de carbono o nutrientes que pueden ser absorbidos y asimilados durante el metabolismo, la detoxificación de los contaminantes metálicos y metaloides se logra a través de procesos metabólicos disimilatorios que eliminan o proporcionan electrones para la energía celular (Lovely y Coates, 1997; USEPA, 2013). Las aplicaciones comunes incluyen la reducción microbiana de Cr(VI), U(VI) y Se(VI) a estados de oxidación más insolubles: Cr(III), U(IV) y Se elemental, respectivamente. Otros metales, como el Fe(II) o el Mn(II), son objeto de oxidación microbiana y precipitación de óxidos insolubles (**Figura 21**).



Figura 21 - Precipitación de óxidos férricos insolubles de color naranja por bacterias oxidantes de Fe(II) en una zona de descarga de aguas subterráneas cerca de Deep River, Ontario, Canadá.

6.2 Aplicaciones de la precipitación mineral inducida por microbios

La precipitación de minerales mediante microorganismos de aguas subterráneas puede aplicarse de varias formas distintas, dependiendo sobre todo de la reactividad

química y las propiedades físicas de los precipitados minerales. Los óxidos férricos hidrosolubles, los sulfuros y los minerales carbonatados se utilizan con frecuencia por su capacidad para inmovilizar contaminantes inorgánicos mediante reacciones de adsorción y coprecipitación en superficie. También se sabe que los minerales carbonatados son agentes cementantes eficaces que se adhieren a los granos minerales no consolidados y los unen.

Como productos de la oxidación litotrófica bacteriana del Fe(II), los óxidos férricos hidratados son reconocidos como potentes sólidos adsorbentes que tienen una gran afinidad química por los iones disueltos (Langmuir, 1997). Esta reactividad contribuye a la eliminación de cationes metálicos como el Sr^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , y UO_2^{2+} de la solución. Los solutos aniónicos como el arseniato (AsO_4^{3-}), el cromato (CrO_4^{2-}), el fosfato (PO_4^{3-}) y el yoduro (I^-) también son adsorbidos por óxidos férricos hidratados (Katsoyiannis y Zouboulis, 2006). La ubicua distribución ambiental de las bacterias oxidantes de Fe(II) hace de la precipitación bacteriogénica de hidróxidos férricos un fuerte candidato para la atenuación natural de contaminantes inorgánicos en sistemas de aguas subterráneas.

El sulfuro se produce como agente reductor conjugado en la respiración microbiana anaeróbica con el sulfato como aceptor terminal de electrones. Esto puede desencadenar la sobresaturación y la precipitación de fases minerales de sulfuro que incorporan contaminantes como Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} y As^{3+} . La disponibilidad de materia orgánica como donador de electrones para la reducción bacteriana de sulfato es esencial para la producción de sulfuro. Si las concentraciones de materia orgánica (o sulfato) son demasiado bajas, se puede utilizar la bioestimulación que implica la inyección de uno o ambos nutrientes limitantes para inducir la precipitación mineral de sulfuro.

Una distinción importante entre las aplicaciones de la precipitación microbiana de hidróxidos férricos y sulfuros metálicos está relacionada con las diferencias en las condiciones redox de las aguas subterráneas. La oxidación bacteriana de Fe(II) y la precipitación de hidróxidos férricos requieren condiciones relativamente oxidantes utilizando oxígeno o nitrato como aceptores de electrones, mientras que se necesitan condiciones reductoras para la precipitación de sulfuros metálicos por microorganismos que utilizan sulfato como aceptor de electrones. En la zona redox intermedia, la producción metabólica de Fe(II) en respuesta a la reducción microbiana de Fe(III) contribuye a la transformación de hidróxidos férricos en minerales de "óxido verde" Fe(II)/Fe(III) (**Figura 22**). Estas fases minerales de estado de oxidación mixto no solo conservan las propiedades de adsorción de los óxidos férricos hidratados (Parmar et al., 2001; Perez et al., 2021), sino que también se comportan como reductores en fase sólida de contaminantes como el nitrato, el cromato, el selenato (SeO_4^{2-}) y el tetracloruro de carbono (Erbs et al., 1999; Genin et al., 2001).

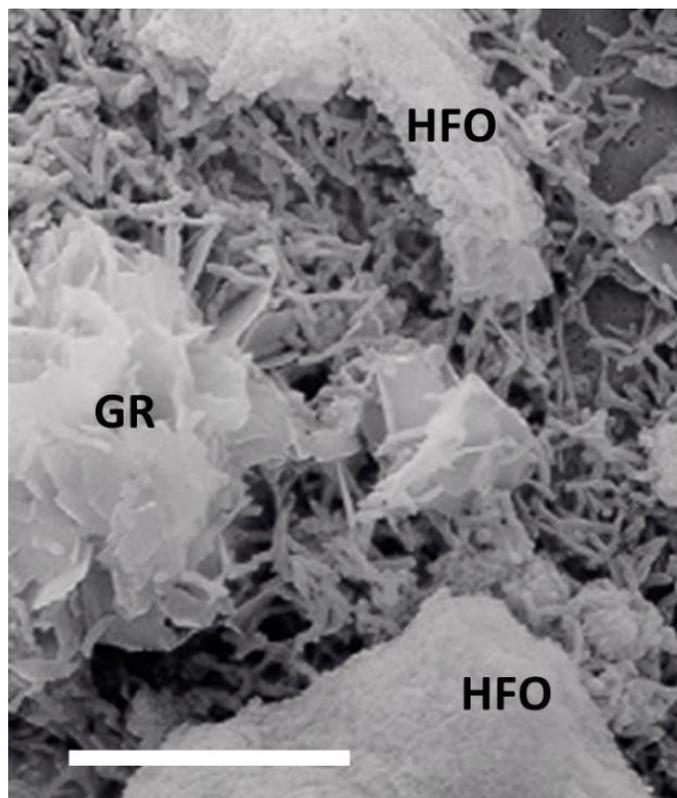


Figura 22 - Micrografía electrónica de barrido que muestra cristales laminares de óxido verde (GR) que se han formado a partir de la reducción de hidróxido férrico (HFO) en un cultivo de la bacteria reductora de Fe(III) *Shewanella algae* cepa BrY. Las bacterias son visibles como una masa desorganizada de varillas alargadas entre los precipitados minerales. Barra de escala = 10 μm .

Las aplicaciones de la precipitación de carbonato cálcico inducida microbianamente se basan comúnmente en la actividad de bacterias ureolíticas (Ferris y Stehmeier, 1992; Ferris et al., 1996; Fujita et al., 2000). Tanto las especies bacterianas aerobias como las anaerobias catalizan la hidrólisis de la urea utilizando la enzima ureasa para producir iones de amonio y carbono inorgánico disuelto (DIC), que dan lugar a un aumento del pH (Ferris et al., 2003). En presencia de calcio disuelto, que a menudo se inyecta junto con la urea, las mayores concentraciones de DIC y pH provocan sobresaturación y precipitación de minerales de carbonato de calcio (**Figura 23**). La desnitrificación, la amonificación, la reducción del sulfato y la oxidación del metano también se han implicado en la precipitación mineral de carbonato inducida microbianamente (Anbu et al., 2016; Zhu y Dittrich, 2016; Eltarahony et al., 2020).

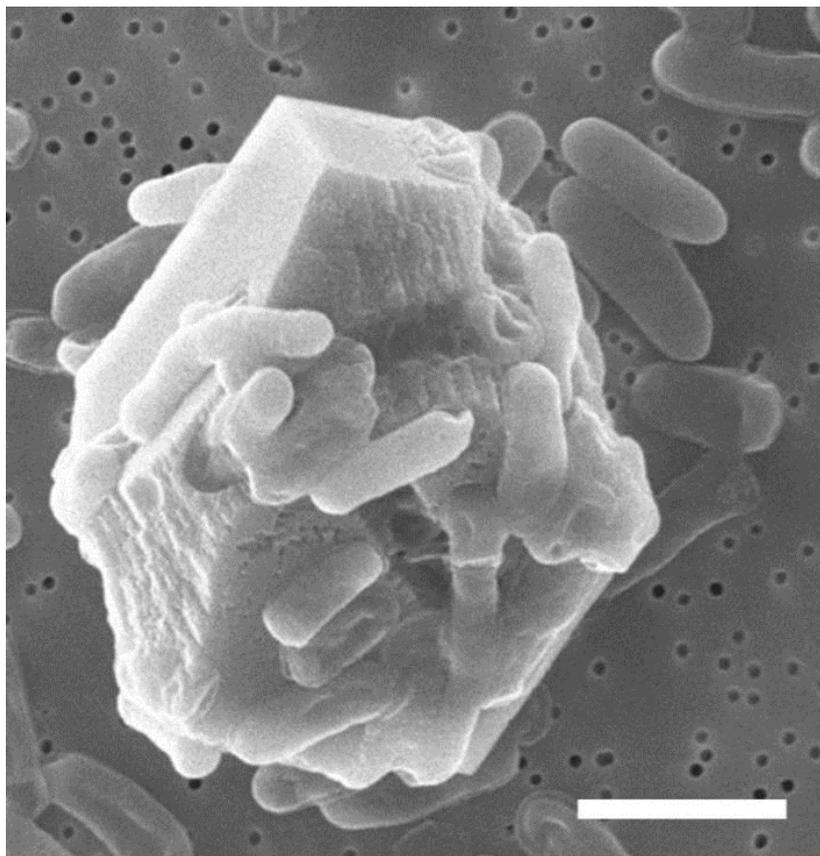


Figura 23 - Micrografía electrónica de barrido de un cristal de calcita en crecimiento precipitado en aguas subterráneas artificiales por la bacteria ureolítica *Sporosarcina ureae*. La bacteria en forma de bastoncillos que rodean y se adhieren a la se adhieren a la superficie del cristal de calcita. Barra de escala = 3.0 μm .

La precipitación de minerales carbonatados por microorganismos es ventajosa para la captura e inmovilización de contaminantes con un radio iónico similar al Ca^{2+} . Esta reactividad se extiende desde la coprecipitación y la sustitución isomórfica del Ca^{2+} durante el crecimiento de los cristales (Langmuir, 1997; Mitchell y Ferris, 2005). Entre los contaminantes de aguas subterráneas identificados como candidatos a ser mitigados mediante precipitación mineral inducida microbianamente se incluyen Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , y Hg^{2+} así como radionucleidos ^{90}Sr y ^{60}Co (Mitchell y Ferris 2005; Eltarahony et al., 2020).

Otro aspecto útil de la precipitación microbiana de minerales carbonatados es la eficacia del proceso para cementar sedimentos no consolidados (biocementación/bioconsolidación) y rellenar espacios porosos vacíos (taponamiento/grouting biomineral). Las aplicaciones prácticas en geomecánica incluyen la mejora del esfuerzo de corte y la rigidez de los depósitos sueltos (no compactados) de aluvión, mientras que la reducción de la permeabilidad es el objetivo principal en ingeniería hidrogeológica para reducir la invasión de aguas subterráneas en túneles, operaciones de producción de campos petrolíferos y otras obras subterráneas (Jack et al., 1991, 1993; Ferris y Stehmeier, 1992; Ferris et al., 1996; Anbu et al., 2016; Minto et al., 2016).

En comparación con las lechadas tradicionales de base química, la precipitación de minerales carbonatados por microorganismos mediante bioestimulación o bioaumentación no solo requiere presiones de inyección más bajas, sino que también penetra más profundamente en poros y aberturas de fractura más pequeños (Minto et al., 2016). Esto se debe a que las soluciones nutritivas y mineralizantes necesarias para inducir la precipitación microbiana de minerales carbonatados tienen una viscosidad cercana a la del agua (cerca de $1.0 \text{ mPa}\cdot\text{s}$), mientras que la viscosidad de los cementos químicos tiende a ser mucho mayor (aproximadamente $50 \text{ mPa}\cdot\text{s}$).

7 Cierre

La comprensión de la microbiología y la química básicas contribuye al trabajo de los profesionales de las aguas subterráneas porque la interacción de los microorganismos y los compuestos químicos en los sistemas de flujo de aguas subterráneas puede utilizarse para modificar las condiciones del subsuelo. Dicha modificación puede mitigar la contaminación de los sistemas de aguas subterráneas, aumentar o disminuir la transmisibilidad de las aguas subterráneas y reforzar o debilitar la estructura del subsuelo. Confiar en la actividad microbiana para estas modificaciones suele ser un enfoque de ingeniería rentable para gestionar el subsuelo. La opción más sencilla y menos costosa es dejar que los procesos naturales realicen el trabajo, pero cuando esos procesos progresan a un ritmo más lento de lo aceptable para el problema en cuestión, se puede aumentar tanto el ritmo natural como la clase de actividad microbiana añadiendo nutrientes o especies microbianas adicionales junto con los nutrientes. La investigación con el objetivo de mejorar las soluciones microbiológicas a los problemas de las aguas subterráneas continúa a través de esfuerzos para diseñar genéticamente microorganismos con una actividad catabólica mejorada (Janssen y Stucki, 2020).

8 Ejercicios

Ejercicio 1

¿Cuál es la diferencia más importante entre los microorganismos procariotas y eucariotas?

[Solución a Ejercicio 1](#) ↴

Ejercicio 2

Describe las diferencias entre las paredes celulares procariotas que se distinguen por su respuesta a la tinción de Gram.

[Solución a Ejercicio 2](#) ↴

Ejercicio 3

¿Qué producen las células procariotas que les permite no sólo adherirse a las superficies minerales, protegerse de la deshidratación y formar biopelículas, sino también contribuir a la adsorción de sustancias químicas iónicas disueltas?

[Solución a Ejercicio 3](#) ↴

Ejercicio 4

¿Cuál es el tiempo de duplicación de un microorganismo con una constante de velocidad de crecimiento exponencial de 0.005 s^{-1} ?

[Solución a Ejercicio 4](#) ↴

Ejercicio 5

¿Por qué la magnitud de la escala de longitud es una propiedad física tan importante para describir los hábitats microbianos en los sistemas de aguas subterráneas?

[Solución a Ejercicio 5](#) ↴

Ejercicio 6

Explique por qué los sistemas de aguas subterráneas poco profundas que ocurren en climas similares tienen la misma temperatura media.

[Solución a Ejercicio 6](#) ↴

Ejercicio 7

Suponiendo un gradiente térmico geotérmico de 25 a 30 °C por km, ¿cómo se describiría la preferencia de temperatura de los microorganismos que viven a 2.000 m de profundidad?

[Solución a Ejercicio 7](#) ↴

Ejercicio 8

Usted toma una muestra de 20 m de profundidad y extrae una submuestra de 3.5 g de suelo para analizar la composición de la comunidad microbiana. Basándose en la densidad celular media de los materiales del subsuelo a esta profundidad, ¿cuál es la población aproximada de microorganismos que contiene su submuestra?

[Solución a Ejercicio 8](#) ↴

Ejercicio 9

Sitúe los siguientes aceptores terminales de electrones para la respiración microbiana en orden decreciente de rendimiento energético metabólico potencial. ¿Cuáles son los correspondientes reductores conjugados de los aceptores de electrones?

- a) Dióxido de carbono
- b) Sulfato
- c) Fe(III)/Mn(IV)
- d) Oxígeno
- e) Nitrato

[Solución a Ejercicio 9](#) ↴

Ejercicio 10

¿Cuál es la clasificación metabólica de los microorganismos procariotas subsuperficiales que utilizan compuestos químicos como fuente de energía, sirviendo las sustancias inorgánicas como donantes de electrones y fijando el dióxido de carbono para producir biomasa celular?

[Solución a Ejercicio 10](#) ↴

Ejercicio 11

¿Cuál es la clasificación metabólica de los microorganismos procariotas del subsuelo que utilizan compuestos químicos como fuente de energía con sustancias *orgánicas* que sirven tanto de donantes de electrones como de fuente de carbono para fabricar biomasa celular?

[Solución a Ejercicio 11](#) ↴

Ejercicio 12

¿Por qué los esquistos y las arcillas no son hábitats especialmente buenos para los microorganismos procariotas?

[Solución a Ejercicio 12](#) ↴

Ejercicio 13

Como parte de su búsqueda de microeucariotas y procariotas en un yacimiento, toma una muestra de roca carbonatada. ¿Esperas encontrar ambos tipos de microorganismos, solo uno o ninguno? Explique.

[Solución a Ejercicio 13](#) ↴

Ejercicio 14

Describa las formas en que los microorganismos procariotas contribuyen a las reacciones químicas en los sistemas de aguas subterráneas.

[Solución a Ejercicio 14](#) ↴

Ejercicio 15

Explique brevemente la diferencia en el comportamiento de sorción del pH entre iones cargados positiva y negativamente sobre sólidos sorbentes en sistemas de aguas subterráneas, incluyendo células microbianas procariotas rodeadas de sustancias poliméricas extracelulares.

[Solución a Ejercicio 15](#) ↴

Ejercicio 16

¿Qué papel desempeñan los microbios en la limpieza de las aguas subterráneas contaminadas?

[Solución a Ejercicio 16](#) ↴

Ejercicio 17

Usted está trabajando como hidrogeólogo en un emplazamiento donde las aguas subterráneas están contaminadas con BTEX. Se le ha pedido que justifique el uso de la biorremediación para eliminar los BTEX de las aguas subterráneas y que proporcione y describa tres posibles estrategias de biorremediación para eliminar dichos contaminantes. Explique qué condiciones de las aguas subterráneas favorecerían la biorremediación microbiana de dichos contaminantes y por qué. Asuma que los microorganismos que pueden degradar hidrocarburos son ubicuos en su emplazamiento.

[Solución a Ejercicio 17](#) ↴

Ejercicio 18

¿De qué manera contribuyen los microorganismos de las aguas subterráneas a las reacciones de disolución de los minerales?

[Solución a Ejercicio 18](#) ↴

Ejercicio 19

Explique por qué las bacterias disimiladoras reductoras de Fe(III) y Mn(IV) son importantes para la disolución reductora de minerales óxidos en las aguas subterráneas.

[Solución a Ejercicio 19](#) ↴

Ejercicio 20

¿Cuáles son algunas de las aplicaciones de la precipitación microbiana de minerales carbonatados?

[Solución a Ejercicio 20](#) ↴

9 Referencias

- Allen, R.J. and B. Waclaw, 2019, Bacterial growth: a statistical physicist's guide. Reports on Progress in Physics, volume 82, number 1, 16601, [doi: 10.1088/1361-6633/aae546](https://doi.org/10.1088/1361-6633/aae546).
- Amend, J.P. and A. Teske, 2005, Expanding frontiers in deep subsurface microbiology. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, volume 219, pages 131-155, [doi: 10.1016/j.palaeo.2004.10.018](https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2004.10.018).
- Anbu, P., C.H. Kang, Y.J. Shin, and J.S. So, 2016, Formations of calcium carbonate minerals by bacteria and its multiple applications. SpringerPlus, volume 5, page 250, [doi: 10.1186/s40064-016-1869-2](https://doi.org/10.1186/s40064-016-1869-2).
- Anderson, C.R., R.E. James, E.C. Fru, C.B. Kennedy, and K. Pedersen, 2006, In situ ecological development of a bacteriogenic iron oxide-producing microbial community from a subsurface granitic rock environment. Geobiology, volume 4, issue 1, pages 29-42, [doi: 10.1111/j.1472-4669.2006.00066.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2006.00066.x).
- Bamforth, S.M. and I. Singleton, 2005, Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, volume 80, issue 7, pages 723-736, [doi: 10.1002/jctb.1276](https://doi.org/10.1002/jctb.1276).
- Bar-On, Y.M., R. Phillips, R. Milo, 2018, The biomass distribution on Earth. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, volume 115, issue 25, pages 6506-6511, [doi: 10.1073/pnas.1711842115](https://doi.org/10.1073/pnas.1711842115).
- Benz, S.A., P. Bayer, P. Blum, 2017, Global patterns of shallow groundwater temperatures. Environmental Research Letters, volume 12, number 3, 034005, [doi: 10.1088/1748-9326/aa5fb0](https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa5fb0).
- Bethke, C.M., R.A. Sanford, M.F. Kirk, Q. Jin, and T.M. Flynn, 2011, The thermodynamic ladder in geomicrobiology. American Journal of Science, volume 311, issue 3, pages 183-210, [doi: 10.2475/03.2011.01](https://doi.org/10.2475/03.2011.01).
- Bird, L.J., V. Bonnefoy and D.K. Newman, 2011, Bioenergetic challenges of microbial iron metabolisms. Trends in Microbiology, volume 19, issue 7, pages 330-340, [doi: 10.1016/j.tim.2011.05.001](https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.05.001).
- Bonte, M., W.F.M. Röling, E. Zaura, P.W.J.J. van der Wielen, P.J. Stuyfzand, and B.M. van Breukelen, 2013a, Impacts on shallow geothermal energy production on redox processes and microbial communities. Environmental Science and Technology, volume 47, issue 24, pages 14476-14484, [doi: 10.1021/es4030244](https://doi.org/10.1021/es4030244).
- Bonte, M., B.M. van Breukelen, and P.J. Stuyfzand, 2013b, Temperature-induced impacts on groundwater quality and arsenic mobility in anoxic aquifer sediments used for both drinking water and shallow geothermal energy production. Water Research, volume 47, issue 14, pages 5088-5100, [doi: 10.1016/j.watres.2013.05.049](https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.049).

- Brun, A. and P. Engersgaard, 2002, Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes: literature review and model development. *Journal of Hydrology*, volume 256, pages 211-227, [doi: 10.1016/S0022-1694\(01\)00547-9](https://doi.org/10.1016/S0022-1694(01)00547-9).
- Chandra, S., R. Sharma, K. Singh, and A. Sharma, 2013, Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon. *Annals of Microbiology*, volume 63, pages 417-431, [doi: 10.1007/s13213-012-0543-3](https://doi.org/10.1007/s13213-012-0543-3).
- Chanyi, R.M. and S.F. Koval, 2014, Role of type IV pili in predation by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *PLoS ONE* volume 9, issue 11, page e113404, [doi: 10.1371/journal.pone.0113404](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113404).
- Chapelle, F. H., 2000, The significance of microbial processes in hydrogeology and geochemistry. *Hydrogeology Journal*, volume 8, pages 41-46, [doi: 10.1007/PL00010973](https://doi.org/10.1007/PL00010973).
- Christensen, T.H., P.L. Bjerg, and P. Kjeldsen, 2000, Natural attenuation: a feasible approach to remediation of ground water pollution at landfills? *Ground Water Monitoring and Remediation*, volume 20, number 1, pages 69-77, [doi: 10.1111/j.1745-6592.2000.tb00253.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-6592.2000.tb00253.x).
- Colwell, F.S. and S. D'Hondt, 2013, Nature and extent of the deep biosphere. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, volume 75, number 1, pages 547-574, [doi: 10.2138/rmg.2013.75.17](https://doi.org/10.2138/rmg.2013.75.17).
- Edwards, B.A., V.L. Shirokova, A.M.L. Enright, and F.G. Ferris, 2018. Dependence of in situ bacterial Fe(II)-oxidation and Fe(III)-precipitation on sequential reactive transport. *Geomicrobiology Journal*, 2018, volume 35, issue 6, pages 503-510, [doi: 10.1080/01490451.2017.1394929](https://doi.org/10.1080/01490451.2017.1394929).
- Erbs, M., H.C.B. Hansen, and C.E. Olsen, 1999, Reductive dechlorination of carbon tetrachloride using Iron(II) Iron (III) hydroxy sulfate (green rust). *Environmental Science and Technology*, volume 33, number 2, pages 307-311, [doi: 10.1021/es980221t](https://doi.org/10.1021/es980221t).
- Eltarahony, M., S. Zaki, and D. Abd-El-Haleem, 2020, Aerobic and anaerobic removal of lead and mercury via calcium carbonate precipitation mediated by statistically optimized nitrate reductases. *Scientific Reports*, volume 10, number 4029, [doi: 10.1038/s41598-020-60951-1](https://doi.org/10.1038/s41598-020-60951-1).
- Emerson, D., E.J. Fleming, and J.M. McBeth, 2010, Iron-oxidizing bacteria: an environmental and genomic perspective. *Annual Reviews of Microbiology*, volume 64, pages 561-583, [doi: 10.1146/annurev.micro.112408.134208](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.112408.134208).
- Enright, A.M.L. and F.G. Ferris, 2016, Bacterial Fe(II)-oxidation distinguished by long-range correlation in redox potential. *Journal of Geophysical Research – Biogeosciences*, volume 121, issue 5, pages 1249-1257, [doi: 10.1002/2015JG003306](https://doi.org/10.1002/2015JG003306).
- Enright, A.M.L., B.A. Edwards, and F.G. Ferris, 2019, Long range correlation in redox potential fluctuations signals energetic efficiency of bacterial Fe(II) oxidation.

- Scientific Reports, volume 9, issue 1, number 4018, [doi: 10.1038/s41598-019-40499-5](https://doi.org/10.1038/s41598-019-40499-5).
- Falkowski, P.G., T. Fenchel, and E.F. Delong, 2008, The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. *Science*, volume 320, issue 5879, pages 1034-1039, [doi: 10.1126/science.1153213](https://doi.org/10.1126/science.1153213).
- Ferris, F.G. and L.G. Stehmeier, 1992, Bacteriogenic mineral plugging. U.S. Patent Number [US5143155A](https://patents.google.com/patent/US5143155A).
- Ferris, F.G., L.G. Stehmeier, A. Kantzas, and F.M. Mourits, 1996, Bacteriogenic mineral plugging. *Journal of Canadian Petroleum Technology*, volume 35, issue 8, [doi: 10.2118/96-08-06](https://doi.org/10.2118/96-08-06).
- Ferris, F.G., R.O. Hallberg, B. Lyven, and K. Pedersen, 2000, Retention of strontium, cesium, lead, and uranium by bacterial iron oxides from a subterranean environment. *Applied Geochemistry*, volume 15, issue 7, pages 1035-1042, [doi: 10.1016/S0883-2927\(99\)00093-1](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(99)00093-1).
- Ferris, F.G., V.R. Phoenix, Y. Fujita, and R.W. Smith, 2004, Kinetics of calcite precipitation induced by ureolytic bacteria at 10 to 20°C in artificial groundwater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, volume 68, issue 8, pages 1701-1710, [doi: 10.1016/S0016-7037\(03\)00503-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(03)00503-9).
- Fortin, D., F.G. Ferris, and T.J. Beveridge, 1997, Surface-mediated mineral development by bacteria. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, volume 35, [doi: 10.1515/9781501509247-007](https://doi.org/10.1515/9781501509247-007).
- Fujita, Y., F.G. Ferris, R. D. Lawson, F. S. Colwell, and R. W. Smith, 2000, Subscribed content calcium carbonate precipitation by ureolytic subsurface bacteria. *Geomicrobiology Journal*, volume 17, issue 4, pages 305-318, [doi: 10.1080/782198884](https://doi.org/10.1080/782198884).
- Genin, J-M., P. Refait, G. Bourrie, M. Abdelmoula, and F. Trolard, 2001, Structure and stability of the Fe(II)-Fe(III) green rust "fougerite" mineral and its potential for reducing pollutants in soil solutions. *Applied Geochemistry*, volume 16, issue 5, pages 559-570, [doi: 10.1016/S0883-2927\(00\)00043-3](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(00)00043-3).
- Gleeson, T., K.M. Befus, S. Jasechko, E. Luijendijk, and M.B. Cardenas, 2015, The global volume and distribution of modern groundwater. *Nature Geoscience*, volume 9, pages 161-169, [doi: 10.1038/ngeo2590](https://doi.org/10.1038/ngeo2590).
- Glynn, P.D. and L.N. Plummer, 2005, Geochemistry and the understanding of groundwater systems. *Hydrogeology Journal*, volume 13, pages 263-287, [doi: 10.1007/s10040-004-0429-y](https://doi.org/10.1007/s10040-004-0429-y).
- Gorra, R., G. Webster, M. Martin, L. Celi, F. Mapelli, and A.J. Weightman, 2012, Dynamic microbial community associated with iron-arsenic co-precipitation products from a groundwater storage system in Bangladesh. *Microbial Ecology*, volume 64, issue 1, pages 171-186, [doi: 10.1007/s00248-012-0014-1](https://doi.org/10.1007/s00248-012-0014-1).

- Groffman, A.R. and L.J. Crossey, 1999, Transient redox regimes in a shallow alluvial aquifer. *Chemical Geology*, volume 161, issue 4, pages 415-442, [doi: 10.1016/S0009-2541\(99\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(99)00119-9).
- Hao, L., J. Li, A. Kappler, and M. Obst, 2013, Mapping of heavy metal ion sorption to cell-extracellular polymeric substance-mineral aggregates by using metal-selective fluorescent probes and confocal laser scanning microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, volume 79, issue 21, pages 6524-6534, [doi: 10.1128/aem.02454-13](https://doi.org/10.1128/aem.02454-13).
- Haritash, A.K. and C.P. Kaushik, 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Journal of Hazardous Materials*, volume 169, issues 1-3, pages 1-15, [doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.03.137](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137).
- Heim, N.A., J.L. Payne, S. Finnegan, M.L. Knope, M. Kowalewski, S.K. Lyons, D.W. McShea, P.M. Novack-Gottshall, F.A. Smith, and S.C. Wang, 2017, Hierarchical complexity and the size limits of life. *Proceedings of the Royal Society B*, volume 284, issue 1857, [doi: 10.1098/rspb.2017.1039](https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1039).
- Hoehler, T.M. and B.B. Jorgensen, 2013, Microbial life under extreme energy limitation. *Nature Reviews Microbiology*, volume 11, pages 83-94, [doi: 10.1038/nrmicro2939](https://doi.org/10.1038/nrmicro2939).
- Hopkins, G.D., L. Semprini, and P.L. McCarty, 1993, Microcosm and in situ field studies of enhanced biotransformation of trichloroethylene by phenol-utilizing microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, volume 59, number 7, pages 2277-2285, [doi: 10.1128/aem.59.7.2277-2285.1993](https://doi.org/10.1128/aem.59.7.2277-2285.1993).
- Jack, T.R., L.G. Stehmeier, M.R. Islam, and F.G. Ferris, 1991, Microbial selective plugging to control water channeling. *Developments in Petroleum Science*, volume 31, pages 433-440, [doi: 10.1016/S0376-7361\(09\)70176-1](https://doi.org/10.1016/S0376-7361(09)70176-1).
- Jack, T.R., F.G. Ferris, L.G. Stehmeier, A. Kantzas, and D.F. Marentette, 1993, Bug Rock: bacteriogenic mineral precipitation systems for oil patch use. *Developments in Petroleum Science*, volume 39, pages 27-35, [doi: 10.1016/S0376-7361\(09\)70047-0](https://doi.org/10.1016/S0376-7361(09)70047-0).
- Janssen D.B. and G. Stucki, 2020, Perspectives of genetically engineered microbes for groundwater bioremediation. *Environmental Science: Processes & Impacts*, volume 22, issue 3, pages 487-499, [doi: 10.1039/c9em00601j](https://doi.org/10.1039/c9em00601j).
- Jin, Y. and M. Flury, 2002, Fate and transport of viruses in porous media. *Advances in Agronomy*, volume 77, pages 39-102, [doi: 10.1016/S0065-2113\(02\)77013-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(02)77013-2).
- Kallmeyer, J., R. Pockalny, R.R. Adhikari, D.C. Smith, and S. D'Hondt, 2012, Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, volume 109, number 40, pages 16213-16216, [doi: 10.1073/pnas.1203849109](https://doi.org/10.1073/pnas.1203849109).
- Katsoyiannis, I.A. and A.I. Zouboulis, 2006, Use of iron- and manganese-oxidizing bacteria for the combined removal of iron, manganese and arsenic from

- contaminated groundwater. *Water Quality Research Journal of Canada*, volume 41, issue 2, pages 117-129, [doi: 10.2166/wqrj.2006.014](https://doi.org/10.2166/wqrj.2006.014).
- Kennedy, C.B., A.G. Gault, I.D. Clark, D. Fortin, and F.G. Ferris, 2011, Retention of iodide by bacteriogenic iron oxides. *Geomicrobiology Journal*, volume 28, issue 5-6, pages 387-395, [doi: 10.1080/01490451003653110](https://doi.org/10.1080/01490451003653110).
- Kielhorn, J., C. Melber, U. Wahnschaffe, A. Aitio, and I. Mangelsdorf, 2000, Vinyl chloride: still a cause for concern. *Environmental Health Perspectives*, volume 108, number 7, pages 579-588, [doi: 10.1289/ehp.00108579](https://doi.org/10.1289/ehp.00108579).
- Kleanthous, C. and J.P. Armitage, 2015, The bacterial cell envelope. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, volume 370, issue 1679, [doi: 10.1098/rstb.2015.0019](https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0019).
- Konhauser, K.O., 2007, *Introduction to Geomicrobiology*, Wiley-Blackwell.
- Kulczycki, E., F.G. Ferris, and D. Fortin, 2002, Impact of cell wall structure on the behavior of bacterial cells as sorbents of cadmium and lead. *Geomicrobiology Journal*, volume 19, issue 6, pages 553-565, [doi: 10.1080/01490450290098586](https://doi.org/10.1080/01490450290098586).
- Kulczycki, E., D.A. Fowle, D. Fortin, and F.G. Ferris, 2005, Sorption of cadmium and lead by bacteria-ferrihydrite composites. *Geomicrobiology Journal*, volume 22, issue 6, pages 299-310, [doi: 10.1080/01490450500184694](https://doi.org/10.1080/01490450500184694).
- Kuma, A.R. and P. Riyazuddin, 2012, Seasonal variation of redox species and redox potentials in shallow groundwater: a comparison of measured and calculated redox potentials. *Journal of Hydrology*, volumes 444-445, pages 187-198, [doi: 10.1016/j.jhydrol.2012.04.018](https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2012.04.018).
- Kump, L.R., S.R. Brantley, and M.A. Arthur, 2000, Chemical weathering, atmospheric CO₂, and climate. *Annual Review of Earth and Planetary Science*, volume 28, pages 61-667, [doi: 10.1146/annurev.earth.28.1.611](https://doi.org/10.1146/annurev.earth.28.1.611).
- Kyle, J.E., H.S.C. Eydal, F.G. Ferris, and K. Pedersen, 2008, Viruses in granitic groundwater from 69 to 450 m depth of the Aspo hard rock laboratory, Sweden. *ISME Journal*, volume 2, pages 571-574, [doi: 10.1038/ismej.2008.18](https://doi.org/10.1038/ismej.2008.18).
- Langley, S., A.G. Gault, A. Ibrahim, Y. Takahashi, R. Renaud, D. Fortin, I.D. Clark, and F.G. Ferris, 2009a, A comparison of the rates of Fe(III) reduction in synthetic and bacteriogenic iron oxides by *Shewanella putrefaciens* CN32. *Geomicrobiology Journal*, volume 26, issue 2, pages 57-70, [doi: 10.1080/01490450802674905](https://doi.org/10.1080/01490450802674905).
- Langley, S., A.G. Gault, A. Ibrahim, Y. Takahashi, R. Renaud, D. Fortin, I.D. Clark, and F.G. Ferris, 2009b, Strontium de-sorption from bacteriogenic iron oxides (BIOS) subjected to microbial Fe(III) reduction. *Chemical Geology*, volume 262, issue 3-4, pages 218-228, [doi: 10.1016/j.chemgeo.2009.01.019](https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2009.01.019).
- Langmuir, D., 1997, *Aqueous Environmental Geochemistry*. Prentice Hall, New Jersey, USA.

- LaRowe, D.E. and J.P. Amend, 2015, Catabolic rates, population sizes and doubling/replacement times of microorganisms in the natural settings. *American Journal of Science*, volume 315, issue 3, pages 167-203, [doi: 10.2475/03.2015.01](https://doi.org/10.2475/03.2015.01).
- LaRowe, D.E. and J.P. Amend, 2019, Energy limits for life in the subsurface. *Deep carbon: past to present*. B. Orcutt, I. Daniel, R. Dasgupta (editors), Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, pages 585-619.
- Liebensteiner, M.G., N. Tsesmetzis, A.J.M. Stams, and B.P. Lomans, 2014, Microbial redox processes in deep subsurface environments and the potential application of (per)chlorate in oil reservoirs. *Frontiers in Microbiology*, volume 5, page 428, [doi: 10.3389/fmicb.2014.00428](https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00428).
- Lin, D., E.I. Larsen, G.R. Larsen, M.E. Cox, and J.E. Smith, 2012, Bacterially mediated iron cycling and associated biogeochemical processes in a subtropical shallow coastal aquifer: implications for groundwater quality. *Hydrobiologia*, volume 696, issue 1, pages 63-76, [doi: 10.1007/s10750-012-1184-z](https://doi.org/10.1007/s10750-012-1184-z).
- Lindberg, R.D. and D.D. Runnells, 1984, Ground water redox reactions: and analysis of equilibrium state applied to Eh measurements and geochemical modeling. *Science*, volume 225, pages 925-927, [doi: 10.1126/science.225.4665.925](https://doi.org/10.1126/science.225.4665.925).
- Locey, K.J. and J.T. Lennon, 2016, Scaling laws predict global microbial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, volume 113, pages 5970-5975, [doi: 10.1073/pnas.1521291113](https://doi.org/10.1073/pnas.1521291113).
- Louca, S., F. Mazel, M. Doebeli, and L.W. Parfrey, 2019, A census-based estimate of Earth's bacterial and archaeal diversity. *PLOS Biology*, volume 17, page e3000106, [doi: 10.1371/journal.pbio.3000106](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000106).
- Lovley, D.R. and J.D. Coates, 1997, Bioremediation of metal contamination. *Current Opinion In Biotechnology*, volume 8, issue 3, pages 285-289, [doi: 10.1016/s0958-1669\(97\)80005-5](https://doi.org/10.1016/s0958-1669(97)80005-5).
- Macler, B.A. and J.C. Merkle, 2000, Current knowledge on groundwater microbial pathogens and their control. *Hydrogeology Journal*, volume 8, number 1, pages 29-40, [doi: 10.1007/PL00010972](https://doi.org/10.1007/PL00010972).
- Magnabosco, C., L.H. Lin, H. Dong, M. Bomberg, W. Ghirese, H. Stan-Lotter, K. Pedersen, T.L. Kieft, E. van Heerden, and T.C. Onstott, 2018, The biomass and biodiversity of the continental subsurface. *Nature Geoscience*, volume 11, pages 707-717, [doi: 10.1038/s41561-018-0221-6](https://doi.org/10.1038/s41561-018-0221-6).
- Marshall, K.C., 2013, Planktonic versus sessile life of prokaryotes. *The Prokaryotes – Prokaryotic Communities and Ecophysiology*, E. Rosenberg et al. (editors), Springer-Verlag, Berlin, [doi: 10.1007/978-3-642-30123-0_49](https://doi.org/10.1007/978-3-642-30123-0_49).
- Martinez, R.E. and F.G. Ferris, 2001, Chemical equilibrium modeling techniques for the analysis of high-resolution bacterial metal sorption data. *Journal of Colloid and Interface Science*, volume 243, issue 1, pages 73-80, [doi: 10.1006/jcis.2001.7865](https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7865).

- McDougald, D., S.A. Rice, N. Barraud, P.D. Steinberg, and S. Kjelleberg, 2012, Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*, volume 10, pages 39-50, [doi: 10.1038/nrmicro2695](https://doi.org/10.1038/nrmicro2695).
- McKay, L., J.A. Cherry, R.C. Bales, M.T. Yahya, and C.P. Gerba, 1993, A field example of bacteriophage as tracers of fracture flow. *Environmental Science and Technology*, volume 27, issue 6, pages 1075-1079, [doi: 10.1021/es00043a006](https://doi.org/10.1021/es00043a006).
- McMahon, P.B. and F.H. Chapelle, 2008, Redox processes and water quality of selected principal aquifer systems. *Groundwater*, volume 46, issue 2, pages 259-271, [doi: 10.1111/j.1745-6584.2007.00385.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.2007.00385.x).
- Meckenstock, R.U. et al., 2015, Biodegradation: updating the concepts of control for microbial cleanup in contaminated aquifers. *Environmental Science and Technology*, volume 49, issue 12, pages 7073-7081, [doi: 10.1021/acs.est.5b00715](https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00715).
- Meckenstock, R.U. et al., 2016, Anaerobic degradation of benzene and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, volume 26, issues 1-3, pages 92-118, [doi: 10.1159/000441358](https://doi.org/10.1159/000441358).
- Menberg, K., P. Blum, B.L. Kuryluk, and P. Bayer, 2014, Observed groundwater temperature response to recent climate change. *Hydrology and Earth System Sciences*, volume 18, issue 11, pages 4453-4466, [doi: 10.5194/hess-18-4453-2014](https://doi.org/10.5194/hess-18-4453-2014).
- Minto, J.M., E. MacLachlan, G. El Mountassir, and R.J. Lunn, 2016, Rock fracture grouting with microbially induced carbonate precipitation. *Water Resources Research*, volume 52, issue 11, pages 8827-8844, [doi: 10.1002/2016WR018884](https://doi.org/10.1002/2016WR018884).
- Mitchell, A.C. and F.G. Ferris, 2005, The co-precipitation of Sr into calcite precipitates induced by bacterial ureolysis in artificial groundwater: temperature and kinetic dependence. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, volume 69, issue 17, pages 4199-4210, [doi: 10.1016/j.gca.2005.03.014](https://doi.org/10.1016/j.gca.2005.03.014).
- Mohn, W.W. and J.M. Tiedje, 1992, Microbial reductive dehalogenation. *Microbiological Reviews*, volume 56, issue 3, pages 482-507, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372880/>.
- Mora, C., D.P. Tittensor, S. Adl, A.G.B. Simpson, and B. Worm, 2011, How many species are there on Earth and in the ocean? *PLOS Biology*, volume 9, issue 8, page e1001127, [doi: 10.1371/journal.pbio.1001127](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001127).
- Pandey, P.K., P.H. Kass, M.L. Soupir, S. Biswas, and V.P. Singh, 2014, Contamination of water resources by pathogenic bacteria. *AMB Express*, volume 4, page 51, [doi: 10.1186/s13568-014-0051-x](https://doi.org/10.1186/s13568-014-0051-x).
- Pang, L., M. Close, M. Goltz, L. Sinton, H. Davies, C. Hall, and G. Stanton, 2004, Estimation of septic tank setback distances based on transport of E. coli and F-RNA phages. *Environment International*, volume 29, issue 7, pages 907-921, [doi: 10.1016/S0160-4120\(03\)00054-0](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00054-0).

- Parmar, N., Y.A. Gorby, T.J. Beveridge, and F.G. Ferris, 2001, Formation of green rust and immobilization of nickel in response to bacterial reduction of hydrous ferric oxide. *Geomicrobiology Journal*, volume 18, issue 4, pages 375-385, [doi: 10.1080/014904501753210549](https://doi.org/10.1080/014904501753210549).
- Perez, J.P.H., A.A. Schiefler, S.N. Rubio, M. Reischer, N.D. Overheu, L.G. Benning, and D.J. Tobler, 2021, Arsenic removal from natural groundwater using 'green rust': solid phase stability and contaminant fate. *Journal of Hazardous Materials*, volume 401, page 123327, [doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123327](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123327).
- Phoenix, V.R., A.A. Korenevsky, F.G. Ferris, Y.A. Gorby, and T.J. Beveridge, 2007, Influence of lipopolysaccharide on the surface proton-binding behavior of shewanella spp. *Current Microbiology*, volume 55, pages 152-157, [doi: 10.1007/s00284-007-0077-2](https://doi.org/10.1007/s00284-007-0077-2).
- Rebata-Landa, V. and J.C. Santamarina, 2006, Mechanical limits to microbial activity in deep sediments. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, volume 71, [doi: 10.1029/2006GC001355](https://doi.org/10.1029/2006GC001355).
- Roden, E.E., D. Sobolev, B. Glazer, and G.W. Luther III, 2004, Potential for microscale bacterial Fe redox cycling at the aerobic-anaerobic interface. *Geomicrobiology Journal*, volume 21, issue 6, pages 379-391, [doi: 10.1080/01490450490485872](https://doi.org/10.1080/01490450490485872).
- Schwarz, M., F. Giadrossich, P. Lüscher, and P.F. Germann, 2018, Subsurface hydrological connectivity of vegetated slopes: a new modeling approach. *Hydrology and Earth System Sciences Discussions*, [doi: 10.5194/hess-2017-761](https://doi.org/10.5194/hess-2017-761).
- Semprini, L., P.V. Roberts, G.D. Hopkins, and P.L. McCarty, 1990. A field evaluation of insitu biodegradation of chlorinated ethenes, part 2, the results of biostimulation and biotransformation experiments. *Ground Water*, volume 28, pages 715-727, [doi: 10.1111/j.1745-6584.1990.tb01987.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1990.tb01987.x).
- Semprini, L. and P.L. McCarty, 1991, Comparison between model simulations and field results for in-situ bioremediation of chlorinated aliphatics, part 1, biostimulation of methanotrophic bacteria. *Groundwater*, volume 29, issue 3, pages 365-374, [doi: 10.1111/j.1745-6584.1991.tb00527.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-6584.1991.tb00527.x).
- Shelobolina, E., H. Xu, H. Konishi, R. Kukkadapu, T. Wu, M. Blöthe, and E.E. Roden, 2012, Microbial lithotrophic oxidation of structural Fe(II) in biotite. *Applied and Environmental Microbiology*, volume 78, issue 16, pages 574-5752, [doi: 10.1128/aem.01034-12](https://doi.org/10.1128/aem.01034-12).
- Shen, Y., F.H. Chapelle, E.W. Strom, R. Benner, 2015, Origins and bioavailability of dissolved organic matter in groundwater. *Biogeochemistry*, volume 122, pages 61-78, [doi: 10.1007/s10533-014-0029-4](https://doi.org/10.1007/s10533-014-0029-4).
- Shirokova, V.L. and F.G. Ferris, 2013, Microbial diversity and biogeochemistry of a shallow pristine Canadian Shield groundwater system. *Geomicrobiology Journal*, volume 30, pages 140-149, [doi: 10.1080/01490451.2011.654378](https://doi.org/10.1080/01490451.2011.654378).

- Shirokova, V.L., A.M.L. Enright, C.B. Kennedy, and F.G. Ferris, 2016, Thermal intensification of microbial Fe(II)/Fe(III) redox cycling in a pristine shallow sand aquifer on the Canadian Shield. *Water Research*, volume 106, pages 604-612, [doi: 10.1016/j.watres.2016.10.050](https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.050).
- Shoemaker, W.B., K.J. Cunningham, E.L. Kuniansky, and J. Dixon, 2008, Effects of turbulence on hydraulic heads and parameter sensitivities in preferential groundwater flow layers. *Water Resources Research*, volume 44, issue 3, page W03501, [doi: 10.1029/2007WR006601](https://doi.org/10.1029/2007WR006601).
- Small, T.D., L.A. Warren, and F.G. Ferris, 2001, Influence of ionic strength on strontium sorption to bacteria, Fe(III)-oxide, and composite bacteria-Fe(III) oxide surfaces. *Applied Geochemistry*, volume 16, issue 7-8, pages 939-946, [doi: 10.1016/S0883-2927\(00\)00065-2](https://doi.org/10.1016/S0883-2927(00)00065-2).
- Smith, D.S. and F.G. Ferris, 2001, Computational and experimental approaches to studying metal interactions with microbial biofilms. *Methods in Enzymology*, volume 337, pages 225-242, [doi: 10.1016/S0076-6879\(01\)37017-9](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(01)37017-9).
- Sokolov, I., D.S. Smith, G.S. Henderson, Y.A. Gorby, and F.G. Ferris, 2001, Cell surface electrochemical heterogeneity of the Fe(III)-reducing bacteria *Shewanella putrefaciens*. *Environmental Science and Technology*, volume 35, issue 2, pages 341-347, [doi: 10.1021/es001258s](https://doi.org/10.1021/es001258s).
- Steeffel, C.I., D.J. DePaolo, and P.C. Lichtner, 2005, Reactive transport modeling: an essential tool and a new research approach for the Earth sciences. *Earth and Planetary Science Letters*, volume 240, issues 3-4, pages 539-558, [doi: 10.1016/j.epsl.2005.09.017](https://doi.org/10.1016/j.epsl.2005.09.017).
- Stolper, D.A., N.P. Revsbech, and D.E. Canfield, 2010, Aerobic growth at nanomolar oxygen concentrations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, volume 107, issue 44, pages 18755-18760, [doi: 10.1073/pnas.1013435107](https://doi.org/10.1073/pnas.1013435107).
- Stumm, W. and J.J. Morgan, 1995, *Aquatic chemistry*. Wiley, New York.
- Taylor, R., A. Cronin, S. Pedley, J. Barker, and T. Atkinson, 2004, The implications of groundwater velocity variations on microbial transport and wellhead protection – review of field evidence. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*, volume 49, issue 1, pages 17-26, [doi: 10.1016/j.femsec.2004.02.018](https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.02.018).
- Taylor, C.A. and H.G. Stefan, 2009, Shallow groundwater temperature response to climate change and urbanization. *Journal of Hydrology*, volume 375, issues 3-4, pages 601-612, [doi: 10.1016/j.jhydrol.2009.07.009](https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2009.07.009).
- Tesoriero, A.J., S. Terziotti, and D.B. Abrams, 2015, Predicting redox conditions in groundwater at a regional scale. *Environmental Science and Technology*, volume 49, issue 16, pages 9657-9664, [doi: 10.1021/acs.est.5b01869](https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01869).

- Tufenkji, N., 2007, Modeling microbial transport in porous media: traditional approaches and recent developments. *Advances in Water Resources*, volume 30, issues 6-7, pages 1455-1469, [doi: 10.1016/j.advwatres.2006.05.014](https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2006.05.014).
- USEPA, 1998, Technical protocol for evaluating natural attenuation of chlorinated solvents in groundwater, [EPA/600/R-98/128](https://www.epa.gov/600/r-98/128), Washington D.C.
- USEPA, 2002, Onsite wastewater treatment systems manual systems, [EPA/625/R-00/008](https://www.epa.gov/625/r-00/008).
- USEPA, 2013, Introduction to in situ bioremediation of groundwater. Office of Solid Waste and Energy Response, Division of Solid Waste and Energy Response, [EPA/542-R-13-018](https://www.epa.gov/542/r-13-018).
- Varjani, S. J. and V. N. Upasani, 2017, A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. *International Biodeterioration and Biodegradation*, volume 120, pages 71-83, [doi: 10.1016/j.ibiod.2017.02.006](https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.02.006).
- Wang, F., A.M. Burrage, S. Postel, R.E. Clark, A. Orlova, E.J. Sundberg, D.B. Kearns, and E.H. Egelman, 2017, A structural model of flagellar filament switching across multiple bacterial species. *Nature Communications*, volume 8, page 960, [doi: 10.1038/s41467-017-01075-5](https://doi.org/10.1038/s41467-017-01075-5).
- Warren, L.A. and F.G. Ferris, 1998, Continuum between sorption and precipitation of Fe(III) on bacterial cell surfaces. *Environmental Science and Technology*, volume 32, issue 15, pages 2331-2337, [doi: 10.1021/es9800481](https://doi.org/10.1021/es9800481).
- Wilson, M.J., 2004, Weathering of the primary rock-forming minerals: processes, products, and rates. *Clay Minerals*, volume 39, issue 3, pages 233-266, [doi: 10.1180/0009855043930133](https://doi.org/10.1180/0009855043930133).
- Zhu, T. and M. Dittrich, 2016, Carbonate precipitation through microbial activities in natural environment, and their potential in biotechnology: a review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, volume 4, page 4, [doi: 10.3389/fbioe.2016.00004](https://doi.org/10.3389/fbioe.2016.00004).
- Zobell, C.E., 1946, Studies on redox potential of marine sediments. *American Association of Petroleum Geologists Bulletin*, volume 30, issue 4, pages 477-513, [doi: 10.1306/3D933808-16B1-11D7-8645000102C1865D](https://doi.org/10.1306/3D933808-16B1-11D7-8645000102C1865D).

10 Soluciones a los ejercicios

Solución a Ejercicio 1

Los microorganismos procariotas carecen de núcleo membranoso, mientras que los eucariotas lo tienen unido a una membrana.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 1](#) ↑

Solución a Ejercicio 2

Las paredes celulares de los procariotas que responden de manera positiva a la tinción de Gram están formadas por peptidoglicano, que es una malla de mucopolisacáridos reticulados en tres dimensiones por puentes peptídicos, y una variedad de polímeros secundarios (ácidos teicoico o teicurónico y proteínas). Por otro lado, las paredes celulares de los procariotas que responden de manera negativa a la tinción de Gram contienen lipopolisacáridos, fosfolípidos y proteínas dispuestos en una bicapa de membrana (la membrana externa). Entre la membrana externa y la membrana citoplasmática hay una fina capa de peptidoglicano.

Bono - Algunas bacterias con paredes celulares no responden de manera positiva ni negativa a la tinción de Gram. Las paredes celulares de las arqueas carecen del tipo de peptidoglicano que se encuentra en los procariotas y, en su lugar, contienen pseudopeptidoglicano, glicoproteínas o proteínas solas.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 2](#) ↑

Solución a Ejercicio 3

Sustancias poliméricas extracelulares (EPS).

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 3](#) ↑

Solución a Ejercicio 4

El tiempo de duplicación para el crecimiento microbiano exponencial viene dado por la ecuación $T = \ln(2)/\mu = 0.693/\mu$ en la que la frecuencia de división celular viene especificada por la constante de velocidad de crecimiento exponencial μ . Esto da un tiempo de duplicación de 138.6 s, que equivale a 2.3 min.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 4](#) ↑

Solución a Ejercicio 5

En los sistemas de aguas subterráneas, las escalas de longitud se extienden desde 10^{-6} m (μm) hasta grandes distancias de 10^3 m (km), dependiendo de cómo se defina el tamaño del hábitat. La escala de longitud es fundamental porque define otras propiedades físicas importantes para la habitabilidad, como las áreas de superficie y los volúmenes

relativos de sólidos, agua, aire y otros fluidos. Estos factores no sólo determinan dónde es posible que se refugie la vida microbiana, sino que también influyen en el movimiento del agua, la química de las aguas subterráneas y los procesos de transporte de masas reactivas.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 5](#) ↑

Solución a Ejercicio 6

Al estar por debajo de la superficie, las aguas subterráneas están aisladas de los ciclos diarios de irradiación solar y de las variaciones climáticas estacionales por sobre el suelo. Las propiedades aislantes del material del subsuelo y el alto calor específico del agua hacen que las aguas subterráneas poco profundas conserven una temperatura bastante constante, aproximadamente igual a la temperatura media anual del aire del lugar. Las aguas subterráneas más profundas son calentadas por el gradiente geotérmico de la región.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 6](#) ↑

Solución a Ejercicio 7

La temperatura esperada en un sistema de aguas subterráneas profundas a 2000 m de profundidad sería de unos 50 a 60°C superior a la temperatura en la superficie, que es de unos 15°C de media, lo que corresponde al rango de temperatura de los microorganismos termófilos.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 7](#) ↑

Solución a Ejercicio 8

~35 millones de células. En los sistemas de aguas subterráneas cercanas a la superficie, el número medio de células microbianas procariotas es de 10^7 células/g. Por lo tanto, una muestra de 3,5 g contendría 10^7 células/g \times 3.5 g = 3.5×10^7 (35 millones) de células.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 8](#) ↑

Solución a Ejercicio 9

1. Oxígeno - agua
2. Nitrato - nitrógeno
3. Fe(III)/Mn(IV) - Fe(II)/Mn(II)
4. Sulfato - sulfuro
5. Dióxido de carbono – metano

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 9](#) ↑

Solución a Ejercicio 10

Los autótrofos dependen de compuestos químicos de sustancias inorgánicas (es decir, líticas) como fuente de energía para la reducción del dióxido de carbono, por lo que se clasifican como Quimiolitautótrofos.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 10](#) ↗

Solución a Ejercicio 11

Los heterótrofos (a menudo sinónimo de organótrofos) dependen de moléculas orgánicas que ya existen en el sistema para promover su crecimiento, por lo que se clasifican como Quimioorganoheterótrofos.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 11](#) ↗

Solución a Ejercicio 12

Los diámetros de los poros de las pizarras y las arcillas (normalmente $< 10^{-7}$ m) son demasiado pequeños para dar cabida a microorganismos procariotas con diámetros celulares superiores a 10^{-7} m.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 12](#) ↗

Solución a Ejercicio 13

Sólo una (procariotas). La vida en el subsuelo está limitada por el diámetro de los poros. El menor tamaño de los procariotas les permite vivir dentro del diámetro de los poros de las rocas carbonatadas.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 13](#) ↗

Solución a Ejercicio 14

Los microorganismos procariotas contribuyen a las reacciones químicas en los sistemas de aguas subterráneas de dos maneras. En primer lugar, la actividad enzimática metabólica puede acelerar (catalizar) reacciones lentas y forzar a los cocientes de reacción correspondientes a desplazarse rápidamente hacia o desde el equilibrio. Esto afecta a muchos aspectos de la química de las aguas subterráneas, como el pH, las condiciones redox, los procesos de disolución y precipitación de minerales y la especiación química de los solutos. En segundo lugar, las células procariotas se comportan como sólidos reactivos microscópicos debido a la reactividad química de grupos funcionales, como los sustituyentes carboxilo o fosforilo, en los componentes macromoleculares de las paredes celulares, las cubiertas externas y los EPS. Como sólidos reactivos, las bacterias no solo contribuyen a la sorción de iones disueltos, sino que también sirven como núcleos heterogéneos para la precipitación de minerales.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 14](#) ↗

Solución a Ejercicio 15

A medida que aumenta el pH, los sólidos sorbentes tienden a desarrollar una carga superficial más negativa que favorece una mayor sorción de cationes (cargados positivamente) y una menor sorción de aniones (cargados negativamente).

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 15](#) ↑

Solución a Ejercicio 16

Los microbios se utilizan para limpiar los contaminantes de las aguas subterráneas en procesos conocidos como "biorremediación". La biorremediación utiliza microorganismos para reducir la contaminación mediante la degradación biológica de contaminantes (por ejemplo, hidrocarburos de petróleo y compuestos clorados) en sustancias no tóxicas. Los contaminantes pueden actuar como donantes de electrones (por ejemplo, BTEX) o como aceptores de electrones (por ejemplo, TCE) en el metabolismo microbiano.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 16](#) ↑

Solución a Ejercicio 17

Justificación: Los microorganismos pueden utilizar compuestos BTEX como donadores de electrones en su metabolismo. Mientras haya nutrientes y aceptores de electrones disponibles en las aguas subterráneas, los microorganismos pueden metabolizar y, por tanto, degradar dichos contaminantes.

Las tres estrategias posibles son:

1. Atenuación natural: se deja que la comunidad microbiana natural elimine el contaminante objetivo sin intervención humana;
2. Bioestimulación: se añaden nutrientes esenciales para estimular a la comunidad microbiana natural a eliminar el contaminante objetivo;
3. Bioaumentación: se inyectan nutrientes y cepas seleccionadas de bacterias en el subsuelo para promover la eliminación del contaminante objetivo.

Entre los aceptores de electrones comúnmente disponibles, el oxígeno produce más energía que cualquier otro oxidante en la respiración aeróbica. Para mejorar la degradación microbiana de los compuestos BTEX, se podría aumentar la disponibilidad de oxígeno en las aguas subterráneas. El oxígeno puede añadirse a las aguas subterráneas directamente en el subsuelo mediante pulverización de aire o mediante la inyección de un oxidante químico (por ejemplo, peróxido de hidrógeno) que se descompone para liberar oxígeno.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 17](#) ↑

Solución a Ejercicio 18

Los procesos de disolución mineral tienden a consumir protones como reactivos, lo que obliga a liberar cationes sorbidos en la solución para conservar la electroneutralidad. La fuente más común de protones en las reacciones de disolución mineral es el ácido carbónico, que se genera a partir de la degradación de la materia orgánica por la actividad microbiana heterótrofa. Los microorganismos también producen otros ácidos inorgánicos y orgánicos. Entre ellos se incluye el ácido sulfúrico procedente de la oxidación de minerales sulfurados, así como una amplia variedad de ácidos carboxílicos como el ácido acético y el ácido oxálico.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 18](#) ↑

Solución a Ejercicio 19

Las bacterias disimiladoras reductoras de Fe(III) y Mn(IV) utilizan óxidos de hierro y manganeso hidrosolubles como aceptores de electrones en fase sólida para la respiración anaeróbica. Estos minerales de óxido suelen aparecer como finos revestimientos sobre otros granos minerales, así como sobre materiales orgánicos particulados. La disolución de estos recubrimientos por reducción microbiana en condiciones de bajo oxígeno da lugar con frecuencia a características de color gleyico (gris-azul-verde), evidentes en muestras manuales de recortes de sondeos y testigos de zonas de reducción de Mn(IV) y Fe(III) en sistemas de aguas subterráneas.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 19](#) ↑

Solución a Ejercicio 20

La precipitación microbiana de minerales carbonatados puede utilizarse en la cementación de sedimentos no consolidados y el relleno de espacios porosos vacíos para mejorar el esfuerzo de corte y la rigidez de depósitos sueltos y/o reducir la permeabilidad para controlar el flujo de aguas subterráneas.

[Volver al texto vinculado al Ejercicio 20](#) ↑

11 Sobre los autores



F. Grant Ferris es profesor del Departamento de Ciencias de la Tierra de la Universidad de Toronto. Durante los últimos 30 años, ha acercado los mundos de la investigación en geoquímica microbiana y las aplicaciones industriales. Formado en microbiología durante sus estudios de licenciatura y doctorado en la Universidad de Guelph, Grant obtuvo una beca postdoctoral de la Administración Nacional de Aeronáutica y del Espacio (NASA) en el Instituto Scripps de Oceanografía de California, y una beca postdoctoral del Consejo de Investigación de Ciencias Naturales e Ingeniería en la Western University de Ontario. Tras sus becas, Grant se incorporó al sector privado, donde trabajó en la industria del petróleo y el gas en la corrosión de oleoductos, la recuperación mejorada de petróleo y la limpieza de residuos de refinería. Durante este tiempo, diseñó y patentó un proceso de taponamiento biomineral para reducir la porosidad y permeabilidad de las formaciones geológicas del subsuelo. Tras varios años trabajando en la industria, Grant se incorporó a la Universidad de Toronto y creó uno de los primeros laboratorios de geoquímica microbiana de Canadá.

A lo largo de su carrera, Grant ha aportado una inmensa cantidad de conocimientos al área de la geoquímica microbiana. Su grupo de investigación ha explorado algunos de los entornos más remotos e inaccesibles de la Tierra. Los lugares de estudio han abarcado desde la gran altitud del desierto de Atacama en Chile hasta las profundidades abisales del Océano Pacífico Norte; campos hidrotermales en el Parque Nacional de Yellowstone hasta géiseres en Islandia y Nueva Zelanda; instalaciones subterráneas de eliminación de residuos nucleares en Suecia hasta lagos alcalinos salinos efímeros en la Columbia Británica; y aguas rojo sangre del Río Tinto en España hasta la isla de Ellesmere en el Alto Ártico canadiense. Grant también ha sido editor de varias revistas científicas de renombre mundial y ha ocupado cargos ejecutivos en la Sociedad Americana de Microbiología y la Sociedad Internacional de Biogeoquímica Ambiental. Fue el único no estadounidense en la Junta de Estudios Espaciales del comité de la Academia Nacional de Ciencias (EE.UU.) sobre Evaluación de los Requisitos de Protección Planetaria para Misiones de Retorno de Muestras a Marte, y uno de los primeros miembros del Grupo de Trabajo sobre Astrobiología de la Agencia Espacial Canadiense.

La contribución de Grant al campo científico se complementa con su dedicación a la enseñanza y la tutoría de estudiantes y becarios postdoctorales. En reconocimiento a sus contribuciones, en 2012 Grant ingresó en la Real Sociedad de Canadá.



Natalie Szponar es una científica medioambiental multidisciplinaria que utiliza herramientas microbianas, geoquímicas e hidrogeológicas para comprender distintos procesos geológicos y medioambientales. Natalie se licenció en geoquímica acuosa en la Universidad McMaster y obtuvo un máster en geoquímica de isótopos estables en la Memorial University de Terranova. En su investigación de

grado, trabajó para comprender el papel de los microbios en el ciclo del carbono en entornos acuosos contaminados y no alterados. En la Memorial University también hizo prácticas en el Grupo de Trabajo de Astrobiología de la Agencia Espacial Canadiense, donde trabajó para comprender el potencial de los planetas no terrestres para albergar vida. Tras finalizar su máster, Natalie empezó a trabajar como hidrogeóloga y consultora medioambiental en una empresa consultora privada, donde trabajó durante más de nueve años. Como parte de su trabajo de consultoría, Natalie viajó por todo Canadá para trabajar en varios programas de evaluación y remediación ambiental. En 2016, regresó al mundo académico para cursar un doctorado en Ciencias de la Tierra, uniéndose al Grupo de Laboratorio de Metales Traza e Isótopos Metálicos de la Universidad de Toronto. Durante sus estudios de doctorado, Natalie trabajó en gran parte en Perú, creando capacidad para la investigación y el muestreo en áreas afectadas por la minería de oro artesanal y de pequeña escala y ayudando en los esfuerzos de Perú para comprender los efectos de estas operaciones mineras en el medio ambiente.



Brock A. Edwards es estudiante de tercer año de doctorado en la Universidad de Manitoba e investiga el papel de las emisiones de gases volcánicos en el ciclo global del mercurio. Junto con colegas de la Oficina Meteorológica de Islandia y de la Universidad de Islandia, ha estudiado recientemente las primeras emisiones de mercurio y otros gases de la erupción de Fagradalsfjall, en el suroeste de Islandia. Sus investigaciones previas como estudiante de licenciatura y máster en la Universidad de Toronto se centraron en el ciclo biogeoquímico del hierro en entornos de agua dulce y la

influencia de los microorganismos en la calidad del agua y la movilidad de los contaminantes.

12 Sobre los traductores



Juan Carlos Richard-Cerda es un investigador y actualmente estudiante doctoral en el grupo de hidrogeología de la Universidad Técnica de Darmstadt. Tiene un MSc en hidrogeología en la misma universidad y se graduó en Ingeniería Civil Hidráulica en la Universidad de Chile. Su investigación de doctorado se enfoca en la evaluación de impactos de la agricultura mediante la modelación numérica, con énfasis en aspectos como, desnitrificación, hidrogeoquímica, componentes de balance hídrico y subsidencia inducida por bombeo para riego.



Maria Prieto-Espinoza es actualmente una investigadora postdoctoral de la Universidad de Waterloo (Canadá). Su trabajo se enfoca en comprender el transporte y la (bio)degradación de contaminantes orgánicos en suelos y aguas subterráneas, así como en la movilización de metales. Maria integra diferentes herramientas que aportan información clave sobre procesos de degradación como son los isotopos estables (En inglés: compound-specific isotope analysis), datos hidrogeoquímicos y de composición bacteriana, y datos sobre el medio hidrogeológico. Maria se interesa en diferentes compuestos orgánicos como los solventes clorados y los compuestos emergentes tales como los pesticidas y productos farmacéuticos y de uso personal. Después de su formación como ingeniera ambiental de la Universidad Veracruzana (México), Maria realizó sus estudios de maestría en la Universidad de Tubinga (Alemania) y se especializó en temas relacionados a la contaminación de aguas subterráneas. Maria recibió su doctorado en hidrología de la Universidad de Estrasburgo (Francia) en donde se enfocó en el uso de isotopos estables y herramientas biomoleculares para determinar la biodegradación de compuestos clorados y pesticidas en acuíferos, y su implementación en modelos numéricos. Su trabajo de investigación continuó en la Universidad de Aix-Marseille (Francia) con el estudio de pesticidas organoclorados persistentes en suelos y actualmente realiza una estancia postdoctoral en la Universidad de Waterloo (Canadá) sobre la movilización del arsénico en residuos mineros.



Joaquín Riquelme Fenner tiene un MSc en Hidrogeología y Geotermia por la Université de Neuchâtel, Suiza y un Diploma en Hidrogeología aplicada a la minería y medio ambiente por la Universidad de Chile. Es graduado en Geología en la Universidad de Concepción, Chile. Cuenta con 10 años de experiencia en proyectos de obras civiles de gran envergadura y minería a cielo abierto en las disciplinas de geotecnia e hidrogeología, con especial foco en sondajes profundos, pozos de monitoreo y extracción, mecánica de rocas y suelos, pruebas hidráulicas e hidrogeoquímica y ensayos geofísicos. Sus responsabilidades incluyen la planificación de proyectos, toma y análisis de datos de terreno y apoyo en instrumentaciones de precisión que incluyen tanto el monitoreo hidrogeológico como geotécnico.



María Vicenta Esteller Alberich finalizó sus estudios de geología en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, España, y obtuvo el título de doctora, por esta misma universidad. Asimismo, llevo a cabo estudios de posdoctorado en la Universidad de Lisboa, Portugal. Ingresó en la Universidad Autónoma del Estado de México en 1996, donde actualmente es profesora-investigadora en el Instituto Interamericano de Tecnología y Ciencias del Agua. Es nivel II en el Sistema Nacional de Investigadores. Ha ejercido labores como coordinadora de investigación y de estudios de posgrado. Sus líneas de investigación se han centrado en tres áreas relacionadas con la hidrogeología: la contaminación de aguas subterráneas, el flujo y transporte en la zona no saturada y en la remediación y protección de acuíferos. Su obra científica consta de artículos en revistas internacionales indexadas, coordinadora de libros, así como de varios artículos de divulgación, y ponencias en congresos nacionales e interaccionales. La formación de recursos humanos ha sido dada tanto a nivel de licenciatura como de posgrado, habiendo dirigido tesis en el ámbito de las Ciencias del Agua.

Considere la posibilidad de inscribirse en la lista de correo del GW-Project para mantenerse informado sobre la publicación de nuevos libros, eventos y formas de participar en el GW-Project. Al inscribirse en nuestra lista de correo electrónico nos ayuda a construir una comunidad mundial de aguas subterráneas. [Regístrese](#).



Modificaciones de la versión original

cambios globales:

todas las apariciones de μm se cambiaron por μm

los símbolos químicos en cursiva se cambiaron a fuente normal, incluidas las Tablas 1 y 2

página ii, actualizado el título de Szponar a Doctor of Philosophy

página iii, se ha corregido el error ortográfico de Natalie

página vii, corrección ortográfica de Szponar a Szponar

página 4, último párrafo de la sección 2, "Por lo general, hay de 10⁵ a 10⁶ células" se cambió por "Por lo general, hay de 10⁵ a 10⁶ células"

página 20, Tabla 1, el 2 en H₂O se ha cambiado por un subíndice en la segunda fila debajo de "Donores de electrones"

página 29, la definición de los términos de la ecuación 18 se han aclarado utilizando corchetes para indicar que A, B, C y D representan actividades, y "(C,D)" se ha eliminado de la segunda descripción

página 29, parte superior de la página, Δ se eliminó de "energía Gibbs estándar de reacción (ML²)/(T² mol)"

página 31, párrafo después de la ecuación 25, $KH = 10^{-1.47}$ se cambió por $KH = 10^{-1.47}$, $K1 = 10^{-6.35}$ se cambió por $K1 = 10^{-6.35}$

página 39, ecuación 32, se ha eliminado la segunda aparición de K_{app} en el denominador del segundo término del lado derecho

página 63, se ha añadido el enlace a Janssen y Stucki, 2020