

UNIVERSIDAD DEL MAR

campus **Puerto Ángel**



Identificación y cuantificación de solutos compatibles acumulados por *Bacillus pumilus*, *Cobetia marina* y *Psychrobacter cryohalolentis* al ser expuestas a NaClO_4 y $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ como parámetro de habitabilidad de la actual superficie de Marte

TESIS

Que para obtener el Título Profesional de
Licenciado en Biología Marina

PRESENTA

Rubén Antonio Miguel Jiménez

DIRECTOR

Dra. Sandra Ignacia Ramírez Jiménez
Centro de Investigaciones Químicas
Universidad Autónoma del Estado de Morelos

Ciudad Universitaria, Puerto Ángel, Oaxaca, México, 2025

Resumen

La astrobiología estudia el origen, la evolución, la distribución y el futuro de la vida en el Universo. Entre los objetos planetarios del sistema solar que son de interés para la astrobiología se encuentra el planeta Marte, prioritario para la búsqueda de vida fuera de la Tierra. En 2008 la misión *Phoenix* detectó al oxianión perclorato, ClO_4^- , en una concentración de 2.7 milimolar (mM) en la zona norte de Marte y en 2015 la sonda *Mars Express* descubrió agua líquida en el polo sur marciano. Ambos hallazgos han impulsado la investigación sobre la habitabilidad de Marte, debido a que el agua es una molécula indispensable para la vida, y la presencia de perclorato pudiera ofrecer recursos energéticos para el potencial desarrollo de microorganismos halófilos.

En este trabajo se investigó la tolerancia, así como la producción de solutos compatibles, por la bacteria halotolerante *Bacillus pumilus*, así como por las bacterias halófilas *Cobetia marina* y *Psychrobacter cryohalolentis*, al ser expuestas a concentraciones de perclorato de sodio NaClO_4 y perclorato de magnesio, $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ semejantes a las reportadas para la actual superficie de Marte. Las tres bacterias evaluadas mostraron tolerancia y crecimiento en 27 mM, tanto en perclorato de sodio como de magnesio, dicha concentración equivale a 10 veces más a la concentración detectada en Marte, para el oxianión perclorato, ClO_4^- . *B. pumilus* la bacteria halotolerante, también mostró crecimiento en 200 mM de $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, es decir una concentración 74 veces superior a la reportada para Marte. Tanto *C. marina* como *P. cryohalolentis* mostraron crecimiento hasta 270 mM de NaClO_4 y de $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ lo que representa 100 veces la concentración detectada en Marte para este oxianión.

En lo referente a las estrategias de adaptación al estrés salino, se determinó que la betaína desempeña un papel crucial como soluto compatible en el mecanismo de adaptación de las tres especies analizadas. La presencia de este soluto compatible se detectó en cantidades variables. Para *B. pumilus* se encontró una relación de 0.94 a 13.09 μg de betaína por 1 mg de biomasa, en el caso de *C. marina* las cantidades varían entre 14.71 y 28.48 μg de betaína por 1 mg de biomasa y para *P. cryohalolentis* varían entre 8.25 y 24.99 μg de betaína por 1 mg de biomasa.

Estos resultados posicionan a estas bacterias como candidatas prometedoras para investigaciones más específicas en lo relativo a la habitabilidad de la actual superficie del planeta Marte, tema de interés en el ámbito de la astrobiología.

Palabras clave: Astrobiología, microorganismos extremófilos, osmorregulación, percloratos

Dedicatoria

A mi madre, faro en mi camino,
que veló mis sueños con su amor divino,
por cada paso, por cada empeño,
su fe fue la fuerza que impulsó mi sueño.

En cada madrugada, en cada espera,
su voz fue pilar en noches inciertas,
fue abrigo en la tormenta más severa,
y su amor en mí, la fuerza que despierta.

En su amor hallé el refugio eterno,
su espíritu en calma me dio abrigo,
y en cada consejo, sabio y tierno,
fue luz y guía en el sendero que prosigo.

Ella sembró en mí raíces profundas,
de amor, de lucha, de perseverancia,
que florecen en cada paso de mi vida,
guiándome con su ejemplo y constancia.

Con sacrificio y con esfuerzo callado,
fue quien hizo posible mi esperanza,
sus manos labraron el suelo anhelado,
y en su entrega florece mi confianza.

Gracias, madre, por cada aliento,
por sostener mi vuelo al viento,
por ser la raíz en cada paso,
y el amor eterno que abrazo.

Agradecimientos

Primero que nada, quiero agradecer a mi mamá, quien sin duda alguna es la persona más importante en mi vida. Gracias, mamita hermosa, por creer en mí, por tu apoyo que siempre me llenó de cariño, y por haberme escogido como tu hijo en esta vida. Te amo profundamente.

Expreso también mi más sincero agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, por la financiación otorgada a través del proyecto 377887, así como al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Morelos, por su apoyo en el proyecto 88. Sin su generosa colaboración, este trabajo no habría sido posible.

Agradezco de corazón a los alumnos de doctorado del Instituto de Biotecnología de la UNAM, Ricardo Miranda Blancas y María Cristina Cardona Echavarría, por su ayuda y disposición durante este proceso. Sobre todo, al Doctor Santiago Cadena Rodríguez, quien no solo fue mi asesor, sino también una guía constante, fuente de inspiración y ejemplo a seguir. Su paciencia y dedicación me acompañaron en cada etapa de este camino, ayudándome a superar obstáculos y a creer en mis capacidades. No encuentro palabras suficientes para expresar mi gratitud por todo su apoyo, sus consejos oportunos y el tiempo que invirtió en guiarme, incluso en los momentos más desafiantes. Gracias, doctor, por creer en mí y por ser un pilar fundamental en la culminación de esta meta.

Agradezco también al Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Biotecnología de la UNAM y al Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios de la UAEM, por facilitarme los espacios y materiales necesarios para desarrollar la parte experimental y analítica de mi trabajo.

Finalmente, a todos mis profesores de la carrera, a los revisores de mi tesis, a mis amigos, y a todas aquellas personas especiales que me acompañaron en este camino, convirtiéndolo en una experiencia grata y significativa. A quienes, de manera directa o indirecta, me echaron la mano en este proceso, les extiendo mi más sincero agradecimiento. ¡Gracias a todos!

Índice

INTRODUCCIÓN.....	1
Los microorganismos extremófilos.....	1
Los microorganismos halófilos.....	2
La actividad de agua, la ósmosis y la osmorregulación.....	4
Los solutos compatibles.....	6
Astrobiología y los organismos halófilos.....	7
Características de Marte y su interés astrobiológico.....	8
La detección de agua y de percloratos en Marte.....	9
ANTECEDENTES.....	13
JUSTIFICACIÓN.....	17
HIPÓTESIS	18
OBJETIVOS	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos.....	19
MATERIALES Y METODOS.....	19
Bacterias y medios de cultivos nominales.....	19
Incubación y crecimiento bacteriano.....	20
Cálculo de parámetros cinéticos.....	21
Obtención de biomasa bacteriana y solutos compatibles.....	22
Identificación y cuantificación de solutos compatibles.....	24
RESULTADOS.....	26
Cinéticas de crecimiento.....	26
Bacillus pumilus.....	27
Cobetia marina.....	29
Psychrobacter cryohalolentis.....	31
Identificación y cuantificación de solutos compatibles.....	33
Bacillus pumilus.....	34
Cobetia marina.....	34

Psychrobacter cryohalolentis.....	35
DISCUSIÓN	35
Cinéticas de crecimiento.....	35
Bacillus pumilus.....	37
Cobetia marina.....	38
Psychrobacter cryohalolentis.....	40
Identificación y cuantificación de solutos compatibles	42
CONCLUSIÓN.....	46
REFERENCIAS.....	47
APÉNDICES	52
Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de protón (¹ H-RMN).....	52
Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de carbono (¹³ C -RMN).....	57

Índice de figuras

Figura 1. Efecto de la concentración de NaCl en el crecimiento de organismos con diferentes tolerancias o requerimientos salinos. Tomado de Madigan <i>et al.</i> 2015.....	3
Figura 2. Fotografía de Marte obtenida de la Agencia Espacial Europea (ESA) en 2007.....	9
Figura 3. Formas de erosión de un valle marciano creadas por una gran inundación; el agua fluyó de la parte superior de la imagen hacia el inferior (NASA).	10
Figura 4. Fotografía con vista debajo de módulo de aterrizaje Phoenix. El recuadro muestra hielos de agua. Tomado y modificado de Nazari-Sharabian <i>et al.</i> (2020)	11
Figura 5. Diagrama de flujo de la extracción de solutos compatible.....	23
Figura 6. Cinéticas de crecimiento de los microorganismos estudiados, en su medio nominal y expuestos a 27 y 270 mM de NaCl y Mg(ClO ₄) ₂ : A) <i>Bacillus pumilus</i> , B) <i>Cobetia marina</i> y C) <i>Psychrobacter cryohalolentis</i>	26

Índice de tablas

Tabla I. Clasificación de microorganismos extremófilos (Tomado y modificado de Cavicchioli, 2002).....	1
Tabla II. Valores de actividad de agua para diferentes sustancias (Madigan et al. 2015).....	5
Tabla III. Ejemplos de solutos compatibles identificados en algunos microorganismos (Madigan et al. 2015).....	7
Tabla IV. Solutos compatibles reportados en bacterias halófilas (Tomado de Roberts 2006)	25

Índice de apéndices

Apéndice 1. Detección de señales características del biftalato de potasio (rango 7ppm) y betaína (rango 3 ppm) en los espectros de resonancia magnética de protón (¹ H-RMN) de medios nominales; <i>Bacillus pumilus</i> 1 y 2 ; <i>Cobetia marina</i> 3 y 4 ; <i>Psychrobacter cryohalolentis</i> 5 y 6	52
Apéndice 2. Detección de señales características del biftalato de potasio (rango 7ppm) y betaína (rango 3 ppm) en los espectros de resonancia magnética de protón (¹ H-RMN) de medios modificados con 27 mM de NaClO ₄ ; <i>Bacillus pumilus</i> 1 y 2 ; <i>Cobetia marina</i> 3 y 4 ; <i>Psychrobacter cryohalolentis</i> 5 y 6	53
Apéndice 3. Detección de señales características del biftalato de potasio (rango 7ppm) y betaína (rango 3 ppm) en los espectro de resonancia magnética de protón (¹ H-RMN) de medios modificados con 27 mM de Mg(ClO ₄) ₂ ; <i>Bacillus pumilus</i> 1 y 2 ; <i>Cobetia marina</i> 3 y 4 ; <i>Psychrobacter cryohalolentis</i> 5 y 6	54
Apéndice 4. Detección de señales características del biftalato de potasio (rango 7ppm) y betaína (rango 3 ppm) en los espectros de resonancia magnética de protón (¹ H-RMN) de medios modificados con 270 mM de NaClO ₄ ; <i>Bacillus pumilus</i> 1 y 2 ; <i>Cobetia marina</i> 3 y 4 ; <i>Psychrobacter cryohalolentis</i> 5 y 6	55
Apéndice 5. Detección de señales características del biftalato de potasio (rango 7ppm) y betaína (rango 3 ppm) en los espectros de resonancia magnética de protón (¹ H-RMN) de medio modificado con 200.0 mM de Mg(ClO ₄) ₂ para <i>Bacillus pumilus</i> (1 y 2); y 270 mM Mg(ClO ₄) ₂ para <i>Cobetia marina</i> (3 y 4) y <i>Psychrobacter cryohalolentis</i> (5 y 6)..	56