

ACADEMIA DE CIENCIAS DE MORELOS, A.C.

¿Comentarios y sugerencias?, ¿Preguntas sobre temas científicos? CONTACTANOS: editorial @acmor.org.mx



Las bacterias que rescatarán el Golfo

Agustín B. Ávila Casanueva

Agustín Ávila es egresado de la carrera de Ciencias Genómicas de la UNAM, piensa que la divulgación de la ciencia puede llenar espacios culturales, de comunicación, científicos y lúdicos. Es profesor del Tecnológico de Monterrey campus Cuernavaca. Forma parte del Taller de Escritura Creativa en Ciencia y Portal Cienciorama de la DGDC (<http://www.cienciorama.unam.mx/>). La ACMOR agradece a Cienciorama que nos comparta este texto. Presentación: Agustín López Munguía

Me encuentro con la Dra. Diana Sahonero, en su laboratorio del Instituto de Biotecnología de la UNAM, a 250 km de la costa más cercana y me pregunta "¿Quieres oler el mar?" No espera mi respuesta, y saca de un refrigerador un recipiente, me acerco e inhalo profundamente. Sí, hay un olor marino, salado y metálico; pero no exactamente a mar, sino a pescadería, casi a descomposición. Y eso es justo lo que pasa dentro del refrigerador, y en todo el laboratorio: hay bacterias que están degradando sustancias orgánicas... petróleo.

El derrame que derramó el Golfo

El derrame petrolero más grande de la historia sucedió el 20 de abril del 2010 en el Golfo de México. Once personas murieron ese mismo día y la fuga no se controló sino hasta el 19 de septiembre, cinco meses después. Para ese entonces, se calcula que el pozo de la plataforma Deep Water Horizon de la empresa British Petroleum, derramó 757 millones de litros de petróleo crudo directamente al Golfo de México, a una profundidad de 1,500 metros.

El derrame afectó los ecosistemas del golfo y causó la muerte de aves, peces, tortugas, delfines entre otros cetáceos- además de contaminar los campos y cultivos de las costas. Fue en ese momento cuando

los científicos descubrieron lo poco que conocían el Golfo de México. Ninguno de sus modelos pudo predecir hacia dónde se movería el crudo y cómo afectaría la vida marina. Hasta la fecha, nadie sabe dónde se encuentra el 25% del crudo derramado.

Al percatarse de esta situación insostenible, un grupo de científicos mexicanos decidió tomar cartas en el asunto: "Debemos de poder contender con los riesgos de derrames de petróleo a gran escala" comenta la Dra. Liliana Pardo, una de las coordinadoras del Consorcio de Investigación del Golfo de México (CIGoM), e investigadora del Instituto de Biotecnología de la UNAM. "Necesitamos saber qué hay en el Golfo de México, tener un atlas detallado, así, cuando suceda algún otro derrame -porque seguramente lo habrá- podremos saber cómo se comporta el golfo con una alteración de esa magnitud, además de poder responder rápidamente para contrarrestar la contaminación".

El CIGoM surgió como una propuesta de la comunidad científica del país para conocer, proteger, y explorar de mejor manera el Golfo de México. El consorcio reúne a la Secretaría de Energía, Pemex, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), y a varios institutos de investigación de la UNAM. "En el 2015, el Conacyt le otorgó al CIGoM 1,500 millones de pesos. Es el proyecto que más fondos ha recibido en la historia del Conacyt". Comenta la Dra. Pardo.

El CIGoM tiene distintos proyectos y reúne a más de 200 científicos en equipos multidisciplinarios. "Para mí es fantástico. Es la forma de avanzar y proponer nuevos paradigmas", relata Liliana. "A nosotros nos toca la parte más pequeña del golfo, las bacterias".

Del mar al laboratorio

Las bacterias son los organismos más pequeños del golfo, pero también son de los más importantes: en la superficie, muchas de ellas

en Cienciorama "Las bacterias, los mejillones, y el petróleo del Golfo de México".

"Queremos conocer la diversidad bacteriana del Golfo e investigar cómo degradan los distintos tipos de hidrocarburos presentes, saber si es un trabajo de varios tipos de bacterias, o de una sola" comenta Wendy Escobedo, investigadora postdoctoral del CIGoM y encargada del procesamiento y almacenamiento de muestras.

El buque Justo Sierra de la UNAM es el encargado de recorrer el Golfo de México para la obtención de las muestras de agua y sedimentos. "Las muestras se obtienen a distintas profundidades, desde la super-

parar y desechar cualquier componente de la muestra que no sea ADN, por ejemplo, agua de mar, impurezas, y otros componentes de las bacterias. El ADN que se obtiene se manda a secuenciar para conocer los diferentes genes que existen en cada muestra.

El consorcio tiene un interés particular por recuperar un gen específico. Se trata de un gen que, debido a su historia evolutiva, permite conocer con nombre y apellido las bacterias presentes en cada muestra. Su nombre es 16s. "Aislamos el gen del resto de la muestra, y lo mandamos secuenciar" explica Wendy.

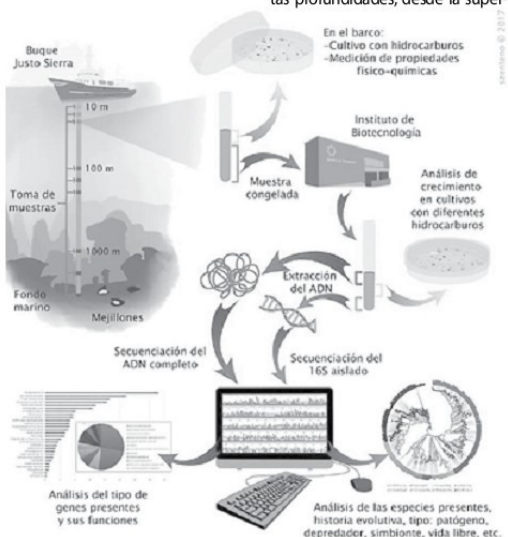


Diagrama que muestra los pasos a seguir desde la recolección de muestras, hasta los análisis bioquímico y bioinformático. Cada muestra recogida en el Golfo pasa por este proceso. De los cultivos que se hacen en el barco, así como los realizados en el IBt, los investigadores analizan si los grupos de bacterias presentes están degradando algunos de los hidrocarburos existentes en el Golfo de México. Crédito: Silvia Zenteno.

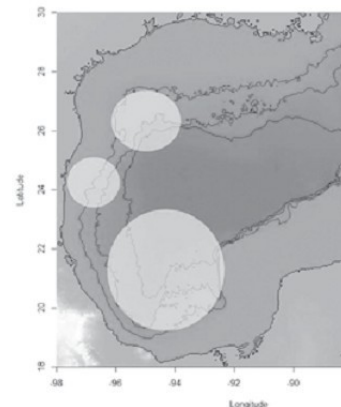
realizan fotosíntesis y contribuyen a la liberación del oxígeno que respiramos y en el fondo marino interactúan con el petróleo crudo, independientemente de si exista una fuga en una plataforma petrolera o no. Además, participan dentro de los ciclos de carbón, nitrógeno, y azufre.

En la corteza del fondo del Golfo de México existen fracturas naturales por donde escapan los hidrocarburos, interactuando con todos los organismos que ahí habitan, incluyendo las bacterias. Esto ha sucedido por millones de años, lo cual ha permitido que las bacterias se adapten a la presencia de hidrocarburos, e incluso, otros organismos como mejillones y esponjas han aprovechado las adaptaciones de las bacterias para adoptarlas como simbiotes y así, también aprovechar los hidrocarburos (ver la noticia

ficie hasta el fondo" detalla Wendy. Los científicos a bordo del buque también miden las características físico-químicas de las muestras, entre ellas, temperatura, pH, concentraciones de hidrocarburos y profundidad.

"En el buque las muestras se congelan con nitrógeno líquido, o se refrigeran a 4°C, hasta que llegan a nuestro laboratorio, donde se dividen para realizar los distintos análisis en el laboratorio del IBt en Cuernavaca", narra, por su parte, la Dra. Escobedo.

"Para identificar a las bacterias, necesitamos extraer el ADN de las muestras. No es sencillo obtener ADN de buena calidad", asegura Wendy. Para obtenerlo hay que filtrar las muestras y hacerles varios tratamientos bioquímicos para se-



Este es un mapa del Golfo de México, los puntos verdes indican los lugares donde el buque Justo Sierra ha realizado muestreos, más de 80 en total. Crédito: Alejandro Abdala. IBT/CIGoM

Un golfo de datos

El ADN obtenido se manda secuenciar a la Unidad de Secuenciación del Instituto de Biotecnología. "Pero los resultados que nos regresan no son genomas completos, ni cromosomas enteros. Lo que nos entregan son pedazos de ADN que tenemos que armar y anotar, para poder encontrar su identidad y función" cuenta Alejandra Escobar, investigadora postdoctoral y especialista en bioinformática.

"Con la información del 16s asignamos el género y especie a la mayoría de las muestras" comenta la Dra. Escobar "aunque también encontramos algunas muestras que por diversas razones no logramos conocer su identidad. Con las muestras que sí logran identificar, los investigadores construyen el atlas de diversidad de las bacterias del Golfo de México, junto con un análisis de la diversidad de cada muestra.

"Hay una gran riqueza de especies, y las abundancias están repartidas más o menos equivalentemente entre las muestras" explica Alejandra. "Aunque en las muestras de sedimento son mucho más diversas que en las de la columna de agua. En cada muestra de sedimento encontramos, en promedio, poco más de mil especies distin-

ACADEMIA DE CIENCIAS DE MORELOS, A.C.

¿Comentarios y sugerencias?, ¿Preguntas sobre temas científicos? CONTACTANOS: editorial@acmor.org.mx



tas de los más variados organismos. Sorprendentemente, hemos encontrado ADN de organismos que no son los que uno esperaría encontrar a la mitad del Golfo de México, como papaya o plátano", esto habla acerca de la perturbación que la actividad humana genera en los océanos. "En el mar puedes encontrar de todo. Hay muchos desperdicios y perturbación antropogénica" dice la Dra. Escobar.

Los análisis también sirven para comparar el Golfo de México con otros mares y golfos del mundo. "Este es de los primeros proyectos de microbiología marina en México" comenta Luciana Raggi, otra investigadora postdoctoral del área de bioinformática del IBT.



Para comparar la diversidad bacteriana, los investigadores suelen agrupar las bacterias en clases, que a su vez contienen varios géneros. "Si muestreas agua de mar de cualquier parte del mundo encuentras una distribución del 30% que pertenece al filum Bacteroidetes, de ellas, el 30% pertenece a la clase alfa proteobacterias, y 30% a la clase gamaproteobacterias, y es lo que encontramos." Explica Luciana. "Pero las diferencias están al nivel de especie. Queremos conocer cuáles especies distinguen al Golfo de México y cuáles tienen la capacidad adaptativa para degradar hidrocarburos".

¿Y si han encontrado este tipo de bacterias? -le pregunto a Luciana- "Algunas de las muestras que se tomaron no se congelaron, se mantuvieron en refrigeración a 4°C -que es la temperatura promedio del fondo del mar-, durante cinco meses y en presencia de hidrocarburos. Después las secuenciamos y encontramos que, al compararla con las muestras congeladas, a un aumento ampliamente la presencia de bacterias degradadoras de hidrocarburo".

Esto debido a que el único alimento presente para las bacterias de la muestra eran justamente los hidrocarburos. Aquellas que no podían aprovecharlo, morían. "Se trata de las mismas bacterias que se encuentran cerca de derrames de crudo -en el golfo y en otros sitios- de los géneros *Pseudomonas*, *Cycloclasticus*, y *Alcanivorax*, todas reconocidas como degradadoras de

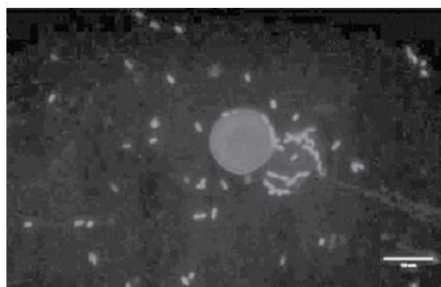
hidrocarburos."

El proceso de degradación era patente

La capacidad de algunas bacterias para degradar los hidrocarburos presentes en el crudo es conocida desde hace mucho tiempo. De hecho, la primera patente que se obtuvo sobre una bacteria genéticamente modificada, se le entregó en 1981 a Ananda Mohan Chakrabarty, un microbiólogo bengalí, quien -mientras trabajaba para la empresa General Electric- modificó genéticamente una *Pseudomonas* para que pudiera alimentarse de derrames de crudo como los del golfo.

Chakrabarty sabía que había cuatro especies de *Pseudomonas* que podían digerir el crudo y que cada una se enfocaba en distintas partes del proceso. Sin embargo, eran bastante ineficientes en la degradación total. Chakrabarty localizó los genes relacionados con la degradación del crudo en las cuatro especies y los juntó en una sola bacteria, que sí podía digerir crudo eficientemente y ésta es la bacteria que obtuvo la patente. Pero por el miedo a liberar un organismo genéticamente modificado -en ese entonces no se conocían bien los riesgos-, la bacteria nunca llegó al océano.

Ahora, el CIGoM, en su línea de investigación de degradación de hidrocarburos, ha encontrado bacterias que degradan de manera eficiente el crudo. Pero ¿es una sola o son varias?



La gota que se observa al medio es un tipo de hidrocarburo llamado hexadecano. Los pequeños cilindros que se ven a su alrededor son *Pseudomonas*. La imagen se obtuvo utilizando microscopía de fluorescencia y tiene un aumento de 100x.

Crédito: Dr. Luis Felipe Muriel - IBT/CIGoM.

Petróleo: ¿Banquete grupal o manjar individual?

"Cuando recibimos las muestras de agua y sedimento, las cultivamos con dos tipos de medios. Uno es un medio diverso, como ocurre de manera natural y obtener la fotografía de lo que sucede *in situ*. Y el otro es un medio que tiene hidrocarburos como única fuente de carbono, es decir, que las bacterias comen hidrocarburo o mueren. El objetivo

es obtener microorganismos netamente degradadores." Explica el Dr. José Luis Rodríguez, técnico académico del CIGoM.

Si las bacterias logran comerse el crudo, empezarán a crecer dentro del medio de cultivo. "Analizamos cuál muestra presenta un mejor crecimiento. Ésta es una práctica microbiológica básica." Comenta José Luis, al enseñarme varias cajas de Petri y éstas son las que le dan el olor característico al refrigerador que me mostró Diana Sahonero.

Hay bacterias que gustan de trabajar en equipo, como las *Pseudomonas* de Chakrabarty. "Hemos encontrado grupos de bacterias que degradan un rango bastante amplio de hidrocarburos ¡justo lo que buscábamos! -apunta, entusiasmado el Dr. Rodríguez- También hemos encontrado grupos que degradan un solo tipo de hidrocarburos, o sólo un rango pequeño de ellos". Pero también hay bacterias que prefieren hacer la chamba solitas. "En un análisis reciente, encontramos un solo microorganismo capaz de degradar una amplia variedad de hidrocarburos. Se trata de una *Pseudomonas*. Cada año procesamos más de mil muestras. Lo que nos hace falta es gente que trabaje en el laboratorio con nosotros, jóvenes que quieran adentrarse en este campo." explica José Luis.



Izquierda, un tubo en el que un grupo de miles de bacterias se encuentra degradando el crudo. Derecha: El Dr. José Luis Rodríguez y la estudiante Perla González analizan el crecimiento de las bacterias en cajas Petri. Fotografías del autor.

Hasta ahora todas las personas con las que he platicado en esta rama del CIGoM me han impresionado por el dominio de su área y el nivel de detalle con el que entienden e investigan su parte del proyecto. Fieles a esta lujuria por el detalle, no se quedan conformes con saber que sí hay bacterias y grupos de bacterias que pueden degradar los hidrocarburos. Ahora el objetivo es saber cómo lo hacen.

Aquí es cuando nos volvemos a encontrar con Diana Sahonero: "Yo estudio y caracterizo las enzimas que intervienen en las distintas facetas de la degradación del

crudo", me comenta.

"Los hidrocarburos son largas cadenas de carbono con muchas decoraciones de otros elementos. Cada una de las enzimas, principalmente lipasas, se encarga de cortar en pedacitos pequeños, cada vez más pequeños la cadena, hasta que todo queda degradado a CO₂ y agua", precisa Diana.

Conocer el detalle molecular del funcionamiento de estas enzimas permite ir más allá de aplicar el conocimiento al Golfo de México. "También pueden tener una aplicación dentro de la industria alimentaria o farmacéutica, tienen un gran potencial biotecnológico." Conduce la Dra. Sahonero.

Información útil y trabajo en equipo

En el monitor del Ing. Alejandro Abdala -técnico académico del CIGoM-, observo un mapa del Golfo de México con los distintos puntos de muestreo marcados. Me enseña cómo cada punto cuenta con la fecha, los parámetros físico-químicos, las bacterias que encontraron y sus capacidades degradadoras, si es que se conocen. "Estamos generando muchos datos -me comenta Alejandro- pero para que sean datos importantes y útiles deben de estar bien anotados, escritos y organizados."

Los investigadores deben poder acceder a la información de manera rápida y eficiente. "Hemos implementado distintos algoritmos de búsqueda de búscueda

dentro de nuestras bases de datos y funcionan muy bien" explica Abdala. "Por ejemplo, hay búsquedas taxonómicas que duran entre algunos segundos y un par de minutos, pero son búsquedas que se realizan dentro de una base de datos con 30 millones de clasificaciones taxonómicas." Le pregunto si su base de datos se hará pública: "No estamos seguros, pero espero que sí. La ciencia debe de ser pública".

Sin duda, el CIGoM ha avanzado mucho desde el derrame de *Deep Water Horizon*. El atlas de diversidad se ve bastante completo y se le sigue añadiendo información con cada muestra procesada. "Ahora queremos hacer pruebas.

Tomar los mejores consorcios que tenemos y ponerlos a prueba en algún lado." Me cuenta la Dra. Liliana Pardo, pensando ya en la fase de aplicación de lo que han aprendido.

El CIGoM va a la mitad en cuanto al tiempo que Conacyt le dio para mostrar resultados y ya tiene mucho que mostrar.

Recuerden que hasta ahora sólo les he contado de una de las ramas de este proyecto. En el CIGoM se están estudiando las mareas, los efectos del cambio climático, las tormentas y los huracanes, así como los demás organismos que habitan el Golfo de México.

El CIGoM es el mayor proyecto científico en la historia del Conacyt y está rindiendo frutos. Cada vez conocemos mejor el Golfo de México, cómo cuidarlo y cómo beneficiarnos de él, sin perturbarlo. "Cuando entra en vigor la ley de la Secretaría de Energía de poder abrir el Golfo de México a exploración de compañías internacionales, sabemos que se van a ir a aguas profundas, ya que el resto del golfo ya está explorado". Explica la Dra. Pardo "y ahí existe el riesgo de una enorme contaminación, como la del 2010." Ahora estamos mucho mejor preparados para contender con el siguiente error humano, y ahora tenemos a los más pequeños, incansables, y mejores aliados que podríamos pedir. Fuentes

Fotografía de portada: Crudo flotando en la superficie del golfo de México, cerca

de la costa de Louisiana. 27 de abril del 2010. Crédito: AP Photo/Patrick Semansky <https://www.theatlantic.com/photo/2011/04/the-gulf-oil-disaster-one-year-later/100049/>.

Escobedo-Hinojosa, W. Pardo-Lopez, L. 2017. Analysis of bacterial metagenomes from the Southwestern Gulf of Mexico for pathogens detection Pathogens and Disease, May 23 [Epub ahead of print].

Sobre la primera patente de una bacteria: <https://www.thenakedscientists.com/articles/interviews/week-science-history-first-genetic-patent>

Sitio del CIGoM: <http://www.cigom.info/>

Agustín B. Ávila C. "Las bacterias, los mejillones, y el petróleo del Golfo de México". Cienciorama.

Para actividades recientes de la Academia y artículos anteriores puede consultar: www.acmor.org.mx