

Los microorganismos como biosensores de contaminantes

Luz Idalia Valenzuela García¹, Víctor Manuel Ayala García², Marcelo Barraza Salas² y María Teresa Alarcón Herrera¹

¹ Centro de Investigación en Materiales Avanzados, Subsección Durango.

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Juárez del Estado de Durango, Unidad Durango.

E-mail: teresa.alarcon@cimav.edu.mx

Desde sus orígenes hace alrededor de 3700 millones de años, los microorganismos han desempeñado funciones de gran importancia en el ecosistema, permitiendo el desarrollo de diversas formas de vida por su capacidad de descomponer la materia orgánica y de convertir elementos del medio ambiente a nutrientes que pueden ser utilizados por los seres vivos. A pesar de ello, no fue hasta hace apenas casi 160 años cuando el ser humano comenzó a ser consciente de la importancia de los microorganismos en nuestras vidas. Desde entonces el estudio de estos pequeños seres vivos, imperceptibles al ojo humano, ha pasado por diversas etapas. Primero, estudiándolos por ser causantes de enfermedades y descomposición de alimentos, después aprovechando sus cualidades para conocer sobre el funcionamiento de los seres vivos, las bases genéticas de la herencia, y finalmente aprovechando sus capacidades para desarrollar procesos biotecnológicos que consisten en usar a estos microorganismos para obtener productos de interés en la vida cotidiana: pan, cerveza, yogurt, antibióticos, e incluso de lo que se requiere para fabricar esos pantalones rotos que están de moda actualmente.

Los microorganismos, incluyendo hongos (mohos y levaduras), bacterias, algas microscópicas y protozoarios, han perfeccionado a través del tiempo su capacidad de resistir a condiciones ambientales que podrían afectar su sobrevivencia, y para ello poseen mecanismos que echan a andar justo cuando lo necesitan, tal como una navaja suiza, que dependiendo lo que se necesite hacer tiene una herramienta para ello. En este caso, los microorganismos pueden sintetizar proteínas (enzimas) que llevan a cabo transformaciones

químicas, energéticas y síntesis de compuestos, en respuesta a una condición ambiental, por ejemplo, algunas bacterias son capaces de comenzar a degradar lactosa cuando otros azúcares no están disponibles, gracias a una enzima llamada β -galactosidasa. De la misma forma, en la presencia de contaminantes como hidrocarburos, metales pesados, plaguicidas, gases e incluso plásticos, algunos microorganismos activan sus alarmas y comienzan a hacer frente a ellos, sintetizando todo lo que requieren para transformarlos, degradarlos y/o eliminarlos de su microambiente, siendo capaces también de usarlos en algunos casos como alimento.

Los microorganismos han sido exitosamente empleados para llevar a cabo procesos de descontaminación ambiental. Un ejemplo muy conocido fue el uso de la bacteria *Alcanivorax borkumensis*, empleada en el 2010 en el Golfo de México para disminuir la contaminación por un derrame de petróleo, gracias a su capacidad de obtener energía a partir de compuestos del petróleo. Otro ejemplo, fue la degradación completa de pentaclorofenol, un pesticida muy tóxico, hasta sus componentes minerales, combinando dos tipos de bacterias (*Arthrobacter* sp. y *Flavobacterium* sp.). Estos pequeños seres vivos también son útiles para descontaminar sitios donde existe alta concentración de metales y metaloides lo cual representa un riesgo para la salud, y aunque estos no pueden ser degradados a algo más simple, sí pueden ser removidos del sitio contaminado, sea del agua o suelo, para ser dispuestos en un lugar donde no puedan causar daño.

Para descontaminar (remediar) sitios contaminados por metales o por metaloides, se han empleado

exitosamente microorganismos como la microalga *Chlorella pyrenoidosa*, la cual es capaz de remover metales como cobre, plomo, zinc, cromo, níquel, cadmio y metaloides como el arsénico [1].

Entre todo este arsenal de aplicaciones que se han encontrado para los microorganismos, una de las más recientes ha sido la detección de contaminantes. Ello es posible aprovechando su capacidad de respuesta y adaptación a diversas condiciones ambientales así como a la manipulación genética de los microorganismos que permite desarrollar técnicas de monitoreo de compuestos o elementos contaminantes en el ambiente. Para esto, se integra un sistema biológico de detección acoplado a un elemento que emita una señal visible o detectable y en algunos casos cuantificable. A estos sistemas se les conoce como biosensores. Entre los diversos tipos de biosensores que existen, los de célula completa son de los más interesantes por su facilidad de manejo y su bajo costo de operación. En ellos la célula es capaz de detectar un compuesto o elemento en el ambiente y emitir una señal fácilmente detectable, como luz, fluorescencia o un cambio de color.



Figura 1. Ejemplos de biosensores de célula completa y sus aplicaciones.

Empleando esta estrategia se han desarrollado biosensores para una gran variedad de contaminantes, incluyendo detección de microorganismos patógenos como *Vibrio cholerae*, presencia de metales, hidrocarburos, compuestos aromáticos y municiones (Figura 1), usando como sensores a microorganismos como *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y *Sacharomyces cerevisiae*, modificados genéticamente para emitir señales de fluorescencia, luminiscencia (emisión de luz) o bien cambios de coloración [2].

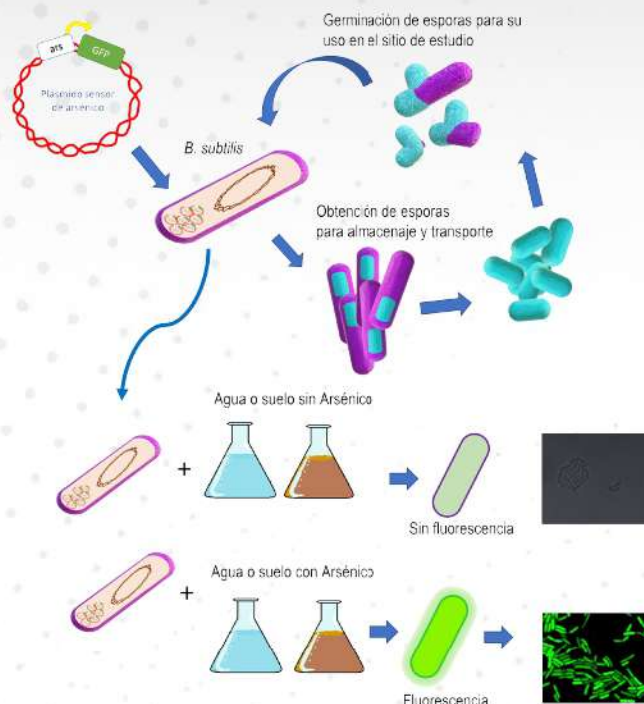


Figura 2. Biosensor de *B. subtilis* para detección de As desarrollado en CIMAV-Dgo.

En el Centro de Investigación de Materiales Avanzados (CIMAV) unidad Durango, en conjunto con la Facultad de Ciencias Químicas campus Durango de la UJED, estamos desarrollando un biosensor de célula completa para arsénico (As), usando a la bacteria *Bacillus subtilis*, con el fin de contar con un sensor de este tipo para la detección y monitoreo de As en agua y suelo. Esto es una necesidad que surge por la problemática existente en la región, en donde es conocido que existe alto contenido de As en el ambiente y que su exposición constante en el agua de consumo humano está generando problemas de salud en la población [3].

Existen técnicas analíticas para la detección de arsénico en muestras ambientales, en laboratorios como el que se encuentra en CIMAV-Dgo. Sin embargo, se requiere contar con equipo altamente especializado (absorción atómica) y de personal entrenado, lo cual dificulta el análisis constante de alto número de muestras, además de las complicaciones de costo, preservación, traslado y análisis en laboratorio. Por ello, entre las ventajas del uso de un biosensor es que permite llevar a cabo la detección en campo sin trasladar la muestra al laboratorio. Además, los biosensores de célula completa pueden manejarse fácilmente y ya hay pruebas desarrolladas para detectar el contaminante en el sitio donde se toma la muestra, en las cuales la interpretación del resultado es sencilla, tal como una prueba rápida de embarazo.

No obstante, el siguiente paso en el desarrollo de biosensores es no sólo detectar, sino también cuantificar el contaminante. En este caso, varios tipos de biosensores de célula completa han sido desarrollados experimentalmente en bacterias como *E. coli*, pero no están disponibles comercialmente. Además, al ser *E. coli* una bacteria de origen intestinal, requiere cierto tipo de manejo para evitar contaminación ambiental y para lograr mantenerla con viabilidad. Considerando estos aspectos, el biosensor que se está desarrollando en CIMAV, utiliza a la bacteria propia del suelo *B. subtilis*, que no es patógena y tiene la capacidad de formar esporas, estructuras de alta resistencia a condiciones ambientales, entre las que se encuentran desecación, calor, luz UV, estrés osmótico y otros agentes tóxicos [4]. Las esporas se forman cuando las condiciones ambientales son adversas, entrando en un periodo de dormancia que puede durar incluso millones de años, reasumiendo el crecimiento cuando las condiciones son apropiadas.

Se podría considerar como exagerado, pero se han encontrado esporas de *B. subtilis* capaces de reactivarse después de millones de años de dormancia, como se demostró al reactivar esporas aisladas de contenido abdominal de abejas extintas preservadas en ámbar por 25 a 40 millones de años [5]. El biosensor de arsénico que se encuentra en desarrollo por el grupo de trabajo de CIMAV-Durango, es capaz de emitir fluorescencia verde al detectar arsénico en su medio de cultivo (Figura 2), respondiendo específicamente a As y no a otros cationes, esto debido a que hay un elemento regulador de expresión de la proteína verde fluorescente que se activa únicamente por la unión de As. Las pruebas hasta el momento indican que el biosensor en desarrollo tiene un alto potencial, ya que es capaz de emitir señal en un rango de concentración de As (III) de 6 µg/L a 170 mg/L, lo cual lo hace prometedor para la detección de As en agua y suelo.

Otra ventaja del uso de un biosensor para la detección de As, es que en comparación con los métodos analíticos, el usar un microorganismo en la detección del contaminante puede darnos una idea de la cantidad de arsénico biodisponible en las muestras ambientales ya que, principalmente en suelo, su capacidad de formar complejos conduce a que no todo el arsénico presente sea el que tendrá efectos en los sistemas biológicos, lo cual no puede ser determinado por métodos químicos; en cambio, si la concentración del ion llega a ser tan alta

que el microorganismo muera, es un claro indicativo de riesgo para cualquier sistema vivo. Esto además provee de una herramienta para la evaluación del riesgo de posible translocación del As a cultivos, sobre todo en aquellos destinados a usarse como alimento, ya que se sabe que el As puede llegar al ser humano a través de la cadena alimenticia, así como para verificar la factibilidad del uso de biorremediación (incluyendo fitorremediación).

En conclusión, resulta ventajoso utilizar los microorganismos y las herramientas genéticas que en los últimos años se han desarrollado para su modificación. Contribuyendo así a las alternativas de detección y monitoreo de contaminantes como el arsénico, aspecto básico para identificar su presencia y buscar soluciones a problemas de contaminación tanto natural como antropogénica, limitando los riesgos a la salud de las personas.

Referencias

- Das, S. (2014). Microbial Biodegradation and Bioremediation. In Microbial Biodegradation and Bioremediation. Elsevier.
- Moraskie, M., Roshid, M. H. O., O'Connor, G., Dikici, E., Zingg, J. M., Deo, S., & Daunert, S. (2021). Microbial whole-cell biosensors: Current applications, challenges, and future perspectives. In Biosensors and Bioelectronics, (191), 113359
- Alarcón-Herrera, M. T., Martín-Alarcón, D. A., Gutiérrez, M., Reynoso-Cuevas, L., Martín-Domínguez, A., Olmos-Márquez, M. A., & Bundschuh, J. (2020). Co-occurrence, possible origin, and health-risk assessment of arsenic and fluoride in drinking water sources in Mexico: Geographical data visualization. Science of the Total Environment, (698), 134168
- Pedraza-Reyes, M., Ramírez-Ramírez, N., Vidales-Rodríguez, L. E., & Robledo, E. A. (2012). Mechanisms of Bacterial Spore Survival. In Bacterial Spores: Current Research and Applications. 73-84.
- Cano, R. J., & Borucki, M. K. (1995). Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40-million-year-old Dominican amber. Science, (268), 5213, 1060-1064.

Agradecimientos

Se agradece a COCyTED por el financiamiento del proyecto con folio 782 "Determinación de elementos potencialmente tóxicos en agua envasada y suelo agrícola" mediante el programa de Apoyos Institucionales Proyectos de Investigación del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango COCyTED, Convocatoria de Proyectos de Investigación Científica Aplicada "Mujeres en la ciencia, tecnologías, ingeniería y matemáticas".