



El hielo y el mar como entorno

Esta es la sencilla historia de un Bioquímico recibido en la Universidad Nacional del Sur (UNS), quien antes de graduarse descubrió su interés por la Microbiología. En mis comienzos, antes de recibirme, me introduje en la Parasitología Clínica guiado por Raúl (el Dr. Costamagna). Después de un par de años cambié de microorganismos y me dediqué *full time* a la Virología en la Cátedra de Virología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA. Allí realicé mi tesis doctoral en el estudio de la evolución intrapaciente del virus de la Hepatitis B bajo la dirección del Dr. Rodolfo Campos. Por aquellos tiempos de desarrollo de la tesis, Francisco, un amigo entrañable viajó a la Antártida para realizar tareas de investigación y desde aquel momento a través de bellísimas fotografías quedé sumamente fascinado por aquel lejano lugar del mundo.

Muchos años después de ese primer impacto antártico y por diversas circunstancias, debí cambiar de tema de investigación y tomé la decisión de volcar mi experiencia previa al estudio de los virus en un contexto ecológico, precisamente en ambientes antárticos. Es aquí donde debo agradecer la confianza brindada por el Dr. Walter Mac Cormack, director del Área de Microbiología del Instituto Antártico Argentino, quien me permitió colaborar con su grupo de trabajo.

Desde el verano del 2008 hasta la fecha viajé tres veces a la Base Jubany¹ (una de las seis bases permanentes de la Argentina en el *Continente Blanco*) y es allí donde hemos podido hacer algunas de las cosas que pasaré a contarles.

El clima hostil versus el calor de la solidaridad y el compañerismo

Antes de contarles nuestros hallazgos, va un breve comentario sobre el ambiente humano de la vida antártica. El clima del verano antártico en Jubany es hostil, mucho viento, poco sol, muchas nubes y en los últimos años mucha lluvia persistente y molesta reemplazando a la nieve de otros tiempos. En contraposición, los humanos sometidos a aquellas duras condiciones del clima parecen retomar viejas y muy sanas costumbres como la solidaridad, el apoyo a los compañeros, la

por José Luis López

jlopez@ffyb.uba.ar

José Luis López

es Bioquímico graduado en la universidad Nacional del Sur (UNS) y Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Virología. Es Jefe de Trabajos Prácticos en la cátedra de Virología de la FFYB de la UBA e integra como invitado el grupo de Microbiología Antártica del Instituto Antártico Argentino.

1- Por medio del Decreto Presidencial 309/2012 el poder ejecutivo estableció que la Base Jubany, ubicada en el Sector Antártico Argentino, pasará a denominarse Base Carlini, debiendo considerarse modificada tal denominación cada vez que se hace referencia a la base citada.

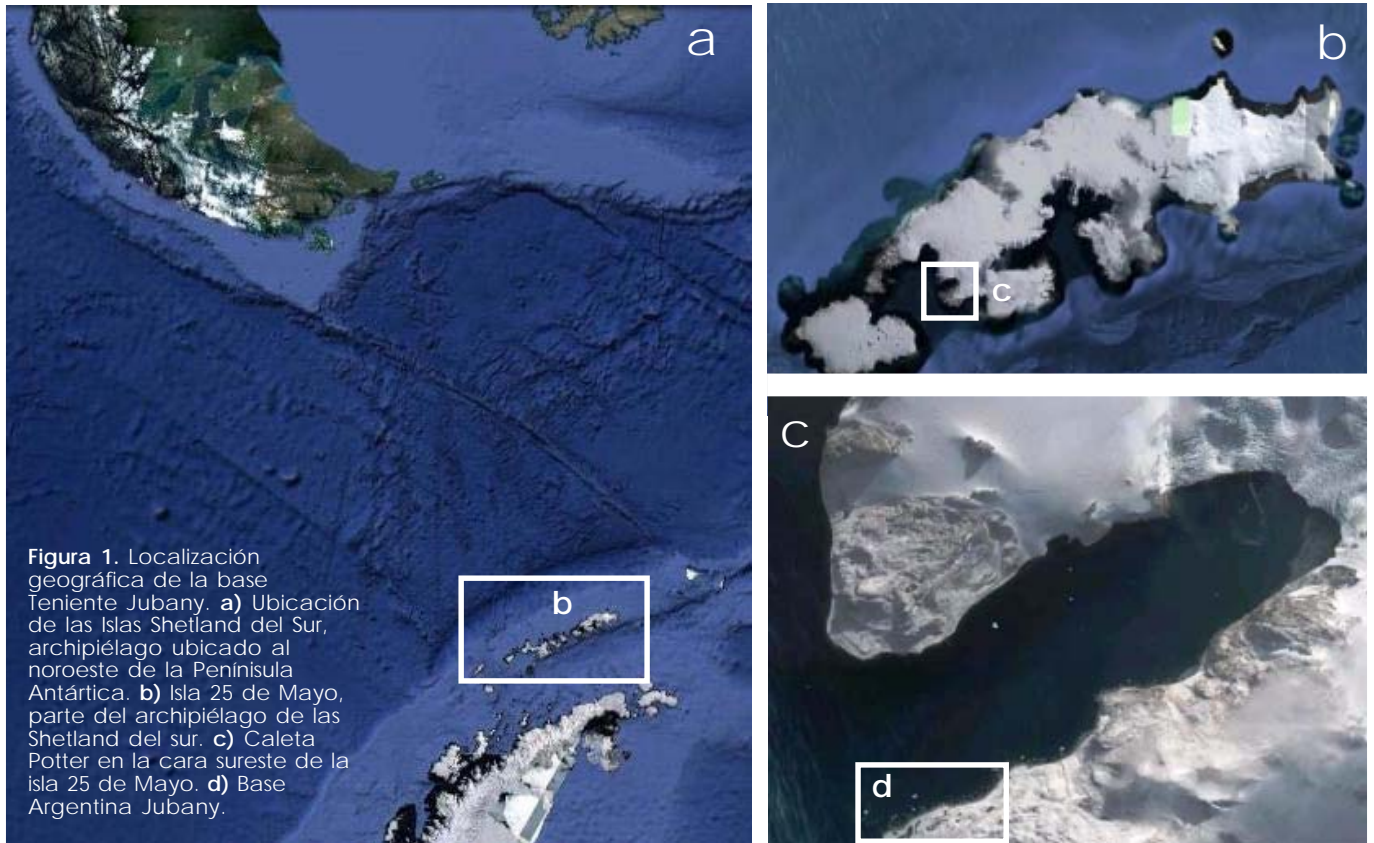


Figura 1. Localización geográfica de la base Teniente Jubany. **a)** Ubicación de las Islas Shetland del Sur, archipiélago ubicado al noroeste de la Península Antártica. **b)** Isla 25 de Mayo, parte del archipiélago de las Shetland del sur. **c)** Caleta Potter en la cara sureste de la isla 25 de Mayo. **d)** Base Argentina Jubany.



camaradería y la calidez humana. En definitiva, lo que en las grandes ciudades es hoy una excepción, el ambiente antártico parece tenerlo como norma. Sí, también es cierto que hay excepciones a estas normas antárticas.

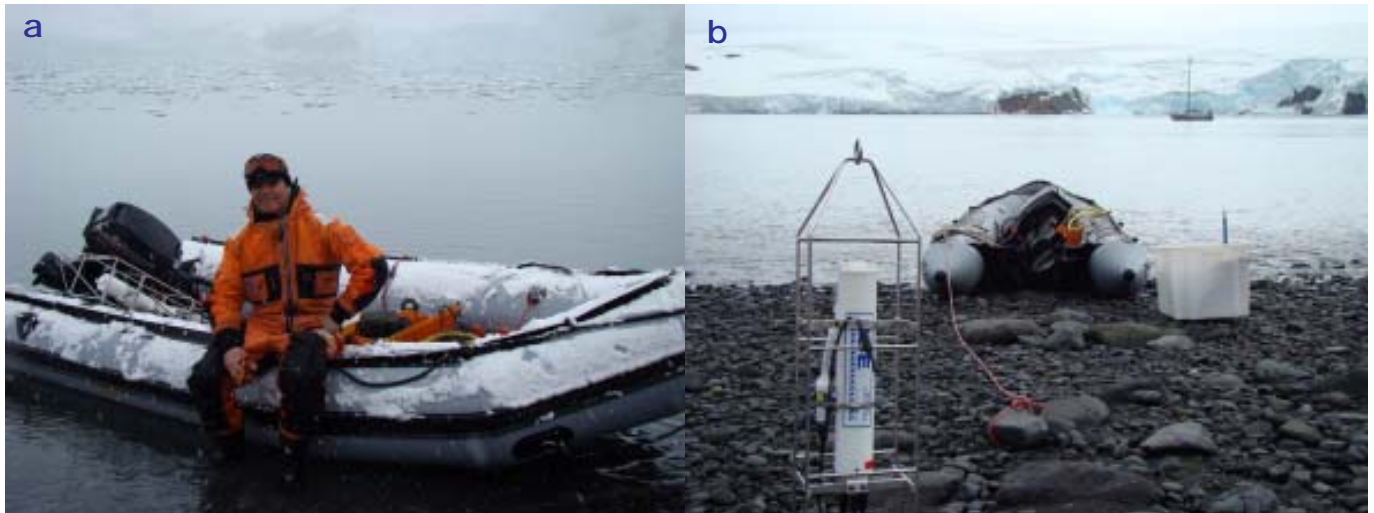
¿En qué lugar de la inmensa Antártida desarrollamos nuestro trabajo?

Si bien todas las bases argentinas en la Antártida desarrollan actividades científicas, la base Teniente Jubany (Figura 1) es la mejor equipada y con mayor desarrollo de actividades científicas. En los veranos antárticos confluyen en dicha base investigadores de diversos lugares de la Argentina y también brasileños, alemanes, belgas, holandeses, italianos, españoles y

japoneses entre otros. En resumen, el lugar de desarrollo de este trabajo no solo es apto para las actividades de campo y laboratorio sino también para el intercambio de experiencias con otros científicos del mundo.

¿Por qué estudiar los prístinos ambientes antárticos?

La Antártida posee los escasos ambientes de la Tierra que aún se conservan mayoritariamente prístinos y poco o nada alterados por el hombre (con pocos cambios antropogénicos). La diversidad microbiana ha sido poco estudiada hasta la fecha y se cree muy rica en dichos ambientes tanto en el agua, el suelo como en los hielos. Los hielos antárticos están sufriendo



descongelamiento y ablación permanentes (pérdidas de masa por desprendimiento) debido al incremento de la temperatura global y el de las lluvias en la región. Dado que las masas de hielo funcionan como verdaderos almacenes de microorganismos, aquel descongelamiento está «*liberando a la vida*» a bacterias y virus muy ancestrales que vivieron en otras épocas y se mantuvieron inertes (congelados) durante mucho tiempo. Para no herir susceptibilidades es necesario aclarar que es muy discutible si los virus están vivos, pero a los fines de este relato no abriré dicha discusión.

En este marco, conocer la diversidad microbiana actual y sus patrimonios genéticos (en nuestro caso de virus y bacterias) es primordial para luego poder monitorear los cambios que eventualmente se podrían producir a expensas de los cambios climáticos globales.

¿Qué fuimos a estudiar a la Antártida?

Dados mis antecedentes científicos, relacionados fundamentalmente con la evolución y diversidad de las poblaciones virales, intentamos comenzar por una descripción cualitativa de la diversidad morfológica y molecular de los virus (bacteriófagos) que infectan bacterias marinas de aguas superficiales. Después de aquella descripción inicial, la idea era concentrarnos en la biología de este tipo de virus. Estos organismos son muy abundantes en el agua de mar, tanto que se los puede encontrar en cantidades de hasta 1000 millones por litro de agua.

¿En qué consistió nuestro trabajo?

En general nuestro trabajo puede resumirse en tres etapas. El trabajo de campo realizado en las inmediaciones de la base Jubany, el trabajo de laboratorio realizado en la cátedra de Virología (FFYB, UBA) y finalmente el trabajo bioinformático realizado en la misma cátedra.

Las tareas de campo fundamentalmente consistieron en la toma de muestras de agua de mar para lo cual la logística de la Dirección Nacional del Antártico proveyó todo lo necesario. La figura 2 muestra algunos de los equipamientos utilizados en una expedición de muestreo. Además, las muestras de agua fueron filtradas a través de membranas con microporos de hasta 0,1 micrómetro con el objetivo de separar a los virus y bacterias según su tamaño. La figura 3 muestra las instalaciones del laboratorio de la base Jubany y algunos de los equipamiento utilizados. Las membranas filtrantes fueron congeladas en nitrógeno líquido y finalmente liofilizadas



Figura 2. Equipamientos para las tomas de muestra. **a)** Bote y traje antiexposición. **b)** CTD (sonda para medir temperatura, salinidad y profundidad). **c)** Botella de Niskin para tomar agua de profundidad.

(secadas al vacío y a bajas temperaturas) como forma de preservarlas hasta su procesamiento en Buenos Aires.

El trabajo de laboratorio realizado en la cátedra de Virología (FFYB, UBA) consistió en la observación al microscopio electrónico de las partículas virales, la purificación del material genético proveniente de los microorganismos retenidos sobre los filtros de diferentes tamaños de poros y la posterior secuenciación nucleotídica de algunos genes microbianos (algo así como la huella digital genética de los microorganismos). Posteriormente, los datos de secuencias nucleotídicas obtenidos fueron analizados y comparados con los ya existentes en las bases de datos genéticos para establecer su filiación.

Algunos de nuestros hallazgos

Nuestros resultados iniciales fueron muy alentadores, de inmediato en nuestros primeros estudios pudimos observar una serie de partículas virales muy diferentes al microscopio electrónico (versión de microscopio con mayor resolución, para observar partículas del orden de los nanómetros o sea un millón de veces más pequeña que 1 milímetro) (Figura 4). La realidad nos presentó posteriormente algunas dificultades; no siempre en la ciencia uno se encuentra con los resultados esperados.

Muy entusiasmados por la observación microscópica de los bacteriófagos emprendimos la tarea de caracterizarlos molecularmente. Dado que los virus a diferencia de otros organismos no poseen un gen marcador universal (como el gen del ARN ribosomal de eucariotas, bacterias y arqueobacterias) y, en consecuencia no los podíamos estudiar en conjunto, decidimos concentrarnos particularmente en el estudio de aquellos virus que infectan cianobacterias (bacterias verdeazuladas que realizan una proporción importante de la fotosíntesis del planeta). La justificación de esta elección se basó en que las cianobacterias habían sido descritas como abundantes en todas las localizaciones marinas estudiadas previamente, en consecuencia hipotetizamos que también estarían presentes en aguas superficiales antárticas. Asociado a esto, si estuvieran presentes las cianobacterias estarían también los cianofagos. Aquí fue donde comenzamos a tener inconvenientes, no pudimos detectar a estos cianofagos aún cuando utilizamos muy diversas herramientas de amplificación génica (distintos pares de «cebadores» o «primers»).

Dados los resultados anteriores, iniciamos la descripción de las comunidades bacterianas para saber si éstas contenían a las cianobacterias. Sorpresivamente con las herramientas utilizadas no pudimos detectar la presencia de aquel tipo microbiano pero, tuvimos la respuesta al fracaso en la detección de los cianofagos, nuestro primordial objeto de estudio.

Los estudios de la filiación de los genes del RNA ribosomal bacteriano nos mostraron una colección de microorganismos distantemente relacionados (a nivel de género) con todos aquellos previamente clasificados, aunque las grandes divisiones jerárquicas del reino bacteriano presentes en la Antártida fueron similares a las descritas en otro sitios marinos. La figura 5 muestra la composición bacteriana encontrada en las aguas superficiales del entorno de la caleta Potter.

Otra observación realizada durante el análisis comparativo de los genotipos bacterianos provenientes de la Antártida y



Figura 3. Laboratorio y algunos equipos existentes en Jubany. **a)** Vista exterior de los laboratorios. **b)** Sistema de filtración por presión positiva. **c)** Compresor generador de nitrógeno líquido. **d)** Liofilizador.

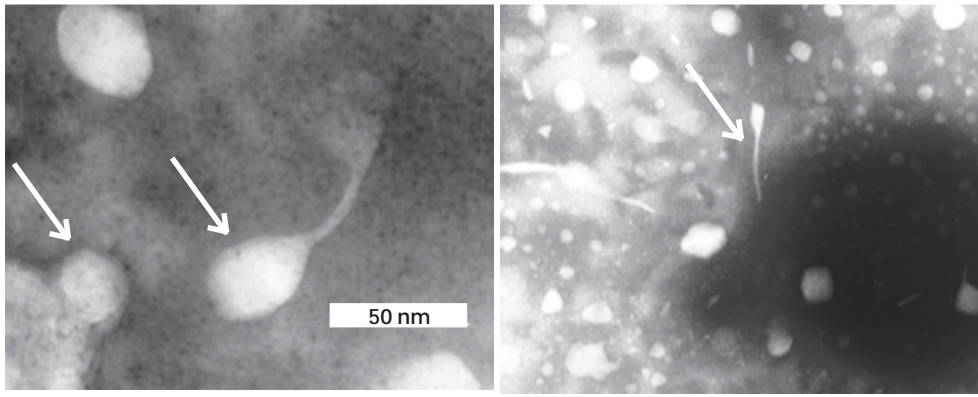


Figura 4. Diferentes morfologías de los bacteriófagos en aguas marinas antárticas (imágenes propias). **a)** La flecha de la izquierda indica la infección de una célula bacteriana por un podovirus (fago de cola corta). A la derecha la flecha indica una partícula de un fago de cola larga libre (en suspensión). **b)** Mezcla de partículas virales de diferentes formas.

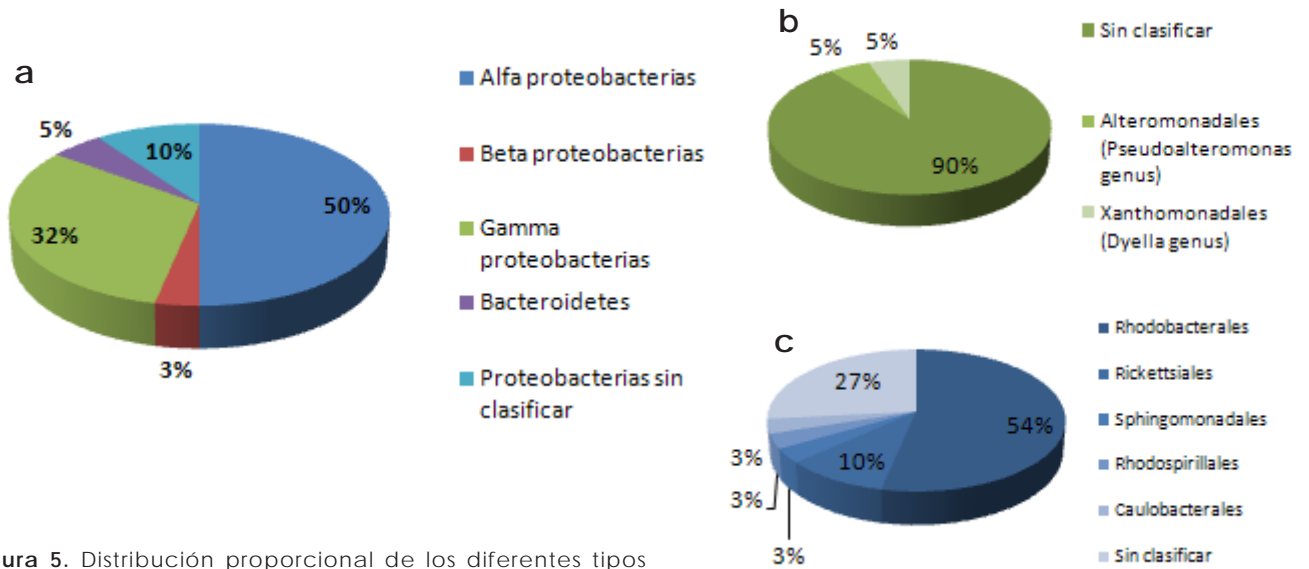


Figura 5. Distribución proporcional de los diferentes tipos bacterianos descritos en aguas superficiales antárticas. **a)** Todos los tipos. **b)** Distribución de Gamma proteobacterias. **c)** Distribución de Alpha proteobacterias.

aquellos depositados en las bases de datos genéticos fue que algunos tipos bacterianos muestran evidencias de una distribución cosmopolita y otros, en cambio, presentarían solo una distribución endémica en áreas frías y más aún, unos cuantos serían endémicos o propios de las aguas antárticas. Finalmente, también pudimos observar que genotipos bacterianos aislados por nosotros en aguas superficiales antárticas tienen parientes muy cercanos aislados de aguas muy profundas (de hasta 7000 metros de profundidad). Esto último se correlaciona muy bien con el hecho que en las regiones polares las aguas superficiales se sumergen y movilizan como corrientes hacia otras regiones marítimas del globo.

¿Dónde estamos y hacia dónde vamos?

Teniendo presente que nuestro objeto central de estudio son las comunidades virales del mar antártico, estamos iniciando los trabajos para realizar metodologías de metagenómica con el fin de describir más extensa y sensiblemente las comunidades virales actuales. Estas metodologías, aunque costosas, nos darán independencia respecto de la composición desconocida de las comunidades y además tendremos a disposición información genética necesaria para la fabricación de herramientas moleculares para estudiar componentes individuales. Finalmente, podremos analizar el aporte de microorganismos ancestrales por parte del descongelamiento glaciar mediado por los cambios climáticos globales.

Glosario

Cianobacteria: bacterias verdeazuladas que realizan una proporción importante de la fotosíntesis del planeta. Poseen morfología variada: unicelulares y filamentosas móviles por deslizamiento. Se dividen por fisión binaria, gemación o fisión múltiple. Están presentes en numerosos hábitat: superficie e interior de rocas, suelos desérticos, estanques, lagos y mares en simbiosis con hongos, protozoos y plantas.

Bacteriófago: los bacteriófagos (fagos) son parásitos intracelulares obligados que se multiplican al interior de las bacterias, haciendo uso de algunas o todas sus maquinarias biosintéticas.

ARN ribosomal: el ácido ribonucleico ribosómico o ribosomal (ARNr o rRNA por sus siglas en inglés) es el tipo de ARN más abundante en las células y forma parte de los ribosomas que se encargan de la síntesis de proteínas según la secuencia de nucleótidos del ARN mensajero.

Amplificación génica: se refieren a una serie de técnicas de biología molecular desarrolladas para obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo; en teoría basta partir de una única

copia de ese fragmento original, o molde. La más conocida de estas técnicas es la reacción en cadena de la polimerasa, conocida como PCR por sus siglas en inglés (Polymerase Chain Reaction), diseñada y desarrollada en 1986 por Kary Mullis.

Cebadores, iniciador o «primers»: es una cadena de ácido nucleico o de una molécula relacionada que sirve como punto de partida para la duplicación del ADN. Es una secuencia corta de ácido nucleico que contiene un grupo 3' hidroxilo libre que forma pares de bases complementarios a una hebra molde y actúa como punto de inicio para la adición de nucleótidos con el fin de copiar la hebra molde.

Metagenómica: recientemente, Kevin Chen and Lior Pachter (investigadores de la Universidad de California, Berkeley) definieron la metagenómica como «la aplicación de las modernas técnicas genómicas para el estudio de las comunidades de organismos directamente en su ambiente natural, sin la necesidad de aislamiento y cultivo en el laboratorio de cada una de las especies individuales».

Bibliografía

Abedon, S.T. (editor). 2008. *Bacteriophage Ecology. Population Growth, Evolution and Impact of Bacterial Virus*. Cambridge University Press.

Bryant, D. A. (editor). 1994. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Pensilvania: Kluwer Academic Publishers.

Garrett, R. A. y Klenk, H. (editores). 2007. *Archaea. Evolution, Physiology, and Molecular Biology*. Malden: Blackwell Publishing.

