



Extremófilos: Estrategias de vida en un mundo extremo

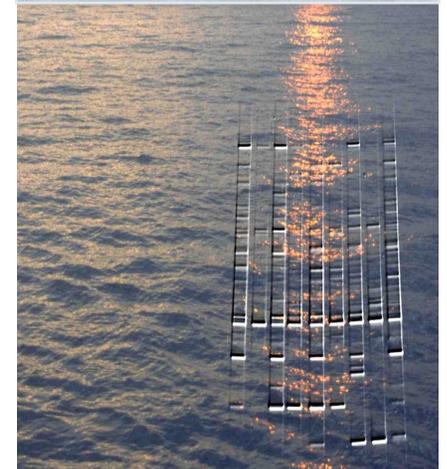
Beatriz Díez

Dept. Genética Molecular y Microbiología

Lab. Ecología Microbiana de Sistemas Extremos

(56-2) 354 1863

bdiez@bio.puc.cl



¿Que es un sistema extremo?

Ambiente con condiciones difíciles
para la vida.

¿Qué es un organismo extremófilo?

del latín extremus "extremo" y del griego philia (φιλία) "amor"

- **Definición desde la Matemática:** organismo representado en los extremos de una distribución de Gauss, como "extraordinario".
- **Definición desde la Biológica:** organismo que se desarrolla en condiciones físico- o geoquímico extremas perjudiciales para la mayoría de la vida en la Tierra. Han adaptado sus genotipos y fenotipos para sobrevivir a estas condiciones inusuales y por ello las condiciones no son "extremas" para ellos.

¿Es el medio realmente extremo, o sólo desde el punto de vista humano?

- Las condiciones "extremas" en las que viven algunos organismos pueden representar un habitat "normal" al que están adaptados.
- Podría ser similar a lo que es "normal" en otros planetas y lunas.

Lo que realmente define un sistema extremo es su biodiversidad.

- Riqueza de especies y complejidad estructural baja

Ambiente extremo:

No zona clara de transición sino que mas bien cambios graduales -adaptación continua de M.O.

Adaptación vs Extremo

El término adaptación es más representativo para evaluar el potencial que tiene la vida en la Tierra

Adaptaciones en extremófilos

Organismos con fisiología y bioquímica inusual como resultado de:

- 1- la evolución de diferentes linajes que convergieron
- 2- Re-expresión de genes ancestrales

Record fósil raramente deja indicación de capacidades metabólicas, hay que ser cuidadosos a la hora de extrapolar atrás en el tiempo.

- **¿Cuando surgieron las características extremófilas?**
- **¿Son ancestrales o han sido incorporaciones relativamente recientes?**

- **¿Cuáles son los límites de la vida para el crecimiento y la supervivencia?**
- **¿Cómo funcionan los mecanismos moleculares que definen estos límites?**

Limites generales definidos para la vida

- Temperatura 0 – 120°C.
- pH 1–12.
- Salinidad no limites hasta la fecha.
- Deseccación por prolongados periodos de tiempo.
- ...

Categorías

- **Acidófilo:** crecimiento óptimo a niveles de pH de 3 o por debajo
- **Alcalófilo:** crecimiento óptimo a niveles de pH de 9 o superior
- **Anaerobio:** no requiere oxígeno para el crecimiento.
- **Criptoendolítico:** vive en espacios microscópicos dentro de las rocas, fisuras, aguas subterráneas en el subsuelo profundo.
- **Halófilo:** requiere por lo menos las concentraciones de 0,2 M de sal (NaCl) para el crecimiento
- **Hipolítico:** vive por debajo de las rocas en desiertos fríos

- **Litoautótrofo**: única fuente de carbono es dióxido de carbono y la oxidación inorgánica exergónica (quimiolitotrofos), pueden obtener energía a partir de compuestos minerales reducidos como piritas
- **Metalotolerante**: toleran altos niveles de metales pesados disueltos en solución, tales como cobre, cadmio, arsénico y cinc.
- **Oligotróficas**: crecen en ambientes nutricionalmente limitados
- **Osmófilo**: crecer en ambientes con alta concentración de azúcar
- **Piezófilo**: vive de manera óptima a alta presión hidrostática; común en la profundidad debajo de la superficie terrestre, así como en las fosas oceánicas

- **Psicrofílo / criófilo:** supervivencia, crecimiento o reproducción a temperaturas de -15°C o inferior durante períodos prolongados, frecuentes en suelos fríos, el permafrost, el hielo polar, el agua fría del océano, y en o debajo de la capa de nieve alpina
- **Radioresistente:** resistentes a altos niveles de radiación ionizante, radiación ultravioleta más comúnmente, pero también incluyendo organismos capaces de resistir a la radiación nuclear
- **Termófilo:** puede crecer a temperaturas de entre 45 a 122°C , ej. fuentes hidrotermales
- **Xerófila:** puede crecer en condiciones de alta desecación; ej. suelo del desierto de Atacama

“Poliextremófilos”

Organismos que califican como extremófilos en más de una categoría, adaptados a múltiples formas de estrés ambiental.

- Ej: Termoacidófilos. Combinación de termófilo y acidófilo: 70-80 ° C y pH 2-3
 - Mayoría de arqueas y muchas bacterias
 - *Cyanidium caldarium* y *Galdieria sulphuraria* (algas rojas unicelulares)

- Algunos extremófilos son estrictamente dependientes de su entorno especializado y no sobreviven incluso una corta exposición a condiciones "normales".

Ej 1. Cianobacterias alcalófilas del género *Spirulina* se lisan cuando se expone a pH neutro.

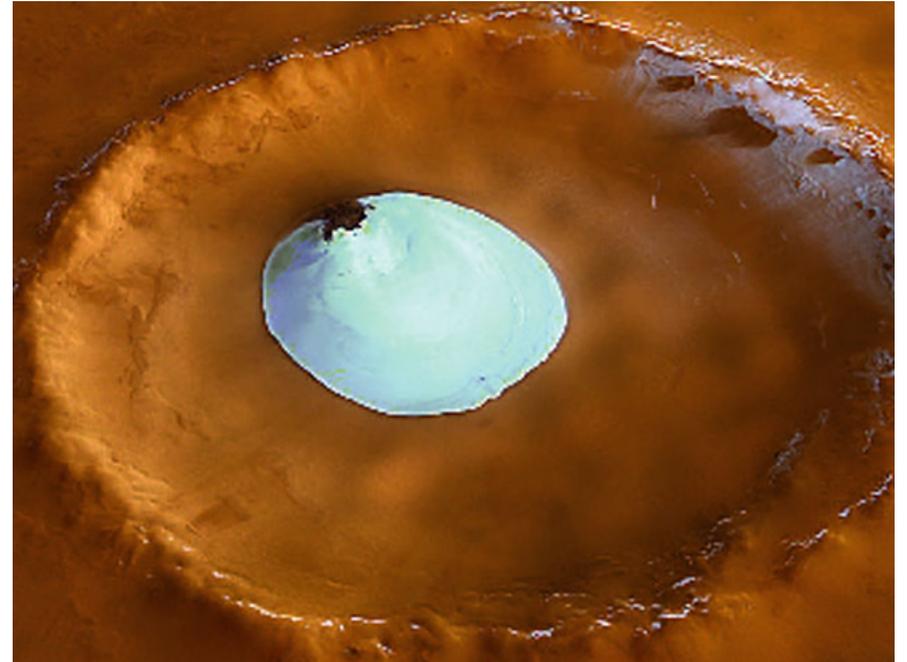
Ej 2. El alga roja acidófila *Cyanidium* sobrevive y es capaz de crecer (aunque lentamente) a temperatura ambiente y en el intervalo de pH neutro. Sin embargo, en la naturaleza sólo se encuentra en ambientes ácidos calientes, ya que es capaz de competir con mayor éxito en estas condiciones con otros microorganismos.

Importancia para la Astrobiología

- Exploraciones en curso han demostrado vida en ambientes previamente consideradas inhabitables en la Tierra.
- Entender la vida en condiciones extremas en la Tierra ayuda a caracterizar la bioquímica que define el límite para la vida celular.
- El descubrimiento y estudio de los extremófilos contribuyen a la búsqueda de vida fuera de la Tierra.

Ejemplos:

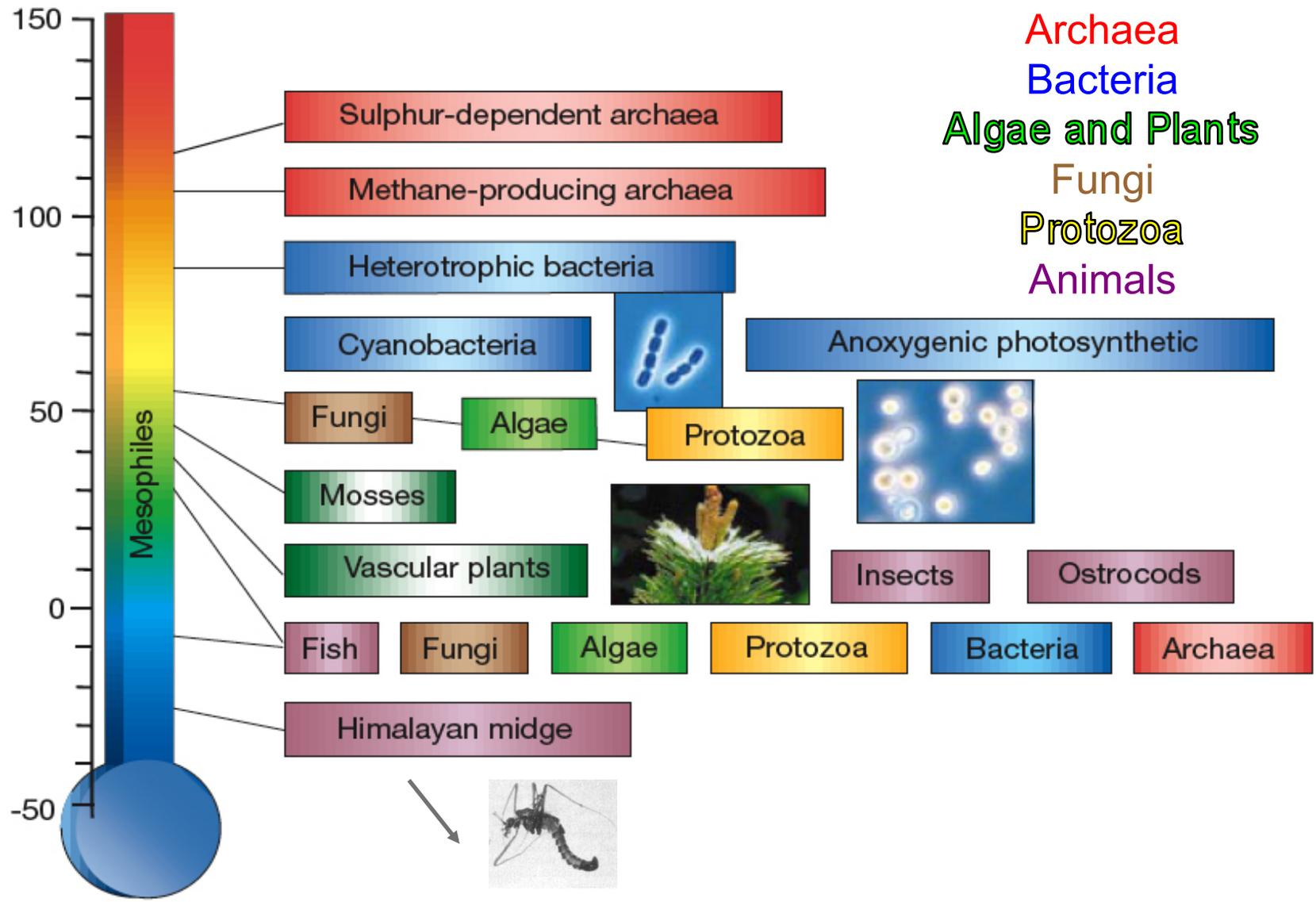
- **Marte:** depósitos de sulfato y volumen considerable de agua. Puede tener regiones de su permafrost subterráneo que podría albergar comunidades psicrófilas/endolíticas.



- **Europa** (luna de Júpiter): océano (agua líquida) bajo una cubierta de hielo de 10-30 km, que puede albergar vida, como en los respiraderos hidrotermales del fondo del océano.

- ***Paracoccus denitrificans*** crecimiento a condiciones de extrema gravedad. Se cultivaron en condiciones de hiperaceleración similar a los de ambientes cósmicos (estrellas muy masivas o en las ondas de choque de las supernovas).
- Abril de 2012, líquenes que sobreviven y adaptan su actividad fotosintética en 34 días bajo condiciones similares a las de Marte.
- Febrero de 2013, bacterias que viven en el frío y oscuro lago enterrado media milla bajo el hielo en la Antártida.
- Marzo de 2013, datos que sugieren formas de vida microbianas en la Fosa de las Marianas, el punto más profundo de la Tierra (Glud et al. *Nature Geoscience*).

Límites de temperatura para la vida



Temperaturas extremas

microorganismo	Temp. mínima	Temp. óptima	Temp. máxima
Psicrófilo	-5 +5	12 - 15	15 - 20
Psicrótrofo	-5 +5	25 - 30	30 - 35
Mesófilo	5 - 15	30 - 45	35 - 47
Termófilo	40 - 45	55 - 75	60 - 90

Psicrófilos

Sistemas alpinos y polares (Ártico y Antártica), aguas oceánicas

Termófilos

Fuentes termales submarinas y terrestres

M.O. Psicrófilos

Capaces de crecer y reproducirse a menos de 15°C

Aguas oceánicas, hielo y nieve en sistemas alpinos y polares, permafrost (suelos congelados por años), etc

Obligados: crecimiento óptimo a 15°C o menos, **no crecen por encima de 15-20°C.**

Facultativos, psicrotolerantes: pueden crecer de 0°C a ~ 40°C, son más abundantes.

Muchos son poli-extremófilos:

- Océano profundo -> altas presiones
- Hielo marino (salmueras)-> altas concentraciones de sal
- En la nieve, los glaciares -> alta radiación UV
- Desiertos antárticos – desecación y aridez (pocos nutrientes)

Adaptación a sistemas fríos

- Estrés osmótico y mecánico durante formación de hielo.
- Viabilidad durante periodos de dormancia prolongada.
- Habilidad para capturar luz y crecer a pesar del efecto de atenuación por cobertura de nieve.

¿Que sucede a baja temperatura para la mayoría de M.O.?

Aumento viscosidad por el aumento en la concentración de sales en el citoplasma

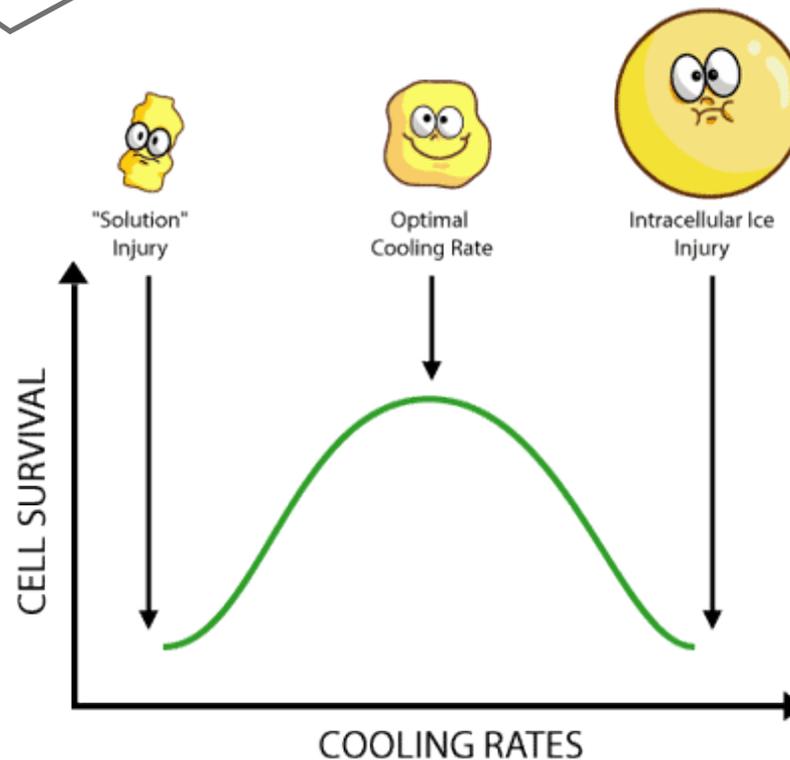
Reducción fluidez lípidos de membrana y flexibilidad proteica. Reducción permeabilidad selectiva de moléculas. Reducción transporte y transducción de señales.

Por cada 10°C, reducción a la mitad las tasas de la mayoría de las reacciones bioquímicas

A temperaturas cercanas a la congelación – biosíntesis macromoléculas (ADN, ARN, proteínas, y la pared celular) presumiblemente se detiene.

Congelación lenta -> el ambiente exterior se congela -> diferencia de potencial a través de la membrana -> el agua fluye fuera de la célula -> deshidratación -> daño irreversible

Congelación rápida -> retienen agua dentro de la célula -> el agua se expande al congelarse -> cristales de hielo destruyen la célula



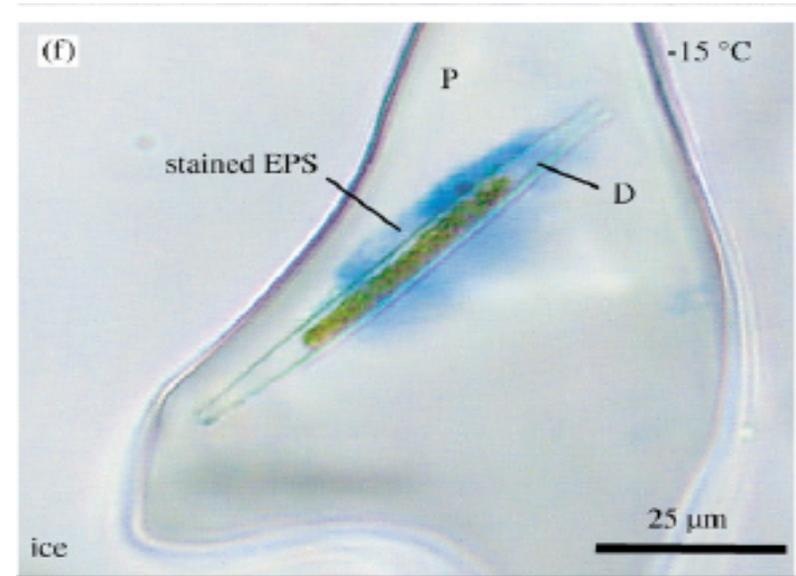
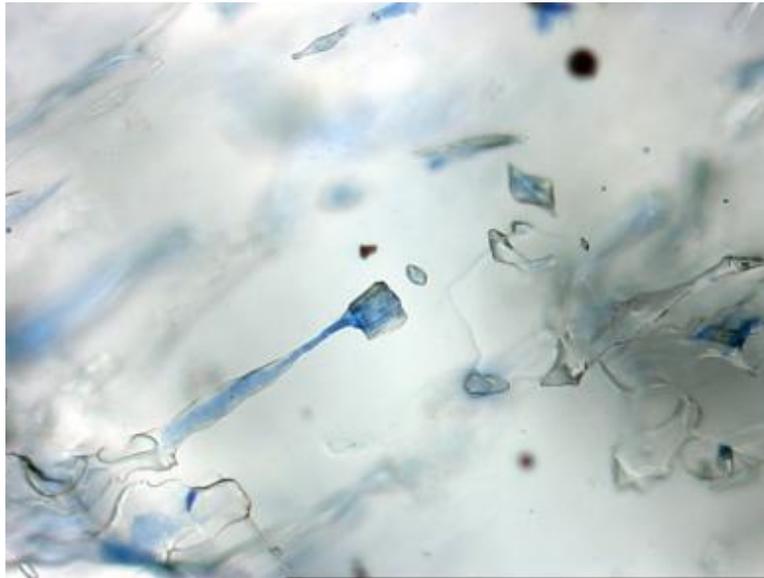
Adaptación celular contra la congelación

A. Compensar aumento viscosidad y disminución de movilidad (rigidez)

A1. **Evitar la congelación.** Proteínas anticongelantes crioprotectoras (glicoproteínas con alta afinidad por el agua)

A2. **Tolerar la congelación.** Dejar que el ambiente externo se congele -> generar cambio conductividad térmica que protege a la célula contra la congelación interna

Algas y cianobacterias usan anticongelantes



Gel (sustancia extracelular de polisacáridos, marcado en azul) secretado por algas del hielo marino - anticongelante en temperaturas muy por debajo de 10 ° C - permite esculpir canales microscópicos y poros en el hielo llenas de al menos un poco de fluido, que son hospitalarios para sí mismas y otros microorganismos.

Krembs et al 2011 PNAS

B. Para compensar la disminución de la fluidez en la membrana - aumentar los ácidos grasos insaturados o poliinsaturados en la membrana celular para que siga en estado semifluido

C. Para compensar la disminución de la flexibilidad proteica - cambios en la estructura de proteínas con formas que promueven menor rigidez, y/o incrementando expresión de proteínas de choque térmico, para ayudar a plegamiento de las proteínas y el establecimiento de conformaciones más adecuadas

D. Formar esporas o quistes para sobrevivir largo tiempo y ser viables otra vez.

Estrategias generales para vivir a bajas temperaturas

- Bajar tasas de crecimiento (acumulación de biomasa, para proporcionar un inóculo para el próximo año)

- Elección del hábitat, con exclusión de zonas muy expuesta
 - Grietas de rocas, y debajo de las piedras translúcidas en el que la exposición solar es muy atenuada
 - epilíticos y endolíticos
 - Bajo el hielo
 - Formando biofilms gruesos
- Motilidad para cambiar su posición en los gradientes verticales de luz

Poliextremófilos en sistemas fríos

Protección frente UV

La luz es necesaria para la fotosíntesis, pero en exceso es perjudicial --- aumento en la frecuencia de mutación o blanqueo fotooxidativo.

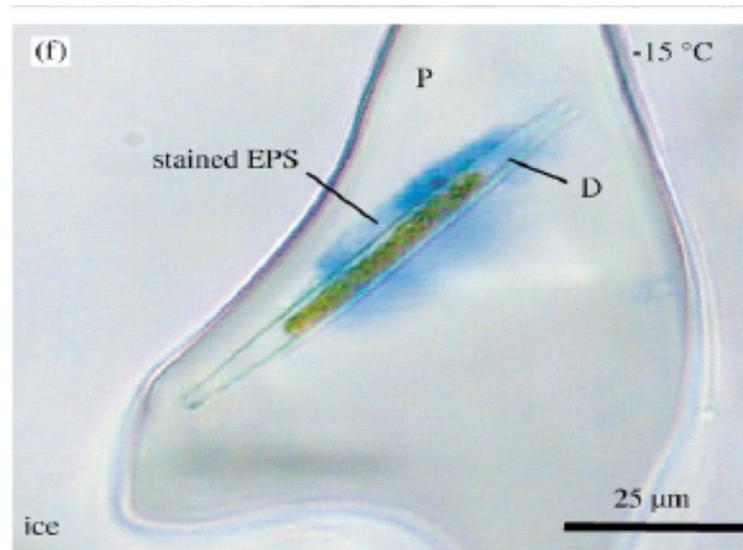
- Muchas algas (eucariontes) y cianobacterias (procariontes) producen pigmentos que absorben la luz UV proporcionando protección
Ej. Cianobacterias *Scytonema*, *Nostoc*, y *Calothrix* acumulan el pigmento escitonemina

- Muchas algas acumulan pigmentos carotenoides (amarillos, anaranjados o rojos).



Chlamydomonas nivalis
Común: Norte America,
Japón, Ártico, Patagonia.

- Muchas otras cianobacterias acumulan exopolisacárido



Baja irradiancia

- Burbujas, partículas en el hielo y cubierta de nieve fuerte efecto sobre el albedo (reflexión) y dispersión, con severa reducción de la luz

Ejemplo:

Chlamydomonas raudensis aislada de lago permanentemente cubierto de hielo (Antártica).

Psicrófila- óptimo de crecimiento a 8 °C, adaptada a ambiente de luz extremadamente bajo.

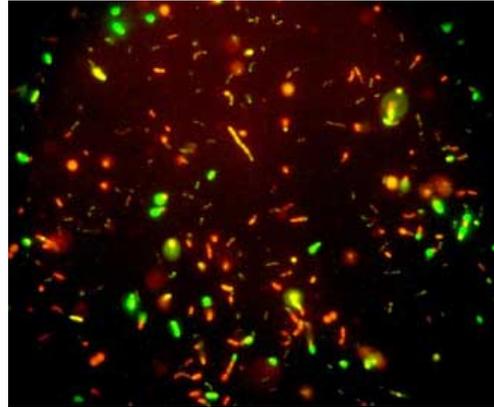
Oscuridad prolongada

- Obstáculo mayor incluso sobre la viabilidad que la congelación.
- Altos costes energéticos para el metabolismo basal, mantenimiento y reparación, y en última instancia, puede agotar las reservas celulares.
- No se conoce bien el umbral por debajo del cual las células no pueden recuperarse incluso cuando se devuelve a las condiciones de luz.

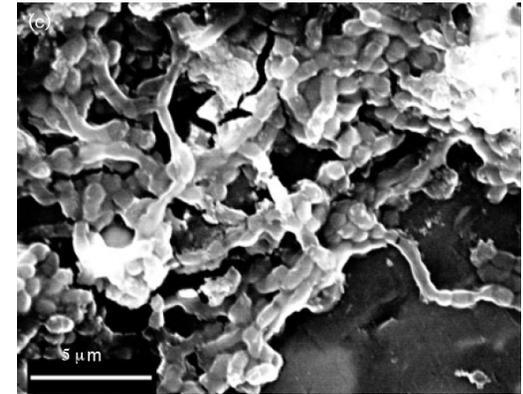
NASA revive 32,000 year old bacteria



ice samples from the permafrost in Alaska



Living bacteria are stained green



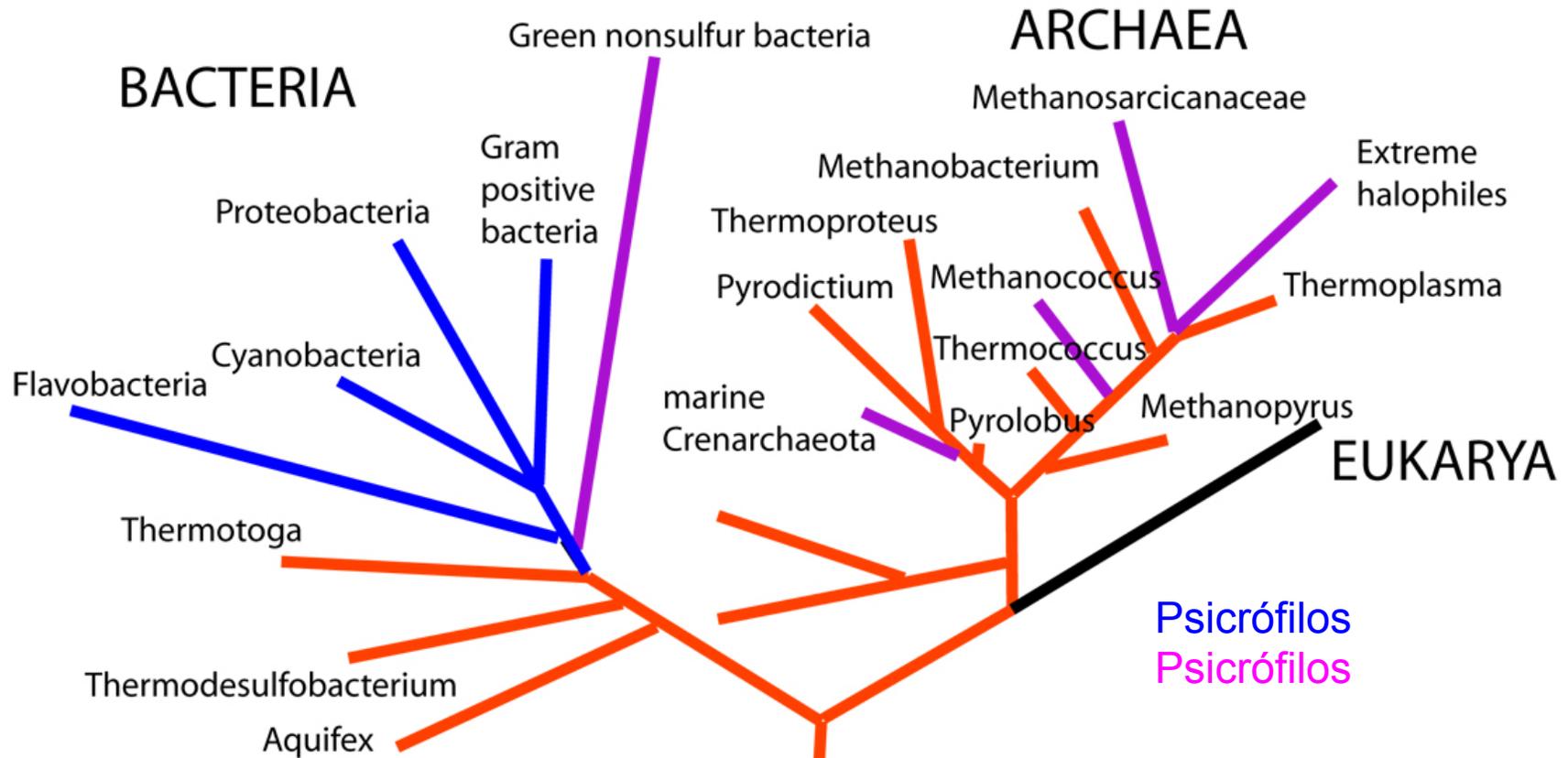
SEM -International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2005), 55, 473

Carnobacterium pleistocenum

Bacteria had frozen near the end of the Pleistocene

Microorganisms can be preserved in ice for geological periods of time!

Ambientes permanentemente fríos favorecen la evolución de M.O. psicrófilos



Regiones polares: Laboratorios naturales perfectos

- Efecto cambio climático
- Adaptaciones sorprendentes- Biotecnología y Astrobiología

Cianobacterias

- Especies psicrotolerantes están mas cercanas a las de ambientes templados, mientras que las especies psicrófilas probablemente evolucionaron en estos sistemas fríos para adaptarse a las bajas temperaturas.

Ej. Oscillatoriales aisladas de estos sistemas óptimo crecimiento a 8°C y no crecen a 24°C (Nadeau and Castenholz, 2000).

- Cianobacteria pueden metabolizar hasta -20°C

Ej, *Anabaena variabilis*, *Synechocystis*,
Synechococcus (Psenner and Sattler, 1998;
Priscu et al., 1998, 1999a).

Proteasas degradadoras de caseína actúan como chaperonas y proteasas de choque térmico (Nadeau and Castenholz, 2000).

Durante oscuridad y congelación la tasa de respiración baja, reduciendo el consumo de C, minimizando el efecto a largo plazo bajo estas condiciones. Por esta razón posiblemente dominan en estos ambientes.

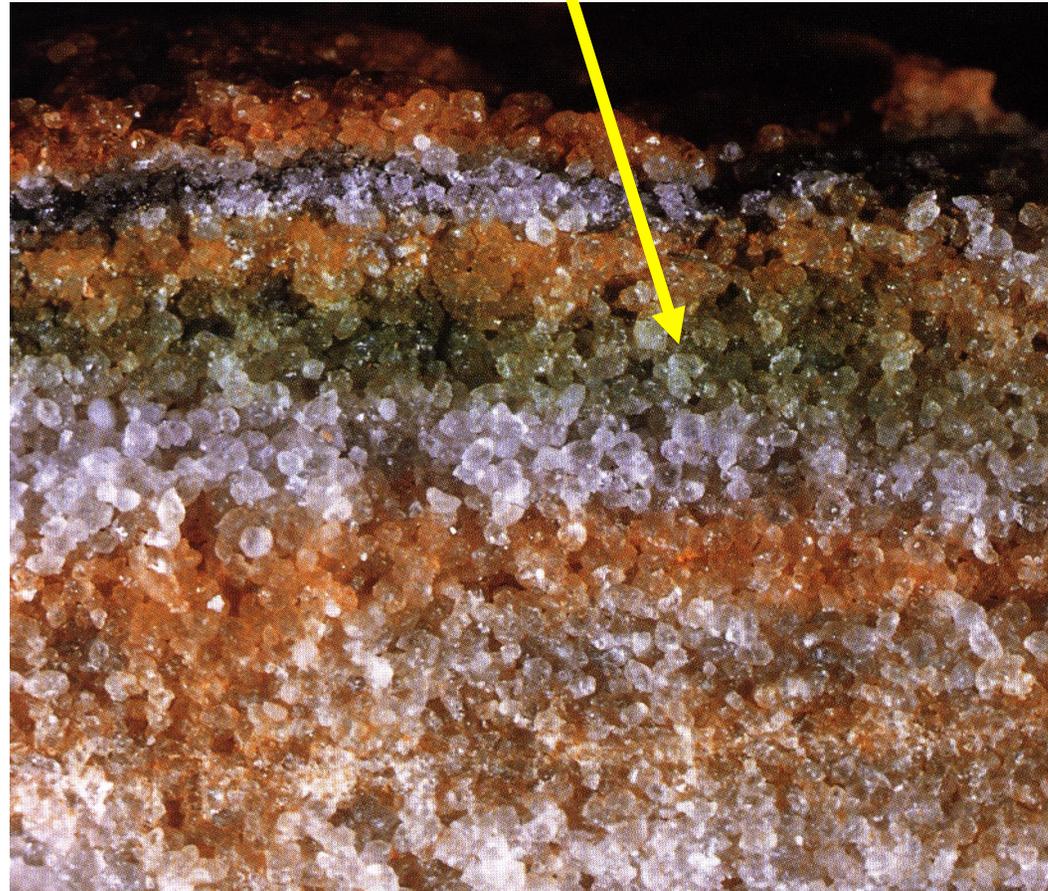
Durante dormancia alta concentración de carbohidratos solubles que sustituyen moléculas de agua durante deshidratación (Crowe et al., 1984).

Presencia de azúcares protectores permite la vitrificación del citoplasma antes de deshidratarse con formación de alta-viscosidad (Bruni and Leopold, 1991). Esto preserva la viabilidad celular durante congelación mediante inmovilización de constituyentes celulares (Sun and Leopold, 1994a, b).

Cianobacterias en regiones frías

- Picocyanobacteria dominan lagos meromícticos de Antártica (Powell et al., 2005)
- Ríos
- Menos común en las aguas marinas (Díez et al 2012)
- Permafrost (suelos helados por años) (Vishnivetskaya et al., 2005)
- Epilíticas y endolíticas en el interior y en el exterior de las rocas del desierto (Cockell and Stokes, 2004)
- Agujeros y en glaciares
- En antártica importancia ecológica porque cerca del 50% son capaces de fijar N₂.

Cianobacterias de vida libre
en costras de suelos Antártida

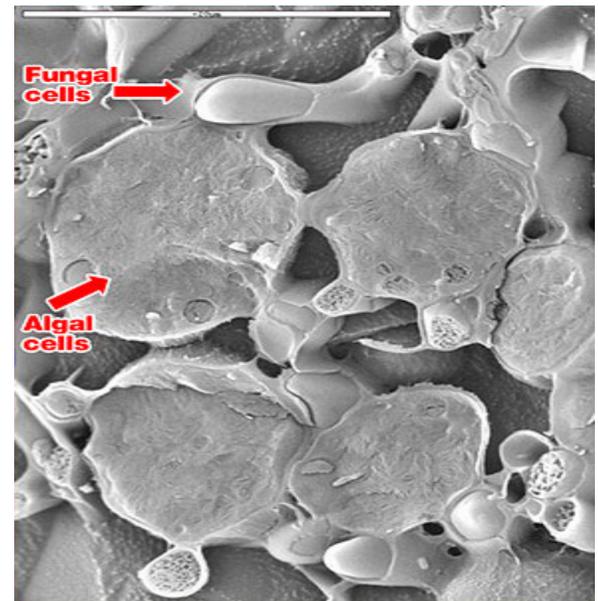


- Simbiosis o asociación entre organismos (líquenes, hongos, musgos y algas)

Líquenes: a menudo la única vegetación en sistemas alpinos y polares



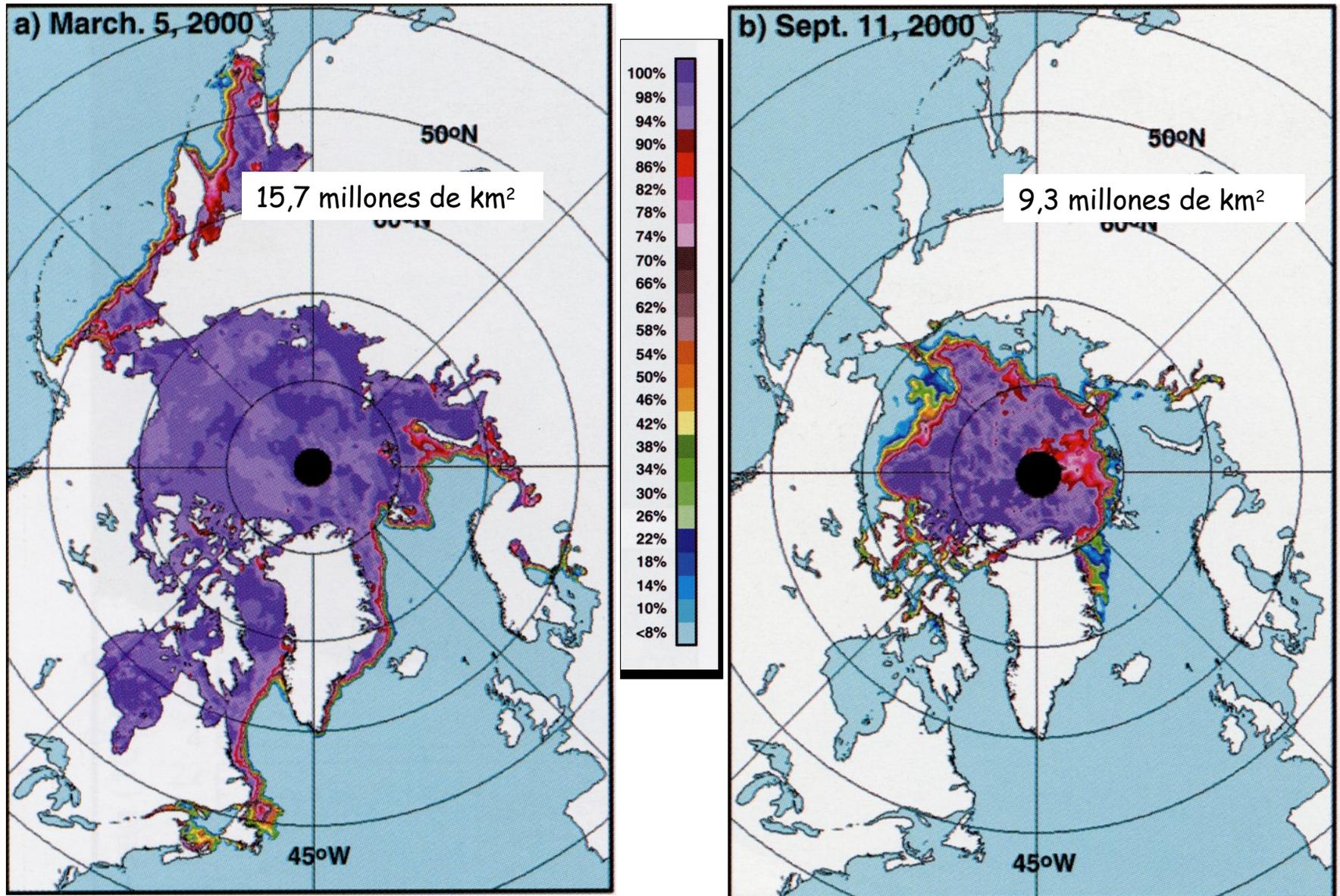
Simbiosis alga/cianobacteria (microorganismos fotosintéticos) y hongo



Agencia Europea Espacial-
podrían sobrevivir (fotosintetizar)
en el espacio (*Astrobiology*. 2007
Jun;7(3):443-54.)

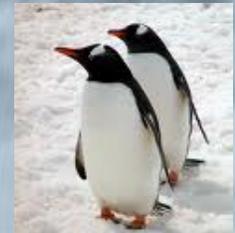
...posibilidad de transferir vida de unos planetas a otros (via meteoritos)!

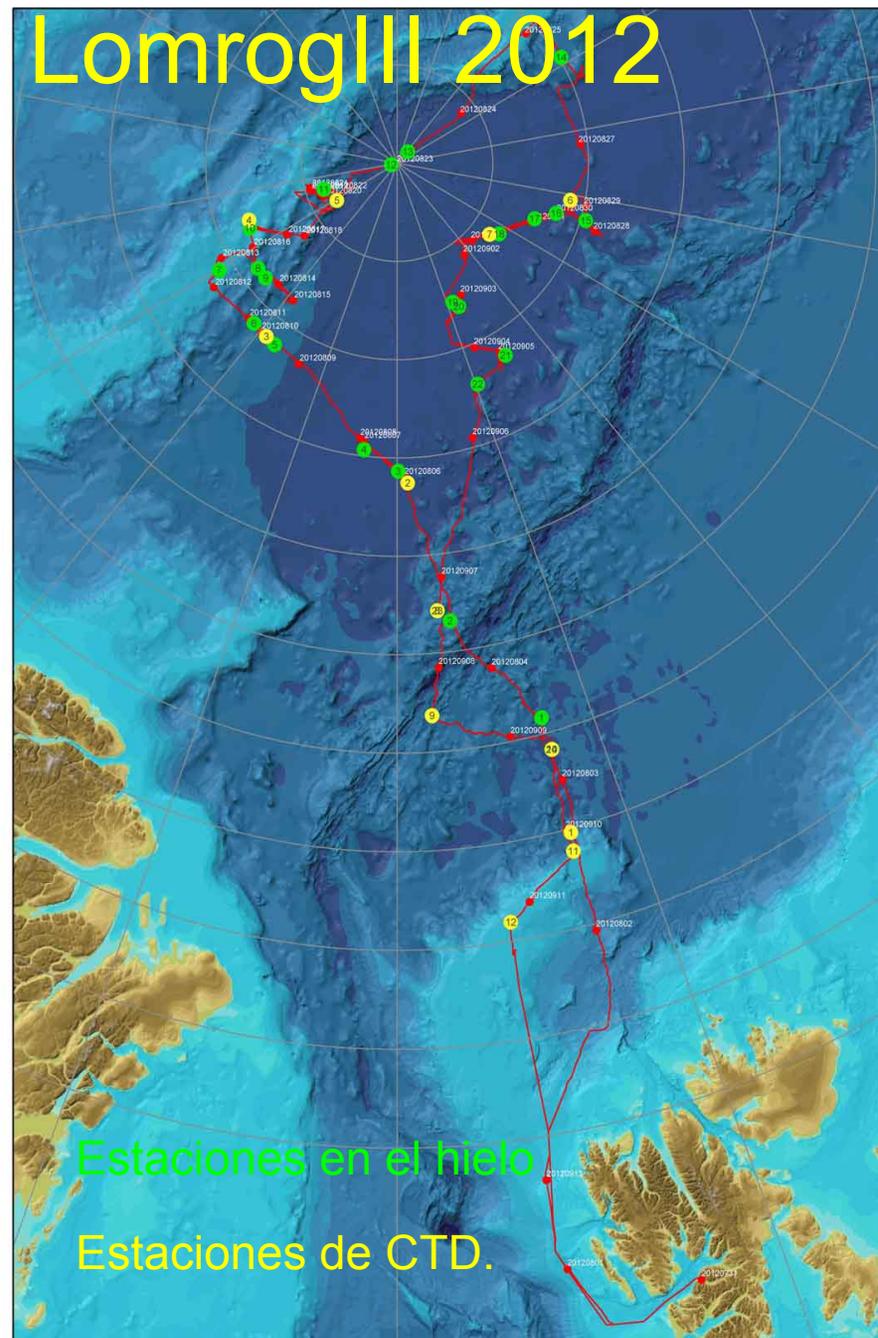
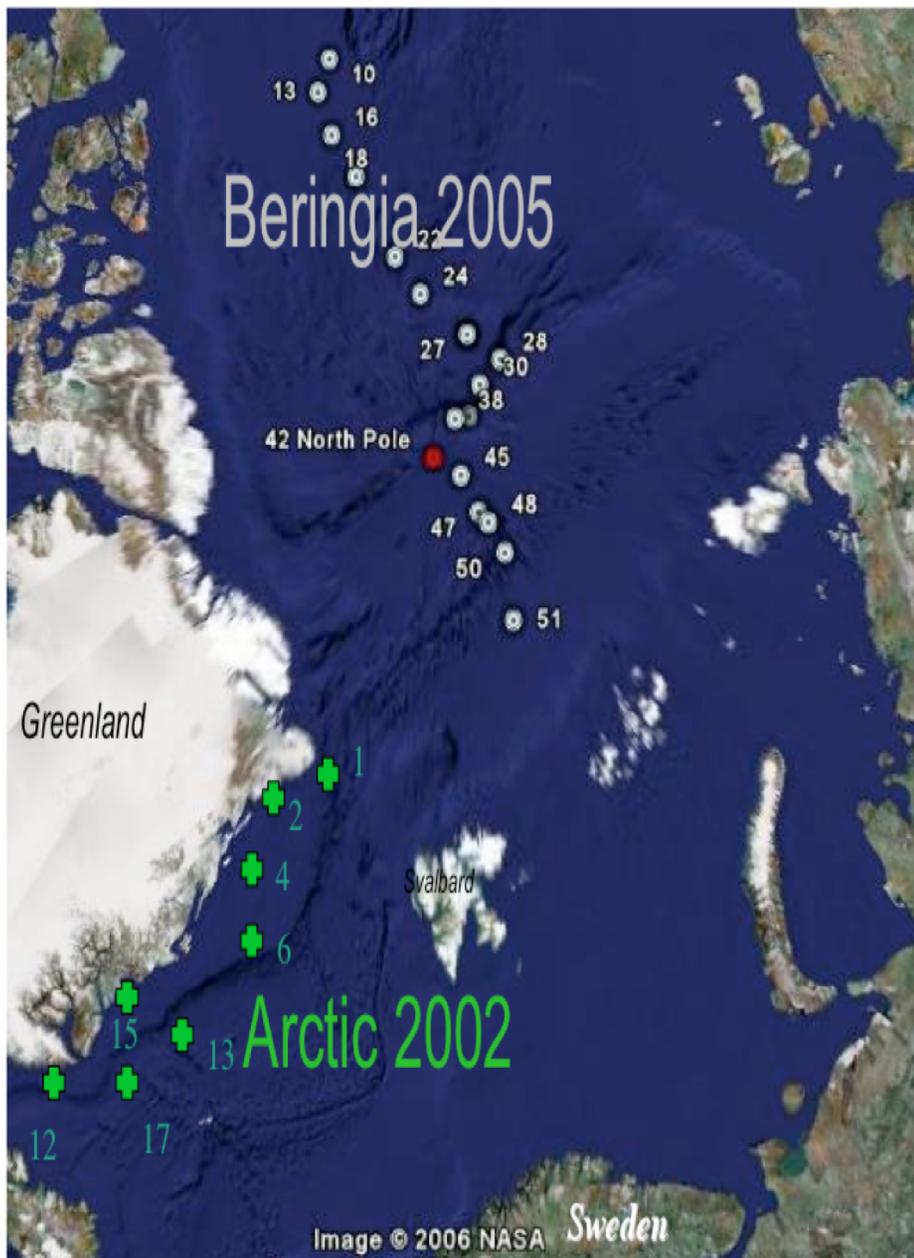
Reducción del hielo marino



Project INACH

**Microbial diversity and diazotrophy
in polar systems: impact on
biogeochemical cycles (nitrogen) and
global change**

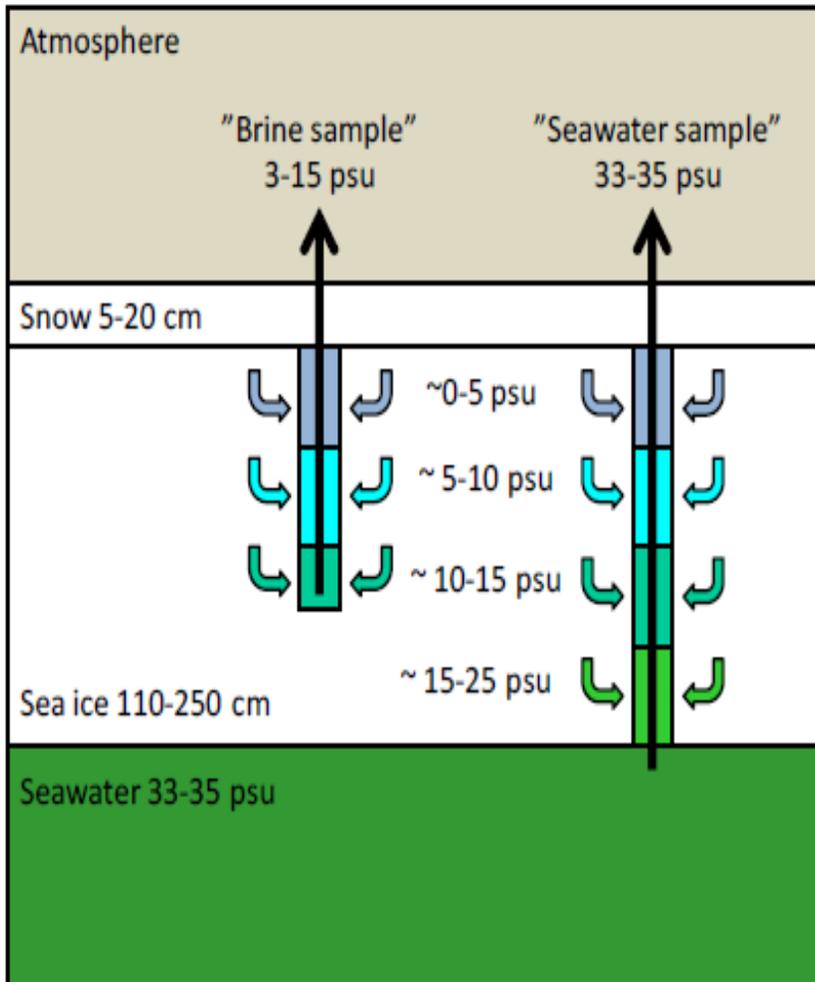


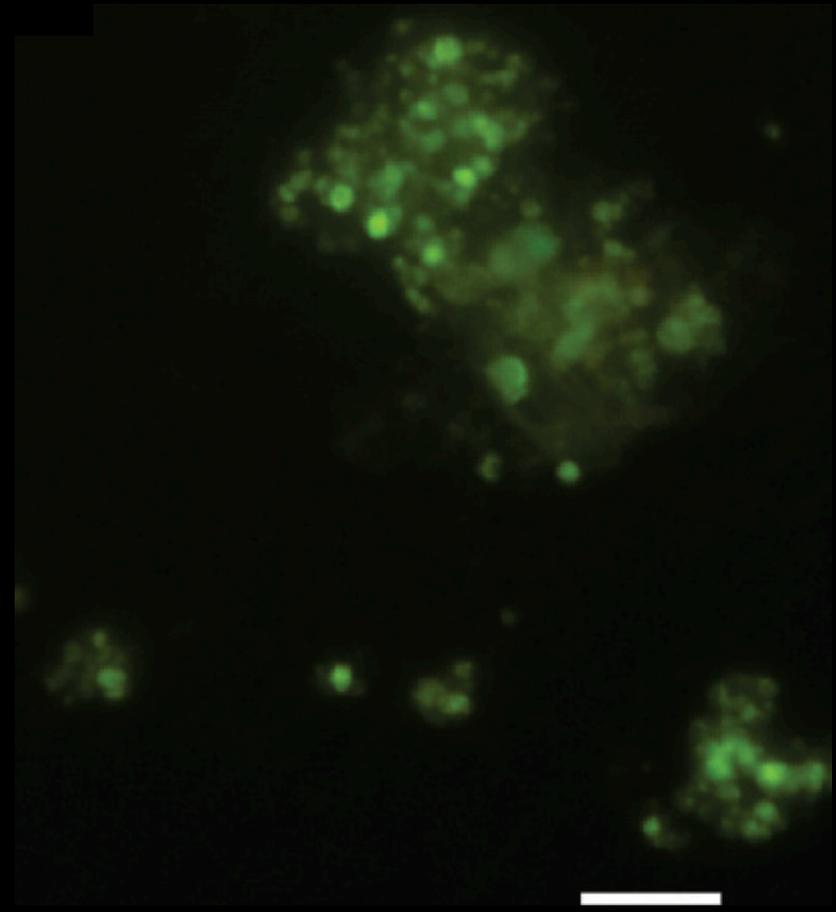
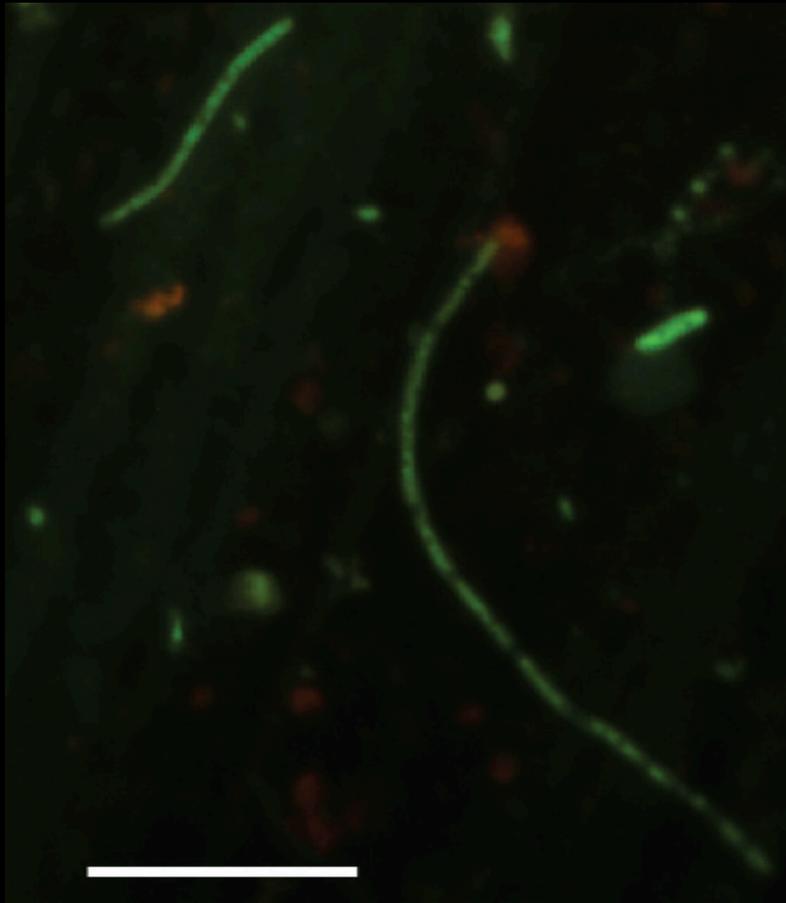






RECOLECCIÓN DE MUESTRAS



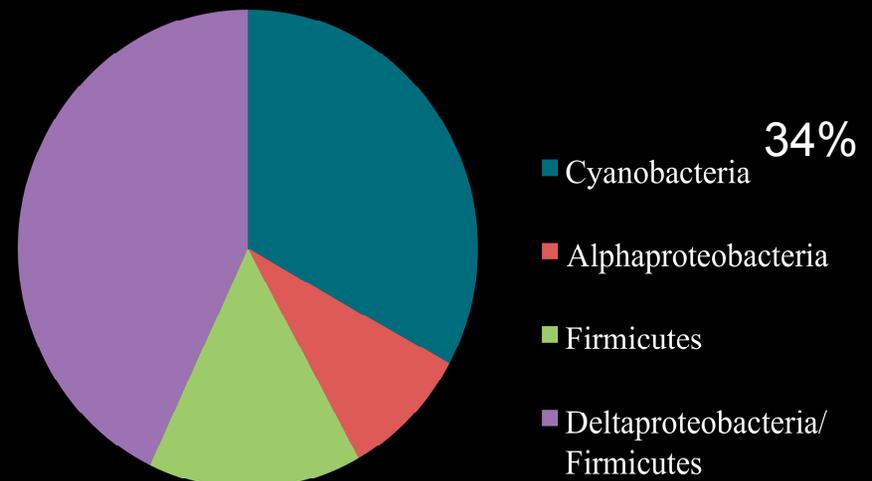
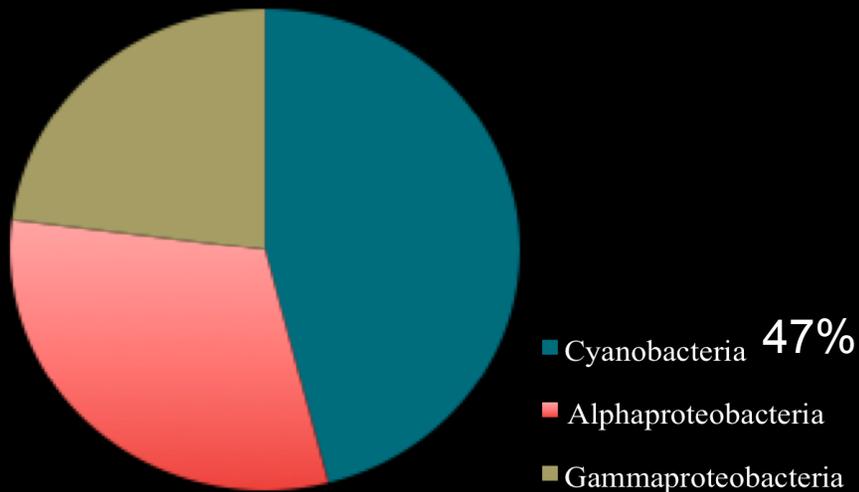


Cianobacterias filamentosas (a), unicelulares (b). Tinción con naranja de acridina.
Scale bar = 10 μm

- Primer reporte de organismos fijadores de nitrógeno en hielo marino
- Alta abundancia de cianobacterias
- Alta implicancia en ciclos biogeoquímicos y respuesta a cambio climático

Hielo

Agua de mar



Extremófilo de en aguas termales



Termófilos facultativos máximo crecimiento temperaturas entre 50-65°C, **pero pueden crecer debajo 30°C**

Termófilos obligados máximo crecimiento temperaturas entre 65-70°C, **y no pueden crecer debajo 40°C**

Termófilos extremos crecen entre 40-70°C con **óptimo 65°C**

Hipertermófilos crecen por encima 90°C con rango **óptimo entre 80-115°C**

Problemas que causan las altas temperaturas

Desnaturalización de proteínas, material genético y membranas celulares

Adaptaciones:

- Bacterias mayor ácidos grasos saturados en membranas que permiten enlaces hidrofóbicos más fuertes
- Arqueas enlaces éter (y no ester) en membranas (más resistentes)
- Enzimas (interior molecular muy hidrófobo) y ribosomas termorresistentes
- Síntesis de proteínas que estabilizan la conformación del DNA

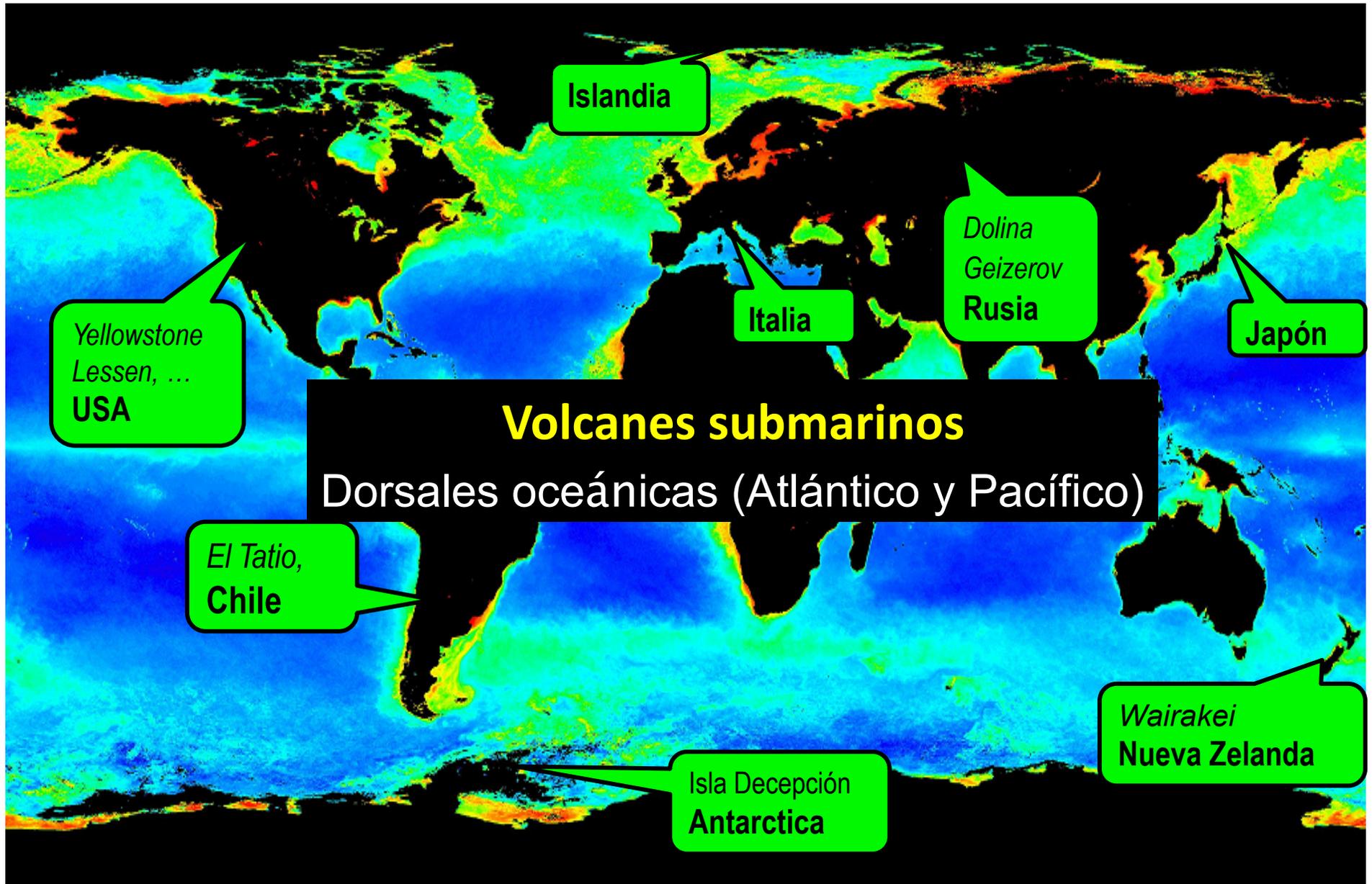
Origen de la vida: ¿termal?

NO está apoyado por:

1. Árboles filogenéticos de genes que no codifican para el ARN ribosomal
2. Experimentos químicos con estructura alternativa para la espina dorsal de ácido nucleico (Eschenmoser, 1999)
3. Consideraciones acerca de la estabilidad térmica de las moléculas básicas que se encuentran en todos los organismos
4. El análisis estadístico del contenido de guanina-citosina de DNA (Galtier et al., 1999)

Por lo tanto, hay una necesidad urgente de investigación para determinar si la vida se originó o no en estos ambientes.

● Sistemas termales terrestres (estudiados)



Bacterias termófilas

Hipertermófilas:

Termotoga

Aquifex

– Menos evolucionado

– Quimiolitotróficos

(oxidan H₂ para obtener energía)

Deinococos (carotenoides protección UV)

Thermus aquaticus (*Thermales*)

Bacterias verdes no del azufre

Chloroflexus (fotosíntesis anoxigénica)

Bacterias verdes del azufre

Chlorobium (fotosíntesis anoxigénica)

Bacterias Gram positivas

Actinomicetes (alto contenido G+C)

Firmicutes (bajo contenido G+C)

Proteobacterias

– α , β , γ , δ , ϵ

Bacteroides/Flavobacteria /Cytophaga

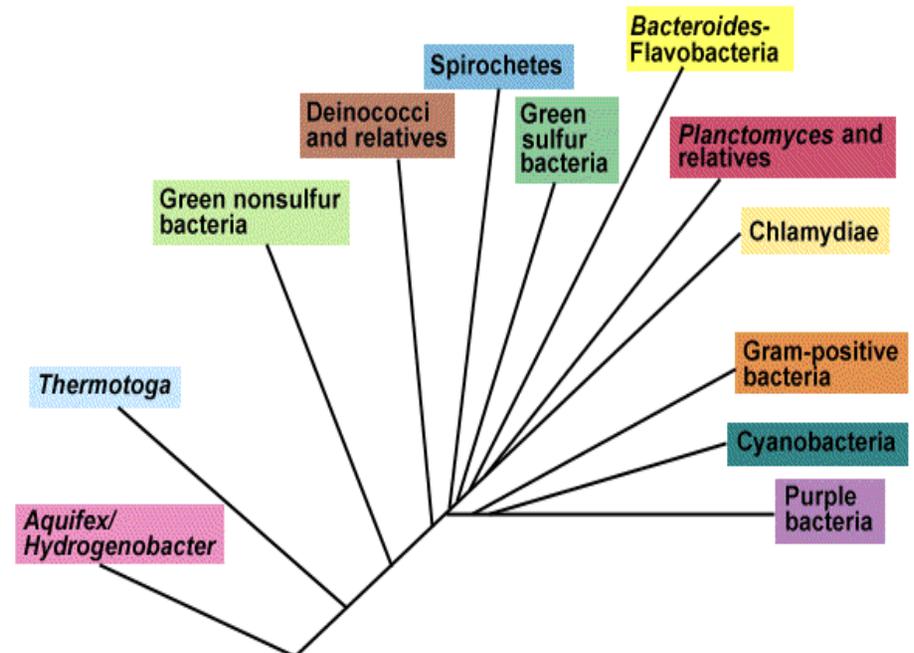
- Quimioorganotrofos (energía y fuente C orgánicos)

Cianobacterias

Mastigocladus, *Synechococcus*...

– Fotosíntesis oxigénica

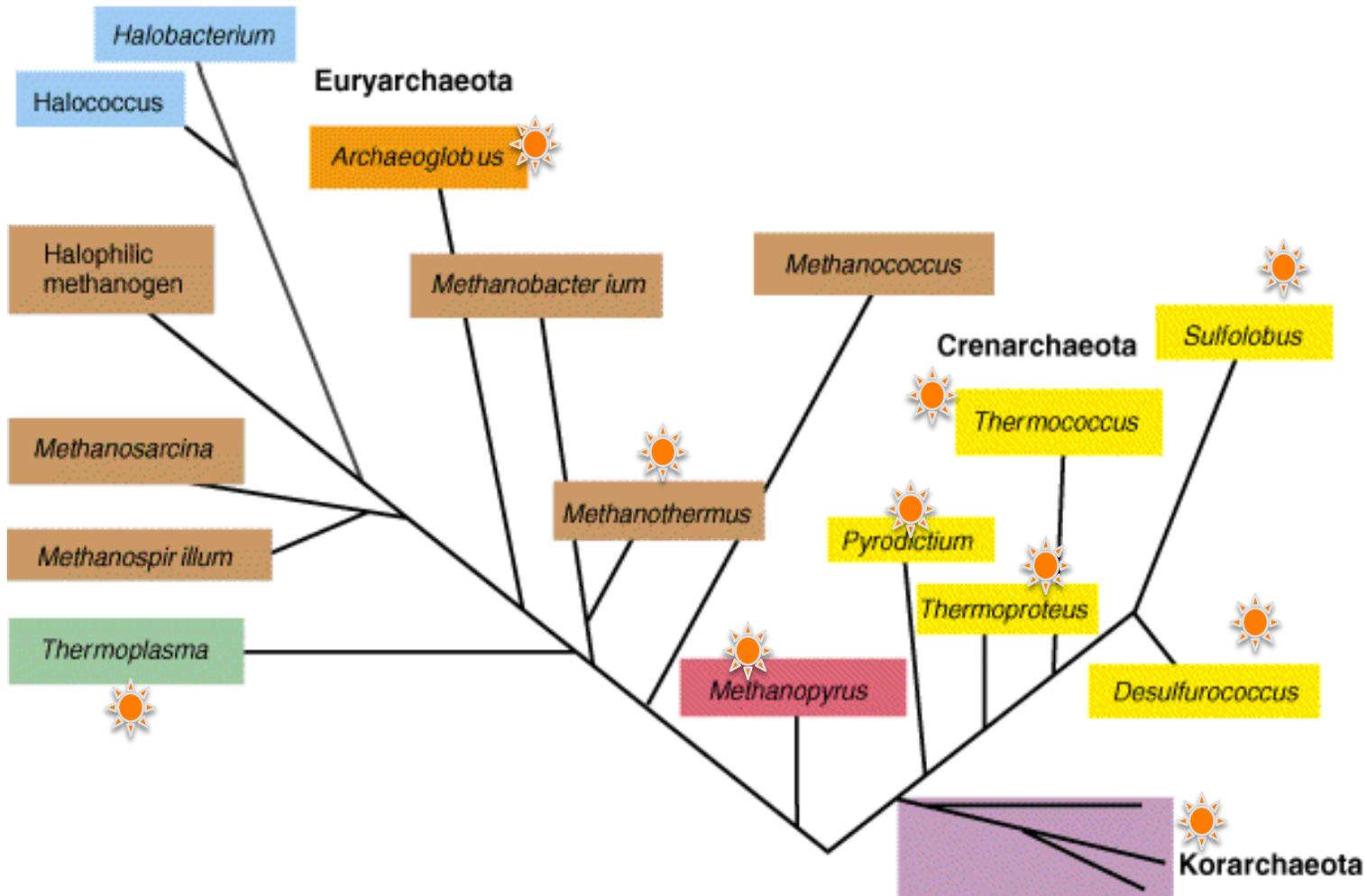
– Fijación de nitrógeno



Cianobacterias Termófilas

- Diferentes aislados bien definidos en el rango de temperatura de 50-72°C (Allewalt et al., 2006).
- Las cepas a una determinada temperatura parecen estar mejor adaptadas a esa temperatura y muestran mayores tasas de crecimiento que los otros aislados.
- El aparato fotosintético es probablemente más sensible a las altas temperaturas, pero la adaptación fisiológica a la temperatura en cianobacterias es desconocido.

Archaeas termófilas

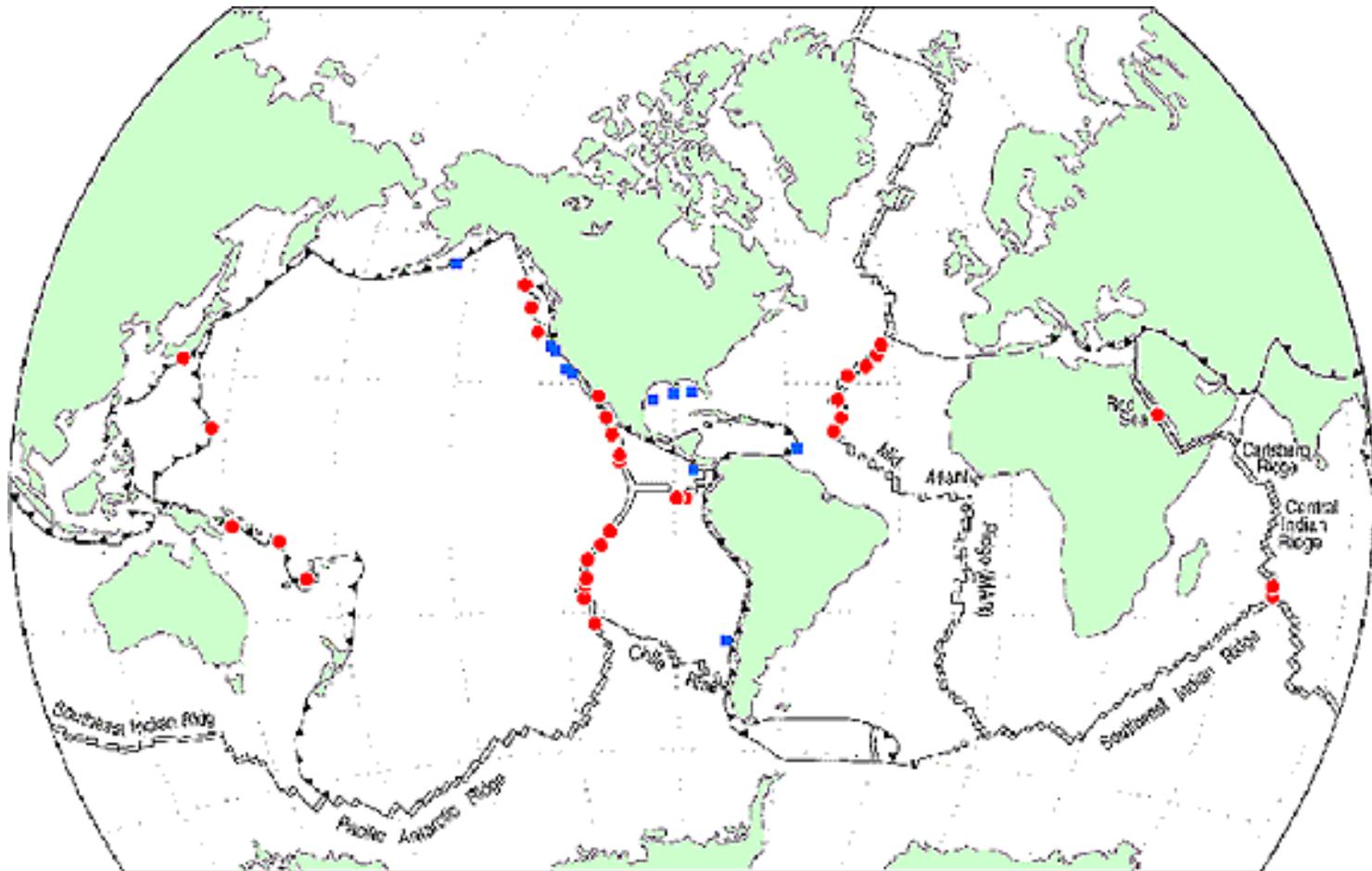


Korarchaeota

- Los más primitivos (cerca del ancestro)
- **No cultivados** (solo secuencias rRNA 16S)
- Hipertermófilos
- Habitats: “hot spring” ricos en Fe y S

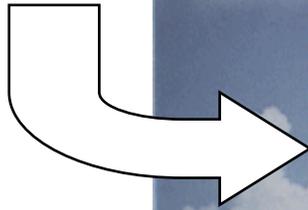


Volcanes submarinos



- **1960s:** geólogos predicen la existencia de “hot spots” submarinos
- **Desde 1977:** volcanes submarinos son directamente estudiados mediante submarinos “Alvin”

Alvin



CHIMENEAS LIBERANDO AGUA RICA EN SULFURO Y MINERAL A TEMPERATURAS DE 350°C

- Fluidos termales anaeróbicos en contacto con agua de mar fría y oxigenada precipitan sulfatos y sulfitos metálicos.
- Amplia gama de temperaturas.
- Tapetes microbianos con procariotas (bacterias y arqueas) y eucariotas



- Arqueas (Takai y Horikoshi, 1999) detectadas sólo en los respiraderos hidrotermales.
- Flagelados capaces de vivir a altas concentraciones de sulfuro de hidrógeno (30 mM) Ej. Ancyromonadida, Bicosoecida, Cercomonadida, Choanoflagellida, Chrysomonadida y Kinetoplastida (López-García et al., 2003)

Invertebrados (gusanos, almejas, etc) albergan simbiontes bacterias litótrofas oxidantes de compuestos de S



POGONÓFORO RIFIA

BACTERIAS QUIMIOLITÓTROFAS OXIDADORAS DE AZUFRE ASOCIADAS AL TEJIDO DE POGONÓFOROS

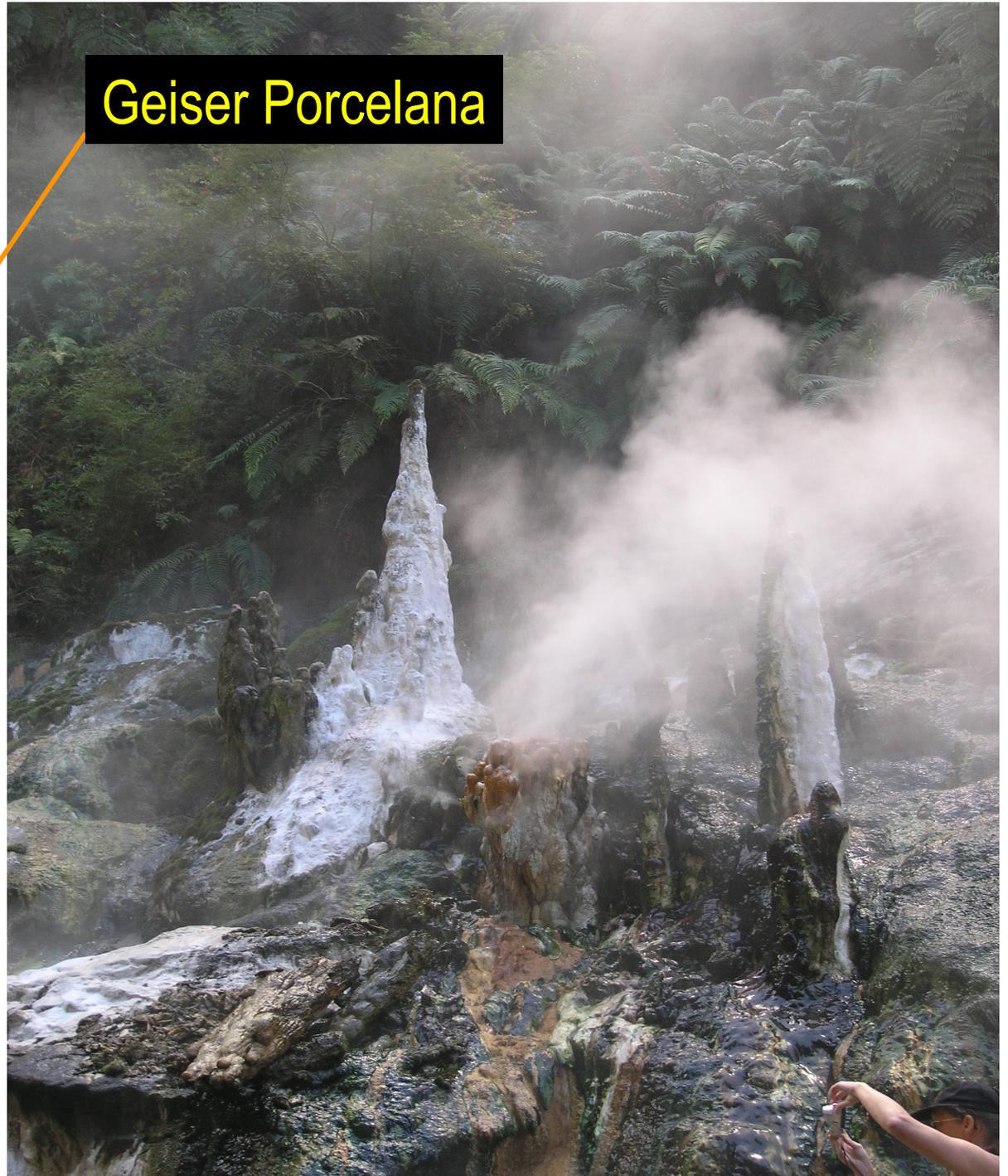


Project FONDECYT DIAZOSPRING

Ecology of diazotrophic
cyanobacteria in hot
springs along a latitudinal
gradient from Atacama to
Antarctica
(2011-2014)



Geiser Porcelana





El Tatio geyser field – II Región (4200m)



December 2010

Kroner lake, Deception Island (Antarctica - February 2013)



1. Bacterial diversity along temperature gradients



Roy Mackenzie (PhD)

2. Effects of temperature on nitrogen metabolism of thermophilic cyanobacteria: rates, strategies and gene expression



M. Estrella Alcamán (PhD)

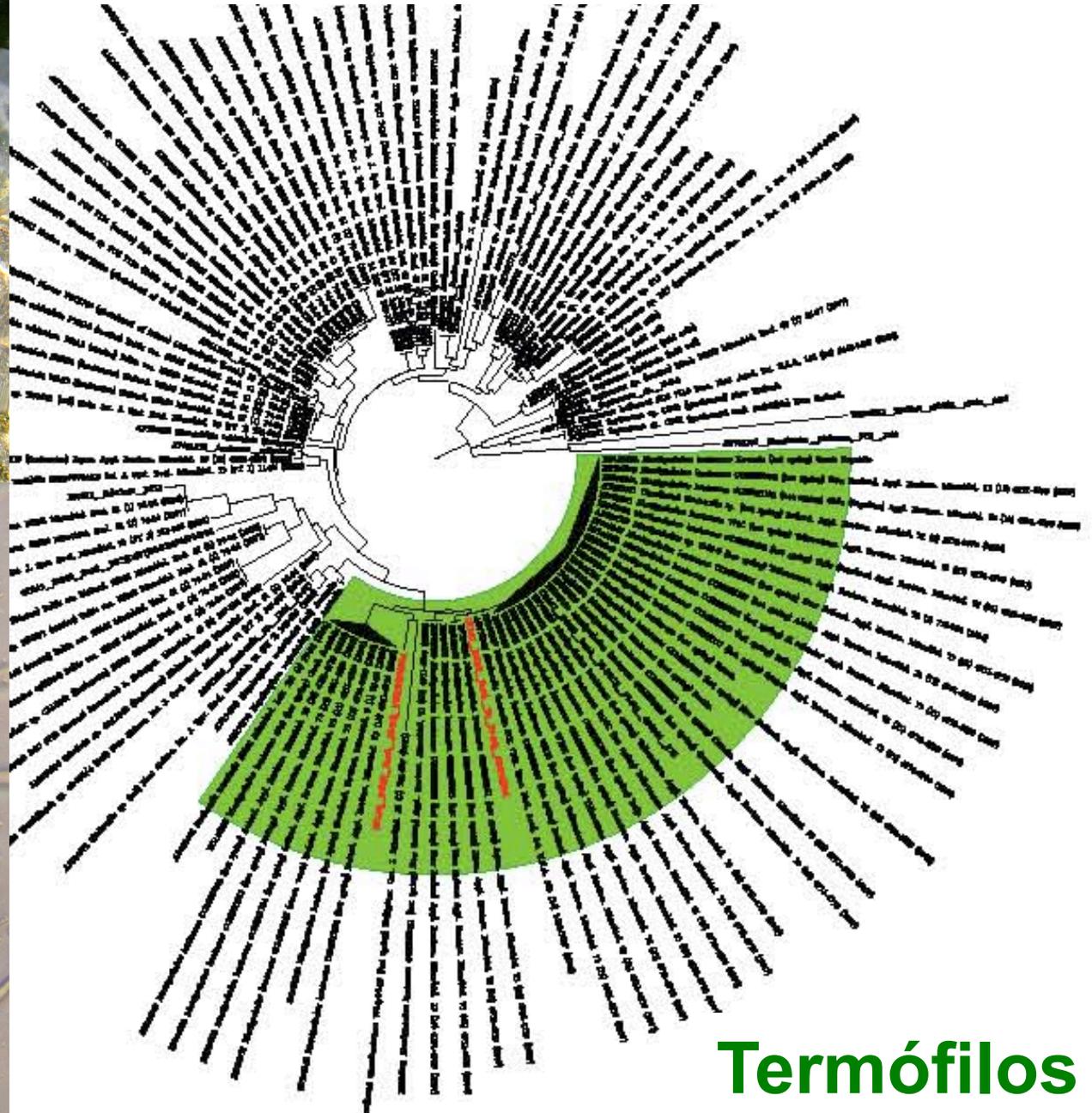
3. Thermophilic diazotrophic cyanobacteria group V: Genes and mechanisms of gene regulation of nitrogen metabolism



Tania Quiróz (PhD)



Modelo: *Mastigocladus* spp.



Termófilos



Muchas gracias!

Nati

Ricardo

Jaime

Sebastián

Roy

Estrella

Tania

Cynthia