



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS  
CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios

Cuernavaca, Morelos. 19 de enero de 2021

A Quien Corresponda,

Por este medio me permito hacer constar que la Dra. Marisela Aguirre Ramírez participó como Profesora Asociada a la materia de Astrobiología (Grupo O-4) impartida a través de la plataforma eUAEM con 6 horas/semana/mes correspondiente al ciclo especializado de la Licenciatura en Biología, durante el periodo del 07 de septiembre al 18 de diciembre de 2020.

Se extiende la presente a petición de la interesada para los usos y fines que a ella misma convengan.

A t e n t a m e n t e

“Por una humanidad culta”

Dra. Sandra I. Ramírez Jiménez

Profesora-Investigadora T. C.

Líder del Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios



Cuernavaca, Morelos. 18 de agosto de 2021

A Quien Corresponda,

Por este medio me permito hacer constar que la Dra. Marisela Aguirre Ramírez participó como Profesora Asociada a la materia de Astrobiología (Grupo O-4) impartida a través de la plataforma eUAEM con 6 horas/semana/mes correspondiente al ciclo especializado de la Licenciatura en Biología, durante el periodo del 21 de enero al 25 de junio de 2021.

Se extiende la presente a petición de la interesada para los usos y fines que a ella misma convengan.

Atentamente

“Por una humanidad culta”

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Sandra I. Ramirez Jimenez".

Dra. Sandra I. Ramírez Jiménez

Profesora-Investigadora T. C.

Líder del Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios

1 **Title:** The potential habitability of Europa's ocean

2

3 **Eya C. Rodríguez Pupo<sup>1,2</sup>, Daira G. Rubio Mendoza<sup>3</sup>, José J. Olmos-Espejel<sup>4</sup>, Perla Abigail**

4 **Figueroa González<sup>5</sup>, Josue Vázquez Herrera<sup>6</sup>, Marisela Aguirre-Ramírez<sup>7</sup>, and Sandra I.**

5 **Ramírez<sup>8\*</sup>**

6

7 <sup>1</sup>Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Mexico

8 <sup>2</sup>Centro de Investigación en Dinámica Celular, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Mexico

9 <sup>3</sup>Facultad de Medicina, Posgrado en Ciencias, Universidad Autónoma de Nuevo León, Mexico

10 <sup>4</sup>Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico

11 <sup>5</sup>Group for Aquatic Microbial Ecology, Environmental Microbiology and Biotechnology. University of  
12 Duisburg-Essen, Germany

13 <sup>6</sup>Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Mexico

14 <sup>7</sup>Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad  
15 Autónoma de Ciudad Juárez, Mexico

16 <sup>8\*</sup>Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Mexico

17 Av. Universidad #1001 Col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, Mexico

18 Phone number: +52 777 329 7997

19 Fax: +52 777 329 7998

20 ramirez\_sandra@uaem.mx

---

\*For correspondence. E-mail ramirez\_sandra@uaem.mx; Tel. (+52) 777 329 7997

<sup>1</sup> Av. Universidad #1001 Col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, Mexico

<sup>2</sup> Av. Universidad #1001 Col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, Mexico

<sup>3</sup> Av. Francisco I. Madero Pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro CP 64460, Monterrey, Nuevo León, Mexico

<sup>4</sup> Av. Primero de Mayo S/N, Santa María de Guadalupe Las Torres, CP 54740, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, Mexico

<sup>5</sup> Universitätsstraße 5, 45151, Essen, Germany

<sup>6</sup> Av. Universidad #1001 Col. Chamilpa, CP 62209, Cuernavaca, Morelos, Mexico

<sup>7</sup> Anillo Envolvente del Pronaf y Estocolmo s/n, Col. Foviste Chamizal, CP 31310, Ciudad Juárez, Chihuahua, Mexico



## The potential habitability of Europa's ocean

Journal:	<i>Environmental Microbiology and Environmental Microbiology Reports</i>
Manuscript ID	Draft
Journal:	Environmental Microbiology
Manuscript Type:	EMI - Special Issue Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Ramírez Jiménez, Sandra; Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Centro de Investigaciones Químicas
Keywords:	bacteria, extremophiles/extremophily, growth and survival



# Reunión de la Red Mexicana de Extremófilos



Popocatepetl e  
Iztaccihuatl



Laguna Salada  
Baja California



Extremófilo

---

## Taller Internacional de Organismos Extremófilos



**International Workshop of  
Extremophile Organisms:  
Preserving the Biodiversity,  
Cosmovision and Cultural Heritage  
of the Extreme Ecosystems  
and  
2d Meeting of the Mexican  
Association of Extremophiles**

**October 27th to 31th, 2020, Oaxaca,  
Oax.**

**Dirección del evento: Hotel Misión de los Angeles,  
Oaxaca, Oaxaca  
(Calz. Porfirio Díaz 102, Reforma, 68050 Oaxaca de  
Juárez, Oax.)**

---

## S2: 32\_Growth of *Bacillus subtilis* into chlorinated oxyanions seemingly Mars' brines conditions

---

Marisela Aguirre Ramírez<sup>1</sup>\*Sandra I. Ramírez Jiménez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio del CAC Biología Celular y Molecular. Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Envoltante del Pronaf y Estocolmo s/n, Ciudad Juárez, Chihuahua. <sup>2</sup>Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios. Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos.

\*marisela.aguirre@uacj.mx.

Liquid water is one of the essential requirements for life as we know it together with a source of chemical elements (including carbon) to build biomolecules useful for structure and maintenance, as well as a source of energy that promotes a redox metabolism. If a planetary object fulfills at least one of these requirements, it is identified as a habitable place.

Nowadays, the astrobiological interest on Mars is rising as the number of robotic and future manned missions can testify. Mars is the fourth planet in the Solar System, smaller than Earth (15% of its mass) with a gravity of only 38% of the terrestrial value. Its reddish color is due to a soil rich in iron oxide (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), but high concentrations of sodium (Na<sup>+</sup>), calcium (Ca<sup>2+</sup>), and magnesium (Mg<sup>2+</sup>) have been reported (1). Additionally, Martian polar caps contain icy water, and small amounts of steam water have been observed in its atmosphere (2). Recent observations evidence the existence of sulfate (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), chlorates (ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>), and perchlorates (ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>) brines that could be responsible for partial surface hydration (3).

With such a scenery, we are evaluating the growth of *Bacillus subtilis*, a mesophilic Gram-positive bacterium, in culture media modified with KClO<sub>3</sub>, NaClO<sub>3</sub>, NaClO<sub>4</sub> and Mg(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> at concentrations similar to those reported for the surface of Mars. *B. subtilis* is a good astrobiological model because it has been demonstrated that its spores resist the outer space conditions (4), and can grow when exposed to different NaCl or MgCl<sub>2</sub> concentrations (5). We propose that this halotolerant bacteria can also grow in the presence of chlorinated oxyanions due to the expression of the HemHYQ complex, homologous to the chlorite dismutases described in other biological groups (6).

## Growth of *Bacillus subtilis* into chlorinated oxyanions seemingly Mars' brines conditions

Marisela Aguirre Ramírez<sup>1\*</sup> and Sandra I. Ramírez Jiménez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio del CAC Biología Celular y Molecular. Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Envoltante del Pronaf y Estocolmo s/n, Ciudad Juárez, Chihuahua

<sup>2</sup>Laboratorio de Simulación de Ambientes Planetarios. Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos.

\*marisela.aguirre@uacj.mx



The planet Mars. NASA-JPL

Mass (kg)	$6.4 \times 10^{23}$ (0.017 Earth)
Equatorial radius (km)	$3.4 \times 10^3$ (0.533 Earth)
Rotation period (h)	24.623
Mean Surface tempertaure (K)	210
Liquid water	(Per)chlorate brines on the surface. Pounds detected by radar at 1.5 km under the surface
Energetic processes	Chemolithotrophy, chemoorganotrophy, fermentation(?) depending on the concentration of organics

## 1. Introduction

Liquid water is one of the essential requirements for terrestrial life together with a source of chemical elements to build biomolecules useful for structure and maintenance, as well as a source of energy that promotes a redox metabolism.

If a planetary object fulfills at least one of these requirements, it is identified as a habitable place in the Solar System. Nowadays, the astrobiological interest on Mars is rising as the number of robotic and future manned missions can testify. Recent observations evidence the existence of sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), chlorates ( $\text{ClO}_3^-$ ), and perchlorates ( $\text{ClO}_4^-$ ) brines that could be responsible for partial surface hydration (Glavin et al., 2013; Ojha et al., 2015).

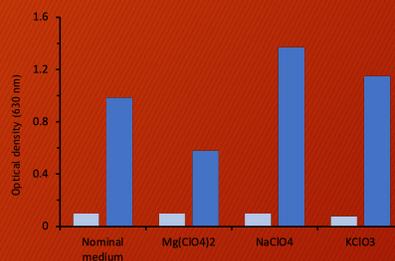
With such a scenery, we are interested in evaluating the growth of *Bacillus subtilis*, a mesophilic Gram-positive bacterium, in culture media modified with  $\text{KClO}_3$ ,  $\text{NaClO}_4$  and  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  and also under a low-oxygen atmospheric regime as the first step aimed to develop a systematic study to investigate the capabilities of terrestrial bacterial life, as an extremophilic model, to survive into different conditions that mimic the surface and sub-surface of the planet Mars.

## 2. Methods

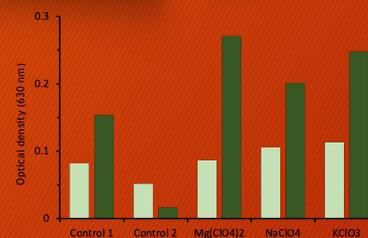
*Bacillus subtilis* was grown in nominal medium (5 g peptone and 3 g yeast extract per liter), as well as in medium modified with 0.15 M  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ , 0.6 M  $\text{NaClO}_4$ , and 0.6 M  $\text{KClO}_3$ . Inoculation was done in a 1:10 ratio into 50-mL flasks. Incubation was performed at 36 °C, and 150 rpm. Bacterial growth was monitored as changes in the optical density at 630 nm ( $\text{OD}_{630}$ ) at regular time intervals using a UV-Vis spectrophotometer until the stationary phase was reached.

Bacterial growth was also verified under anaerobic conditions using resazurin as an indicator of metabolic activity.

## 3. Results



**Figure 1.** Growth of *Bacillus subtilis*, after 72 hours, in nominal medium, 0.15 M  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ , 0.6 M  $\text{NaClO}_4$ , and 0.6 M  $\text{KClO}_3$  at 36 °C, and 150 rpm. The initial  $\text{OD}_{630}$  is shown in all conditions (light blue).



**Figure 2.** Growth of *Bacillus subtilis*, after 96 hours, at anaerobic conditions in nominal medium, 0.15 M  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ , 0.6 M  $\text{NaClO}_4$ , and 0.6 M  $\text{KClO}_3$  at 36 °C, and 150 rpm. The initial  $\text{OD}_{630}$  is shown in all conditions (light green).

## 4. Conclusions

Bacterial growth was observed, at the defined concentrations, in the presence of perchlorates and chlorates as those detected on the surface of Mars. In the presence of 20%  $\text{O}_2$ , the higher growth was observed at 0.6 M  $\text{NaClO}_4$ , while at anaerobic conditions it was observed at 0.15 M  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ .

*B. subtilis* is a good astrobiological model as its spores resist the outer space conditions (Cockell et al., 2016). Under the light of our results, it can also be proposed as a halotolerant bacterium to chlorinated oxyanions. Further studies related to the expression of the HemHYQ complex, homologous to the chlorite dismutases described by other biological groups (Mielcarek, et al., 2015), are under development.

## 5. References

- Glavin DP et al. 2013. J. Geophysical Research: Planets. 118(10): 1955-1973.
- Ojha, L., et al. 2015. Nature Geoscience 8: 829-833
- Cockell CS et al. 2016. Astrobiology. 16(1): 89-117.
- Mielcarek A. et al. 2015. PLoS ONE. 10(3): e0122538

## 6. Acknowledgements

To the AEM-CONACYT program under grant A3-S-65162.

# CERTIFICATE OF PARTICIPATION

TO:

**Marisela Aguirre Ramírez, Sandra I. Ramírez Jiménez**

For its Poster presentation:

**“Growth of *Bacillus subtilis* into chlorinated oxyanions seemingly Mars’ brines conditions”**

in the International Workshop “Extreme Organisms: Diversity preservation, Cosmovation and Cultural Heritage of Extreme Ecosystems”

**October 27th to 31th, 2020, Oaxaca, Oax.**



---

**Dr. María del Rayo Sánchez Carbente**  
Organizing committee



---

**Dr. Ramón Alberto Batista García**  
Organizing committee

## Caracterización de solutos compatibles de bacterias extremófilas mediante RMN

Ramírez Jiménez, Sandra I.\*, Aguirre Ramírez, Marisela

### INTRODUCCIÓN

La resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica espectroscópica utilizada en la identificación química de moléculas que contienen núcleos magnéticamente activos. Si se utiliza un estándar interno, permite realizar estudios cuantitativos para estimar la concentración de las moléculas identificadas [1]. Entre las diversas moléculas que se pueden identificar y cuantificar mediante RMN se encuentran los solutos compatibles que acumulan algunos microorganismos extremófilos.

La resonancia magnética nuclear cuantitativa (RMNc) se puede realizar analizando núcleos de hidrógeno ( $^1\text{H}$ ), de carbono-13 ( $^{13}\text{C}$ ) y de nitrógeno-15 ( $^{15}\text{N}$ ), aunque la más utilizada es la que analiza núcleos de hidrógeno ( $^1\text{H}$  RMNc) debido a que el  $^1\text{H}$  tiene una abundancia natural superior a 99%. Algunos de los requisitos necesarios para que una molécula sea cuantificable por  $^1\text{H}$  RMNc es que necesita generar al menos una señal intensa y aislada de otras, que sea preferentemente un singulete, es decir una señal que no presente multiplicidad. Es deseable que la mayoría de las señales de la molécula de interés no se traslapen con otras señales presentes en la muestra bajo estudio y se debe realizar un mínimo de 128 barridos o recolección de información, para la obtención de un espectro que permita realizar estimaciones cuantitativas. Para realizar la cuantificación, es necesario utilizar un estándar interno de alta pureza con una concentración conocida que genere señales que no interfieran con las señales de la molécula de interés [2]. El método aquí descrito se ha empleado exitosamente en la identificación y cuantificación de los solutos compatibles que transportan y/o producen bacterias halotolerantes y halófilas al exponerse a altas concentraciones de sales sulfatadas, semejantes a las reportadas para el océano de agua líquida del satélite Europa [3].

### MATERIALES Y EQUIPO

MATERIALES	NECESARIO
Centrífuga	1
Tubos Falcón	10
Estufa	1
Caja Petri	5
Balanza analítica	1
Mortero de ágata con pistilo	1

## Estrategias de adaptación de organismos extremófilos ante oxianiones clorados en ambientes simulados de Marte

Sandra Ignacia Ramírez Jiménez<sup>1</sup> y Marisela Aguirre Ramírez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

El planeta Marte es uno de los lugares más estudiados del sistema solar. Las antiguas civilizaciones lo observaban a simple vista y asociaron su distintivo color rojo con el dios romano de la guerra. El sobrevuelo que la nave *Mariner 4* realizó alrededor de Marte en 1965, permitió capturar las primeras fotografías de su superficie revelando la existencia de cráteres, una atmósfera delgada y hielo, probablemente de agua, en los casquetes polares. Motivadas por la idea de que en algún momento de su historia geológica Marte pudo haber albergado vida microscópica, las agencias espaciales de varios países prepararon misiones de exploración para conocerlo con mayor detalle, entre ellos se cuentan la extinta Unión Soviética, Estados Unidos de Norteamérica, Japón, la Unión Europea, Rusia, India y más recientemente los Emiratos Árabes Unidos y China. La Administración Nacional de Aeronáutica y el Espacio de los EEUU (NASA por *National Aeronautics and Space Administration*) mantiene la hegemonía en cuanto a las misiones que han logrado amartizar, es decir posarse exitosamente sobre la superficie del planeta rojo, comenzando con la nave *Viking 1* (20 de julio de 1976), hasta la nave *Perseverance* (18 de febrero de 2021). La información colectada por las misiones de exploración espacial permite conocer aspectos relevantes de Marte. Por ejemplo, su temperatura puede disminuir hasta -143 grados centígrados (°C) pero durante el día puede ser cercana a los 35° C, la presión atmosférica sobre su superficie es un poco menor al 1% de la presión atmosférica de la Tierra, cuyo valor estándar es de 1 atmósfera. Estas dos condiciones hacen imposible la existencia de agua líquida sobre la actual superficie de Marte, lo cual es una dificultad para la idea de la existencia de vida en ese planeta ya que uno de los requisitos fundamentales y absolutamente necesarios para todos los seres vivos es la disponibilidad de agua líquida.

Algunas evidencias de erosión fluvial visualizadas en Marte como canales, cañones y deltas; así como la identificación de minerales como la hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) o la jarosita ( $\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6$ ) cuya formación únicamente puede ocurrir en presencia de agua, permiten hacer inferencias sobre el pasado de este planeta indicando que hace al menos 3.8 miles de millones de años, la superficie de

# Actividades de investigación y extensión: Participación en la celebración del 25 Aniversario del Centro de Investigaciones Químicas, UAEM

← Tweet



CIQUAEM @CIQUAEM · 18 mar.

🔴 Inscríbete y participa en la sesión de carteles virtuales para celebrar el 25 Aniversario del CIQ.

Todos los trabajos son bienvenidos

📅 La fecha límite es el 21 de abril en [forms.gle/awTALDo8MjW86p9Q9](https://forms.gle/awTALDo8MjW86p9Q9)

✅ Dirigido a todos los estudiantes e investigadores en el área de química.

25 ANIVERSARIO 1966-2021

Centro de Investigaciones Químicas  
Invita a

SESIÓN DE CARTELES  
VÍA TWITTER

3 de mayo, 2021  
8:00 a 17:00 h  
#25CIQ

Regístrate en:

Fecha límite de registro  
21 de abril

https://forms.gle/awTALDo8MjW86p9Q9

@CIQUAEM

https://www.ciquaem.mx/



Halotolerantes @halotolerantes · 3 may.

¡Buenos días! 🙌 @CIQUAEM

#25CIQ #QFA #QFA28 #Marte #Percloratos #Cloratos #Bacillus subtilis #Bacillus pumilus #Pseudomonas stutzeri #Extremofilos #Halotolerantes #Habitabilidad

### Cloratos y percloratos, ¿amigos o enemigos de las bacterias halotolerantes?

Marisela Aguirre<sup>1</sup>, Pável Martínez<sup>2</sup>, Víctor López<sup>3</sup> y Sandra Ramírez<sup>3\*</sup>  
\*ramirez\_sandra@uaem.mx

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, UAEM; <sup>2</sup>Instituto de Geología, UNAM; <sup>3</sup>Centro de Investigaciones Químicas, UAEM

#### Introducción

Las sales de cloratos ( $\text{ClO}_2^-$ ) y percloratos ( $\text{ClO}_4^-$ ) de la superficie de Marte (0.6% p/v) hacen plausible un escenario habitable por la prevalencia de agua líquida. Bacterias terrestres como *Bacillus subtilis*, *B. pumilus* y *Pseudomonas stutzeri* poseen enzimas especializadas en metabolizar percloratos. ¿Pueden estas bacterias tolerar un ambiente marciano?

#### Metodología

Cultivos bacterianos: *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas stutzeri*  
Cadena nutritiva: Cabelo-Luna y  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.35 M  
AgNO<sub>3</sub> (0.03 M),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (pH 7.8 (NaClO<sub>2</sub>))

0:03 | 312 reproducciones

#### Resultados

**a** Ruta bioquímica para la reducción disimilatoria de perclorato (a). Formación de biopelículas en cultivo de *B. subtilis* (b).

**b** *B. subtilis* sobreviviendo a los oxianiones

#### Conclusiones

*B. subtilis*, *B. pumilus* y *P. stutzeri* resultaron ser tolerantes a 0.25 M y 0.35 M de  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ , en anaerobiosis durante 48 horas. La detección de cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) indicaría que ocurre la reducción del  $\text{ClO}_4^-$ . La acidificación parece indicar que si  $t > 5$  días, las bacterias prefieren metabolizar su medio de cultivo.

#### Tabla 1. Densidad óptica (630 nm) de los cultivos bacterianos en dos distintas concentraciones de $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ .

Bacteria	[0.25 M]			[0.35 M]		
	Inicial	máxima	final	Inicial	máxima	final
<i>B. subtilis</i>	0.103	0.17	0.1	0.111	0.183	0.112
<i>B. pumilus</i>	0.089	0.158	0.151	0.106	0.156	0.12
<i>P. stutzeri</i>	0.107	0.153	0.079	0.131	0.143	0.063

#### Tabla 2. Concentración de cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) y valor de pH para *B. pumilus* y *B. subtilis*.

Bacteria	$[\text{ClO}_4^-]$ (M)	$[\text{Cl}^-]$ (M)	pH	t (h)
<i>B. pumilus</i>	0.25	0.005	6.07	0
		0.077	6.36	48
	0.35	0.026	6.05	0
<i>B. subtilis</i>		0.027	6.26	48
	0.25	-	6.70	0
	0.35	-	6.55	124

8 16 29

Mostrar este hilo

# Cloratos y percloratos, ¿amigos o enemigos de las bacterias halotolerantes?



Marisela Aguirre<sup>1</sup>, Pável Martínez<sup>2</sup>, Víctor López<sup>1</sup> y Sandra Ramírez\*<sup>3</sup>

\*ramirez\_sandra@uaem.mx

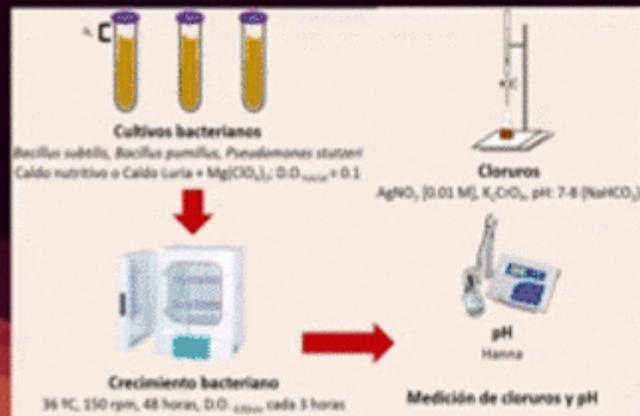
<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, UACJ; <sup>2</sup>Instituto de Geología, UNAM; <sup>3</sup>Centro de Investigaciones Químicas, UAEM



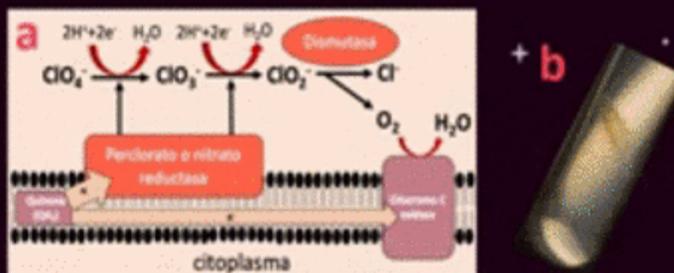
## Introducción

Las sales de **cloratos** ( $\text{ClO}_3^-$ ) y **percloratos** ( $\text{ClO}_4^-$ ) de la superficie de **Marte** (0.6% p/v) hacen plausible un escenario habitable por la prevalencia de agua líquida. Bacterias terrestres como *Bacillus subtilis*, *B. pumilus* y *Pseudomonas stutzeri* poseen enzimas especializadas en metabolizar percloratos. ¿Pueden estas bacterias tolerar un ambiente marciano?

## Metodología



## Resultados



Ruta bioquímica para la reducción disimilatoria de perclorato (a). Formación de biopelículas en cultivo de *B. subtilis* (b).

**Tabla 1.** Densidad óptica (630 nm) de los cultivos bacterianos en dos distintas concentraciones de  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ .

Bacteria	[0.25 M]			[0.35 M]		
	D.O. 630nm			D.O. 630nm		
	inicial	máxima	final	inicial	máxima	final
<i>B. subtilis</i>	0.103	0.17	0.1	0.111	0.183	0.112
<i>B. pumilus</i>	0.089	0.158	0.151	0.106	0.156	0.12
<i>P. stutzeri</i>	0.107	0.153	0.079	0.131	0.143	0.063

**Tabla 2.** Concepción de cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) y valor de pH para *B. pumilus* y *B. subtilis*.

Bacteria	$[\text{ClO}_4^-]$ (M)	$[\text{Cl}^-]$ (M)	pH	t (h)
<i>B. pumilus</i>	0.25	0.006	6.07	0
		0.077	6.36	48
	0.35	0.026	6.05	0
		0.027	6.25	48
<i>B. subtilis</i>	0.25	-	6.70	0
		-	5.55	134
		-	6.40	0
	0.35	-	5.70	134



## Conclusiones

*B. subtilis*, *B. pumilus* y *P. stutzeri* resultaron ser tolerantes a 0.25 M y 0.35 M de  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  en anaerobiosis durante 48 horas. La detección de cloruro ( $\text{Cl}^-$ ) indicaría que ocurre la reducción del  $\text{ClO}_4^-$ . La acidificación parece indicar que si  $t > 5$  días, las bacterias prefieren metabolizar su medio de cultivo.

Agradecimientos: Proyecto CONACYT número 377887. Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la UACJ por las facilidades otorgadas para el desarrollo experimental.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

a través del

CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS



otorga la presente

*Constancia*

a:

**Sandra I. Ramírez Jiménez, Marisela Aguirre Ramírez,  
Pável U. Martínez Pabello y Víctor A. López Ruiz**

Por su participación en el Cartel Virtual titulado:

**“Cloratos y percloratos ¿amigos o enemigos de las bacterias  
halotolerantes?”**

En el marco de la celebración del 25 Aniversario del CIQ llevado a cabo en la modalidad virtual  
el 3 de mayo del 2021

**Por una humanidad culta  
una Universidad de excelencia**

---

Dr. Víctor Barba López  
Encargado de Despacho la Dirección del CIQ



Instituto de  
Investigación en  
Ciencias  
Básicas y  
Aplicadas

# MEMORIAS

## III CONGRESO LATINOAMERICANO DE ASTROBIOLOGÍA

### MÉXICO, 2021



**C3-03. TOLERANCIA DE *Bacillus pumilus* A PERCLORATOS: IMPLICACIONES EN LA HABITABILIDAD DE MARTE**

Marisela Aguirre R.<sup>1</sup>, Pável U. Martínez P.<sup>2</sup>, Víctor A. López R.<sup>1</sup>, Sandra I. Ramírez J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, UACJ; <sup>2</sup>Instituto de Geología, UNAM;

<sup>3</sup>Centro de Investigaciones Químicas, UAEM

marisela.aguirre@uacj.mx

En 2009 la misión *Phoenix* identificó al ion perclorato ( $\text{ClO}_4^-$ ) en el ártico marciano en concentraciones de ~0.6 % p/v (~0.23 M) (1). El orbitador *Mars Reconnaissance* y el robot *Curiosity* también observaron la presencia de este oxianión en 2013 y 2015, haciendo suponer que se encuentra distribuido globalmente en el planeta (2, 3). El carácter higroscópico de las sales de perclorato puede facilitar la existencia de agua líquida por cortos periodos de tiempo sobre la superficie de Marte, aún en sus actuales condiciones de presión y temperatura, haciendo factible la existencia de algún nicho habitable. Recientemente el radar *MARSIS* del orbitador *Mars Express*, evidenció la presencia de cuerpos masivos de agua en el subsuelo de Marte (4), adelantando que es probable la existencia de salmueras con concentraciones importantes de percloratos.

Algunas especies del género *Bacillus* pueden crecer en presencia de distintas sales de perclorato (5) convirtiéndose en candidatas ideales para investigar su supervivencia bajo condiciones similares a las de la superficie de Marte. En el presente proyecto de investigación se determinó si *B. pumilus* crece en medios ricos suplementados con acetato de sodio ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) como donador de electrones y perclorato de magnesio ( $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ ) como aceptor final en anaerobiosis. La cepa H2 de *B. pumilus* se cultivó en 8.0 mL de caldo nutritivo suplementado con distintas concentraciones de  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  y de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  en anaerobiosis, condición alcanzada al desplazar el oxígeno molecular ( $\text{O}_2$ ) con un flujo de nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ) ultrapuro. El crecimiento bacteriano se determinó por espectrofotometría mediante cambios en la densidad óptica a 630 nm ( $\text{DO}_{630\text{nm}}$ ) durante 48 horas. Además, se determinó la concentración de cloruros ( $\text{Cl}^-$ ) por titulación con nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ).

*B. pumilus* mostró cambios moderados en la  $\text{DO}_{630\text{nm}}$  indicativo de su tolerancia a las condiciones de anaerobiosis y a la presencia de  $\text{ClO}_4^-$ . Sin embargo, la adición de  $\text{CH}_3\text{COONa}$  no favorece la tolerancia ni la metabolización de  $\text{ClO}_4^-$ . Tampoco se detectaron cambios en la concentración de  $\text{Cl}^-$  en las distintas condiciones ensayadas. La tolerancia de *B. pumilus* a altas concentraciones de  $\text{ClO}_4^-$  puede relacionarse con la potencial habitabilidad de la superficie del planeta Marte.

**Agradecimientos:** Proyecto CONACYT número 377887.

**Referencias**

1. M. H. Hecht et al., Science 325, 64-67 (2009).
2. D. Glavin et al., J. Geophys. Res. Planets 118, 1955–1973 (2013).
3. L. Ojha et al., Nature Geosciences 8, 829-832 (2015).
4. R. Orosei et al., Science 361, 490-493 (2018).
5. A. A. Smith et al., Astrobiology 17, 253-265 (2017).



# TOLERANCIA DE *Bacillus pumilus* A PERCLORATOS: IMPLICACIONES EN LA HABITABILIDAD DE MARTE

Marisela Aguirre<sup>1</sup>, Pável Martínez<sup>2</sup>, Víctor López<sup>1</sup> y Sandra I. Ramírez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biomédicas, UACJ; <sup>2</sup>Instituto de Geología, UNAM; <sup>3</sup>Centro de Investigaciones Químicas, UAEM  
marisela.aguirre@uacj.mx



## INTRODUCCIÓN

El ion perclorato ( $\text{ClO}_4^-$ ) se encuentra distribuido globalmente en la superficie de Marte en concentraciones de 0.6% p/v (0.23 M) (1, 2 y 3). En las condiciones actuales del planeta, las sales de perclorato pueden favorecer la existencia de agua en estado líquido. Recientemente el orbitador *Mars Express* evidenció la presencia de cuerpos masivos de agua líquida en el subsuelo de Marte (4). Estas salmueras pueden ser consideradas un nicho potencialmente habitable.

Algunas especies del género *Bacillus* pueden crecer en presencia de distintas sales de perclorato (5) convirtiéndose en candidatas ideales para investigar su supervivencia bajo condiciones similares a las de Marte. Entender los mecanismos mediante los cuales las bacterias incorporan al perclorato en su metabolismo y se adaptan a un medio hipersalino, nos ayudará a dilucidar una potencial actividad microbiana en Marte. Por otro lado, la degradación biológica de percloratos resulta en la producción de agua (Fig. 1), recurso importante en la exploración de Marte.

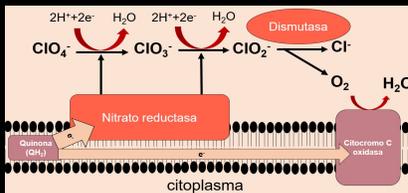


Figura 1. Posible reducción disimilatoria de perclorato por *Bacillus* sp.

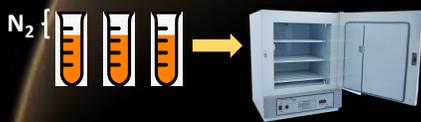
## OBJETIVO

Evidenciar un metabolismo para el perclorato de magnesio en condiciones de anaerobiosis por *Bacillus pumilus* utilizando acetato de sodio como donador de electrones.

## MÉTODOS

acetato / perclorato	-	0/0.25	0/0.35	0.02/0.01	0.02/0.25	0.25/0.25	0.5/0.25

## Cultivos bacterianos



## Condiciones de cultivo:

DO<sub>630nm</sub> inicial: 0.1, cultivos anaerobios ( $\text{N}_2$ ) en caldo nutritivo suplementado con distintas concentraciones de  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$  y/o  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (Tabla 1).  
T = 36 °C, 150 rpm, 48 h.

## MÉTODOS

### Determinación indirecta de cambios metabólicos



Cuantificación de cloruros ( $\text{Cl}^-$ ) por el método de Mohr ( $\text{AgNO}_3$  0.01M,  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  al 5% como indicador) al inicio y al final de la incubación bacteriana.

## RESULTADOS

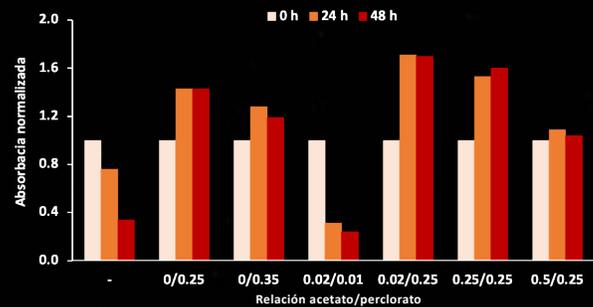


Figura 2. Crecimiento de *Bacillus pumilus* en distintas relaciones de perclorato de magnesio y acetato de sodio.

Concentraciones	0.02/0.01	0.02/0.25	0.25/0.25
tiempo			
	Cl <sup>-</sup> [M]		
0 h	0.009	0.011	0.015
120 h	0.003	0.01	0.008
	pH		
0 h	7.05	6.63	7.14
120 h	6.22	5.82	6.42

## CONCLUSIONES

La tolerancia de *B. pumilus* a altas concentraciones de perclorato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ) aparentemente no depende de la respiración anaerobia sino de una fermentación moderada del anión acetato. Los organismos anaerobios facultativos podrían tolerar las concentraciones reportadas para el anión perclorato en la actual superficie de Marte.

## REFERENCIAS

- (1) Hecht et al., *Science* 325, 64-67 (2009).
- (2) Glavin et al., *J. Geophys. Res. Planets* 118, 1955-1973 (2013).
- (3) Ojha et al., *Nature Geosciences* 8, 829-832 (2015).
- (4) Orosei et al., *Science* 361, 490-493 (2018).
- (5) Smith et al., *Astrobiology* 17, 253-265 (2017).

## AGRADECIMIENTOS

Proyecto CONACYT 377887. Laboratorio de Biología Celular y Molecular de la UACJ.

# III CONGRESO LATINOAMERICANO DE ASTROBIOLOGÍA

Dedicado a la memoria del Dr. Rafael Navarro-González

La **Sociedad Mexicana de Astrobiología**

otorga la presente constancia a:

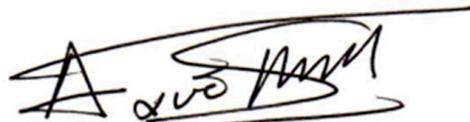
**Marisela Aguirre R., Pável U. Martínez P., Víctor A. López R.  
y Sandra I. Ramírez**

por la presentación en cartel

**TOLERANCIA DE *BACILLUS PUMILUS* A PERCLORATOS:  
IMPLICACIONES EN LA HABITABILIDAD DE MARTE**

en el **III Congreso de Astrobiología**

llevado a cabo de forma virtual del 3 al 6 de agosto de 2021.



Dra. Antígona Segura Peralta  
Presidenta  
Sociedad Mexicana de Astrobiología

# III CONGRESO LATINOAMERICANO DE ASTROBIOLOGÍA

Dedicado a la memoria del Dr. Rafael Navarro-González

La **Sociedad Mexicana de Astrobiología**  
otorga la presente constancia a:

**Marisela Aguirre**

Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

por su asistencia al **III Congreso de Astrobiología**  
llevado a cabo de forma virtual del 3 al 6 de agosto de 2021.



Dra. Antígona Segura Peralta  
Presidenta  
Sociedad Mexicana de Astrobiología