



FILOGENIA DE LOS SERES VIVOS: DOMINIO ARCHAEA

Nuria Garzón Pinto

**Facultad de Farmacia
Universidad de Sevilla**

Septiembre de 2017



FILOGENIA DE LOS SERES VIVOS: DOMINIO ARCHAEA

TRABAJO FIN DE GRADO

Nuria Garzón Pinto

Tutores: Antonio Ventosa Ucero y Cristina Sánchez-Porro Álvarez

Tipología del trabajo: Revisión bibliográfica

Grado en Farmacia. Facultad de Farmacia

Departamento de Microbiología y Parasitología (Área de Microbiología)

Universidad de Sevilla

Sevilla, septiembre de 2017

RESUMEN

A lo largo de la historia, la clasificación de los seres vivos ha ido variando en función de las diversas aportaciones científicas que se iban proponiendo, y la historia evolutiva de los organismos ha sido durante mucho tiempo algo que no se lograba conocer con claridad. Actualmente, gracias sobre todo a las ideas aportadas por Carl Woese y colaboradores, se sabe que los seres vivos se clasifican en 3 dominios (*Bacteria*, *Eukarya* y *Archaea*) y se conocen las herramientas que nos permiten realizar estudios filogenéticos, es decir, estudiar el origen de las especies. La herramienta principal, y en base a la cual se ha realizado la clasificación actual es el ARNr 16S. Sin embargo, hoy día se dispone de otros métodos que ayudan o complementan los análisis de la evolución de los seres vivos.

En este trabajo se analiza cómo surgió el dominio *Archaea*, se describen las características y aspectos más importantes de las especies de este grupo y se compara con el resto de dominios (*Bacteria* y *Eukarya*). Las arqueas han despertado un gran interés científico y han sido investigadas sobre todo por su capacidad para adaptarse y desarrollarse en ambientes extremos. En base a este aspecto, independientemente de su clasificación taxonómica, se conocen 4 grupos importantes de arqueas extremófilas: haloarqueas, arqueas metanógenas, arqueas hipertermófilas y arqueas acidófilas extremas. Todas ellas poseen un gran potencial industrial en diferentes campos que puede ser aprovechado por los seres humanos (medio ambiente, bioquímica, farmacología, industria minera, etc...). Por este motivo, las arqueas son un interesante objeto de estudio, ya que aún queda mucha información por conocer sobre estos microorganismos.

Palabras clave: *Archaea*, filogenia, arqueas, ARNr 16S, metanógenos, haloarqueas, extremófilos.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
3. METODOLOGÍA.....	3
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4.1. Filogenia molecular.....	6
4.2. Características de las arqueas.....	10
4.3. Clasificación de las arqueas	12
4.4. Haloarqueas	16
4.5. Arqueas metanógenas	19
4.6. Arqueas hipertermófilas	23
4.7. Arqueas acidófilas extremas.....	25
4.8. Aplicaciones biotecnológicas de las arqueas.....	27
5. CONCLUSIONES	30
6. BIBLIOGRAFIA	31

1. INTRODUCCIÓN

La Tierra tiene unos 4600 millones de años. Al principio solo existían microorganismos con metabolismo anaerobio ya que la atmósfera no tenía oxígeno. Los fotótrofos anoxigénicos (organismos que captan la energía de la luz solar y no liberan oxígeno) fueron los primeros organismos en aparecer en nuestro planeta.

La atmósfera comenzó a oxigenarse unos mil millones de años después, con la aparición de las cianobacterias, que son organismos fotótrofos que sí liberan oxígeno. Este hecho provocó que aparecieran nuevas formas de vida multicelulares que fueron evolucionando hasta dar lugar a las plantas y animales (Sánchez-Santillán et al., 2014).

En el año 1859, tras la publicación del libro “El origen de las especies” de Charles Darwin, se comenzó a investigar sobre la historia evolutiva de los seres vivos y durante más de cien años principalmente se obtuvo información a partir del examen de fósiles y mediante la comparación de los rasgos de los organismos vivos. Pero este método no resultó satisfactorio para explicar la evolución de los microorganismos, ya que la mayoría no dejan fósiles tras de sí y sus rasgos morfológicos proporcionan poca información sobre sus antepasados.

En 1866, Ernst Haeckel hizo una gran aportación en la clasificación de los seres vivos llamando Monera a los organismos unicelulares y sugiriendo que eran antepasados de otras formas de vida (Kutschera, 2016).

Posteriormente, Robert Harding Whittaker en 1969 creó un sistema de cinco reinos basándose en sus características estructurales: Monera (que incluye a los procariotas), Protista (organismos eucariotas unicelulares), Plantae (eucariotas pluricelulares fotosintéticos), Fungi (eucariotas pluricelulares que obtienen su alimento por absorción) y Animalia (organismos invertebrados, excepto protozoos, y los vertebrados) (Hickman et al., 2006). Sin embargo, aún seguían sin resolverse las relaciones evolutivas entre la mayoría de los microorganismos.

Carl Woese y colaboradores dieron un giro conceptual en la década de 1970, tras el descubrimiento de la estructura del ADN, llegando a la conclusión de que la historia evolutiva está registrada en el ADN. Propusieron la clasificación de los seres vivos en tres

dominios: *Archaea*, *Bacteria* y *Eukarya*, basándose en la utilización de la subunidad menor del ARN ribosómico (ARNr 16S) como marcador filogenético (Woese et al., 1990). *Archaea* y *Bacteria* contienen a los microorganismos procariotas y *Eukarya* a los eucariotas. Los ARN ribosómicos (ARNr) forman parte de los ribosomas y son esenciales para la síntesis de proteínas en el proceso de traducción. Woese comparó las secuencias de las moléculas de ARNr de la subunidad pequeña de muchos microorganismos y observó que había un nuevo grupo de especies cuyas secuencias eran muy diferentes a las de bacterias y eucariotas. A este nuevo grupo lo denominó *Archaea* (originariamente *Archaeobacteria*) y así surgió el que hoy conocemos como el tercer dominio de la vida (Madigan et al., 2015).

Woese demostró que la observación de los genes que codifican los ARNr ofrece una gran información sobre las relaciones evolutivas de los seres vivos. Esta idea ha permitido construir el primer árbol universal de la vida (Figura 1), un diagrama que representa la historia evolutiva y nos permite establecer hipótesis sobre las características de un organismo, ya que las especies que comparten un antepasado común probablemente también compartirán algunas características.

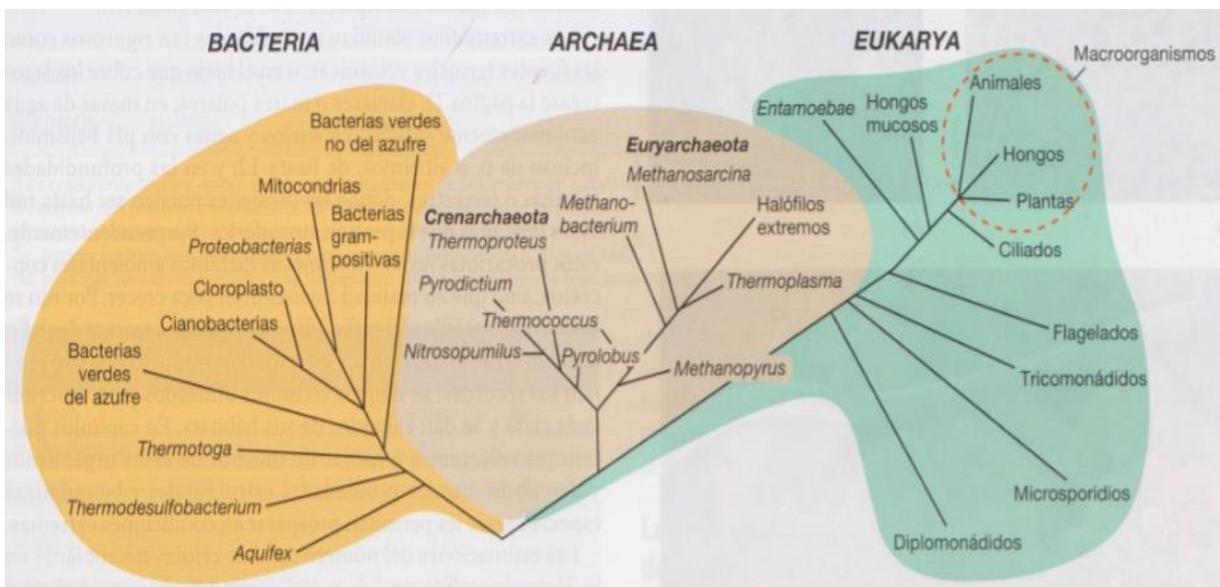


Figura 1. Árbol filogenético universal de la vida. Contiene los nombres de los tres dominios y algunos grupos representativos de cada uno (Madigan et al., 2015).

Por tanto, el ARNr 16S constituye una herramienta estandarizada para identificar y clasificar microorganismos existentes en los diversos ambientes. Esta idea fue acogida por la comunidad científica y la secuencia del ARNr 16S se ha utilizado para conformar

bases de datos especializadas que se utilizan actualmente. El Ribosomal Database Project (RDP) contiene una enorme colección de estas secuencias que continúa aumentando de forma progresiva.

2. OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo es recopilar la información existente sobre el Dominio *Archaea*.

Se pretende mostrar una idea general de este interesante grupo de microorganismos y suscitar el interés de la importancia de seguir investigando en este campo, debido a la gran repercusión que pueden llegar a tener en nuestro planeta y en los seres humanos.

Este propósito se ha llevado a cabo mediante los siguientes objetivos específicos:

- Desarrollar la historia de la clasificación de los seres vivos.
- Explicar cómo surgió el dominio *Archaea*.
- Analizar las herramientas y los métodos que se utilizan para determinar la filogenia de los seres vivos.
- Exponer las características diferenciales del dominio *Archaea* y su clasificación taxonómica.
- Profundizar en los grupos de arqueas extremófilas más relevantes: haloarqueas, arqueas metanógenas, arqueas hipertermófilas y arqueas acidófilas extremas.
- Proyectar las diversas aplicaciones industriales de las arqueas de forma general.

3. METODOLOGÍA

El título de esta revisión bibliográfica es “Filogenia de los seres vivos: dominio *Archaea*”. En base a este título, las principales palabras claves que se han utilizado han sido: *Archaea*, filogenia (phylogeny), metanógenos (methanogens), haloarqueas (haloarchaea) y extremófilos (extremophiles).

Como palabras clave secundarias se han utilizado: biotecnología (biotechnology), genes (gens), ARNr 16S, MLST.

Para la traducción se ha utilizado el diccionario online:

- Linguee (Diccionario de español-inglés)

<http://www.linguee.es/espanol-ingles/>

En cuanto a las fuentes de información, las que han sido utilizadas fundamentalmente son:

- Libros disponibles en el CRAI Antonio de Ulloa (Biblioteca de la Universidad de Sevilla). Las búsquedas de los libros han sido realizadas de forma online, usando las palabras clave en el catálogo FAMA de la Universidad de Sevilla.

<http://fama.us.es/>

- Son numerosos los artículos de revistas científicas que se han consultado para la realización del trabajo. Han sido localizados en los siguientes recursos:

- Pubmed: base de datos de libre acceso que contiene literatura sobre medicina y ciencias de vida.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

- Google Académico: es un buscador especializado de Internet, que rastrea todo tipo de documentación científica en la Web y permite encontrar datos, citas, documentos, entre otros.

<https://scholar.google.es/>

- ScienceDirect: es la base de datos electrónica más grande del mundo sobre ciencia, tecnología y medicina.

<http://www.sciencedirect.com/>

- Scielo (Scientific Electronic Library Online): es una biblioteca virtual formada por una colección de revistas científicas españolas de ciencias de la salud.

<http://www.scielo.org/php/index.php?lang=es>

Antes de comenzar a realizar el trabajo, he asistido a dos seminarios para orientarme y saber cómo utilizar de forma correcta todos los recursos que hay disponibles para la búsqueda de información y para aprender a usar correctamente la herramienta Mendeley (gestor de referencias bibliográficas).

Además, en las clases han ofrecido consejos para organizarse a la hora de realizar el trabajo. Los cursos han sido los siguientes:

- Curso “Búsqueda de información y organización con Mendeley”, impartido en el CRAI Antonio de Ulloa.
- Seminario “Orientación al TFG en Microbiología y Parasitología”, impartido en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla.

En el proceso de búsqueda de información, al principio se han usado los libros ya que dan una visión general no sólo del dominio *Archaea*, sino de todos los microorganismos para poder así comparar sus características y aprender sobre el tema que se va a tratar.

A continuación, se ha realizado una búsqueda bibliográfica electrónica donde se han consultado artículos de revistas científicas ya que aportan información más específica sobre aspectos concretos que interesan para el trabajo.

Los criterios utilizados para seleccionar los artículos han sido la relevancia de estos (veces que el artículo ha sido nombrado en otros artículos), la información que daban en el resumen y la actualidad del artículo. Se ha intentado que la mayoría de artículos seleccionados tengan una antigüedad no mayor a 10 años, no obstante, hay algunos que a pesar de no ser actuales aportan información importante. Además, para encontrar más artículos sobre el aspecto que estaba consultando ha sido útil buscar en la bibliografía de otros artículos.

Como criterios específicos, se han escogido documentos que hablaban sobre la clasificación de los seres vivos, sobre la diversidad dentro del dominio *Archaea* y otros que profundizaban dentro de cada uno de los tipos de arqueas, entre otros.

Además, para ampliar los conocimientos y poder profundizar de forma más dinámica en el mundo de los microorganismos, se ha visualizado un interesante documental emitido en La 2 de Televisión Española, denominado “Historia documental: El sorprendente mundo de los microorganismos” (<https://www.youtube.com/watch?v=6SEUlozjymQ>).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Filogenia molecular

Todas las células contienen material genético (ADN) que, con el tiempo, sufren mutaciones naturales que se acumulan en las secuencias y se transmiten a las generaciones posteriores. Por ello, para realizar estudios filogenéticos de la vida microbiana es muy útil el análisis de las secuencias de ADN.

El mejor cronómetro molecular hasta ahora descubierto y el que se utiliza actualmente es el ARNr 16S, ya que a partir de su secuencia se puede obtener información filogenética y taxonómica de procariotas. En el caso de eucariotas la molécula equivalente es el ARNr 18S. Gracias a la observación de los ARNr se pueden diferenciar no sólo organismos más alejados genéticamente, sino también los que están más próximos (Valenzuela-González et al., 2015).

El ARNr 16S es un componente de la subunidad 30S de los ribosomas de organismos procariotas (Figura 2). Se trata de un polirribonucleótido de aproximadamente 1500 nucleótidos codificado por el gen *rrs*, también conocido como ADN ribosomal 16S.

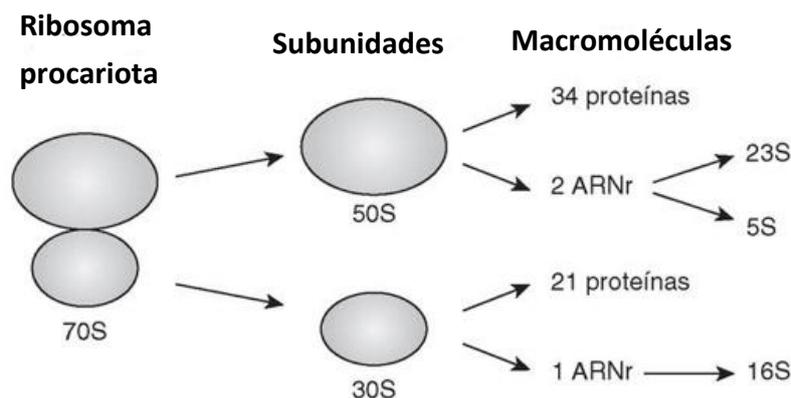


Figura 2. Composición del ribosoma 70S procariota.

Cuando el ARNr 16S se pliega, adquiere una estructura secundaria que tiene segmentos de doble cadena que permiten la formación de asas y hélices, alternados con regiones de cadena sencilla. En su estructura contiene nueve regiones (V1-V9) menos conservadas o variables, que son las que aportan la información más útil para estudios

de taxonomía y filogenética. Sin embargo, también tiene regiones conservadas que sirven de ayuda para el diseño de cebadores o *primers* universales que permitan amplificar las diversas regiones hipervariables de la gran mayoría de los ARNr 16S. En la estructura del ARNr 16S (Figura 3) se distinguen las hélices universales, comunes a todos los seres vivos, numeradas de la 1 a la 48. Las hélices indicadas con Pa-b son específicas de procariontas. Las regiones relativamente conservadas se presentan en negrita y las regiones hipervariables se ilustran con líneas finas. Las líneas discontinuas se refieren a regiones que solo están presentes en un número limitado de estructuras (Valenzuela-González et al., 2015).

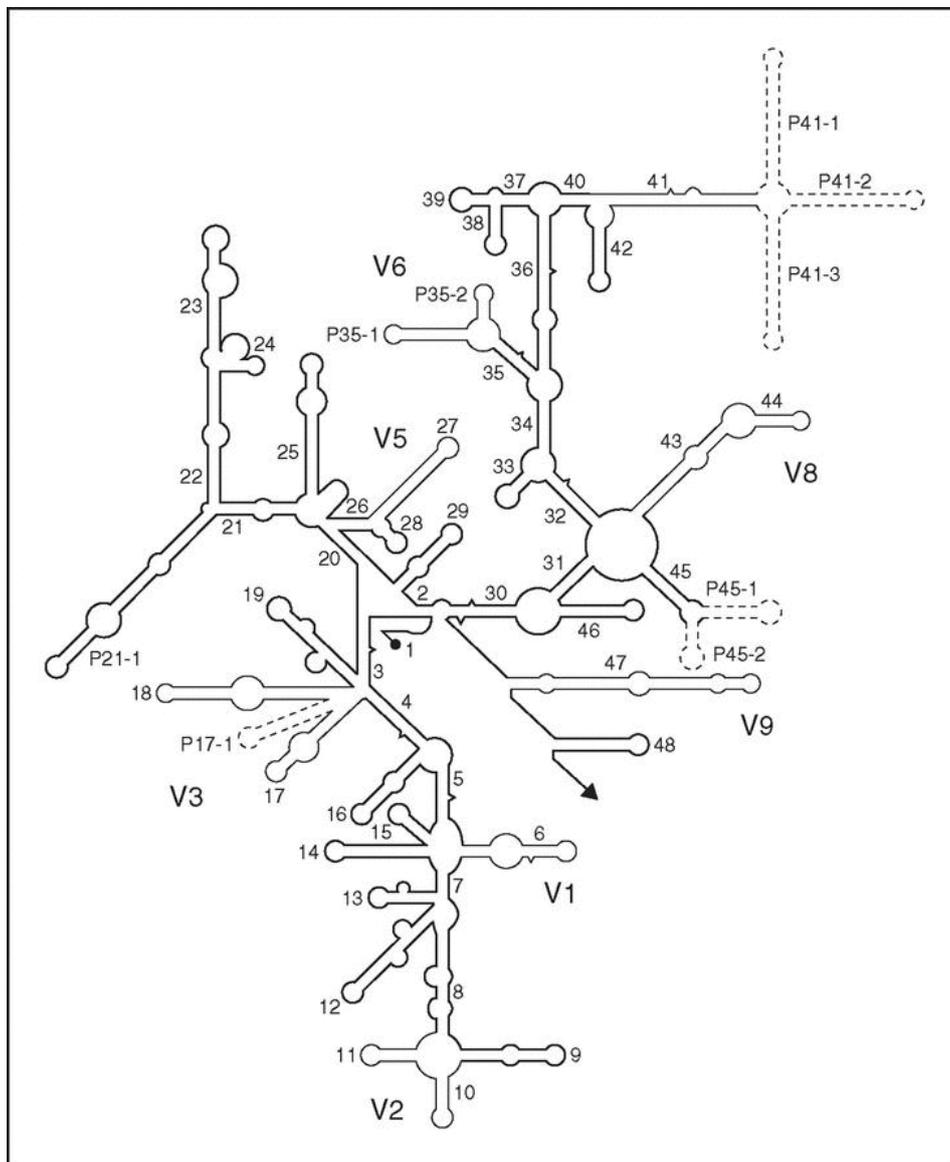


Figura 3. Estructura secundaria del ARNr 16S (Valenzuela-González et al., 2015).

Esta molécula es útil para establecer relaciones filogenéticas y se considera un marcador molecular debido a que cumple las siguientes características:

- Está distribuida de manera universal en todos los organismos procariotas conocidos.
- Su estructura cambia muy lentamente (se mantiene por largos periodos de tiempo).
- Tiene una longitud adecuada, que permite la extracción y secuenciación de forma fácil y precisa. Además, el tamaño relativamente largo minimiza las fluctuaciones estadísticas.
- Contiene una variabilidad y una divergencia genética significativa a nivel de especie.
- Posee sitios conservados adyacentes que permiten diseñar cebadores universales, para su amplificación por PCR.

Desde este descubrimiento se han analizado millones de secuencias en base a las que se ha construido el árbol filogenético universal de la vida, como se ha comentado anteriormente.

Para poder estudiar estas secuencias y conocer la diversidad microbiana se requiere el uso de técnicas moleculares como la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) basada en la amplificación de genes de ARNr 16S. El procedimiento de **amplificación por PCR** consiste en:

1. Aislamiento del ADN genómico de un microorganismo
2. Amplificación del gen ARNr 16S por PCR usando los cebadores complementarios de los extremos del ARNr 16S
3. Visualización de los productos de la PCR mediante electroforesis en gel de agarosa
4. Extracción, purificación y secuenciación de los productos
5. Alineación y análisis de las secuencias

Sin embargo, en algunos casos el ARNr 16S no es una herramienta eficaz para caracterizar especies microbianas procariotas genéticamente muy próximas ya que la

dependencia de un único marcador genético puede conducir a filogenias erróneas y, por tanto, a una mala clasificación taxonómica.

Para realizar una correcta identificación de especies se usa actualmente un “estudio polifásico”, es decir, un estudio que combina diferentes metodologías (Madigan et al., 2015).

Además de un análisis de secuencias génicas a partir de fragmentos amplificados por PCR, se puede realizar también un proceso denominado “tipado por secuenciación multilócica” (cuyas siglas en inglés son **MLST**), basado en la comparación de las secuencias de varios genes constitutivos diferentes (entre 5 y 10). Estos genes constitutivos se localizan en el cromosoma, no en plásmidos, ya que codifican funciones esenciales de las células. Para realizar este análisis se amplifican fragmentos de unos 450 pares de bases para cada gen.

El MLST puede distinguir entre cepas estrechamente emparentadas de una especie determinada, gracias a su gran poder de resolución. Sin embargo, esta técnica no es útil para comparar organismos por encima del nivel de especie ya que su resolución es demasiado sensible para agrupar taxones de niveles superiores como géneros o familias (Madigan et al., 2015).

Por tanto, el MLST, a diferencia del ARNr 16S, utiliza varios genes concatenados como marcadores filogenéticos en lugar de uno sólo. Esta técnica es la más novedosa, sin embargo, puede dar problemas a la hora de seleccionar los genes que se van a amplificar y pueden cometerse sesgos (Móra, 2009).

Por otra parte, existe un método rápido para evaluar polimorfismos entre cepas que consiste en la obtención de la “**huella genómica**”, es decir, fragmentos de ADN generados a partir de genes individuales o genomas completos. El ribotipado es un método de obtención de huella genómica que se basa en la localización de los genes de ARNr 16S en fragmentos del genoma. Con esta técnica obtenemos el ribotipo o huella genómica de la especie que estamos estudiando y si la comparamos con patrones de organismos de referencia de una base de datos, podemos identificar de forma rápida especies o incluso cepas diferentes de una misma especie. Por tanto, el ribotipo tiene

muchas aplicaciones en el diagnóstico clínico y en análisis microbianos de alimentos, agua y bebidas (Madigan et al., 2015).

4.2. Características de las arqueas

Cada uno de los tres dominios (*Bacteria*, *Eucarya* y *Archaea*) tienen características propias y otras en común (Tabla 1). Las arqueas tienen una morfología celular similar a la de las bacterias, pero se han descrito morfologías cuadradas planas o células de tipo ameboide que son exclusivas de las arqueas. Aunque no tienen núcleo y tienen una organización celular de tipo procariota como las bacterias, las propiedades moleculares son más parecidas a las de las células eucarióticas (Vargas y Villazante, 2014).

Uno de los aspectos diferenciales del dominio *Archaea* es la presencia de lípidos de membrana con **enlaces éter**, en lugar de enlaces éster (presentes en los lípidos de *Bacteria* y *Eukarya*) (Delgado, 2015).

En cuanto a la pared celular, la mayoría de las células de *Bacteria* y *Archaea* tienen una pared para poder soportar altas presiones, impedir la lisis celular y dotar a la célula de forma y rigidez. Sin embargo, el componente principal de la pared celular de las bacterias se encuentra ausente en la pared de las arqueas. Dicho componente es el **peptidoglicano**. Esta ausencia hace que las arqueas sean resistentes a las lisozimas y a la penicilina, ya que son agentes que destruyen o impiden la síntesis de peptidoglicano. La estructura más común de la pared celular dentro de las arqueas es la constituida por una capa superficial paracrística o capa S, formada por un entrelazamiento de glicoproteínas y proteínas. Las capas S son muy resistentes por lo que pueden ser el único componente de la pared celular. No obstante, en muchos casos se encuentra acompañada de otros componentes, pero la capa S siempre será la que está en contacto directo con el medio externo (Madigan et al., 2015).

Por otra parte, el proceso de transcripción (síntesis de ARN a partir de ADN como molde) es muy parecido en *Eukarya* y *Archaea*. Las arqueas tienen una sola **ARN-polimerasa** y es muy parecida a la ARN-polimerasa II eucariótica. Ambas tienen una estructura más compleja que la bacteriana (Madigan et al., 2015).

Tabla 1. Comparación de las características de los tres dominios: *Archaea*, *Bacteria* y *Eukarya*.

CARACTERÍSTICAS	ARCHAEA	BACTERIA	EUKARYA
Envoltura nuclear	Ausente	Ausente	Presente
Organización celular	Procariota	Procariota	Eucariota
Peptidoglicano en la pared celular	Ausente	Presente	Ausente
Unión lípidos de la membrana plasmática al glicerol	Enlace éter	Enlace éster	Enlace éster
Ribosomas	70S	70S	80S
ARN polimerasa	Varias	Una	Tres
Fosfolípidos de la membrana plasmática	Ramificados	No ramificados	No ramificados
Sensibilidad a antibióticos	No	Si	No
Metanogénesis	Si	No	No

Una de las características que más llama la atención es que muchas de las especies pertenecientes al dominio *Archaea* son extremófilas. “Ambiente extremo” es un término relativo, ya que para algunos microorganismos ese hábitat puede ser esencial para su desarrollo. Los organismos extremófilos son aquellos que crecen en estos ambientes, bajo condiciones que son inhabitables para la mayoría de las especies (como condiciones de elevada temperatura o salinidad) (Ramírez et al., 2006). Por tanto, resulta interesante que estos organismos puedan desarrollarse donde otras formas de vida no tendrían ninguna oportunidad de sobrevivir. No obstante, no todas las arqueas son microorganismos extremófilos y de hecho muchas de ellas crecen y se han aislado de ambientes no extremos.

4.3. Clasificación de las arqueas

El dominio *Archaea* taxonómicamente está formado por cinco filos que contienen especies descritas a partir de cepas cultivadas. La mayoría de ellas pertenecen a los filos *Crenarchaeota* y *Euryarchaeota*. Sin embargo, en los últimos años se han propuesto otros filos sugeridos por el descubrimiento de cepas no cultivadas que tienen características diferentes al resto, como es el caso del filo *Aigarchaeota*, entre otros (Nunoura et al., 2011).

La clasificación taxonómica de las arqueas (Tabla 2) se ha realizado basándose en sus características fenotípicas, en la comparación de las secuencias del gen que codifica el ARN 16S y algún otro gen *housekeeping* (como el *rpoB*), en las características genotípicas (hibridación ADN-ADN) y en características quimiotaxonómicas. Se dividen actualmente en los siguientes filos (de la Haba et al., en prensa):

- *Crenarchaeota*: Está compuesto por una única clase denominada *Thermoprotei*, que a su vez es subdividida en cinco órdenes. La mayoría de los representantes de este grupo son hipertermófilos y crecen de modo óptimo por encima del punto de ebullición del agua (Madigan et al., 2015).
- *Euryarchaeota*: Este filo lo forman especies diversas en su morfología y sus hábitats. La mayoría pertenecen a la clase *Halobacteria*, por lo que es el grupo más importante. Además otros representantes relevantes son los hipertermófilos *Thermococcus* y *Pyrococcus*, el metanógeno *Methanopyrus* y un organismo que carece de pared celular: *Thermoplasma*.
- *Korarchaeota*: *Korarchaeum cryptofilum* es la única especie caracterizada de este grupo. Es un organismo anaerobio estricto e hipertermófilo.
- *Nanoarchaeota*: En 2003 Karl Stetter y colaboradores (Huber et al., 2003) descubrieron el microorganismo más pequeño del mundo denominado *Nanoarchaeum equitans*, lo que ha llevado a la creación de este grupo dentro de las arqueas. Esta especie es extremófila ya que se halló a 120 metros de profundidad en aguas hidrotermales submarinas, donde la temperatura era de unos 100°C (Alquéres et al., 2007). El filo *Nanoarchaeota* únicamente contiene esta especie, perteneciente al género *Nanoarchaeum*.

- *Thaumarchaeota*: contiene el género *Cenarchaeum*. Las primeras especies de este filo se encontraron en el fondo oceánico, pero más recientemente se ha observado en suelos y sistemas marinos de todo el mundo. Se han descrito varias especies de este filo, como *Nitrosopumilus maritimus*, y todos son quimiolitótrofos y oxidadores de amoníaco (Castelle et al., 2015).

Tabla 2. Clasificación taxonómica de las arqueas.

FILO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	Nº ESPECIES
Crenarchaeota	<i>Thermoprotei</i>	<i>Thermoproteales</i>	<i>Thermofilaceae</i>	<i>Thermofilum</i>	10
			<i>Thermoproteaceae</i>	<i>Calvidirga</i>	9
				<i>Pyrobaculum</i>	20
				<i>Thermocladium</i>	3
				<i>Thermoproteus</i>	14
		<i>Vulcanisaeta</i>		16	
		<i>Acidilobales</i>	<i>Acidilobaceae</i>	<i>Acidilobus</i>	9
			<i>Caldisphaeraceae</i>	<i>Caldisphaera</i>	2
		<i>Desulfurococcales</i>	<i>Desulfurococcaceae</i>	<i>Aeropyrum</i>	3
				<i>Desulfurococcus</i>	9
				<i>Ignicoccus</i>	3
				<i>Ignisphaera</i>	4
				<i>Staphylothermus</i>	4
				<i>Stetteria</i>	1
				<i>Sulfophobococcus</i>	1
				<i>Thermodiscus</i>	1
				<i>Thermogladius</i>	2
				<i>Thermosphaera</i>	1
				<i>Geogemma</i>	2
				<i>Hyperthermus</i>	2
				<i>Pyrodictium</i>	4
				<i>Pyrolobus</i>	1
				<i>Caldococcus</i>	1
<i>Fervidicoccales</i>	<i>Fervidicoccaceae</i>	<i>Fervidicoccus</i>	1		
<i>Sulfolobales</i>	<i>Sulfolobaceae</i>	<i>Acidianus</i>	20		
		<i>Metallosphaera</i>	10		
		<i>Stygiolobus</i>	1		
		<i>Sulfodiicoccus</i>	1		
		<i>Sulfolobus</i>	70		
		<i>Sulfurisphaera</i>	1		
Euryarchaeota	<i>Methanobacteria</i>	<i>Methanobacteriales</i>	<i>Methanobacteriaceae</i>	<i>Methanobacterium</i>	123
				<i>Methanobrevibacter</i>	112
				<i>Methanosphaera</i>	6
				<i>Methanothermobacter</i>	14
				<i>Methanothermaceae</i>	<i>Methanothermus</i>
<i>Archaeoglobi</i>	<i>Archaeoglobales</i>	<i>Archaeoglobaceae</i>	<i>Archaeoglobus</i>	37	
			<i>Ferroglobus</i>	1	
			<i>Geoglobus</i>	9	

Tabla 2. Clasificación taxonómica de las arqueas (Cont.).

FILO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	Nº ESPECIES
<i>Euryarchaeota</i> (continuación)	<i>Halobacteria</i>	<i>Halobacteriales</i>	<i>Haloarculaceae</i>	<i>Halapricum</i>	1
				<i>Haloarcula</i>	388
				<i>Halomicroarcula</i>	4
				<i>Halomicrobium</i>	25
				<i>Halorhabdus</i>	13
				<i>Halorientalis</i>	8
				<i>Halosimplex</i>	10
			<i>Natronomonas</i>	18	
			<i>Halobacteriaceae</i>	<i>Haladaptatus</i>	13
				<i>Halalkalicoccus</i>	6
				<i>Halarchaeum</i>	21
				<i>Haloarchaeobius</i>	6
				<i>Halobacterium</i>	230
				<i>Halodesulfurarchaeum</i>	1
		<i>Halomarina</i>		7	
		<i>Halorubellus</i>		2	
		<i>Halorussus</i>		8	
		<i>Halovenus</i>		5	
		<i>Natronoarchaeum</i>	8		
		<i>Salarchaeum</i>	2		
		<i>Halococcaceae</i>	<i>Halococcus</i>	101	
		<i>Haloferacales</i>	<i>Haloferacaceae</i>	<i>Halobellus</i>	17
				<i>Haloferax</i>	262
				<i>Halogeometricum</i>	41
				<i>Halogranum</i>	30
				<i>Halopelagius</i>	5
				<i>Haloplanus</i>	23
	<i>Haloprofundus</i>			2	
	<i>Haloquadratum</i>			2	
	<i>Halorubraceae</i>		<i>Halobaculum</i>	3	
			<i>Halohasta</i>	3	
			<i>Halolamina</i>	39	
			<i>Halonotius</i>	3	
<i>Haloparvum</i>			1		
<i>Halopenitus</i>			9		
<i>Halorubrum</i>			850		
<i>Salinigranum</i>			2		
<i>Natrialbales</i>	<i>Natrialbaceae</i>	<i>Halobiforma</i>	8		
		<i>Halopiger</i>	22		
		<i>Halostagnicola</i>	10		
		<i>Haloterrigena</i>	181		
		<i>Halovivax</i>	19		
		<i>Natrialba</i>	38		
		<i>Natrinema</i>	99		
		<i>Natronobacterium</i>	25		
		<i>Natronococcus</i>	37		
		<i>Natronolimnobius</i>	6		
		<i>Natronorubrum</i>	19		
		<i>Salinarchaeum</i>	5		
		<i>Methanococci</i>	<i>Methanococcales</i>	<i>Methanocaldococcaceae</i>	<i>Methanocaldococcus</i>
	<i>Methanotorris</i>			3	
	<i>Methanococcus</i>		18		
	<i>Methanothermococcus</i>		16		

Tabla 2. Clasificación taxonómica de las arqueas (Cont.).

FILO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	Nº ESPECIES
Euryarchaeota (continuación)	Methanomicrobia	Methanocellales	Methanocellaceae	Methanocella	4
		Methanomicrobiales	Methanocalculaceae	Methanocalculus	29
			Methanocorpusculaceae	Methanocorpusculum	11
			Methanomicrobiaceae	Methanoculleus	72
				Methanofollis	9
				Methanogenium	7
				Methanolacinia	2
				Methanomicrobium	2
				Methanoplanus	4
			Methanoregulaceae	Methanolinea	16
				Methanoregula	18
		Methanosphaerula		1	
		Methanospirillaceae	Methanospirillum	7	
		Methanosarcinales	Candidatus Methanoperedenaceae	Candidatus Methanoperedens	3
			Methanosaetaceae	Methanosaeta	38
			Methanosarcinaceae	Methanimicrococcus	2
				Methanococcoides	13
				Methanohalobium	2
				Methanohalophilus	21
				Methanolobus	20
	Methanomethylovorans			9	
	Methanosalsum			3	
	Methanosarcina			79	
	Methermicoccaceae	Methermicoccus	1		
	Methanopyri	Methanopyrales	Methanopyraceae	Methanopyrus	6
	Thermococci	Thermococcales	Thermococcaceae	Palaeococcus	4
				Pyrococcus	86
				Thermococcus	322
	Thermoplasmata	Methanomassiliicoccales	Methanomassiliicoccaceae	Candidatus Methanogranum	1
				Candidatus Methanomethylophilus	3
				Candidatus Methanoplasma	1
				Methanomassiliicoccus	20
Thermoplasmatales		Cuniculiplasmataceae	Cuniculiplasma	2	
		Ferropasmaceae	Acidiplasma	3	
			Ferroplasma	6	
Picrophilaceae	Picrophilus	2			
Thermoplasmataceae	Thermoplasma	13			
Korarchaeota	Korarchaea	Korarchaeales		Korarchaeum	1
Nanoarchaeota		Nanoarchaeales	Nanoarchaeaceae	Nanoarchaeum	1
Thaumarchaeota	Thaumarchaea	Cenarchaeales	Cenarchaeaceae	Cenarchaeum	1
		Nitrososphaeria	Candidatus Nitrosocaldales	Candidatus Nitrosocaldaceae	1
				Nitrosopumilus	17
		Nitrosopimulales	Nitrosopumilaceae	Candidatus Nitrosoarchaeum	2
				Candidatus Nitrosomarinus	1

Aunque ésta es la clasificación formal según la taxonomía de las especies, se pueden distinguir cuatro grupos bien diferenciados dentro de las arqueas: haloarqueas, arqueas metanógenas, arqueas hipertermófilas y arqueas acidófilas extremas, cuyas principales características se discuten a continuación.

4.4. Haloarqueas

Dentro del dominio *Archaea* se encuentran las arqueas halófilas extremas aerobias, comúnmente denominadas **haloarqueas**. Se incluyen en el filo *Euryarchaeota* y en la clase *Halobacteria*, dividida en tres órdenes: *Halobacteriales*, *Haloferacales* y *Natrialbales*. Una de las especies más estudiadas es *Halobacterium salinarum* y es utilizada como modelo en numerosos estudios de arqueas.

Se trata de organismos que viven en ambientes hipersalinos, es decir, hábitats extremos que presentan una concentración de sales muy elevada, al menos de 1,5 M NaCl (Madigan et al., 2015). Las haloarqueas tienen un crecimiento óptimo a una concentración de 20-25 % p/v de NaCl. Además, acumulan KCl como un mecanismo de adaptación para contrarrestar la elevada salinidad del medio externo (Reyes-Martínez y Zavaleta, 2005).

Hay una gran variedad de hábitats hipersalinos distribuidos ampliamente por el mundo que pueden ser acuáticos (lagos salinos, estanques de cristalización de las salinas, profundidades marinas), suelos salinos e hipersalinos, algunas plantas halófitas o incluso productos tratados con sal, tales como los salazones. Ejemplos de localizaciones con estos ambientes son: el Gran Lago Salado (Estados Unidos) o el Mar Muerto, entre otros (de la Haba et al., en prensa).

En estos hábitats hipersalinos son los microorganismos más abundantes y además son, junto a otros organismos, los responsables de que estos ambientes puedan tener un color rojizo (Figura 4) debido a los pigmentos carotenoides localizados en las membranas de estas especies, denominados bacteriorruberas (Madigan et al., 2015). Sin embargo, no todas las haloarqueas son pigmentadas. Existen algunas excepciones, como las especies del género *Natrialba*, que dan lugar a colonias blanquecinas. La coloración típica del medio se puede deber también a la presencia de bacterias como

Salinibacter y al alga *Dunaliella salina* que también contienen pigmentos carotenoides pero de naturaleza diferente.



Figura 4. El Lago Hillier (Australia) tiene una concentración muy elevada de sales y presenta un color rosáceo característico debido al crecimiento, entre otros, de arqueas halófilas.

En cuanto a las características principales de las haloarqueas se puede decir que son Gram-negativas, aerobias estrictas, crecen a una temperatura alrededor de 37°C, se reproducen por fisión binaria y no forman esporas u otras formas de resistencia. Además, sus células presentan diversidad morfológica (bacilos, discos, triángulos, cuadradas...) y son microorganismos capaces de utilizar diversos compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía (Madigan et al., 2015). Con respecto al ADN de las haloarqueas, se caracteriza porque tiene un contenido de guanina y citosina (G + C) muy elevado que ayuda a estabilizar la célula frente a las altas concentraciones de cationes en el citoplasma.

Una capacidad especial que tienen los organismos de la clase *Halobacteria* es la producción de **halocinas**, que son unos compuestos antimicrobianos capaces de inhibir el crecimiento de otras haloarqueas actuando, normalmente, sobre la membrana celular de cepas sensibles. Este fenómeno puede llegar a ser una gran ventaja para las haloarqueas ya que inhiben el desarrollo de especies que compiten por el mismo hábitat natural (de la Haba et al., en prensa).

Por otra parte, para poder adaptarse a las elevadas concentraciones salinas y resistir las consecuencias adversas de la pérdida de agua en sus células, estas especies

desarrollan estrategias de osmoadaptación. El mecanismo que llevan a cabo la mayoría de las haloarqueas se denomina “salt-in” y conlleva una acumulación de iones Na^+ y K^+ en el citoplasma a concentraciones similares a las que existen en el exterior celular. Otro mecanismo diferente es “salt-out” que consiste en la acumulación de moléculas orgánicas pequeñas y muy solubles, como aminoácidos, azúcares o polioles, conocidas como solutos compatibles. Al acumularse dentro de las células evitan los efectos perjudiciales (Amoozegar et al., 2017). Pero esta segunda estrategia es la que realizan sobre todo las bacterias y otros microorganismos eucariotas halófilos.

En cuanto a la obtención de energía, ciertas especies de haloarqueas pueden llevar a cabo la síntesis de ATP mediada por la luz, proceso que no se considera fotosíntesis por la ausencia de pigmentos clorofílicos. Los pigmentos que intervienen son carotenoides rojos y naranjas, que son sensibles a la luz (bacteriorruberas, nombrados anteriormente) y otros pigmentos inducibles conservadores de la energía. En condiciones de baja aireación, *Halobacterium salinarum* y otras haloarqueas sintetizan una proteína que insertan en su membrana plasmática, denominada **bacteriorrodopsina**. Esta proteína está constituida por una molécula de retinal que le confiere un tono rojo violáceo al bombear un protón a través de la membrana plasmática tras la absorción de energía luminosa. Por ello las células de *Halobacterium* pasan de un color rojo anaranjado a rojo violáceo cuando pasan de crecer en un hábitat aireado a uno donde el oxígeno es escaso. La producción de ATP mediada por la bacteriorrodopsina en *Halobacterium salinarum* permite un crecimiento lento de este microorganismo en condiciones anóxicas. Además, existen otras rodopsinas en la membrana citoplasmática de esta especie, como son la halorrodopsina o las rodopsinas sensoriales (Madigan et al., 2015).

A día de hoy no se han descrito haloarqueas patógenas para los seres humanos, animales o plantas. Sin embargo, se ha demostrado que existe una mayor diversidad de la que conocemos actualmente y hay muchas especies que aún no se han aislado en cultivo de laboratorio.

Aunque las haloarqueas constituyen un grupo muy importante, hay otro tipo de arqueas cuyo estudio resulta interesante, los cuales se desarrollan a continuación.

4.5. Arqueas metanógenas

La metanogénesis es la producción biológica de metano (CH₄) y es un proceso característico de las denominadas arqueas metanógenas (anaerobias estrictas), las cuales pertenecen en su mayoría al grupo *Euryarchaeota*. Actualmente hay descritas una gran cantidad de arqueas metanógenas, que están clasificadas en 6 órdenes basándose en la comparación de las secuencias del gen conservativo ARNr 16S: *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales*, *Methanocellales*, *Methanosarcinales* y *Methanopyrales*. Los órdenes están divididos en 13 familias y 31 géneros (García, 2014). Esta organización taxonómica se puede ver de forma esquematizada en la Figura 5, incluida al final de este apartado. La clasificación ha sido establecida basándose en los porcentajes de semejanza de las secuencias del gen ARNr 16S. Sin embargo, se ha empleado otro marcador filogenético para establecer relaciones filogenéticas en arqueas metanógenas: la secuencia de la enzima metil-coenzima M reductasa. Las subunidades de esta enzima son filogenéticamente conservadas, en particular, el gen de la subunidad alfa denominada *mcrA*, del cual se ha podido obtener relaciones similares a las encontradas por el ARNr 16S (García, 2014).

Los metanógenos constituyen una fuente natural de metano de origen biológico y se pueden encontrar en hábitats diversos: sedimentos anóxicos (marismas o pantanos), tracto digestivo de animales (ciego de caballos y conejos, rumen de ruminantes, intestino grueso de humanos o cerdos...), chimeneas hidrotermales (fuentes geotérmicas de H₂ y O₂), digestores de aguas residuales (instalaciones artificiales de biodegradación) o como endosimbiontes de protozoos anaerobios (Madigan et al., 2015).

En cuanto a su fisiología, se conoce que existen multitud de morfologías y que la composición de la pared celular varía según la especie de la que se trate (puede estar formada por pseudomureína, metanocondroitina, proteínas, glicoproteínas o capa S) (Madigan et al., 2015). Para el cultivo de metanógenos se requieren rigurosas técnicas de anaerobiosis. Además, la mayoría son mesófilos y no halófilos, aunque hay excepciones.

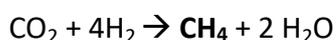
La importancia de estos microorganismos radica en su gran **impacto ecológico** ya que están relacionados con procesos de degradación de materia orgánica. Bajo condiciones anaeróbicas los metanógenos son capaces de degradar hidrocarburos a metano, disminuyendo así la contaminación por hidrocarburos. Además, también intervienen en el tratamiento de aguas residuales, cuyo proceso genera, entre otros gases, metano (García, 2014).

Si hablamos de aspectos bioenergéticos y bioquímicos, en la metanogénesis participan varias **coenzimas** exclusivas que se dividen en dos grupos:

- a) Las que transportan el carbono desde el sustrato inicial a lo largo de la ruta de reducción enzimática hasta el metano. Aquí nos encontramos con el metanofurano, la metanopterina y la coenzima M (CoM), que van interviniendo en las diferentes etapas de la metanogénesis en ese orden.
- b) Las que donan electrones para la reducción de CO₂ a CH₄, como son la coenzima F₄₂₀ y la coenzima B (CoB) (Madigan et al., 2015).

Las arqueas metanógenas usan un limitado rango de sustratos para su metabolismo energético. Según el sustrato que utilicen para producir metano, las rutas metabólicas pueden ser categorizadas en 3 grupos. Todos ellos tienen en común la producción de un intermediario: metil coenzima M (metil-coM). Los **sustratos** son los siguientes (García, 2014):

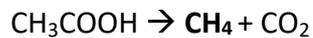
- a) Sustratos de tipo CO₂. Aquí se incluye el propio dióxido de carbono (CO₂), el formiato (HCOO⁻) y el monóxido de carbono (CO). En el caso del CO₂, se reduce a metano usando H₂ como donador de electrones.



- b) Sustratos metilados. Comprenden el metanol (CH₃OH) y muchos otros, como la metilamina (CH₃NH₃⁺), la dimetilamina ([CH₃]₂NH₂⁺), la trimetilamina ([CH₃]₃NH⁺), el metilmercaptano (CH₃SH) y el dimetilsulfuro ([CH₃]₂S). El metanol puede reducirse empleando un donador de electrones externo como por ejemplo el H₂.



- c) Sustratos acetótrofos. Aquí encontramos el acetato (CH_3COO^-) y el piruvato ($\text{CH}_3\text{COCOO}^-$). El proceso se denomina reacción acetotrófica y consiste en la rotura del acetato hasta $\text{CO}_2 + \text{CH}_4$. El acetato es una fuente muy importante de metano en la naturaleza, sin embargo, son pocas las especies que realizan este proceso.



A continuación, se detallan algunas características más relevantes de cada uno de los órdenes de arqueas metanógenas (García, 2014):

- *Methanobacteriales*: este orden contiene 5 géneros, cuyas especies tienen pseudomureína y lípidos en la pared celular y una morfología de cocos o formas filamentosas. Utilizan como sustrato para la metanogénesis H_2/CO_2 , aunque algunos también pueden usar formiato o alcoholes secundarios.
- *Methanococcales*: se incluyen 4 géneros en este orden. Utilizan H_2/CO_2 para la metanogénesis y sus células tienen una capa celular superficial cristalina (capa S) que forma parte de la envoltura celular. En general son microorganismos hipertermófilos.
- *Methanomicrobiales*: orden constituido por 11 géneros. Los miembros de este grupo utilizan H_2/CO_2 , formiato o alcoholes secundarios para la metanogénesis. Tienen morfologías muy variadas (cocos, bacilos, espirales, filamentos o discos) y paredes celulares con una capa S de glicoproteína (también pueden tener una vaina exterior). La mayoría habitan ambientes marinos y mesófilos.
- *Methanocellales*: sólo 1 género forma parte de este orden de arqueas metanógenas. La primera especie aislada fue *Methanocella paludicola*, obtenida en 2008 a partir de suelos de arrozales. Actualmente, sólo hay 2 especies que pertenecen a este orden y ambas pueden utilizar H_2/CO_2 y formiato para la metanogénesis.
- *Methanosarcinales*: Las arqueas metanógenas más variadas desde el punto de vista metabólico están en este grupo, ya que son capaces de producir metano a partir de compuestos con grupos metilo, fermentación de acetato y H_2/CO_2 . Las células de estas especies tienen morfología variada (cocos, pseudosarcinas o bacilos envainados).

- Methanopyrales: este grupo está representado por una única especie denominada *Methanopyrus kandleri* cuyas paredes celulares contienen mureína. Se encuentran en sistemas hidrotermales. Para la metanogénesis usan H_2/CO_2 .

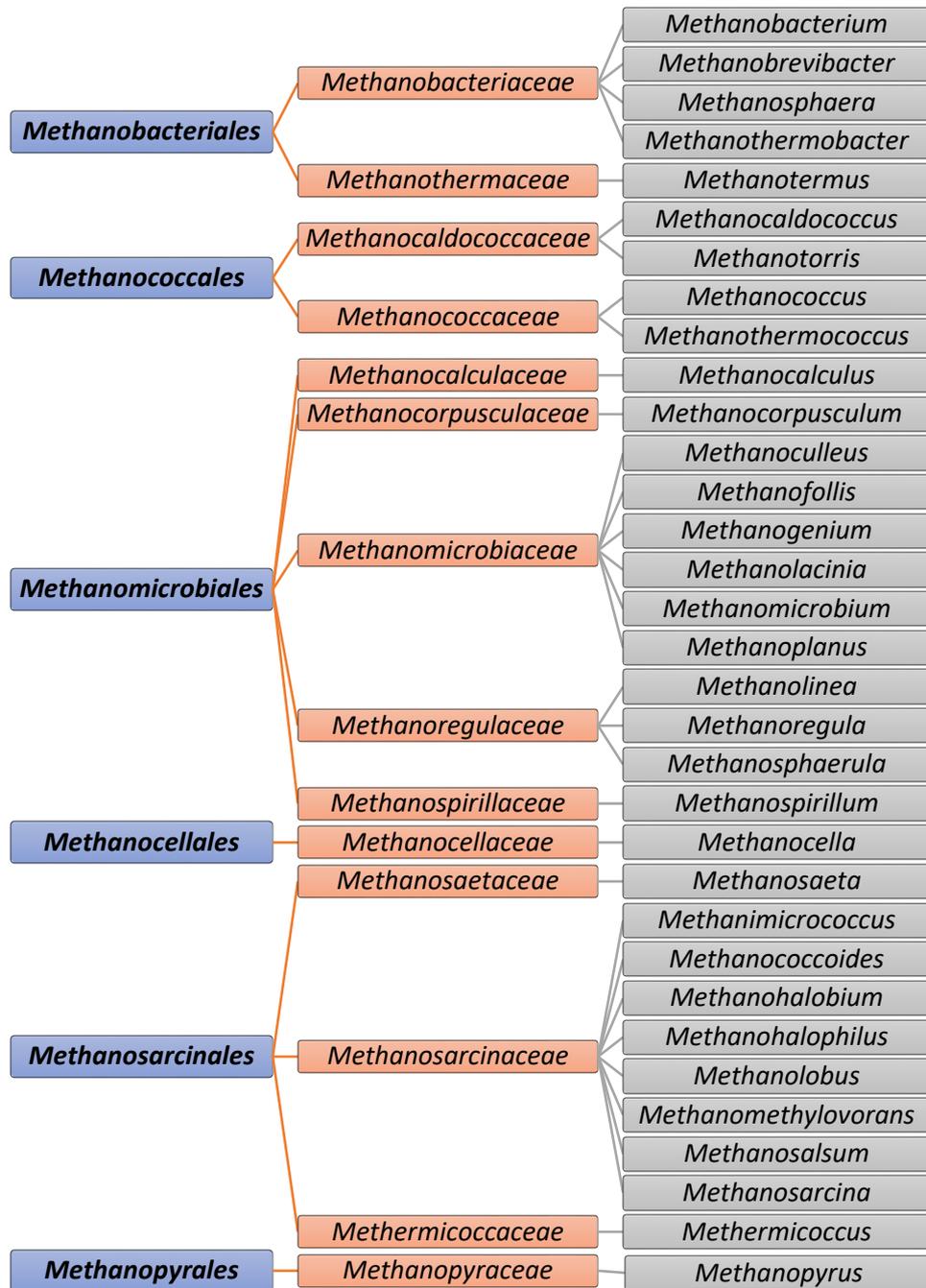


Figura 5. Órdenes, familias y géneros (de izquierda a derecha) donde se incluyen especies de arqueas metanógenas. Todos los órdenes pertenecen al filo Euryarchaeota.

4.6. Arqueas hipertermófilas

Dentro del dominio *Archaea* resulta interesante el estudio de un grupo de especies que sobreviven en un rango de temperaturas elevado, entre 45°C y 121°C, denominadas termófilas o hipertermófilas (Gómez y Pérez, 2007). Únicamente se han descrito arqueas hipertermófilas en los filos *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota* y *Nanoarchaeota*. En total se han descrito 38 géneros y unas 119 especies de este tipo de arqueas, agrupados en 11 órdenes taxonómicos.

Los microorganismos termófilos son aquellos que crecen de forma óptima a temperaturas superiores a 45°C, mientras que los hipertermófilos necesitan temperaturas por encima de 80°C para desarrollarse correctamente (de la Haba et al., en prensa).

Las arqueas hipertermófilas se pueden encontrar repartidas por todo el planeta, sobre todo en suelos y aguas que son calentados por la actividad de diversos volcanes. Estos ambientes suelen ser ácidos y ricos en azufre y podemos encontrarlos en Islandia, Nueva Zelanda o el Parque Nacional de Yellowstone. Otras localizaciones pueden ser en ambientes submarinos con altas temperaturas, en fuentes hidrotermales poco profundas, o en las salidas de agua caliente de las plantas geotérmicas (Gómez y Pérez, 2007).

La temperatura de ebullición del agua es de 100°C, pero en zonas oceánicas sometidas a altas presiones hidrostáticas, el agua puede estar en estado líquido hasta alcanzar temperaturas mucho más altas. Es por ello que, al haber presencia de agua líquida, puede existir vida celular a más de 100°C. Sin embargo, por encima de 150°C las moléculas de ATP se degradan, por lo que podemos considerar que a esa temperatura se encuentra el límite superior a partir del cual no es compatible la vida.

A continuación, se describen brevemente las características de los filos que contienen especies hipertermófilas:

- En el filo *Euryarchaeota* encontramos arqueas de todo tipo: haloarqueas, metanógenos, acidófilos extremos y algunas hipertermófilas. Estas últimas están incluidas en los órdenes: *Archaeoglobales*, *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanopyrales* y *Thermococcales*. En este grupo también se

distinguen morfologías muy diversas y pueden teñirse como Gram-positivas o Gram-negativas, según la presencia o ausencia de pseudomureína en las paredes celulares.

- El filo Crenarchaeota únicamente incluye a la clase Thermoprotei, dividida en 5 órdenes: *Thermoproteales*, *Acidilobales*, *Desulfurococcales*, *Fervidicoccales* y *Sulfolobales*. Son morfológicamente diversos (cocos, filamentos, bacilos, discos), se tiñen como Gram-negativos y todos los miembros de este grupo son termófilos obligados.
- Por último, el filo Nanoarchaeota sólo contiene a una especie, denominada *Nanoarchaeum equitans*, microorganismo que tiene su crecimiento óptimo a temperatura próxima a los 90°C. Es la única arquea estudiada hasta el momento que vive en simbiosis con otra arquea (crenarqueotas del género *Ignococcus*).

Las arqueas hipertermófilas deben poseer **mecanismos de adaptación** para conferir estabilidad térmica a la estructura de sus células y a sus biomoléculas. Las adaptaciones son las siguientes:

- a) Membrana plasmática formada por una monocapa, en lugar de una bicapa lipídica, que es más resistente al calor. Además, sintetizan lípidos bipolares de membrana del tipo tetraéter de dibifitanilo que aumentan aún más la resistencia.
- b) Presencia de unas proteínas de “choque térmico” denominadas chaperonas, que evitan la desnaturalización de proteínas a altas temperaturas. Para ello las chaperonas se unen a las proteínas y facilitan el correcto plegamiento de las mismas.
- c) La ausencia de peptidoglicano en la pared celular de las arqueas hace que sean resistentes a las lisozimas. En su lugar está formada por una capa paracristalina (capa S) que contiene proteínas y glucoproteínas hexagonales.
- d) Cambios en la secuencia de aminoácidos que permitan la compactación de sus proteínas.
- e) Incremento de la concentración citoplasmática de solutos compatibles, como la ectoína, que permitan estabilizar evitar posibles daños químicos al ADN.

- f) Presencia de la girasa inversa, una enzima topoisomerasa de tipo I capaz de producir un superenrollamiento positivo en el ADN evitando la desnaturalización de la doble hélice debido al calor (Gómez y Pérez, 2007).

4.7. Arqueas acidófilas extremas

Las arqueas acidófilas extremas o hiperacidófilas son aquellas que se desarrollan a pH menor de 3. En general, suelen ser también termófilas y en estos casos reciben el nombre de termoacidófilas extremas. Las arqueas hiperacidófilas se encuentran distribuidas en los órdenes *Sulfolobales* (filo *Crenarchaeota*) y *Thermoplasmatales* (filo *Euryarchaeota*).

En cuanto al hábitat de estas especies, se conoce que crecen en solfataras, es decir, terrenos geológicos volcánicos con fisuras por las que salen de forma intermitente vapores sulfurosos. Existen solfataras sobre todo en Islandia (Figura 6) y en el Parque Nacional de Yellowstone (Cavicchioli, 2006).



Figura 6. En la imagen se muestra la solfatara de Hverir, la mayor de Islandia.

Muchas de estas especies oxidan el azufre para la conservación de la energía y son los responsables de los valores bajos de pH observados en estos ambientes. La mayoría tienen morfología de cocos irregulares de 1-2 μm de diámetro y crecen de forma aerobia y/o anaerobia a la temperatura de ebullición en su ambiente natural (Cavicchioli, 2006).

Ahora se van a comentar las especies hiperacidófilas más relevantes: Los organismos del género *Picrophilus* (filo *Euryarchaeota*) son los más acidófilos ya que su pH óptimo de crecimiento es 0,7 a una temperatura de 59°C, incluso mueren a pH mayor de 4 (Cavicchioli, 2006). Para adaptarse a estas condiciones tan ácidas, las células

de *Picrophilus* poseen una membrana citoplasmática especial que mantiene el pH interno del citoplasma neutro (pH 4,6) e impide el paso de protones al interior de la célula. Cuando el pH exterior es superior a 4, la membrana pierde su integridad y por tanto se produce la muerte celular.

En el orden ***Sulfolobales*** encontramos el único grupo donde se incluyen arqueas termoacidófilas (tienen afinidad por ambientes donde la temperatura y la acidez son elevadas). Estas condiciones ambientales se encuentran en manantiales sulfurosos o cerca de fuentes hidrotermales oceánicas. Todas las especies de este orden crecen de forma óptima a 65-95°C, pH 2-4 y en condiciones aeróbicas. Las células son irregulares, lobulares y a veces pueden ser móviles. Este orden está compuesto por 6 géneros: *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera*, *Stygiolobus*, *Sulfurisphaera* y *Sulfurococcus*. La primera especie hipertermófila aislada fue *Sulfolobus acidocaldarius* (Cavicchioli, 2006).

Por otra parte, en el orden ***Thermoplasmatales*** se incluyen 5 géneros: *Thermoplasma*, *Acidiplasma*, *Ferroplasma*, *Picrophilus* y *Thermogymnomonas*. Todos son acidófilos extremos, siendo su pH óptimo de crecimiento 3 o inferior (Tabla 3). Las células de las especies de este orden son pleomórficas y aerobias estrictas o facultativas. Para poder soportar altas temperaturas y acidez, en lugar de pared celular, poseen una membrana citoplasmática de estructura monocapa compuesta por lipoglicano (lipopolisacárido).

Tabla 3. Temperatura y pH óptimos para el crecimiento de los 5 géneros del orden *Thermoplasmatales*, así como sus características más relevantes.

GÉNEROS	pH	TEMPERATURA	CARACTERÍSTICAS
<i>Thermoplasma</i>	2	60°C	Aerobios y anaerobios, quimioorganotrofos
<i>Acidiplasma</i>	1,0 – 1,7	Termófilo moderado (42,0 - 53,6°C)	Heterótrofos, quimiolitotrofos o quimioorganotrofos
<i>Ferroplasma</i>	1,0 – 1,7	Mesófilo (35°C)	Autótrofos estrictos, quimiolitotrofos
<i>Picrophilus</i>	0,7	60°C	Aerobios estrictos, quimioorganoheterótrofo
<i>Thermogymnomonas</i>	3	60°C	Aerobios estrictos, quimioorganoheterótrofo

4.8. Aplicaciones biotecnológicas de las arqueas

Las propiedades inusuales de las arqueas y la gran estabilidad de sus componentes celulares, las convierten en un gran recurso para el desarrollo de nuevos procesos biotecnológicos y aplicaciones industriales. Algunas de ellas son las siguientes:

- Los liposomas son vesículas constituidas por bicapas lipídicas, alternadas con partes acuosas, que son capaces de captar en su interior una gran variedad de compuestos. Los lípidos de membrana de las arqueas tienen una mayor resistencia a la oxidación, hidrólisis química y ataque de esterazas en comparación con los lípidos de membrana de otros microorganismos de diferente dominio. Por ello, se utilizan para elaborar unos liposomas especiales denominados **arqueosomas**, que tienen útiles aplicaciones en biotecnología (Cavicchioli, 2006). Estos arqueosomas tienen mayor eficiencia de encapsulación que los liposomas convencionales y poseen una potencial actividad transportadora de diversas sustancias y principios activos, mejorando incluso la eficacia de los mismos (Pérez, 2014). Se ha ensayado el uso de los arqueosomas como transportadores de antígenos y vacunas, obteniendo resultados muy favorables, y en la industria cosmética como sistemas de vectorización por vía tópica.
- Las haloarqueas tienen algunos inconvenientes relacionados con sus requerimientos salinos, ya que las sales encarecen los procesos y pueden producir la corrosión de los sistemas de cultivo; además el crecimiento es, en general, más lento que las de las bacterias. Sin embargo, son muy útiles en diferentes campos:
 - Una aplicación interesante de las haloarqueas es su capacidad de producir proteínas antimicrobianas, denominadas halocinas. Estas moléculas han demostrado ser activas frente a células tanto procariontas como eucariotas, por lo que pueden llegar a ser muy efectivas. Hay estudios que confirman que algunas halocinas son capaces de disminuir el crecimiento de la línea celular de cáncer de colon SW620 (Botella, 2017).

- Sirven para la elaboración de ciertos alimentos fermentados o para la producción de **proteínas recombinantes**, debido a los mínimos riesgos de contaminaciones en el laboratorio (de la Haba et al., en prensa).
- Las haloarqueas producen **bacteriorrodopsina**, una proteína que interviene en la síntesis de ATP (mediante fotosíntesis). Se trata de una molécula muy estable termodinámicamente por lo que tiene aplicaciones tecnológicas interesantes, sobre todo en el campo de la bioelectrónica. Se destaca su uso en la construcción de celdas fotovoltaicas, en la elaboración de discos de almacenamiento de datos de alta capacidad o en sistemas convertidores de energía luminosa en química. Por tanto, es interesante la obtención de bacteriorrodopsina de fuentes naturales, para poder ofertarlo como materia prima a gran escala (Reyes-Martínez y Zavaleta, 2005).
- Las enzimas producidas por organismos extremófilos se denominan **extremoenzimas**. Son capaces de permanecer activas catalíticamente bajo condiciones extremas de temperatura, pH, salinidad y presión. Hay muchos metabolitos de este tipo que han sido aislados y tienen aplicaciones industriales importantes. Sin embargo, existen problemas técnicos que dificultan el uso de estos compuestos en las grandes empresas, sobre todo por su disponibilidad (Alquéres et al., 2007).

Se han realizado técnicas de clonación de los genes que codifican estas enzimas, en células huésped mesófilas, es decir, células cuyo hábitat natural es a temperatura moderada, entre 15-60°C (Cálcena y Capello, 2007). De esta forma se sobreproduce la enzima y se puede alterar sus propiedades para adaptarlas a las demandas comerciales. Algunos de estos huéspedes mesófilos son *Bacillus subtilis* o *Escherichia coli* (Alquéres et al., 2007). Gracias a las técnicas de ingeniería genética es posible crear nuevos biocatalizadores, a pesar de la limitada disponibilidad de estos, para mejorar los procesos de biotransformación y dirigir las reacciones a determinados fines industriales (blanqueamiento de papel, ingeniería genética...).

- Las capas S de la envoltura celular de las arqueas han demostrado ser excelentes estructuras con aplicación en **nanotecnología** molecular y biomineralización, ya

que tienen una alta capacidad de unión y una gran habilidad para recristalizar de forma uniforme en superficies sólidas (Alquéres et al., 2007).

- Las arqueas metanógenas tienen interés industrial porque pueden ser usadas para **producir energía**, ya que el metano es un combustible poco contaminante, y para obtener biogás a través de biodigestores.
- Las enzimas de arqueas hipertermófilas, al ser muy compactas para soportar altas temperaturas, son capaces de resistir también a otros agentes, como detergentes o **disolventes orgánicos**. Esto las hace interesantes para diversas aplicaciones:
 - Industria azucarera, textil y papelera: hay varias enzimas de arqueas que intervienen en el metabolismo de los hidratos de carbono, con las que se pueden obtener jarabes de glucosa, frutosa, elaboración de bebidas, etc.
 - Industria farmacéutica: se puede determinar la glucosa en sangre y realizar otros procesos analíticos con ciertas enzimas de arqueas, como por ejemplo con la enzima glucosa DSH de *Sulfolobus solfataricus*.
 - Biología molecular: Para la realización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son necesarias ADN polimerasas termoestables, ya que hay etapas del proceso en las que la temperatura es muy elevada. Hay ciertas especies de arqueas de las que se extraen este tipo de enzimas, por ejemplo, de la especie *Pyrococcus furiosus* obtenemos la enzima polimerasa *Pfu (Pfu-pol)* (Elshawadfy et al., 2014).
- Hay arqueas acidófilas y/o termófilas que son útiles en la **industria minera**. Esta aplicación es de las más importantes y está en auge actualmente. La biolixiviación es el proceso de solubilización de metales asociados a sulfuros, utilizando la acción de ciertos microorganismos. La recuperación de cobre es el método más estudiado, a diferencia de otros metales como níquel, cinc o cobalto que continúan aún en investigación. Se han propuesto dos mecanismos que describen la biolixiviación (Castro, 2016):
 - Mecanismo directo: es el mediado por la acción de microorganismos y las reacciones químicas son catalizadas por enzimas. Requiere el contacto físico de los organismos con el mineral.

- Mecanismo indirecto: en este caso no hay contacto físico entre los microorganismos y el mineral, aunque estos son importantes porque pueden formar reactivos químicos que intervienen en el proceso. En este caso las reacciones químicas pueden no ser enzimáticas. Este procedimiento es el más aceptado y su mecanismo químico consiste en el ataque oxidativo de iones férrico y protones sobre el mineral. Hay dos vías que describen la disolución de sulfuros metálicos: mecanismo del tiosulfato y mecanismo del polisulfuro. Estos nombres provienen del compuesto principal de azufre intermediario que interviene.

Algunas de las especies de arqueas más representativas que participan en biolixiviación son las pertenecientes al género *Acidianus*, como *Acidianus copahuensis*, al género *Ferroplasma*, como *Ferroplasma thermophilum*, al género *Sulfolobus*, como *Sulfolobus metallicus* o al género *Metallosphaera*, como *Metallosphaera sedula*. En concreto *Sulfolobus metallicus* es una arquea acidófila y quimiolitotrofa cuyas enzimas son capaces de solubilizar películas de calcopirita (CuFeS_2) que se forman sobre explotaciones mineras (Castro, 2016).

La biolixiviación es una alternativa más ecológica, ya que existen técnicas tradicionales de extracción de metales que producen un impacto negativo en el medio ambiente. Por ello, es interesante seguir investigando en el área denominada biominería, que describe tecnologías que utilizan sistemas biológicos para facilitar la recuperación de metales a partir de minerales y materiales de desecho (Johnson, 2014).

5. CONCLUSIONES

Recopilando la información que se ha expuesto en este trabajo podemos afirmar que actualmente los seres vivos se clasifican en 3 dominios de vida que son *Bacteria*, *Eukarya* y *Archaea*. Se ha podido llegar a esta clasificación mediante el análisis de la secuencia del ARNr 16S, que es el mejor cronómetro molecular conocido hasta el momento. Esta molécula sirve para poder conocer la historia evolutiva de los organismos procariontes y poder encuadrar a cada especie en su grupo taxonómico.

En cuanto al dominio *Archaea*, está formado por especies procariotas, sin embargo, poseen características en común con eucariotas. Estos microorganismos se dividen taxonómicamente en 5 filos denominados: *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota*, *Korarchaeota*, *Nanoarchaeota* y *Thaumarchaeota*. Sin embargo, se suele hablar de 4 grupos bien diferenciados de arqueas: haloarqueas, arqueas metanógenas, arqueas hipertermófilas y arqueas acidófilas extremas. Las especies de estos grupos se caracterizan por crecer de forma óptima en ambientes con condiciones extremas donde la mayoría de las especies no podrían vivir (elevada concentración de sales, elevada temperatura o pH ácido). Para poder sobrevivir en estos ambientes, las arqueas extremófilas han desarrollado interesantes mecanismos de adaptación. El descubrimiento de organismos extremófilos hace pensar que es posible la vida en otro lugar del universo, aunque las condiciones ambientales sean muy diferentes a las de la Tierra.

Finalmente, comentar que las arqueas son capaces de producir moléculas que transportan de una forma óptima principios activos, de fabricar enzimas muy resistentes, de producir energía en forma de metano o de facilitar la recuperación del cobre en la industria minera. Estas son algunas de las aplicaciones industriales de las arqueas, y aún quedan muchas más que continúan siendo desconocidas. En un futuro no muy lejano, con la mejora de las metodologías analíticas y las técnicas de exploración de lugares inhóspitos, se ampliarán nuevos campos de investigación y posibles aplicaciones sorprendentes relacionadas con las arqueas.

6. BIBLIOGRAFIA

- Alquéres SM, Almeida RV, Clementino MM, Vieira RP, Almeida WI, Cardoso AM et al. Exploring the biotechnological applications in the archaeal domain. *Braz J Microbiol.* 2007;38(3):398-405.
- Amoozegar MA, Siroosi M, Atashgahi S, Smidt H, Ventosa A. Systematics of haloarchaea and biotechnological potential of their hydrolytic enzymes. 2017; 163:623-645.
- Botella HJ. Producción de halocina L8 y estudio de sus posibles aplicaciones biomédicas. Elche: Universidad Miguel Hernández; 2017.

- Cálcena E, Capello M. Condiciones de vida extrema: organismos que viven del metano. En: Goñi S y Lozano M, coordinadores. *Leis et investigare: la bioquímica del estudiante*. 5ª ed. Libro electrónico: Serie Digital; 2007. p.65-75.
- Castelle CJ, Wrighton KC, Williams KH, Banfield JF. Genomic expansion of domain archaea highlights roles for organisms from new phyla in anaerobic carbon cycling. *Current Biology*. 2015;25:690-701.
- Castro C. Interacción de una arquea termófila con la superficie mineral y su influencia en la biolixiviación de minerales. La Plata (Argentina): Universidad Nacional de la Plata; 2016.
- Cavicchioli R. *Archaea: molecular and cellular biology*. 1ª ed. Washington, DC: ASM Press; 2006.
- Delgado HP. Lípidos: de la estructura a la función en un contexto biológico. En: Muñoz V, coordinadora. *Lecturas de apoyo para comprender mejor la química*. 1ª ed. México: Prensas de ciencias; 2015. p.117-127.
- Elshawadfy AM, Keith BJ, Ooi HE, Kinsman T, Heslop P, Connolly BA. DNA polymerase hybrids derived from the family-B enzymes of *Pyrococcus furiosus* and *Thermococcus kodakarensis*: improving performance in the polymerase chain reaction. *Front Microbiol*. 2014;5(224):1-14.
- García JQ. Producción de metano en ambientes hipersalinos: diversidad microbiana, estructura y función de la comunidad de arqueas metanógenas. La Paz (California): Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.; 2014.
- Gómez P, Pérez M. Archaeobacterias hipertermófilas: vida en ebullición. *RCCV*. 2007;1(2):560-572.
- González JC y Peña A. Estrategias de adaptación de microorganismos halófilos y *Debaryomyces hansenii*. *Rev Latinoam Microbiol*. 2002;44(3-4):137-156.
- Hickman CP, Roberts LS, Larson A, l'Anson H, Eisenhour D. *Principios integrales de zoología*. 13ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2006.
- Huber H, Hohn MJ, Stetter KO, Rachel R. The phylum Nanoarchaeota: Present knowledge and future perspectives of a unique form of life. *Research in Microbiology*. 2003;153(3):165-171.

- Johnson DB. Biomining-biotechnologies for extracting and recovering metals from ores and waste materials. *Curr Opin Biotechnol.* 2014;30:24-31.
- Kutschera U. Ernst Haeckel's biodynamics 1866 and the occult basis of organic farming. *Plant Signaling & Behavior.* 2016;11(7):1-3.
- Madigan MT, Martinko JM, Bender KS, Buckley DH, Stahl DA. *Brock: biología de los microorganismos.* 14ª ed. Madrid: Pearson; 2015.
- Móra RR. La taxonomía del siglo XXI. *Act SEM.* 2009;48:18-24.
- Nunoura T, Takaki Y, Kakuta J, Nishi S, Sugahara J, Kazama H et al. Insights into the evolution of Archaea and eukaryotic protein modifier systems revealed by the genome of a novel archaeal group. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(8):3204-23.
- Pérez MA. *Microorganismos halófilos en ambientes salinos de Andalucía: Estudio taxonómico numérico y molecular.* Granada: Universidad de Granada; 2014.
- Ramírez N, Serrano JA, Sandoval H. Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Rev Mex Ciencias Farm.* 2006;37(3):56-71.
- Reyes-Martínez MA, Zavaleta AI. Bacteriorrodopsina: una molécula peculiar. *Rev Inv UNMSM.* 2005;8(1):48-58.
- de la Haba RR, Sánchez-Porro C, Ventosa A. Capítulo 20: Dominio *Archaea*. En: Martín-González A, Bejar V, Gutierrez JC, Llagostera M y Quesada E, editores. *Microbiología Esencial.* Editorial Panamericana; en prensa 2018 (pendiente publicación).
- Sánchez-Santillán N, Sánchez-Trejo R, de la Lanza GE, Garduño R. Evolución del clima a través de la historia de la tierra. *Rev Reflexiones.* 2014;93(1):121-132.
- Valenzuela-González F, Casillas-Hernández R, Villalpando E, Vargas-Albores F. El gen ARNr 16S en el estudio de comunidades microbianas marinas. *Cienc mar.* 2015;41(4):297-313.
- Vargas TF y Villazante LG. Clasificación de los Microorganismos. *Rev Act Clin Med.* 2014;44:2309-2313.
- <https://www.youtube.com/watch?v=6SEULozjymQ>
- <http://eluniversobajoelmicroscopio.blogspot.com.es/2013/12/domio-archaea.html>

- <http://julio-islandia.blogspot.com.es/2010/10/la-voz-solfatara-generalizada-hoy-para.html>