



Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas

ISSN: 1870-0195

rmcf@afmac.org.mx

Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.

México

Ramírez D., Ninfa; Serrano R., José Antonio; Sandoval T., Horacio
Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México
Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 37, núm. 3, julio-septiembre, 2006, pp. 56-71
Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.
Distrito Federal, México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57937307>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Revisión Bibliográfica

Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México

Extremophile microorganisms. Halophile actinomycetes in Mexico

Ninfa Ramírez D.,¹ José Antonio Serrano R.,² Horacio Sandoval T.¹

1. Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. Departamento de Sistemas Biológicos.
2. Grupo de Investigaciones de Actinomicetos Patógenos Humanos y del Suelo. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela

RESUMEN: hoy en día, es conocido que los ambientes que hasta hace poco eran considerados inhabitables por el hombre son colonizados por determinados organismos capaces de adaptarse a esos nichos ecológicos llamados ambientes extremos; estos organismos son llamados extremófilos. Las bacterias halófilas son microorganismos capaces de crecer en condiciones de extrema salinidad. Los ambientes hipersalinos se localizan en zonas calientes y secas como los lagos salinos y suelos salados de México.

Los actinomicetos son un grupo de bacterias filamentosas, generalmente grampositivas, que forman filamentos ramificados y cuyo hábitat principal es el suelo. Actualmente se sabe que algunas especies de actinomicetos son capaces de crecer en condiciones de extrema salinidad, formando el grupo de los actinomicetos halófilos. Los géneros *Saccharomonospora* y *Actinopolyspora* que incluyen este tipo de especies halófilas han sido localizados en diferentes puntos geográficos del planeta. En este artículo se muestra un panorama general de los diferentes tipos de microorganismos extremófilos, haciendo especial referencia al caso de los actinomicetos halófilos. Por otro lado, basado en procesos de muestreo, técnicas de identificación y caracterización para actinomicetos halófilos, se reporta la predominancia de los géneros *Saccharomonospora* y *Actinopolyspora* en las zonas sur y norte de México respectivamente.

ABSTRACT: nowadays, is well known that environments that were considered inhabitable to man have been colonized by certain type of organisms capable of adapted to these ecological niches known as extreme environments. The halophilic bacteria are microorganisms capable of growth in extreme conditions of salinity. The salinity environments are localized in hot and dry geographical areas, such as salty lakes and salty soils from Mexico.

The actinomycetes are Gram positives filamentous bacteria which form branched filamentous cells and are mainly found in soil. Recently, it has been found that some actinomycetes species are able to growth in extreme environmental conditions of salinity, this group of microorganisms are halophilic actinomycetes. Among these halophilic actinomycetes can be found organisms that belong to the genus *Saccharomonospora* and *Actinopolyspora*, microorganisms that have been found in several geographical areas of earth.

The present article represents an overview on the different kinds of extremophilic microorganisms with particular reference to the halophilic actinomycetes. The present work shows results of research studies conducted to demonstrate the presence of halophilic actinomycetes in different geographical regions of Mexico. As a result of these studies we were able to demonstrate the presence of the genus *Saccharomonospora* in the south region and *Actinopolyspora* in the north region of Mexico.

Palabras clave: *Extremófilos, halófilos, actinomicetos, Saccharomonospora, Actinopolyspora*

Key words: *Extremophile, halophile, actinomycete, Saccharomonospora, Actinopolyspora*

Correspondencia:

Ninfa Ramírez D.
Departamento de Sistemas Biológicos.
Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco
Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud,
Coyoacán 04960, México D. F.
Tel: 54837256 Fax: 54837525
e-mail:ninfard@hotmail.com; hsandov@correo.xoc.uam.mx

Fecha de recepción: 11 de mayo de 2005
Fecha de aceptación: 18 de mayo de 2006

Introducción

El término extremófilo fue usado por vez primera por Macelroy en 1974 hace tres décadas¹. “Ambiente extremo”, es un término relativo, ya que los ambientes que pueden ser extremos para un organismo, pueden ser esenciales para la supervivencia de otro organismo. Los extremófilos se desarrollan bajo condiciones que podrían matar a la mayoría de otras criaturas y muchos no pueden sobrevivir en los ambientes considerados globalmente normales. Los ambientes extremos incluyen aquellos con temperaturas muy elevadas (55-121°C) o bajas (-2-20°C), alta salinidad (NaCl 2-5M) y alta alcalinidad (pH arriba de 8) o alta acidez (pH menor de 4).^{2,3}

Los extremófilos presentan un interés científico diversificado. En principio, son frecuentemente taxones no descritos con anterioridad que en el momento de su descubrimiento vinieron a completar el conocimiento filogenético de los seres vivos y también a enriquecer los debates relativos al origen y a los límites de la vida. El descubrimiento de microorganismos que habitan en ambientes con temperaturas extremas, pH extremos, altas presiones barométricas y alta salinidad, ha despertado el interés de su estudio desde el punto de vista biotecnológico debido a las características de estos microorganismos ya que sus biomoléculas son necesariamente resistentes a las condiciones agresivas de su entorno, lo que desemboca en intensos trabajos para intentar comprender los mecanismos íntimos de resistencia, pero también para estudiarlos en la perspectiva del desarrollo de aplicaciones industriales entre las que la PCR (Polymerase Chain Reaction) constituye el más destacado ejemplo. Además, la presencia de microorganismos en ambientes extremos hace especular que la vida podría existir en algunos de los ambientes extremos encontrados en el espacio extraterrestre.⁴

La mayoría de las enzimas usadas hasta la fecha se originan de organismos mesófilos y, a pesar de sus muchas ventajas, el uso de estas enzimas está restringido debido a su estabilidad limitada en los extremos de la temperatura, del pH y de la fuerza iónica. Por otra parte, los extremófilos son una fuente potente de enzimas, que demuestran alta estabilidad bajo condiciones extremas.^{5,6,7}

Los extremófilos han despertado el interés de varias industrias, debido a sus enzimas, catalizadores biológicos que aceleran las reacciones químicas de la célula, como en el caso de las arqueas extremófilas les permiten colonizar los ambientes más inhóspitos. Las enzimas habituales tienen ciertas limitaciones, sin embargo las extremoenzimas, empiezan a operar justo en el punto donde las habituales dejan de funcionar. Existen numerosos procesos industriales que requieren el uso de estos aceleradores químicos, tal es el caso de las enzimas que participan en la producción de edulcorantes, papel, síntesis de detergentes, elaboración de alimentos como pan y vino, tratamiento de residuos, extracción de petróleo, obtención de biochips para la identificación de personas y el diagnóstico de enfermedades.⁸

En este trabajo se presenta un panorama de los microorganismos extremófilos, incluyendo las características de los ambientes que habitan, su crecimiento, mecanismos de adaptación, aplicaciones y los principales ejemplos de estos microorganismos. Por otro lado, se hace mención de la presencia de microorganismos extremófilos halófilos encontrados en México, así como los géneros predominantes en diferentes zonas del país.

Termófilos

Se consideran termófilos aquellos microorganismos que crecen en temperaturas por encima de 65°C, la temperatura para un crecimiento óptimo se encuentra entre 70 - 80°C y la máxima entre 80 - 113°C. La mayoría de las bacterias mesófilas crecen más rápidamente entre 25 y 40°C. No se han encontrado animales o plantas multicelulares que vivan por arriba de los 50°C.^{9,10}

El límite de temperatura a la que se pueden encontrar organismos no se conoce aún aunque se cree que por encima de 150°C ninguna forma de vida podría evitar la ruptura de los enlaces químicos que forman el ADN y otras moléculas esenciales. En función de la temperatura de crecimiento, los organismos se clasifican de la manera siguiente, Tabla 1.

Ambientes

Los hábitat naturales con temperaturas permanentemente altas (por encima de 45 - 50°C) están restringidos a unas pocas zo-

Tabla 1. Clasificación de los microorganismos en función de su temperatura óptima de crecimiento

Temperatura	Descripción
Hipertermófilos	Su temperatura óptima de crecimiento está por encima de los 80°C y el máximo crecimiento de cultivos puros se ha llegado a dar entre 110 y 113°C.
Termófilos	Crece por encima de los 45°C.
Mesófilos	Temperatura óptima alrededor de 37°C. Frecuentemente son capaces de crecer en rangos alrededor de 25 a 45°C.
Psicrófilos	Capaces de crecer por debajo de 5°C y con temperaturas máximas de 20°C. Frecuentemente son capaces de crecer en rangos alrededor de 10°C.
Psicrófilos facultativos	Temperatura óptima de 15°C llegando a alcanzar los 20°C y también capaces de crecer hasta por debajo de 0°C.

nas de la biosfera, normalmente relacionadas con fenómenos volcánicos: fuentes termales volcánicas terrestres, fuentes termales submarinas (fumarolas hidrotermales) asociadas a las grandes dorsales oceánicas y materiales en fermentación como acúmulos de abono (compostas) los cuales pueden alcanzar temperaturas de 65°C.

Adaptaciones

Sus enzimas tienen alta estabilidad térmica debido principalmente a redes de interacciones iónicas y modificaciones de la membrana plasmática. En **Bacteria**, presentan alargamiento de las cadenas de ácidos grasos (C₁₈-C₂₄), incremento de ácidos grasos saturados, presencia de ramificaciones y ciclos hopanoides. En **Arquea**, los lípidos son muy especiales, se trata de éteres de hidrocarburos unidos al glicol (el enlace éter es más resistente). Algunas presentan una monocapa de C₄₀ - biftanil - tetraéteres, (como resultado de la unión "cola con cola" 2 moléculas de C₂₀ - fitanil - diéteres) que condicionan una extrema resistencia a agentes ambientales.^{9,11}

Ejemplos

Bacterias

Thermus aquaticus, crece a temperaturas mayores de 70°C y es ampliamente utilizada en la industria para la tecnología PCR (Polymerase Chain Reaction).

Arqueas

Hay tres grupos principales de hipertermófilos en las arqueas; los sulfuro dependientes (metabolizan azufre para obtener energía), los sulfuro reductores y los metanogénicos. La mayor parte de los termófilos de esta división son sulfuro dependientes

y se presentan como sulfuro reductores anaeróbicos (crecen a temperaturas mayores de 90°C y la mayoría son de origen marino) y sulfuro oxidantes aerobios (estos últimos menos termófilos). *Sulfolobus acidocaldarius*, crece a partir de 85°C en fuentes termales ácidas o suelos superficiales (pH de 1 a 5). Para *Pyrolobus fumarii*, la temperatura óptima de crecimiento es de 105°C pero puede crecer hasta los 113°C, sin embargo detiene su crecimiento cuando la temperatura disminuye a menos de 90°C. Crece en las paredes de las fumarolas.

Eucariotas

Cyanidium caldarium, su afiliación taxonómica no es todavía muy clara pero generalmente se agrupa dentro de las algas rojas. Su crecimiento óptimo se produce a 45°C y la temperatura máxima posible es de 57°C, siempre en ambientes ácidos¹². *Alvinella pompojana*, vive en chimeneas hidrotermales con pronunciados gradientes de temperatura, a unos 68°C, aunque se pueden exceder los 81°C.¹³

Aplicaciones

El caso espectacular lo ofrece *Thermus aquaticus*, este microorganismo descubierto en 1968 fue localizado en las aguas de los géiseres del parque Yellowstone, en Wyoming. Una de sus enzimas, la *polimerasa taq*, hizo posible que dos décadas después en el año 1985, un investigador norteamericano, Kary Mullis desarrollara un método que permite, a partir de una muestra muy pequeña de ADN, obtener millones de copias de ADN *in vitro*, en unas pocas horas y sin necesidad de usar células vivas. Hoy esta enzima a veces es sustituida por la *polimerasa Pfu*, que ha sido aislada del hipertermófilo *Pyrococcus furiosus*, y que ofrece su mejor rendimiento a una temperatura de 100°C.^{11,14}

Tabla 2. Enzimas de termófilos y sus aplicaciones

	Enzima	Aplicación
	Proteasas	Detergentes, alimentos, elaboración de cerveza y panadería
	Glicosil hidrolasas (amilasas, pululanasa, glucoamilasas, glucosidasas, celulasas, xilanasas)	Almidón, celulosa, quitina, pectina y procesamiento de textiles.
Microorganismo Termófilos	Quitinasas	Modificación de alimentos y productos para la salud
	Lipasas, esterasas	Detergentes, reacciones estereo-específicas (<i>trans</i> -esterificación, biosíntesis orgánica)
	ADN - polimerasas	Biología molecular (PCR)
	Deshidrogenasas	Reacciones de oxidación

Varios tipos de enzimas termoestables son requeridas en la industria de detergentes, alimentos, almidón, textiles, piel, papel y farmacéutica. En la industria de los detergentes y jabones para la ropa se utilizan biocatalizadores que quiten las manchas a baja temperatura, mientras que en tratamientos de esterilización de ropa de quirófano se prefiere un jabón que tenga biocatalizadores que funcionen a altas temperaturas. La industria del cuero y las pieles requiere enzimas que degraden proteínas de la piel de los animales en condiciones de alta salinidad. En cada caso se emplearán enzimas provenientes de diferentes extremófilos.^{5,11}

En la tabla 2 se muestran las principales enzimas de los microorganismos termófilos y sus aplicaciones industriales.^{8,14}

Psicrófilos

El agua es el disolvente primordial para la vida y debe estar presente en estado líquido para que ésta ocurra. Esto pone un límite para el crecimiento de organismos por debajo de los 0°C. Típicamente los organismos psicrófilos pueden crecer en temperaturas por debajo de los 5°C, aunque su rango de temperaturas de crecimiento pueden ir desde los 20°C hasta menos de 0°C.⁹

Ambientes

Los ambientes fríos son actualmente mucho más comunes y extensos que los calientes en la Tierra y en el Universo. En la tierra la temperatura media de los océanos es de tan sólo 2 a 3°C aunque puede

ser mayor en la superficie, pero a 200 metros de profundidad esta se iguala casi totalmente, por otro lado hay extensas áreas en el ártico y antártico que permanecen heladas la mayor parte del año.

Las variaciones de temperaturas, pH y salinidad del medio ambiente en el que se encuentren estos organismos psicrófilos son de decisiva importancia para su crecimiento. El régimen de salinidad del hielo marino varía durante el proceso de formación así como el pH debido a la actividad biológica o la precipitación de carbonatos.^{15,16}

Los principales ambientes habitados por los psicrófilos incluyen regiones polares, montañas altas, glaciares, el fondo de los océanos, sistemas subterráneos bajos (cuevas), la atmósfera superior y las superficies de las plantas y de los animales que viven en los ambientes fríos, donde las temperaturas nunca exceden los 5°C.

Muchos psicrófilos viven en los biotopos que tienen factores tales como baja temperatura y alta presión barométrica en los mares profundos, o la alta concentración de la sal y la baja temperatura en el hielo del mar.^{17,18,19,20,21}

Adaptaciones

Los psicrófilos han desarrollado mecanismos de adaptación para realizar sus funciones metabólicas a bajas temperaturas incorporando características únicas en sus proteínas y membranas. Comparado con las proteínas de mesófilos, las proteínas psicró-

filos muestran disminución en interacciones iónicas y enlaces del hidrógeno, poseen menos grupos hidrofóbicos y más grupos cargados en su superficie. Debido a estas modificaciones, a bajas temperaturas, las proteínas de los psicrófilos pierden su rigidez y ganan flexibilidad estructural para la realización de sus funciones catalíticas. Las membranas de los psicrófilos contienen una mayor proporción de ácidos grasos no saturados, por lo que su fluidez y capacidad de transportar los nutrimentos se mantienen bajo condiciones muy frías.^{17, 18, 19, 20, 21}

Ejemplos

Bacterias

Gram-negativas: *Pseudoalteromonas*, *Moraxella*, *Psychrobacter*, *Polaromonas*, *Psychroflexus*, *Polaribacter*, *Moritella*, *Vibrio* y *Pseudomonas*

Gram-positivas: *Arthrobacter*, *Bacillus* y *Micrococcus*.

Arqueas

Methanogenium, *Methanococcoides* y *Halorubrum*

Hongos y Levaduras

Penicillium, *Cladosporium*, *Candida* y *Cryptococcus*

Eucariotas

Reomita globosa, flagelado heterotrófico del Antártico que puede soportar cambios de temperatura con ciclos de congelación-descongelación y temperaturas diurnas en ocasiones de más de 20°C. En la antártida hay al menos otras 24 especies de protistas, líquenes y mohos que viven en estas condiciones. La temperatura óptima para el crecimiento de *Heteromita* es de 23°C, pero bajo condiciones extremas demuestra adaptaciones como el enquistamiento durante cortos periodos de tiempo, que le permiten crecer activamente a temperaturas cercanas a los 0°C.^{17, 18, 19, 20, 21, 22}

Aplicaciones

Los psicrófilos son capaces de degradar sustancias poliméricas tales como: almidón, celulosa, xilano, pectina, quitina, proteínas y lípidos; produciendo enzimas como: amilasa, celulasa, xilanasa, pectinasa, quitinasa, proteasa y lipasa respectivamente.^{8, 23, 24}

Polaromonas vacuolata, hallado en el océano Antártico, tiene una temperatura óptima de crecimiento de 4°C y es capaz de multiplicarse si la temperatura aumenta más allá de los 8°C.²⁵ La industria alimentaria esta poniendo los ojos en este extremófilo debido a que el procesamiento de ciertos alimentos precisa a menudo de enzimas que trabajen en frío para evitar su deterioro, igualmente se han fijado también los fabricantes de perfumes y de detergentes de lavado frío. Las enzimas de los psicrófilos podrían utilizarse para producir grasas y aceites insaturados de forma natural, esto nos permitiría la elaboración de productos alimenticios más sanos. En la tabla 3 se muestran las principales enzimas de los psicrófilos y sus aplicaciones industriales.

Alcalófilos

Se llaman alcalófilos aquellos organismos que viven en ambientes con pH por encima de 9.⁹

Ambientes

Los microorganismos alcalófilos se encuentran por lo general en hábitats muy básicos como lagos sódicos y suelos muy carbonatados, como los que se encuentran en Egipto, el Rift Valley de África y oeste de los Estados Unidos, pertenecen al género *Bacillus* y son también halófilos.

Tabla 3. Enzimas de psicrófilos y sus aplicaciones

	Enzima	Aplicación
	Proteasas	Detergentes, alimentos (productos lácteos)
Microorganismo Psicrófilos	Amilasas	Detergentes y panadería
	Celulasas	Detergentes, alimentos y textiles
	Deshidrogenasas	Biosensores
	Lipasas	Detergentes, alimentos y cosméticos

Tabla 4. Enzimas y otros metabolitos de alcalófilos y sus aplicaciones

	Enzima	Aplicación
Microorganismo Alcalófilos	Amilasas y lipasas	Detergentes
	Proteasas, celulasas	Detergentes, alimentos
	Ciclodextrinas	Estabilización de sustancias volátiles
	Antibióticos	Industria farmacéutica

Adaptaciones

Los alcalófilos necesitan aislar el interior de la célula del medio alcalino exterior ya que algunas moléculas, especialmente las hechas de ARN, se rompen a pH superior a 8. Como en el caso de otros extremófilos las células de los alcalófilos se protegen con extremoenzimas que se localizan cerca de la pared celular o por medio de secreciones externas.

A partir de los estudios realizados con especies alcalófilas de *Bacillus* se ha puesto de manifiesto que en vez del habitual gradiente de protones, es un gradiente de Na⁺ el que suministra la energía para el transporte y la movilidad, pero también se genera una fuerza motriz de protones responsable de la síntesis respiratoria de ATP.⁹

Las bacterias alcalófilas además de la peptidoglicana tienen en su pared celular polímeros cargados negativamente, los cuales pueden reducir la densidad de la carga en la superficie de la célula y ayudar a estabilizar la membrana de la célula.^{26,27,28}

Ejemplos

Bacterias

Los procariotas mejor estudiados han sido bacterias aeróbicas no marinas, muchas de las cuales son especies de *Bacillus*.⁹

Spirulina (cianobacterias), principal habitante de muchos lagos salados del Rift Valley, donde sirven de alimento a colonias inmensas de flamings. Los excrementos de esos mismos al caer al agua de los lagos proporcionan un campo de cultivo fenomenal para distintas especies de protistas y rotíferos.

Arqueas

Algunos microorganismos alcalófilos extremos son también halófilos y la mayor parte de éstos pertenecen al dominio Arquea.⁹

Aplicaciones

En la industria de detergentes se han empleado enzimas alcalófilas, estos detergentes contienen aproximadamente 25% de estas

enzimas del total de una producción. Recientemente las proteasas alcalinas son producidas a partir de cepas de *Bacillus* alcalófilos y éstas son comercialmente utilizadas en procesos industriales. En la tabla 4 se muestran las principales enzimas de los alcalófilos y sus aplicaciones industriales.²⁷

Acidófilos

Hasta ahora se conocen muy pocos organismos capaces de vivir en medios con pH cercano a cero, sin embargo cuando los valores son más moderados hay una gran proliferación. Se consideran acidófilos aquellos organismos que viven en medios con pH menor de 5.⁹

Ambientes

Los ambientes ácidos surgen naturalmente de actividades geoquímicas, como pueden ser la producción de gases sulfurosos de emanaciones volcánicas. También es posible crear ambientes ácidos debido a la propia actividad o metabolismo de los organismos (Río Tinto). Otro lugar donde es posible encontrar acidófilos es en las escorias de las minas, como por ejemplo en "The Iron Mountain Mine" en California del Norte donde crece la arquea *Ferroplasma acidarmanus* en soluciones con pH 0.5 a 1.

Adaptaciones

Para soportar el pH bajo, los acidófilos emplean una gama de mecanismos por ejemplo: una superficie de membrana cargada positivamente, una alta capacidad reguladora interna, y sistemas únicos del transporte.^{26,27,29}

Ejemplos

Bacterias

En la tabla 5 se muestra algunas bacterias acidófilas y su asociación a ambientes con alta temperatura.

Arqueas

Ferroplasma acidarmanus, un acidófilo extremo que crece en ambientes de pH cercano a cero. Este arquea ha sido aislado y

Tabla 5. Relación de temperaturas de acuerdo al tipo de metabolismo

Relación con la temperatura	Especies
Mesófilos	<i>Thiobacillus ferrooxidans</i> , <i>T. thiooxidans</i> , <i>T. prosperus</i> , <i>Leptospirillum ferrooxidans</i> .
	<i>Acidiphilum cryptum</i>
	<i>T. acidophilus</i> , <i>T. organovorvus</i> , <i>T. cuprinus</i> .
Termófilos moderados	<i>Sulfobacillus</i> <i>thermosulfidooxidans</i> , <i>Metrallosphaera sedula</i> .

se estudia su mapa genético. Recientemente se añadieron dos nuevos procariotas a la escasa lista de organismos acidófilos; *Picrophilus oshimae* y *Picrophilus torridus*, también termófilos y crecen en solfataras japonesas.³⁰

Eucariotas

Cyanidium caldarium, es capaz de vivir en pH cercano a cero, manteniendo el interior de la célula en un nivel casi neutro. *Acontium cylatium*, *Cephalosporium sp.* y *Trichosporon cerebriae*, son tres eucariotas del Reino Fungi. Los últimos en añadirse a la lista son *Picrophilus oshimae* y *P. torridus*.³¹

Aplicaciones

La acidez y la solubilidad del metal que producen las bacterias acidófilas desempeñan una función benéfica en minería. El sulfuro al combinarse con muchos metales, forma minerales muy insolubles, y muchas de las minas de donde se extraen dichos metales son sulfuros. Si la concentración del metal en la mina es baja, es posible que no sea económicamente rentable concentrar el mineral por medios químicos convencionales. En estas condiciones se suele aprovechar la lixiviación microbiana. Resulta especialmente útil en el caso del cobre, ya que el sulfato de cobre que se forma durante la oxidación de las minas de sulfuro HS⁻, se oxida espontáneamente en contacto con el aire. La mayoría de sulfuros metálicos también se oxidan espontáneamente, pero a mucha menor velocidad que el sulfuro libre. Bacterias como *Thiobacillus sulfobolus* pueden actuar como catalizador y acelerar la velocidad de oxidación de los minerales que contienen sulfuro, ayudando a la solubilización del metal.⁹

Además de llevar a cabo procesos de desulfuración, los acidófilos cuentan con enzimas de interés industrial, como se muestra en la tabla 6.

Xerófilos

La pérdida de pequeñas fracciones de agua intracelular puede ser letal para muchas células, sin embargo existen ciertos organismos que pueden sobrevivir a una extrema desecación incluso durante largos periodos de tiempo. Los microbios especializados que pertenecen a los hongos, líquenes y algas tienen la capacidad de crecer en tales condiciones extremadamente secas. Estos organismos especializados se llaman los xerófilos.^{2,3}

Ambientes

Los organismos capaces de sobrevivir en condiciones de extrema sequedad van desde colonias de bacterias hasta colonias simbióticas de algas con hongos (líquenes). Generalmente las colonias de bacterias sobreviven mejor en las rocas expuestas al sol, pero en el caso de que las rocas hayan sido colonizadas previamente por líquenes, las bacterias no pueden desarrollarse plenamente. Esto puede deberse a diferencias en la humedad o por ácidos orgánicos producidos por los líquenes.

Adaptaciones

Disacáridos como la sacarosa, protegen a las membranas y proteínas de la desecación estando relacionada la acumulación de estos disacáridos con la longevidad de ciertos organismos. Cuando se retira el agua de la capa de fosfolípidos de la membrana, el disacárido actúa de forma que mantiene las membranas desecadas en un estado físico similar al de las membranas hidratadas.

Las bacterias absorben manganeso y hierro de la atmósfera y lo precipitan sobre la superficie de las rocas como una capa negra de óxido de manganeso o como una rojiza de óxido de hierro. Esta pequeña capa de precipitado también incluye partículas de arcilla cementadas que ayudan a las bacterias a combatir la desecación.⁹

Ejemplos

Bacterias

Se conocen varios tipos de bacterias xerófilas como *Metallogenium* y *Pedomicrobium*. Su tamaño varía desde 0.4 a 2 micrómetros de largo.

Eucariotas

Aunque los líquenes pueden soportar condiciones ambientales de extrema sequedad, generalmente no son tan resistentes como los microbios. El líquen se deseca muy rápidamente y puede perder hasta el 98% de su contenido en agua. Puesto que son los primeros en colonizar las rocas tienen un papel muy importante en la formación de suelos atacando la superficie de la roca y arrancando fragmentos microscópicos de ésta.^{2,3,32}

Tabla 6. Enzimas de acidófilos y sus aplicaciones

	Enzima	Aplicación
Microorganismos Acidófilos	Amilasas, glucoamilasas	Procesamiento de almidón
	Proteasas, celulasas	Componentes alimenticios
	Oxidasas	Desulfuración de carbón

Aplicaciones

Debido a que los estudios actualmente son muy limitados, el potencial biocatalítico de los microorganismos xerófilos y de sus enzimas todavía no ha sido estimado.

Metalófilos

Los microorganismos que pueden crecer en la presencia de altas concentraciones de metales se llaman metalófilos.

Ambientes

Estos organismos, incluyendo varios miembros del género *Ralstonia*, colonizan los sedimentos, los suelos o las basuras industriales con alto contenido de metales pesados.

Adaptaciones

Una característica típica de *Ralstonia* (metal-resistente) es la presencia de grandes plásmidos que contienen genes para la múltiple resistencia a los metales pesados. Estos plásmidos confieren resistencia al Zn, Cd, Co, Pb, Cu, Ni y Cr.

Ejemplos

Ralstonia metallidurans, bacteria Gram-negativa no esporulada, se desarrolla en concentraciones milimolares de metales pesados tóxicos. Fue el primer aislado en 1976 del lodo de un tanque de decantación del cinc en Bélgica el cual había sido contaminado con metales pesados en elevadas concentraciones.^{33,34}

Aplicaciones

Puesto que la contaminación por metales pesados plantea una amenaza a la salud pública, a la industria pesquera y a la fauna, existe un interés creciente en desarrollar sistemas que puedan remover o neutralizan los efectos tóxicos de metales pesados en suelos, sedimentos y aguas residuales.^{1,2,3}

Muchos microorganismos, incluyendo *Ralstonia*, se podrían utilizar en la bioremediación de metales pesados. Estas bacterias también pueden ser utilizadas para inmovilizar ciertos metales pesados eficientemente. Esto sería posible debido a su capacidad para reducir dichos elementos a un estado redox mas bajo, produciendo metales con baja bioactividad. Las bacterias metalófilas muestran un gran número de actividades enzimáticas que transforman ciertos metales por medio de reacciones como oxidación, reducción, metilación y alquilación. Las transformaciones enzimáticas que conducen a la precipitación y a la inmovilización del metal están siendo aplicadas a la biorremediación.^{33,34}

Piezófilos (Barófilos)

Los microorganismos que requieren condiciones de alta presión (superior a 1 atm) para su desarrollo y crecimiento se llaman los piezófilos (conocidos antes como barófilos). Los organismos aislados a profundidades de alrededor de 400 m y utilizados en estudios que relacionan el crecimiento o la actividad metabólica con la presión, demuestran que son barotolerantes, se han obtenido barófilos en profundidades mayores entre 5,000 y 6,000 m; mientras que a profundidades mayores de 10,000 m se han obtenido barófilos extremos.^{1,2,3,11}

Ambientes

Se encuentran en las profundidades marinas. Los océanos son el principal hábitat para los piezófilos, incluyendo varios termófilos e hipertermófilos.³⁵

Adaptaciones

Un organismo que crece a presión elevada experimenta un aumento en la concentración de ácidos grasos no saturados presentes en la membrana plasmática. La velocidad de crecimiento relativamente lenta de los barófilos se debe, por una parte, a una combinación de efectos de la presión sobre los procesos bioquímicos de la célula y, por otra, a que estos organismos sólo crecen a bajas temperaturas, que causan una considerable disminución de la velocidad de las reacciones químicas.^{36,37}

Ejemplos

Los piezófilos se distribuyen entre los géneros *Shewanella*, *Coelwellia*, *Moritella*, *Methanococcus*, *Pyrococcus* and *Thermus*.^{7,35}

Aplicaciones

Las enzimas de los piezófilos que son estables a presiones elevadas han sido aisladas de una amplia variedad de microorganismos, la mayoría de los cuales son termófilos o psicrófilos con crecimiento óptimo arriba de una atmósfera.^{7,35}

Durante el proceso de envasado y esterilización de los materiales para alimentos, las altas presiones que superan los 100 mega pascales se pueden utilizar para inducir la formación de geles, gránulos del almidón, desnaturalización y coagulación de proteínas; así como la transición de las fases de lípidos. El uso de la alta presión es utilizada para mejorar la conservación del sabor y del color de ciertos productos. Por lo tanto, las enzimas que pueden funcionar a presión y temperatura elevadas tienen grandes ventajas en procesos biotecnológicos.^{7, 35, 38, 39, 40}

Aunque existen muchos usos biotecnológicos posibles de los piezófilos y de sus enzimas, hay pocos usos prácticos conocidos. Esto es debido al hecho de que no es fácil cultivar este tipo de microorganismos bajo condiciones seguras de presión elevada. Por lo tanto, las características de estas enzimas y de otros componentes celulares todavía no se han investigado completamente.^{7, 35}

Halófilos

Se llaman halófilos a aquellos organismos que requieren cierta concentración de NaCl para su desarrollo y crecimiento. Pueden ser clasificados en función de la cantidad de sal que requieren, en la tabla 7 se muestran las distintas concentraciones de NaCl que necesitan los halófilos para crecer.

Ambientes

La diversidad de los microorganismos halófilos es muy variada. Muchos de estos microorganismos han sido aislados de hábitats que presentan alta salinidad ubicados en diferentes puntos geográficos del planeta⁴¹. Los ambientes extremadamente salinos son raros, la mayoría se encuentran en zonas calientes y secas, como son lagos salinos (Gran Lago Salado de Utah y el Mar Muerto), suelos salados y alimentos salados principalmente. Las salinas marinas son también buenos hábitat para los procariontes halófilos extremos. Se han aislado halófilos extremos en alimentos con alta concentración de sal, como salmueras, salsa de soya y pescado.⁹

Adaptaciones

La membrana citoplasmática constituye una barrera que separa el citoplasma del medio externo en el que pueden producirse cambios en la concentración de sales, por lo que debe jugar un papel importante en la respuesta de la célula a dichos cambios. Se ha demostrado que la adaptación de la composición lipídica de las membranas celulares frente a una nueva situación de estrés osmótico incluye modificaciones en el tipo de fosfolípidos existentes en las membranas, y en el tipo de ácidos grasos que forman parte de los lípidos.⁴²

La principal estrategia que desarrollan los microorganismos halófilos para adaptarse al estrés osmótico se basa en la acumulación masiva de compuestos en el citoplasma para compensar la presión osmótica del medio externo. Los compuestos acumulados

Tabla 7. Clasificación de halófilos en función de la salinidad

Halófilos	Concentraciones de NaCl
Halófilos Extremos	Arriba de 20 %
Halófilos Moderados	Arriba de 10 – 20 %
Halófilos Débiles	0.5 - 10 %
Halotolerantes	Toleran la salinidad

pueden ser iónicos o no iónicos, según el tipo de microorganismo, lo que determina de forma general la existencia de dos mecanismos principales de acumulación. El primero de ellos, denominado mecanismo “*salt-in*” es típico de Arqueas y *Haloanaerobiales* (bacterias halófilas moderadas anaerobias estrictas), que acumulan en su citoplasma iones inorgánicos, principalmente K⁺ y Cl⁻. El aumento en la concentración de KCl en el citoplasma conlleva a una adaptación a las altas concentraciones salinas de todas las proteínas y otros componentes celulares como los ribosomas.⁴³

El segundo mecanismo conocido como “*salt out*”, es el que utilizan las bacterias tanto halófilas como no halófilas, además de las arqueas metanógenas halófilas moderadas. Estos microorganismos, en respuesta al estrés osmótico, acumulan en su citoplasma compuestos orgánicos de bajo peso molecular que mantienen el equilibrio osmótico sin interferir con el metabolismo celular, por lo que se denominan **solutos compatibles**⁴⁴. Se trata de un sistema mucho más flexible, ya que permite la adaptación a las fluctuaciones en la presión osmótica del medio. Los solutos compatibles pueden acumularse tras su transporte al interior celular desde el medio externo, o bien mediante síntesis, como sucede, por ejemplo cuando las bacterias se cultivan en un medio mínimo⁴⁵. Los principales solutos compatibles descritos a la fecha son: aminoácidos, azúcares, glicina betaína, ectoína e hidroxiectoína.^{46, 47, 48, 49, 50}

Ejemplos

Bacterias

La mayoría de las bacterias halófilas, Gram positivas y Gram negativas; aerobias o anaerobias facultativas son consideradas como miembros de los géneros: *Halomonas*, *Delega*, *Volcaniella*, *Flavobacterium*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*, *Halovibrio* y *Chromobacterium*.⁴¹

Arqueas

Las arqueas halófilas se distribuyen en seis géneros principales, de los cuales cuatro incluyen miembros que crecen a pH neutro: *Halobacterium*, *Haloferax*, *Haloarcula* y *Halococcus*. Los miembros

pertencientes a los géneros *Natronobacterium* y *Natronococcus* requieren condiciones alcalinas para su crecimiento.⁵¹

Dentro de las especies más estudiadas, se puede mencionar a *Halobacterium halobium*, principal habitante del Gran Lago Salado de Utah en Estados Unidos, se adapta a la alta concentración de sal y escasez de oxígeno, desarrollando una proteína en la membrana llamada bacteriorodopsina; esta proteína con-

tiene pigmentos que dan un color púrpura a la membrana y su capacidad de reaccionar ante la luz crea un gradiente protónico en la membrana, permite la síntesis del ATP, importar iones de potasio o exportar los del sodio; *Halobacterium salinarum*, concentra cloruro de potasio en su interior para evitar la deshidratación. Su crecimiento óptimo se da a 50°C, un pH 7.2 y concentraciones de NaCl de 3.5 a 4.3 M. también utiliza la bacteriorodopsina.⁵²

Tabla 8. Actinomicetos halófilos aislados en diferentes partes del mundo

Microorganismo	Procedencia	Crecimiento óptimo % NaCl
<i>Actinopolyspora halophila</i>	Contaminante en medio con 25% de NaCl. Canadá	10
<i>A. mortivallis</i>	Suelo salado. Valle de la muerte, California	5 - 25
<i>A. iraquensis</i>	Suelo salino. Iraq	10 - 15
<i>Nocardiopsis lucentensis</i>	Suelo salado. Alicante, España.	10
<i>Nocardiopsis halophila</i>	Suelo salino. Iraq	20
<i>Nocardiopsis kunsanensis</i>	Salinas de Kunsan. Korea	10
<i>Nocardioides aquaticus</i>	Lago salado Ekho. Antártida	1-6
<i>Friedmanniella lacustris</i>	Lago salado Ekho. Antártida	4
<i>Streptimonospora salina</i>	Lago salado Oeste de China	15
<i>Saccharomonospora halophila</i>	Suelo pantanoso. Kuwait	10
<i>Nocardiopsis xinjiangensis</i>	Suelo salino. Xinjiang, China	10
<i>Streptomonospora alba</i>	Suelo salino. Xinjiang, China	10 - 15
<i>Prauserella halophila</i>	Suelo salino. Xinjiang, China	10
<i>Prauserella alba</i>	Suelo salino. Xinjiang, China	10
<i>Saccharomonospora paurometabolica</i>	Suelo salino. Xinjiang, China	10

Eucariotas

Hay un amplio rango de grupos taxonómicos eucariotas, aunque muy pocos han sido estudiados en cultivos. *Dunaliella salina*, vive en lagos salados en los que muchas veces es la única alga presente. Sintetiza altas concentraciones del glicerol intracelular 7 M (56%) como soluto compatible para mantener el balance osmótico.

Actinomicetos

El número de actinomicetos halófilos que se conocen actualmente es muy reducido, en los últimos años se han reportado muy pocos géneros de actinomicetos halófilos; de modo que el estudio de la biología de actinomicetos halófilos incluyendo su aislamiento, identificación y caracterización empieza a mostrar la diversidad de estos microorganismos en varias partes del mundo.

En 1975 se dio a conocer por vez primera el reporte de un actinomiceto capaz de crecer en altas concentraciones de salinidad, *Actinopolyspora halophila*,⁵³. Dieciséis años más tarde, en 1991, se reporta el segundo actinomiceto halófilo *A. mortivallis*⁵⁴. En los años siguientes y hasta 2003 se reportaron 13 especies más, existiendo hasta la actualidad 15 miembros conformando este grupo. A continuación se presenta de manera breve las principales características de los actinomicetos halófilos reconocidos a la fecha, tabla 8.

Aplicaciones

Las bacterias halófilas han demostrado ser un grupo de extremófilos con un gran potencial biotecnológico, debido a que no solo producen compuestos de enorme interés industrial, como enzimas, biopolímeros o solutos compatibles, sino que además

Tabla 9. Enzimas y otras moléculas de microorganismos halófilos y sus aplicaciones biotecnológicas

	Fuente	Aplicación
Microorganismos Halófilos	Proteasas	Síntesis peptídica
	Deshidrogenadas	Biocatálisis en medio orgánico
	Nucleasas, amilasas	Agentes saborizantes
	B-caroteno, ácido a linoléico, y extractos celulares (<i>Spirulina</i> y <i>Dunaliella</i>)	Alimentos naturales, complementos alimenticios, colorantes para alimentos y alimento para ganado
	Bacteriorodopsina	Interruptores ópticos y generadores fotónicos de corriente en dispositivos bioelectrónicos
	Polihidroxicanoatos	Plásticos de uso en medicina
	Polímeros reológicos	Recuperación de petróleo
	Lípidos	Liposomas para liberación de fármacos y cosméticos
	Solutos compatibles	Protectores de proteínas y células en una variedad de aplicaciones industriales como congelación y calentamiento
	Glicerol	Productos farmacéuticos
	Membranas	Surfactantes para productos farmacéuticos
	Microorganismos	Salsas fermentadas y modificadores de sabor y textura en alimentos Transformación y degradación de desechos

presentan algunas propiedades fisiológicas que facilitan su explotación comercial. A continuación se describen algunas de las más interesantes aplicaciones de estos microorganismos.

Solutos compatibles. Las bacterias halófilas acumulan en su citoplasma determinados compuestos orgánicos de bajo peso molecular que no interfieren con el metabolismo celular, por lo que se denominan solutos compatibles, y que constituyen la base fundamental de la tolerancia a la sal de estos microorganismos. Dichos compuestos osmoprotectores han despertado un enorme interés a nivel industrial ya que poseen un alto poder estabilizador y protector de enzimas, ácidos nucleicos, membranas e incluso células enteras, contra la congelación, la desecación, la desnaturación por calor y la alta salinidad. También se han descrito sus posibles aplicaciones en tecnología enzimática (biosensores, PCR, etc.) y en la industria farmacéutica y cosmética. Algunos solutos compatibles, como la ectoína y la hidroxiectoína han demostrado poseer un marcado efecto protector sobre las enzimas lábiles, como la lactato deshidrogenasa y la fructoquinasa. Así, en diversos estudios en los que se comparó el efecto protector de distintos solutos compatibles sobre estas enzimas (glicina betaina, trealosa, glicerol, prolina, ectoínas y azúcares), se puso de manifiesto que las ectoínas fueron los mejores agentes protectores del calor y los procesos de congelación y descongelación.^{44,55,56}

Biodegradación de residuos. Las bacterias halófilas han alcanzado recientemente un gran interés en el campo de la degradación de los residuos tóxicos. Constituyen una importante alternativa a los tratamientos microbiológicos convencionales en aquellos casos en los que éstos sean ineficaces, como son los procesos industriales que generan aguas residuales hipersalinas. Esto sucede por ejemplo en la producción de diversas sustancias químicas como los pesticidas, determinados productos farmacéuticos y herbicidas, y los procesos de extracción de petróleo y gas.⁵⁷

Enzimas y otras moléculas de interés biotecnológico. Muchos procesos industriales se desarrollan bajo condiciones extremas, lo que ofrece un campo de aplicación para las enzimas producidas por microorganismos extremófilos, capaces de actuar a valores extremos de temperatura, pH o salinidad. La mayoría de las enzimas halófilas extra e intracelulares que se han aislado y caracterizado a la fecha provienen de bacterias halófilas moderadas. Así se han descrito varias hidrolasas del tipo de las amilasas, proteasas, nucleasas y 5'-nucleotidasas así como otras moléculas que actualmente tienen importantes aplicaciones en procesos biotecnológicos producidas por halófilos. En la tabla 9 se ejemplifican las enzimas y otras moléculas de interés biotecnológico producidas por estos microorganismos.⁵⁸

Alimentos fermentados. Las bacterias halófilas también tienen diversas aplicaciones en el campo de la alimentación. Así en la elaboración de la salsa de soya intervienen determinadas especies del género *Tetragenococcus*. Los granos de trigo y soya se

resuspenden en agua con NaCl al 19% y se deja durante 9 meses en oscuridad. *T. halopila* se emplea como indicador de la fermentación pudiendo alcanzar una densidad de 10^8 UFC/mL en la salsa de soya, que contiene una concentración aproximadamente 3 M de NaCl.⁵⁹

Polímeros. Los polímeros bacterianos tienen gran importancia en la industria petrolera. Gracias a sus propiedades surfactantes y emulsionantes pueden aumentar la eficacia de los procesos de extracción de crudo del subsuelo incrementando la viscosidad del agua que se inyecta alrededor de las bolsas, disminuyendo así su tensión superficial. Las bolsas de petróleo suelen presentar una elevada salinidad, lo que hace especialmente interesante la utilización directa de bacterias halófilas moderadas productoras de biopolímeros.⁶⁰

Microorganismos extremófilos en México

Las bacterias halófilas al pertenecer al grupo de microorganismos extremófilos capaces de vivir en ambientes salinos ofrecen una multitud de aplicaciones en varios campos de la biotecnología. Actualmente está creciendo el interés por conocer mejor la gran diversidad de microorganismos halófilos, tal es el caso de los actinomicetos halófilos; a pesar de que su grupo esta conformado por pocas especies cada vez es mayor el número de especies descritas.

Los actinomicetos halófilos representan un reducido grupo de microorganismos que al combinar su capacidad productora con su resistencia a las condiciones extremas de salinidad, resultan microorganismos de gran interés como fuente productora de productos industriales tanto en el campo, farmacéutico, cosmético y biotecnológico.

Actualmente, en la Universidad Autónoma Metropolitana - Xochimilco se está realizando un proyecto experimental titulado "*Caracterización de actinomicetos aislados a partir de ambientes hipersalinos*". En dicho proyecto se realizan muestreos en ambientes salinos extremos de distintas zonas geográficas de México, tales como: suelos salados, lagunas saladas, salinas costeras y zonas desérticas, esta investigación tiene como objetivo aportar conocimiento sobre la diversidad de los actinomicetos halófilos en este país.

A la fecha ha sido posible conformar una colección de 60 cepas de actinomicetos halófilos aislados provenientes de salinas y lagunas costeras localizadas en la vertiente del océano pacífico en México. Estas cepas han sido caracterizadas por medio de un estudio fenotípico y molecular.

La caracterización de los actinomicetos halófilos aislados en México, demuestra que tienen un alto porcentaje de similitud con dos de los géneros de actinomicetos que incluyen especies halófilas. Los géneros encontrados por secuenciación del gen 16S

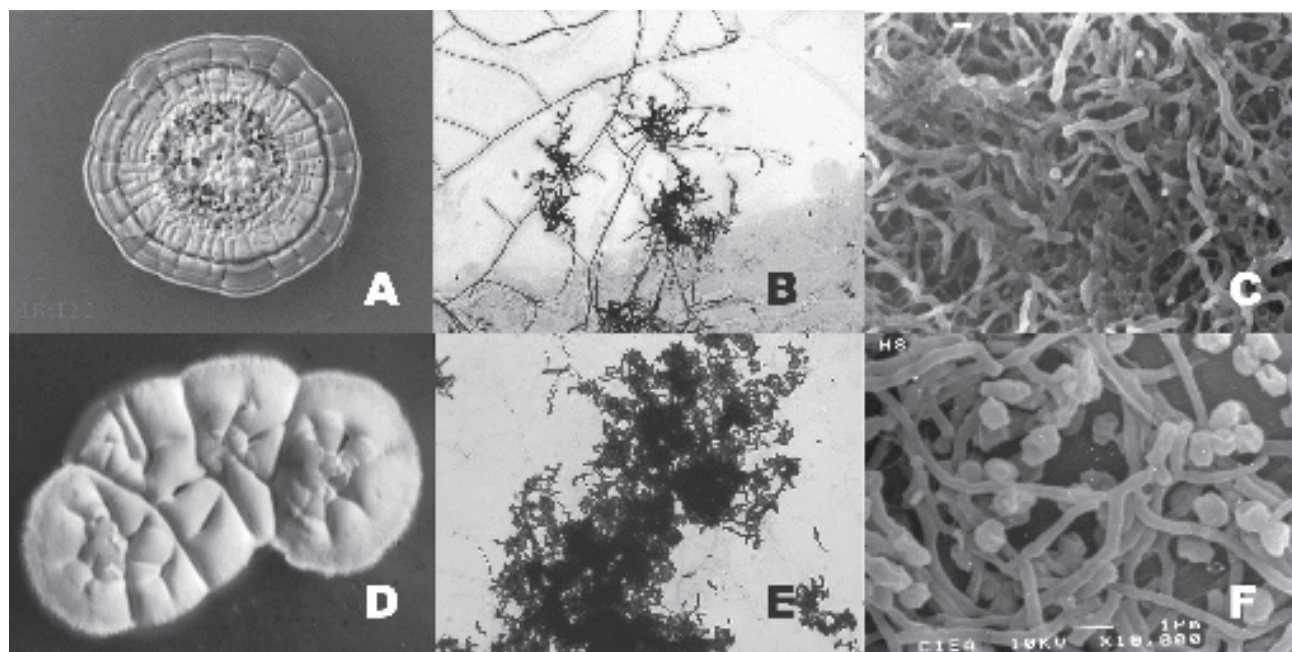


Figura 1. Morfología colonial, microscópica y microscopía electrónica de actinomicetos halófilos. A, B y C; Grupo *Saccharomonospora*. D, E y F; Grupo *Actinopolyspora*.

muestran una distribución geográfica diferente, siendo el género *Actinopolyspora* predominante en el norte del país mientras que el género *Saccharomonospora* predomina en el sur del país.^{61,62}

En la figura 1 se muestran las características de morfología colonial y microscópica de algunas cepas representativas donde se distinguen dos grupos:

Grupo *Saccharomonospora*: colonias de color oscuro, azul a grisáceo, verde a negro y en algunos casos blancas; con textura suave y fijadas en el agar, presentan micelio aéreo y vegetativo bien desarrollado. La tinción de Gram muestra micelio ramificado con presencia de esporas. Las imágenes de microscopía electrónica, permiten observar la presencia de micelio ramificado con esporas solas que nacen del micelio, figura 1 (A, B y C).

Grupo *Actinopolyspora*: colonias pequeñas blancas, convexas de apariencia rugosa con formación de micelio extenso de color blanco, en el lado reverso del cultivo en agar las colonias son de color amarillo pardusco. La tinción de Gram permite observar micelio ramificado con presencia de esporas en cadena. Al microscopio se observan filamentos ramificados que no fragmentan con formación de cadenas de esporas de forma oval a cilíndrica con superficie lisa, figura 1 (C, D y F).

Conclusiones

Los ambientes hipersalinos son comunes en diversos puntos de México. Debido a que nuestro país presenta una enorme diversificación de características climatológicas y ambientales, resulta favorable para la obtención de nuevas fuentes biológicas proveedoras de enzimas y metabolitos. Tal es el caso de los microorganismos extremófilos, de los cuales los actinomicetos halófilos son una importante alternativa, aunque actualmente no existen reportes acerca de la obtención de productos a partir de estos microorganismos, cada vez son más los reportes acerca de nuevas especies, así como su distribución en diversas partes del mundo.

Referencias bibliográficas

1. MacElroy R.D. 1974. Some comments on the evolution of extremophiles. *Biosystems*, 6: 74-75.
2. Madigan M.T., Mairs B.L. 1997. Extremophiles. *Scientific American*, 276: 82-87.
3. Rothschild L.J., Manicini R.L. 2001. Life in extreme environments. *Nature*, 409: 1092-1101.

4. Rossi M., Ciaramella M., Cannio R., Pisan F.M., Moracci M., Bartolucci S. 2003. Meeting Review (Extremophiles 2002). *Journal of Bacteriology*, 185: 3683-3689.
5. Adams M. W., Perler F.B., Kelly R.M. 1995. Extremozymes: Expanding the limits of biocatalysis. *Bio/technology*, 13: 662-668.
6. Haki G.D., Rakshit S.K. 2003. Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. *Bioresource Technology*, 89: 17-34.
7. Yano J.K., Poulos T.L. 2003. New understandings of thermostable and piezostable enzymes. *Current Opinion in Biotechnology*, 14: 360-365.
8. Van Den Burg B. 2003. Extremophiles as a source for novel enzymes. *Current Opinión in Microbiology*, 6: 1-6.
9. Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2003. Diversidad Procarriótica: Archea. En: Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. (eds). *Brock Microbiología de los Microorganismos*. Tenth edition. Ed. Pearson-Prentice Hall, Madrid, pp 741-766.
10. Niehaus F., Bertoldo, C., Kähler, M., Antranikian, G. 1999. Extremophiles as a source of novel enzymes for industrial application. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51: 711-729.
11. Gomes J., Steiner W. 2004. The biocatalytic potential of extremophiles and extremozymes. *Food technology and Biotechnology*, 42: 223-235.
12. Seckbach, J. 1994/5. The first eukaryotic cells-acid hot-spring algae. *Journal of Biological Physics*, 20: 335-345.
13. Cary S.C., Shank T., Stein J. 1998. Worms bask in extreme temperatures. *Nature*, 39: 1545-546.
14. Irwin J.A., Baird A.W. 2004. Extremophiles and their application to veterinary medicine. *Irish Veterinary Journal*, 57 (6).
15. Bowman, J.P., Mccammon S.A., Brown M.V., Nichols D.S., Mcmeekin T.A. 1997. Diversity and association of psychrophilic bacteria in Antarctic sea ice. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 3068-3078.
16. Grossmann S., Gleitz M. 1993. Microbial responses to experimental sea ice formation: implications for the establishment of Antarctic sea ice communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 173: 273-289.
17. Cavicchioli R., Siddiqui K.S., Andrews D., Sowers K.R. 2002. Low-temperature extremophiles and their applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 253-261.
18. Deming J.W. 2002. Psicrofilos and polar regions *Current Opinion in Microbiology*, 5: 301-309.
19. Margesin R., Feller G., Gerday C., Russell N. 2002. Cold-adapted microorganisms: adaptation strategies and biotechnological potential. En: The Bitton Ed., *Encyclopedia of Environmental Microbiology*. G. John Wiley & Sons, New York, Vol.2, pp 871-885.
20. Feller G., Gerday C. 2003. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation, *Nature Reviews Microbiology*, 1: 200-208.
21. Georlette D., Blaise V., Collins T., D'Amico S., Gratia E., Hoyoux A., Marx J.C., Sonan G., Feller G., Gerday C. 2004. Some like it cold: biocatalysis at low temperatures. *FEMS Microbiology Reviews*, 28: 25-42.
22. Prescott, G.W. 1978. *How to know the freshwater algae*. 3rd ed. Wm. C. Brown, Dubuque, Iowa, USA.
23. Demirjian D.C., Moris-Varas F., Cassidy C.S. 2001. Enzymes from extremophiles, *Current Opinion in Chemical Biology*, 5: 144-151.
24. Eichler J. 2001. Biotechnological uses of arqueal extremozymes. *Biotechnology Advances*, 19: 261-278.
25. Irgens R.L., Gosink J.J., Staley J.T. 1996. *Polaromonas vacuolata* gen. nov., sp. nov., a psychrophilic, marine, gas vacuolate bacterium from Antarctica International. *Journal of Systematic Bacteriology*, 46: 822-826.
26. Wiegel J., Keubrin U.V. 2004. Alkalitermophiles. *Biochemical Society Transactions*, 32: 193-198
27. Horikoshi K. 1999. Alkaliphiles: Some applications of their products for biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63: 735-750.
28. Ma Y., Xue Y., Grant W.D., Collins N.C., Duck-worth A.W., van Steenberg R.P., Jones B.E. 2004. Alkalimonasamylolyticagen. nov., sp. nov., and Alkalimonasdelamerensisgen. nov., sp. nov., novel alkaliphilic bacteria from soda lakes in China and East Africa. *Extremophiles*, 8: 193-200.
29. Kar N.S., Dasgupta A.K. 1996. The possible role of surface charge in membrane organization in an acidophile, Indian. *Journal of Biochemistry and Biophysics*, 33: 398-402.
30. Edwards K.J., Bond P.L., Gihring T.M., Banfield J.F. 2000. An Arqueal Iron-Oxidizing Extreme Acidophile Important in Acid Mine Drainage. *Science*, 287: 1796-1799.

31. Schleper C., Pühler G., Kühlmorgen B., Zillig W. 1995. Life at extremely low pH. *Nature*, 375: 741-742.
32. Cavicchioli R., Thomas T. 2000. Extremophiles. En: J. Lederberg, (ed.), *Enciclopedia de la Microbiología*, 2ª. Edición. Prensa Académica San Diego. USA, vol 2, pp 317-337.
33. Mergeay M., Monchya S., Vallaeys T., Auquier V., Benotman A., Bertin P., Taghavi S., Dunn J., van der Lelie D., Wattiez R. 2003. Ralstoniametallidurans, a bacterium specifically adapted to toxic metals: towards a catalogue of metal-re-sponsive genes. *FEMS Microbiology Reviews*, 27: 385-410.
34. Valls M., de Lorenzo V. 2002. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. *FEMS Microbiology Reviews*, 26: 327-338.
35. Abe F., Horikoshi K. 2001. The biotechnological potential of piezophiles. *Trends in Biotechnology*, 19: 102-108.
36. Pledger R.J., Crump B., Baros J.A. 1994. A barophilic response by two hyperthermophilic, hydrothermal vent Archaea: an upward shift in the optimal temperature and acceleration of growth rate at supra-optimal temperatures by elevated pressure. *FEMS Microbiology Ecology*, 14: 233-242.
37. Hei D.J., Clark D.S. 1994. Pressure stabilization of proteins from extreme thermophiles. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 932-999.
38. Hayashi R. 1996. Use of High Pressure in Bioscience and Biotechnology. En: R. Hayashi, C. Balny (Eds.), *High Pressure Bioscience and Biotechnology*, Elsevier, pp 1-6.
39. Ludwig H., Scigalla W., Sojka B. 1996. Pressure and Temperature Induced Inactivation of Microorganisms. En: J. L. Markley, D. B. Northrop, C. A. Royer (eds.), *High Pressure Effects in Molecular Biophysics and Enzymology*, Oxford University Press, New York, pp 346-363.
40. Mozhaev V.V., Bec N., Balny C. 1994. Pressure effects on enzyme reactions in mainly organic media: a-chymotrypsin in reversed micelles of Aerosol OT in octane, *Biochemistry and Molecular Biology International*, 34: 191-199.
41. Ventosa A., Nieto J.J., Oren A. 1998. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62: 504-544.
42. Russell N.J. 1993. Lipids of halophilic and halotolerant microorganisms. En: R.H. Vreeland y L.I. Hochstein (eds). *The Biology of Halophilic Bacteria*. Boca Raton: CRC Press. USA, pp. 163-210
43. Dennis P.P., Shimmin L.C. 1997. Evolutionary divergence and salinity-mediated selection in halophilic Archaea. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61: 90-104.
44. Brown A.D. 1976. Microbial water stress. *Bacteriological Reviews*, 40: 803-846.
45. Galinski E.A. 1995. Osmoadaptation in bacteria. En: R.K. Poole (ed), *Advances in Microbial Physiology*. Academic Press, London, pp. 273-329.
46. Galinski E.A., Trüper H.G. 1994. Microbial behaviour in salt-stressed ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*, 15: 95-108.
47. Belitsky B.R., Brill J., Bremer E., Sonenshein A.L. 2001. Multiple genes for the last step of proline biosynthesis in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 183: 4389-4392.
48. Larsen P.I., Sydnes L.K., Landfald B., Strom A.R. 1987. Osmoregulation in *Escherichia coli* by accumulation of organic osmolytes: betaines, glutamic acid, and trehalose. *Archives of Microbiology*, 147: 1-7.
49. Nyssola A., Kerovuo J., Kaukinen P., Von Weymar N., Reinikainen T. 2000. Extreme halophiles synthesize betaine from glycine by methylation. *Journal of Biological Chemistry*, 275: 22196-22201.
50. Galinski E.A., Pfeiffer H.P., Trüper H.G. 1985. 1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidinecarboxylic acid. *European Journal of Biochemistry*, 149: 135-139.
51. DasSarma S. 1995. Halophilic archaea: An Overview. En: DasSarma S., Fleischmann E.M (eds), *Archaea a laboratory manual*. Cold spring Harbor Laboratory Press, USA, pp 3-11.
52. Javor B.J. 1989. *Hypersaline environments. Microbiology and biogeochemistry*. Springer-Verlag KG, Berlin, Germany.
53. Gochnauer M.B., Leppard G.G., Komarapat P., Kates M., Novitsky T., Kushner D.J. 1975. Isolation and characterization of *Actinopolyspora halophila*, gen. et sp. nov., an extremely halophilic actinomycete. *Canadian Journal of Microbiology*, 21: 1500-1511.
54. Yosida M., Matsubara K., Kudo T., Horikoshi K. 1991. *Actinopolyspora mortivallis* sp. nov., a moderately halophilic actinomycete. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 15-20.
55. Louis P., Trüper H.G., Galinski E. 1994. Survival of *Escherichia coli* during drying and storage in the presence of compatible solutes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 41: 648-688.

56. Margesin R., Schinner F. 2001. Potential of halotolerant and halophilic microorganisms for biotechnology. *Extremophiles*, 5: 73-83.
57. Oren A., Guverich P., Azachi M., Henis Y. 1993. Microbial degradation of pollutants at high salt concentrations, En E. Rosenberg (ed). *Microorganisms to Combat Pollution*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. pp. 263-274.
58. Kamekura M., Hamawata T., Onishi, H. 1992. Application of halophilic nuclease H from *Micrococcus varians subs. halophilus* to commercial production of flavoring agent 5'-GMP. *Applied and Environmental Microbiology*, 44: 994-995.
59. Röling W.F.M., Van Verseveld H. 1996. Characterization of *Tetragenococcus halophila* populations in Indonesian soy mash (kecap) fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 62: 1203-1207.
60. Ventosa A. 1988. Taxonomy of moderately halophilic heterophilic eubacteria, En F. Rodriguez-Valera (ed), *Halophilic Bacteria*. Boca Raton CRC Press, USA, pp. 71-84.
61. Serrano, J.A., Sandoval, H., Ramírez, N., Ventosa, A. 2003. Método simplificado para el estudio morfológico por microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido de actinomicetos halófilos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 3: 42-46.
62. Ramírez N., Sandoval A.H., Serrano J.A. 2004. Las bacterias halófilas y sus aplicaciones biotecnológicas. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 24: 12-23.