

## Salinibacter: De la secuencia al organismo. Un ejemplo reciente

**Francisco Rodríguez-Valera**

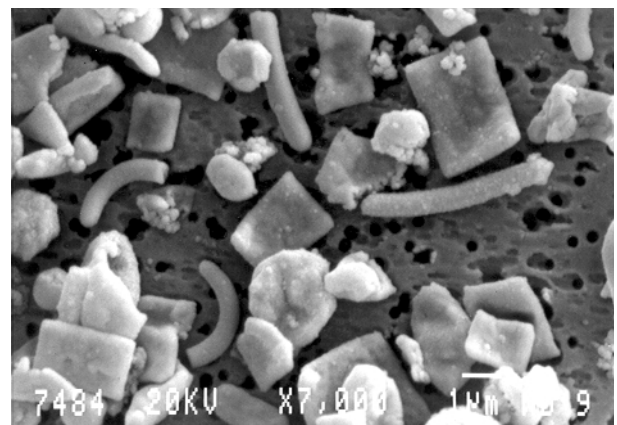
Catedrático de Microbiología, Universidad Miguel Hernández

E-mail: frvalera@umh.es

En los últimos diez años esta ocurriendo una revolución en la Microbiología. Y, por una vez, no me estoy refiriendo a los genomas. Estamos descubriendo que en los ambientes naturales existen grupos nuevos de procariotas de los cuales no sabemos prácticamente nada. Es como si botánicos y zoólogos descubrieran que existen familias, ordenes de animales y plantas que son invisibles y no han sido descritos. Quizás tendrían que pulverizar áreas de la sabana o del bosque tropical con pintura en spray para que de repente se materializaran multitud de animales y plantas desconocidos. Ojalá los microbiólogos lo tuviéramos tan fácil. Nuestra principal herramienta para visualizar estos nuevos grupos es la PCR, el secuenciador automático y la hibridación *in situ*. Por eso los resultados prácticos, en términos de nuevos microorganismos en las colecciones de cultivos, son extremadamente escasos. Sin embargo, de vez en cuando se produce algún éxito que mantiene la esperanza. Tengo la fortuna de haber participado (aunque de forma algo marginal) en uno de estos éxitos y creo que la historia puede interesar a los miembros de la SEM, al menos como anécdota.

Durante muchos años en mi laboratorio en Alicante hemos estudiado las bacterias (aunque ahora algunas se llaman archaea) de las salinas solares donde se cristaliza el cloruro sódico para producir sal común. Si alguno ha tenido la oportunidad de ver estos estanques (cristalizadores) recordará sin duda su notorio color rojo. Este color rojo se debe (o al menos así pensaba yo hasta hace un año) a densas poblaciones de halobacterias (ahora haloarchaea) que poseen carotenoides C50 de color rojizo. Este color, por cierto, es esencial para absorber la radiación infrarroja y permitir que la sal precipite, a pesar de que la tasa de evaporación de esta salmuera concentrada (casi el 50% son sales) es muy escasa (hay que pensar que el NaCl es muy higroscópico y retiene el agua). En verano, en esta agua, se alcanzan los 50°C gracias al efecto de trampa calórica de estos pigmentos. En los años 70 y primeros 80 aislamos muchas de estas haloarchaea, con sus características colonias rojas o rosadas, y describimos géneros como *Haloferax* y *Haloarcula*. Nos sentíamos bastante satisfechos con nuestro conocimiento de la biodiversidad en este ambiente tan extremo. Por allá por 1993 pusimos a punto en mi laboratorio

la metodología de PCR para describir la biodiversidad microbiana. Simplemente se extrae el DNA directamente de la biomasa, se amplifican los 16S rDNAs por PCR, y se secuencian algunos fragmentos clonados al azar. La sorpresa fue que no conseguíamos ni una sola secuencia correspondiente a las especies que habíamos aislado del mismo ambiente. Tampoco eran parecidas a las de otras especies descritas por otros autores en ambientes similares. La secuencia se correspondía con lo que tendría que ser un género desconocido y nunca aislado en cultivo puro. En si estos resultados no eran sorprendentes, la literatura en estos últimos años muestra repetidamente que muy raramente se cultivan los organismos que realmente predominan numéricamente o en biomasa en los ambientes naturales. Incluso en ambientes extremos que poseen intrínsecamente baja diversidad biológica. Mi colaboradora Josefa Antón intentó cultivar este organismo desconocido, al que nos referimos todavía como "el clon de Susana" (Susana Benlloch describió la secuencia durante los trabajos de su tesis doctoral), sin éxito. Llegamos a plantearnos si no sería un artefacto de amplificación de la PCR. Para comprobarlo había que aplicar FISH (*Fluorescent In Situ Hybridization*) y determinar si la secuencia característica del "clon de Susana" era realmente la que se correspondía con las 107 células por mililitro que se encuentran en el cristalizador. Ni corta ni perezosa, Pepa se fue a Bremen al *Max-Planck Institute for Marine Microbiology*, a trabajar con Rudi Amman y Ramón Rosselló-Mora para aclarar



Microfotografía de una muestra de un estanque de salinas, donde se aprecian arqueas cuadradas y bacilos cuya morfología corresponde a *Salinibacter*. Foto: Isabel Fernández Boán

el asunto. Y, justo en el blanco, el haloarchaea predominante, con su típica morfología de sello de correos correspondía en verdad a la secuencia del clon de Susana. Sin embargo, la otra morfología celular, bacilos grandes y muy visibles, ni siquiera hibridaba con la sonda universal de Archaea. Se trata de una bacteria auténtica (eubacteria) capaz de crecer en esta salmuera concentrada, lo que se consideraba hasta el momento atributo exclusivo de los haloarchaea, y cuya secuencia de 16S rDNA la relacionaba remotamente (85%) con *Rhodothermus*. El organismo fue denominado *Salinibacter Candidatus*. De vuelta en la Universidad de Alicante, y gracias a una segunda visita al grupo de Bremen, Pepa pudo comprobar que, de las colonias que crecen normalmente en

una placa estandar para cultivar haloarchaea, algunas son en realidad colonias de *Salinibacter*. La hibridación *in situ* fue de nuevo la herramienta imprescindible. La mayor sorpresa para mí fue que las colonias de *Salinibacter* son macroscópicamente indistinguibles de las de haloarchaea, y como estas, están pigmentadas fuertemente de rojo. En este caso sabemos que es un carotenoide C40, químicamente muy distinto de los C50 de los haloarchaea, pero de efecto pigmentante equivalente a nivel colonial. El organismo está actualmente en proceso de descripción taxonómica formal por un equipo liderado por Ramón Rosselló-Mora, ahora en la Universidad de las Islas Baleares. Pero para mí el color rojo de las salinas ya no será nunca el mismo.