

Taxogenómica y metagenómica de ambientes hipersalinos

ANTONIO VENTOSA, CRISTINA SÁNCHEZ-PORRO, RAFAEL RUIZ DE LA HABA, M^a JOSÉ LEÓN, BLANCA VERA GARGALLO, ANA DURÁN VISERAS, CRISTINA GALISTEO, DÁŠA STRAKOVÁ Y ALICIA GARCÍA ROLDÁN

Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.

✉ ventosa@us.es | sanpor@us.es



De izquierda a derecha: Cristina Sánchez-Porro, Rafael Ruiz de la Haba, Blanca Vera Gargallo, Alicia García Roldán, Dáša Straková, Cristina Galisteo Gómez, Antonio Ventosa y María José León. Recuadro: Ana Durán Viseras.

El grupo "Estudio de Microorganismos Halófilos" se creó hace más de cuatro décadas y posee una dilatada trayectoria en el estudio de los microorganismos extremófilos —fundamentalmente halófilos— en facetas tan diversas como el aislamiento, caracterización y descripción de nuevas especies de arqueas y bacterias halófilas, su ecología, fisiología, genética y filogenia, así como sus aplicaciones biotecnológicas.

Además de la vertiente investigadora, el grupo ha contribuido a la formación de más de 30 doctores, ha realizado relevantes actividades de divulgación y ha organizado diversas reuniones científicas nacionales e internacionales. Entre ellas destacan la organización del V Congreso Internacional de Microorganismos Halófilos (2001), IV Reunión del Grupo de Microbiología del Medio Acuático de la SEM (2002), XXI Con-

greso Nacional de Microbiología (2007), XIII Reunión del grupo de Taxonomía, Filogenia y Diversidad de la SEM (2010), IX Congreso Internacional de Microorganismos Extremófilos (2012) y dos Reuniones de la Red Nacional de Microorganismos Extremófilos (1997 y 2018).

Durante los últimos años nuestro grupo ha realizado importantes aportaciones

en el conocimiento de la microbiota de ambientes hipersalinos utilizando técnicas independientes de cultivo (metagenómica *shotgun*), así como dependientes de cultivo (culturómica y genómica comparativa). Los estudios metagenómicos en ambientes hipersalinos han sido pioneros en este campo, enfocados inicialmente en las salinas marinas de Santa Pola (Alicante) e Isla Cristina (Huelva), y más recientemente en ambientes terrestres hipersalinos, en concreto en suelos salinos de las Marismas del Odiel, en la provincia de Huelva.

La diversidad filogenética y el potencial metabólico de las comunidades procariotas presentes en suelos hipersalinos de las Marismas del Odiel fueron objeto de estudios pioneros mediante pirosecuenciación y, más recientemente, mediante secuenciación por Illumina. Los análisis comparativos de bases de datos metagenómicas de suelos salinos con las bases de datos previamente disponibles de salinas solares permitieron identificar rasgos únicos y compartidos por las comunidades microbianas que habitan en estos hábitats. Los suelos salinos, a diferencia de sus homólogos acuáticos, albergaban una comunidad procariota mucho más diversa, con secuencias relacionadas con microorganismos halófilos ya descritos, mientras que otras se emparentaban con nuevos grupos microbianos halófilos o halotolerantes sin representantes cultivados, lo que refleja la heterogeneidad física de la matriz del suelo. Nuestros resultados mostraron que *Haloquadratum* y ciertos miembros del filo *Balneolota* predominan preferentemente en hábitats acuáticos o terrestres, respectivamente, mientras que las haloarqueas, nanohaloarqueas y *Salinibacter* pueden estar adaptados de forma similar a ambos entornos. De hecho, durante este estudio se describió por primera vez la presencia de nanohaloarqueas en suelos salinos. Estudios recientes más detallados en suelos hipersalinos contaminados por metales pesados determinaron que, aunque tanto bacterias como arqueas representan proporciones muy semejantes, se observa una mayor diversidad en el grupo de las bacterias (pertenecientes fundamentalmente a los filos *Pseudomonadota*, *Bacteroidota*, *Gemmimonadota* y *Balneolota*) que en el de las arqueas (básicamente representantes de la clase *Halobacteria*). Por otro lado, los análisis funcionales metagenómicos en dichos suelos mostraron que los procariotas poseen mecanismos de resistencia a metales pesados, destacando el papel

que puede jugar la microbiota de estos hábitats en la transformación de arsenito, mucho más tóxico, en arsenato, que presenta una menor toxicidad.

Paralelamente, la culturómica como aproximación para el aislamiento de nuevos microorganismos a partir de diferentes ambientes hipersalinos ha permitido aislar un elevado número de cepas microbianas, que constituyen grupos de arqueas relativamente abundantes en estos ambientes y no descritas con anterioridad. Los análisis filogenéticos y filogenómicos de estas cepas han dado lugar a la descripción de un nuevo orden: *Halorutilales* ord. nov.; una nueva familia: *Halorutilaceae* fam. nov.; tres nuevos géneros de haloarqueas: *Halorutilus* gen. nov., *Haloglorum* gen. nov. y *Halosegnis* gen. nov.; y 13 nuevas especies de arqueas halófilas extremas. El descubrimiento de uno de estos microorganismos que constituye un nuevo orden, familia, género y especie dentro de la clase *Halobacteria* y del filo *Methanobacteriota* (*Euryarchaeota*) supone un gran avance en la denominada "materia oscura microbiana", expandiendo significativamente el conocimiento que se tiene de este grupo de arqueas. Por otro lado, también hemos descrito componentes de la biosfera rara, como el nuevo género y especie bacteriana *Terrihalobacillus insolitus*, y las nuevas especies *Aquibacillus salsiterra* y *Pseudidiomarina terrestris*.

Por otra parte, los estudios ecológicos, basados en reclutamientos metagenómicos, sobre los nuevos géneros *Halorutilus*, *Haloglorum*, *Halosegnis* y *Halonotius* han puesto de manifiesto que los representantes de estos géneros constituyen una proporción importante de la población microbiana en ambientes hipersalinos, al mismo tiempo que se encuentran ampliamente distribuidos geográficamente. Asimismo, los estudios metabólicos detallados del genoma de estos grupos han demostrado la presencia de la ruta completa de biosíntesis de cobalamina (vitamina B₁₂) por las cepas del género *Halonotius*, sugiriendo el papel esencial que desempeñan en las comunidades microbianas de estos ambientes a las que les proporcionan productos metabólicamente costosos. La ruta completa de síntesis del ácido γ-aminobutírico (GABA) por las cepas del género *Halosegnis* sugiere su posible potencial biotecnológico. La identificación por primera vez en haloarqueas de las rutas completas de síntesis de solu-

tos compatibles, apuntan a la capacidad de los miembros del género *Haloarcula* de utilizar estrategias de osmoadaptación alternativas a las clásicamente descritas para haloarqueas. Más recientemente hemos aislado y caracterizado una nueva especie bacteriana, *Fodinibius salsisolii*, que representa una proporción relativamente elevada de la microbiota de los suelos salinos estudiados, con capacidad para biosintetizar biotina, que posiblemente juegue un papel relevante suministrando esta vitamina a otros microorganismos que dependen de una fuente exógena de este nutriente. Un estudio detallado de los miembros de la familia *Balneolaceae* sugiere que tienen preferencia por ambientes salinos terrestres sobre hábitats acuáticos y, por otra parte, el análisis taxogenómico de las especies de *Fodinibius* y *Aliifodinibius* nos permitió determinar que las cinco especies del género *Aliifodinibius* debían ser reclasificadas dentro del género *Fodinibius*.

Cabe también destacar la realización de un estudio filogenómico detallado de los representantes de la familia *Halomonadaceae* (la familia más extensa de bacterias halófilas) en el que se han determinado genes singulares específicos de cada género, lo que nos ha permitido proponer en dicha familia 6 nuevos géneros y reclasificar algunas especies existentes. Los nuevos géneros propuestos son: *Bisbaumia*, *Billgrantia*, *Franzmannia*, *Litchfieldella*, *Onishia* y *Vreelandella*.

Publicaciones seleccionadas

Galisteo C, de la Haba RR, Ventosa A, Sánchez-Porro C (2024). The hypersaline soils of the Odiel Saltmarshes Natural Area as a source for uncovering a new taxon: *Pseudidiomarina terrestris* sp. nov. *Microorganisms* 12: 375. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020375>

de la Haba RR, Arahal DR, Sánchez-Porro C, Chuvochina M, Wittouck S et al. (2023). A long-awaited taxogenomic investigation of the family *Halomonadaceae*. *Front. Microbiol.* 14: 1293707. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1293707>

Straková D, Galisteo C, de la Haba RR, Ventosa A (2023). Characterization of *Haloarcula terrestris* sp. nov., and reclassification of a *Haloarcula* species

based on a taxogenomic approach. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 73: 006157. doi: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.006157>

Galisteo C, de la Haba RR, Sánchez-Porro C, Ventosa A (2023). A step into the rare biosphere: genomic features of the new genus *Terrihalobacillus* and the new species *Aquibacillus salsiterra* from hypersaline soils. Front. Microbiol. 14: 1192059. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1192059>

Durán-Viseras A, Sánchez-Porro C, Viver T, Konstantinidis KT, Ventosa A (2023). Discovery of the streamlined haloarchaeon *Halorutilus salinus*, comprising a new order widespread in hypersaline environments across the world. mSystems 8: e01198-22. doi: <https://doi.org/10.1128/msystems.01198-22>

Vera-Gargallo B, Hernández M, Dumont MG, Ventosa A (2023). Thrive or survive: prokaryotic life in hypersaline soils. Environ. Microbiome 18: 17. doi: <https://doi.org/10.1186/s40793-023-00475-z>

Galisteo C, de la Haba, RR, Sánchez-Porro C, Ventosa A (2023). Biotin pathway in novel *Fodinibius salsisol* sp. nov., isolated from hypersaline soils and reclassification of the genus *Aliifodinibius* as *Fodinibius*. Front. Microbiol. 13: 1101464. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1101464>

García-Roldán A, Durán-Viseras A, de la Haba, RR, Corral P, Sánchez-Porro C et al. (2023). Genomic-based

phylogenetic and metabolic analyses of the genus *Natronomonas*, and description of *Natronomonas aquatica* sp. nov. Front. Microbiol. 14: 1109549. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1109549>

Kheiri R, Mehrshad M, Pourbabae AA, Ventosa A, Amoozegar MA (2023). Hypersaline lake Urmia: a potential hotspot for microbial genomic variation. Sci. Rep. 13: 374. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27429-2>

Gattoni G, de la Haba RR, Martín-Serrano JM, Reyes-Benítez JF, Sánchez-Porro C et al. (2023). Genomic study and lipidomic bioassay of *Leeuwenhoekella parthenopeia*: a novel rare biosphere marine bacterium that inhibits tumor cell viability. Front. Microbiol. 13: 1090197. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1090197>

Durán-Viseras A, Sánchez-Porro C, Ventosa A (2021). Genomic insights into new species of the genus *Halomicroarcula* reveals potential for new osmoadaptive strategies in halophilic archaea. Front. Microbiol. 12: 751746. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.751746>

de la Haba RR, Minegishi H, Ventosa A (2021). Phylogenomics of haloarchaea: the controversy of the genera *Natrinema*-*Haloterrigena*. Front. Microbiol. 12: 740909. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.740909>

Durán-Viseras A, Andrei AŞ, Vera-Gargallo B, Ghai R, Sánchez-Porro C et al. (2021). Culturomics-based genomics sheds light on the ecology of

the new haloarchaeal genus *Halosegnis*. Environ. Microbiol. 23: 3418-3434. doi: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15082>

Corral P, Amoozegar MA, Ventosa A (2021). Halophiles and their biomolecules: recent advances and future applications in biomedicine. Marine Drugs 18: 33. doi: <https://doi.org/10.3390/md18010033>

León MJ, Galisteo C, Ventosa A, Sánchez-Porro C (2020). *Spiribacter aquaticus* Leon et al. 2017 is a later heterotypic synonym of *Spiribacter roseus* Leon et al. 2016. Reclassification of *Halopeptonella vilamensis* Menes et al. 2016 as *Spiribacter vilamensis* comb. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 70: 2873-2878. doi: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004113>

Vera-Gargallo B, Chowdhury TR, Brown J, Fansler SJ, Durán-Viseras A et al. (2019). Spatial distribution of prokaryotic communities in hypersaline soils. Sci. Rep. 9: 1769. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-38339-z>

.....