

Halófilos: la vida en la sal

Una pizca de historia

Hasta hace poco más de un siglo se pensaba que era imposible encontrar organismos que vivieran en ambientes donde predominan condiciones extremas, entendiéndose por tales aquellas que son muy diferentes a las que permiten el desarrollo de la mayoría de las formas de vida en el planeta Tierra. Algunos ejemplos de estas condiciones son temperaturas superiores a 80°C o menores a -12°C, presiones aplastantes, oscuridad total, ambientes muy ácidos o alcalinos y concentraciones saturantes de sales. Sin embargo, los avances de las técnicas de exploración en estos nichos tan extremos permitieron encontrar una diversidad de organismos que viven en ellos. Los extremófilos (amantes de condiciones extremas) pueden ser microorganismos, plantas o animales, aunque la mayoría son organismos procariotas unicelulares (arqueas y bacterias). Su pequeño tamaño y su metabolismo variado y adaptable les ha permitido colo-

nizar ambientes que resultarían letales para organismos más complejos.

Una de las primeras historias de exploración de estos ambientes fue protagonizada por el microbiólogo israelí Benjamin Elazari Volcani (1915-1999). En 1936, durante una excursión al mar Muerto (situado entre Israel, Palestina y Jordania), llamado así debido a que en sus aguas, casi diez veces más saladas que las de los océanos, se pensaba que no podía proliferar ningún ser vivo, Volcani reveló que ese mar no estaba realmente 'tan muerto'. Si bien los organismos macroscópicos, como los peces o las plantas, no podían vivir allí, sí existían microorganismos que se habían adaptado a estas condiciones extremas. La vida de estos organismos se comenzó a conocer gracias a los estudios de Volcani y de otros microbiólogos como Helena Petter, Trijntje Hof o Lourens Baas Becking. Este último visitó muchos lagos salados y propuso: 'Todo está en todas partes, pero el ambiente selecciona'. Es sobre esta hipótesis que se fueron estableciendo las bases sobre los ahora llamados organismos halófilos.

¿DE QUÉ SE TRATA?

Los halófilos, organismos diversos que habitan en ambientes salinos extremos, sus adaptaciones y su importancia en la investigación y en procesos biotecnológicos.

Halófilos: un mar de posibilidades

El mundo de los organismos halófilos es muy diverso, con representantes en los tres dominios en los que se divide la vida: Archaea, Bacteria y Eucarya. Es importante destacar que los organismos halófilos necesitan la sal para vivir, a diferencia de los organismos halotolerantes que soportan ciertas concentraciones de sal pero no la requieren para su desarrollo. Según su dependencia de la concentración de sal (principalmente cloruro de sodio, NaCl), los halófilos se clasifican en halófilos leves (2-5% NaCl), moderados (5-20% NaCl) o extremos (20-30% NaCl). Téngase en cuenta que el agua de mar contiene 3,5% de sal.

La mayoría de los halófilos son microorganismos y presentan una amplia diversidad metabólica. Se incluyen bacterias y microalgas fotosintéticas, que usan la energía solar para la síntesis de compuestos orgánicos; arqueas y bacterias heterótrofas, las cuales se nutren de otros organismos para obtener la materia orgánica, y organismos litótrofos, que utilizan compuestos inorgánicos como fuente de energía. Algunas pocas especies de hongos también

pueden encontrarse en ambientes salinos, siendo una de ellas *Wallemia ichthyophaga*, un halófilo extremo que requiere al menos 9% de NaCl para vivir. Los eucariotas multicelulares son mucho menos diversos e incluyen las llamadas plantas de sal o halófitas, las cuales habitan en ambientes con agua salada como pantanos, playas, manglares y marismas. Además, se pueden destacar las moscas de salmuera y el crustáceo *Artemia salina*, más conocido como mono de mar o *seamonkey*. Estos pequeños organismos miden apenas 15mm de largo y se alimentan de algas que filtran del agua. Una particularidad muy llamativa es su increíble capacidad para resistir condiciones que matarían a prácticamente cualquier ser vivo, como desecamiento, temperaturas de más de 100°C o cercanas a cero absoluto (-273°C), presiones aplastantes encontradas a 6000 metros de profundidad, el vacío del espacio y concentraciones de sal de hasta 50% NaCl (figura 1).

Si bien en los ambientes de mayor salinidad (20-30% de NaCl) pueden encontrarse varias especies de bacterias, microalgas y crustáceos de salmuera, la mayoría de los halófilos extremos pertenecen al dominio Archaea. Las ar-

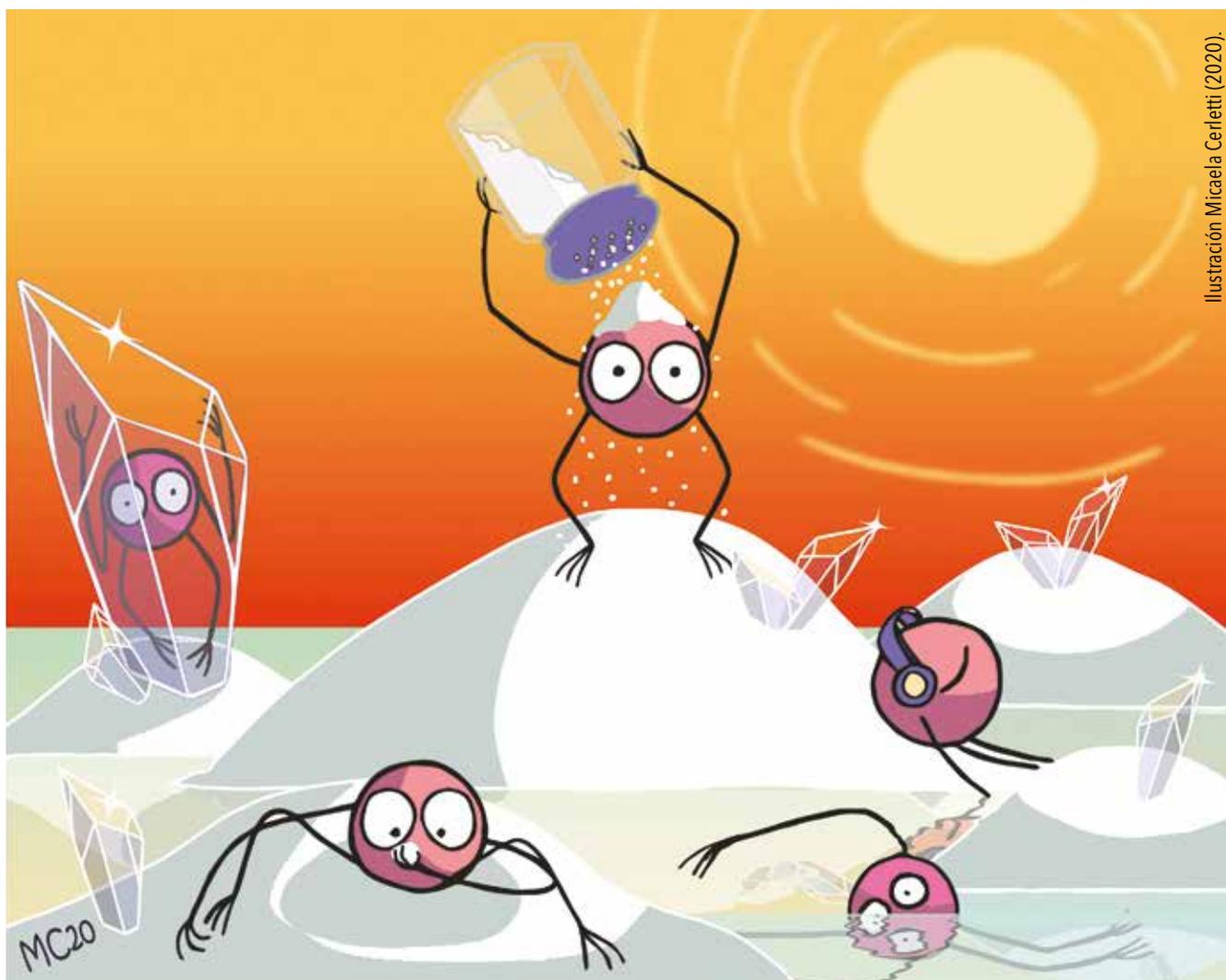
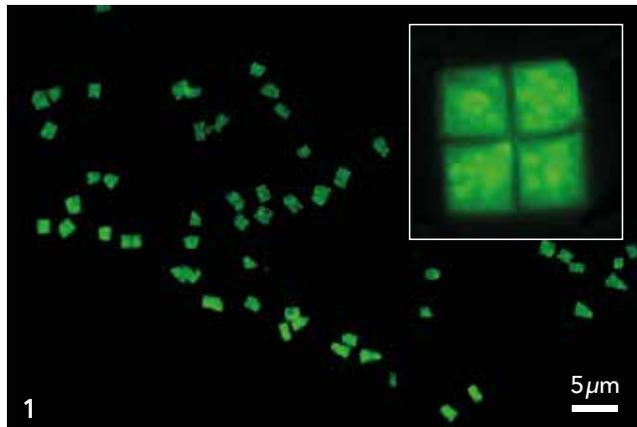


Ilustración Micaela Cerletti (2020).



Imágenes de organismos halófilos. 1) Haloarquea *Haloquadratum walsbyi*, 2) microalga verde *Dunaliella salina*, 3) planta halófila *Salicornia europaea*, 4) crustáceo *Artemia salina*.

queas son microorganismos procariotas con similitudes a las bacterias (unicelulares, sin organelas ni membrana nuclear, cromosoma circular, poseen una envoltura celular) y a las células eucariotas (mecanismos de replicación del ADN, transcripción y traducción). En contraste, las arqueas difieren de los otros dominios especialmente por su membrana celular constituida por lípidos diferentes de los fosfolípidos clásicos. Su particular composición química confiere a las membranas arqueanas una mayor estabilidad a la temperatura y pH extremos, hecho que justifica la notable capacidad de las arqueas para desarrollarse óptimamente en ambientes muy hostiles.

Las arqueas que habitan en ambientes hipersalinos se denominan arqueas halófilas o haloarqueas. Estos microbios están tan adaptados a vivir en condiciones salinas que pueden sobrevivir en forma latente atrapados dentro de un cristal de sal durante millones de años y continuar su desarrollo cuando las condiciones se tornan favorables.

Además del mar Muerto, las haloarqueas y otros halófilos pueden encontrarse en lagos hipersalinos y en salinas alrededor del mundo como el lago Magadi en Kenya, el Masazir en Azerbaijón, el Hillier en Australia y las lagunas Negra y Utracán en la Argentina. En algunos eco-

sistemas estos organismos amantes de la sal son muy abundantes y su presencia puede reconocerse sin necesidad de un microscopio. Esto se debe a que algunos organismos halófilos poseen una coloración rosado-rojiza brillante producto de los pigmentos carotenoides de sus membranas, los cuales poseen propiedades antioxidantes y protegen a las células de la intensa irradiación solar que existe en estos ambientes. La presencia de millones de estos organismos provoca que los cuerpos de agua tornen al color rojizo característico.

Ejemplos de microorganismos extremadamente halófilos ampliamente distribuidos en los hábitats hipersalinos incluyen especies de haloarqueas como *Halobacterium salinarum* y *Haloferrax volcanii*, cianobacterias como *Aphanothece halophytica*, bacterias como *Salinibacter ruber* y *Halomonas elongata* y la microalga verde *Dunaliella salina*.

¿Cómo se adaptaron a vivir en la sal?

Los halófilos han resuelto el problema de cómo lidiar con el estrés salino de diferentes maneras. El principal desafío que enfrentan los organismos halófilos por vivir en

altas concentraciones de sal es la fuerte presión osmótica que el ambiente ejerce sobre las células. Estas están rodeadas por una membrana semipermeable que las separa de su entorno y que funciona como una barrera que permite regular el intercambio de sustancias con el medio externo. Cuando la concentración de sustancias, conocidas como solutos, difiere en ambos compartimentos, las moléculas de agua difunden libremente a través de la membrana celular hacia el compartimento de mayor concentración de solutos por el proceso denominado ósmosis.

Al aumentar la salinidad del medio, los organismos no halófilos se deshidratan y mueren debido a la gran pérdida de agua generada por la presión osmótica del ambiente. Sin embargo, en los organismos halófilos esto no ocurre, gracias a diversas adaptaciones morfológicas y/o fisiológicas que han desarrollado a lo largo de su evolución en el planeta. Una gran variedad de halófilos sintetizan y acumulan solutos compatibles, también llamados osmoprotectores, en el interior de la célula. Los solutos compatibles son compuestos orgánicos pequeños tales como aminoácidos y polialcoholes (por ejemplo, glicina, ectoína, glicerol) que no interfieren con el metabolismo celular y les permiten lograr un equilibrio osmótico con el medio que las rodea. Otro mecanismo es la acumulación intracelular de sales, generalmente cloruro de potasio (KCl) en concentraciones equivalentes al NaCl del medio exterior. Esto se logra bombeando grandes cantidades de iones K^+ al citoplasma. Esta estrategia es usada por los halófilos más extremos, como las haloarqueas y algunas bacterias. Para lidiar con los altos niveles de sal en el interior de la célula, como en este caso con el cloruro de potasio, las proteínas tienen mayor acidez y así evitan sucesos que afectan su funcionamiento como la desnaturalización, agregación y precipitación, que generalmente se producen en proteínas no halófilas expuestas a altas concentraciones de sal.

En organismos más complejos como las plantas halófilas se presentan otros mecanismos de adaptación, por ejemplo, el almacenamiento de sales dentro de estructuras celulares como vacuolas en donde quedan aisladas y no afectan la fisiología de la planta, o el desarrollo de raíces más largas que permiten alcanzar mayor profundidad, donde la concentración de sal es menor.

Algunos ambientes hipersalinos también presentan otros tipos de condiciones extremas, como temperaturas elevadas, alta concentración de metales (por ejemplo, arsénico) y/o PH alcalinos. Como consecuencia, los organismos que habitan estos ambientes son de especial interés para la ciencia, en particular para la biotecnología, ya que presentan una gran variedad de mecanismos adaptativos y ofrecerían soluciones a diversas problemáticas del mundo actual.



Colonias pigmentadas de la haloarquea *Haloflex volcanii* atrapadas en cristales de sal. El tamaño de los cristales más grandes es de aproximadamente 4mm. Foto Roberto A Paggi

¿Qué se puede aprender de los halófilos?

Los primeros fósiles procariotas capaces de sobrevivir en estos ambientes datan de más de 3500MA de antigüedad y eran muy similares en apariencia a los tapetes microbianos que se encuentran en los estanques hipersalinos actuales. Las haloarqueas son de los grupos más antiguos en habitar el planeta y el estudio de su evolución permitiría entender la morfología y fisiología asociada con la adaptación a las condiciones hipersalinas. El estudio de la vida microbiana en altas concentraciones de sal puede responder muchas preguntas fundamentales sobre la adaptación de los microorganismos a sus ambientes. La mayoría de los halófilos conocidos se pueden cultivar en un laboratorio de manera simple y segura, ya que no son patógenos para el ser humano. Géneros como *Halobacterium*, *Haloflex* y *Haloarcula* han destacado como modelos de estudio dentro del dominio Archaea, siendo mucho más simples de manejar que otras arqueas extremófilas, las cuales requieren condiciones ambientales difíciles de replicar en el laboratorio, como altas temperaturas o grandes presiones. En los últimos años se han secuenciado los genomas de muchas de estas especies y se han desarrollado múltiples herramientas para manipular sus genes y así poder estudiar sus mecanismos celulares. Actualmente, los halófilos extremos son incluso fuente de estudio de proyectos de astrobiología, ya que podrían trazar analogías, e incluso dar pistas, sobre la vida en otros planetas. Por ejemplo, se cree que si existirían formas de vida en Marte, estas serían muy similares a los microorganismos halófilos terrestres, debido a la si-



Diversos ambientes hipersalinos y sus colores: 1) laguna Utracán (Argentina), 2) lago Hillier (Australia), 3) lago Masazir (Azerbaiján), 4) mar Muerto (Israel).

militud en las condiciones en cuanto a las aguas probablemente salinas y a las altas radiaciones UV.

Como resultado de los cambios globales naturales y provocados por el hombre, los entornos hipersalinos están en aumento. Las altas temperaturas generan la evaporación de cuerpos de agua provocando acumulaciones de sal. Otra consecuencia de estos cambios globales es la reducción de la superficie con agua dulce disponible para la agricultura, principalmente por el aumento del nivel del mar. En este sentido, el estudio de plantas halófilas permitiría el desarrollo de una agricultura en entornos hipersalinos como posible respuesta a los cambios ambientales. Estos desafíos, junto al creciente estudio de biomoléculas novedosas y estables en microorganismos halófilos, han convertido a estos organismos en importantes recursos para la biotecnología.

Aplicaciones de los halófilos y sus biomoléculas

Debido a que muchos procesos industriales requieren condiciones extremas, como altas o bajas tempera-

turas, pH ácidos o alcalinos o alta salinidad, los organismos extremófilos se han convertido en atractivas fuentes de enzimas que pueden trabajar en estas circunstancias donde las enzimas convencionales se degradan y no funcionan. Por ejemplo, en la industria de los detergentes y jabones para la ropa se utilizan enzimas que quitan las manchas a baja temperatura, mientras que en tratamientos de esterilización de ropa de quirófano se prefiere un jabón que tenga enzimas estables a altas temperaturas. La industria del cuero y las pieles requiere enzimas que degradan proteínas de la piel de los animales en condiciones con alta sal o minerales. El avance de la biología molecular y la biotecnología permitió utilizar lo que se conoce como reactores biológicos, para producir a gran escala enzimas muy útiles para la industria como proteasas, celulasas, xilanasas, lipasas y amilasas.

Las enzimas halófilas se caracterizan por tener un exceso de aminoácidos ácidos y una carga superficial negativa. Esta peculiaridad permite que funcionen en entornos con baja actividad de agua, incluidas las mezclas de solvente orgánico y agua. En este sentido, el uso de estas enzimas es muy común en las industrias alimentaria, farmacéutica, cosmética, textil e incluso en la producción de biocombustibles y bioplásticos. También se

utilizan en el campo del tratamiento de efluentes tóxicos de los procesos industriales, donde los métodos convencionales no son muy efectivos debido a la alta salinidad de estos efluentes. Esto sucede, por ejemplo, en la producción de diversas sustancias químicas como los pesticidas, algunos productos farmacéuticos y herbicidas, y los procesos de extracción de petróleo y gas.

Además de sus enzimas, los halófilos son fuente de varios productos de mucho interés como los emulsio-nantes o biosurfactantes y los solutos compatibles. Un caso especial es el de la ectoína, que actúa como osmo-protector aumentando la sobrevivencia a un estrés os-mótico extremo. Actualmente, diferentes empresas de todo el mundo producen este compuesto a gran escala utilizando fuentes halófilas como las bacterias *Halomonas elongata* o *Halomonas salina*. La ectoína se utiliza en muchos cosméticos como ingrediente activo en el cuidado de la piel y protección solar, ya que estabiliza proteínas y otras estructuras celulares y protege la piel de la radiación ultravioleta y la resequedad.

Las algas halófilas son muy utilizadas para la produc-ción a gran escala de pigmentos carotenoides, los cua-

les son muy interesantes debido a su alto poder antioxi-dante. La microalga *Dunaliella salina* es una de las mayores fuentes comerciales de beta-caroteno ya que llega a acu-mular hasta el 15% de su peso seco en pigmentos. Si bien inicialmente se cultivaba en piletones salados, ac-tualmente se utilizan biorreactores con condiciones re-gulables que permiten un proceso más eficiente. Las haloarqueas también son productores ideales de carote-noides debido a la facilidad para cultivarlas y manipular-las genéticamente.

Los halófilos son considerados estrellas para la biotec-nología industrial por las ventajas que presentan frente a otros organismos, tales como un menor costo de pro-ducción, una disminución en la utilización de energía y una fácil recuperación de los productos. En consecuencia, durante los últimos años se adoptó el uso de organismos halófilos para el desarrollo de la industria biotecnológica. Así como durante millones de años estos organismos se adaptaron a vivir en condiciones adversas, podría decirse que el ser humano está siguiendo el ejemplo de los ha-lófilos, e incluso ayudándose de ellos, para enfrentar los nuevos desafíos del mundo moderno. 

LECTURAS SUGERIDAS

DASSARMA S & ARORA P, 2001, 'Halophiles', *Encyclopedia of Life Sciences*. DOI 10.1038/npg.els.0000394

PROGRAMA EDUCATIVO POR QUÉ BIOTECNOLOGÍA, Cuaderno 'Por qué Biotecnología'. Edición 57: Los Organismos Extremófilos, accesible en www.porquebiotecnologia.com.ar/el-cuaderno

VISTA AL MAR, 2005, 'El camarón de la salmuera es prácticamente indestructible', accesible en www.vistaalmar.es/ciencia-tecnologia/biologia/5412-el-camaron-de-la-salmuera-es-practicamente-indestructible.html

YANHE MA & COL, 2010, 'Halophiles: Life in saline environments', *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (21): 6971-6981. DOI 10.1128/AEM.01868-10



Mariana Costa

Doctora en ciencias biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMdP.

Becaria posdoctoral en el IIB-Conicet, UNMdP.
marianacostamd@gmail.com



Micaela Cerletti

Doctora en ciencias biológicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMdP.

Investigadora asistente en el IIB-Conicet, UNMdP.
mcerletti@gmail.com