

# BIOTECNOLOGÍA A ALTAS TEMPERATURAS

## BIOTECHNOLOGY AT HIGH TEMPERATURES

David Israel Ríos Vázquez<sup>1</sup>, Alejandro Carabarin Lima<sup>2</sup>, María Cristina González Vázquez<sup>2</sup>, Abigail Martínez Torres<sup>1</sup>, Luis Ramiro Caso Vargas<sup>1</sup>, Norma Elena Rojas Ruíz<sup>2\*</sup>.

<sup>1</sup>Licenciatura en Biotecnología. Facultad de Ciencias Biológicas BUAP. Edificio EMA-6. Ciudad Universitaria. Teléfono 2222295500 Ext. 3967.

<sup>2</sup>Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Pue. Edificio EMA-6 402. Ciudad Universitaria. Teléfono 2222295500 Ext. 3965.

Correo-e: [dirv20296@gmail.com](mailto:dirv20296@gmail.com)

[alejandro.carabarin@correo.buap.mx](mailto:alejandro.carabarin@correo.buap.mx); [abigail.martinez@correo.buap.mx](mailto:abigail.martinez@correo.buap.mx)  
[crispi333@yahoo.com.mx](mailto:crispi333@yahoo.com.mx); [ramiro.caso@correo.buap.mx](mailto:ramiro.caso@correo.buap.mx); [norma.rojasruiz@viep.com.mx](mailto:norma.rojasruiz@viep.com.mx)

### Abstract

Microorganisms represent one of the oldest forms of life on the planet, some of them can grow in extreme environmental conditions that would not allow the development of other organisms, for example they can be resistant to ultraviolet light, at temperatures close to boiling point or below the freezing point of water, They can develop at very considerable heights or in the depth of the ocean, in the presence of harmful compounds, such as heavy metals, toxic gases, very acidic or basic pH and even a high concentration of salt, because of this versatility to grow and reproduce in extreme environments are interesting life forms. Yellowstone National Park is a hyperthermal environment in

which diverse microorganisms develop, an example is the bacterium *Thermus aquaticus*, which was isolated from samples of this environment, and its enzyme DNA polymerase is used in the Polymerase Chain Reaction (PCR). Examples of microorganisms that are capable of living at high temperatures and their applications in the field of biotechnology are mentioned in this article.

**Keywords:** Extreme environment, thermophiles, microorganisms, Biotechnology.

### Resumen

Los microorganismos representan una de las formas de vida más antiguas en el planeta, algunos de ellos pueden crecer en condiciones ambientales extremas que no permitirían el desarrollo de otros organismos, por ejemplo pueden ser resistentes a luz ultravioleta, a temperaturas cercanas al punto de ebullición o a bajo del punto de congelación del agua, pueden desarrollarse a alturas muy considerables o en la profundidad del océano, en presencia de compuestos nocivos, como metales pesados, gases tóxicos, pH muy ácido o básico e incluso a una alta concentración de sal, debido a esta versatilidad para poder crecer y reproducirse en ambientes extremos son formas de vida interesantes. El parque Nacional de Yellowstone es un ambiente hipertermal en el que se desarrollan diversos microorganismos, un ejemplo es la bacteria *Thermus aquaticus*, la cual fue aislada partir de muestras de este ambiente y su enzima ADN polimerasa es empleada en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). En el presente artículo se mencionan ejemplos de microorganismos que son capaces de vivir a altas temperaturas y sus aplicaciones en el ámbito de la Biotecnología.

**Palabras clave:** Ambiente extremo, termófilos, microorganismos, Biotecnología.

### INTRODUCCIÓN.

Los microorganismos extremófilos son capaces de adoptar como hábitat natural ambientes que se consideraban inhabitables o demasiado hostiles para permitir la vida (Oliart, et al., 2016). El proceso de evolución logró otorgar a estos microorganismos con enzimas resistentes, adaptadas al ambiente y especializadas para realizar procesos bioquímicos con los nutrientes circundantes (extremoenzimas), presentan membranas y paredes celulares más resistentes con capacidad de biosintetizar o captar moléculas específicas, que les ayudan a sobrevivir en ambientes y condiciones extremas, sus proteínas tienen enlaces más fuertes y específicos, sus ácidos nucleicos tienen arreglos nucleotídicos específicos, modificados para el correcto funcionamiento y regulación de sus genes bajo condiciones extremas. (Sturchio et al., 1993, Vaughan et al., 2014, Oliart et al., 2016). De acuerdo a las condiciones ambientales de temperatura, pH, concentración de sal, luz ultravioleta, presencia de metales pesados y presión atmosférica que los microorganismos pueden tolerar se clasifican en las categorías mostradas en la tabla 1.

En la tabla 1 se muestra la clasificación de microorganismos de acuerdo a la temperatura de desarrollo.

**Tabla 1: Clasificación de los microorganismos extremófilos. Elaborado a partir de la referencia Oliart, et al., 2016.**

Tipo de microorganismos extremófilos	Condiciones ambientales óptimas
Termófilos	Temperaturas mayores a los 45°C.
Psicrófilos	Temperaturas menores a los 10°C.
Acidófilos	Valores de pH menores a 5.
Alcalófilos	Valores de pH mayores a 8.
Halófilos	Medios hipersalinos de 5% a 30% de sal.
Osmófilos	Altas presiones osmóticas.
Radiófilos	Altos niveles de radiación.
Metalófilos	Altas concentraciones de metales pesados.
Piezófilos	Presiones hidrostáticas de 40 atm a 60 atm.

En el presente artículo nos enfocaremos en los microorganismos termófilos y sus características generales, mencionando las especies microbianas más importantes que han sido aisladas de ambientes termales del Parque Nacional de Yellowstone (YNP), sus aplicaciones e importancia.

**CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS MICROORGANISMOS TERMÓFILOS**

Los microorganismos termófilos son aquellos cuya temperatura óptima de crecimiento oscila entre los 60°C y los 80°C en promedio, suelen habitar en manantiales y otros cuerpos de agua caliente, poseen propiedades macromoleculares únicas (metabolismo alto, enzimas física y químicamente estables, menor crecimiento en cuanto al número de colonias, mayor cantidad de productos finales en su metabolismo (metabolitos), etc (Mehta et al., 2016).

Aún no se conoce la temperatura límite a la cual es posible encontrar organismos vivos aunque se cree que por encima de los 150°C ninguna forma de vida sería capaz de evitar la ruptura de los enlaces químicos que forman el ADN y otras moléculas esenciales (Ramírez, et al., 2006).

Existen diversos tipos de hábitats que presentan altas temperaturas, por ejemplo: áreas volcánicas, fuentes hidrotermales, suelos desérticos, su clasificación en función de la temperatura en la que se desarrollan se muestra en la Figura 1.

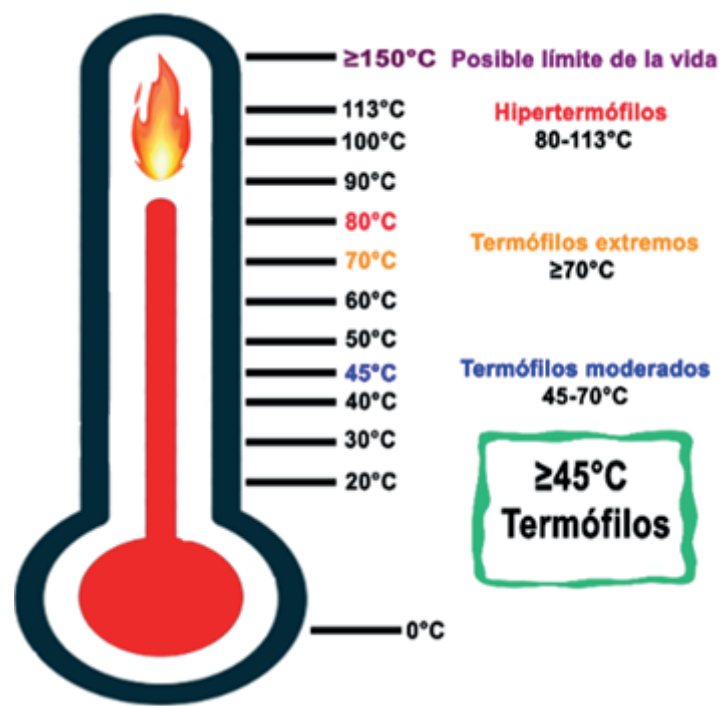


Figura 1. Clasificación de los microorganismos termófilos de acuerdo a la temperatura óptima de desarrollo. Tomado de Vázquez, 2019.

<https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/4485>.

Los microorganismos presentes en ambientes termófilos, requieren de una temperatura mínima, óptima y máxima para crecer, estos rangos de temperatura se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Tipos de Microorganismos termófilos y los valores de temperatura mínima, óptima y máxima de crecimiento. Modificado de Wiegel y Ljungdahl. (1985).

Tipos de organismos termófilos	Temperatura mínima	Temperatura óptima	Temperatura máxima
Termotolerantes	X	$\leq 45^{\circ}\text{C}$	$> 45^{\circ}\text{C}$
Termófilos temperatura-tolerantes	$< 25^{\circ}\text{C}$	$> 45^{\circ}\text{C}$	$> 50^{\circ}\text{C}$
Termófilos	$> 25^{\circ}\text{C}$	$> 45^{\circ}\text{C}$	$> 50^{\circ}\text{C}$
Termófilos extremos temperatura-tolerantes	$\geq 35^{\circ}\text{C}$	$\geq 65^{\circ}\text{C}$	$\geq 70^{\circ}\text{C}$
Hipertermófilos	$\geq 50^{\circ}\text{C}$	$\geq 65^{\circ}\text{C}$	$\geq 70^{\circ}\text{C}$
Barotermotolerantes	ND	$< 100^{\circ}\text{C}$	$> 100^{\circ}\text{C}$
Barotermófilos	ND	$> 100^{\circ}\text{C}$	$> 100^{\circ}\text{C}$

ND: No determinado

Los principales factores que permiten la tolerancia a altas temperaturas a los microorganismos termófilos son los siguientes: a) permeabilidad, las membranas celulares funcionan como barreras permeables que controlan los flujos de entrada y salida de compuestos de bajo peso molecular; b) estabilidad química de sus membranas debido a la abundancia de lípidos saturados de cadena larga como lo son el caldarqueol y en arqueól cíclico; c) genoma con alto porcentaje de guaninas y citosinas, los ácidos nucleicos como el ARN ribosomal y de transferencia contienen un mayor número de guaninas y citosinas que el de los microorganismos mesófilos, dado que los enlaces entre éstos nucleótidos son triples, proporcionan una mayor termoestabilidad a los ácidos nucleicos; d) proteínas con una menor cantidad de aminoácidos polares sin carga, y una mayor cantidad de aminoácidos con carga. Los residuos con carga propician un mayor número de puentes de sal intramoleculares que mantienen la estabilidad y conformación de las proteínas (Mehta, et al., 2016).

El estudio de éstos microorganismos es de gran interés debido a los novedosos procesos biotecnológicos que pueden desarrollarse para múltiples y diversos procesos industriales que se llevan a cabo a altas temperaturas, sobretodo tomando en cuenta la gran variedad de enzimas termoestables que pudiesen ser aprovechadas para este fin (Suárez, et al., 2004).



**Figura 2.** El “morning glory” del YNP. Los colores verdes, amarillos y anaranjados brillantes son provocados por colonias de microorganismos que allí habitan. Este cuerpo de agua tiene una temperatura promedio de 70.7°C y un pH promedio de 7.6. (Hermoso, 2014).

### **BACTERIAS DE LAS AGUAS TERMALES DE YNP.**

Se han descrito más de 10,000 características geotérmicas en el YNP, estos ambientes albergan una gran cantidad de bacterias, arqueas y virus que se han adaptado a sobrevivir a dichas condiciones (Inskeep et al., 2013). Las bacterias que aquí habitan producen diferentes metabolitos y enzimas termoestables las cuales son muy valiosas para la industria y su empleo ha significado el surgimiento



de técnicas de técnicas tan útiles y versátiles como por ejemplo la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, por sus siglas en inglés).

## Cianobacterias

El filo Cianobacteria comprende a aquellas bacterias Gram negativas, fotoautótrofas de diversas morfologías (su morfología puede ser unicelular, colonial, filamentosa y filamentosa ramificada) que habitan en la superficie de diferentes cuerpos de agua y llevan a cabo el proceso de fotosíntesis oxigénica (Sharma, et al., 2014). Son los únicos procariontes capaces de realizar dicho proceso metabólico, esto lo hacen a través de la clorofila  $\alpha$ , pigmento verde que también puede ser encontrado en organismos vegetales, además, son capaces de producir otro tipo de pigmentos accesorios llamados ficobilinas, las cuales pueden ser de tipo ficocianinas (pigmentos azules) y ficoeritrinas (pigmentos que van del rojo al café), por lo que son capaces de absorber la luz con gran eficiencia y usar su energía para la producción de ATP (Van der Merwe, 2014). Las cianobacterias pueden ser encontradas frecuentemente en las superficies de aguas dulces y saladas. De acuerdo con el tipo de pigmento predominante sintetizado por estos microorganismos será su coloración, las más comunes son verde, amarilla, roja, café y púrpura es por ello que los cuerpos de agua del YNP adquieren diferentes colores.

Aunado a lo anterior, algunas especies de cianobacterias son productoras de toxinas. Se ha demostrado que la expresión de los genes de dichas toxinas está condicionada a factores ambientales como las concentraciones de nutrientes, temperatura y pH del agua e interacciones de competencia con otros microorganismos. Existen diferentes tipos de toxinas sintetizadas por estos organismos, dentro de esta variedad se encuentra la cilindrospermopsina, un alcaloide cíclico de guanidina resistente a altas temperaturas y que afecta al hígado, el riñón, el bazo, el timo y el corazón mediante la inhibición de la síntesis de proteínas. (Van der Merwe, 2014).

El género *Calothrix* sp es un ejemplo del uso de estos microorganismos termófilos en la industria (Figura 3). Este género de Cianobacteria es capaz de crecer en un rango de 30°C - 45°C y valores de pH de 6 - 9 y se han encontrado en los manantiales termales de Mammoth en las cuencas superiores, intermedias e inferiores de los géiseres en el YNP. Se trata de bacterias con morfología altamente diversa lo cual es característico de su filo e involucra a un gran número de especies. De ellas se han obtenido dos tipos de metabolitos llamados Calotrixina A y Calotrixina B, estas fueron descubiertas en 1999; los extractos celulares de *Calothrix* sp. demostraron ayudar a la inhibición del crecimiento de células cancerígenas HeLa humanas a través de inducir a la muerte por apoptosis y de afectar la señalización celular a través de la activación de miembros de la familia de proteínas cinasa-C. Se ha demostrado también la eficacia en la inhibición del crecimiento in vitro de cepas resistentes a cloroquina de *Plasmodium falciparum*, que es el parásito causante de la malaria en humanos (Vijayakumar & Menakha, 2015). Este tipo de metabolitos son de gran interés para la industria farmacéutica y han sido utilizados en medicamentos para el tratamiento del cáncer y antibióticos.

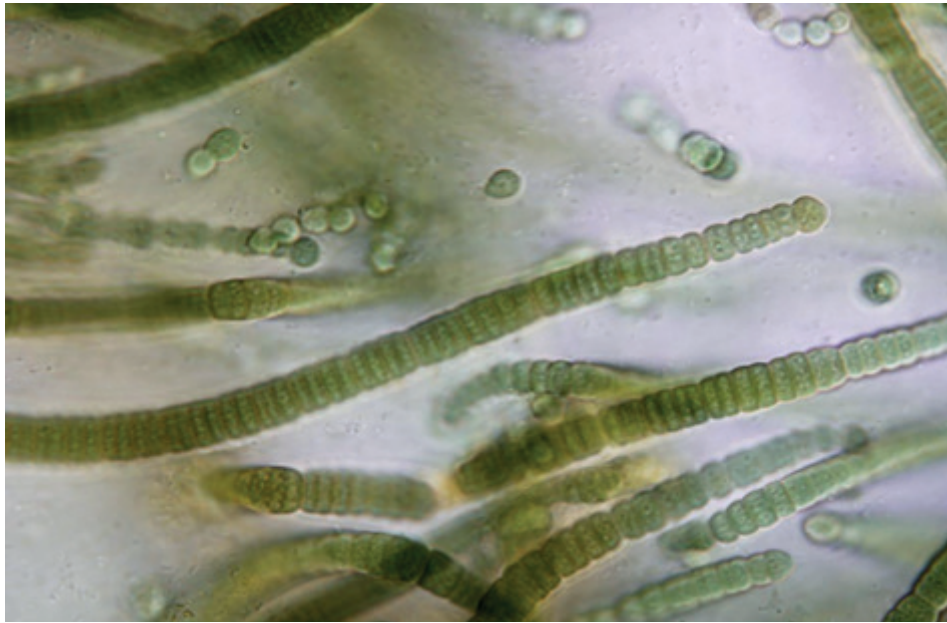


Figura 3. Micrografía de Calothrix Sp. (CCALA, 1982).

### Chlorobi

El filo Chlorobi está compuesto por microorganismos conocidos como las bacterias verdes del azufre. Las especies de este filo son generalmente Gram negativas, fotoautótrofas, anaerobias estrictas, con o sin motilidad, transforman el N<sub>2</sub> atmosférico en amonio, tienen morfologías esféricas, ovoides, rectas o en forma de bastón curvado (Garrity, et al., 2001). Se encuentran mayoritariamente en las profundidades de diferentes cuerpos de agua ricos en azufre donde se cumplan las condiciones anoxigénicas que necesitan, además, son responsables de la coloración verdosa o marrón de dichos cuerpos de agua. Estos fotótrofos obligados oxidan compuestos reducidos de azufre para llevar a cabo la fijación de CO<sub>2</sub> mediante la vía del ciclo inverso de los ácidos tricarbónicos (rTCA por sus siglas en inglés) (Hiras., et al., 2015). El proceso es llevado a cabo en clorosomas, los cuales son vesículas que se encuentran debajo de la membrana celular, no cuentan con un recubrimiento membranal propio y en su lugar están rodeadas por una cubierta rica en proteínas. El principal pigmento fotosintético es la bacterioclorofila c aunque también poseen las de tipo b, d, y e. El sulfuro es el principal donador de electrones en el metabolismo de respiración de estas bacterias (Cerqueda, et al., 2014).

El género Chlorobium sp involucra a cepas de coloración verde y marrón, tienen la capacidad de formar filamentos largos, las condiciones físico químicas adecuadas para este género varían según la especie. Chlorobium tepidum puede sobrevivir en rangos de temperatura de 32°C - 52°C, valores de pH de 6 - 9 y se ha encontrado en los manantiales termales de Mammoth en especial en los manantiales de calcita en el YNP (Figura 4). Chlorobium tepidum ha sido considerado como fuente de biomasa para biocombustibles gracias a su capacidad de fijación de CO<sub>2</sub> y la consecuente realización de la fotosíntesis sin la generación de oxígeno, además, es capaz de capturar y acumular energía lumínica mediante sus carotenoides tras la unión del complejo luz-biomasa y generar Acetil-CoA a que puede utilizar subsecuentemente para la síntesis ácidos grasos y aceites orgánicos los cuales son la materia prima para producir biodiesel. Además, la actividad metabólica de esta bacteria posibilita la fijación de sulfuros y nitrógeno lo que ayuda a mitigar las emisiones de estos (Eisen, et al., 2002).



Figura 4. Cuerpo de agua color marrón del YNP, entre las diferentes especies presentes se detectó la bacteria verde del azufre *Chlorobium tepidum* (Treiman, 2002).

### Chloroflexi

El filo Chloroflexi comprende a las denominadas bacterias “verdes no sulfúricas”. Los miembros de este filo tienen una gran variedad de fenotipos y mecanismos bioquímicos. En algún momento se hipotetizó que estas bacterias pudieran ser las que se encuentren filogenéticamente más cerca del precursor de la fotosíntesis oxigénica (Sutcliffe, 2011). Estos microorganismos pueden ser fotótrofos anoxigénicos, aerobios organotrofos, anaeróbicos organohaluro, o reductores de nitratos (Sewell, et al., 2017), pero generalmente son conocidos como microorganismos fotoheterótrofos (Ward, et al., 2018). Su morfología es bastante diversa, son filamentosas, poseen capacidades deslizantes y pueden ser encontradas en superficies marinas, zonas intermareales, superficie de cuerpos de agua dulce y sedimentos subsuperficiales (Fullerton & Moyer, 2016).

Las bacterias fotoheterótrofas poseen la capacidad de ocupar la luz como fuente de energía, pero son incapaces de realizar la conversión de CO<sub>2</sub> en azúcar por lo que deben de obtenerla de compuestos orgánicos como alcoholes, ácidos grasos y carbohidratos y generalmente se tratan de microorganismos anoxigénicos (Tortora, et al., 2007). Poseen pequeños clorosomas compuestos principalmente por bacterioclorofila a y contienen al denominado centro de reacción del fotosistema II. La vía empleada por estas bacterias para la fijación de dióxido de carbono es la del 3-hidroxiopropianato (3HP) (Perry, et al., 2002). Esta vía utiliza enzimas involucradas en otras vías de fijación de CO<sub>2</sub> y se sugiere que este metabolismo ha sido utilizado por bacterias ancestrales y que este mecanismo bioquímico forma parte de las bacterias del filo Chloroflexi gracias al proceso de transferencia horizontal de genes (Shih, et al., 2017).



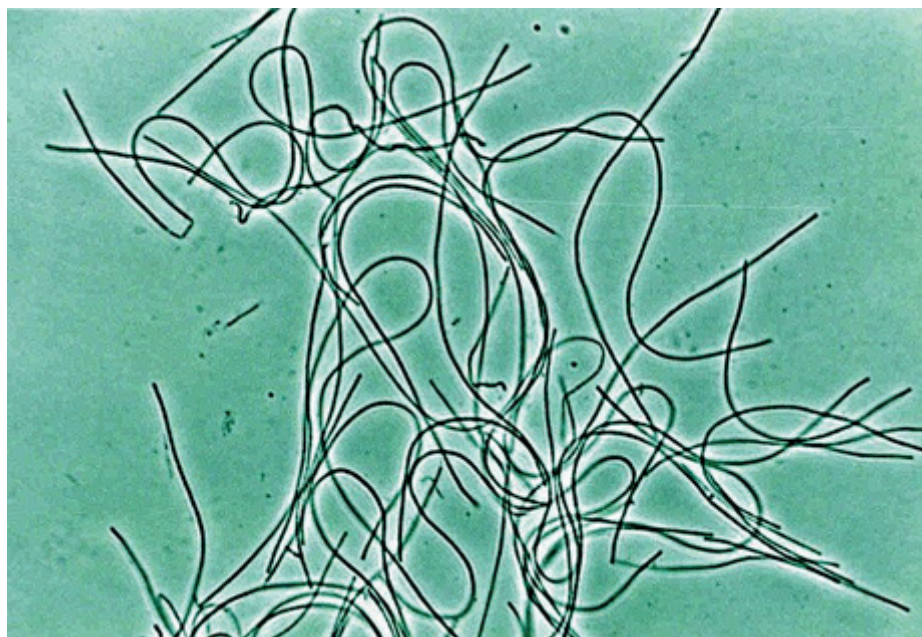


Figura 5. Micrografía de *Chloroflexus aurantiacus* (Herter, 2014).

El género *Chloroflexus* sp contiene bacterias filamentosas anoxigénicas fototróficas que habitan principalmente en ecosistemas hidrotermales, hasta ahora solo se han publicado nombres válidos y descrito fisiológicamente a dos especies: *Chloroflexus aurantiacus* y *Chloroflexus aggregans*. (Gaisin, et al., 2017). En general son capaces de sobrevivir a temperaturas de 35°C - 85°C y valores de pH que van de 7 - 9. Bacterias de este género pueden ser encontradas en los manantiales termales de Mammoth, cuencas de géiseres superiores, intermedios e inferiores en YNP. En el caso concreto de *Chloroflexus aurantiacus* se ha descrito la morfología típica filamentososa de su género y es capaz de crecer a las condiciones fisicoquímicas anteriormente mencionadas. Se sabe además que crece inicialmente como fotoheterótrofo anaeróbico en condiciones de luz sin embargo también puede crecer como quimioheterótrofo aerobio en la obscuridad y como fotoautótrofo anaeróbico en condiciones de luz, inclusive es capaz de utilizar hidrógeno gaseoso y sulfuro como donadores de electrones en su condición de fotoautótrofo anaeróbico (Perry, et al., 2002) por lo que el término “bacterias verdes no sulfúricas” podría no ser tan adecuado para el filo Chloroflexi.

Se ha reportado la obtención y purificación de la enzima enolasa termoestable proveniente de *Chloroflexus aurantiacus* capaz de realizar su proceso enzimático a 80°C. Se trata de una metaloenzima que cataliza la conversión de 2-fosfoglicerato (2-PGA) a fosfoenolpiruvato (PEP) y que participa en los procesos de glucólisis y gluconeogénesis (Zadvornyy, et al., 2015). La enolasa tiene diversas aplicaciones en el área de biotecnología médica: la  $\beta$ -enolasa forma parte importante en la miogénesis y regeneración de tejido muscular por lo que puede ser utilizada en terapia, la  $\alpha$ -enolasa puede usarse igualmente como factor terapéutico ante el decremento natural de esta enzima y el padecimiento consecuente de cardiomiopatías (Díaz, et al., 2012), entre otras aplicaciones.

### Aquificae

El filo Aquificae integra especies de bacterias de morfología curvada y alargada, generalmente son Gram negativas, son quimiolitotoautótrofos (Tamazawa, et al., 2016) móviles y no esporulantes (Guiral, et al., 2012), este filo contiene al mayor número de especies termófilas del dominio Bacteria hasta ahora, la temperatura máxima de crecimiento de algunas de las especies logra exceder los 95°C

por lo que son llamadas bacterias hipertermófilas, cuando estas no se encuentran en un medio rico en compuestos orgánicos pueden convertirse en autótrofas obligadas de hidrógeno (Perry & Lory, 2002). Son especies dominantes y ampliamente distribuidas en ambientes geotermales sulfurosos tales como manantiales termales y fuentes hidrotermales de aguas profundas, de hecho su proliferación en este tipo de ambientes llega al hecho de ser consideradas parte del ciclo del azufre.

Este tipo de bacterias fijan el CO<sub>2</sub> a través del rTCA además de ser capaces de oxidar tiosulfatos y sulfuro a ácido sulfúrico y/o sulfuro de hidrógeno con el fin de obtener energía, también utilizan el nitrato como aceptor de electrones produciendo así nitrito y N<sub>2</sub> gasificado (Perry & Lory, 2002) Lo anteriormente mencionado confirma su posición como microorganismos quimiolitioautótrofos los cuales obtienen energía a través de quimiosíntesis y fijación de carbono y compuestos inorgánicos tales como hidrógeno, compuestos azufrados, metales, etc. (White & Culver, 2012).

El azufre que estas bacterias utilizan como donante de electrones proviene del azufre atmosférico el cual se deposita en la zona fótica de los cuerpos de agua, baja hacia la plataforma continental y finalmente llega a las fuentes hidrotermales de aguas profundas en donde es metabolizado por bacterias hipertermófilas como las del filo Aquificae las cuales generan como producto sulfuro de hidrógeno el cual es despedido hacia las capas superiores de los cuerpos de agua siendo en las aguas superiores en donde se da su reincorporación a la atmósfera.

El género Aquifex sp comprende bacterias que poseen la morfología y demás características de su filo, se han encontrado en el géiser Norris y en las fuentes hidrotermales de los manantiales más profundos en YNP. Presentan un crecimiento óptimo a temperaturas entre 60°C - 90°C (Guiral, et al., 2012) y a valores de pH de entre 3 - 5.5. Se ha reportado el uso de la enzima termoestable hidrogenasa ligada a membrana extraída de la especie Aquifex aeolicus como parte de celdas enzimáticas de biocombustible. Su función es catalizar la oxidación de H<sub>2</sub> (ánodo) y reducción de O<sub>2</sub> (cátodo) con la finalidad de que este tipo de pilas produzcan energía eléctrica a través de dichas reacciones químicas sin la necesidad de utilizar metales preciosos (Monsalve, et al., 2015). El uso de la hidrogenasa termoestable permitiría la utilización de estas celdas en situaciones de altas temperaturas y no solo a moderadas y bajas temperaturas como las celdas convencionales ampliando así sus condiciones de reacción. Estos biodispositivos podrían ser usados para hacer funcionar a marcapasos, sensores de glucosa, sensores de altas temperaturas, dispositivos de turbinas aeroespaciales entre un sin fin de dispositivos electrónicos.

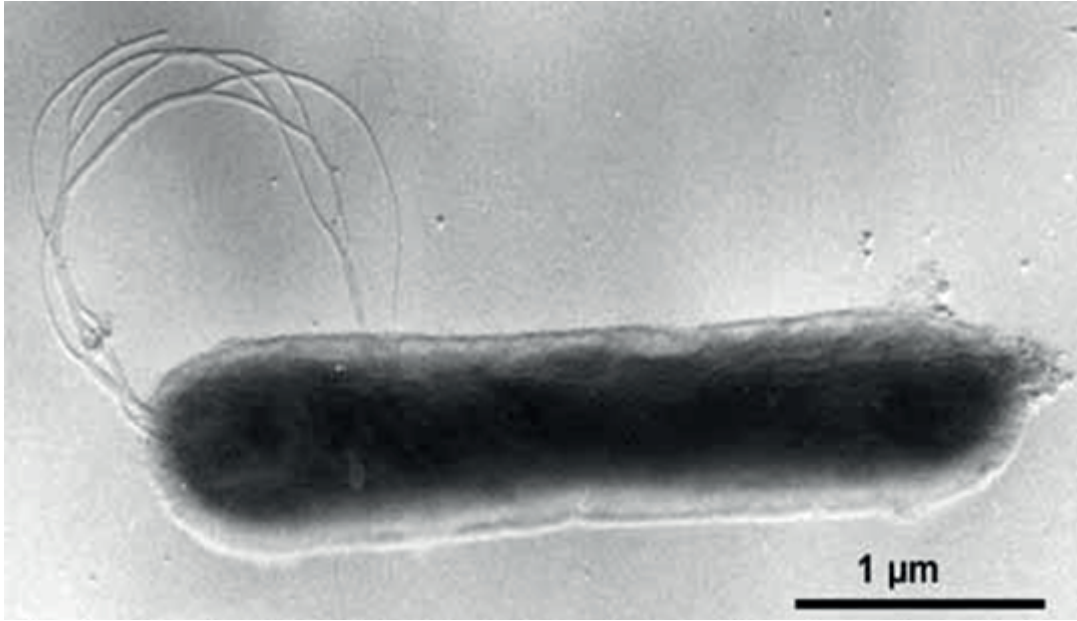


Figura 6. Micrografía de *Aquifex pyrophilus* (Stetter y Rachel, 2006).

**Deinococcus-Thermus**

El filo *Deinococcus-Thermus* es uno de los filos con mayor número de bacterias termófilas, incluye a dos tipos de órdenes bacterianos: *Deinococcales* y *Thermales* (Theodorakopoulos, et al., 2013). En este artículo nos enfocaremos en el orden *Thermales* el cual está comprendido por bacterias de tamaño variable con forma de bastón recto, puede haber presencia de filamentos, no presentan motilidad ni flagelos, son Gram negativas, sin presencia de endoesporas, son aerobias estrictas aunque algunas cepas pueden llegar a ser anaerobias usando nitratos y nitritos como aceptores de electrones, generalmente son bacterias quimioheterotróficas, específicamente quimiolitoheterotrófas, tienen la capacidad de oxidar compuestos de azufre y pueden ser fácilmente encontradas en ambientes hidrotermales, específicamente en manantiales geotermales (Rainey & da Costa, 2015).

Los organismos quimioheterotrófos son aquellos que utilizan sustratos orgánicos como fuente de carbono y de energía, dichas fuentes pueden ser bastante diversas (Perry & Lory, 2002). El género *Thermus* sp comprende a bacterias que poseen la morfología y demás características de su filo, pueden ser encontradas en géiseres inferiores de las cuencas del YNP, son capaces de crecer a temperaturas de entre 40 - 79°C y a valores de pH de 5 - 9. *Thermus aquaticus* podría ser el más claro ejemplo de cómo los microorganismos termófilos y sus componentes son de gran interés biotecnológico debido a su potencial aplicación en la biología molecular.

La técnica de PCR perfeccionada por Kary Mullis a mediados de los años 80 dió nuevos panoramas a la ingeniería genética, en un principio se utilizaba a la enzima ADN polimerasa I de *Escherichia coli* sin embargo el proceso era lento y tedioso debido a que se necesitaba tener especiales cuidados en las etapas de desnaturalización de la doble cadena del ADN, ya que esta enzima dejaba de ser funcional a altas temperaturas, el descubrimiento de la ADN polimerasa I proveniente de cepas de *Thermus aquaticus* las cuales fueron encontradas en manantiales geotermales del YNP en 1976 (Ishino & Ishino, 2014). Su subsecuente incorporación a la técnica de PCR permitió optimizar y hacer de esta técnica una de las más utilizadas en laboratorios de diagnóstico a nivel mundial ya que al ser una enzima termoestable no presenta inactivación en las etapas de desnaturalización del ADN. La técnica

de PCR posee una amplia gama de aplicaciones desde detección de mutaciones, pasando por técnicas de secuenciación, investigaciones en criminalística, hasta el diagnóstico de enfermedades genéticas e infecciosas, sin duda esta enzima termoestable revolucionó la manera en que se hace ciencia hoy.

## CONCLUSIÓN

El YNP representa un oasis para el descubrimiento de diversas formas de vida con capacidades particulares como son la producción de enzimas termoestables que han impactado en diversas áreas de la Ciencia, las características propias de este ambiente hipertérmico como son su geografía, temperatura, la diversidad de especies microbianas termófilas, podrían proporcionar elementos útiles para reconstruir y entender de mejor manera el origen de la vida en la Tierra. De estas especies microbianas se han aprovechado con éxito sus componentes celulares, enzimas termoestables y metabolitos aportando e incluso revolucionando el campo de las ciencias biológicas. El aislamiento e identificación de microorganismos provenientes de ambientes extremos es una alternativa novedosa con miras al mejoramiento de procesos y productos de interés industrial, además de representar un nuevo campo de estudio para la biotecnología con un gran potencial para la realización de ciencia básica y aplicada a partir del metabolismo de la microbiota presente en estos ambientes.

## AGRADECIMIENTOS.

Agradecemos al Dr. Hugo Castelán Sánchez por su apoyo y asesoría en el tema.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores participantes en la elaboración de este artículo manifestamos no tener ningún conflicto de interés personal o económico.

## REFERENCIAS

CCALA. (1982). *Calothrix Sp.* [imagen en-línea]. Culture collection of Autotrophic Organisms. <https://ccala.butbn.cas.cz/en/calothrix-sp-0>

Cerqueda, D., Martínez, N., Falcón, L & Delaye, L. (2014). Metabolic analysis of *Chlorobium chlorochromatii* CaD3 reveals clues of the symbiosis in 'Chlorochromatium aggregatum'. *The ISME Journal*, 8 (5), 991-998. <http://doi.org/10.1038/ismej.2013.207>

Díaz, A., Roig, A., García, A & López, R. (2012).  $\alpha$ -Enolase, a Multifunctional Protein: Its Role on Pathophysiological Situations. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 1-12. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/156795>

Eisen, J. A., Nelson, K. E., Paulsen, I. T., Heidelberg, J. F., Wu, M., Dodson, R. J., ... & Fraser, C. M. (2002). The complete genome sequence of *Chlorobium tepidum* TLS, a photosynthetic, anaerobic, green-sulfur bacterium. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(14), 9509-9514.

Fullerton, H & Moyer, C. (2016). Comparative Single-Cell Genomics of Chloroflexi from the Okinawa Trough Deep-Subsurface Biosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 82 (10), 3000-3008. <http://doi.org/10.1128/AEM.00624-16>



Gaisin, V., Kalashnikov, A., Grouzdev, D., Sukhacheva, M., Kuznetsov, B & Gorlenko, V. (2017). *Chloroflexus islandicus* sp. nov., a thermophilic filamentous anoxygenic phototrophic bacterium from a geyser. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67, 1381-1386. <http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.001820>

Garrity, G., Holt, J., Overmann, J., Pfennig, N., Gibson, J & Gorlenko, V. (2001). Phylum BXI. *Chlorobi* ph. nov. *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology* (pp. 601-623). New York, USA: Springer.

Guiral, M., Prunetti, L., Aussignargues, C., Ciaccafava, A., Infossi, P., Ilbert, M., Lojou, E & Giudici-Ortoni, M-T. (2012). Chapter Four - The Hyperthermophilic Bacterium *Aquifex aeolicus*: From Respiratory Pathways to Extremely Resistant Enzymes and Biotechnological Applications. *Advances in Microbial Physiology*, 61, 125-194. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394423-8.00004-4>

Hermoso, M. (2014). Morning Glory Pool. Yellowstone NP [imagen en-línea]. Wikimedia commons. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Morning\\_Glory\\_Pool\\_03.JPG](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Morning_Glory_Pool_03.JPG)

Herter, S. (2014). *Chloroflexus aurantiacus* [imagen en-línea]. Joint Genome Institut. <https://genome.jgi.doe.gov/portal/chlau/chlau.home.html>

Hiras, J., Wu, Y-W., Eichorst, S., Simmons, B & Singer, S. (2015). Refining the phylum Chlorobi by resolving the phylogeny and metabolic potential of the representative of a deeply branching, uncultivated lineage. *The ISME Journal* 10 (4), 833-845. <http://doi.org/10.1038/ismej.2015.158>

Inskeep, W., Jay, Z., Tringe, S., Herrgard, M., Rusch, D & YNP Metagenome Project Steering Committee and Working Group Members. (2013). The YNP metagenome project: environmental parameters responsible for microbial distribution in the Yellowstone geothermal ecosystem. *Frontiers in Microbiology*, 4 (67), <http://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00067>

Ishino, S & Ishino, Y. (2014). DNA Polymerases as useful reagents for biotechnology – The history of developmental research in the field. *Frontiers in Microbiology*, 5:465, <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00465>

Mehta, R., Singhal, P., Singh, H., Damle, D & Sharma, A. (2016). Insight into thermophiles and their wide-spectrum applications. *3 Biotech*, 6 (81). <http://doi.org/10.1007/s13205-016-0368-z>

Monsalve, K., Roger, M., Gutierrez, C., Ilbert, M, Nitsche, S., Byrne, D., Marchi, V & Lojou, E. (2015). Hydrogen bioelectrooxidation on gold nanoparticle-based electrodes modified by *Aquifex aeolicus* hydrogenase: Application to hydrogen/ oxygen enzymatic biofuel cells. *Bioelectrochemistry*, 106, 47-55. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioelechem.2015.04.010>

Oliart, R., Manresa, A & Sánchez, M. (2016). Utilización de microorganismos de ambientes extremos y sus productos en el desarrollo biotecnológico. *Ciencia UAT*, volumen 11, 79-90. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-78582016000200079&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-78582016000200079&lng=es&tlng=es).

Perry, J., Staley, J & Lory, S. (2002). *Microbial Life*. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Publishers.

Rainey, F & da Costa, M. (2015). Thermales ord. nov. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, 1-1. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.obm00045>

Ramírez, N., Serrano, J & Sandoval, H. (2006). Microorganismos extremófilos. Actinomicetos halófilos en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37 (3), 56-71. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57937307>

Ríos Vázquez, D. I. (2019). Identificación de microorganismos aislados de agua termal de Chignahuapan, Puebla. Tesis de Licenciatura en Biotecnología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/4485>

Sewell, H., Kaster, A & Spormann, A. (2017). Homoacetogenesis in Deep-Sea Chloroflexi, as Inferred by Single-Cell Genomics, Provides a Link to Reductive Dehalogenation in Terrestrial Dehalococcoides. *American Society for Microbiology*, 8 (6). <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.02022-17>

Sharma, N., Rai, A & Stal, N. (2014). *Cyanobacteria an Economic Perspective*. West Sussex, UK. Wiley Blackwell.

Shih, P., Ward, L & Fischer, W. (2017). Evolution of the 3-hydroxypropionate bicycle and recent transfer of anoxygenic photosynthesis into the Chloroflexi. *National Academy of Sciences*, 114(40), 10749-10754. <https://doi.org/10.1073/pnas.1710798114>

Sievert, S., Kiene, R & Schulz-Vogt, H. (2007). The Sulfur Cycle. *Oceanography*, 20 (2), 117-123. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2007.55>

Sturchio, N., Bohlke, J & Markun, F. (1993). Radium isotope geochemistry of thermal waters, Yellowstone National Park, Wyoming, USA. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57(6), 1203-1214. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(93\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0016-7037(93)90057-4)

Suárez, C., Ramírez, F., Monroy, O., Alazard, D & Fernández, L. (2004). La vida a altas temperaturas: adaptación de los microorganismos y aplicación industrial de sus enzimas. *Ciencia*, volumen 55 (1), 55-66. [https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/55\\_1/lavida\\_altas\\_temperaturas.pdf](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/55_1/lavida_altas_temperaturas.pdf)

Sutcliffe, I. (2011). Cell envelope architecture in the Chloroflexi: a shifting frontline in a phylogenetic turf war. *Environmental Microbiology*, 13 (2), 279-281. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02339.x>

Stetter, K.O. y Rachel, R. (2006). *Aquifex pyrophilus* [imagen en-línea]. Microbe Wiki. <https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/File:Aquifex-pt1.jpg>

Tamazawa, S., Yamamoto, K., Takasaki, K., Mitani, Y., Hanada, S., Kamagata, Y & Tamaki, H. (2016). In Situ Gene Expression Responsible for Sulfide Oxidation and CO<sub>2</sub> Fixation of an Uncultured Large Sausage-Shaped Aquificae Bacterium in a Sulfidic Hot Spring. *Microbes and Environments*, 31 (2), 194-198. <http://doi.org/10.1264/jsme2.ME16013>

Theodorakopoulos, N., Bachar, D., Christen, R., Alain, K & Chapon, V. (2013). Exploration of Deinococcus-Thermus molecular diversity by novel group-specific PCR primers. *Microbiology Open*, 2 (5), 862-872. <http://doi.org/10.1002/mbo3.119>

Treiman, A. (2002). Extremities: Biology and life in Yellowstone and implications for other worlds [imagen en-línea]. <https://www.lpi.usra.edu/education/EPO/yellowstone2002/workshop/tbvs-pring2/index.html>

Tortora, G., Funke, B & Case, C. (2007). Introducción a la Microbiología. Cd. de México, México: Médica Panamericana.

Van der Merwe, D. (2014). Freshwater cyanotoxins en Biomarkers in Toxicology (pp.539-548). USA: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404630-6.00031-2>

Vaughan, R., Heasler, H., Jaworowski, Lowenstern, J & Keszthelyi, L. (2014). Provisional Maps of Thermal Areas in Yellowstone National Park, based on Satellite Thermal Infrared Imaging and Field Observations. U.S. Geological Survey, Report 2014-5137, p.4. <http://dx.doi.org/10.3133/sir20145137>

Vijayakumar, S & Menakha, M. (2015). Pharmaceutical applications of cyanobacteria—A review. *Journal of Acute Medicine* 5 (1), 15-23. <https://doi.org/10.1016/j.jacme.2015.02.004>

Ward, L., Hemp, J., Shih, P., McGlynn, S & Fischer, W. (2018). Evolution of Phototrophy in the Chloroflexi Phylum Driven by Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, (9) 260, 1-16. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00260>

White, W & Culver, David. (2012). *Encyclopedia of Caves*. New York, USA: Elsevier

Wiegel, J & Ljungdahl, L. (1985). The Importance Of Thermophilic Bacteria In Biotechnology. *Critical Reviews in Biotechnology*, volume 3 (1), 39-108. <https://doi.org/10.3109/07388558509150780>

Zadvornyy, O., Boyd, E., Posewitz, M., Zorin, N & Peters, J. (2015). Biochemical and Structural Characterization of Enolase from *Chloroflexus aurantiacus*: Evidence for a Thermophilic Origin. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, (3) 74, 1-12 . <http://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00074>