

MICROBIOLOGÍA

UNIDAD II EVOLUCIÓN, SISTEMÁTICA Y TAXONOMÍA MICROBIANA

Escala temporal de la vida en la tierra. Condiciones de la tierra primitiva y primeras formas de vida. Metabolismo de los organismos primitivos. Fotosíntesis y producción de oxígeno. Del mundo de ARN a la célula moderna. Concepto de especie y cepa microbiana. Nomenclatura de procariotas. Sistema Binomial de Nomenclatura. Sistemática y taxonomía de procariotas. Taxonomía clásica y molecular. Caracteres usados en la clasificación: Morfológicos, Fisiológicos y Bioquímicos. Hibridación y secuenciación de ácidos nucleicos. Comparación de secuencias de ARN y ADN. Relaciones filogenéticas entre los organismos vivos. Árbol filogenético universal: *Archaea*, *Bacteria* y *Eukarya*. Manual Bergey.

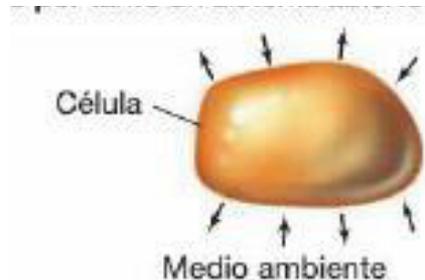
ESCALA TEMPORAL DE LA VIDA EN LA TIERRA

Los microorganismos fueron las primeras formas vivas que aparecieron sobre la Tierra con las características básicas de los sistemas vivos

DISTINTIVOS DE LA VIDA CELULAR

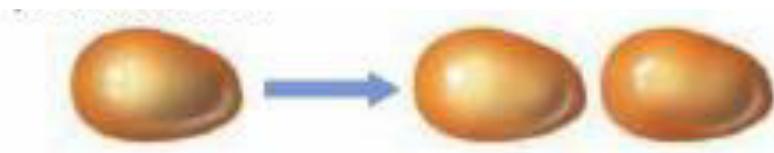
1. COMPARTIMENTACIÓN Y METABOLISMO

Las células incorporan nutrientes del medio y los transforman, eliminando desechos al medio. Son por tanto un sistema abierto.



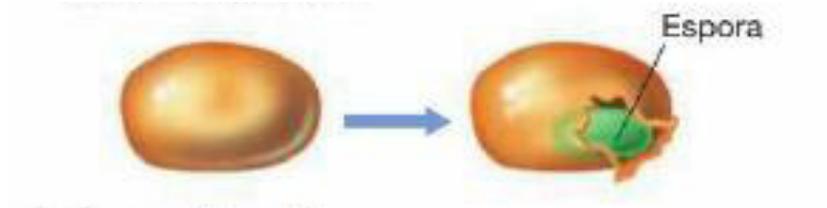
2. REPRODUCCIÓN (CRECIMIENTO)

Las sustancias del medio se transforman en nuevas células bajo la dirección genética de células preexistentes.



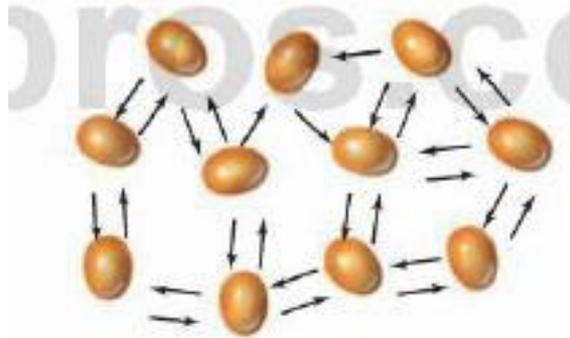
3 . DIFERENCIACIÓN

Algunas células pueden formar una nueva estructura (esporas) normalmente como parte de un ciclo de vida celular.



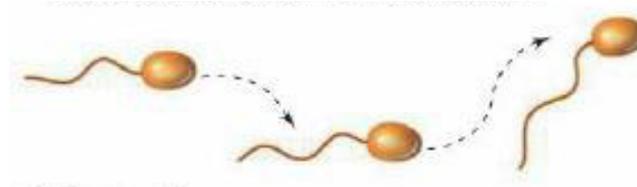
4 . COMUNICACIÓN

Las células se comunican o interaccionan mediante sustancias liberadas o captadas.



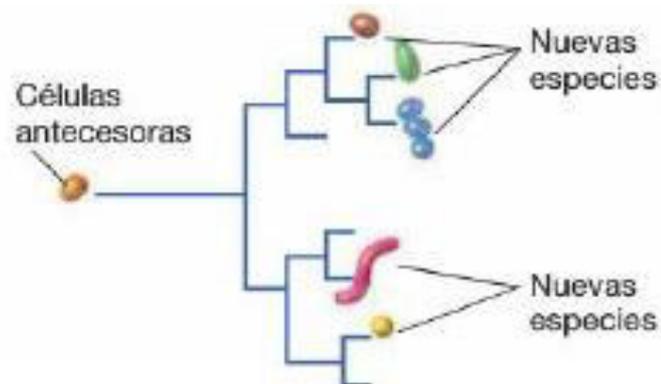
5. MOVIMIENTO

Algunas células tienen movimiento propio.



6. EVOLUCIÓN

Las células contienen genes y evolucionan adquiriendo nuevas propiedades biológicas. Los árboles filogenéticos muestran las relaciones evolutivas entre las células.





¿De donde procedían las primeras células?

¿Fueron células las primeras estructuras auto-replicativas de la Tierra?

- ❖ Como todas las células están constituidas de un modo similar, es probable que todas ellas desciendan de una célula antecesora común, el ancestro universal de todas las formas de vida (LUCA).
- ❖ Es posible que las primeras entidades auto-replicativas no hayan sido células sino pequeñas moléculas de ARN.
- ❖ La EVOLUCIÓN seleccionó finalmente la célula como la mejor estructura para mantener las características de la vida.
- ❖ Una vez que aparecieron las células a partir de materiales inertes, un proceso que duró millones de años, su crecimiento y su división posterior originó poblaciones celulares que comenzaron a interactuar como comunidades microbianas.
- ❖ La evolución seleccionó mejoras y la diversificación de estas células primitivas dio luego origen a las complejas y variadas células que hoy vemos.

Uracil in the carbonaceous asteroid (162173) Ryugu

Received: 14 September 2022

Accepted: 15 February 2023

Published online: 21 March 2023

Check for updates

Yasuhiro Oba¹✉, Toshiki Koga², Yoshinori Takano^{2,3}✉, Nanako O. Ogawa², Naohiko Ohkouchi², Kazunori Sasaki^{3,4}, Hajime Sato⁴, Daniel P. Glavin⁵, Jason P. Dworkin⁵, Hiroshi Naraoka⁶, Shogo Tachibana^{7,8}, Hisayoshi Yurimoto⁹, Tomoki Nakamura¹⁰, Takaaki Noguchi¹¹, Ryuji Okazaki⁶, Hikaru Yabuta¹², Kanako Sakamoto⁸, Toru Yada⁸, Masahiro Nishimura⁸, Aiko Nakato⁸, Akiko Miyazaki⁸, Kasumi Yogata⁸, Masanao Abe⁸, Tatsuaki Okada⁸, Tomohiro Usui⁸, Makoto Yoshikawa⁸, Takanao Saiki⁸, Satoshi Tanaka⁸, Fuyuto Terui¹³, Satoru Nakazawa⁸, Sei-ichiro Watanabe¹⁴, Yuichi Tsuda⁸ & Hayabusa2-initial-analysis SOM team*

The pristine sample from the near-Earth carbonaceous asteroid (162173) Ryugu collected by the Hayabusa2 spacecraft enabled us to analyze the pristine extraterrestrial material without uncontrolled exposure to the Earth's atmosphere and biosphere. The initial analysis team for the soluble organic matter reported the detection of wide variety of organic molecules including racemic amino acids in the Ryugu samples. Here we report the detection of uracil, one of the four nucleobases in ribonucleic acid, in aqueous extracts from Ryugu samples. In addition, nicotinic acid (niacin, a B₃ vitamin), its derivatives, and imidazoles were detected in search for nitrogen heterocyclic molecules. The observed difference in the concentration of uracil between A0106 and C0107 may be related to the possible differences in the degree of alteration induced by energetic particles such as ultraviolet photons and cosmic rays. The present study strongly suggests that such molecules of prebiotic interest commonly formed in carbonaceous asteroids including Ryugu and were delivered to the early Earth.

Hayabusa2 spacecraft successfully delivered total 5.4 g of pristine samples, collected during two touchdown operations, from the C-type near-Earth asteroid (162173) Ryugu on 6 December 2020¹. Initial analyses of the samples revealed the similarity with lunar-type (Cl) car-

Ryugu had a common parent body with Cl chondrites, we would expect that other classes of organic compounds, in particular nucleobases, to be present in the Ryugu samples, as has been demonstrated in previous studies on the detection of uracil in the



CONDICIONES DE LA TIERRA PRIMITIVA Y PRIMERAS FORMAS DE VIDA



EL COMIENZO DE LA VIDA

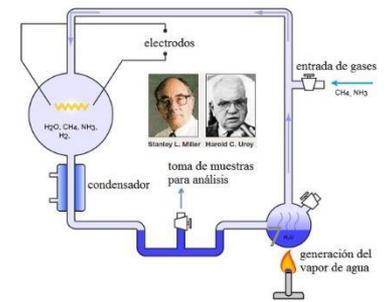
Desde una perspectiva bioquímica, 3 características distinguen a las células vivas de otros sistemas químicos:

- I. La capacidad para duplicarse generación tras generación;
- II. La presencia de enzimas, las proteínas complejas que son esenciales para las reacciones químicas de las que depende la vida, y
- III. Una membrana que separa a la célula del ambiente circundante y le permite mantener una identidad química distinta.

¿Cómo surgieron estas características?

¿Cuál apareció primero e hizo posible el desarrollo de las otras?

El primer conjunto de hipótesis verificables acerca del origen de la vida fue propuesto por Oparin y Haldane quienes postularon que la aparición de la vida fue precedida por un largo período de "EVOLUCIÓN QUÍMICA".





Hay un acuerdo general en 2 aspectos críticos acerca de la identidad de las sustancias presentes en la atmósfera primitiva y en los mares durante este período:

- I. Había muy poco o nada de O_2 presente**
- II. Los 4 elementos primarios de la materia viva (C, H, O, N) estaban disponibles en alguna forma en la atmósfera y en las aguas de la Tierra primitiva.**

La energía necesaria para desintegrar las moléculas de estos gases y volver a integrarlas en moléculas más complejas estaba presente en el calor, los relámpagos, los elementos radiactivos y la radiación de alta energía del Sol.

Oparin postuló que en las condiciones de la Tierra primitiva se formaron moléculas orgánicas a partir de los gases atmosféricos que se irían acumulando en los mares y lagos de la Tierra y, en esas condiciones (sin O_2 libre), tenderían a persistir.

Al concentrarse algunas moléculas, habrían actuado sobre ellas fuerzas químicas, las mismas que actúan sobre las moléculas orgánicas hoy en día.



ORIGEN DE LA TIERRA

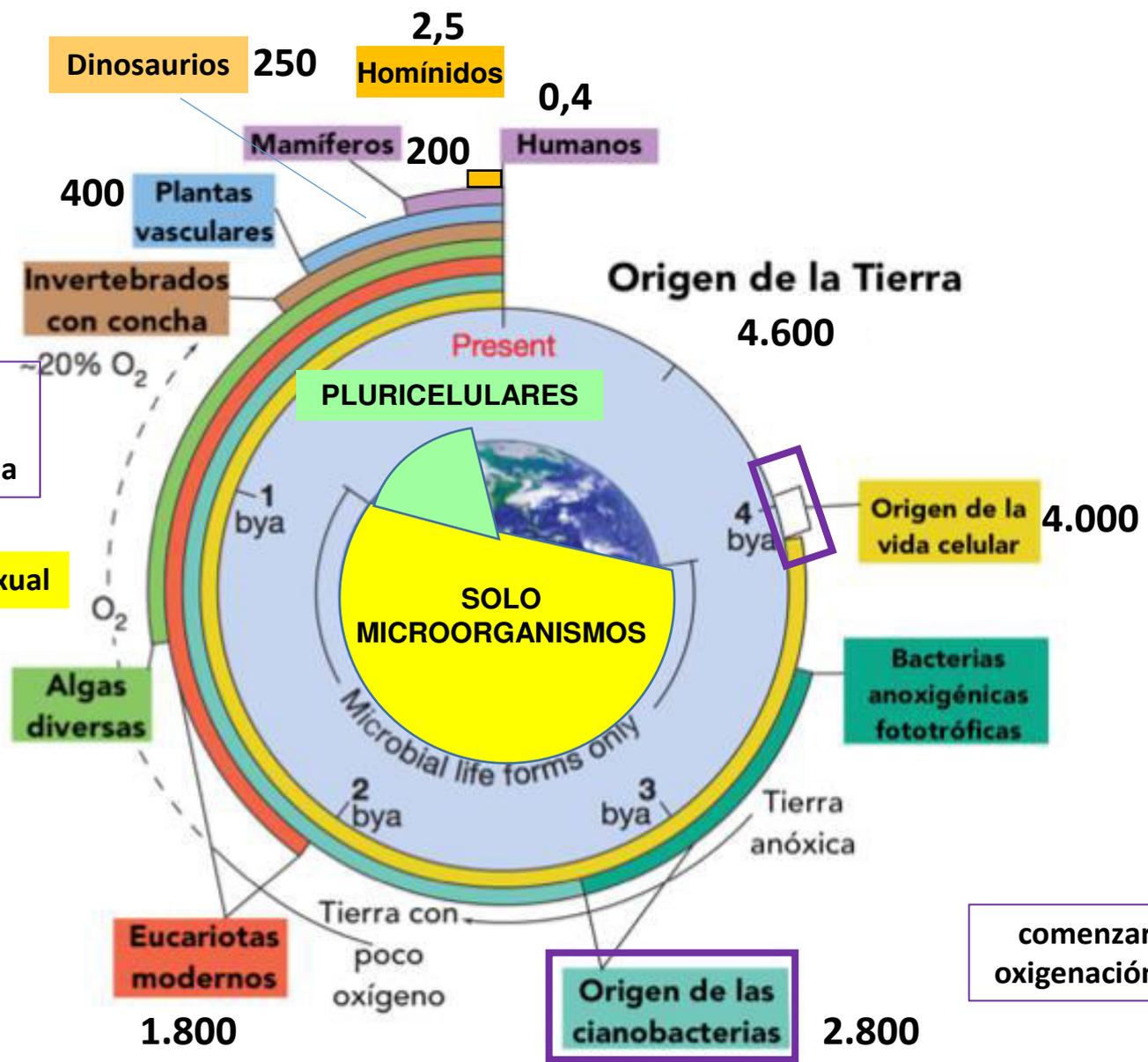


- ❖ Se formó hace 4.500 millones de años, poco después de la aparición del Sol, a partir de una mezcla de gases como He, H₂ y de asteroides que chocaban entre sí formando una gran esfera que se atrajo por el campo del Sol y quedó orbitando alrededor de este.
- ❖ Hace 4.000 millones de años la Tierra fue impactada por un enorme cuerpo llamado Sea que produjo una enorme explosión y destruyó parte de la corteza y mantos terrestres, la cual se unió y formó la Luna.
- ❖ Los gases del manto ascendieron a causa del impacto y formaron la actual atmósfera, la cual tiene más N₂ que otro componente gaseoso.
- ❖ El magma que ascendió se secó con el tiempo y formó los continentes. Pero antes de secarse tenía consigo vapor de H₂O que ascendió a la atmósfera.
- ❖ El vapor de H₂O precipitó quizás como un enorme diluvio mundial o de otra forma, pero de todos modos formó los mares, océanos, lagos y ríos.

EVOLUCIÓN DE LA VIDA EN LA TIERRA (Ma)

Se alcanzó el nivel actual de O₂ en la atmósfera 500-800 Ma

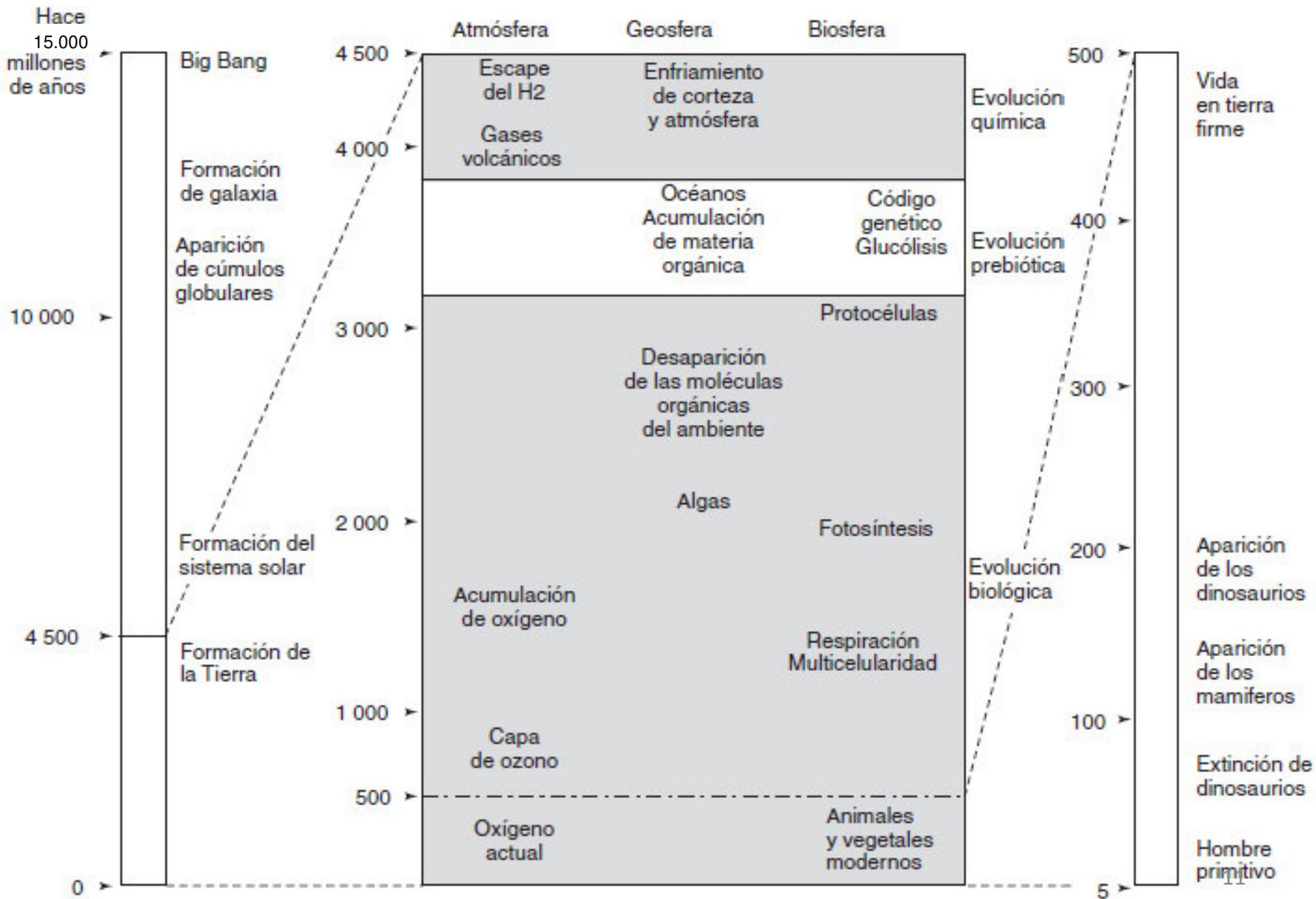
Reprod. sexual
1.125



comenzaron la lenta oxigenación del planeta



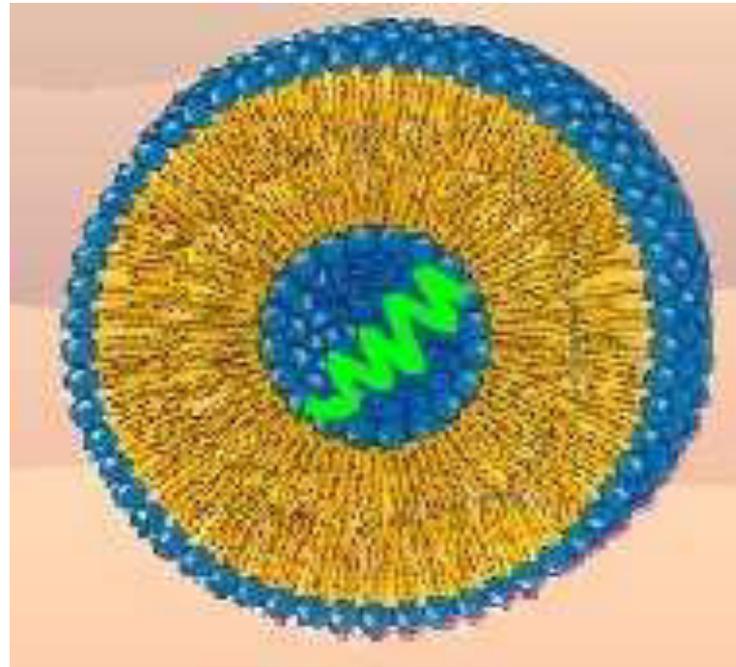
ESCALA DE TIEMPO GEOLÓGICO Y PRINCIPALES HECHOS DEL ORIGEN DE LA VIDA



ORIGEN



- ❖ Las primeras células surgirían a partir de un COACERVADO, material con capacidad de autorreplicación que, con algunas otras biomoléculas, quedó aislado dentro de una cubierta de moléculas anfipáticas (fosfolípidos).
- ❖ Esta estructura, aún no es una célula viva.
- ❖ Se considera al ARN la única molécula capaz de servir de molde para la síntesis de proteínas y de catalizador para su propia replicación, por lo que sería el primer material genético.



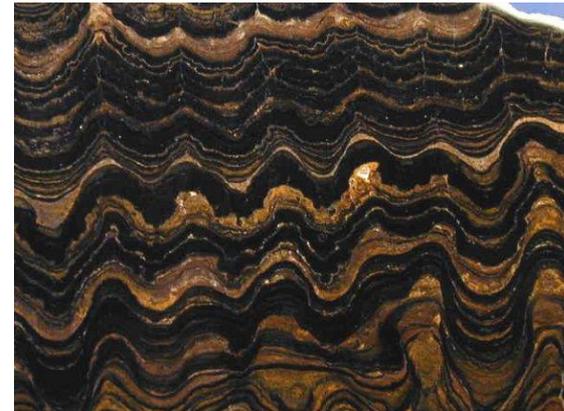
¿CUÁNDO APARECIÓ LA VIDA EN LA TIERRA?



- ❖ La Tierra se formó hace unos 4.500 millones de años.
- ❖ Los indicios fósiles sugieren que los primeros seres orgánicos que dejaron huellas aparecieron entre 3.500 y 3.800 millones de años atrás.
- ❖ Durante los 500 millones de años iniciales las condiciones no fueron muy propicias para la aparición de las células (altas temperaturas, carencia de atmósfera protectora, lluvia constante de meteoritos, etc.



- ❖ Sólo unos 1.000 - 1.200 millones de años después ya hubo al parecer organismos microscópicos que dejaron restos orgánicos.
- ❖ Esto implica que el proceso físico-químico de formación de estos primeros organismos debió empezar antes de esos 1.000-1.200 millones de años, en una etapa denominada prebiótica.



ESTROMATOLITOS



- Masas microbianas fosilizadas.
- Compuestas por capas de procariotas filamentosos y sedimentos asociados de hasta 3.500 millones de años (oeste australiano)

ESTROMATOLITOS PRIMITIVOS Y ACTUALES



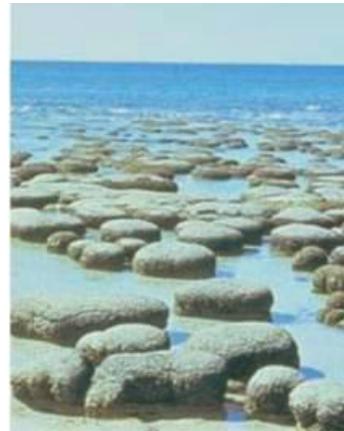
Sección vertical



Modernos de 2 cm de cianobacterias termófilas en un manantial termal en Yellowstone.



Estromatolitos cónicos de una dolomita de 1.600 millones de años en el norte de Australia



Modernos de gran tamaño (0,5-1 m de diámetro) en Shark Bay y Chile

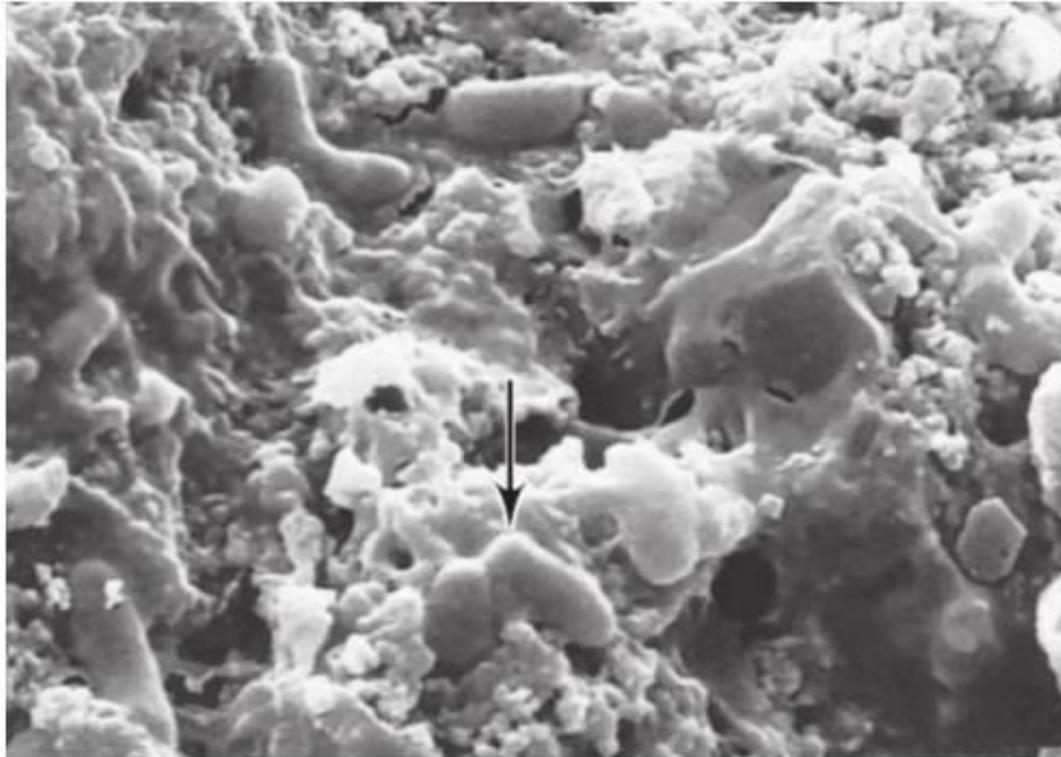


Modernos en Shark Bay en el oeste de Australia



PRUEBAS DE VIDA MICROBIANA EN LA TIERRA PRIMIGENIA

- Los restos fosilizados de células, junto a la abundancia relativa de isótopos ligeros de carbono, encontrados en estas rocas suministran pruebas de las primeras formas de vida microbiana.
- Algunas rocas antiquísimas contienen lo que parecen ser microfósiles con aspecto de bacteria, habitualmente bacilos o cocos.



Microfósiles de bacterias de rocas de 3.450 millones de años de antigüedad procedentes de Barberton Greenstone Belt, Sudafrica.



PRIMERAS FORMAS DE VIDA



HIPÓTESIS DEL ORIGEN DE LA VIDA EN SUPERFICIE

Sostiene que las primeras células autorreplicativas y rodeadas de membrana surgieron de un «charco caliente», una sopa primordial rica en compuestos orgánicos e inorgánicos.

PERO.....

- ❖ Aunque existen pruebas experimentales que demuestran que los precursores orgánicos de las células pueden formarse espontáneamente en ciertas condiciones, actualmente se supone que el entorno en la superficie de la Tierra primigenia resultaba hostil tanto a la vida como a sus precursores orgánicos e inorgánicos.
- ❖ Las tremendas fluctuaciones de temperatura y la mezcla de materiales resultado de los impactos de meteoritos, nubes de polvo y tormentas, junto a la atmósfera intensamente oxidante hacen poco probable localizar el origen de la vida en la superficie de la Tierra.



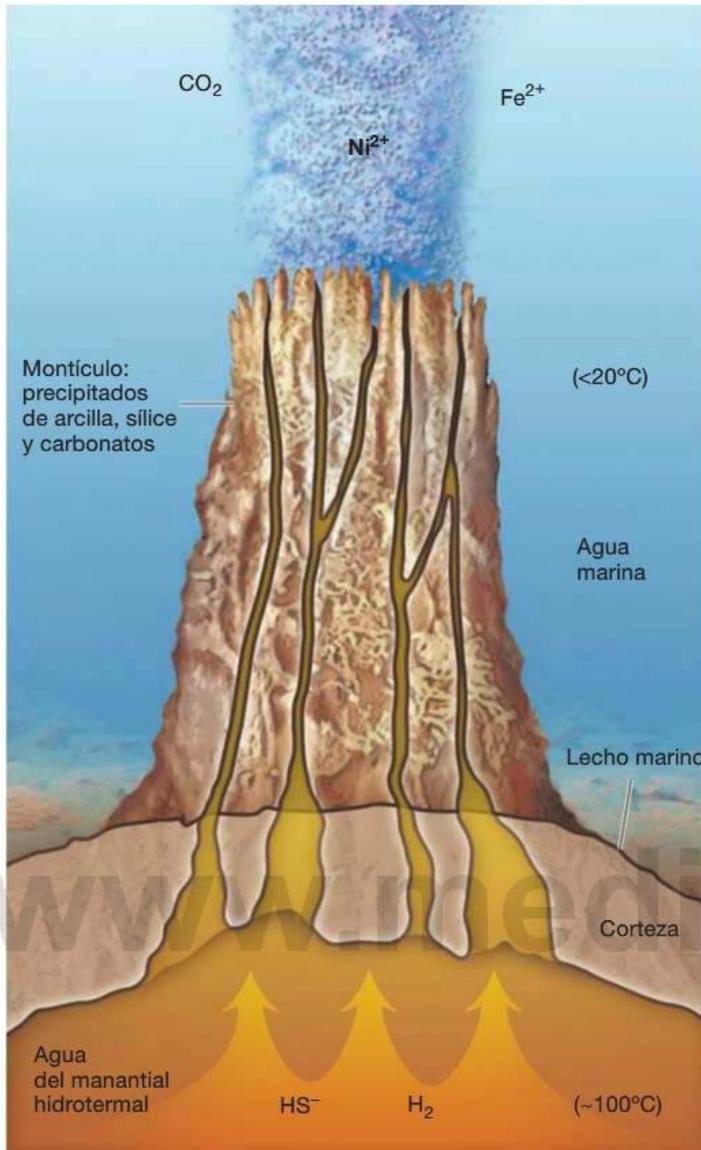
HIPÓTESIS DEL ORIGEN BAJO LA SUPERFICIE



- ❖ Hipótesis alternativa que considera que la vida se originó en chimeneas hidrotermales en el fondo de los océanos, muy por debajo de la superficie terrestre
- ❖ Ahí las condiciones habrían sido mucho más estables y menos hostiles.
- ❖ Un suministro de energía constante y abundante habría estado disponible en estas fuentes hidrotermales, en forma de compuestos inorgánicos reducidos tales como H_2 y H_2S



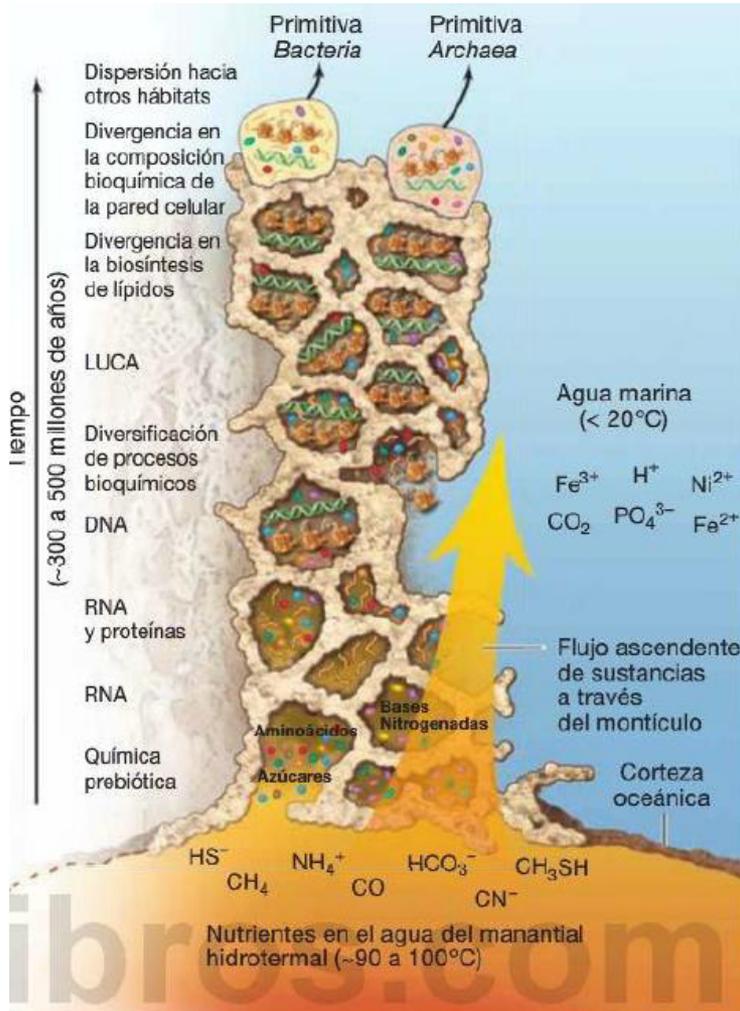
MONTÍCULOS SUBMARINOS FORMADOS EN FUENTES HIDROTÉRMICAS EN EL OCÉANO DE LA TIERRA PRIMIGENIA



- El fluido hidrotermal caliente, alcalino y reducido se mezcla con el agua oceánica más fría, ácida y oxidada, formando precipitados.
- El montículo está formado por precipitados de compuestos de Fe y S, arcillas, silicatos y carbonatos.
- La reacción entre el H_2 y el CO_2 actuando como un primitivo metabolismo prebiótico podría haber llevado a la generación de compuestos orgánicos.

MODELO PARA EL ORIGEN DE LA VIDA CELULAR Y SU DIVERGENCIA EN LAS PRIMITIVAS BACTERIAS Y ARQUEAS

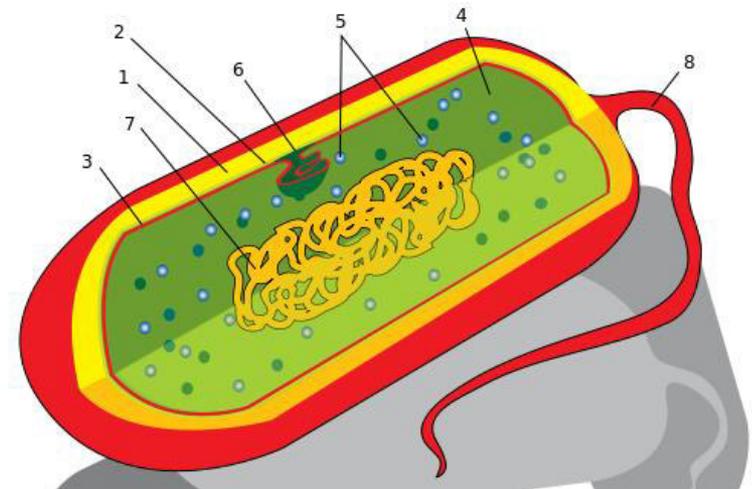
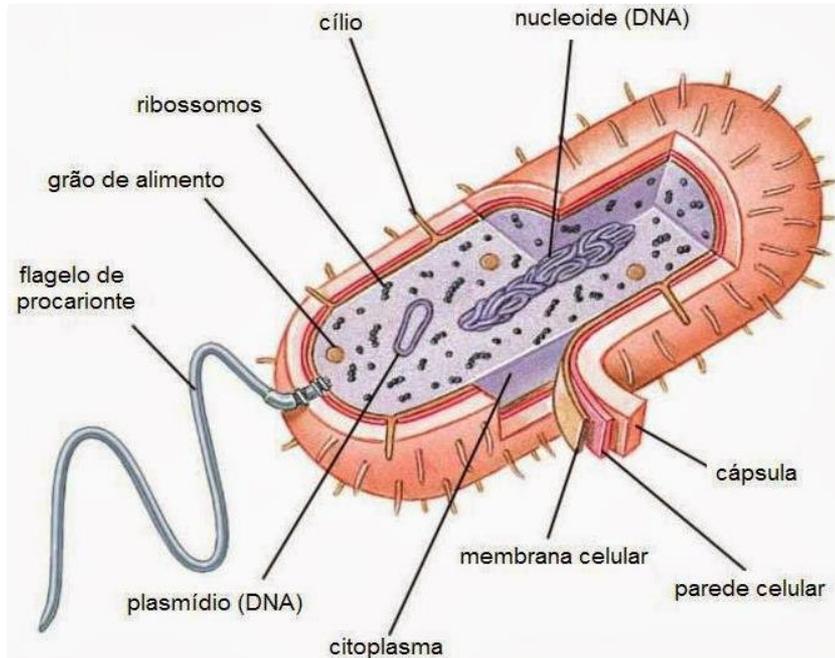
Transiciones desde una química prebiótica hasta la vida celular



- Elementos esenciales del modelo: ARN autorreplicativo, la actividad enzimática de las proteínas y el ADN adquiriendo la función de codificar la información genética para llegar a la vida celular primitiva.
- A esto le sigue la evolución de las rutas bioquímicas y la divergencia en biosíntesis de lípidos y bioquímica de la pared celular para dar lugar a las bacterias y arqueas primitivas

LA CÉLULA PROCARIOTA

- ❖ LUCA es el ancestro del que derivan todas las células actuales.
- ❖ Dio lugar a 3 tipos de células procariotas:
 - ✓ Arqueas
 - ✓ Bacterias
 - ✓ Eucariotas (camino ya de las eucariotas)
- ❖ Las células procariotas fueron la única forma de vida durante cerca de 2.000 millones de años.





METABOLISMO DE LOS ORGANISMOS PRIMITIVOS



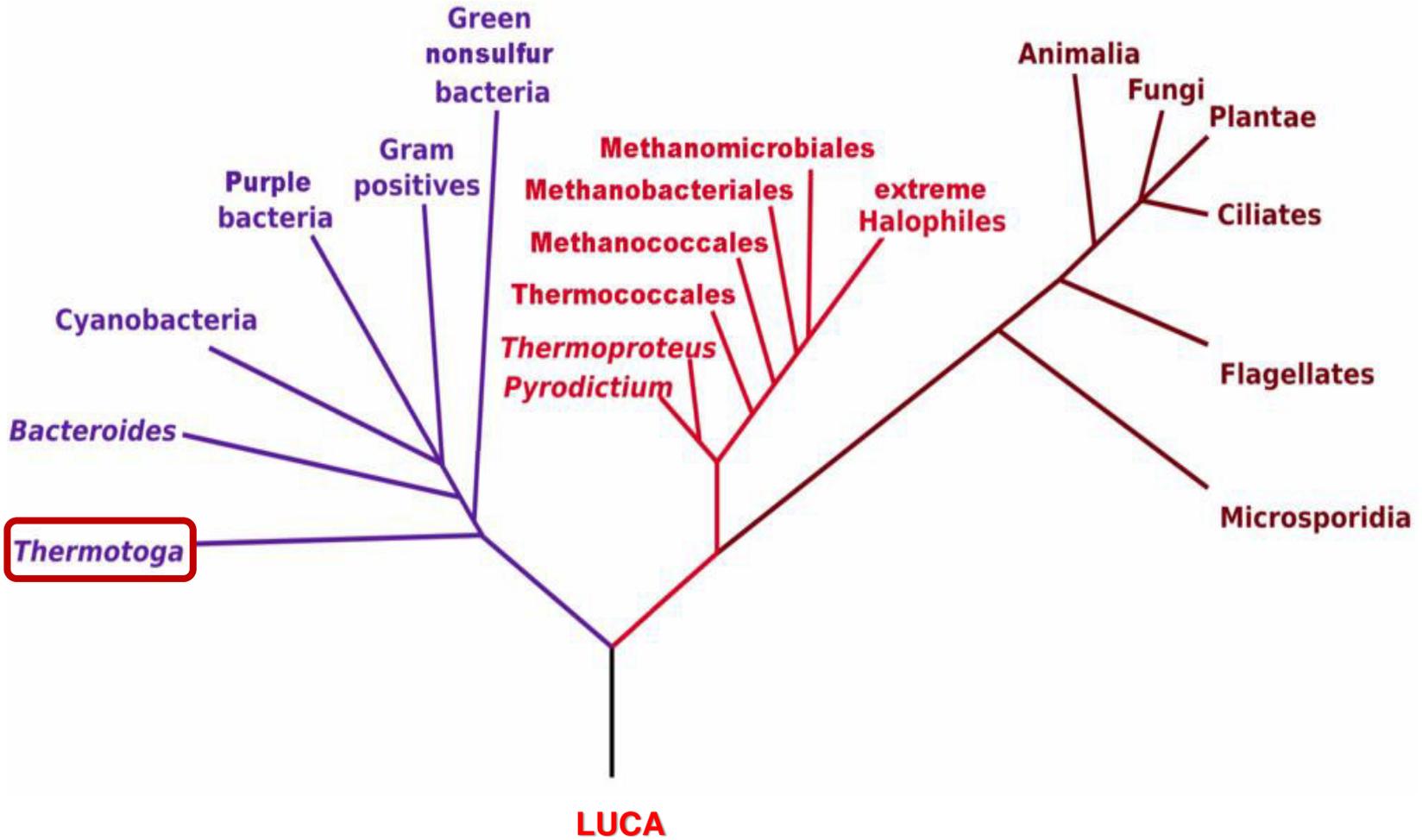
- Desde el momento de su formación tanto el océano como el resto de la Tierra primigenia eran anóxicos.
- El O₂ molecular no apareció en cantidades significativas hasta mucho más tarde, tras la evolución de la fotosíntesis oxigénica por las cianobacterias.
- El metabolismo para la generación de energía de las células primitivas debe de haber sido exclusivamente ANAERÓBICO.
- Es probable que también fuera AUTÓTROFO, ya que el consumo de compuestos orgánicos de origen abiótico como fuentes de carbono para la formación de material celular habría probablemente agotado dichos compuestos rápidamente.
- La posibilidad de que la AUTOTROFÍA fuese la fisiología predominante en etapas primigenias está respaldada por el descubrimiento de bacterias autótrofas como *Aquifex*, una bacteria hipertermófila, que diverge muy pronto en el árbol evolutivo.
- Estas ideas, junto a la abundancia de H₂ y CO₂ en la Tierra primigenia sugieren que las primeras células podrían haber sido AUTÓTROFOS ANAEROBIOS que obtenían su carbono del CO₂ y su energía en forma de e⁻ del H₂, utilizados para reducir CO₂ a material celular.



Bacteria

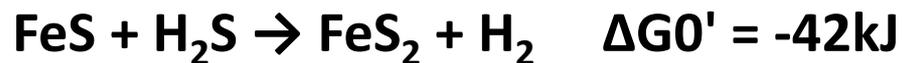
Archaea

Eucarya





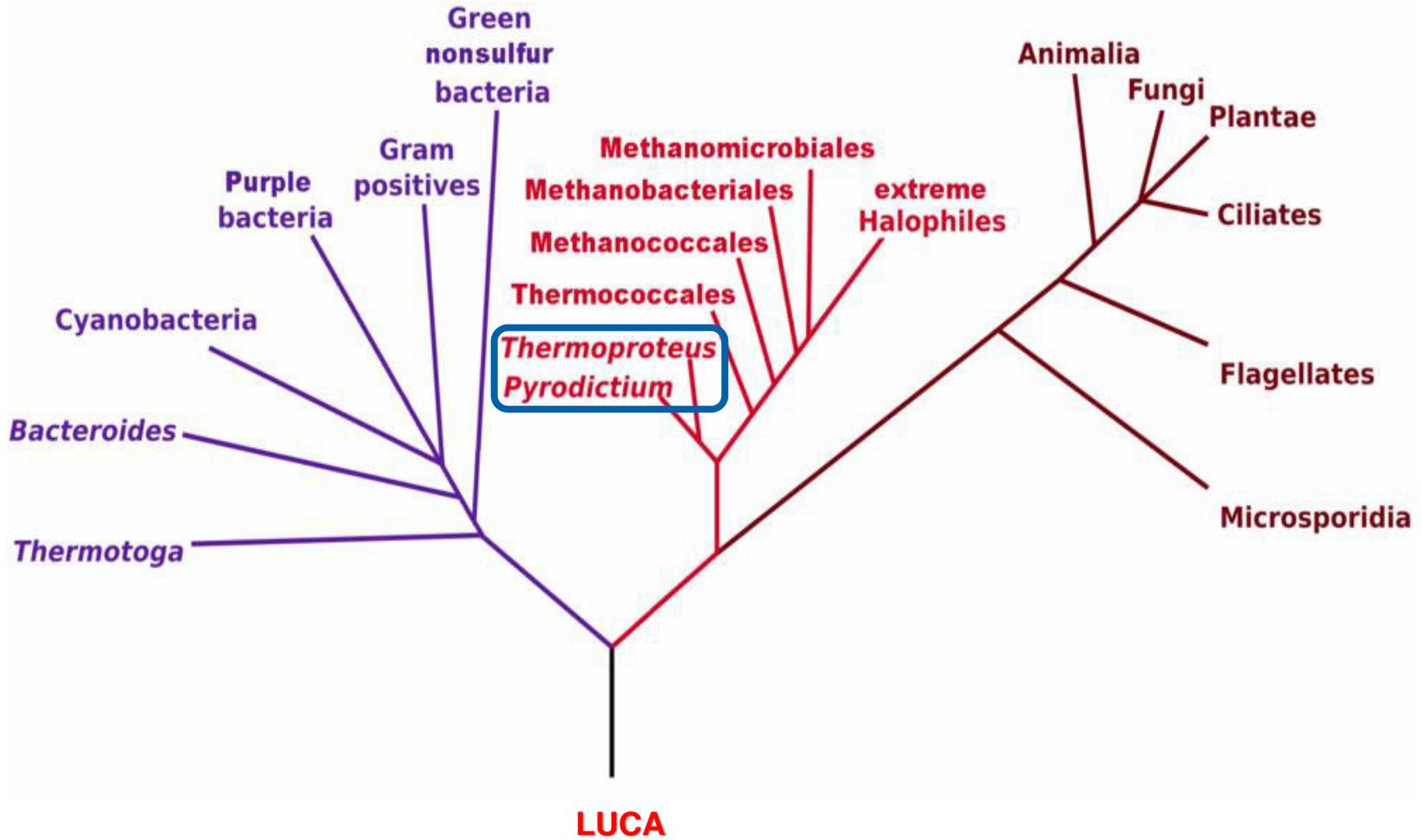
- ❖ Si la vida surgió de este modo, debe haber requerido una fuente abundante y constante de H_2 , así como de N, P y diversos minerales.
- ❖ Una situación similar se produce con las ARQUEAS TERMOFÍLAS, que oxidan H_2 y reducen S^0 , y divergen muy pronto en el árbol evolutivo.
- ❖ Reacciones que utilizan el Fe^{2+} como sustrato, muy abundante en la Tierra primigenia, también se han propuesto como reacciones productoras de energía utilizadas por organismos primigenios.
- ❖ La reacción se desarrolla de modo EXERGÓNICO dando como resultado la liberación de energía.
- ❖ Esta reacción produce H_2 y las células primigenias podrían haber usado este potente donador de e^- para generar fuerza protón-motriz.
- ❖ El H_2 podría haber alimentado a una ATPasa primitiva para producir ATP.



Bacteria

Archaea

Eucarya





- ❖ Estas formas originarias de metabolismo **QUIMIOLITÓTROFO** podrían haber mantenido la producción de grandes cantidades de compuestos orgánicos provenientes de la fijación de CO_2 .
- ❖ Con el tiempo estos materiales orgánicos se habrían acumulado, proporcionando una fuente abundante, variada y continuamente renovada de carbono orgánico reducido, disparando la evolución de diversas bacterias **QUIMIOORGANÓTROFAS** que emplean compuestos orgánicos como donadores de \bar{e} en su metabolismo energético.

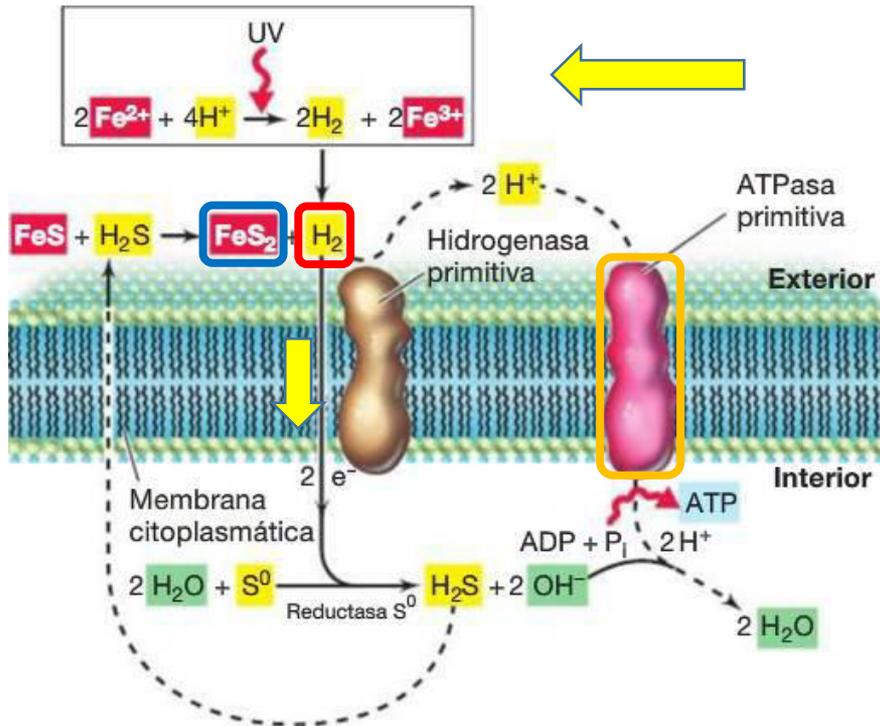


FUENTE ALTERNATIVA DE H₂



Posible sistema de generación de energía de las células primitivas

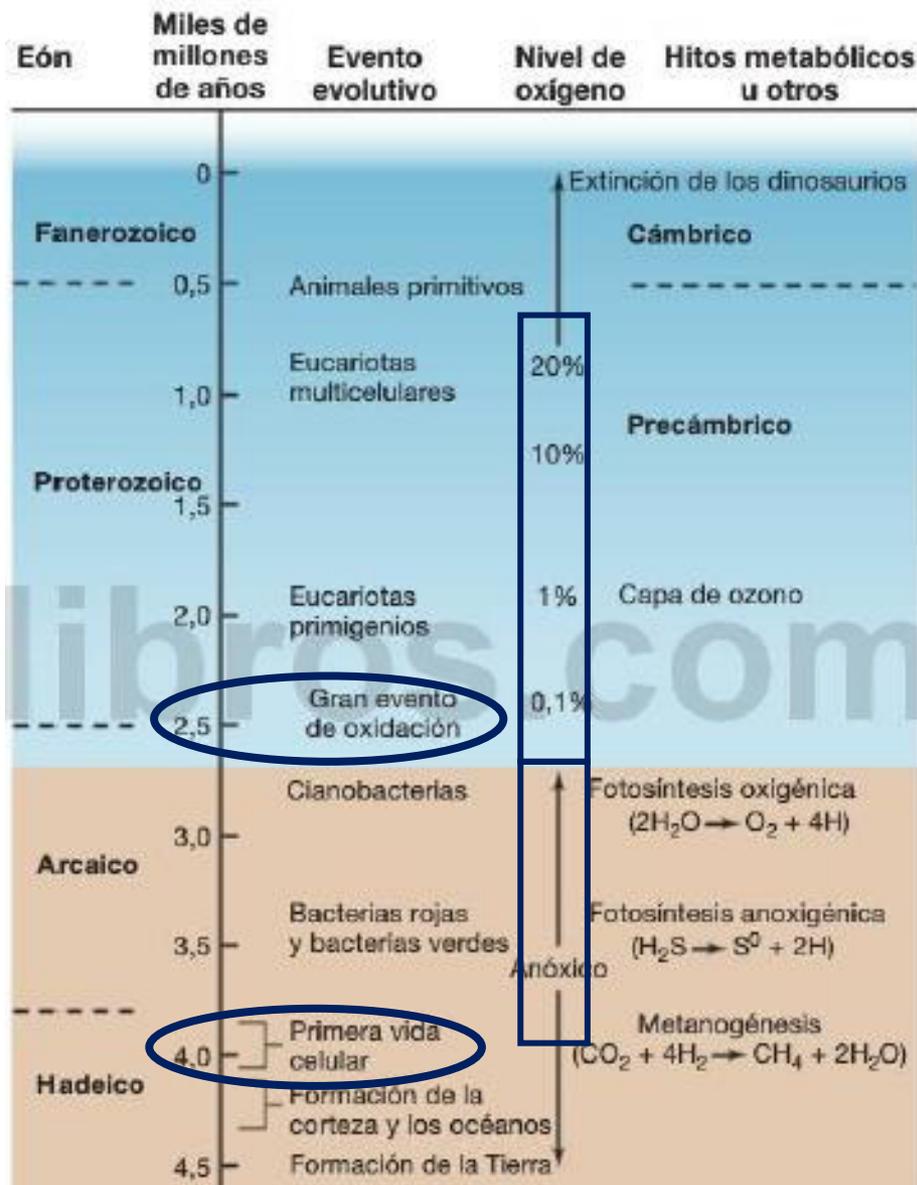
Una fuente alternativa de H₂ podría haber sido la reducción de H⁺ por el Fe²⁺ catalizada por UV.



- ❖ La formación de pirita: FeS₂ produce H₂ (2H⁺) y e⁻ en el exterior.
- ❖ Estos e⁻ entran x difusión pasiva y lleva a la reducción de S⁰ a H₂S
- ❖ Los H⁺ entran alimentando una primitiva ATPasa.
- ❖ Pocos tipos de proteínas serían necesarias.



HITOS ESENCIALES EN LA EVOLUCIÓN BIOLÓGICA, EL CAMBIO GEOQUÍMICO DE LA TIERRA Y LA DIVERSIFICACIÓN METABÓLICA MICROBIANA

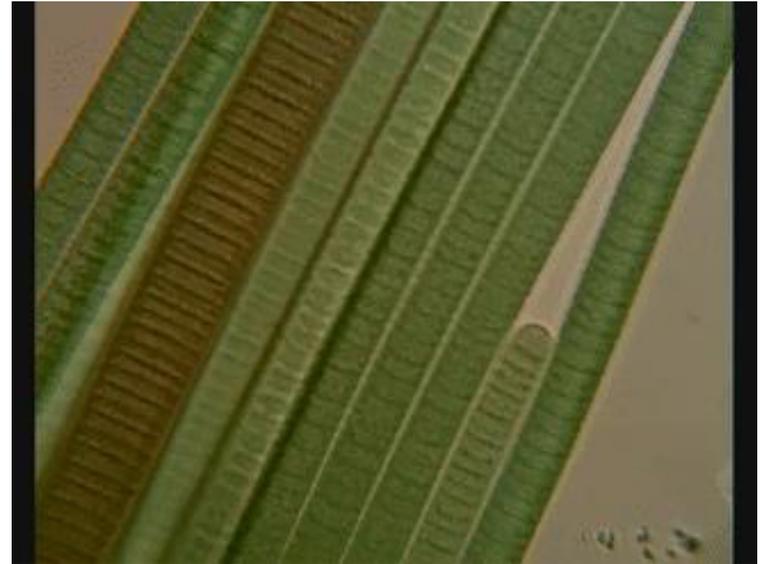
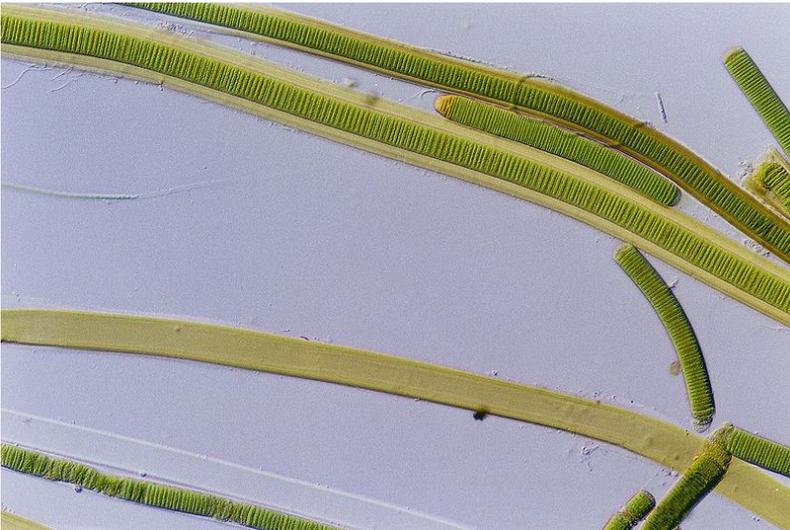


- ✓ El tiempo máximo para el origen de la vida está fijado por el del origen de la Tierra.
- ✓ El tiempo mínimo para el origen de la fotosíntesis oxigénica está marcado por el gran evento de oxidación hace unos 2.300 millones de años.
- ✓ La oxigenación de la atmósfera debido al metabolismo de las cianobacterias fue un proceso gradual durante 2.000 millones de años.
- ✓ Aunque los niveles actuales de O_2 en la atmósfera son necesarios para los animales y la mayoría de los organismos superiores, no es así para las bacterias, ya que muchas son aerobias facultativas o microaerófilas
- ✓ Las bacterias respirando niveles reducidos de O_2 podrían haber dominado la Tierra durante un período de 1.000 millones de años hasta que la atmósfera terrestre alcanzara los niveles actuales de O_2 .

CIANOBACTERIAS



- ❖ Antiguamente llamadas algas verdeazuladas.
- ❖ Son un filo del dominio *Bacteria* que comprende las bacterias capaces de realizar fotosíntesis oxigénica.
- ❖ Son los únicos procariontes que llevan a cabo ese tipo de fotosíntesis, por ello también se les llamó oxifotobacterias.





- ❖ Las pruebas químicas y moleculares demuestran que las cianobacterias generadoras de O_2 aparecieron por primera vez en la Tierra hace aproximadamente 2.700 millones de años.
- ❖ Los datos geológicos demuestran que la acumulación de O_2 atmosférico a niveles significativos tardó otros 300 millones de años.
- ❖ Los niveles de O_2 subieron hasta 1 parte por millón hace aproximadamente 2.400 millones de años, una cantidad minúscula pero suficiente para iniciar el GRAN EVENTO DE OXIDACIÓN.
- ❖ El O_2 producido por las cianobacterias no empezó a acumularse en la atmósfera hasta que hubo reaccionado en los océanos con materiales reducidos, fundamentalmente hierro (en forma de FeS y FeS_2); estos materiales reaccionan espontáneamente con O_2 para producir H_2O .
- ❖ El Fe^{3+} formó diversos óxidos de hierro que se acumularon para formar las formaciones bandeadas de hierro en rocas.
- ❖ Una vez que el abundante Fe^{2+} presente en la Tierra fue consumido, todo estaba listo para que el O_2 comenzara a acumularse en la atmósfera, lo que disparó notables cambios evolutivos.





LA EVOLUCIÓN



- ❖ Las primeras células (*last universal common ancestor: LUCA*) eran procariotas, anaerobios, heterótrofas (o autótrofas) y bentónicos (sin capa de O_3).
- ❖ Vivían en un mar rico en moléculas orgánicas llamado caldo primitivo.
- ❖ La materia orgánica fue agotándose y hubo células que evolucionaron hacia el **AUTOTROFISMO** y surge la fotosíntesis, primero anoxigénica y más tarde oxigénica.
- ❖ Debido a la acumulación de O_2 , algunas células evolucionan pudiendo usarlo en la oxidación de los nutrientes con gran rendimiento energético surgiendo las células **AEROBIAS**.



Fotosíntesis

Únicamente durante el día



φωτο= luz σύνθεσις= composición

Proceso químico que tiene lugar en las plantas, algas y algunas bacterias con clorofila

Permite, gracias a la energía de la luz, transformar la materia inorgánica en materia orgánica rica en energía

Crecimiento y desarrollo

autótrofos

6CO_2
dióxido de carbono

+ $6\text{H}_2\text{O}$
agua

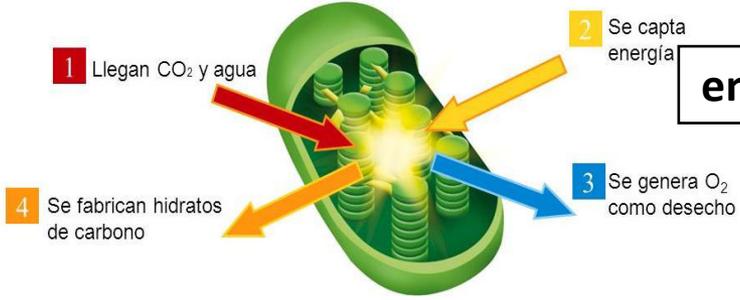
Luz
→
clorofila

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$
azúcar

+ 6O_2
oxígeno

usados por la propia célula

consumida por otros organismos



energía contenida (combustible)

Respiración celular

Es un proceso fundamental en los sistemas ecológicos

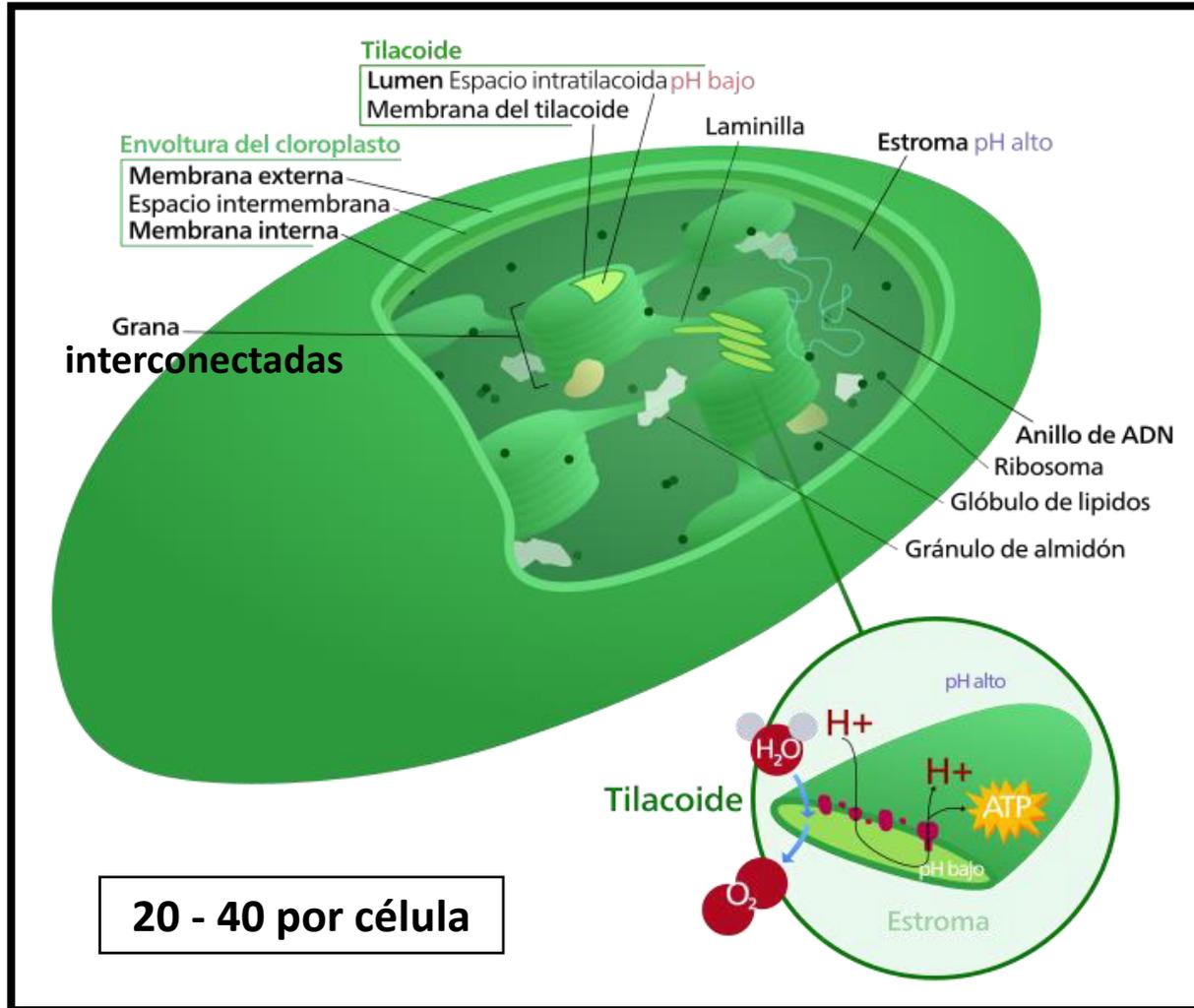
COLOROPLASTOS



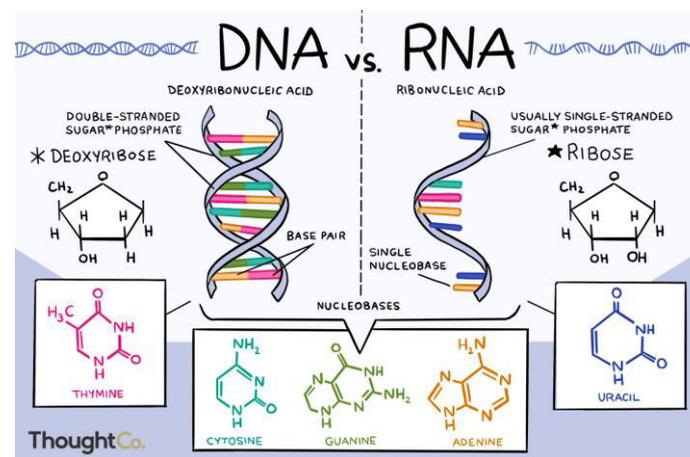
Khlorós: verde claro y *plásto*: formar, modelar

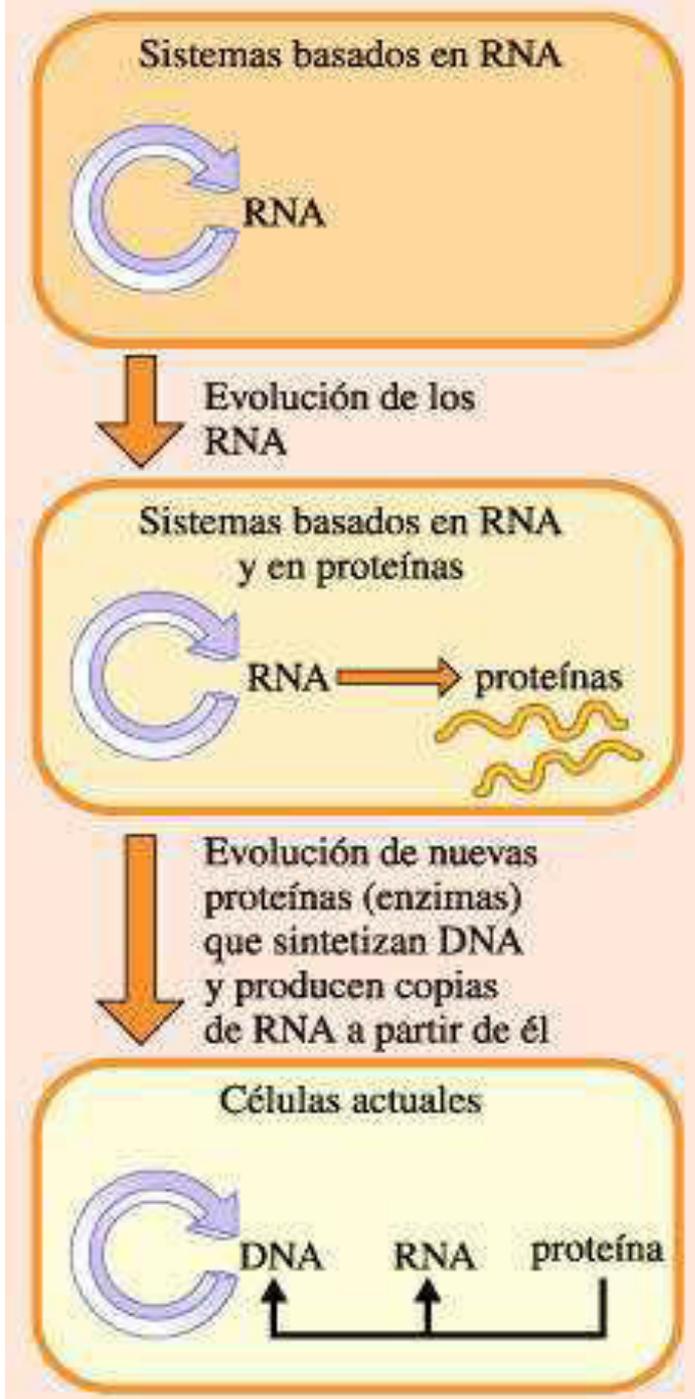
Organelos en forma de disco en el citosol de células de plantas y algas

Discos membranosos



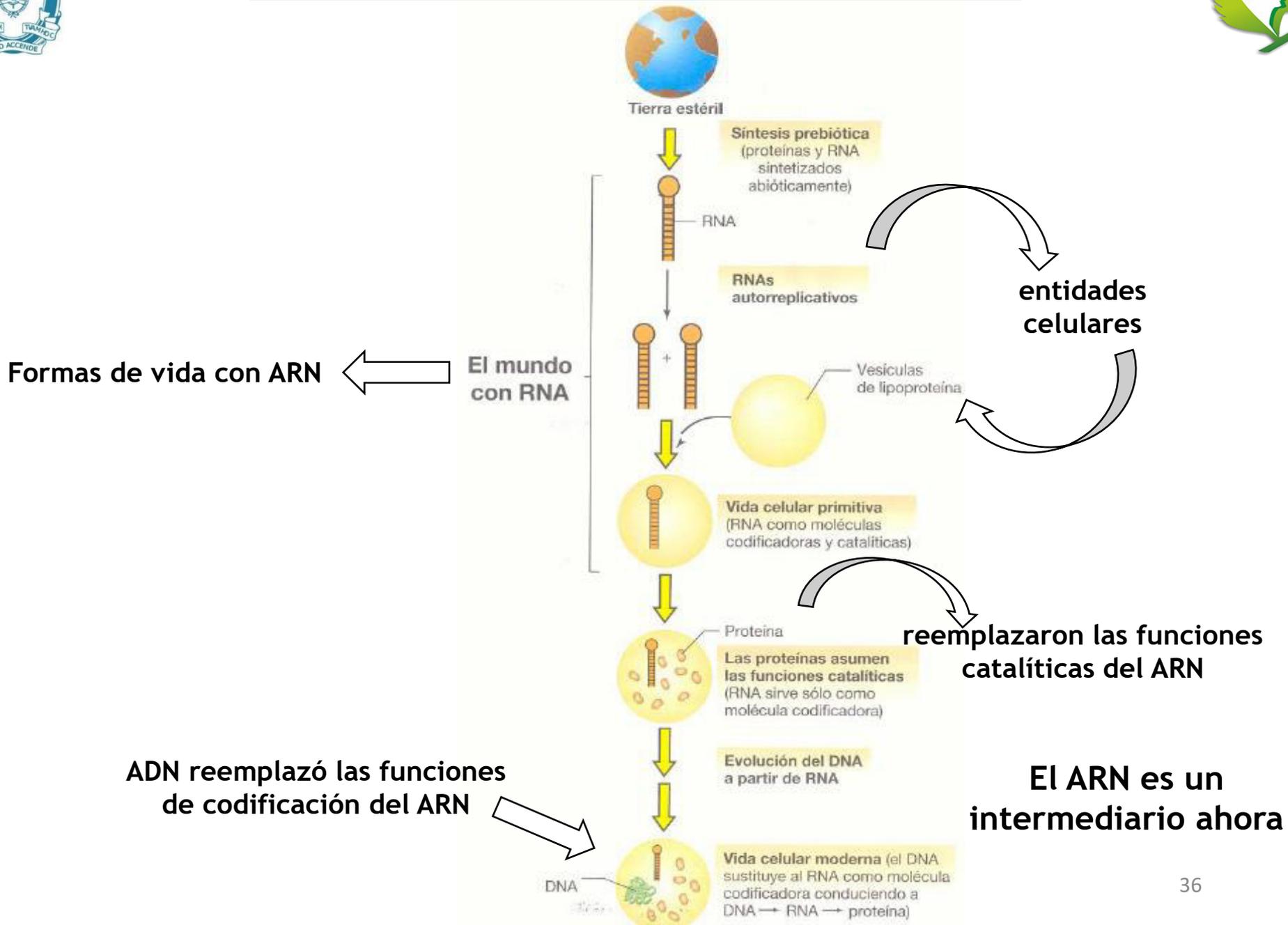
- ❖ La forma ancestral de vida necesitaba un rudimentario manual de instrucciones que pudiera ser copiado y transmitido de generación en generación.
- ❖ La propuesta más aceptada es que el ARN habría sido el primer polímero en realizar las tareas que el ADN y las proteínas llevan a cabo actualmente en las células.
- ❖ Por errores de copia en su duplicación habría aparecido una inmensa variedad de ARN.
- ❖ Más tarde, estas moléculas pasaron a ejercer control sobre la síntesis de proteínas.
- ❖ En una etapa siguiente, las proteínas habrían reemplazado al ARN en la función de acelerar las reacciones químicas.
- ❖ Mediante un proceso aún no esclarecido, la función de almacenar la información genética habría sido transferida del ARN al ADN, que es menos susceptible a la degradación química.





- ❖ Los ribonucleotidos se sintetizan mas fácil de manera ABIÓTICA que los desoxiribonucleotidos.
- ❖ Y además son mas estables

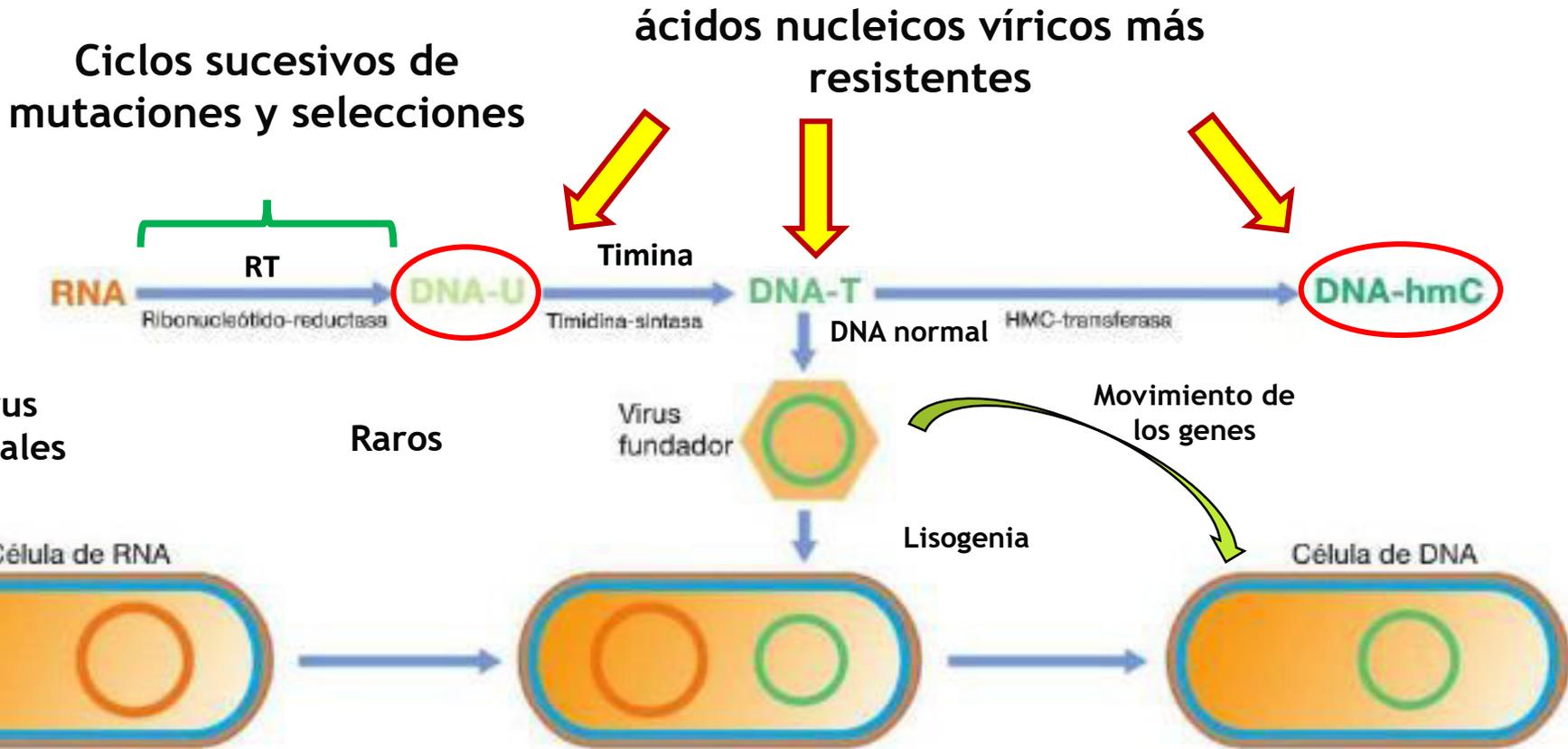
Evolución de las formas de vida celulares



“Inventaron” los virus el ADN

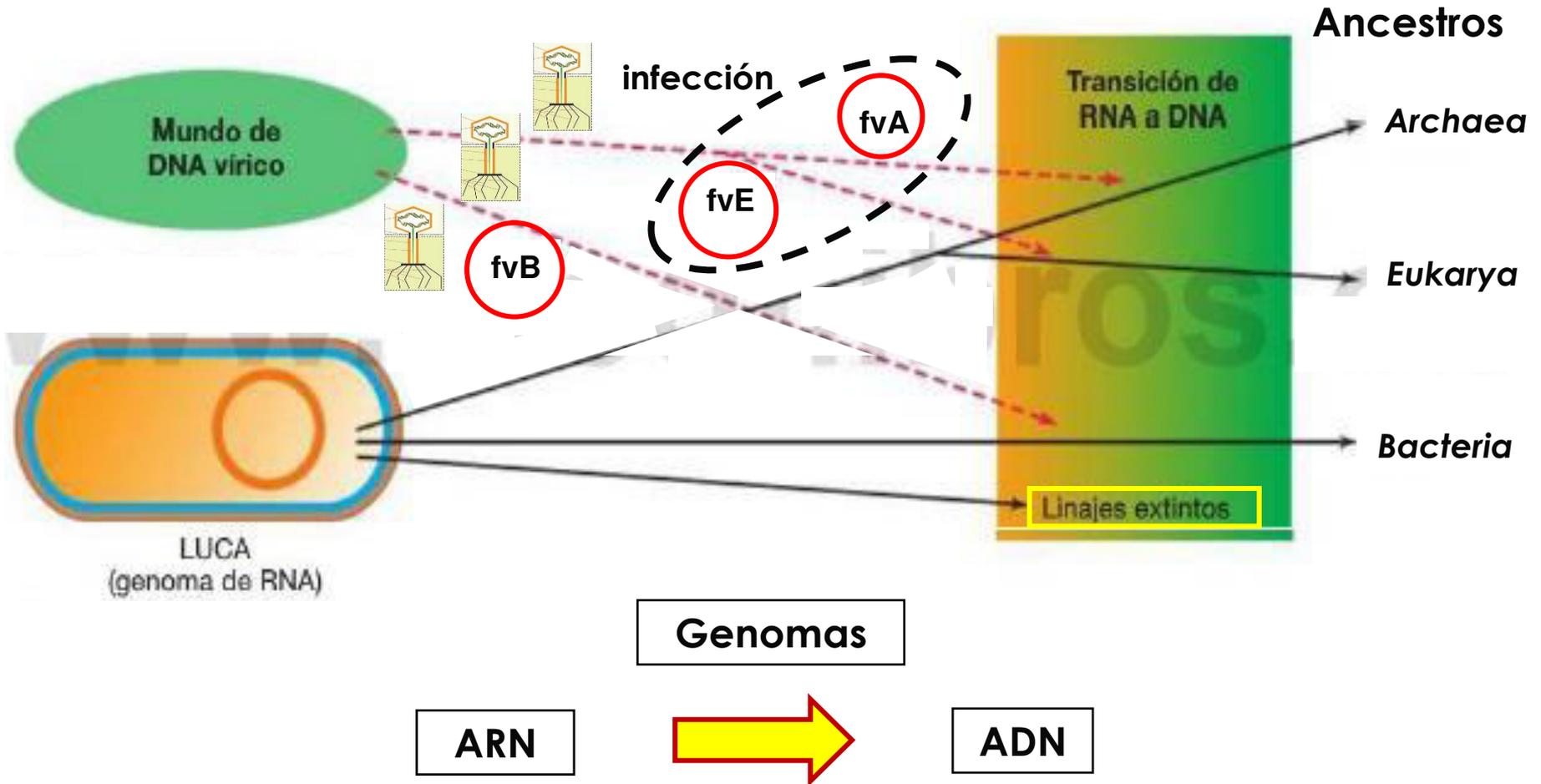
Evolución del genoma vírico

Origen vírico del ADN



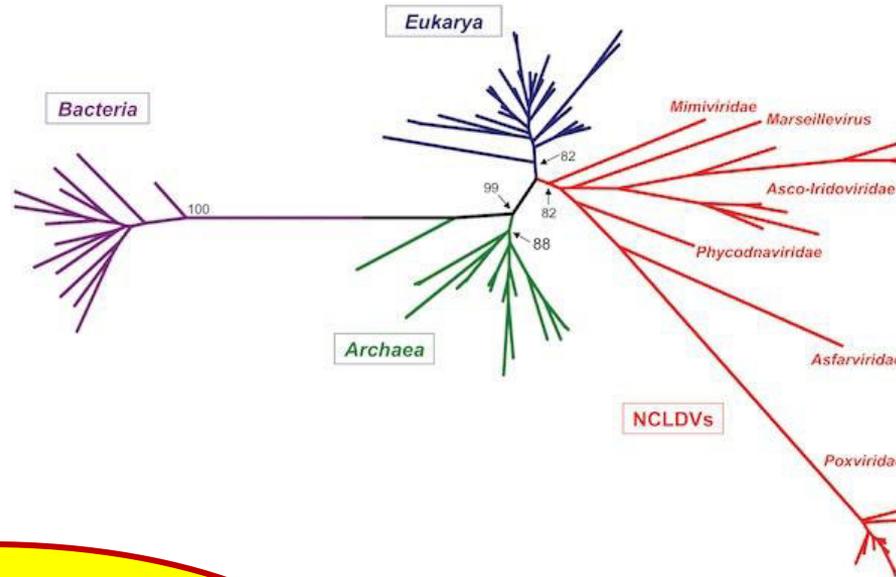


VIRUS FUNDADORES



Gran problema de la evolución bacteriana

Dónde encajan los virus en el árbol universal de la vida?



¿Emergieron relativamente tarde como astutos elementos genéticos que escaparon de los genomas celulares?

¿Ya estaban por la tierra al mismo tiempo que lo hacían las primeras células?

¿Cuándo entró el ADN en la escena de la evolución y desplazó al ARN como material genético?



CONCEPTO DE ESPECIE EN MICROBIOLOGÍA

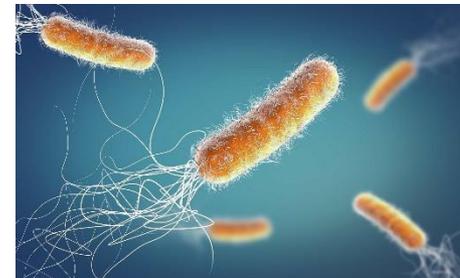


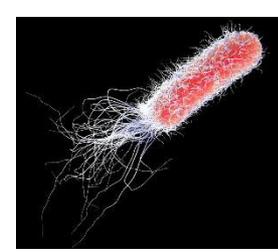
- ❖ **Aun NO existe un concepto de especie aceptado universalmente para los procariotas.**
- ❖ **La taxonomía microbiana combina información fenotípica, genotípica y de filogenia basada en secuencias.**
- ❖ **Dado que la especie es la UNIDAD FUNDAMENTAL de la diversidad biológica, esta cuestión es importante en lo que respecta a nuestra percepción del mundo microbiano y nuestra interacción con dicho mundo.**
- ❖ **Cómo se define el concepto de especie en microbiología va a determinar cómo diferenciamos y clasificamos las unidades de diversidad que constituyen el mundo microbiano.**

DEFINICIÓN ACTUAL DE ESPECIE PROCARIOTA



- ❖ Actualmente la especie procariota se define en la práctica (operacionalmente) como una colección de cepas que presentan un alto grado de similitud en una serie de rasgos independientes.
- ❖ En la taxonomía polifásica para describir una nueva especie se tienen en cuenta datos fenotípicos, genotípicos y filogenéticos.
- ❖ Los rasgos que actualmente se consideran fundamentales para agrupar cepas en una única especie incluyen una hibridación ADN-ADN ($\geq 70\%$) y un parecido de secuencia en genes como el ARNr 16S de ($\geq 97\%$) y girasa entre otros.
- ❖ Basándose en éste tipo de criterios se han reconocido formalmente ≈ 7.000 especies de bacterias y arqueas.
- ❖ El concepto de especie biológica, que propone que una especie es una POBLACIÓN cuyos individuos SE CRUZAN ENTRE SÍ y se encuentra aislada reproductivamente de otras poblaciones cuyos individuos se cruzan entre sí, está ampliamente aceptada en muchos EUCARIOTAS como una forma de agrupar con sentido biológico a los organismos.





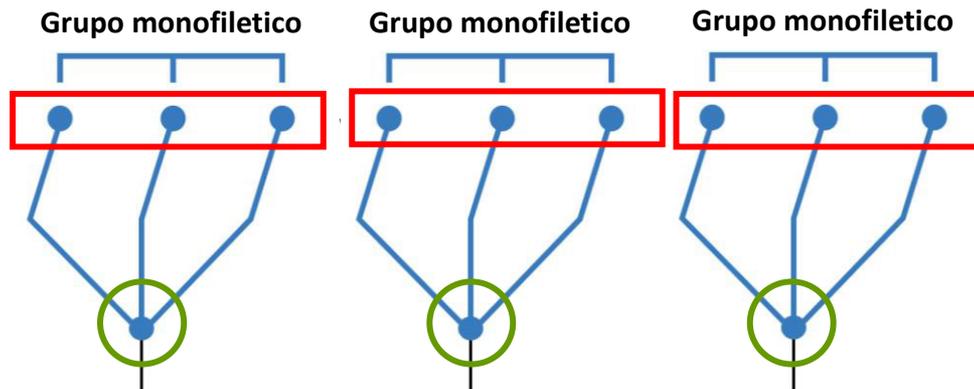
- ❖ Sin embargo, este concepto biológico de especie NO es eficiente ni tiene sentido al intentar aplicarlo una gran mayoría de la diversidad biológica ya que las bacterias y arqueas, son haploides que CARECEN de reproducción sexual.
- ❖ Incluso considerando la adquisición de ADN homólogo por recombinación y la adquisición de ADN no homólogo por transferencia horizontal, la herencia en procariotas es predominantemente vertical, y en bacterias no existe una reproducción sexual real, es decir la fusión de gametos haploides para formar una célula diploide.
- ❖ En estos organismos 1 célula haploide se reproduce para dar lugar a 2 células hijas HAPLOIDES idénticas genéticamente, o esencialmente idénticas salvo en caso de mutación.
- ❖ Por tanto la definición de especie basada en la reproducción sexual y el aislamiento reproductivo no es apropiada para bacterias y arqueas.

Una alternativa al concepto de especie biológica que parece apropiada para organismos haploides es el concepto genealógico de especie o concepto filogenético de especie.

ESPECIE PROCARIOTA

Grupo de cepas que, basándose en la secuencia de múltiples genes, se agrupan estrechamente entre sí en el sentido filogenético y se diferencian claramente de otros grupos de cepas.

En otras palabras, cada uno de estos grupos de cepas es **MONOFILÉTICO**, al descender cada uno de ellos de un distinto ancestro común





ECOTIPO

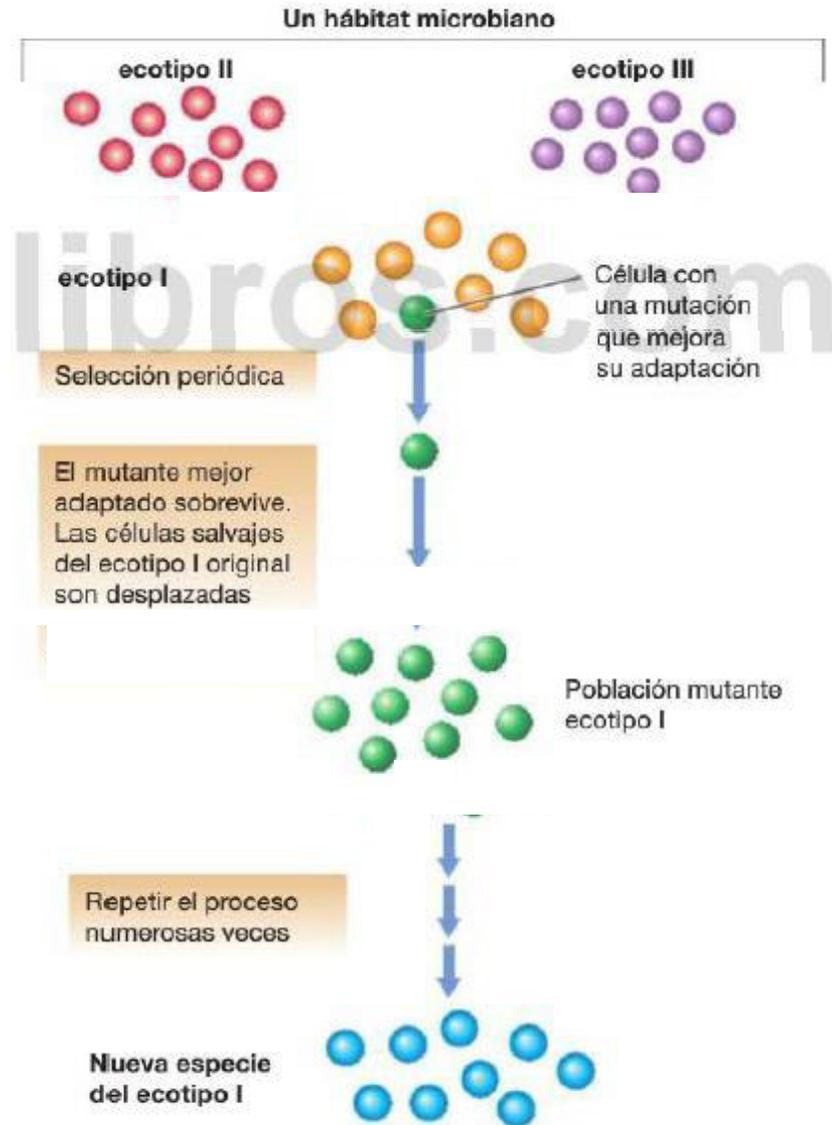


Población de células que comparten un recurso en particular (un nutriente esencial)

- ❖ **Distintos ecotipos pueden coexistir en un mismo hábitat, pero cada ecotipo prospera tan sólo dentro de su nicho principal dentro de dicho hábitat.**
- ❖ **Las células de la población de cada ecotipo se reproducen dando lugar a mutaciones aleatorias en sus genomas, siendo la mayoría neutrales y carecen de efecto**
- ❖ **Si se produce una mutación beneficiosa (o perjudicial) en una célula en uno de los ecotipos, que incrementa (o disminuye) la eficiencia de dicha célula, entonces esta célula se reproducirá mejor (o peor) que otras de tal modo que su progenie portadora de la mutación acabará siendo predominante (o eliminándola).**
- ❖ **Con el tiempo, esto puede significar la eliminación de células peor adaptadas dentro de esa población.**
- ❖ **Sucesivas rondas de mutación y selección en este ecotipo pueden llevarlo a ser cada vez más distinto genéticamente de los otros ecotipos.**
- ❖ **Con suficiente tiempo y suficientes cambios, las células de este linaje acabarán siendo identificadas como una nueva especie conforme a una serie rasgos distintivos**



- Varios ecotipos pueden coexistir en un mismo hábitat microbiano, cada uno ocupando su propio nicho ecológico preferente.
- Una célula de un ecotipo que es portadora de una mutación beneficiosa puede convertirse en una población que con el tiempo sustituya al ecotipo original.
- Conforme esto sucede repetidas veces para un mismo ecotipo, puede dar lugar a una población genéticamente distinta que representa una nueva especie.
- Como los demás ecotipos no compiten por los mismos recursos, no se ven afectados por los eventos genéticos y de selección que suceden fuera de su nicho preferente.



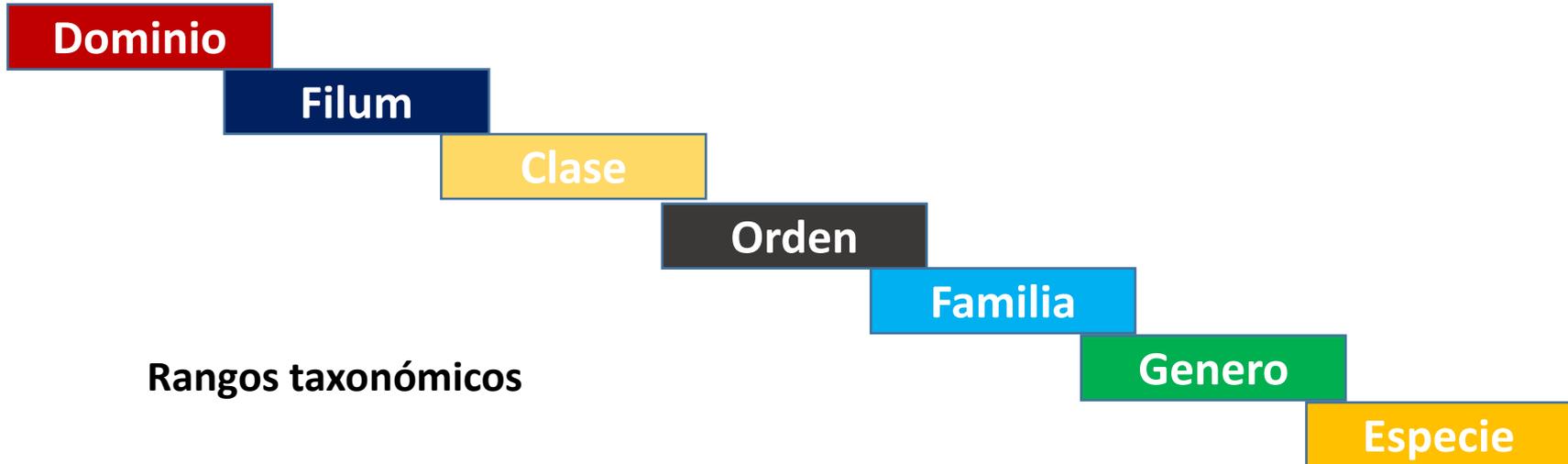


CLASIFICACIÓN



- ❖ Es la organización de organismos en grupos progresivamente más generales en base a su parecido fenotípico o su parentesco evolutivo.
- ❖ Una nueva especie normalmente se define a partir de una serie de cepas, agrupándose luego aquellas especies similares en géneros.
- ❖ Los grupos de géneros parecidos se agrupan en familias, las familias en órdenes, los órdenes en clases, hasta llegar al dominio que es el taxón de mayor nivel.

LA NATURALEZA JERÁRQUICA DE LA CLASIFICACIÓN PROCARIOTA





NOMENCLATURA



- ❖ Aplicación de una serie de reglas formales para nombrar los organismos.
- ❖ Siguiendo el sistema binomial de nomenclatura que se emplea en toda la biología, los procariotas reciben nombres de género y adjetivo de especie.
- ❖ Los términos utilizados son latinos o derivados griegos latinizados, a menudo referentes a alguna característica descriptiva adecuada al organismo en cuestión, y se escriben en letra *cursiva*.
- ❖ Por ejemplo, hay descritas más de 100 especies del género *Bacillus*, que incluyen a *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*.
- ❖ Los adjetivos que designan estas especies significan respectivamente «esbelto», «cerúleo» y «animal grande» («bestia grande»), y se refieren a rasgos morfológicos, fisiológicos o ecológicos clave de cada organismo.

SUSTANTIVO singular + ADJETIVO, SUSTANTIVO o NOMBRE DE PERSONA

Nombre genérico + espíteto específico



PARA QUÉ CLASIFICAR?

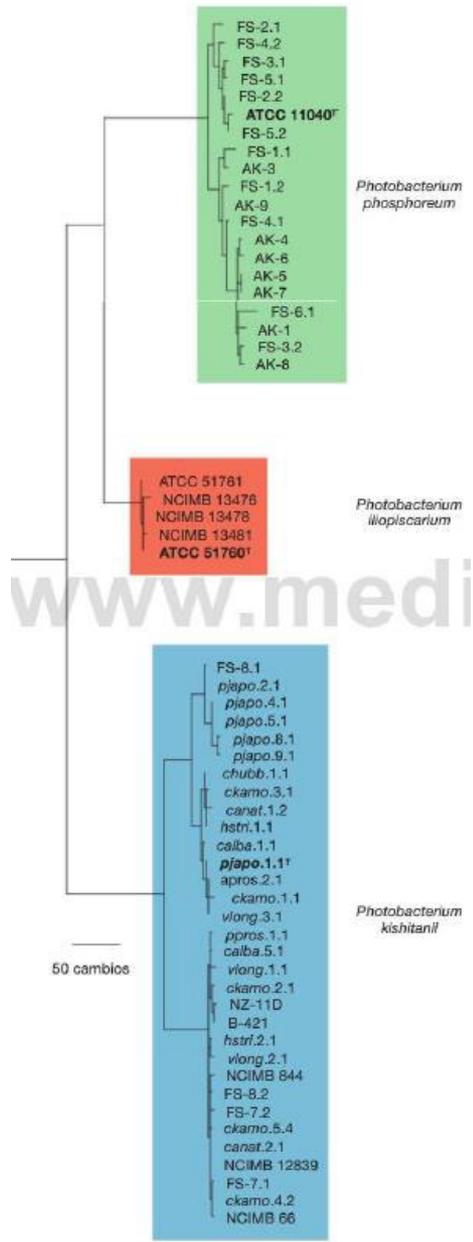


- Al clasificar los organismos en grupos y nombrarlos ordenamos el mundo natural.
- Facilitando la comunicación efectiva sobre los diversos aspectos de cada organismo individual, incluyendo su comportamiento, ecología, fisiología, patogénesis y sus relaciones evolutivas.

LA NOMENCLATURA ESTÁ SUJETA A REGLAS ESTRICTAS

- ❖ La asignación de nombres a las especies y grupos superiores de bacterias y arqueas está regulada por el Código Bacteriológico (El Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana).
- ❖ Este código plantea el marco formal dentro del cual las bacterias y arqueas deben ser nombradas oficialmente, y el procedimiento según el cual deben modificarse los nombres preexistentes, por ej. cuando nuevos datos justifiquen una reorganización taxonómica.
- ❖ Hay reglas para RECHAZAR los nombres erróneos en su forma original, o que han quedado invalidados.
- ❖ El Código Bacteriológico tan sólo atiende a los procedimientos para asignar nombres a organismos, y no le incumben los problemas de método o interpretación taxonómica.

EJEMPLO DEL USO DE LAS SECUENCIAS DE MÚLTIPLES GENES PARA DEFINIR LAS DISTINTAS ESPECIES



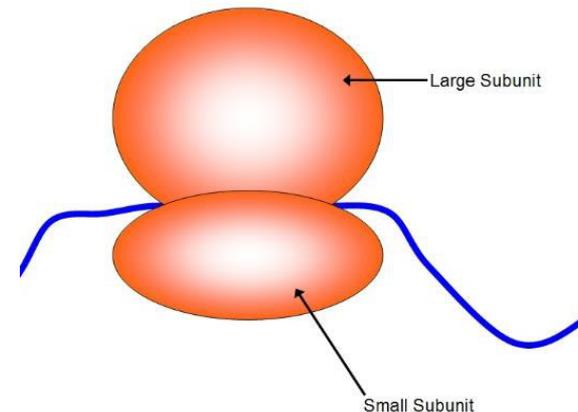
Se utiliza el gen del ARNr 16S cuya secuencia ha divergido muy poco y que por tanto proporciona una buena resolución a nivel de familia y género, pero mala resolución a nivel de especie.

Para conseguir una buena resolución al nivel de especie el análisis incluye las secuencias del gen *gyrB*, que codifica la subunidad B de una girasa de ADN, y las de los genes *luxABFE*, que codifican enzimas relacionadas con luminiscencia. Los genes *gyrB* y *luxABFE* están menos limitados por su función; es decir, sus secuencias pueden cambiar más que la del gen del ARNr 16S sin que las proteínas a las que codifican pierdan su función.

GENES UTILIZADOS EN EL ANÁLISIS FILOGENÉTICO



- ❖ El gen más útil y más usado para definir relaciones entre organismos es el que codifica el ARNr 16S y su equivalente en eucariotas ARNr 18S de la subunidad pequeña del ARNr.
- ❖ Están distribuidos universalmente, son estables en su función, están lo suficientemente conservados (cambian lentamente) y tienen la longitud adecuada, de tal modo que proporcionan una visión de la evolución que abarca a todos los organismos vivos.
- ❖ Woese fue el pionero en el uso del ARNr para estudios filogenéticos a principios de los 70's.
- ❖ Su trabajo estableció los 3 Dominios de la vida en Bacterias, Arqueas, y Eucariotas, y proporcionó por primera vez una filogenia unificada para las bacterias.





ADNr 16S como herramienta filogenética y taxonómica

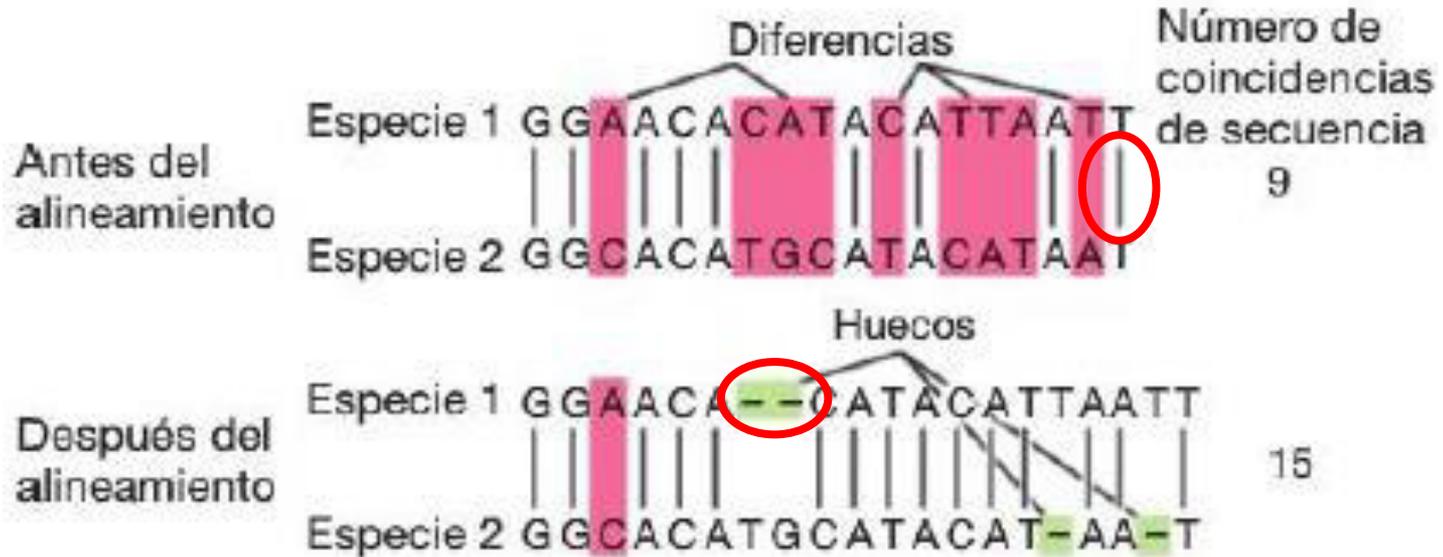


1. Molécula muy antigua, presente en todos los procariotas actuales. Constituye, por tanto, una molécula diana universal para su identificación.
2. Su estructura y función han permanecido constantes durante muchísimo tiempo, de modo que las alteraciones en la secuencia reflejan probablemente cambios aleatorios (baja tasa de evolución).
3. Los ADNr (o genes que codifican ARNr) contienen suficiente variabilidad para diferenciar no sólo los organismos más alejados, sino también los más próximos.
4. El tamaño relativamente largo de los ADNr 16S minimiza las fluctuaciones estadísticas.
5. Dado que resulta relativamente fácil secuenciar los ADNr 16S, existen bases de datos amplias, en continuo crecimiento.

ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS DE ADN



De un gen, por ej. 16S

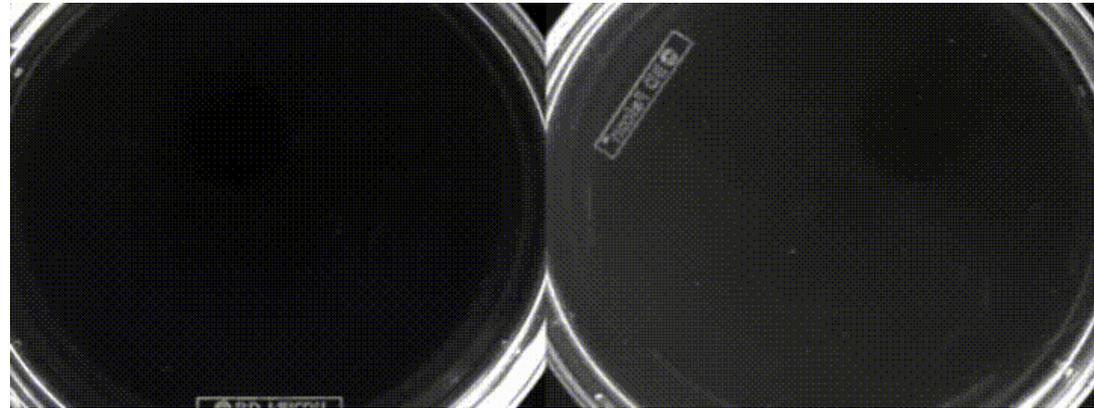
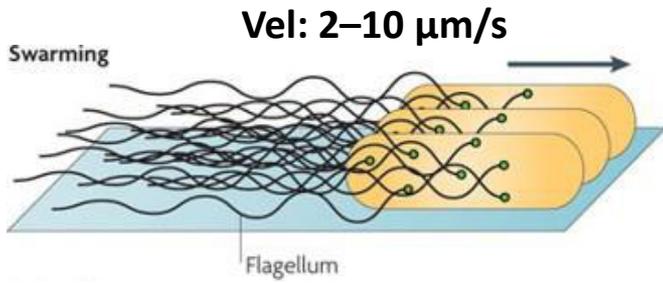


- ❖ Secuencias de 2 organismos para una región hipotética de un gen, antes de su alineamiento y después de la inserción de huecos para mejorar el emparejamiento de nucleótidos, indicado por las líneas verticales que muestran nucleótidos idénticos en las 2 secuencias.
- ❖ La inserción de huecos en ambas secuencias mejora el alineamiento significativamente.

CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DE VALOR TAXONÓMICO

Categoría principal	COMPONENTES
MORFOLOGÍA	Morfología de la colonia; tinción Gram; tamaño y forma de la célula; patrón de distribución flagelar; presencia de esporas, cuerpos de inclusión (vesículas gaseosas, magnetosomas); pedúnculos o apéndices; formación de cuerpo fructificante.
MOVILIDAD	No móvil; movilidad por deslizamiento; movilidad natatoria por flagelos; en enjambre (swarming); movilidad por vesículas gaseosas.
METABOLISMO	Mecanismos de conservación de la energía (fotótrofo, quimioorganótrofo, quimiolitótrofo); utilización de compuestos de carbono, nitrógeno, o azufre; fermentación de azúcares; fijación de nitrógeno; requerimiento de factores de crecimiento.
FISIOLOGÍA	Rangos de temperatura, pH, y sales para su crecimiento; respuesta al oxígeno (aeróbico, facultativo, anaeróbico); presencia de catalasa u oxidasa; producción de enzimas extracelulares.
QUÍMICA CELULAR	Ácidos grasos; lípidos polares; quinonas respiratorias.
OTROS ASPECTOS	Pigmentos; luminiscencia; sensibilidad a antibióticos.

MOTILIDAD DE ENJAMBRE



Serratia, Salmonella, Aeromonas, Bacillus, Yersinia, Pseudomonas, Proteus, Vibrio y Escherichia.



HIBRIDACIÓN Y SECUENCIACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS. COMPARACIÓN DE SECUENCIAS DE ARN Y ADN



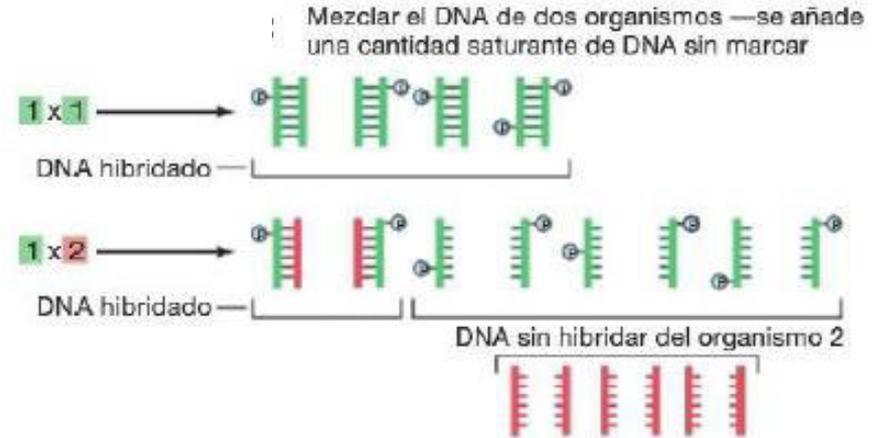
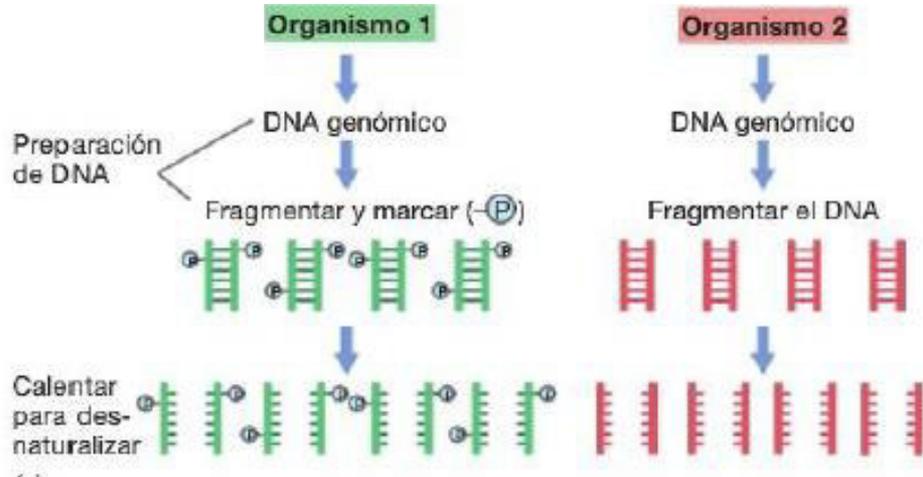
HIBRIDACIÓN ADN-ADN

- ❖ Cuando 2 organismos comparten muchos genes muy parecidos (o idénticos) es de esperar que sus ADN se hibriden el uno con el otro en proporción equivalente a la similitud entre sus secuencias genómicas.
- ❖ La medida de la hibridación ADN-ADN entre los genomas de 2 organismos proporciona un índice aproximado de su parecido mutuo.
- ❖ La hibridación ADN-ADN es por tanto una técnica útil para diferenciar organismos, complementaria a la secuenciación de los genes de ARNr.
- ❖ En un experimento de hibridación el ADN genómico aislado de un organismo se marca radioactivamente con P^{32} o H^3 , se fragmenta en pequeños trozos, se calienta para separar las 2 cadenas complementarias y se mezcla con un exceso de ADN del segundo organismo, preparado de modo similar al del primero pero SIN marcar.
- ❖ La mezcla de ADN se deja enfriar para que las cadenas simples se reasocien por complementariedad.
- ❖ Se separa el ADN de doble cadena del ADN que NO se hibridó.

Hibridación DNA-DNA

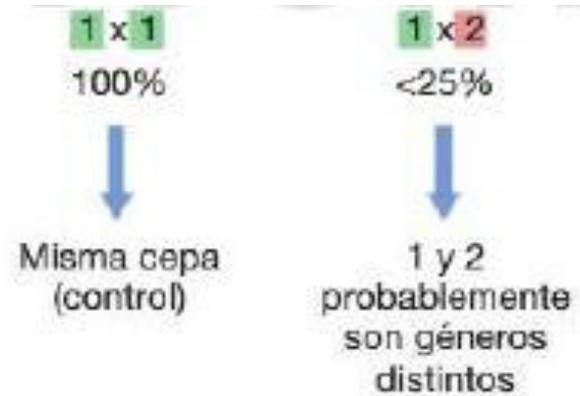
Organismos a comparar

Hibridación



medir la radiactividad del ADN que ha hibridado

Resultados e interpretación

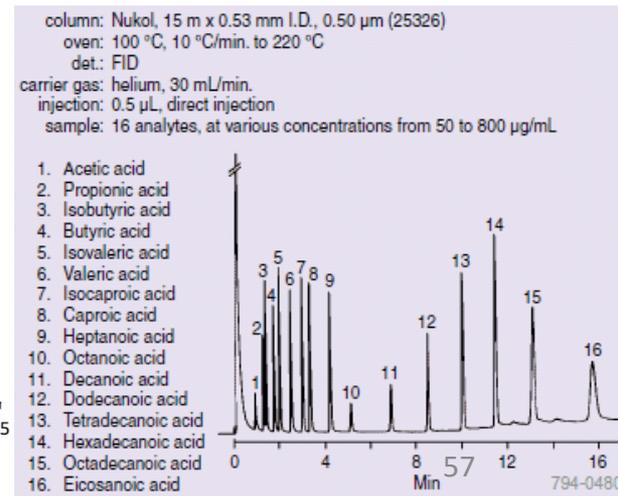
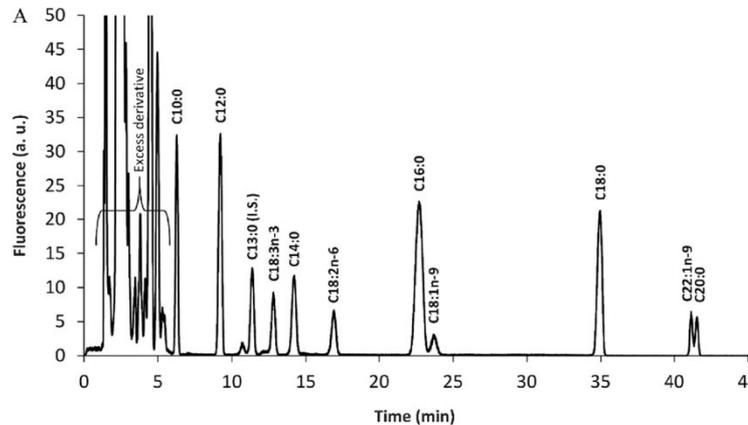
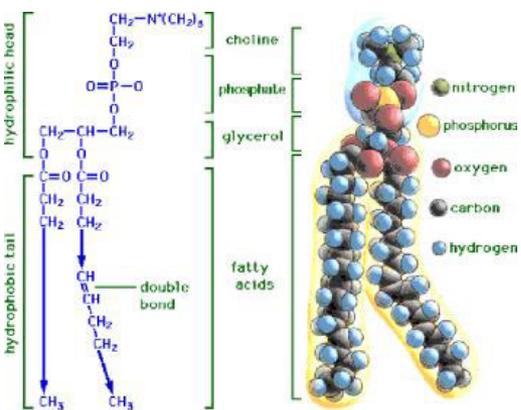


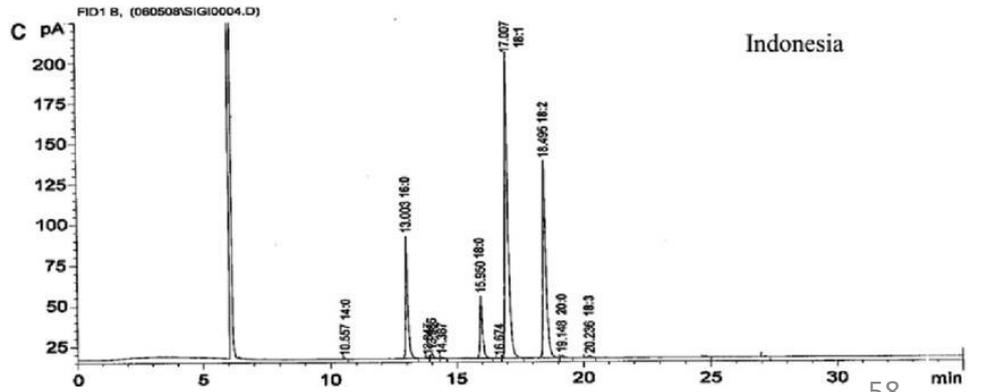
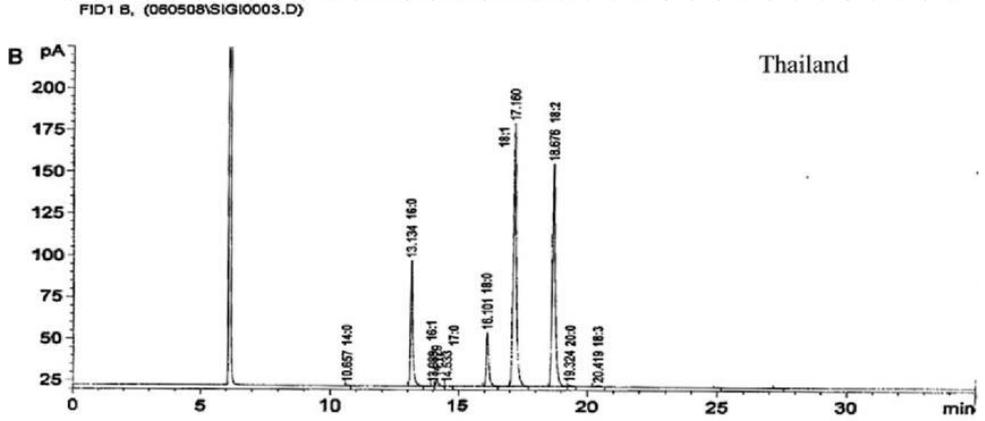
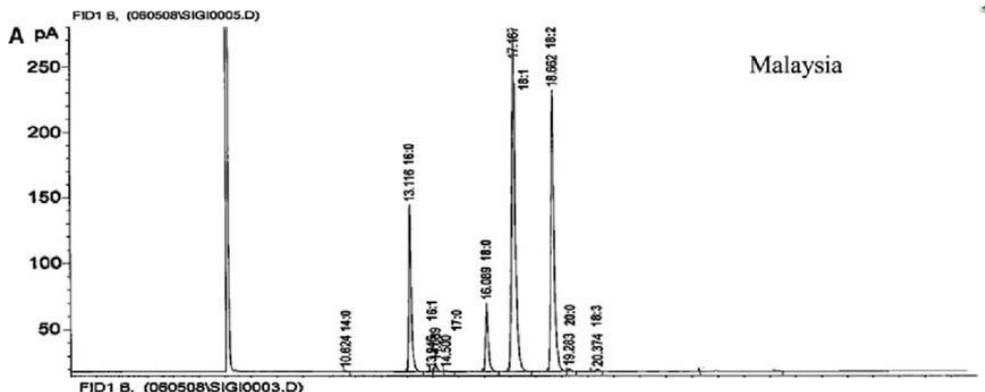
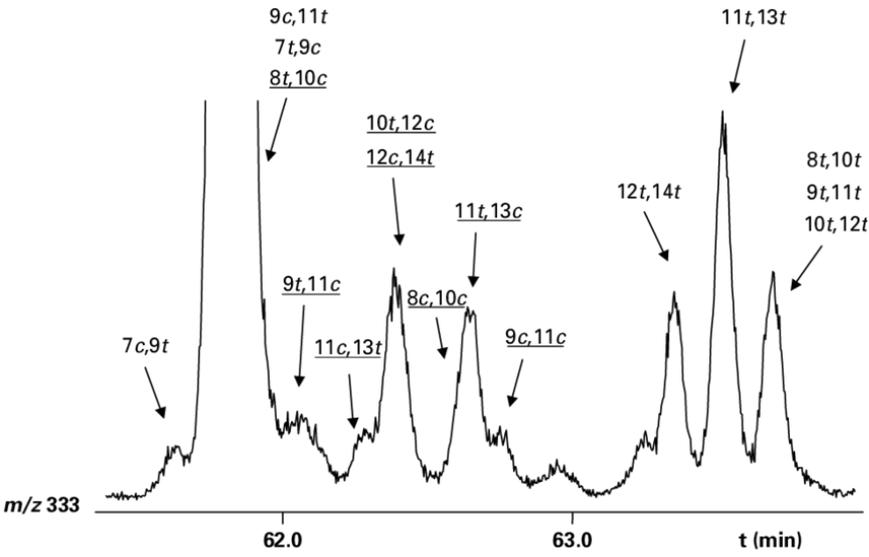
La radiactividad en el control (ADN del organismo 1 hibridándose consigo mismo) se toma como el valor 100% de hibridación.



FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*: éster metílico de los ácidos grasos)

- ❖ Los tipos y las proporciones relativas de ácidos grasos presentes en la membrana citoplásmica y los lípidos de la membrana externa son rasgos fenotípicos esenciales.
- ❖ La composición de ácidos grasos puede variar tremendamente entre las distintas especies procariotas, lo que incluye diferencias en la longitud de cadena, presencia o ausencia de dobles enlaces, anillos, cadenas ramificadas, o grupos hidróxilo.
- ❖ Por tanto, un perfil de ácidos grasos puede a menudo caracterizar e identificar una especie procariota.
- ❖ Se identifican por cromatografía de gases.
- ❖ El cromatograma que muestra los tipos y cantidades de ácidos grasos del microorganismo desconocido se compara con la base de datos de perfiles de ácidos grasos de miles de microorganismos de referencia cultivados en las mismas condiciones.







INCONVENIENTES DE FAME

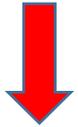


- ❖ Requiere una estricta estandarización porque el perfil de ácidos grasos de cualquier organismo, como tantos otros rasgos fenotípicos, puede variar en función de la T° , fase de crecimiento (exponencial frente a estacionaria), y a menor nivel con el medio de cultivo.
- ❖ Por tanto para conseguir resultados repetitivos es necesario cultivar el organismo en un medio y una T° específicos para poder comparar su perfil de ácidos grasos con los de los organismos de la base de datos que se han cultivado en las mismas condiciones.
- ❖ Esto no es posible para muchos organismos, y por tanto el uso del análisis FAME se limita a aquellos organismos que pueden crecer en las condiciones estandarizadas.
- ❖ Además, todavía no está bien documentado el grado de variación entre los perfiles FAME de cepas individuales en una misma especie, una información importante en aquellos estudios que pretendan discriminar entre especies.

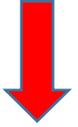
IDENTIFICAR EL ORGANISMO



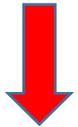
Cultivo procariota



Extraer ácidos grasos



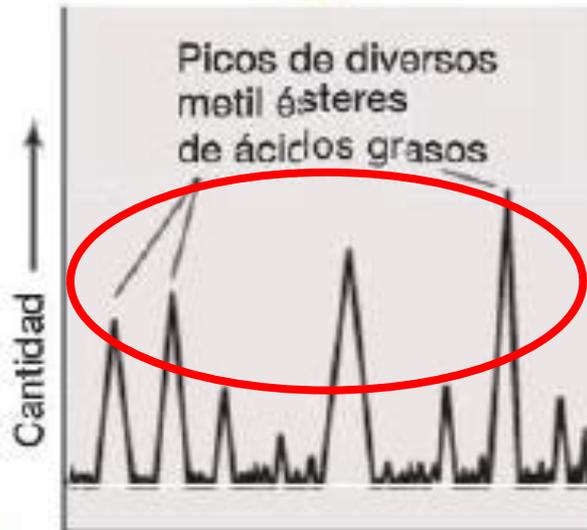
Formar los ésteres metílicos



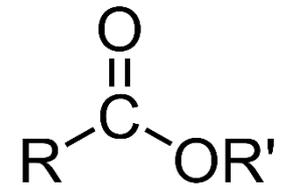
Cromatografía de gases



Comparar el patrón de picos con los de la base de datos



Cada pico representa un éster metílico de ácido graso específico, y la altura del pico es proporcional a su cantidad.





PROPORCIÓN GC



- ❖ Otro método empleado para comparar y describir bacterias es el análisis de sus proporciones en contenido GC .
- ❖ La proporción GC es el % de GUANINA más CITOSINA en el ADN genómico de un organismo.
- ❖ Las proporciones GC fluctúan dentro de un rango considerable, desde valores tan bajos como el 20% hasta valores tan altos como casi el 80% entre bacterias y arqueas, un rango que es algo más reducido entre los eucariotas.
- ❖ En general, se considera que si la proporción GC de 2 organismos difiere en más de un 5%, es que comparten pocas secuencias de ADN en común y por tanto es poco probable que estén muy emparentados.
- ❖ De todos modos 2 organismos pueden tener proporciones GC idénticas y sin embargo estar muy poco emparentados, ya que a partir de una composición de bases muy similar se pueden obtener secuencias nucleotídicas muy diferentes.
- ❖ De modo que proporciones GC idénticas resultan engañosas desde punto de vista taxonómico.
- ❖ Como cada vez resulta más fácil obtener información de secuencia, el análisis de las proporciones GC puede ver reducida su importancia en el futuro de la taxonomía procariota.



FILOGENIA MICROBIANA

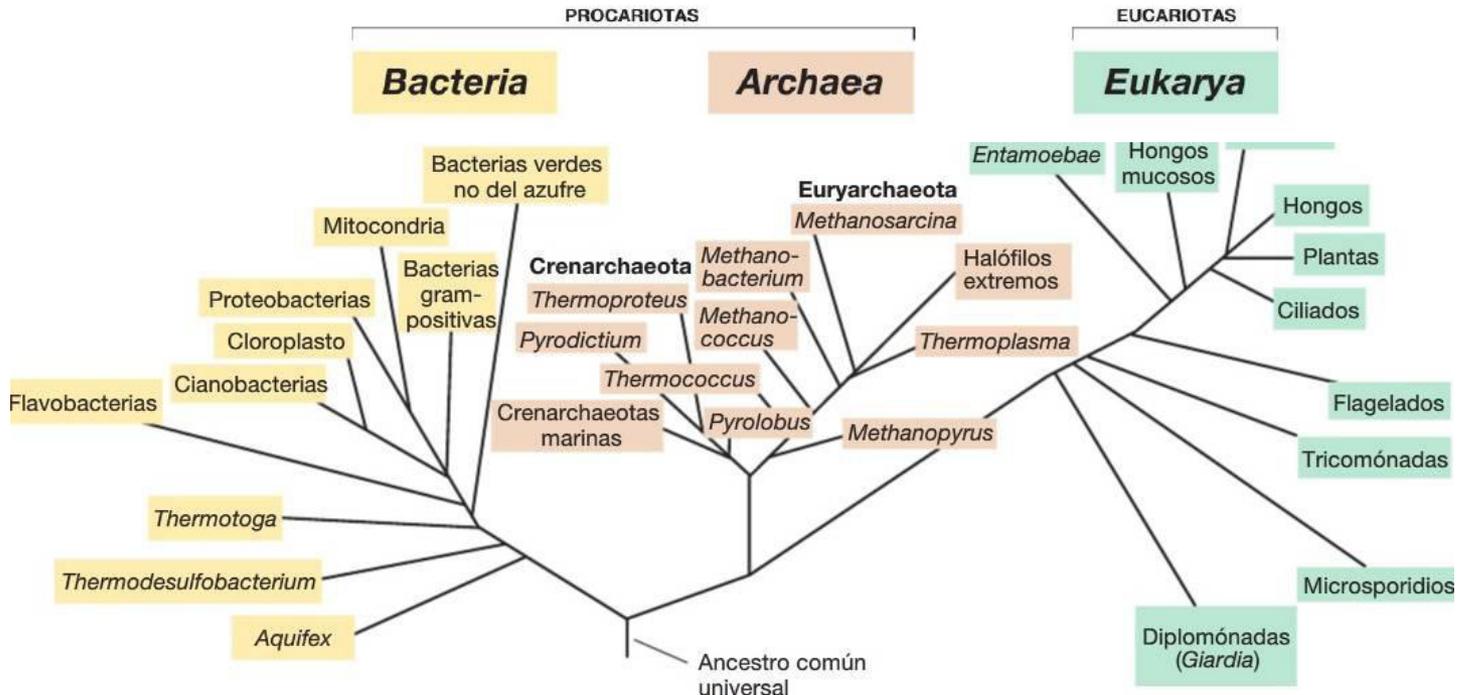


- ❖ Antes de la biología molecular los organismos se agrupaban en 5 reinos: plantas, animales, hongos, protistas y bacterias.
- ❖ El análisis filogenético basado en las secuencias de ADN ha descubierto que los 5 reinos no representan 5 líneas evolutivas primordiales.
- ❖ La vida celular en la Tierra ha evolucionado a través de 3 linajes principales, los DOMINIOS *Bacteria*, *Archaea*, y *Eukarya*.
- ❖ *Bacteria* y *Archaea* están formados exclusivamente por células procariotas.
- ❖ *Eukarya*, es inicialmente microbiano (unicelular) e incluye a los 5 reinos clásicos con la excepción de las bacterias.
- ❖ El DOMINIO es el más alto taxón biológico.

FILOGENIA DE LA VIDA BASADA EN EL GEN ARNr 16S



- ❖ El árbol filogenético basado en los genes del ARNr SSU representa una genealogía de toda la vida sobre la Tierra.
- ❖ Ilustra la historia evolutiva de las células de todos los organismos y deja ver claramente los 3 dominios.
- ❖ La raíz del árbol universal representa un punto en la historia evolutiva en el que toda la vida compartió un ancestro común, LUCA, el último de los ancestros comunes universales.





NUEVA VERSIÓN DEL ÁRBOL DE LA VIDA

Hug *et al.*, 04/2016

5 supergrupos

92 phyla

3.083 organismos

30.437 genomas

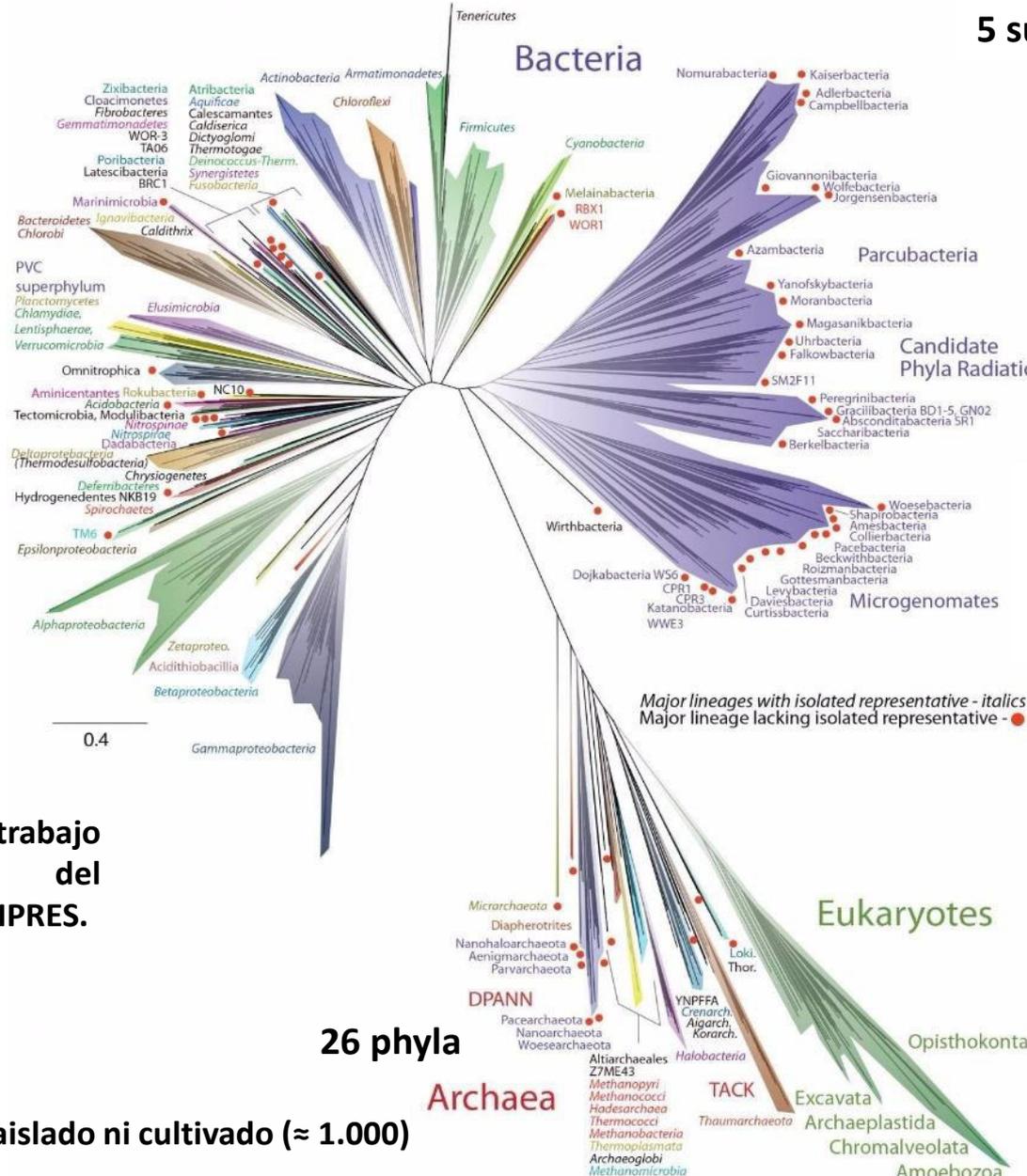
Joint Genome Institute's Integrated Microbial Genomes database (September 2015)

Primer árbol de la vida publicado desde el desarrollo de las técnicas metagenómicas

Abarca la diversidad total representada por genomas secuenciados.

3.840 horas de trabajo computacional del superordenador CIPRES.

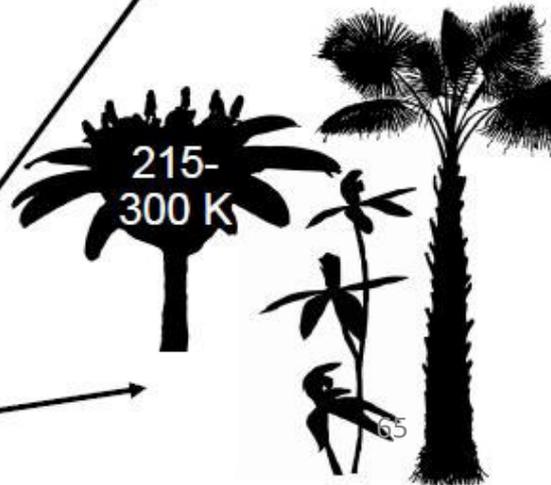
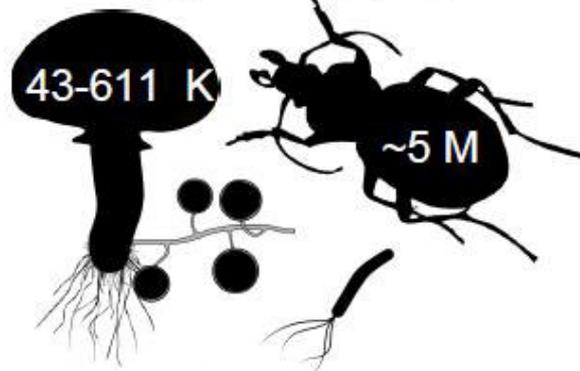
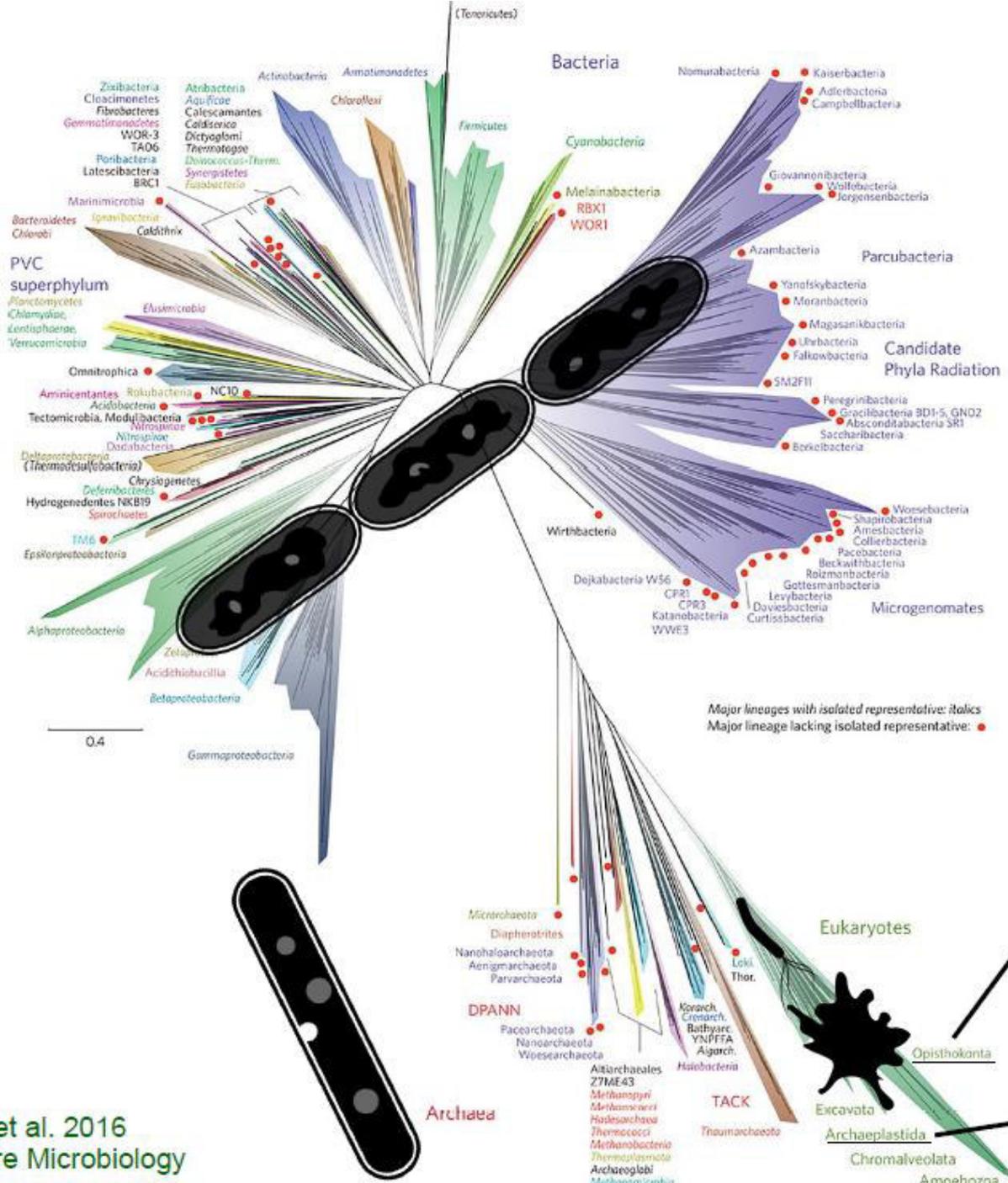
● SIN representante aislado ni cultivado (≈ 1.000)

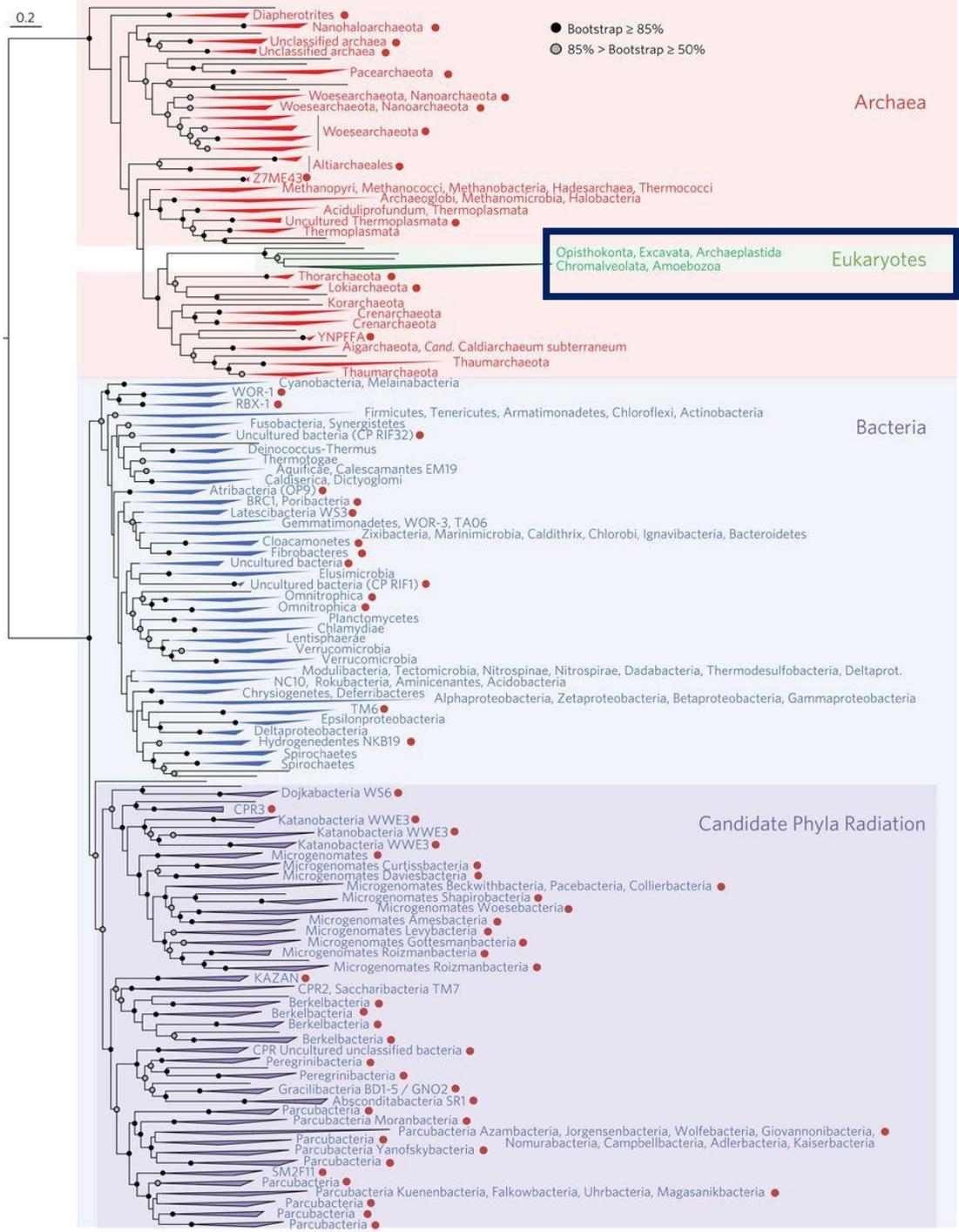


26 phyla

Archaea

Eukaryotes







Hay genes comunes en bacterias, arqueas, y eucariotas



¿Cómo es que comparten tantos genes si estos linajes divergieron hace tanto tiempo a partir de un ancestro común?



Una hipótesis es que en un periodo muy pronto en la historia de la vida, y antes de que los dominios principales se hubieran separado, se produjo una extensa actividad de transferencia horizontal de genes



BACTERIA



- ❖ Hasta el momento se han descubierto al menos 80 grupos evolutivos principales, fila, filos, o divisiones.
- ❖ Muchos grupos se han definido solo a partir de secuencias de ADN ambientales.
- ❖ Los orgánulos eucariotas se originaron a partir del dominio bacteria, las mitocondrias surgieron de las proteobacterias, de un pariente de *Rhizobium* y de rickettsias que pueden vivir intracelularmente en las células de plantas o animales.
- ❖ Los cloroplastos provienen del filum de las cianobacterias, ya que tanto las cianobacterias como el cloroplasto llevan a cabo fotosíntesis oxigénica.



ARCHAEA



- ❖ Está formado por varios grupos, siendo los 2 principales *Crenarchaeota* y *Euryarchaeota*.
- ❖ Las *Crenarchaeotas* hipertermófilas como *Thermoproteus*, *Pyrolobus*, y *Pyrodictium* se ramifican del árbol universal muy cerca de su raíz.
- ❖ Les siguen *Euryarchaeota*, las arqueas productoras de metano (metanogénicas) y los halófilos extremos.
- ❖ Algunas ramas de *Crenarchaeota* están definidas exclusivamente a partir de secuencias de genes ARNr obtenidas en muestreos ambientales.



EUKARYA

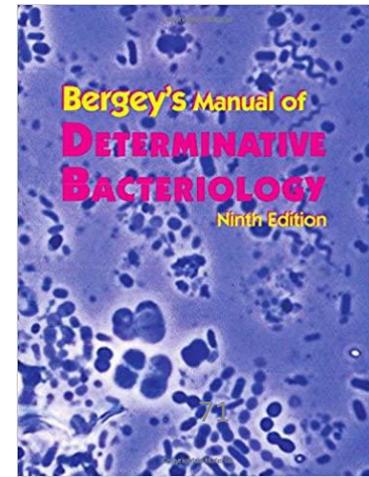
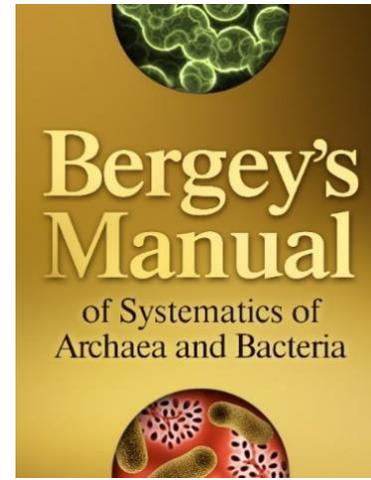
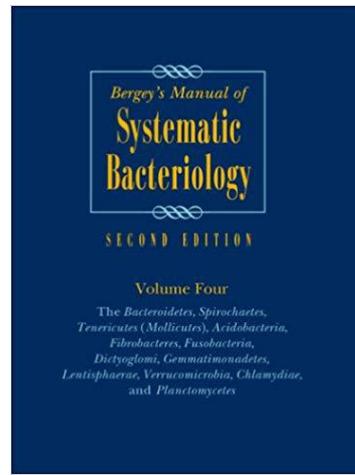


- ❖ Los árboles filogenéticos de los taxones del dominio *Eukarya* se generan con el gen ARNr 18S, equivalente funcional del gen ARNr 16S.
- ❖ Incluyen una enorme diversidad de organismos, desde los microsporidios y diplomónadas unicelulares, parásitos obligados, hasta los organismos pluricelulares, plantas y animales, los mayores y más complejos eucariotas.
- ❖ Cuando se compara el registro fósil con el árbol filogenético eucariota, se identifica una rápida radiación evolutiva hace unos 2.000 millones de años.
- ❖ Los datos geoquímicos sugieren que fue el período de la Tierra en el que se habrían acumulado niveles significativos de O₂ en la atmósfera.
- ❖ Es probable que el inicio de las condiciones aerobias y el subsecuente desarrollo de la capa de ozono fuese el desencadenante de la rápida diversificación de los eucariotas.



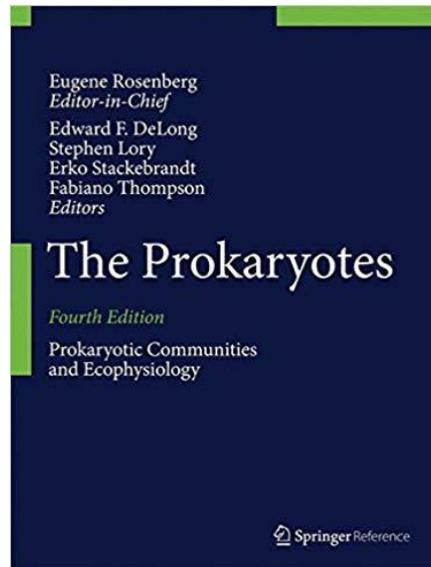
EL MANUAL DE BERGEY

- ❖ La taxonomía es en gran parte un asunto de juicio científico, no existe una clasificación «oficial» de bacterias y arqueas.
- ❖ El sistema de clasificación más generalmente aceptado por los microbiólogos es el Esquema Taxonómico de los Procariotas (*Taxonomic Outline of the Prokaryotes*) originado de la segunda edición del MANUAL DE BERGEY de **BACTERIOLOGÍA SISTEMÁTICA**, un tratado esencial sobre la taxonomía de bacterias y arqueas.
- ❖ Este manual ha ayudado a la comunidad de microbiólogos desde 1923 y es un compendio de información sobre todas las especies procariotas reconocidas.
- ❖ Cada capítulo está redactado por expertos, incluye tablas, figuras e información sistemática muy útil para la identificación de organismos.
- ❖ La segunda edición del manual ha incorporado muchos de los conceptos que han surgido de la secuenciación de los genes del ARNr 16S y de los estudios genómicos, y compagina esta información con la abundante información fenotípica.





- ❖ Una segunda referencia esencial sobre diversidad bacteriana es **LOS PROCARIOTAS**, que proporciona información detallada sobre el enriquecimiento, aislamiento y cultivo de numerosos grupos de bacterias y arqueas, recopilados por expertos en cada uno de los grupos de microorganismos.
- ❖ Este trabajo, de 4 volúmenes en su segunda edición (1992), luego la tercera edición (2006) en 7 volúmenes y la cuarta edición (2013) en 10 volúmenes.
- ❖ En conjunto, el **MANUAL DE BERGEY** y **LOS PROCARIOTAS** ofrecen a los microbiólogos tanto los cimientos como los detalles sobre la taxonomía y filogenia de bacterias y arqueas de acuerdo a los conocimientos actuales.
- ❖ Son las fuentes principales de conocimiento para aquellos microbiólogos empeñados en la caracterización de organismos recientemente aislados.



GRACIAS



POR SU ATENCION