



Adaptacions estructurals i funcionals de microorganismes adaptats a ambients endorreics hipersalins

Nom de l'Estudiant: Marcel Tardà Arnal

Correu electrònic: marceltaar@gmail.com

Grau en: Biotecnologia

Nom del Tutor: Frederic Gich Batlle

Nom del Cotutor*:

Correu electrònic: frederic.gich@gmail.com

Empresa/Institució: Universitat de Girona

*si hi ha cotutor assignat

Data de dipòsit de la memòria a través de la plataforma de TFG: 04/07/2023

ÍNDIX:

i. <u>RESUM</u>	
ii. <u>RESUMEN</u>	
iii. <u>ABSTRACT</u>	
1. <u>INTRODUCCIÓ</u>	1
1.1. Característiques comunes dels llacs hipersalins	2
1.1.1. Salinitat i densitat	2
1.2. Dinàmiques dels ambients endorreics hipersalins	4
2. OBJECTIVES	4
3. <u>METODOLOGIA</u>	5
4. <u>RESULTATS I DISCUSSIÓ</u>	6
4.1. Comunitats microbianes	6
4.1.1. Archaea	6
4.1.2. Bacteria	7
4.1.3. Eukarya	8
5. <u>DINÀMIQUES DE LES COMUNITATS MICROBIANES EN AMBIENTS ENDORREICS HIPERSALINS</u>	8
5.1. Dinàmiques estacionals	9
6. <u>ADAPTACIONS ESTRUCTURALS I FUNCIONALS PELS AMBIENTS ENDORREICS HIPERSALINS</u>	11
6.1. Modificacions estructurals	11
6.1.1. <u>Domini Archaea (<i>Haloquadratum walsbyi</i>):</u>	12
6.1.1.1. Morfologia i composició de la membrana cel·lular	12
6.1.1.2. Regulació de la flotabilitat i regulació del volum del citosol	12
6.1.1.3. Obtenció d'energia en <i>Haloquadratum walsbyi</i>	13
6.1.1.4. Recaptació iònica i promoció de la síntesi d'ATP	13
6.1.1.5. Regulació osmòtica	13
6.1.1.6. Proteoma àcid	15
6.1.1.7. Producció de toxines	15
6.1.2. <u>Domini Bacteria (<i>Salinibacter ruber</i>)</u>	15

6.1.2.1. Morfologia i composició de la membrana cel·lular	15
6.1.2.2. Proteoma àcid	16
6.1.2.3. Obtenció d'energia en <i>Salinibacter ruber</i>	16
6.1.2.4. Regulació osmòtica	16
6.1.3. <u>Domini Eukarya (<i>Dunaliella salina</i>)</u>	18
6.1.3.1. Morfologia i composició de la membrana cel·lular	18
6.1.3.2. Captació d'oligoelements mitjançant agents quelants	19
6.1.3.3. Captació de diòxid de carboni	19
6.1.3.4. Producció de soluts compatibles per la regulació osmòtica	19
6.1.3.5. Melanització de la paret cel·lular	19
7. <u>APLICACIONS EN LA BIOTECNOLOGIA</u>	20
7.1. Ús de les biomolècules produïdes	20
7.1.1. Soluts compatibles	20
7.1.3 Carotenoides	20
7.1.4. Bacteriorodopsina	20
7.1.5. Polihidroxibutirat (PHB)	21
7.1.6. Halocina	21
8. <u>CONCLUSIONS</u>	22
9. <u>REFLEXIÓ ÈTICA, DESOSTENIBILITAT I DE GÈNERE</u>	22
10. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	23

i. RESUM:

En el món microbià, un dels camps més interessants a estudiar és el dels microorganismes extremòfils. Aquests microorganismes viuen en condicions molt particulars on per la majoria de microorganismes són condicions hostils, però els extremòfils estan adaptats a aquestes condicions i desenvolupen comunitats estables i actives. Aquests ambients extrems poden ser de molts tipus, entre els quals es troben variacions extremes de pH i temperatura, pressions elevades al fons de l'oceà o elevada salinitat en ambients endorreics.

Aquest últim és el cas que es presenta en aquest treball. L'objectiu és dur a terme una recerca bibliogràfica a partir de la literatura científica actual de les adaptacions i modificacions que tenen els microorganismes que es troben presents en els ambients endorreics hipersalins, és a dir, cossos d'aigua en conques endorreiques sense sortida al mar amb una concentració salina molt elevada. Aquests ambients endorreics hipersalins brinden un ecosistema molt interessant, únic, dinàmic i ple de matisos on es desenvolupen comunitats senceres dels tres dominis de la vida, sigui *Archaea*, *Bacteria* o *Eukarya*.

En aquest treball s'exposa la informació sobre aquestes modificacions i adaptacions que presenten els microorganismes halòfils (requereixen una quantitat de sals en el medi per sobreviure) i halotolerants (no requereixen sals en el medi, però poden tolerar-ne la presència) per tal de donar una visió global de com són capaços els microorganismes de sobreviure i proliferar en ambients tan extrems. El present treball inclou aspectes transversals de diferents camps de la ciència, com ara la biologia, la microbiologia i sobretot, i amb més èmfasi en aquest treball, la biotecnologia.

Les adaptacions a medis salins són molt diverses, comprenent estratègies, basades en l'equilibri osmòtic entre els soluts del medi amb els soluts del medi intracel·lular per tal d'evitar la deshidratació de la cèl·lula, fins a estratègies de modificacions estructurals a nivell de membrana i proteoma.

Dins les modificacions i adaptacions als ambients hipersalins s'hi troben la producció de biomolècules molt interessants per la indústria farmacèutica i la biomedicina, oferint oportunitats úniques per tal d'explorar i profunditzar en aquests microorganismes el seu potencial comercial.

De manera complementària, aquest treball permetrà visualitzar com es veuen afectats aquests ambients en les condicions actuals d'emergència climàtica, les quals cal revertir, ja que ens poden portar a situacions irreversibles i fatídiques.

ii. **RESUMEN:**

En el mundo microbiano, uno de los campos más interesantes para estudiar es el de los microorganismos extremófilos. Estos microorganismos viven en condiciones muy particulares que son hostiles para la mayoría de los microorganismos, pero los extremófilos están adaptados a estas condiciones y desarrollan comunidades estables y activas. Estos ambientes extremos pueden ser de muchos tipos, incluyendo variaciones extremas de pH y temperatura, altas presiones en el fondo del océano o alta salinidad en ambientes endorreicos.

Este último es el caso que se presenta en este trabajo. El objetivo es llevar a cabo una investigación bibliográfica a partir de la literatura científica actual de las adaptaciones y modificaciones que tienen los microorganismos presentes en los ambientes endorreicos hipersalinos, es decir, cuerpos de agua en cuencas endorreicas sin salida al mar con una concentración salina muy alta. Estos ambientes endorreicos hipersalinos brindan un ecosistema muy interesante, único, dinámico y lleno de matices donde se desarrollan comunidades enteras de los tres dominios de la vida, ya sea Archaea, Bacteria o Eukarya.

En este trabajo se expone la información sobre estas modificaciones y adaptaciones que presentan los microorganismos halófilos (requieren una cantidad de sales en el medio para sobrevivir) y halotolerantes (no requieren sales en el medio, pero pueden tolerar su presencia) con el fin de dar una visión global de cómo son capaces los microorganismos de sobrevivir y proliferar en ambientes tan extremos. Este trabajo incluye aspectos transversales de diferentes campos de la ciencia, como la biología, la microbiología y, sobre todo, y con mayor énfasis en este trabajo, la biotecnología.

Las adaptaciones a medios salinos son muy diversas, comprendiendo estrategias basadas en el equilibrio osmótico entre los solutos del medio y los solutos del medio intracelular para evitar la deshidratación de la célula, hasta estrategias de modificaciones estructurales a nivel de membrana y proteoma.

Dentro de las modificaciones y adaptaciones a los ambientes hipersalinos se encuentran la producción de biomoléculas muy interesantes para la industria farmacéutica y la biomedicina, ofreciendo oportunidades únicas para explorar y profundizar en el potencial comercial de estos microorganismos.

De manera complementaria, este trabajo permitirá visualizar cómo se ven afectados estos ambientes en las condiciones actuales de emergencia climática, las cuales es necesario revertir, ya que nos pueden llevar a situaciones irreversibles y fatídicas.

iii. **ABSTRACT:**

In the microbial world, one of the most interesting fields to study is extremophilic microorganisms. These microorganisms live in very particular conditions that are hostile to the majority of microorganisms, but extremophiles are adapted to these conditions and develop stable and active communities. These extreme environments can be of many types, including extreme variations in pH and temperature, high pressures at the ocean floor, or high salinity in endorheic environments.

The latter is the case presented in this work. The objective is to carry out a literature review within the current scientific literature on the adaptations and modifications of microorganisms found in hypersaline endorheic environments, which are bodies of water in landlocked basins with very high salt concentrations. These hypersaline endorheic environments provide a very interesting, unique, dynamic, and nuanced ecosystem where entire communities from the three domains of life, namely Archaea, Bacteria, and Eukarya, thrive.

This work presents information about the adaptations and modifications exhibited by halophilic microorganisms (which require a certain amount of salts in their environment to survive) and halotolerant microorganisms (which do not require salts in their environment but can tolerate their presence). The aim is to provide a comprehensive understanding of how microorganisms are capable of surviving and proliferating in such extreme environments. This work encompasses interdisciplinary aspects from different fields of science, such as biology, microbiology, and, particularly, with a stronger emphasis in this study, biotechnology.

Adaptations to saline environments are highly diverse, ranging from strategies based on osmotic balance between solutes in the environment and intracellular solutes to prevent cell dehydration, to structural modifications at the membrane and proteome levels.

Within the modifications and adaptations to hypersaline environments, there are the production of highly interesting biomolecules for the pharmaceutical and biomedical industries, offering unique opportunities to explore and delve into the commercial potential of these microorganisms.

Additionally, this work will allow us to visualize how these environments are affected by current climate emergency conditions, which must be reversed as they can lead us to irreversible and dire situations.

1. INTRODUCCIÓ

Els ambients endorreics salins, entenen aquests com ecosistemes aquàtics on la concentració de sals és molt superior als altres ambients, conformen un grup particular dels ambients aquàtics que compren aproximadament el 44% del volum d'aigües continentals superficials del planeta (Messenger et al., 2016). En comparació, l'aigua del mar conté uns 35 g/l (Olmedo et al., 2022). Dins aquests ambients s'hi troben els ambients hipersalins; entre altres classes d'ambients salins, caracteritzats per tenir una concentració de sals molt elevada, superior als 50 g/l (Brock & Hammer, 1987).

Aquests ambients endorreics hipersalins, entesos popularment com a llacs hipersalins, conformen un ecosistema molt particular que es troba present al llarg de tot el globus terraqüi, localitzats generalment en conques endorreiques i en tots els continents inclòs l'Antàrtida, però amb una presència més elevada en l'hemisferi nord (Finlayson, 2018). Les conques endorreiques, que representen un 10% de la superfície terrestre, generalment, generen aquestes grans masses d'aigua salada, però la seva formació depèn de diferents factors. Els biomes àrids i semiàrids afavoreixen la formació d'aquests llacs hipersalins gràcies a les dinàmiques i característiques climàtiques que s'hi donen, permetent el manteniment i la proliferació a curt i llarg termini d'aquests ecosistemes salins (Schagerl, 2022). L'origen d'aquesta aigua i la seva situació geogràfica també permeten diferenciar en dos grans grups els ambients endorreics hipersalins. Els llacs que estan units i tenen origen en l'aigua salada del mar s'anomenen llacs talàssics i els que tenen un origen continental, en una conca endorreica on l'origen no és d'aigua marina s'anomenen atalàssics (Gierlowski-Kordesch & Renaut, 2010).

Els llacs hipersalins es troben formats en conques endorreiques. Són conques terrestres on l'aigua no té sortida i s'acumula en un llac terminal, tal com es pot veure en la Figura 1.

Es troben en la gran majoria en regions semiàrides i àrides on la precipitació i la humitat són baixes i l'evaporació és alta. Se solen trobar en conques rodejades d'altres muntanyes que acaparen la gran majoria de precipitacions. Hi ha una condició principal en la qual es basa la formació i manteniment dels llacs salins. Es fonamenta en cossos d'aigua on hi ha un equilibri en el flux d'aigua d'entrada, basat en una baixa precipitació; i de sortida, basat en la filtració al subsol baixa, això mantingut en períodes llargs de temps (Schagerl, 2022).



Figura 1. Imatge satel·lital del llac Üüreg (Mongòlia)

Com que la sortida de l'aigua està restringida a l'evaporació i en la filtració de l'aigua en el sòl, els soluts que es troben presents en l'aigua s'acumulen en el llac, donant a lloc a una concentració elevada i en augment al llarg del temps de sals. Es considera que un llac és salí quan té una salinitat de $\geq 3,00$ PSU i que un llac és hipersalí si té una salinitat $\geq 50,00$ PSU (Brock & Hammer, 1987; Schagerl, 2022).

Una característica principal determinant per tal que es formin aquests cossos d'aigua hipersalins és la composició del sòl en aquestes localitzacions àrides, que tenen un gran contingut d'aquestes sals i permeten una aportació salina a aquests cossos d'aigua (Deocampo & Jones, 2014). Un altre factor que permet l'entrada de sals a aquest ambient endorreic hipersalí són els corrents d'aire que transporten les sals en forma de terra i sorra en partícules i que entren via aèria. Un cas puntual de com es pot salinitzar un cos d'aigua es produeix quan, a causa d'activitat tectònica i volcànica, s'alliberen grans quantitats de minerals i sals a l'aigua (Jóðar et al., 2020).

Hi ha 3 grans tipus de llacs hipersalins depenent de la composició química salina principal que presenten: els llacs basats en carbonats ($\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$), basats en els sulfats (SO_4^{2-}) i basats en clorurs (Cl^-) (Schagerl, 2022).

Aquests ambients es poden localitzar arreu del planeta on es donin aquestes situacions que permetin la seva formació. En la Figura 2 es pot veure com es troben distribuïts per tot el globus terraquí, amb gran presència en el continent asiàtic, predominant en les zones àrides i semiàrides (Saccò et al., 2021).

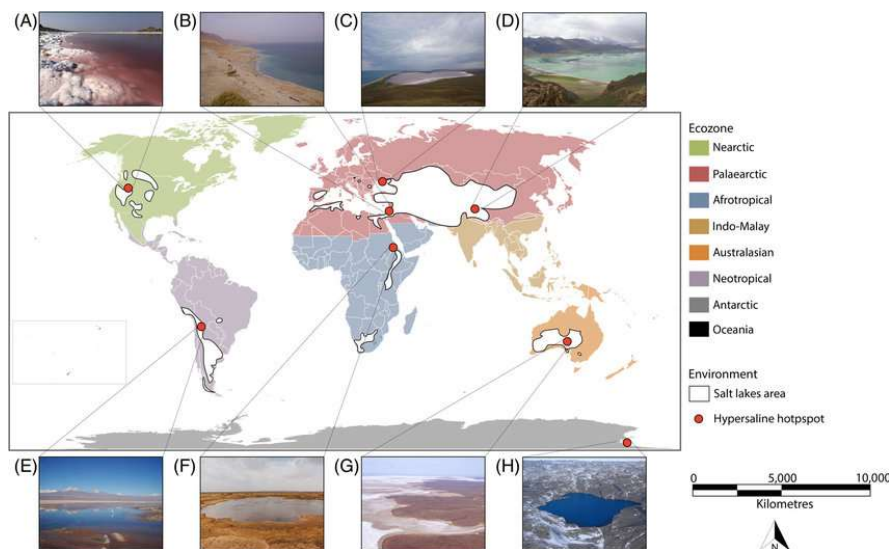


Figura 2. Mapa amb les ecozones del planeta on es marquen les àrees que contenen llacs salins i amb certs punts del planeta on hi ha presència de llacs hipersalins. Mapa extret de Saccò et al., 2021

1.1. Característiques comunes dels llacs hipersalins

1.1.1. Salinitat i densitat:

La salinitat entesa com a mesura (en PSU [“practical salinity units”]) representa concentració de compostos salins en una solució, provinent de diverses sals formades per diferents ions com ara: Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^- , CO_3^{2-} , entre d'altres (Deocampo & Jones, 2014).

Els ambients hipersalins formen part del grup d'ambients endorreics salins, els quals es classifiquen en diferents subgrups depenent de la salinitat que presenten: Aigua dolça=[0.0-0.5] PSU, Subsalsí=[0.5-3.0] PSU, Hiposalí=[3.0-20.0] PSU, Mesosalí=[20.0-50.0] PSU i Hipersalí=[50.0-Saturació] PSU. Aquesta és la principal característica d'aquests ambients i la principal propietat que els diferencia dels altres ecosistemes aquàtics. Els ambients hipersalins presenten una salinitat molt elevada, superior a 50 PSU (Brock & Hammer, 1987; Schagerl, 2022).

A causa de les característiques d'aquests ambients, la salinitat no és constant, ja que pot variar segons la zona i segons la capa vertical que s'analitzi, conjuntament amb les dinàmiques estacionals d'entrada i sortida d'aigua gràcies a la precipitació i evaporació. Això genera una columna d'aigua amb un gradient de salinitat que defineix la majoria de les propietats i dinàmiques que es troben presents en els ambients endorreics hipersalins (Merck & Tarboton, 2023^a).

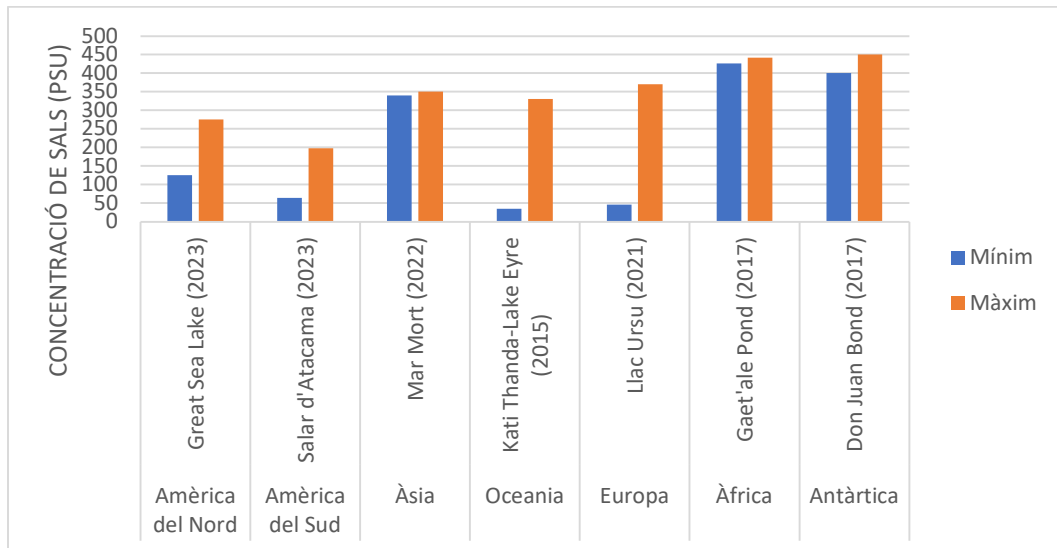


Figura. 3 Salinitat de llacs hipersalins de cada continent, amb la seva mínima i màxima salinitat en PSU (Practical Salinity Units) registrada recentment. Dades extretes i adaptades de diferents fonts. Great Salt Lake (Merck & Tarboton, 2023), Salar d'Atacama (Lennartz (née Rybarski) et al., 2023), Dead Sea (Weber et al., 2022), Kati Thanda-Lake Eyre (Helfer & Lemckert, 2015), Llac Ursu (Baricz et al., 2021), Gaet'ale Pond (Pérez & Chebude, 2017), Don Juan Pond (Pontefract et al., 2017).

En la Figura 3 s'observa com la salinitat en llacs hipersalins de cada continent pot variar entre un rang bastant ampli, depenent del moment de l'any i zona en la qual es faci el mostreig. En la figura es pot veure la diferència entre cada un dels llacs seleccionats, el continent on es troba i el moment de la publicació de l'article d'on s'extreuen les dades. Es pot veure com hi ha llacs que pateixen variacions extremes, com és el cas del llac Eyre on s'observa aquesta variació tan àmplia, ja que el llac no presenta aigua en certes parts de l'any, fent que augmenti la salinitat a nivells molt elevats (Helfer & Lemckert, 2015).

En els ambients hipersalins, a causa de la seva característica salinitat elevada, aquesta a vegades està a nivells tan elevats com quasi la saturació completa, fent que es generin uns canvis físics i dinàmics de l'ambient que són un punt clau en el desenvolupament de l'ecosistema sencer (Schagerl, 2022). Diferentment, la densitat genera en molts casos un fenomen anomenat meromixi. Aquest fenomen es basa en la diferenciació de 2 capes verticals gràcies a la densitat d'aquestes i les quals no es barregen en cap època de l'any. La capa menys densa s'anomena mixolimnion i es troba en la part superior, i la capa més densa s'anomena monimolimnion i es troba en la part inferior. Entre la capa mixolimnion i la capa monimolimnion es troba el gradient de densitat anomenada pycnoclina o haloclina, les quals representen un tipus particular de quimioclina (TORII et al., 1975).

1.2. Dinàmiques dels ambients endorreics hipersalins:

Els ambients endorreics hipersalins presenten una sèrie de dinàmiques que són característiques d'aquests ambients en relació amb la quantitat d'aigua que s'hi troba present i que permeten que es formin certes condicions que afavoreixen el creixement o manteniment dels nivells de sals. En la majoria dels casos, l'entrada d'aigua està basada únicament en la precipitació. Aquest fet provoca que el nivell de l'aigua fluctui depenent de les precipitacions que es presenten en les estacions més humides. La dinàmica va guiada pel clima, el qual dictamina si hi haurà més o menys quantitat d'aigua en el llac (Bayati & Danesh-Yazdi, 2021; Timms, 2022).

Es generen dues casuístiques:

- $\text{Ràtio d'evaporació} > \text{Ràtio d'entrada d'aigua per precipitació}$

En aquest cas, l'entrada d'aigua és insuficient per tal de contrarestar la ràtio per la qual aquesta s'evapora, reduint a la llarga el nivell de l'aigua del llac. Aquest fet es dona en les estacions més seques i caloroses de l'any. En certs casos, la ràtio d'evaporació és tan elevada que els nivells d'aigua del llac arriben a mínims extrems, fins al punt d'assecar-se completament. Aquest és el cas del Llac Eyre, a Austràlia. Aquest gran llac hipersalí, a causa de a sequeres esteses en el temps, ha passat grans èpoques amb uns nivells d'aigua mínims, deixant al descobert la major part del sediment del llac (Habeck-Fardy & Nanson, 2014).

El resultat d'aquest cas és la baixada del nivell de l'aigua del llac mentre que augmenta progressivament la salinitat d'aquest, ja que la massa de sals es manté, però disminueix el volum d'aigua.

- $\text{Ràtio d'evaporació} \leq \text{Ràtio d'entrada d'aigua per precipitació}$

En aquest cas, l'entrada d'aigua és igual o superior a la ràtio d'evaporació del llac, fent que a la llarga es mantingui o augmenti el nivell de l'aigua respectivament. Aquest fet es dona en les estacions humides de l'any on les pluges són més abundants i les temperatures no arriben a ser tan altes. El resultat d'aquest cas és l'augment o manteniment del nivell d'aigua del llac mentre que la salinitat del llac disminueix o es manté pel fet que el volum de la massa d'aigua augmenta mentre que la quantitat de sals no ho fa amb la mateixa ràtio d'entrada.

2. OBJECTIVES:

As it has been described, hypersaline endorheic environments provide a unique ecosystem with characteristics and dynamics not found elsewhere, and they are present on all continents of planet Earth. This makes them highly attractive for a review study, as the biodiversity found in these environments exhibits unique modifications and adaptations that have potential industrial utility.

The main objectives of this review are:

1. To gather current information and knowledge on the physicochemical and dynamic characteristics of hypersaline environments.

2. To select model organisms representing the three domains of life (Archaea, Bacteria, and Eukarya) and analyse their structural and functional adaptations in response to hypersaline endorheic habitats.
3. To reflect on the potential uses of these modifications in the field of biotechnology.

3. METODOLOGIA:

Per tal d'aconseguir els objectius anteriorment mencionats, s'ha seguit una metodologia basada en la cerca bibliogràfica usant internet. Primerament, s'ha cercat en buscadors d'articles científics les paraules claus com ara (*hypersaline environments review*) o (*hypersaline microbial adaptations*) en les següents bases de dades: ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>), Google Scholar (<https://scholar.google.com/>), PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) i Scopus (<https://www.scopus.com/>), per tal de trobar articles de revisió actuals, buscant des del 2018 fins a l'actualitat. Aquests articles de revisió proporcionen molta informació global i específica sobre el tema i brinda una gran quantitat de bibliografia molt interessant i que es troba contrastada amb les últimes investigacions. Les pautes que s'han escollit a l'hora de seleccionar quins articles escollir són: Articles de revistes reconegudes pel seu prestigi i de l'àmbit d'estudi i articles amb una quantitat de citacions considerables. Es refereix a nombre de citacions considerable quan té més de 10 citacions en articles d'anys recents. Per altra banda, articles d'anys anteriors seran considerables si tenen més de 20 citacions.

Per tal de visualitzar l'evolució de la bibliografia disponible sobre aquesta temàtica, s'han recollit els 135 articles revisats i s'ha anotat la quantitat d'articles que hi ha per any tal com es pot veure en la Figura 5, l'evolució de la quantitat d'articles disponibles va en augment amb els anys.

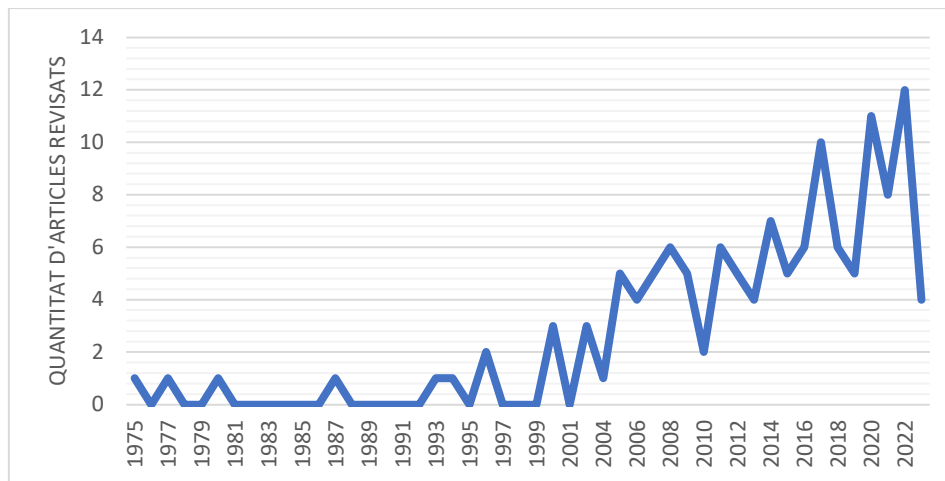


Figura 5. Quantitats d'articles revisats en aquest treball amb relació a l'any que es van publicar.

Aquesta bibliografia és la que s'ha utilitzat per tal d'elaborar aquest treball. També s'han seleccionat i cercat els articles originals citats en els articles de revisió per tal d'ampliar, complementar i contrastar els continguts del treball. Aquesta cerca s'ha fet en les mateixes bases de dades anteriors i en altres de diferents, com ara en Nature (<https://www.nature.com/>), MDPI (<https://www.mdpi.com/>) o SpringerLink (<https://link.springer.com/>). A més a més, s'ha cercat en revistes com ara *Nature Reviews Microbiology* (Shu & Huang, 2022) i enciclopèdies com ara *Encyclopedia of Inland Waters* (Tockner Klement & Mehner Thomas, 2022), que han

aportat una gran varietat d'informació molt valuosa per tal d'anar contrastant tota la informació. Finalment, s'ha fet servir Mendeley Reference Manager per tal de gestionar la bibliografia que s'ha anat utilitzant, amb l'objectiu de guardar-la, ordenar-la i citar-la correctament en format APA.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1. Comunitats microbianes

Tot i que els ambients endorreics hipersalins es tractin d'uns ambients extrems per les quantitats de sals que presenten, els microorganismes han aconseguit desenvolupar adaptacions estructurals i funcionals per adaptar-se a aquests ambients. Aquestes característiques fan que els llacs hipersalins siguin ambients amb una elevada diversitat microbiana (Saccò et al., 2021). Els organismes presents en aquest tipus d'ambients es classifiquen en dos grups depenent de la tolerància i la necessitat de NaCl que tenen:

Halotolerants: Organismes que toleren certa quantitat de sals en el medi i en el qual poden sobreviure. Tenen un rang de salinitat màxim de 150 PSU (Antón, 2011). Microorganismes halotolerants són *Hortaea werneckii*, *Bacillus atrophaeus* o *Halomonas koreensis* (Antón, 2011; Rahman et al., 2017).

Halofílics: Organismes que necessiten una quantitat mínima de sals per la seva supervivència. En ambients amb 0 PSU no poden sobreviure i moren. Es poden classificar en diversos grups depenent de la concentració de sals òptima que necessiten per créixer. Segons de la Haba et al., es poden classificar en lleugerament halòfils (entre 10 i 50 PSU), halòfils moderats (entre 50 i 200 PSU) i halòfils extrems (entre 200 i 300 PSU) (de la Haba et al., 2011). Alguns exemples podrien ser *Haloquadratum walsbyi*, *Salinibacter ruber* o *Dunaliella salina* (Katz et al., 2019; Oren et al., 2004).

Les comunitats microbianes dels tres dominis de la vida (*Archaea*, *Bacteria* i *Eukarya*) han evolucionat generant unes adaptacions, modificacions i dinàmiques que són molt interessants pel seu estudi i anàlisi en els camps de la biotecnologia, biologia i microbiologia (Martínez et al., 2022). En aquest apartat s'introdueixen els 3 dominis de la vida en els ambients endorreics hipersalins per a posteriorment profunditzar en les adaptacions estructurals i funcionals dels representants d'aquestes comunitats.

4.1.1. Archaea:

El domini *Archaea* és un ampli grup de microorganismes procariotes que inclouen molts representants adaptats a ambients extrems, tant de salinitat, temperatura o pH (Baker et al., 2020). En el present cas on s'estudien les adaptacions a ambients hipersalins, el domini *Archaea* inclou una classe nomenada *Halobacteria* que està formada únicament i exclusivament per microorganismes halòfils. Previ a l'any 2015, aquesta classe contenia un únic ordre (*Halobacteriaceae*), però a partir d'estudis posteriors s'ha dividit en 3 ordres (*Halobacteriales*, *Haloferacales* i *Natrialbales*). Aquests 3 ordres donen a lloc a 6 famílies d'arqueus (*Halobacteriaceae*, *Haloarculaceae*, *Haloferacaceae*, *Natrialbaceae*, *Halococcaceae* i *Halorubraceae*) (Oren et al., 2017; Saccò et al., 2021).

Es caracteritzen per ser microorganismes unicel·lulars que presenten morfologies de cocs, de bacils, de discs plans pleomòrfics i de plans quadrats com es veu en la Figura 6.

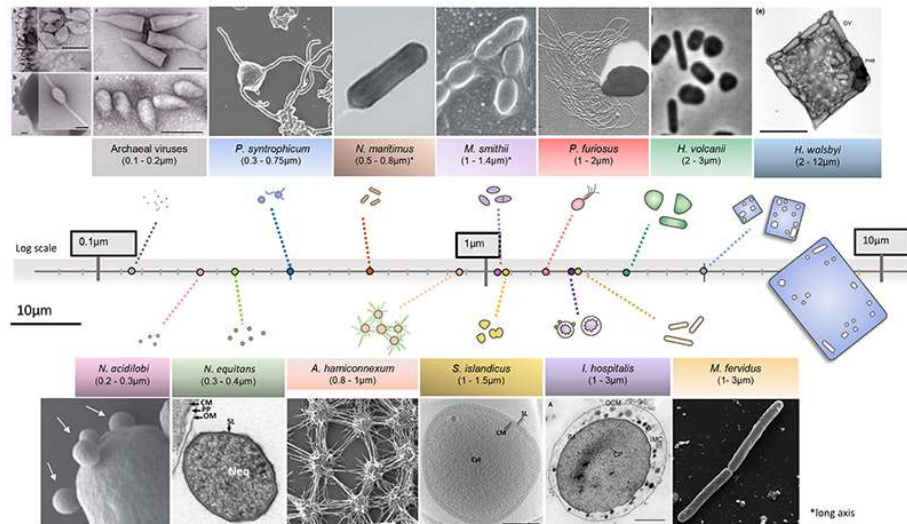


Figura 6. Representació de les diferents morfologies dels arqueus. Imatge extreta de (van Wolferen et al., 2022)

A part d'això, la gran majoria presenten motilitat i alguns presenten estructura de paret cel·lular de tipus semblant als bacteris gram-negatius (Oren et al., 2017). Un tret característic d'aquesta classe és el fet que presenten una coloració vermella/rosada, deguda a una alta concentració de carotenoides com ara l' α -bacterioruberina i derivats (Ram et al., 2020). Gràcies a les altes concentracions d'aquests pigments carotenoides es poden visualitzar les seves comunitats a simple vista ja que tenyeixen els ambients endorreics d'un color vermellós rosat. Molts llacs hipersalins presenten aquesta tinció degut a la presència d'aquests pigments, concretament el de la bacteriorodopsina, un pigment que ajuda a arqueus a realitzar la fotosíntesi (Oren, 2020).

Els arqueus de la classe *Halobacteria* són exclusivament halòfils, el que significa que necessiten una mínima quantitat de sals en l'ambient per tal de créixer i desenvolupar-se i sobreviure. Alguns necessiten un mínim de 10 PSU per tal de créixer mentre que n'hi ha d'altres que tenen una salinitat òptima de creixement de 300 PSU i, per tant, són halòfils extrems (Belilla et al., 2019). Els halobacteris es consideren dels microorganismes millor adaptats a les condicions d'hipersalinitat, ja que gràcies a les seves adaptacions estructurals i dinàmiques, s'observa que, en augmentar la salinitat del medi, la diversitat microbiana és representada per aquest tipus de microorganismes, prevalent davant dels membres dels altres dos dominis *Bacteria* i *Eukarya* (Andrei et al., 2012; Bayles et al., 2020).

Generalment, els arqueus halòfils són quimioorganoheteròtrofs aeròbics tot i que alguns també són capaços de dur a terme un procés de respiració anaeròbica, mostrant que tenen diferents tipus de metabolisme (Falb et al., 2008; Martínez et al., 2022).

4.1.2. Bacteria:

El domini *Bacteria*, anteriorment conegut com a *Eubacteria*, es tracta d'un domini molt extens que engloba a microorganismes procariotes. Aquests presenten grups halòfils i halotolerants, generalment en els fílums de *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Spirochaetes*, *Rhodothermaeota*, *Bacteroidetes* i *Actinobacteria* (Saccò et al., 2021).

Representen la segona comunitat microbiana més dominant present en els ambients hipersalins. El domini *Archaea* és la més dominant amb una presència del 70-95% en poblacions, en canvi, el domini *Bacteria* es troba present en un 5-30% (Antón et al., 2008; Atanasova et al.,

2015). El domini *Bacteria* té més representants lleugerament halofílics i halofílics moderats i és en aquests rangs (5 PSU-200 PSU) on domina en proporció de comunitats microbianes respecte al domini *Archaea* (Didari et al., 2020). Es presenta una especialització a l'adaptació a les concentracions de sals per tal de no entrar en competència amb els altres dominis.

Morfològicament, predominen les morfologies de cocs, de bacil, de vibrió, d'espiral o d'espiroqueta i alguns presenten flagels que els permeten tenir moviment. Poden presentar paret cel·lular Gram-positiva o Gram-negativa (Salton & Kim, 1996; Thompson et al., 2022).

Alguns bacteris halòfils presenten, igual que molts arqueus, una coloració vermelloso/rosada que prové de l'acumulació de carotenoides en el seu interior (Saccò et al., 2021).

Un bacteri halòfil adaptat per viure en condicions extremes és *Salinibacter ruber* (Gunde-Cimerman et al., 2018). Aquest bacteri presenta unes semblances fenotípiques amb alguns haloarqueus i degut a això pot créixer i desenvolupar-se de manera òptima a salinitats molt elevades de fins a 300 PSU (Mongodin et al., 2005). També necessita un mínim de salinitat molt elevat per sobreviure, d'uns 150 PSU, per tant, només es troba present en ambients hipersalins (Oren, 2013).

En el cas dels bacteris es troben una gran varietat de metabolismes en tant aeròbics com anaeròbics. S'han trobat bacteris amb metabolismes heteròtrofs i autòtrofs (Saccò et al., 2021). En alguns casos s'ha descobert que la respiració cel·lular estava basada en el sofre com en el cas de *Halorhodospira* (Oren, 2013b).

4.1.3. Eukarya:

Els microorganismes representants d'aquest domini presents en els ambients hipersalins es troben en una proporció baixa, ja que en augmentar la salinitat de l'ambient, la presència d'organismes eucariotes disminueix perquè no estan ben adaptats a medis tan extrems. Tot i això, es troben presents fins i tot a salinitats elevades de fins a la saturació completa. Aquest és el cas de l'alga *Dunaliella*, un gènere d'alga unicel·lular que entre les seves subespècies s'hi troben alguns dels pocs microorganismes eucariotes que suporten elevades salinitats de fins a 300 PSU (Borovkov et al., 2020; Martínez et al., 2022).

També existeixen microorganismes el rang taxonòmic *Fungi* que es troben presents en els ambients hipersalins. Aquests microorganismes destaquen per unes parets cel·lulars gruixudes i amb gran presència de la melanina, la qual confereix una gran resistència i bona adaptabilitat a altes salinitats del medi. També genera una protecció extra contra la radiació ultraviolada (Gunde-Cimerman et al., 2000). Per altra banda, els protists, com ara *Halocafeteria seosinensis* (Harding et al., 2017) o *Pharyngomonas kirbyi* (Harding et al., 2016a), estan també presents en la majoria d'ambients hipersalins. Solen trobar-se en una salinitat òptima d'entre 100 PSU i 150 PSU i es troben ciliats o flagel·lats (Martínez et al., 2022).

5. Dinàmiques de les comunitats microbianes en ambients endorreics hipersalins

Per tal d'identificar els canvis i dinàmiques de les comunitats microbianes dels tres dominis de la vida (*Archaea*, *Bacteria* i *Eukarya*) respecte a les variacions estacionals que pateixen els ambients endorreics hipersalins, és necessari realitzar estudis d'ecologia microbiana molecular en diferents punts endorreics hipersalins per tal de determinar la tendència que tenen les

diferents comunitats microbianes. Aquests estudis estan basats en l'anàlisi de la SSU rRNA (*small subunit ribosomal ribonucleic acid*). Aquest estudi es fonamenta en la seqüenciació massiva i identificació taxonòmica dels gens de 16S rRNA en arqueus i bacteris i 18S rRNA en eucariotes.

Els gens de SSU rRNA són gens que codifiquen per la subunitat petita dels ribosomes presents en arqueus, bacteris i eucariotes. Aquests gens, 16S rRNA en bacteris i arqueus i 18S rRNA en eucariotes, comprenen una regió del genoma característica i amb límits molt ben conservats, permetent ser usada com a marcador filogenètic de diferents taxons en estudis d'ecologia microbiana. En aquests estudis, el mètode que s'utilitza és el de seqüenciació massiva d'aquests gens. Primerament, s'extreu el DNA de les mostres a analitzar, posteriorment es purifica i s'amplifica el 16S o 18S rRNA per PCR (*polymerase chain reaction*). Posteriorment, s'usen programes bioinformàtics com QIIME, Mothur, Usearch i similars per tal d'aconseguir un estudi de la composició filogenètica de cada mostra ambiental. Amb aquesta tècnica s'han realitzat molts estudis amb la finalitat de determinar les composicions microbianes de diferents ambients endorreics hipersalins, tant d'arqueus, bacteris i eucariotes. Un dels objectius també és el de determinar quines fluctuacions pateixen aquestes comunitats a través del temps a curt-mitjà termini. Per això s'agafen mostres en diferents dates de l'any per tal de veure la composició d'aquestes comunitats i com fluctuen respecte a les condicions ambientals estacionals. En aquest cas es prenen com a referència diferents estudis duts a terme en diferents punts del planeta per tal de veure com afecten aquests canvis estacionals a la biodiversitat microbiana dels ambients endorreics hipersalins.

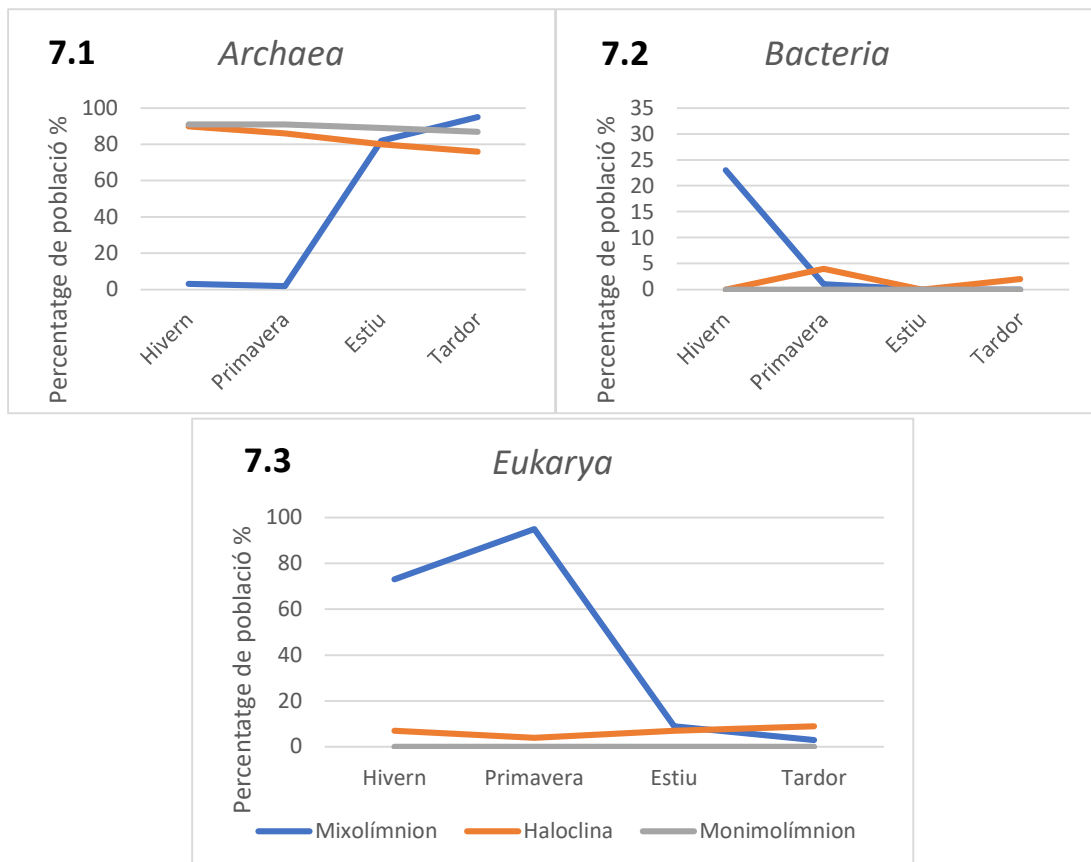


Figura 7. Gràfics del percentatge de les comunitats de cada domini taxonòmic respecte les dinàmiques estacionals del llac Ounei. De cada mostra estacional (Hivern, Primavera, Estiu i Tardor) es mostregen 3 variables en relació amb l'estrat del llac (Mixolímnion 0.5 m, Haloclina 3.5 m i Monimolímnion 11 m)

5.1. Dinàmiques estacionals

El domini *Archaea*, en l'època hivernal, presenta una proporció baixa de comunitats en el mixolímni ($\approx 3\%$), mentre que en l'haloclina i en el monimolímni domina l'ecosistema ($\approx 90\%$ i 91% , respectivament). Per altra banda, el domini *Bacteria* té una presència considerable en la zona del mixolímni ($\approx 23\%$), mentre que en haloclina i monimolímni no es van detectar OTUs (*operational taxonomic unit*) bacterians. Finalment, en l'època hivernal, la presència de microorganismes del domini *Eukarya* es veu majoritàriament en el mixolímni, el qual dominen ($\approx 73\%$). Per altra banda, en les capes de l'haloclina es troben presents de manera puntual ($\approx 7\%$) i en el monimolímni no s'hi troben presents.

En primavera, el domini *Archaea* continua no tenint una presència considerable en el mixolímni ($\approx 2\%$), i, tanmateix, continua dominant les capes de l'haloclina i el monimolímni ($\approx 86\%$ i 91% , respectivament). El domini *Bacteria*, per la seva banda, presenten una presència molt moderada en mixolímni ($\approx 1\%$) i en l'haloclina ($\approx 4\%$), mentre que segueixen sense trobar-se present en el monimolímni. El domini *Eukarya* és la població microbiana majoritària en el mixolímni ($\approx 95\%$), mentre manté una població minoritària en l'haloclina ($\approx 7\%$). En la capa monimolímni segueix sense representació.

En l'estiu, l'època càlida i seca de l'any, el domini *Archaea* és la població majoritària en les 3 capes, en el mixolímni ($\approx 82\%$), en l'haloclina ($\approx 80\%$) i en el monimolímni ($\approx 89\%$). En aquesta estació no es detecten OTUs corresponents al domini *Bacteria* en cap capa. El domini *Eukarya* presenta poblacions puntuals en les capes de mixolímni ($\approx 9\%$) i haloclina ($\approx 7\%$), mentre que no es troba la seva presència en el monimolímni.

En la tardor, època de pluges, el domini *Archaea* és el dominant en les tres capes, en el mixolímni ($\approx 95\%$), l'haloclina ($\approx 76\%$) i el monimolímni ($\approx 87\%$). El domini *Bacteria* només té presència en l'haloclina ($\approx 2\%$). Finalment, el domini *Eukarya*, es troba present de manera minoritària en el mixolímni ($\approx 3\%$) i en l'haloclina ($\approx 9\%$), mentre que en el monimolímni no s'hi troba cap OTU eucariota.

Tot i ser un cas específic, les dinàmiques descrites en aquest apartat són un exemple que es pot extrapol·lar a les variacions que pateixen les comunitats microbianes en els ambients endorreics hipersalins en referència a les estacions de fred i pluja o calor i sequera.

Segons les dades extretes de (Baricz et al., 2014; Boujelben et al., 2012; Gerasimova et al., 2023; Ghorri et al., 2021; Heidelberg et al., 2013), els canvis estacionals provoquen variacions en les composicions microbianes de les diferents capes estratificades dels ambients endorreics hipersalins. Tal com es pot visualitzar en les figures 7.1, 7.2 i 7.3, les comunitats microbianes dels diferents dominis de la vida varien depenent de la capa on s'agafi la mostra. En l'haloclina i en el monimolímni, el domini *Archaea* és el principal grup de microorganismes, rondant entre el 80% i 90% de mitjana al llarg de l'any, mentre que en el mixolímni canvia.

En l'estació més freda (hivern), el mixolímni es veu dominat pels microorganismes eucariotes amb un 73% de la població total. Un nivell per sota es troben les comunitats bacterianes, les quals comprenen el 23% i finalment el domini *Archaea* forma el 4% restant.

En l'estació de pluges de primavera hi ha un canvi de composició ja que les comunitats eucariotes dominen l'estació amb una presència del 95%. Per altra banda, les comunitats

bacterianes disminueixen molt, fins a gairebé no tenir representació amb un 1%. Els arqueus, en canvi, es mantenen a un baix percentatge de 4%.

En el moment que arriba l'estiu, l'època seca i més calorosa, el canvi de composició microbiana és notable. El domini *Archaea* prolifera i es posiciona com el domini més abundant de l'estrat amb una presència del 84% possiblement degut a l'augment de salinitat per les baixes precipitacions i l'evaporació. L'altre canvi substancial el pateix el domini *Eukarya*, el qual només es troba en un percentatge del 10%. El domini *Bacteria* es manté rondant l'1%.

Finalment, en l'estació de la tardor s'accentuen més les diferències prèviament vistes en l'estació d'estiu. El domini *Archaea* domina les altres comunitats, posicionant-se en un 95% de poblacions d'arqueus presents. Els altres dominis es mantenen, com en el cas dels bacteris, o disminueixen, com en el cas dels eucariotes.

Aquest anàlisi dona una visió clara de com funcionen les dinàmiques estacionals de les comunitats microbianes dels ambients endorreics hipersalins. En aquest cas es visualitza com les capes més profundes, i per tant més difícils que es mesclin, mantenen les seves composicions microbianes per la seva dificultat en patir variacions fisicoquímiques. En canvi, les capes superiors, el mixolímion, és afectada per les variacions estacionals, ja que pateix l'efecte de l'augment de temperatures a l'estiu, amb la conseqüència d'un augment de la salinitat. També presenta una irradiació solar major, fent que microorganismes fotosintètics dominin aquesta capa gran part de l'any. Igualment pateix una barreja mecànica afavorida per estar en contacte amb corrents d'aire, provocant una solubilitat de gasos major i una concentració d'oxigen en augment. Aquestes variacions de temperatura, solubilitat de gasos i en la salinitat provoquen els canvis en les comunitats microbianes tan dràstics ja que certes comunitats no són capaces d'adaptar-se a les noves condicions ambientals, donant pas a altres dominis millor adaptats.

6. Adaptacions estructurals i funcionals en els ambients endorreics hipersalins

Tal com s'ha comentat anteriorment, les condicions extremes dels ambients hipersalins endorreics han forçat per pressió evolutiva que les comunitats microbianes dels tres dominis hagin de desenvolupar certes adaptacions envers aquestes condicions extremes. En aquest apartat s'aprofundeix sobre les diferents estratègies, modificacions i estructures adaptades a resistir aquests alts nivells de sals i diferents dinàmiques dels ambients endorreics hipersalins, tant a nivell estructural cel·lular com a nivell funcional. S'han seleccionat 3 organismes models seguint un criteri de major presència en aquests ambients i també un criteri de major quantitat d'informació publicada fins al present. Tot i això, s'ha exposat algun tipus d'adaptació particular d'altres organismes. Els 3 microorganismes seleccionats són *Haloquadratum walsbyi* pel domini *Archaea*, *Salinibacter ruber* pel domini *Bacteria* i *Dunaliella salina* pel domini *Eukarya* (Borovkov et al., 2020; Oren, 2013a, 2020).

6.1. Modificacions Estructurals

Les modificacions estructurals s'entenen com totes aquelles modificacions de l'estructura, tant interna com externa de la cèl·lula, respecte a altres microorganismes del mateix domini, que estan especialitzades amb una funció específica i amb el propòsit de generar una resistència al

gran estrès salí en el qual es troben els microorganismes en els ambients endorreics hipersalins. També es comentaran les modificacions que deriven de les dinàmiques d'aquests ambients.

6.1.1. Domini Archaea (*Haloquadratum walsbyi*):

Haloquadratum walsbyi es troba molt present en la majoria dels llacs talàssics (llacs hipersalins endorreics basats en NaCl) arreu del món, en un 80% d'abundància essent l'espècie més dominant. El seu creixement òptim es troba entre 230 PSU i 300 PSU alhora que necessita un mínim de 140 PSU per mantenir-se viable (Dyall-Smith et al., 2011; Oren, 2020). La seva resistència i capacitat de créixer en ambients hipersalins és de les millors gràcies a la seva morfologia i certes modificacions estructurals que es detallen a continuació:

6.1.1.1. Morfologia i composició de la membrana cel·lular

L'organisme model escollit per representar el domini *Archaea*, l'*Haloquadratum walsbyi*, presenta una morfologia peculiar i única en el grup dels halobacteris. Presenta una morfologia quadrada o rectangular, amb 4 costats ben definits tal com es mostra en la Figura 8 (Walsby, 2005).

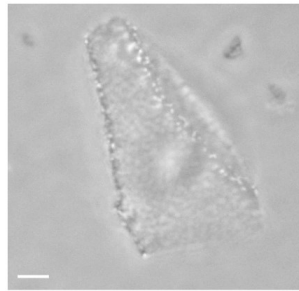


Figura 8. Imatge en microscopia de contrast de fase extret de Sublimi Saponetti et al., 2011. Franja blanca correspon a 1 μm .

Aquesta morfologia quadrada de la paret cel·lular està formada per 2 capes, una capa-S exterior formada per glicoproteïnes amb un patró de malla hexagonal i una membrana plasmàtica interior formada per lípids amb repeticions de grups isoprenoides que estan enllaçats amb glicerol. Aquesta última característica ajuda que la membrana sigui menys permeable als ions de sodi i clor (Becker et al., 2014). També es troba present una proteïna gran en la membrana cel·lular que s'anomena halomucina. Té una estructura similar a la mucina present en animals i en part evita la sortida d'aigua al medi, ja que forma una barrera aquosa al voltant de la cèl·lula (Sublimi Saponetti et al., 2011).

6.1.1.2. Regulació de la flotabilitat i regulació del volum del citosol

Haloquadratum walsbyi, entre altres espècies d'halobacteris, genera unes estructures internes en forma de vesícules plenes de gas, en aquest cas d'aire. Aquesta adaptació els permet aconseguir una major flotabilitat i poder arribar a nivells més superficials de la columna d'aigua on la concentració d'oxigen i la irradiància de llum solar són majors i, per tant, l'obtenció d'energia molt més òptima (Oren, 2012). En el cas d'*Haloquadratum walsbyi*, les vesícules de gas es disposen seguint la membrana cel·lular tal com es pot veure en la Figura 8, obtenint, gràcies a la seva morfologia plana i quadrada, una major relació superfície/volum de manera que una gran quantitat de bacteriorodopsines disposin de llum solar (Bolhuis et al., 2006).

Paral·lelament, *Haloquadratum walsbyi* presenta uns grànuls de polihidroxibutirat (PHB), el qual fan servir com a font de carboni emmagatzemat i per reduir el volum del citosol, disminuint l'estrès osmòtic (Sublimi Saponetti et al., 2011).

6.1.1.3. Obtenció d'energia en *Haloquadratum walsbyi*

En ambients endorreics hipersalins, la disponibilitat d'oxigen, de nutrients i energia és limitada, per tant, els microorganismes han de desenvolupar estructures per tal de fer front a la limitació d'energia. En conseqüència, molts halobacteris oligòtrofs han desenvolupat altres estratègies per obtenir l'energia tals com proteïnes transmembrana que els permet aconseguir energia en ambients on l'oxigen i els nutrients són limitants (Bolhuis et al., 2006).

La bacteriorodopsina és una proteïna transmembrana present en alguns arqueus halòfils tals com *Haloquadratum walsbyi*. Aquesta proteïna té la funció de bombejar protons des de l'interior de la cèl·lula a l'exterior, ja que es tracta d'una bomba de protons activada en presència de llum (Hsu et al., 2015). La proteïna està formada per 7 segments hèlix- α i un cromòfor (la vitamina trans-retinal), formant una malla lila de forma hexagonal. Quan absorbeix la llum, la trans-retinal pateix una isomerització, passant a ser 13-cis retinal, fent que aquesta proteïna pateixi un seguit de protonacions i desprotonacions que donen a lloc a un canvi conformacional final on es bombeja des del citoplasma cap a l'exterior els protons que es trobin en el medi intracel·lular (Ernst et al., 2014; Kataoka et al., 1994; Kataoka & Kamikubo, 2019). Aquest bombeig permet obtenir energia gràcies al gradient de protons generat a l'exterior de la cèl·lula en relació al citoplasma, el qual aprofiten les ATP sintetases per a generar molècules d'ATP amb el flux de protons cap a l'interior de la cèl·lula (Hsu et al., 2015).

6.1.1.4. Recaptació iònica i promoció de la síntesi d'ATP

L'halorodopsina es tracta d'una proteïna transmembrana en *Haloquadratum walsbyi*, molt semblant a la bacteriorodopsina, però que contràriament a aquesta bombeja ions de clor (Cl^-) a l'interior de la cèl·lula i no fora. També es tracta d'una proteïna amb 7 segments i un cromòfor que continua essent la vitamina trans-retinal, que similarment al que passa amb la bacteriorodopsina, en rebre llum solar s'isomeritza a 13-cis retina, generant en aquest cas un canvi elèctric i a nivell d'enllaç d'hidrògens amb l'ió de clor que fa que aquest sigui conduït fins al citoplasma (Ernst et al., 2014).

La finalitat de bombejar ions Cl^- a l'interior de la cèl·lula recau en mantenir un equilibri osmòtic respecte l'exterior gràcies a acumular ions a l'interior de la cèl·lula, els quals formaran clorur potàssic amb el potassi iònic intracel·lular, i també a afavorir que la bacteriorodopsina s'activi i acabi per activar la síntesi d'ATP (Bondar, 2022).

6.1.1.5. Regulació osmòtica

La base per mantenir una resistència i adaptació a la pressió osmòtica generada per l'alta salinitat dels ambients hipersalins, és el fet que els halobacteris com *Haloquadratum walsbyi* presenten una sèrie de transportadors iònics especialitzats per tal d'assegurar l'equilibri d'osmosi. Es consideren estratègies "salt-in", basats en acumular ions de clor i de potassi per formar clorur potàssic a l'interior de la cèl·lula, amb la finalitat d'evitar la deshidratació provocada per la sortida d'aigua de la cèl·lula (Becker et al., 2014; Pollock et al., 2018).

En el cas dels halobacteris, generen unes dinàmiques d'entrada i sortida d'ions de H^+ , Na^+ , Cl^- , K^+ i Ca^{2+} , entre d'altres minoritaris, per tal de mantenir una pressió osmòtica interior que no faci lliurar la cèl·lula (Bolhuis et al., 2006). Aquestes entrades i sortides d'ions són portades a terme per un seguit de proteïnes transportadores que acaben generant energia i equilibri osmòtic. Per tal d'aconseguir aquest equilibri, i a causa de les dinàmiques de salinitat que pateixen els ambients endorreics hipersalins, tal com es pot veure en l'apartat Introducció, la cèl·lula s'ha d'adaptar tant a l'augment com disminució de la pressió osmòtica del medi, per tant, té dues funcions. Una en la qual s'acumulen ions a l'interior (*osmotic upshock*) i una altra en la qual s'alliberen al medi els ions en excés de dins la cèl·lula (*osmotic downshock*) (Becker et al., 2014). La Figura 9, extreta de Becker et al., 2014, representa una visió global de com es produeix aquest equilibri osmòtic segons les condicions del medi extern.

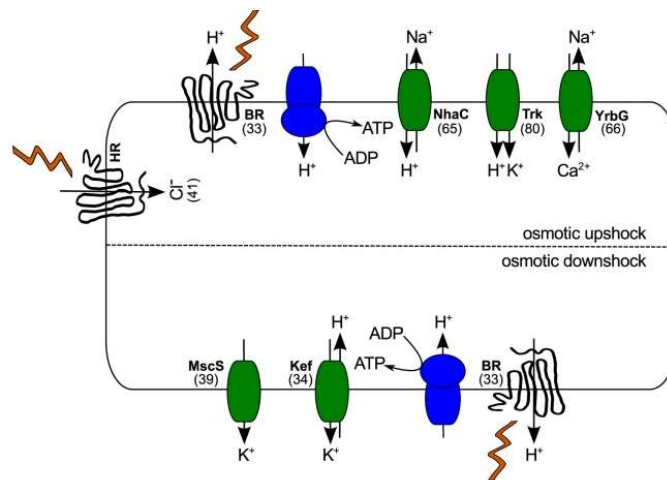


Figura 9. Esquema global dels principals transports iònics dels halobacteris extret de Becker et al., 2014. Representació de les dues situacions possibles: en "osmotic upshock" o en "osmotic downshock". Els nombres entre parèntesis representen la quantitat d'halobacteris que presenten aquestes proteïnes transmembrana d'una anàlisi de 80 halobacteris, d'entre els quals es troba *Haloquadratum walsbyi*. Les línies taronges indiquen la incidència de fotons de llum i l'activació de les bacteriorodopsines (BR) i halorodopsines (HR).

En el cas d'*Haloquadratum walsbyi*, s'ha vist que presenta diferents transportadors en la seva membrana i aquests s'han extret de l'estudi realitzat per Bolhuis et al., 2017.

-*Osmotic upshock*: En el cas de necessitar augmentar la càrrega iònica de l'interior de la cèl·lula s'activen diferents proteïnes transportadores *Trk*. Aquestes proteïnes transportadores, conjuntament amb proteïnes fotosensibles com ara la bacteriorodopsina que contribueix generant l'energia i el gradient de protons necessari per a iniciar el transport, són transportadors simport d' H^+ i K^+ que faran entrar grans quantitats d'ions potassi a dins la cèl·lula. També presenta altres proteïnes transportadores que ajuden a aconseguir l'entrada d'ions i són l'antiport *YrbG* de Ca^{2+} i Na^+ , els uniports *MgtE* de Mg^{2+} i *Phnd* de PO_4^{3-} , i finalment el simport de Na^+ i Betaïna anomenat *OpuD* (Becker et al., 2014; Bolhuis et al., 2017). La betaïna es tracta d'un solut compatible. És un compost orgànic petit que ajuda en la regulació osmòtica, tot i que en *Haloquadratum walsbyi* i altres arqueus és pràcticament negligible el seu efecte. En canvi, altres dominis com *Bacteria* i *Eukarya* utilitzen aquests composts per basar la seva regulació osmòtica (Roberts, 2005).

-*Osmotic downshock*: En el cas de necessitar disminuir la càrrega iònica de l'interior de la cèl·lula s'activen diferents proteïnes transportadores, concretament la proteïna uniport de K^+ *MscS* i la proteïna antiport de K^+ i H^+ *Kef*. Aquest transport vindrà promogut per l'energia i gradient de protons que genera les proteïnes fotosensibles com ara la bacteriorodopsina (Becker et al., 2014; Bolhuis et al., 2017).

6.1.1.6. Proteoma àcid

En el grup dels halobacteris com ara *Haloquadratum walsbyi*, una adaptació que presenten per fer front als alts nivells d'ions de sal en el citoplasma, es tracta de la presència d'un proteoma amb grans quantitats d'aminoàcids del grup àcid, concretament l'àcid aspàrtic (Asp) i l'àcid glutàmic (Glu). Aquests formen part del grup dels aminoàcids polars amb càrrega negativa i es caracteritzen per tenir un residu d'àcid carboxílic. També presenta una baixa concentració de grups bàsics com la lisina (Lys). Aquest fet permet mantenir la solubilitat de les proteïnes en un ambient intracel·lular carregat d'ions de potassi K^+ gràcies a que es forma, sobre les proteïnes, una xarxa d'ions de sals hidratades. Aquesta xarxa està unida per ponts de sal a la proteïna, regulant la seva estabilitat (Mongodin et al., 2005; Paul et al., 2008; Roberts, 2005b).

6.1.1.7. Producció de toxines

Els ambients endorreics hipersalins presenten un ecosistema on els nutrients i altres components necessaris per a la supervivència són escassos i difícils d'obtenir. Per tal de poder ser més competitius, els diferents dominis de la vida han desenvolupat mètodes de defensa que permeten competir pels nutrients disponibles.

En el cas del domini *Archaea*, els microorganismes han desenvolupat uns composts tòxics anomenats arqueocines que els permeten eliminar competència. Es tracta de pèptids/proteïnes antimicrobianes. En arqueus hi ha dos formes de toxines: les sulfolobocines, les quals són sintetitzades pel grup d'arqueus dels *Sulfolobales*, i que es troben associades a la seva membrana. L'altre grup són les halocines, sintetitzades pel grup dels *Halobacteriales*, i que són secretades a fora de la cèl·lula (Karthikeyan et al., 2013; Prangishvili et al., 2000). Aquests composts afecten principalment a espècies del mateix domini, tot i que també afecten, en menor mesura, als altres dominis.

6.1.2. Domini *Bacteria* (*Salinibacter ruber*):

Salinibacter ruber és un dels bacteris presents en els ambients endorreics hipersalins més comuns i més ben estudiats en els últims anys. Es troba present entre el 5 i el 10 % d'abundància en ambients hipersalins (Ghai et al., 2011). És un bacteri amb morfologia bacil·lar, amb motilitat, Gram-negatiu, aeròbic i heteròtrof, que necessita un mínim de 150 PSU per tal de mantenir-se viable i amb un creixement òptim en medis de cultiu entre 200 PSU i 300 PSU (Oren, 2013a; Oren et al., 2004).

6.1.2.1. Morfologia i composició de la membrana cel·lular

La seva membrana cel·lular està formada per lípids polars com ara glicolípid, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, N,N-dimetilfosfatidiletanolamina, cardiolipina, fosfatidilglicerol i sulfonolipid. Aquest últim essent un lípid poc comú entre els bacteris halòfils (Lattanzio et al., 2009). Per altra banda, la cardiolipina es troba present a entorn de 20% de la membrana, indicant que és una adaptació a elevades salinitats (Martínez et al., 2022). Aquest lípid permet mantenir la integritat

i la fluïdesa de la membrana. Tot i així, al contrari del que passa en la majoria de bacteris halòfils moderats o halotolerants, *Salinibacter ruber* no canvia la proporció de cada tipus de lípid depenent de la salinitat present del medi (Lattanzio et al., 2009; Oren, 2006). A la part externa de la membrana tenen una capa de polisacàrids conformant la paret cel·lular (Pašić et al., 2009).

6.1.2.2. Proteoma àcid

Tot i que no és habitual en bacteris, *Salinibacter ruber* presenta un proteoma àcid com els grups dels halobacteris. Aquest proteoma conté elevades quantitats d'àcid aspàrtic i àcid glutàmic. Tanmateix, també presenta una baixa concentració de grups bàsics, tal com ho presenten els arqueus i igual que en aquests, i amb la unió de les sals presents en el citoplasma, es produeix una estabilització de les proteïnes (Mongodin et al., 2005; Paul et al., 2008; Roberts, 2005b).

6.1.2.3. Obtenció d'energia en *Salinibacter ruber*

Tal com presenten molts haloarqueus, molts bacteris i en aquest cas el microorganisme model escollit, *Salinibacter ruber*, la membrana cel·lular presenta un seguit de proteïnes encarregades de bombejar ions i substrats a dins i fora de la cèl·lula, encarregats d'obtenir energia gràcies a la llum solar (Mongodin et al., 2005). En aquest cas, en comptes de presentar bacteriorodopsina, *Salinibacter* presenta un conjunt de dos composts especialitzats formats per una salinixantina i una xantorodopsina. El primer es tracta d'un carotenoide, un pigment fotosensible que fa la funció de cromòfor i d'antena captant l'energia d'un espectre lumínic més ampli i transferint-li a la segona, una proteïna retinal transmembrana (xantorodopsina) que actua com a bomba de protons cap a l'exterior de la cèl·lula (Balashov et al., 2005).

Més concretament, en primer lloc es capta energia lumínica en la salinixantina, amb un rang més ampli d'espectre lumínic, d'entre 450 nm i 650 nm (Balashov et al., 2008). Posteriorment, s'excita el retinal de la xanthorhodopsina, traspasant-se en aquest procés una quantitat d'energia aproximada del 45% que prové de la salinixantina (Balashov et al., 2005, 2008). Amb aquesta energia es comença el procés de protonació i desprotonació que capta protons a l'interior de la cèl·lula i bombejant-los a l'exterior (Oren, 2013). Aquest bombeig permet la reentrada de protons gràcies a les ATP sintetases, amb les quals es genera energia en forma d'ATP, tal com s'explica en l'apartat 6.1.1.2.

6.1.2.4. Regulació osmòtica

Salinibacter ruber presenta una osmoregulació basada en l'acumulació d'elements iònics de K⁺ i Cl⁻ a l'interior de la cèl·lula fins que s'equilibra amb la pressió osmòtica exterior. Aquesta estratègia "salt-in" és semblant a la que utilitzen els halobacteris, mentre que en el cas d'altres bacteris halòfils trobem estratègies de "low salt-in" (Gunde-Cimerman et al., 2018).

En *Salinibacter*, aquesta estratègia "salt-in" basada en l'entrada de ions al medi intracel·lular es veu fonamentada principalment en les bombes de sodi-potassi, que permeten l'entrada de ions potassi amb l'objectiu d'augmentar la quantitat de soluts intracel·lulars. També presenta una proteïna cotransportadora de sodi, potassi i clor (Mongodin et al., 2005).

En casos d'altres bacteris halòfils i halotolerants es troben estratègies diferents per tal de mantenir una bona regulació osmòtica (Gunde-Cimerman et al., 2018). Aquest és el cas de bacteris com ara *Halomonas elongata* (Benítez-Mateos & Paradisi, 2023) que presenta una estratègia de "salt-out", la qual consisteix en generar un equilibri i regulació osmòtica basant-se

en la sortida de sals i l'acumulació de soluts compatibles, tant sigui per síntesi o per entrada des del medi extern. Aquests soluts compatibles es tracta de composts orgànics de baix pes molecular, anomenats osmòlits, que s'acumulen en l'interior de la cèl·lula per tal de contrarestar la pressió osmòtica generada pels ambients hipersalins (Roberts, 2005). Són composts altament solubles i que no interactuen amb vies metabòliques. Tot i que aquesta estratègia és present en alguna espècie d'halobacteri, es tracta d'una estratègia recurrentment utilitzada pels microorganismes halòfils extrems dels dominis *Bacteria* i *Eukarya*.

Els osmòlits són composts que es poden categoritzar en 3 grans grups: Soluts zwitterionics, soluts sense càrrega i soluts aniònics. Els soluts zwitterionics són composts polars, elèctricament neutres però que contenen càrrega formal positiva i negativa. Els soluts sense càrrega són composts orgànics polars que no presenten càrrega. Es solen trobar presents en el domini *Eukarya*, mentre que en *Bacteria* i *Archaea* no es presenten com a part de regular l'osmosi. Els soluts aniònics es tracta de composts orgànics amb una columna carbonada i una càrrega neta negativa. Exemples d'aquests tres grups es troben a la Taula 1.

Taula 1. Taula amb alguns exemples extrets de Roberts, 2005 en referència als osmòlits presents en l'estratègia "salt-out".

Grup	Osmòlit
Soluts zwitteriònics	Betaïna
	Ectoïna
	Hidroxiectoïna
	Ny-acetildiaminobutirat
	Ne-acetil-β-lisina
	β-glutamina
Soluts sense càrrega	α-glucosilglicerol
	α-manosilgliceramida
	Trehalosa
	Sacarosa
	N-α-carbamoil-L-glutamina 1-amida
	N-acetilglutaminilglutamina amida
Soluts aniònics	L-α-glutamat
	β-glutamat
	Hidroxibutirat
	α-diglicerol fosfat
	di-myo-inositol-1,1-fosfat
	sulfotrehalosa

L'estratègia de síntesi d'osmòlits es basa en vies anabòliques i catabòliques guiades per enzims presents en el citoplasma del microorganisme i en el qual es sintetitzen i s'acumulen aquests composts compatibles, que acaben generant una pressió en resposta a la pressió osmòtica exercida pel medi extern. En els bacteris fotòtrofs, l'osmòlit que més s'usa és la betaïna, mentre que en els quimioheteròtrofs és l'ectoïna (Grammann et al., 2002). En el cas d'*Halomonas elongata* es presenten els 2 tipus de vies, la de síntesi i la de transport transmembrana (Grammann et al., 2002). A la Figura 10, extreta i adaptada de (Czech et al., 2018), es mostra una representació global de com funciona l'estratègia. S'hi pot veure tant la part de síntesi d'osmòlits a l'interior de la cèl·lula com el transport d'aquests des del medi extracel·lular, conjuntament amb la sortida d'ions de Na⁺ o altres que no estan especificats.

El mecanisme de síntesi d'osmòlits és molt divers i cada osmòlit té la seva via metabòlica. En aquest cas es mencionarà la síntesi de l'ectoïna i l'hidroxiectoïna, dos osmòlits que juguen un paper clau en l'estabilització osmòtica en el bacteri *Halomonas elongata*.

Per la síntesi d'ectoïna es parteix d'una molècula d'aspartat (L-aspartic- β -semialdehid), la qual pateix una transaminació per part de l'enzim L-2,4-diaminobutíric transaminasa, donant a lloc a l'àcid L-2,4-diaminobutíric. Posteriorment, l'enzim L-2,4-diaminobutíric N^v-acetiltransferasa introdueix un grup acetil en el grup amina integrat anteriorment, donant a lloc a àcid N^v-acetil-L-2,4-diaminobutíric. Finalment, aquest intermediari permet, gràcies a l'ectoïna sintetasa, formar el solut compatible L-ectoïna (Grammann et al., 2002).

Per altra banda, l'hidroxiectoïna prové de la mateixa L-Ectoïna, la qual pateix una hidroxilació específica gràcies a l'actuació de l'ectoïna hidroxilasa (Bursy et al., 2007; Liu et al., 2021).

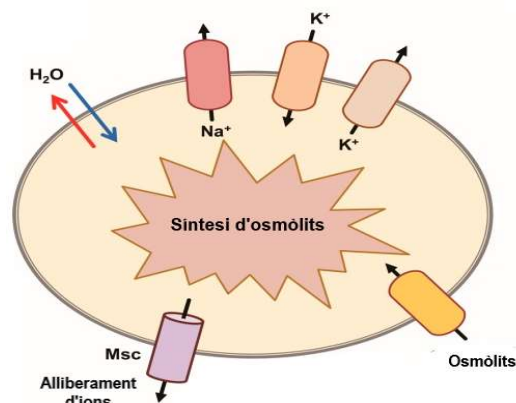


Figura 10. Representació simplificada de l'estratègia "salt-out" que duen a terme diferents microorganismes. Combinació de les dues vies, la de síntesi a l'interior de la cèl·lula i la de transport transmembrana d'osmòlits. Figura extreta i adaptada a partir de Czech et al., 2018.

6.1.3. Domini Eukarya (*Dunaliella salina*):

Dunaliella salina és una alga verda unicel·lular halofílica que es troba present en molts dels ambients endorreics hipersalins d'arreu del món. És el microorganisme del domini *Eukarya* més abundant en els ambients hipersalins. Té una viabilitat en un rang ampli de salinitat, de 9 PSU a 250 PSU (Oren, 2020), però recentment s'ha descrit que el seu rang òptim de creixement és d'entre 90 i 150 PSU (Padisák & Naselli-Flores, 2021).

6.1.3.1. Morfologia i composició de la membrana cel·lular

A diferència de les plantes, *Dunaliella salina* no presenta una paret cel·lular i no presenta cel·lulosa, sinó que presenta una matriu elàstica externa a la membrana cel·lular anomenada matriu extracel·lular o matriu pericel·lular. Aquesta matriu està formada per una capa que envolta la membrana plasmàtica i que està formada per glicoproteïnes amb una gran presència de residus d'àcid neuramínic (Polle, Roth, et al., 2020). Aquesta permet una ràpida adaptació a canvis en la pressió que exerceix la salinitat del medi extern, fent que pugui expandir-se o comprimir-se la membrana cel·lular (Ben-Amotz, 2019; Polle, Calhoun, et al., 2020).

La membrana cel·lular presenta una família de glicolípid característics, els quals són glicolípid units a aminoàcids serina i treonina i que es troben units a proteïnes de la membrana plasmàtica entre la mateixa membrana i la matriu extracel·lular. Es tracta de glicosilfosfatidilinositols i 2-alfa-manosiltransferasa, que permeten aquesta resistència a altes salinitats (Yeats et al., 2018).

6.1.3.2. Captació d'oligoelements mitjançant agents quelants

Els ambients hipersalins, i més encara aquells formats en la gran majoria per sals de tipus NaCl, presenten unes condicions de solubilitat que impedeixen la correcta absorció de certs compostos com el CO₂ o oligoelements com ara el Fe, present en la seva forma col·loidal, per part de *Dunaliella salina*. *Dunaliella* ha desenvolupat un mecanisme pel qual pot integrar el ferro present en el medi a través d'unes proteïnes transferrines que es troben en la membrana plasmàtica (Chen & Jiang, 2009; Polle, Calhoun, et al., 2020). Les transferrines capten i transporten el ferro dins vacúols àcids fins l'interior de la cèl·lula. Es transporten fins als cloroplasts on s'indueix la proteïna PS-I clorofil·la a/b-lligada fent augmentar la mida de les unitats PS-I (Katz et al., 2019). El Fe és un element clau en el procés fotosintètic dut a terme per les plantes com *Dunaliella salina*, essent un element que juga un paper important com a cofactor de proteïnes en el transport d'electrons dins els cloroplasts (Kroh & Pilon, 2020).

6.1.3.3. Captació de diòxid de carboni

En els ambients endorreic hipersalins, la solubilitat dels gasos disminueix amb l'augment de la salinitat, per tant, aconseguir CO₂ per tal de dur a terme la fotosíntesi és un factor limitant (Sass & Ben-Yaakov, 1977). Per tal d'evitar aquest problema, *Dunaliella salina* presenta un metal·loenzim de zinc anomenat anhidrasa carbònica (Supuran, 2008). Aquest metal·loenzim presenta l'ió Zn²⁺ en el seu centre actiu i catalitza la hidratació del CO₂ a HCO₃⁻ (bicarbonat), generant un protó lliure. Aquesta reacció pot ser reversible i és molt important per regular la disponibilitat de CO₂ i per tant la seva fixació (Kroth, 2015).

6.1.3.4. Producció de soluts compatibles per la regulació osmòtica

En els microorganismes del domini *Eukarya* que presenten adaptacions a ambients hipersalins es dona una regulació de la pressió osmòtica amb una estratègia "salt-out". Aquests microorganismes com *Dunaliella salina* acumulen grans quantitats d'osmòlits en el seu interior, tant d'entrada des de el medi extracel·lular com de síntesi *de novo*. En el cas de *Dunaliella salina* es produeix una acumulació de glicerol, un compost orgànic precursor dels triglicèrids (Harding et al., 2016b).

Per tal de sintetitzar el glicerol, *Dunaliella salina* presenta dues vies, una essent la síntesi a partir de la glucòlisi d'una molècula de glucosa formada en el procés de fotosíntesi i l'altre per la degradació del midó. Un cop obtingut la glucosa aquesta pateix una glucòlisi, en la qual la molècula de glucosa passa a fructosa-1,6-difosfat, la qual dona a lloc a la dihidroxiacetona fosfat. Aquesta, gràcies a la glicerol-3-fosfat deshidrogenasa, passa a ser glicerol-3-fosfat. Finalment, el glicerol-3-fosfat passa a glicerol per l'acció de la glicerol-3-fosfat fosfatasa (Chen et al., 2012; He et al., 2007). Alhora de degradar el glicerol en excés, aquest s'oxida fins a dihidroxiacetona gràcies a la glicerol deshidrogenasa. Finalment, aquesta dihidroxiacetona passa a dihidroxiacetona fosfat amb l'acció de la dihidroxiacetona quinasa (Chen et al., 2012).

6.1.3.5. Melanització de la paret cel·lular

En casos concrets de fongs que es troben presents en ambients hipersalins, com ara *Hortaea werneckii* (Kogej et al., 2007), es troba una adaptació particular. La seva paret cel·lular presenta una melanització en la part exterior de la paret i un gruix major al dels altres fongs no adaptats

a ambients hipersalins. Això permet reforçar la paret, reduint la permeabilitat de compostos com el glicerol, el seu osmòlit principal (Gunde-Cimerman et al., 2000, 2018).

7. Aplicacions en el camp de la Biotecnologia

7.1. Ús de les biomolècules produïdes

7.1.1. Soluts compatibles:

L'ectoïna és un compost orgànic que es troba present com a part fonamental de la regulació osmòtica de molts bacteris halòfils i halotolerants, sobretot en els heterotròfics aerobis. Es produeix a partir de L-aspartic- β -semialdehid, el qual es tracta d'un intermediari del metabolisme dels aminoàcids.

L'ectoïna és un compost que a nivell biotecnològic és molt interessant, ja que presenta uns beneficis que s'anomenaran a continuació: Són agents protectors de DNA, enzims i cèl·lules, protegint-los en contra de salinitats elevades, de la deshidratació, temperatures molt baixes i altes (Shivanand & Mugeraya, 2011). També són agents utilitzats com a estabilitzants dels components dels aliments (Detkova & Boltyanskaya, 2007). Un dels potencials usos de l'ectoïna és el seu poder inhibidor en l'agregació de la β -amiloide en la malaltia congènita de l'Alzheimer (Kanapathipillai et al., 2005; Oren, 2010).

La betaïna es tracta d'un derivat aminoàcid. Igual que l'ectoïna, aquesta és sintetitzada en gran mesura per molts bacteris halòfils i halotolerants que usen l'estratègia de "salt-out". Es produeix a partir de la deshidrogenació de la colina (Treberg & Driedzic, 2007).

La betaïna té el seu ús en la biomedicina com a agent preventiu en diferents malalties com la malaltia de fetge gras associat al metabolisme, l'esteatosi macrovesicular en hepatòcits o el càncer, ja que conté propietats beneficioses per prevenir aquestes malalties com per exemple l'efecte protector osmòtic o en tractar-se d'un donador de grups metil. Amb això acaba regulant el metabolisme de les metionines, pas clau en aquestes malalties (Arumugam et al., 2021).

7.1.2. Carotenoides:

Els carotenoides són pigments hidrofòbics formats per una doble cadena de poliè amb residus d'isoprè. Permeten un rang d'absorció de la llum de 300 a 600 nm (Johnson & Schroeder, 1996).

Dins les múltiples utilitats que presenten els carotenoides es destaquen el seu ús en la indústria alimentària com a colorants alimentaris (Martínez et al., 2022) i la seva utilitat com a agents per prevenir malalties cardiovasculars, com a precursors de la vitamina A, com a antioxidants o com a antitumorals (Naziri et al., 2014).

7.1.3. Bacteriorodopsina:

La bacteriorodopsina es tracta d'una proteïna transmembrana que presenta una pigmentació porpra. Aquesta pot absorbir llum dins un rang de 500 a 650 nm (Martínez et al., 2022). Les seves característiques d'adaptació a condicions extremes d'hipersalinitat, però també la seva activitat en condicions de baixes salinitats fa que sigui una proteïna d'interès biotecnològic (Hsu et al., 2015; Li et al., 2018).

Una de les utilitats principals és l'ús d'aquesta proteïna en pròtesis de retina gràcies a les seves propietats fotoelèctriques i fotoquímiques (Frydrych et al., 2000). Amb aquestes dues propietats apareixen diferents utilitats com ara l'ús d'aquesta proteïna com a memòria òptica, ja que varia en els seus dos estats com ho fa el codi binari, fent que pugui emmagatzemar informació òptica

(Li et al., 2018). L'altre ús que se li dona és en cèl·lules fotovoltaïques, en biosensors de moviment o en sensors de rajos x (Martínez et al., 2022).

7.1.4. Polihidroxibutirat (PHB):

Es tracten de biopolímers de polièsters sintetitzats en una gran varietat de microorganismes on destaquen *Haloferax mediterranei* (Ghosh et al., 2022) i *Halomonas boliviensis* (Quillaguamán et al., 2008).

El seu ús principal és el de formar bioplàstics, els quals tenen propietats que els fan biodegradables i una alternativa ecològica als tradicionals plàstics. En comparació amb els plàstics produïts en petroquímiques, els bioplàstics generen una contaminació del medi molt inferior, tant en la producció com en el producte final (Wang & Zhang, 2021).

7.1.5. Halocina:

L'halocina es tracta d'una toxina produïda per halobacteris i que pot trobar en forma de pèptid de mida petita o en forma de proteïna. Aquesta afecta el creixement d'arqueus i de bacteris i els acaba provocant la mort. Això dona peu al seu ús com a antibiòtic, un dels camps on hi estan havent més problemes degut a la resistència a antibiòtics que estan desenvolupant moltes soques bacterianes (Ghoul & Mitri, 2016; Kumar et al., 2021). A la Taula 2 es mostren exemples d'espècies de microorganismes que poden ser productors model per cada biomolècula presentada.

Taula 2. Taula amb els microorganismes que millor s'adapten a la producció de les diferents biomolècules comentades en l'apartat 7.1.

Biomolècula	Espècie productora	Domini	Referència
Ectoïna	<i>Halomonas salina</i>	<i>Bacteria</i>	(Liu et al., 2021)
Betaïna	<i>Halomonas elongata</i>	<i>Bacteria</i>	(Shivanand & Mugeraya, 2011b)
Carotenoides	<i>Dunaliella salina</i>	<i>Eukarya</i>	(Xu & Harvey, 2019)
Bacteriorodopsina	<i>Halobacterium salinarum</i>	<i>Archaea</i>	(Kalenov et al., 2016)
Polihidroxibutirat	<i>Halomonas halmphila</i>	<i>Bacteria</i>	(Aytar Celik et al., 2023)
Halocines	<i>Haloferax mediterranei</i>	<i>Archaea</i>	(Kumar et al., 2021)

Depenent de la seva eficiència a l'hora de produir les biomolècules presents en la Taula 2, els tres dominis es poden classificar de major a menor rendiment. El domini Bacteria és el que presenta un millor rendiment a l'hora de produir grans quantitats de les biomolècules. Aquest domini, en ser un dels que més utilitza l'estratègia de "salt-out" i en tenir una bona adaptació als medis hipersalins, pot sintetitzar grans quantitats d'aquestes biomolècules si es donen les condicions adequades. Seguidament el domini dels arqueus presenta un rendiment més baix, que no presenten tan sovint l'estratègia de "salt-out", però sí que són els més adaptats a medis hipersalins, per tant poden dur a terme una gran producció de soluts en medis amb salinitats molt elevades. Finalment, el domini dels eucariotes, on *Dunaliella salina*, tot i ser un gran

productor de carotenoides, no pot competir amb les adaptacions que presenten els altres dos dominis, essent menys efectius que els bacteris i arqueus en la producció de composts d'interès.

És important potenciar l'estudi de les comunitats microbianes adaptades a ambients hipersalins, ja que són microorganismes amb capacitats que es poden explotar en l'àmbit industrial i mèdic. En concret, la síntesi d'osmòlits genera un ventall de possibilitats molt considerable avui en dia. En el camp de la biotecnologia, i en altres camps tan rellevants com farmàcia o biomedicina, es poden trobar elements interessants com les bacteriorodopsines o les halocines, proteïnes que, dins els camps mencionats poden comportar un avenç important (Kataoka & Kamikubo, 2019; Kumar et al., 2021).

8. CONCLUSIONS

Closing this review, it can be concluded that:

1. Hypersaline endorheic environments, despite having adverse characteristics and dynamics for life, harbour microbial communities which manage to thrive and adapt, displaying a rich ecosystem with diverse communities.
2. The adaptations exhibited by different microbial community's stem from a common foundation but specialize in unique ways, providing advantages over other domains.
3. The specialized adaptations confer resistance to the microbial communities against the changing environmental conditions present in the hypersaline endorheic environments. Different adaptations lead to dominances among domains depending on the spatio-temporal dynamics.
4. The key to resistance to high salinity lies in balancing the internal solute levels with the external environment in a dynamic manner. The "salt-in" strategy enables greater salinity resistance, while the "salt-out" strategy allows for constant instant adaptations to changes in the environment.
5. Adaptations to high salt concentrations offer possibilities for utilization in the field of biotechnology, particularly in the use of osmolytes. Certain types of osmolytes can make significant contributions in fields such as biomedicine.

9. REFLEXIÓ D'ÈTICA, SOSTENIBILITAT I DE PERSPECTIVA DE GÈNERE:

Com s'ha exposat en el present treball, els ambients endorreics hipersalins constitueixen un ecosistema que manté un equilibri entre unes condicions adverses per la vida i la mateixa vida fent-se camí per tal de mantenir-se. Aquest equilibri fa que sigui un ecosistema molt interessant d'estudiar, però també el fa un ecosistema fràgil. I en aquest cas el canvi climàtic és un fenomen que agreuja l'estat dels ambients endorreics hipersalins amb l'ésser humà com a agent causant d'aquesta crisi climàtica.

Com a civilització, els humans s'han basat en el consumisme, en la grandiloqüència, en el que es pot fer de tot. Però ara es veuen les conseqüències. En els últims 30 anys, el canvi climàtic ha provocat que el nivell del mar pugi 11 cm a causa del desglaç del gel. I no només això. Les conques endorreiques cada vegada els hi costa més recaptar aigua. Les sequeres són més persistents i això, i en el context dels ecosistemes dels ambients endorreics hipersalins, provoca canvis que poden arribar a ser irreversibles.

Alguns llacs com el mar d'Aral han patit canvis que ja no es podran recuperar. De passar a ser un llac amb un terç de la salinitat de l'aigua de mar, ha passat a ser un cos d'aigua puntual amb una salinitat 4 vegades major a l'aigua marina, provocant una extinció de la fauna i flora subaquàtica sense precedents. Aquests detalls haurien de fer obrir els ulls a cada persona, perquè, siguin els llacs hipersalins o no, la humanitat no pot permetre continuar destruint ecosistemes.

En el cas d'aquest treball, s'han utilitzat dispositius electrònics en la recerca d'informació, amb l'objectiu d'estalviar un cost en paper i tòner a l'hora d'imprimir aquests articles, pensant en realitzar una recerca amb el mínim cost mediambiental.

Per altra banda, s'ha de fer una reflexió de perspectiva de gènere amb l'objectiu de visualitzar com evoluciona la problemàtica de les desigualtats entre gèneres que afecta la societat actual i en la qual s'ha de seguir treballant per revertir. Les dones, en molts àmbits laborals, es troben en moltes ocasions en posicions laborals inferiors a la dels homes. Aquesta situació, per desgràcia, continua passant en el món científic. En aquest cas s'ha identificat el gènere del primer autor o autora de cada un dels articles revisats en aquest treball bibliogràfic, amb l'objectiu de visualitzar l'evolució del gènere en aquesta temàtica de recerca.

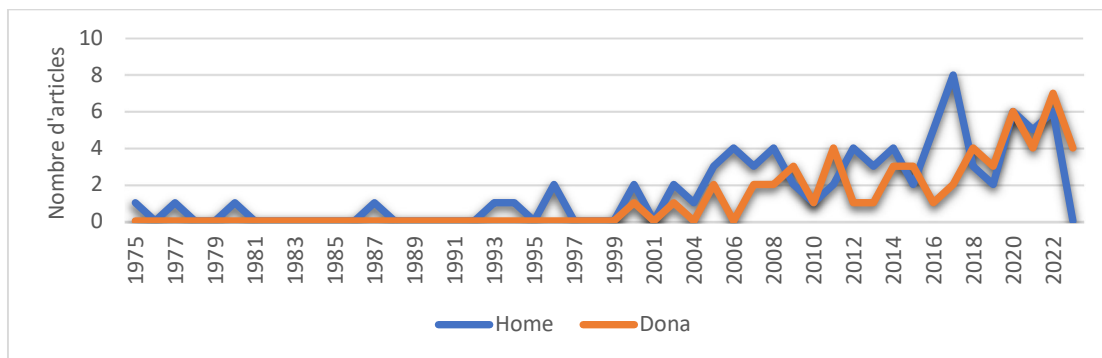


Figura 11. Evolució a través dels últims 50 anys del nombre de primers autors homes i dones presents en els 135 articles revisats.

En la Figura 11 es veu l'evolució en els últims 50 anys dels articles científics firmats com a primer autor o autora. Es pot veure com fins l'any 2000 no apareix un article científic amb una dona com a primera autora, en aquest cas Gunde-Cimerman et al., 2000. A partir d'aquí en la majoria d'anys s'hi troba presència femenina però amb una superioritat en nombre d'investigacions signades per homes com a primer autor. El cas més flagrant es veu en el 2016 i 2017, on la gran majoria estaven signats per homes. Tot i això es veu una evolució molt considerable respecte a aquesta problemàtica. En els anys 2009, 2011, 2015, 2018, 2019, 2022 i 2023 les dones presenten una majoria en el lideratge de projectes d'investigació segons els articles estudiats. Amb aquestes dades es visualitza com aquesta problemàtica va revertint, dirigint-nos cap a una societat on homes i dones no tinguin una esclota laboral en l'àmbit científic. Tot i això encara hi ha molt a fer per arribar a aquesta situació ideal.

10. BIBLIOGRAFIA

Andrei, A.-Ş., Banciu, H. L., & Oren, A. (2012). Living with salt: metabolic and phylogenetic diversity of archaea inhabiting saline ecosystems. *FEMS Microbiology Letters*, 330(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02526.x>

Antón, J. (2011). Halotolerance. In *Encyclopedia of Astrobiology* (pp. 727–727). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-11274-4_695

- Antón, J., Peña, A., Santos, F., Martínez-García, M., Schmitt-Kopplin, P., & Rosselló-Mora, R. (2008). Distribution, abundance and diversity of the extremely halophilic bacterium *Salinibacter ruber*. *Saline Systems*, 4(1), 15. <https://doi.org/10.1186/1746-1448-4-15>
- Arumugam, M. K., Paal, M. C., Donohue, T. M., Ganesan, M., Osna, N. A., & Kharbanda, K. K. (2021). Beneficial Effects of Betaine: A Comprehensive Review. *Biology*, 10(6), 456. <https://doi.org/10.3390/biology10060456>
- Atanasova, N. S., Oksanen, H. M., & Bamford, D. H. (2015). Haloviruses of archaea, bacteria, and eukaryotes. *Current Opinion in Microbiology*, 25, 40–48. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2015.04.001>
- Aytar Celik, P., Barut, D., Enuh, B. M., Erdogan Gover, K., Nural Yaman, B., Burcin Mutlu, M., & Cabuk, A. (2023). A novel higher polyhydroxybutyrate producer *Halomonas halmophila* 18H with unique cell factory attributes. *Bioresource Technology*, 372, 128669. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128669>
- Baker, B. J., De Anda, V., Seitz, K. W., Dombrowski, N., Santoro, A. E., & Lloyd, K. G. (2020). Diversity, ecology and evolution of Archaea. *Nature Microbiology*, 5(7), 887–900. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0715-z>
- Balashov, S. P., Imasheva, E. S., Boichenko, V. A., Antón, J., Wang, J. M., & Lanyi, J. K. (2005). Xanthorhodopsin: A Proton Pump with a Light-Harvesting Carotenoid Antenna. *Science*, 309(5743), 2061–2064. <https://doi.org/10.1126/science.1118046>
- Balashov, S. P., Imasheva, E. S., Wang, J. M., & Lanyi, J. K. (2008). Excitation Energy-Transfer and the Relative Orientation of Retinal and Carotenoid in Xanthorhodopsin. *Biophysical Journal*, 95(5), 2402–2414. <https://doi.org/10.1529/biophysj.108.132175>
- Baricz, A., Chiriac, C. M., Andrei, A., Bulzu, P., Levei, E. A., Cadar, O., Battes, K. P., Cîmpean, M., Şenilă, M., Cristea, A., Muntean, V., Alexe, M., Coman, C., Szekeres, E. K., Sicora, C. I., Ionescu, A., Blain, D., O'Neill, W. K., Edwards, J., ... Banciu, H. L. (2021). Spatio-temporal insights into microbiology of the freshwater-to-hypersaline, oxic-hypoxic-euxinic waters of Ursu Lake. *Environmental Microbiology*, 23(7), 3523–3540. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14909>
- Baricz, A., Coman, C., Andrei, A. Ş., Muntean, V., Keresztes, Z. G., Păuşan, M., Alexe, M., & Banciu, H. L. (2014). Spatial and temporal distribution of archaeal diversity in meromictic, hypersaline Ocnei Lake (Transylvanian Basin, Romania). *Extremophiles*, 18(2), 399–413. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0625-6>
- Bayati, M., & Danesh-Yazdi, M. (2021). Mapping the spatiotemporal variability of salinity in the hypersaline Lake Urmia using Sentinel-2 and Landsat-8 imagery. *Journal of Hydrology*, 595, 126032. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2021.126032>
- Bayles, M., Belasco, B. C., Breda, A. J., Cahill, C. B., Da Silva, A. Z., Regan, M. J., Schlamp, N. K., Slagle, M. P., & Baxter, B. K. (2020). The Haloarchaea of Great Salt Lake as Models for Potential Extant Life on Mars. In *Extremophiles as Astrobiological Models* (pp. 83–124). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119593096.ch4>
- Becker, E. A., Seitzer, P. M., Tritt, A., Larsen, D., Krusor, M., Yao, A. I., Wu, D., Madern, D., Eisen, J. A., Darling, A. E., & Facciotti, M. T. (2014). Phylogenetically Driven Sequencing of Extremely Halophilic Archaea Reveals Strategies for Static and Dynamic Osmo-response. *PLoS Genetics*, 10(11), e1004784. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004784>
- Belilla, J., Moreira, D., Jardillier, L., Reboul, G., Benzerara, K., López-García, J. M., Bertolino, P., López-Archilla, A. I., & López-García, P. (2019). Hyperdiverse archaea near life limits at the polyextreme geothermal Dallol area. *Nature Ecology & Evolution*, 3(11), 1552–1561. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1005-0>
- Ben-Amotz, A. (2019). *The Alga Dunaliella*. CRC Press.
- Benítez-Mateos, A. I., & Paradisi, F. (2023). *Halomonas elongata*: a microbial source of highly stable enzymes for applied biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(10), 3183–3190. <https://doi.org/10.1007/s00253-023-12510-7>

- Bolhuis, H., Martín-Cuadrado, A. B., Rosselli, R., Pašić, L., & Rodríguez-Valera, F. (2017). Transcriptome analysis of *Haloquadratum walsbyi*: vanity is but the surface. *BMC Genomics*, 18(1), 510. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3892-2>
- Bolhuis, H., Palm, P., Wende, A., Falb, M., Rampp, M., Rodríguez-Valera, F., Pfeiffer, F., & Oesterheld, D. (2006). The genome of the square archaeon *Haloquadratum walsbyi*: life at the limits of water activity. *BMC Genomics*, 7(1), 169. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-169>
- Bondar, A.-N. (2022). Mechanisms of long-distance allosteric couplings in proton-binding membrane transporters (pp. 199–239). <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2021.09.002>
- Borovkov, A. B., Gudvilovich, I. N., & Avsiyan, A. L. (2020). Scale-up of *Dunaliella salina* cultivation: from strain selection to open ponds. *Journal of Applied Phycology*, 32(3), 1545–1558. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02104-5>
- Boujelben, I., Gomariz, M., Martínez-García, M., Santos, F., Peña, A., López, C., Antón, J., & Maalej, S. (2012). Spatial and seasonal prokaryotic community dynamics in ponds of increasing salinity of Sfax solar saltern in Tunisia. *Antonie van Leeuwenhoek*, 101(4), 845–857. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9701-7>
- Brock, M. A., & Hammer, U. T. (1987). Saline Lake Ecosystems of the World. *The Journal of Ecology*, 75(2), 580. <https://doi.org/10.2307/2260441>
- Bursy, J., Pierik, A. J., Pica, N., & Bremer, E. (2007). Osmotically Induced Synthesis of the Compatible Solute Hydroxyectoine Is Mediated by an Evolutionarily Conserved Ectoine Hydroxylase. *Journal of Biological Chemistry*, 282(43), 31147–31155. <https://doi.org/10.1074/jbc.M704023200>
- Chen, H., & Jiang, J.-G. (2009). Osmotic responses of *Dunaliella* to the changes of salinity. *Journal of Cellular Physiology*, 219(2), 251–258. <https://doi.org/10.1002/jcp.21715>
- Chen, H., Lu, Y., & Jiang, J.-G. (2012). Comparative Analysis on the Key Enzymes of the Glycerol Cycle Metabolic Pathway in *Dunaliella salina* under Osmotic Stresses. *PLoS ONE*, 7(6), e37578. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037578>
- Czech, L., Hermann, L., Stöveken, N., Richter, A., Höppner, A., Smits, S., Heider, J., & Bremer, E. (2018). Role of the Extremolytes Ectoine and Hydroxyectoine as Stress Protectants and Nutrients: Genetics, Phylogenomics, Biochemistry, and Structural Analysis. *Genes*, 9(4), 177. <https://doi.org/10.3390/genes9040177>
- de la Haba, R. R., Sánchez-Porro, C., Marquez, M. C., & Ventosa, A. (2011). Taxonomy of Halophiles. In *Extremophiles Handbook* (pp. 255–308). Springer Japan. https://doi.org/10.1007/978-4-431-53898-1_13
- Deocampo, D. M., & Jones, B. F. (2014). Geochemistry of Saline Lakes. *Treatise on Geochemistry: Second Edition*, 7, 437–469. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095975-7.00515-5>
- Detkova, E. N., & Boltysanskaya, Yu. V. (2007). Osmoadaptation of haloalkaliphilic bacteria: Role of osmoregulators and their possible practical application. *Microbiology*, 76(5), 511–522. <https://doi.org/10.1134/S0026261707050013>
- Didari, M., Bagheri, M., Amoozegar, M. A., Bouzari, S., Babavalian, H., Tebyanian, H., Hassanshahian, M., & Ventosa, A. (2020). Diversity of halophilic and halotolerant bacteria in the largest seasonal hypersaline lake (Aran-Bidgol-Iran). *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 18(2), 961–971. <https://doi.org/10.1007/s40201-020-00519-3>
- Dyall-Smith, M. L., Pfeiffer, F., Klee, K., Palm, P., Gross, K., Schuster, S. C., Rampp, M., & Oesterheld, D. (2011). *Haloquadratum walsbyi*: Limited Diversity in a Global Pond. *PLoS ONE*, 6(6), e20968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020968>
- Ernst, O. P., Lodowski, D. T., Elstner, M., Hegemann, P., Brown, L. S., & Kandori, H. (2014). Microbial and Animal Rhodopsins: Structures, Functions, and Molecular Mechanisms. *Chemical Reviews*, 114(1), 126–163. <https://doi.org/10.1021/cr4003769>

- Falb, M., Müller, K., Königsmaier, L., Oberwinkler, T., Horn, P., von Gronau, S., Gonzalez, O., Pfeiffer, F., Bornberg-Bauer, E., & Oesterhelt, D. (2008). Metabolism of halophilic archaea. *Extremophiles*, 12(2), 177–196. <https://doi.org/10.1007/s00792-008-0138-x>
- Finlayson, C. M. (2018). Salt Lakes. In *The Wetland Book* (pp. 143–154). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-4001-3_255
- Frydrych, M., Silfsten, P., Parkkinen, S., Parkkinen, J., & Jaaskelainen, T. (2000). Color sensitive retina based on bacteriorhodopsin. *Biosystems*, 54(3), 131–140. [https://doi.org/10.1016/S0303-2647\(99\)00074-X](https://doi.org/10.1016/S0303-2647(99)00074-X)
- Gerasimova, E. A., Balkin, A. S., Filonchikova, E. S., Mindolina, Y. V., Zagumyonnyi, D. G., & Tikhonenkov, D. V. (2023). Taxonomic Structure of Planktonic Protist Communities in Saline and Hypersaline Continental Waters Revealed by Metabarcoding. *Water*, 15(11), 2008. <https://doi.org/10.3390/w15112008>
- Ghai, R., Pašić, L., Fernández, A. B., Martín-Cuadrado, A.-B., Mizuno, C. M., McMahon, K. D., Papke, R. T., Stepanauskas, R., Rodríguez-Brito, B., Rohwer, F., Sánchez-Porro, C., Ventosa, A., & Rodríguez-Valera, F. (2011). New Abundant Microbial Groups in Aquatic Hypersaline Environments. *Scientific Reports*, 1(1), 135. <https://doi.org/10.1038/srep00135>
- Ghori, N.-U.-H., Wise, M. J., & Whiteley, A. S. (2021). Temporal Microbial Community Dynamics Within a Unique Acid Saline Lake. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649594>
- Ghosh, S., Coons, J., Yeager, C., Halley, P., Chemodanov, A., Belgorodsky, B., Gozin, M., Chen, G.-Q., & Golberg, A. (2022). Halophyte biorefinery for polyhydroxyalkanoates production from *Ulva* sp. Hydrolysate with *Haloferax mediterranei* in pneumatically agitated bioreactors and ultrasound harvesting. *Bioresource Technology*, 344, 125964. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125964>
- Ghoul, M., & Mitri, S. (2016). The Ecology and Evolution of Microbial Competition. *Trends in Microbiology*, 24(10), 833–845. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.06.011>
- Gierlowski-Kordesch, E. H., & Renaut, R. W. (2010). *Facies Models 4* (N. P. James & R. W. Dalrymple, Eds.).
- Grammann, K., Volke, A., & Kunte, H. J. (2002). New Type of Osmoregulated Solute Transporter Identified in Halophilic Members of the Bacteria Domain: TRAP Transporter TeaABC Mediates Uptake of Ectoine and Hydroxyectoine in *Halomonas elongata* DSM 2581 T. *Journal of Bacteriology*, 184(11), 3078–3085. <https://doi.org/10.1128/JB.184.11.3078-3085.2002>
- Gunde-Cimerman, N., Plemenitaš, A., & Oren, A. (2018). Strategies of adaptation of microorganisms of the three domains of life to high salt concentrations. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(3), 353–375. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy009>
- Gunde-Cimerman, N., Zalar, P., Hoog, S., & Plemenitaš, A. (2000). Hypersaline waters in salterns --- Natural ecological niches for halophilic black yeasts. *FEMS Microbiology Ecology*, 32(3), 235–240. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2000.tb00716.x>
- Habeck-Fardy, A., & Nanson, G. C. (2014). Environmental character and history of the Lake Eyre Basin, one seventh of the Australian continent. *Earth-Science Reviews*, 132, 39–66. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2014.02.003>
- Harding, T., Brown, M. W., Simpson, A. G. B., & Roger, A. J. (2016). Osmoadaptative Strategy and Its Molecular Signature in Obligately Halophilic Heterotrophic Protists. *Genome Biology and Evolution*, 8(7), 2241–2258. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw152>
- Harding, T., Roger, A. J., & Simpson, A. G. B. (2017). Adaptations to High Salt in a Halophilic Protist: Differential Expression and Gene Acquisitions through Duplications and Gene Transfers. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00944>
- He, Q., Qiao, D., Bai, L., Zhang, Q., Yang, W., Li, Q., & Cao, Y. (2007). Cloning and characterization of a plastidic glycerol 3-phosphate dehydrogenase cDNA from *Dunaliella salina*. *Journal of Plant Physiology*, 164(2), 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.04.004>

- Heidelberg, K. B., Nelson, W. C., Holm, J. B., Eisenkolb, N., Andrade, K., & Emerson, J. B. (2013). Characterization of eukaryotic microbial diversity in hypersaline Lake Tyrrell, Australia. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00115>
- Helper, F., & Lemckert, C. (2015). The power of salinity gradients: An Australian example. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.188>
- Hsu, M.-F., Fu, H.-Y., Cai, C.-J., Yi, H.-P., Yang, C.-S., & Wang, A. H.-J. (2015). Structural and Functional Studies of a Newly Grouped Haloquadratum walsbyi Bacteriorhodopsin Reveal the Acid-resistant Light-driven Proton Pumping Activity. *Journal of Biological Chemistry*, 290(49), 29567–29577. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.685065>
- Jódar, J., Rubio, F. M., Custodio, E., Martos-Rosillo, S., Pey, J., Herrera, C., Turu, V., Pérez-Bielsa, C., Ibarra, P., & Lambán, L. J. (2020). Hydrogeochemical, isotopic and geophysical characterization of saline lake systems in semiarid regions: The Salada de Chiprana Lake, Northeastern Spain. *Science of The Total Environment*, 728, 138848. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138848>
- Johnson, E. A., & Schroeder, W. A. (1996). Microbial carotenoids. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 53, 119–178. <https://doi.org/10.1007/BFb0102327>
- Kalenov, S. V., Baurina, M. M., Skladnev, D. A., & Kuznetsov, A. Ye. (2016). High-effective cultivation of Halobacterium salinarum providing with bacteriorhodopsin production under controlled stress. *Journal of Biotechnology*, 233, 211–218. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.014>
- Kanapathipillai, M., Lentzen, G., Sierks, M., & Park, C. B. (2005). Ectoine and hydroxyectoine inhibit aggregation and neurotoxicity of Alzheimer's β -amyloid. *FEBS Letters*, 579(21), 4775–4780. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.07.057>
- Karthikeyan, P., Bhat, S. G., & Chandrasekaran, M. (2013). Halocin SH10 production by an extreme haloarchaeon Natrinema sp. BTSH10 isolated from salt pans of South India. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2), 205–212. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.02.002>
- Kataoka, M., & Kamikubo, H. (2019). Mechanism of the light-driven proton pump of bacteriorhodopsin based on the consistency principle. *Biophysics and Physicobiology*, 16(0), 274–279. https://doi.org/10.2142/biophysico.16.0_274
- Kataoka, M., Kamikubo, H., Tokunagga, F., Brown, L. S., Yamazaki, Y., Maeda, A., Sheves, M., Needleman, R., & Lanyi, J. K. (1994). Energy coupling in an ion pump. *Journal of Molecular Biology*, 243(4), 621–638. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(94\)90037-X](https://doi.org/10.1016/0022-2836(94)90037-X)
- Katz, A., Paz, Y., & Pick, U. (2019). *The Alga Dunaliella* (A. Ben-Amotz, J. E. W. Polle, & D. V. Subba Rao, Eds.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429061639>
- Kogej, T., Stein, M., Volkmann, M., Gorbushina, A. A., Galinski, E. A., & Gunde-Cimerman, N. (2007). Osmotic adaptation of the halophilic fungus Hortaea werneckii: role of osmolytes and melanization. *Microbiology*, 153(12), 4261–4273. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/010751-0>
- Kroh, G. E., & Pilon, M. (2020). Regulation of Iron Homeostasis and Use in Chloroplasts. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3395. <https://doi.org/10.3390/ijms21093395>
- Kroth, P. G. (2015). The biodiversity of carbon assimilation. *Journal of Plant Physiology*, 172, 76–81. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.07.021>
- Kumar, V., Singh, B., van Belkum, M. J., Diep, D. B., Chikindas, M. L., Ermakov, A. M., & Tiwari, S. K. (2021). Halocins, natural antimicrobials of Archaea: Exotic or special or both? *Biotechnology Advances*, 53, 107834. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107834>
- Lattanzio, V. M. T., Baronio, M., Oren, A., Russell, N. J., & Corcelli, A. (2009). Characterization of polar membrane lipids of the extremely halophilic bacterium Salinibacter ruber and possible role of cardiolipin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2008.10.003>

Lennartz (née Rybarski), A. E., Nitsche, F., Schoenle, A., Voigt, C., Staubwasser, M., & Arndt, H. (2023). High diversity and isolated distribution of aquatic heterotrophic protists in salars of the Atacama Desert at different salinities. *European Journal of Protistology*, 89, 125987. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2023.125987>

Li, Y.-T., Tian, Y., Tian, H., Tu, T., Gou, G.-Y., Wang, Q., Qiao, Y.-C., Yang, Y., & Ren, T.-L. (2018). A Review on Bacteriorhodopsin-Based Bioelectronic Devices. *Sensors*, 18(5), 1368. <https://doi.org/10.3390/s18051368>

Liu, M., Liu, H., Shi, M., Jiang, M., Li, L., & Zheng, Y. (2021). Microbial production of ectoine and hydroxyectoine as high-value chemicals. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 76. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01567-6>

Martínez, G. M., Pire, C., & Martínez-Espinosa, R. M. (2022). Hypersaline environments as natural sources of microbes with potential applications in biotechnology: The case of solar evaporation systems to produce salt in Alicante County (Spain). *Current Research in Microbial Sciences*, 3, 100136. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2022.100136>

Merck, M. F., & Tarboton, D. G. (2023). The Salinity of the Great Salt Lake and Its Deep Brine Layer. *Water*, 15(8), 1488. <https://doi.org/10.3390/w15081488>

Messenger, M. L., Lehner, B., Grill, G., Nedeva, I., & Schmitt, O. (2016). Estimating the volume and age of water stored in global lakes using a geo-statistical approach. *Nature Communications*, 7(1), 13603. <https://doi.org/10.1038/ncomms13603>

Mongodin, E. F., Nelson, K. E., Daugherty, S., DeBoy, R. T., Wister, J., Khouri, H., Weidman, J., Walsh, D. A., Papke, R. T., Sanchez Perez, G., Sharma, A. K., Nesbø, C. L., MacLeod, D., Bapteste, E., Doolittle, W. F., Charlebois, R. L., Legault, B., & Rodriguez-Valera, F. (2005). The genome of *Salinibacter ruber*: Convergence and gene exchange among hyperhalophilic bacteria and archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50), 18147–18152. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509073102>

Naziri, D., Hamidi, M., Hassanzadeh, S., Tarhriz, V., Maleki Zanjani, B., Nazemyieh, H., Hejazi, M. A., & Hejazi, M. S. (2014). Analysis of Carotenoid Production by *Halorubrum* sp. TBZ126; an Extremely Halophilic Archeon from Urmia Lake. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(1), 61–67. <https://doi.org/10.5681/apb.2014.010>

Olmedo, E., Turiel, A., González-Gambau, V., González-Haro, C., García-Espriu, A., Gabarró, C., Portabella, M., Corbella, I., Martín-Neira, M., Arias, M., Catany, R., Sabia, R., Oliva, R., & Scipal, K. (2022). Increasing stratification as observed by satellite sea surface salinity measurements. *Scientific Reports*, 12(1), 6279. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10265-1>

Oren, A. (2006). *Halophilic microorganisms and their environments* (Vol. 5). Springer science & business media.

Oren, A. (2010). Industrial and environmental applications of halophilic microorganisms. *Environmental Technology*, 31(8–9), 825–834. <https://doi.org/10.1080/09593330903370026>

Oren, A. (2012). The Function of Gas Vesicles in Halophilic Archaea and Bacteria: Theories and Experimental Evidence. *Life*, 3(1), 1–20. <https://doi.org/10.3390/life3010001>

Oren, A. (2013a). *Salinibacter*: an extremely halophilic bacterium with archaeal properties. *FEMS Microbiology Letters*, 342(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12094>

Oren, A. (2013b). Two Centuries of Microbiological Research in the Wadi Natrun, Egypt: A Model System for the Study of the Ecology, Physiology, and Taxonomy of Haloalkaliphilic Microorganisms (pp. 101–119). https://doi.org/10.1007/978-94-007-6488-0_4

Oren, A. (2020). The microbiology of red brines (pp. 57–110). <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2020.07.003>

Oren, A., Rodríguez-Valera, F., Antón, J., Benlloch, S., Rosselló-Mora, R., Amann, R., Coleman, J., & Russell, N. J. (2004). Red, Extremely Halophilic, but not Archaeal: The Physiology and Ecology of *Salinibacter ruber*,

a Bacterium Isolated from Saltern Crystallizer Ponds. In *Halophilic Microorganisms* (pp. 63–76). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-07656-9_4

Oren, A., Ventosa, A., & Kamekura, M. (2017). Halobacteria. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (pp. 1–5). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.cbm00026.pub2>

Padisák, J., & Naselli-Flores, L. (2021). Phytoplankton in extreme environments: importance and consequences of habitat permanency. *Hydrobiologia*, 848(1), 157–176. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04353-4>

Pašić, L., Rodriguez-Mueller, B., Martin-Cuadrado, A.-B., Mira, A., Rohwer, F., & Rodriguez-Valera, F. (2009). Metagenomic islands of hyperhalophiles: the case of *Salinibacter ruber*. *BMC Genomics*, 10(1), 570. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-570>

Paul, S., Bag, S. K., Das, S., Harvill, E. T., & Dutta, C. (2008). Molecular signature of hypersaline adaptation: insights from genome and proteome composition of halophilic prokaryotes. *Genome Biology*, 9(4), R70. <https://doi.org/10.1186/gb-2008-9-4-r70>

Pérez, E., & Chebude, Y. (2017). Chemical Analysis of Gaet'ale, a Hypersaline Pond in Danakil Depression (Ethiopia): New Record for the Most Saline Water Body on Earth. *Aquatic Geochemistry*, 23(2), 109–117. <https://doi.org/10.1007/s10498-017-9312-z>

Polle, J. E. W., Calhoun, S., McKie-Krisberg, Z., Prochnik, S., Neofotis, P., Yim, W. C., Hathwaik, L. T., Jenkins, J., Molina, H., Bunkenborg, J., Grigoriev, I. V., Barry, K., Schmutz, J., Jin, E., Cushman, J. C., & Magnusson, J. K. (2020). Genomic adaptations of the green alga *Dunaliella salina* to life under high salinity. *Algal Research*, 50, 101990. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101990>

Polle, J. E. W., Roth, R., Ben-Amotz, A., & Goodenough, U. (2020). Ultrastructure of the green alga *Dunaliella salina* strain CCAP19/18 (Chlorophyta) as investigated by quick-freeze deep-etch electron microscopy. *Algal Research*, 49, 101953. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101953>

Pollock, N. L., Lee, S. C., Patel, J. H., Gulamhussein, A. A., & Rothnie, A. J. (2018). Structure and function of membrane proteins encapsulated in a polymer-bound lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1860(4), 809–817. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.08.012>

Pontefract, A., Zhu, T. F., Walker, V. K., Hepburn, H., Lui, C., Zuber, M. T., Ruvkun, G., & Carr, C. E. (2017). Microbial Diversity in a Hypersaline Sulfate Lake: A Terrestrial Analog of Ancient Mars. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01819>

Prangishvili, D., Holz, I., Stieger, E., Nickell, S., Kristjansson, J. K., & Zillig, W. (2000). Sulfolobocins, Specific Proteinaceous Toxins Produced by Strains of the Extremely Thermophilic Archaeal Genus *Sulfolobus*. *Journal of Bacteriology*, 182(10), 2985–2988. <https://doi.org/10.1128/JB.182.10.2985-2988.2000>

Quillaguamán, J., Doan-Van, T., Guzmán, H., Guzmán, D., Martín, J., Everest, A., & Hatti-Kaul, R. (2008). Poly(3-hydroxybutyrate) production by *Halomonas boliviensis* in fed-batch culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78(2), 227–232. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1297-x>

Rahman, S. S., Siddique, R., & Tabassum, N. (2017). Isolation and identification of halotolerant soil bacteria from coastal Patenga area. *BMC Research Notes*, 10(1), 531. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2855-7>

Ram, S., Mitra, M., Shah, F., Tirkey, S. R., & Mishra, S. (2020). Bacteria as an alternate biofactory for carotenoid production: A review of its applications, opportunities and challenges. *Journal of Functional Foods*, 67, 103867. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103867>

Roberts, M. F. (2005a). Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms. *Saline Systems*, 1(1), 5. <https://doi.org/10.1186/1746-1448-1-5>

Rudneva, I. I., & Shaida, V. G. (2020). Seasonal Dynamics of the Hypersaline Lake Oiburg (Crimea) as a Model for Studying Climate Change Effects. *Water Resources*, 47(4), 613–623. <https://doi.org/10.1134/S0097807820040168>

- Saccò, M., White, N. E., Harrod, C., Salazar, G., Aguilar, P., Cubillos, C. F., Meredith, K., Baxter, B. K., Oren, A., Anufrieva, E., Shadrin, N., Marambio-Alfaro, Y., Bravo-Naranjo, V., & Allentoft, M. E. (2021). Salt to conserve: a review on the ecology and preservation of hypersaline ecosystems. *Biological Reviews*, 96(6), 2828–2850. <https://doi.org/10.1111/brv.12780>
- Salton, M. R. J., & Kim, K.-S. (1996). *Structure*.
- Sass, E., & Ben-Yaakov, S. (1977). The carbonate system in hypersaline solutions: dead sea brines. *Marine Chemistry*, 5(2), 183–199. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(77\)90006-8](https://doi.org/10.1016/0304-4203(77)90006-8)
- Schagerl, M. (2022). Saline Lakes. In *Encyclopedia of Inland Waters* (pp. 453–466). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819166-8.00077-3>
- Shivanand, P., & Mugeraya, G. (2011a). Halophilic bacteria and their compatible solutes – osmoregulation and potential applications. *Current Science*, 100(10), 1516–1521. <http://www.jstor.org/stable/24076671>
- Shu, W.-S., & Huang, L.-N. (2022). Microbial diversity in extreme environments. *Nature Reviews Microbiology*, 20(4), 219–235. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00648-y>
- Sublimi Saponetti, M., Bobba, F., Salerno, G., Scarfato, A., Corcelli, A., & Cucolo, A. (2011). Morphological and Structural Aspects of the Extremely Halophilic Archaeon *Haloquadratum walsbyi*. *PLoS ONE*, 6(4), e18653. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018653>
- Supuran, C. (2008). Carbonic Anhydrases An Overview. *Current Pharmaceutical Design*, 14(7), 603–614. <https://doi.org/10.2174/138161208783877884>
- Thompson, T. P., Megaw, J., Kelly, S. A., Hopps, J., & Gilmore, B. F. (2022). Microbial communities of halite deposits and other hypersaline environments (pp. 1–32). <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2022.06.001>
- Timms, B. V. (2022). Salt Lakes. In *Encyclopedia of Inland Waters* (pp. 141–156). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819166-8.00053-0>
- Tockner Klement, & Mehner Thomas. (2022). *Encyclopedia of Inland Waters*.
- TORII, T., YAMAGATA, N., NAKAYA, S., MURATA, S., HASHIMOTO, T., MATSUBAYA, O., & SAKAI, H. (1975). Geochemical aspects of the McMurdo saline lakes with special emphasis on the distribution of nutrients in the Dry Valley, Antarctica, and their living environment. *Antarct. Rec.*, 57: 80-96. Japanese with English Abstract.
- Treberg, J. R., & Driedzic, W. R. (2007). The accumulation and synthesis of betaine in winter skate (*Leucoraja ocellata*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147(2), 475–483. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.01.028>
- van Wolferen, M., Pulschen, A. A., Baum, B., Gribaldo, S., & Albers, S.-V. (2022). The cell biology of archaea. *Nature Microbiology*, 7(11), 1744–1755. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01215-8>
- Walsby, A. E. (2005). Archaea with square cells. *Trends in Microbiology*, 13(5), 193–195. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.03.002>
- Wang, K., & Zhang, R. (2021). Production of Polyhydroxyalkanoates (PHA) by *Haloferax mediterranei* from Food Waste Derived Nutrients for Biodegradable Plastic Applications. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(2), 338–347. <https://doi.org/10.4014/jmb.2008.08057>
- Weber, N., Antler, G., Lazar, B., Stein, M., Yechieli, Y., & Gavrieli, I. (2022). Hydrological and thermodynamic controls on late Holocene gypsum formation by mixing saline groundwater and Dead Sea brine. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 316, 363–383. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2021.10.002>
- Xu, Y., & Harvey, P. J. (2019). Carotenoid Production by *Dunaliella salina* under Red Light. *Antioxidants*, 8(5), 123. <https://doi.org/10.3390/antiox8050123>
- Yeats, T. H., Bacic, A., & Johnson, K. L. (2018). Plant glycosylphosphatidylinositol anchored proteins at the plasma membrane-cell wall nexus. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60(8), 649–669. <https://doi.org/10.1111/jipb.12659>