

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE ACTINOBACTERIAS DE AMBIENTES EXTREMOS Y BÚSQUEDA DE SU POTENCIAL ROL EN BIOTECNOLOGÍA

Valentina González Fuenzalida
Valentina.gonzalez@alumnos.usm.cl
Fernanda Claverías Ramos
Fernanda.claverias@alumnos.usm.cl
Beatriz Cámara Herrera
Beatriz.camara@usm.cl

RESUMEN: Las actinobacterias son reconocidas por su gran potencial en la producción de compuestos bioactivos y enzimas comerciales. Actualmente la búsqueda de nuevos compuestos se encuentra enfocada en ecosistemas extremos y poco explorados. Los Géisers del Tatio, ubicados en los montes andinos del norte de Chile, ofrecen excelentes oportunidades para el aislamiento de actinobacterias productoras de enzimas termotolerantes. En el presente trabajo se aislaron 65 actinobacterias provenientes del Géiser del Tatio, con afiliaciones filogenéticas a 8 géneros: *Brachybacterium* sp., *Brevibacterium* sp., *Corynebacterium* sp., *Dietzia* sp., *Gordonia* sp., *Knoellia* sp., *Microbacterium* sp., y *Streptomyces* sp. Se escogieron 14 actinobacterias representativas para la detección de proteasas y lipasas extracelulares, de ellas el 79% evidenció la producción de proteasas, y el 93% evidenció la producción de lipasas. Este estudio demuestra la gran biodiversidad de actinobacterias cultivables desde el Géiser del Tatio, y su potencial biotecnológico en la producción de enzimas de interés industrial.

PALABRAS CLAVE: Actinobacterias, Géisers del Tatio, lipasas, proteasas.

1. INTRODUCCIÓN

El *phylum* Actinobacteria representa uno de los grupos más diversos dentro del dominio Bacteria, está constituido por bacterias Gram positivas, que en general poseen un alto contenido de G-C en su ADN (mayor al 55%) [1]. Las actinobacterias son reconocidas por la producción de compuestos bioactivos y enzimas comerciales de importancia industrial. Más de 10.000 compuestos bioactivos han sido producidos por actinobacterias, lo que representa alrededor del 45% de todos los metabolitos secundarios bioactivos de origen microbiano, entre los que se encuentran antibacterianos, antitumorales, entre otros [2]. Adicionalmente, una amplia variedad de enzimas provenientes de actinobacterias han sido aplicadas en industrias biotecnológicas y campos de la biomedicina [3]. En los

últimos años la industria de las enzimas no sólo ha visto un enorme crecimiento, sino que ha evolucionado con una perspectiva orientada a la tecnología. El año 2013, esta industria experimentó un crecimiento del 6% en cuanto al requerimiento de enzimas, con un mercado estimado de \$ 7 billones de dólares [3]. En este sentido destaca el grupo de las hidrolasas, que cubren más del 75% del mercado de las enzimas y poseen una gran demanda. Entre las hidrolasas, las proteasas ocupan una importante plataforma, ya que se utilizan ampliamente en la industria de los detergentes, seguido de la industria del almidón, la industria textil, industria de los alimentos, entre otras [3]. Las lipasas microbianas son otra clase de enzimas que constituyen un importante grupo de biocatalizadores para las aplicaciones biotecnológicas. Tienen importantes aplicaciones en la industria del detergente e industria de alimentos, por otra parte, las nuevas aplicaciones biotecnológicas han establecido con éxito su utilización en la síntesis de biopolímeros y biodiesel, la fabricación de productos farmacéuticos enantiopuros, agroquímicos y saborizantes [4].

Actualmente la búsqueda de nuevos compuestos naturales ha enfocado la atención de los investigadores en la exploración de ambientes poco explorados, donde los ambientes extremos destacan como fuente de aislamiento de nuevos microorganismos, ya que sus biomoléculas son necesariamente resistentes a las condiciones agresivas de su entorno, representando así un gran potencial biotecnológico para el desarrollo de aplicaciones industriales [5]. Los campos de Géisers del Tatio, ubicados en los montes andinos del norte de Chile a unos 4200 msnm, a 150 km al sureste de Calama, en la Región de Antofagasta, ofrecen excelentes oportunidades para el aislamiento de actinobacterias productoras de enzimas termotolerantes. La dureza de este ambiente se acentúa por la fuerte radiación UV, la presencia de oxidantes inorgánicos, y concentraciones muy bajas de carbono orgánico, y, en varias áreas, por la alta salinidad [6].

La presente investigación se centra en el aislamiento de actinobacterias desde los Géisers del Tatio ubicados en el Desierto de Atacama, para la búsqueda de enzimas extracelulares como lipasas y proteasas, tan cotizadas en la industria.

2. METODOLOGÍA

2.1 MUESTREO DE SEDIMENTOS DESDE UN GÉISER DEL TATIO.

Se recolectaron 5 muestras de sedimentos desde un Géiser del Desierto de Atacama, II Región de Antofagasta, Chile (Figura 1).

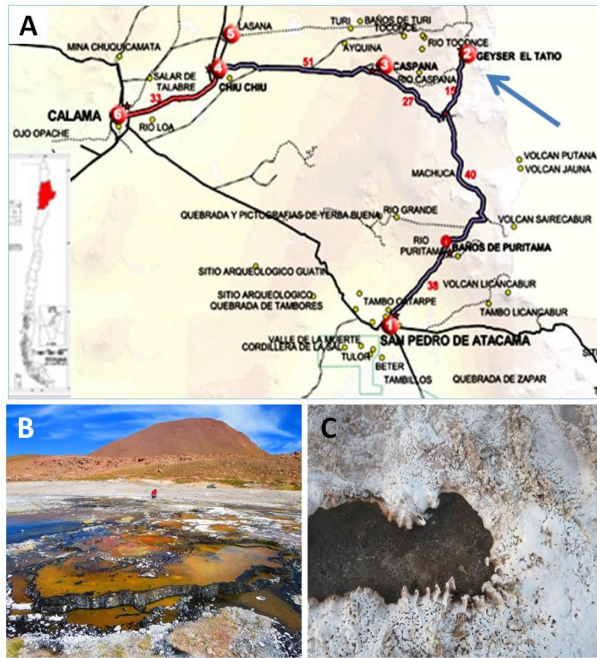


Figura 1. Lugar de muestreo: A) Mapa del lugar de muestreo; B) Sitio de muestreo; C) Imagen del lugar de muestreo, se observa la presencia de muchas sales. Coordenadas de muestreo: 22°20'9.75"S, 68° 0'51.56"O.

Las muestras fueron obtenidas a diferentes distancias de una fuente hidrotermal (Tabla 1), éstas fueron recolectadas en tubos Falcón estériles de 50 [mL]. Una vez en el laboratorio, las muestras se almacenaron a -20 °C durante 12 horas (overnight) para posteriormente ser almacenadas a 4°C hasta su análisis.

Tabla 1: Muestras del Géiser del Tatio

Muestra	Observación
1	Directo de la fuente hidrotermal. No hay algas
2	Muestra más cercana a la fuente, tiene muchas sales
3	Muestra más alejada que (2)
4	Muestra más alejada que (3)
5	Muestra más alejada de la fuente, se observa vegetación

2.2 AISLAMIENTO DE ACTINOBACTERIAS DESDE SEDIMENTOS DE UN GÉISER DEL TATIO

Para el aislamiento de actinobacterias de las muestras del Géiser del Tatio, se utilizaron dos medios de cultivo selectivos: Agar Marino (Difco) e ISP-2 complementado con agua de mar artificial (ASW) [7-8]. Los medios fueron complementados con ácido nalidíxico (25 µg/mL) y cicloheximida (100 µg/mL), inhibidores de bacterias Gram negativas y de hongos respectivamente. Las placas fueron incubadas a 20°C por tres meses Su crecimiento fue examinado periódicamente..

2.3 CONSERVACIÓN DE LAS CEPAS

Las cepas aisladas fueron sembradas en placas con medio TSA (Difco) complementado con ASW, estas fueron incubadas a 30°C. Luego de unos días relativos al crecimiento de cada bacteria, la biomasa de cada cepa se suspendió en una solución con 10% de medio TSB (Difco), 20% de glicerol y ASW. Se creó un cepario de mantención a -80°C y un stock de trabajo a -20°C.

2.4 EXTRACCIÓN DE DNA GENÓMICO

La extracción de DNA fue realizada a partir de un cultivo fresco. Las colonias fueron resuspendidas en 100 [µL] de agua Milli-Q estéril e incubadas a 96°C por 10 minutos para lisar las células. Luego fueron puestas directamente en hielo por 10 minutos y posteriormente centrifugadas a 13.000 rpm durante 10 minutos para separar el DNA de los residuos celulares. El sobrenadante con el DNA se conservó a -20°C para su posterior uso.

El DNA genómico de cada una de las cepas se utilizó como templado para la amplificación de genes por PCR.

2.5 AMPLIFICACION POR PCR DEL GEN rRNA 16S DE ACTINOBACTERIAS

Se realizó un *screening* mediante PCR para identificar las potenciales actinobacterias aisladas. Para esto, se utilizaron partidores específicos para actinobacterias S-C-Act-0235-a-S-20 y S-C-Act-0878-A-19, los cuales amplifican la región V3 a V5 (aproximadamente 640 bp) del gen rRNA 16S de actinobacterias [9].

2.6 AMPLIFICACIÓN POR PCR Y SECUENCIACIÓN DEL GEN rRNA 16S.

Para amplificar el gen rRNA 16S bacteriano se utilizaron partidores universales, 27F y 1492R. Para las secuenciaciones parciales, se utilizó el partidor universal 800 R [10]. Se determinó la relación filogenética de cada cepa bacteriana al comparar los productos secuenciados con las secuencias individuales del gen rRNA 16S publicadas en la base de datos del servidor BLAST del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Posteriormente las actinobacterias identificadas mediante secuenciación se sometieron a ensayos de detección de lipasas y proteasas extracelulares [10].

2.7 ENSAYO DE DETECCIÓN DE LIPASAS EXTRACELULARES

Para evaluar la actividad lipolítica, se utilizó el medio Agar Spirit Blue (Difco) en una proporción de 35 [g/L], este fue complementado con tributirina (triglicérido que actúa como sustrato de la lipasa), en una concentración de 3 [ml/L]. Las actinobacterias son inoculadas en placas con el medio anteriormente mencionado, posteriormente las placas se incuban a 30°C desde 24 a 72 horas. La aparición de un halo alrededor de la colonia evidencia la síntesis de lipasas extracelulares. Se evaluaron 4 cepas por placa.

2.8 ENSAYO DE DETECCIÓN DE PROTEASAS EXTRACELULARES

Para evaluar la actividad proteolítica, se utilizó un medio que contiene extracto de levadura (1 [g/L]), peptona (4 [g/L]), agar (15 [g/L]) y gelatina como sustrato (12 [g/L]). Las actinobacterias son inoculadas en placas con el medio anteriormente mencionado, posteriormente las placas se incuban a 30°C desde 24 a 72 horas, dependiendo del crecimiento de cada cepa. La aparición de un halo claro alrededor de la colonia evidencia la producción de proteasas extracelulares. Se evaluaron 4 cepas por placa.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 IDENTIFICACIÓN DE ACTINOBACTERIAS Y ANÁLISIS FILOGENÉTICO

Para obtener una aproximación inicial acerca de las bacterias aisladas del Géiser del Tatio, se realizó un screening mediante una amplificación por PCR utilizando partidores específicos para el gen rRNA 16S

de actinobacterias. De las muestras obtenidas del Géiser del Tatio se aislaron 189 colonias, de estas un 55% presentó un amplicón del tamaño esperado. Las cepas que tuvieron un resultado positivo para el screening de actinobacterias, se identificaron mediante la secuenciación parcial del gen rRNA 16S. La amplificación del gen rRNA 16S fue realizada con partidores universales [10] y los productos de amplificación fueron purificados y secuenciados por MacroGen Inc. (Corea). Finalmente la identificación de las cepas se obtuvo al comparar las secuencias editadas del gen rRNA 16S con las secuencias presentes en la base de datos del servidor BLAST del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Se identificaron 65 cepas del *phylum Actinobacteria* con afiliaciones filogenéticas a 8 géneros: *Brachybacterium* sp., *Brevibacterium* sp., *Corynebacterium* sp., *Dietzia* sp., *Gordonia* sp., *Knoellia* sp., *Microbacterium* sp., y *Streptomyces* sp. (Figura 2).



Figura 2. Morfologías de actinobacterias aisladas desde sedimentos obtenidos de un Géiser del Tatio, Chile. Las cepas fueron crecidas en medio TSA con ASW a 30°C.

El mayor número de actinobacterias aisladas pertenecen al género *Brevibacterium* constituyendo más del 50% del total de aislados, mientras que los géneros *Gordonia*, *Corynebacterium* y *Knoellia* presentan solo un aislado (Gráfico 1).

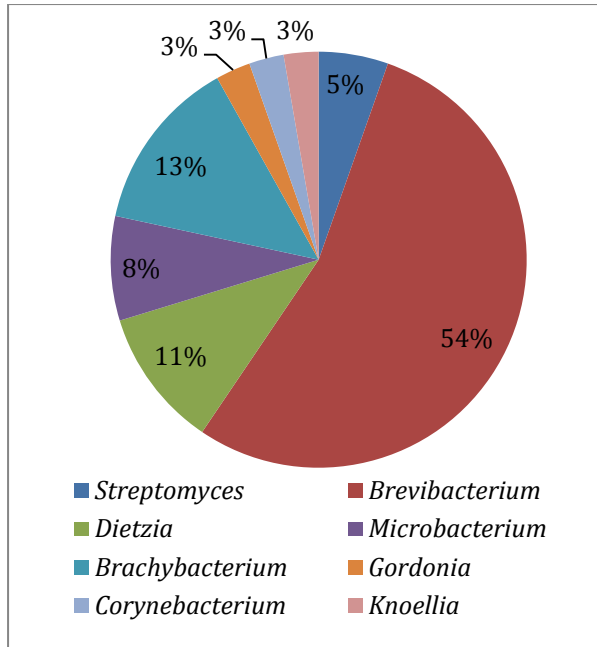


Gráfico 1: Biodiversidad total de actinobacterias del Géiser

Con respecto a la muestra de origen, la mayor biodiversidad de actinobacterias aisladas lo presenta la muestra 4, seguida de la muestra 1 (fuente hidrotermal) y 3. Las muestras 2 y 5 presentan la menor cantidad de géneros aislados.

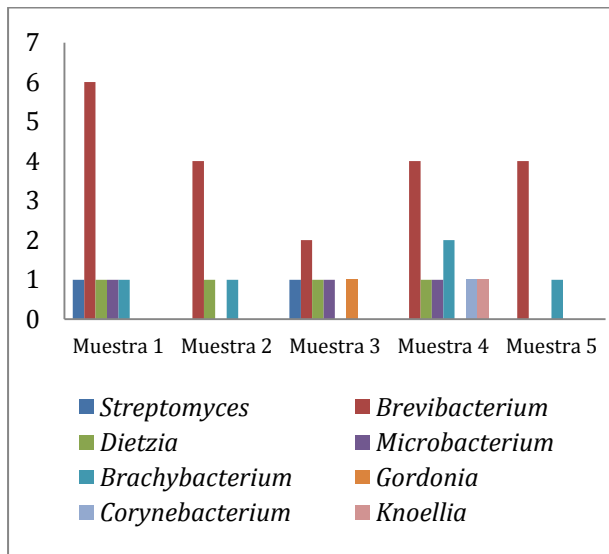


Gráfico 2: Biodiversidad de actinobacterias del Géiser según muestra de origen: la muestra 1 es aquella de mayor temperatura, tomada en la fuente hidrotermal (temperaturas cercanas a los 85°C), le siguen las muestras 2, 3, 4, y 5, respectivamente, representando la última aquella muestra más alejada donde ya se observa vegetación (temperaturas cercanas a los 40°C).

Los medios de cultivo elegidos son selectivos para actinobacterias. El medio ISP2/ASW, exhibió la más alta recuperación de actinobacterias, tanto en cantidad como en diversidad de géneros encontrados. En ambos medios, cepas del género *Brevibacterium* constituyen la mayor fracción de aislados. En el medio Agar marino destaca el género *Knoellia*, con un aislado, y en el medio ISP2/ASW destacan las cepas de los géneros *Corynebacterium*, *Gordonia* y *Microbacterium*, no obtenidos en el medio Agar marino.

Un 46% de las actinobacterias identificadas mediante la secuenciación parcial del gen rRNA 16S, pertenecientes a los géneros *Brevibacterium*, *Brachybacterium*, *Corynebacterium*, *Knoellia* y *Streptomyces*, presentan un % de identidad menor al 98,7% con otras especies descritas en la base de datos del servidor BLAST, lo que sugiere la probabilidad de que estas cepas formen una nueva especie dentro de los géneros mencionados [11]. Cabe destacar que los porcentajes de similitud provienen de la secuencia parcial del gen rRNA 16S (aproximadamente 700 bp) y no de la secuencia casi completa del mismo gen (aproximadamente 1500 bp). Para verificar que las cepas correspondan a nuevas especies es necesario complementar con análisis adicionales que incluyen comparaciones fenotípicas, genómicas, y filogenéticas con taxones similares.

Se han publicado escasos estudios de la biodiversidad de actinobacterias del Géiser del Tatio, la mayoría de las publicaciones ha investigado las comunidades microbianas del Desierto de Atacama en otros sitios geográficos, donde se ha encontrado una alta abundancia del *phylum Actinobacteria* [12]. Uno de los trabajos realizados por Brown *et al.*, investigó la diversidad de actinobacterias cultivables y no cultivables, en las cercanías del Observatorio ALMA, cercano a San Pedro de Atacama [13], donde parte de los géneros descritos corresponden con la mayoría de los géneros encontrados en el presente estudio, a excepción del género *Knoellia*. Para este último se han descrito solo 5 especies, aisladas de muestras de China y Corea del Sur [14-17]. Adicionalmente se han aislado nuevos miembros del *phylum Actinobacteria*, de muestras recogidas de El Tatio (4300 m, campo de géiseres), el Salar de Atacama (2300 m, salar hiper-árido) y el Valle de la Luna (2450m, ambiente extremo hiper-árido). (Okoro *et al.*, 2009) correspondientes a los géneros *Streptomyces*, *Lechevalieria* y *Amycolatopsis*, reportándose 6 nuevas especies con dos cepas del género *Streptomyces* demostrando producir nuevos compuestos bioactivos, las atacamicinas y las chaxamicinas [18-24].

En el presente estudio, se obtuvo una gran biodiversidad de actinobacterias cultivables provenientes de un Géiser del Desierto de Atacama, donde algunas de las cepas aisladas podrían constituir nuevas especies dentro del *phylum Actinobacteria*.

3.2. DETECCIÓN DE LIPASAS Y PROTEASAS EXTRACELULARES

La actividad enzimática de las actinobacterias identificadas se evaluó mediante la detección en placas de lipasas y proteasas extracelulares utilizando medios específicos para cada actividad. Como sustrato para la actividad de proteasas se utilizó gelatina y como sustrato para las lipasas se utilizó tributirina. La formación de un halo alrededor de la colonia evidencia la producción de la enzima evaluada.

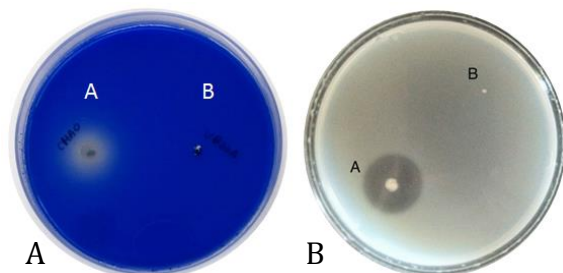


Figura 3. Cepas controles utilizadas para la detección de lipasas y proteasas extracelulares. A) Detección de lipasas (A.A) Hidrólisis positiva exhibida por *Pseudomonas protegens* CHA0. (A.B) Hidrólisis negativa exhibido por *Nocardiopsis* sp. B) Detección de proteasas utilizando el método de placa con gelatina como sustrato. (B.A) Hidrólisis positiva de gelatina exhibido por *Bacillus subtilis* indicados por la zona clara alrededor de la colonia. (B.B) Hidrólisis negativa de gelatina exhibida por *Escherichia coli*

Se escogieron 13 cepas representativas de cada medio y género para la evaluación de actividad enzimática. La cepa del género *Knoellia*, presenta una tasa de crecimiento muy lenta, por lo tanto no se consideró en la presente evaluación. De las 13 actinobacterias analizadas, 10 de ellas evidenciaron la producción de proteasas y 12 de ellas evidenciaron la producción de lipasas extracelulares (Tabla 2).

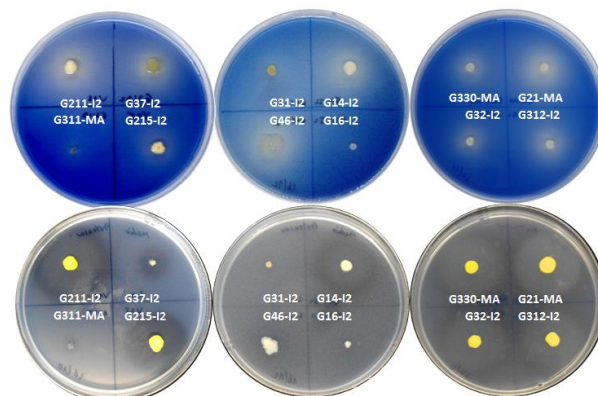


Figura 3. Detección de lipasas y proteasas extracelulares de algunas actinobacterias aisladas del Géiser del Tatio.

Se observa una mayor degradación del sustrato con respecto a lipasas y proteasas en cepas de los géneros *Brevibacterium* y *Streptomyces*. Las cepas del género *Dietzia* presentaron poca o nula actividad tanto de proteasas como de lipasas.

Tabla 1: Actividad enzimática de actinobacterias aisladas del Géiser del Desierto de Atacama

Aislado	Cepa tipificada con mayor similitud	% de identidad	Detección Proteasas	Detección Lipasas
C21-MA	<i>Brevibacterium iodinum</i> DSM 20626	98,56	+	+
G312-MA	<i>Brevibacterium antiquum</i> VKM Ac-2118	98,74	+	+
G330-MA	<i>Brevibacterium antiquum</i> VKM Ac-2118	99,02	+	+
G32-I2	<i>Brevibacterium antiquum</i> VKM Ac-2118	98,01	+	+
G37-I2	<i>Brevibacterium picturae</i> LMG 22061	96,50	+	+
G14-I2	<i>Brevibacterium antiquum</i> VKM Ac-2118	98,34	++	++
G31-MA	<i>Dietzia schimae</i> YIM 65001	98,87	-	+
G16-I2	<i>Dietzia natronolimnaea</i> DSM 44860	98,99	-	-
G215-I2	<i>Microbacterium maritypicum</i> DSM 12512	100	+	+
G311-MA	<i>Brachybacterium tyrofermentans</i> CNRZ 926	98,70	+	+/-
G211-I2	<i>Corynebacterium variabile</i> DSM 44702	98,43	++	+
G46-I2	<i>Gordonia effusa</i> IFM 10200	99,15	-	+
G315-MA	<i>Streptomyces champavatii</i> NRRL B-5682	97,75	++	++

Actividad enzimática: -, No hay actividad enzimática; +/-, actividad enzimática apenas perceptible (< 10 [mm]); +, actividad enzimática evidente (≈ 10 [mm]), ++, Actividad enzimática muy evidente (> 10 [mm]). Las observaciones se registraron al tercer día de incubación.

Se ha descrito que cepas del género *Streptomyces*, pueden producir grandes cantidades de enzimas proteolíticas, con diferentes especificidades de sustrato [3], algunas especies que producen proteasas incluyen *S. clavuligerus*, *S. griseus*, *S. rimoues*, *S. thermoviolaceus*, *S. thermovulgaris* y *S. flavogriseus* [25]. Los usos industriales a que pueden ser aplicadas incluyen aditivos para detergentes, depilación del cuero, y aditivos alimentarios. También se han estudiado las actividades lipolíticas de diversas cepas de este género, como *Streptomyces* sp. CS326 [26], y *S. thermocarboxydus*, cuyas aplicaciones se enfocan en la producción de biodiesel, en su empleo en la industria de alimentos, detergentes y cosméticos, así como en la industria farmacéutica y biomédica [27]. También existen estudios que describen la producción de diversas enzimas de cepas del género *Brevibacterium*. Las lipasas y proteasas de *Brevibacterium linens* se utilizan en la industria de alimentos, para la ruptura de lípidos y proteínas durante la maduración del queso [28].

Cabe destacar que las cepas del género *Brevibacterium*, constituyeron la mayor parte de los aislados del Géiser. Varias aplicaciones industriales interesantes se han descrito para especies de este género, como producción de enzimas (proteasas y lipasas) y compuestos de azufre que contribuyen a la maduración y aroma de los quesos; se ha descrito la producción de sustancias antimicrobianas que inhiben el crecimiento de varios patógenos transmitidos por alimentos; adicionalmente, producen aminoácidos y carotenoides, pigmentos de amarillo a rojo, que tienen valiosas aplicaciones en la industria farmacéutica y en la industria de alimento para animales [28]. Las especies del género *Brevibacterium* ofrecen un gran potencial en el desarrollo de aplicaciones industriales, y el origen de las cepas aisladas puede constituir una ventaja en la producción de enzimas, que por ejemplo pueden ser efectivas a elevadas temperaturas.

4. CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que los Géisers del Tatio representan una importante fuente para el aislamiento de nuevas especies de actinobacterias. Adicionalmente, las actinobacterias aisladas constituyen una importante fuente en la producción de enzimas, como lipasas y proteasas, que pueden ser utilizadas en una amplia gama de industrias.

5. AGRADECIMIENTOS

Esta tesis fue financiada por los proyectos Fondecyt 11121571 y PIE>A UTFSM. Agradecemos al Dr. Michael Seeger y a Myriam González, del Laboratorio de Microbiología Molecular y Biotecnología Ambiental de la Universidad Técnica Federico Santa María, por su colaboración a lo largo de todo esta

investigación. Agradecemos cordialmente al Dr. Fabrizio Beltrametti, por su valiosa colaboración en la obtención de las muestras, y en la parte experimental de este estudio, y finalmente agradecemos a Fabiola Altamirano por su colaboración en los ensayos de actividad enzimática.

6. REFERENCIAS

- [1] Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007). Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71, 495–548.
- [2] Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1), 1–26.
- [3] Prakash, D., Nawani, N., Prakash, M., Bodas, M., Mandal, A., Khetmalas, M., & Kapadnis, B. (2013). Actinomycetes: A repertory of green catalysts with a potential revenue resource. *BioMed Research International*, 2013, 1–8.
- [4] Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. (2006). Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39, 235–251.
- [5] Rossi, M., Ciaramella, M., Cannio, R., Pisani, F. M., Moracci, M., & Bartolucci, S. (2003). Extremophiles. *Journal of Bacteriology*, 185, 3683–3689.
- [6] Okoro, C. K., Brown, R., Jones, A. L., Andrews, B. a., Asenjo, J. a., Goodfellow, M., & Bull, A. T. (2009). Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 95, 121–133.
- [7] Shirling, E. B., & Gottlieb, D. (1966). Methods for Characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16(3), 313–340.
- [8] Lyman, J., & Fleming, R. H. (1940). Composition of seawater. *J. Marine Res.*, 3, 134–146.
- [9] Stach, J. E. M., Maldonado, L. a, Masson, D. G., Ward, a C., Goodfellow, M., & Bull, a T. (2003). Statistical approaches for estimating Actinobacterial Diversity in Marine Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 6189–6200.
- [10] Lane, D. (1991). 16S/23S rRNA sequencing. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, 125–175.
- [11] Yarza, P., Yilmaz, P., Pruesse, E., Glöckner, F. O., Ludwig, W., Schleifer, K.-H., Rosselló-Móra, R. (2014). Uniting the classification of cultured and uncultured bacteria and archaea using 16S rRNA gene sequences. *Nature Reviews. Microbiology*, 12(9), 635–645.

- [12] Neilson, J. W., Quade, J., Ortiz, M., Nelson, W. M., Legatzki, A., Tian, F., Maier, R. M. (2012). Life at the hyperarid margin: Novel bacterial diversity in arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Extremophiles*, 16(3), 553–566.
- [13] Brown, R., Idris, H., Singleton, I., Wyness, K., Bull, A. T., & Goodfellow, M. (2014). Microbial life at high altitudes: *Actinobacteria* diversity of surface and subsurface environmental samples from the Atacama Desert. In 17th International Symposium on the Biology of Actinomycetes (1).
- [14] Yu, X., Du, Y., & Wang, G. (2012). *Knoellia flava* sp. nov., isolated from pig manure. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(2), 384–389.
- [15] Shin, N. R., Roh, S. W., Kim, M. S., Jung, M. J., Whon, T. W., & Bae, J. W. (2012). *Knoellia locipacati* sp. nov., from soil of the Demilitarized Zone in South Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(2), 342–346.
- [16] Weon, H. Y., Kim, B. Y., Schumann, P., Kroppenstedt, R. M., Noh, H. J., Park, C. W., & Kwon, S. W. (2007). *Knoellia aerolata* sp. nov., isolated from an air sample in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(12), 2861–2864.
- [17] Groth, I., Schumann, P., Schütze, B., Augsten, K., & Stackerbrandt, E. (2002). *Knoellia sinensis* gen. nov., sp. and *Knoellia subterranea* sp. nov., two novel actinobacteria isolated from a cave. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(1), 77–84.
- [18] Okoro, C. K., Brown, R., Jones, A. L., Andrews, B. a., Asenjo, J. a., Goodfellow, M., & Bull, A. T. (2009). Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 95, 121–133.
- [19] Okoro, C. K., Bull, A. T., Mutreja, A., Rong, X., Huang, Y., & Goodfellow, M. (2010). *Lechevalieria atacamensis* sp. nov., *Lechevalieria deserti* sp. nov. and *lechevalieria roselyniae* sp. nov., isolated from hyperarid soils. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(2), 296–300.
- [20] Santhanam, R., Okoro, C. K., Rong, X., Huang, Y., Bull, A. T., Andrews, B. a., Goodfellow, M. (2012). *Streptomyces deserti* sp. nov., isolated from hyper-arid Atacama Desert soil. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 101(3), 575–581.
- [21] Santhanam, R., Okoro, C. K., Rong, X., Huang, Y., Bull, A. T., Weon, H. Y., Goodfellow, M. (2012). *Streptomyces atacamensis* sp. nov., isolated from an extreme hyper-arid soil of the Atacama Desert, Chile. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(11), 2680–2684.
- [22] Santhanam, R., Rong, X., Huang, Y., Andrews, B. a., Asenjo, J. a., & Goodfellow, M. (2013). *Streptomyces bullii* sp. nov., isolated from a hyper-arid Atacama Desert soil. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 103(2), 367–373.
- [23] Nachtigall, J., Kulik, A., Helaly, S., Bull, A. T., Goodfellow, M., Asenjo, J. a., Fiedler, H. P. (2011). Atacamycins A–C, 22-membered antitumor macrolactones produced by *Streptomyces* sp. C38*. *The Journal of Antibiotics*, 64, 775–780.
- [24] Rateb, M. E., Houssen, W. E., Arnold, M., Abdelrahman, M. H., Deng, H., Harrison, W. T. a, Jaspars, M. (2011). Chaxamycins A - D, bioactive ansamycins from a hyper-arid desert *streptomyces* sp. *Journal of Natural Products*, 74(6), 1491–1499.
- [25] Ghorbel, S., Kammoun, M., Soltana, H., Nasri, M., & Hmidet, N. (2014). *Streptomyces flavogriseus* HS1: Isolation and characterization of extracellular proteases and their compatibility with laundry detergents. *BioMed Research International*, 2014, 1–8.
- [26] Cho, S. S., Park, D. J., Simkhada, J. R., Hong, J. H., Sohng, J. K., Lee, O. H., & Yoo, J. C. (2012). A neutral lipase applicable in biodiesel production from a newly isolated *Streptomyces* sp. CS326. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 35(1-2), 227–234.
- [27] Kittikun, A., Prasertsan, P., Zimmermann, W., Seesuriyachan, P., & Chaiyaso, T. (2012). Sugar ester synthesis by thermostable lipase from *Streptomyces thermocarboxydus* ME168. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 166(8), 1969–1982.
- [28] Onraedt, A., Soetaert, W., & Vandamme, E. (2005). Industrial importance of the genus *Brevibacterium*. *Biotechnology Letters*, 27(8), 527–533.
-