

Tabla 1. Resumen de características fenotípicas de especies aisladas y genomas ensamblados de la clase Anaerolineae (basado en GTDB). En gris: genomas ensamblados. En naranja: especies obtenidas a partir de sistemas de tratamiento de aguas residuales.

Family	Species	Isolation source	Temperature optimum	Physiology	Electron acceptor conditions	Carbon sources/electron donors**	Fermentation by-products (from sugars)	References
Ardenticatenia	<i>Ardenticatena maritima</i> ^T	Coastal hydrothermal field	Thermophile	Chemoheterotroph	Facultative anaerobe: O ₂ ; NO ₃ ⁻ (to NH ₃ or N ₂ [*]); Fe(III)	Carbohydrates; proteins; fatty acids	-	[5,6]
	<i>Ca. Promineofilum breve</i>	Activated sludge	Mesophile	Chemoheterotroph; Autotroph?; Fermenter	Facultative anaerobe: O ₂ ; NO ₃ ⁻ (to NH ₃ [*]); N ₂ O [*]	Carbohydrates	Acetate [*] ; lactate [*] ; ethanol [*] ; acetoin [*] ; H ₂ [*]	[7]
SJA-15	<i>Ca. Amarolinea aalborgensis</i>	Activated sludge	Mesophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Facultative anaerobe: O ₂ ; NO ₃ ⁻ (to NH ₃ [*])	Carbohydrates	Acetate [*] ; lactate [*] ; ethanol [*] ; acetoin [*]	[8]
	<i>Ca. Brevefilum fermentans (CAMBI-1)</i>	Anaerobic digester	Mesophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Strict anaerobe	Carbohydrates; proteins**	Acetate; ethanol; formate; CO ₂ **	[7]
Anaerolineae	<i>Bellilinea caldifistulae</i> ^T	Thermophilic anaerobic digester	Thermophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates; proteins ^w	Acetate; lactate; formate; H ₂ ; propionate ^w ; pyruvate ^w	[13]
	<i>Levilinea saccharolytica</i> ^T	Mesophilic anaerobic digester	Mesophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates; proteins	Acetate; formate; H ₂ ; lactate ^w	[14]
	<i>Longilinea arvoryzae</i> ^T	Rice paddy soil	Mesophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates; proteins	Acetate; lactate; H ₂	[13]
	<i>Leptolinea tardivitalis</i> ^T	Mesophilic anaerobic digester	Mesophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates; proteins	Acetate; lactate; pyruvate; H ₂ ; succinate ^w ; formate ^w	[14]
	<i>Pelolinea submarina</i> ^T	Marine sediment	Mesophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates; proteins	Acetate; lactate; ethanol; H ₂ ; pyruvate ^w ; propionate ^w	[3]
	<i>Omatilinea apprima</i> ^T	Hot water bath microbial mat	Mesophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates; proteins	Acetate; ethanol; H ₂ ; lactate ^w ; formate ^w	[11]
	<i>Anaerolinea thermophila</i> ^T	Thermophilic anaerobic digester	Thermophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates; proteins ^w	Acetate; H ₂ ; lactate ^w ; succinate ^w ; formate ^w	[12]
	<i>Anaerolinea thermolimosia</i> ^T	Thermophilic anaerobic digester	Thermophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates; proteins	Acetate; lactate; H ₂	[14]
	<i>Thermomarinilinea lacunofontalis</i> ^T	Hydrothermal vent	Thermophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Proteins	Not reported	[9]
	<i>Thermanaerotherix daxensis</i> ^T	Deep hot aquifer	Thermophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Obligate anaerobe	Carbohydrates	Lactate; acetate; CO ₂ ; H ₂ ^w	[2]
Caldilineae	<i>Caldilinea aerophila</i> ^T	Hot spring biomat	Thermophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Facultative anaerobe: O ₂	Carbohydrates; proteins; fatty acids	Not reported	[12]
	<i>Caldilinea tarbellica</i> ^T	Deep hot aquifer	Thermophile	Chemoheterotroph; Fermenter	Anaerobe (tolerates <1.5% O ₂)	Carbohydrates; proteins	succinate; lactate ^w ; acetate ^w ; CO ₂ ^w ; H ₂ ^w	[1]
	<i>Litorilinea aerophila</i> ^T	Intertidal hot spring	Thermophile	Chemoheterotroph	Aerobe: O ₂	Carbohydrates; proteins	-	[4]

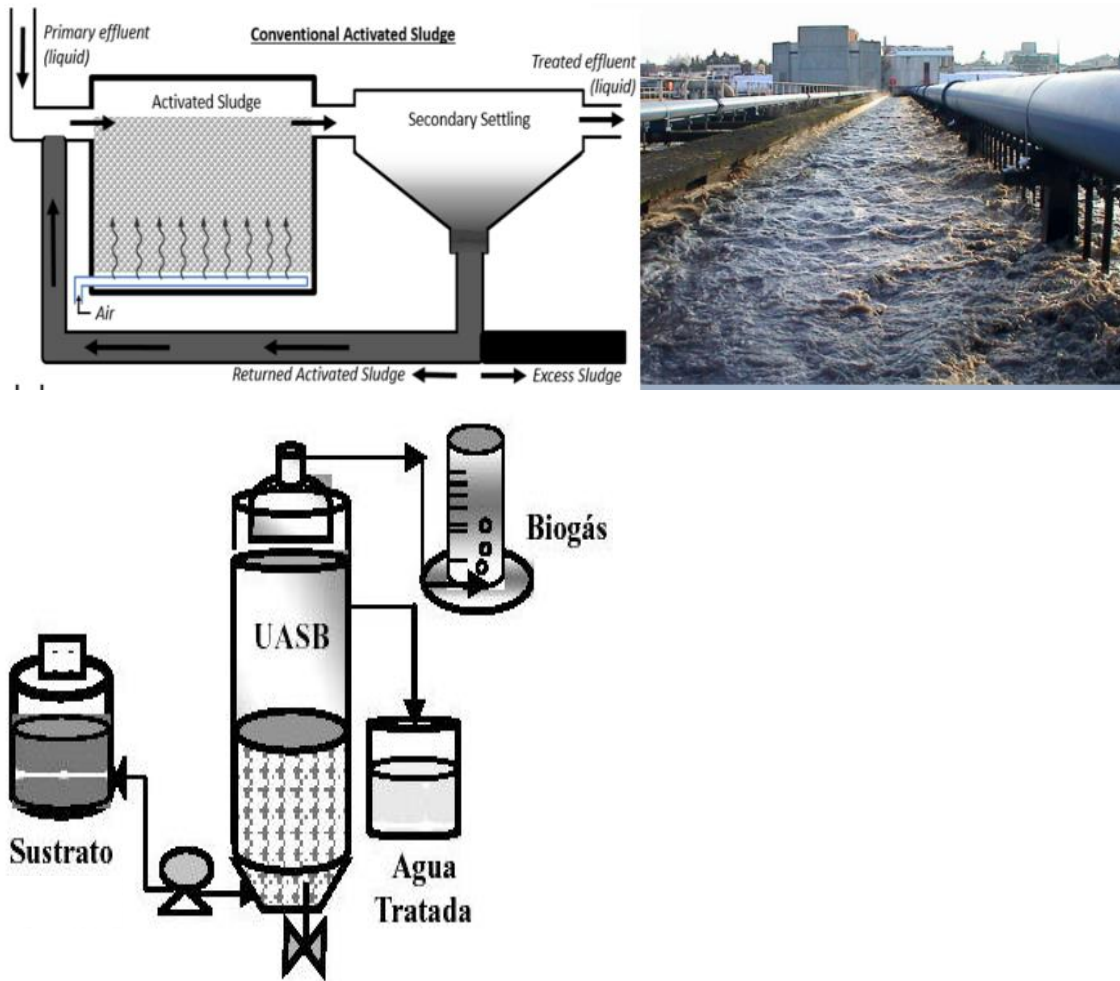


Figura 1. Esquema general de un sistema de lodos activados y de un reactor anaerobio UASB. A) Sistema convencional de lodos activados <http://www.waterpathogens.org/book/activated-sludge>. B) Esquema de funcionamiento de reactor UASB. El sustrato o efluente ingresa en la parte inferior del reactor. El mismo asciende atravesando la biomasa que se encuentra formando gránulos. En la parte superior se separa el agua depurada y el biogás generado se recoge en una campana. Figura tomada de Caldera et al. 2005.

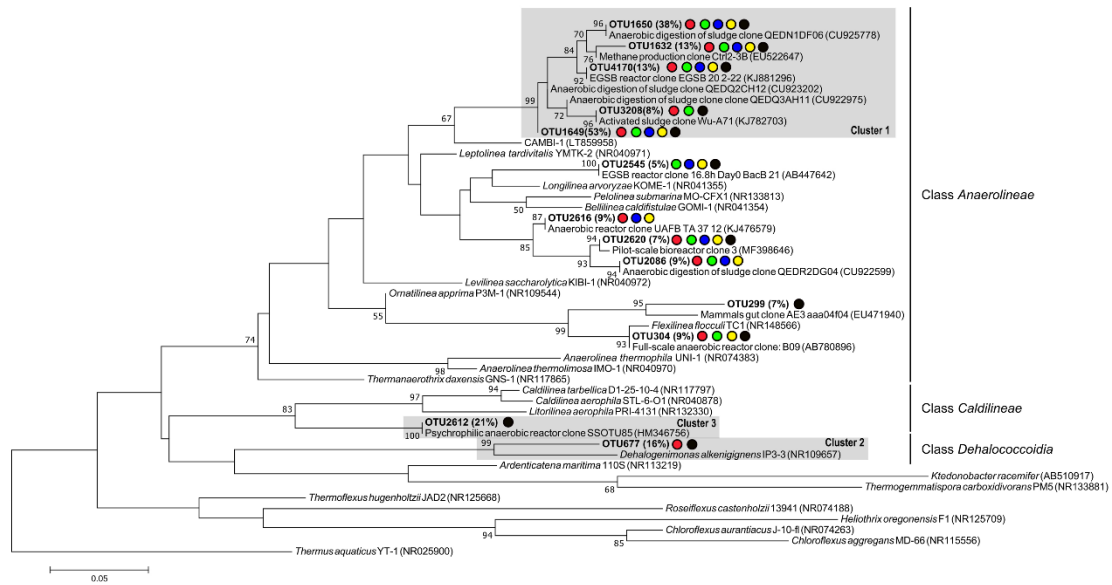


Figura 2. Árbol filogenético con secuencias del gen de ARNr de 16S, que incluye las OTUs mayores al 5% detectadas en nuestro estudio, clones ambientales, y secuencias de cepas aisladas. Los círculos representan cada reactor en los que fueron detectadas las OTUs.

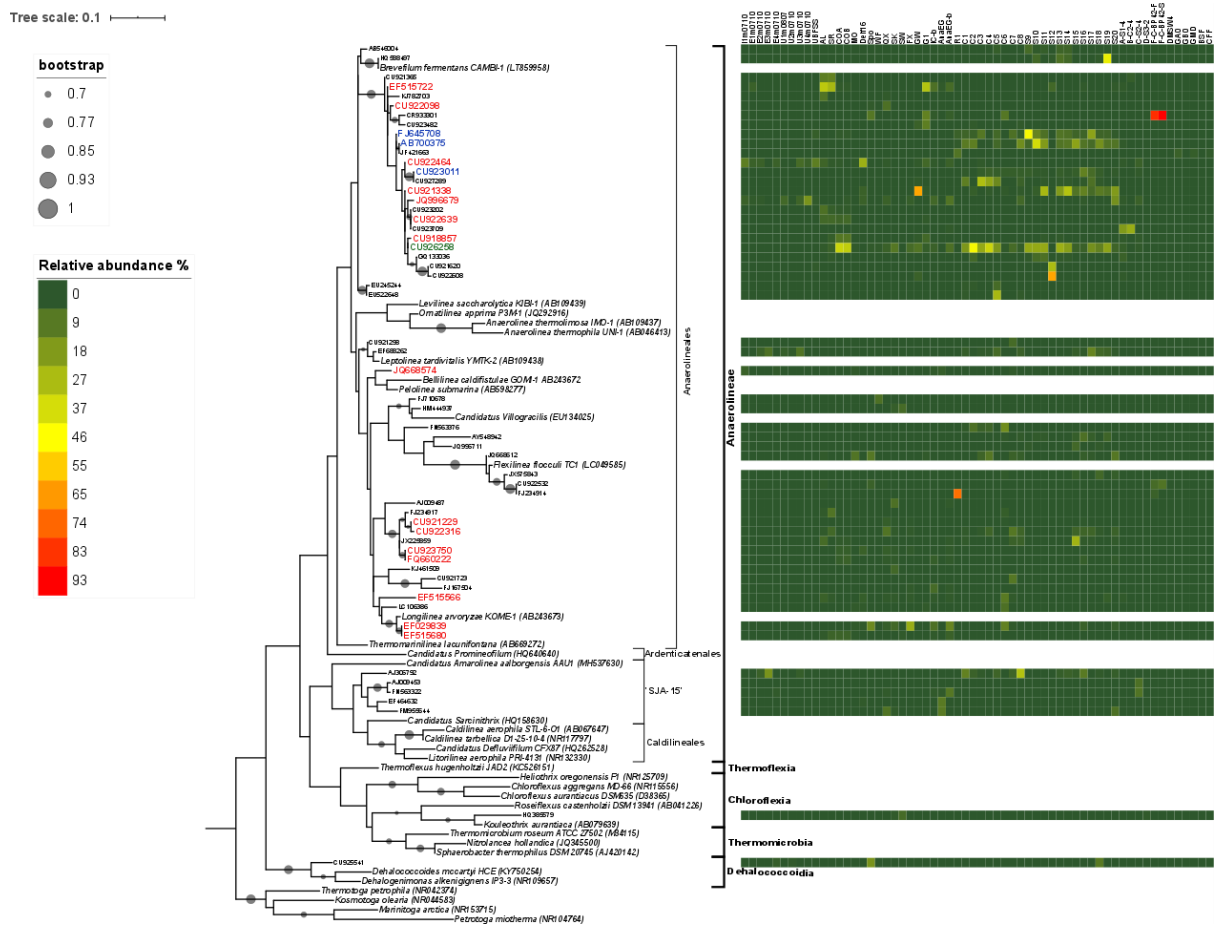


Figura 3. Árbol filogenético con secuencias del gen de ARNr de 16S. Incluye las OTUs mayores a 5% obtenidas en nuestro análisis mediante el método closed-reference y secuencias de cepas aisladas de Chloroflexota. En rojo: Core de OTUs de Chloroflexota en sistemas de tratamiento de aguas residuales. En azul: Core de OTUs de Chloroflexota en sistemas de tratamiento de residuos sólidos.

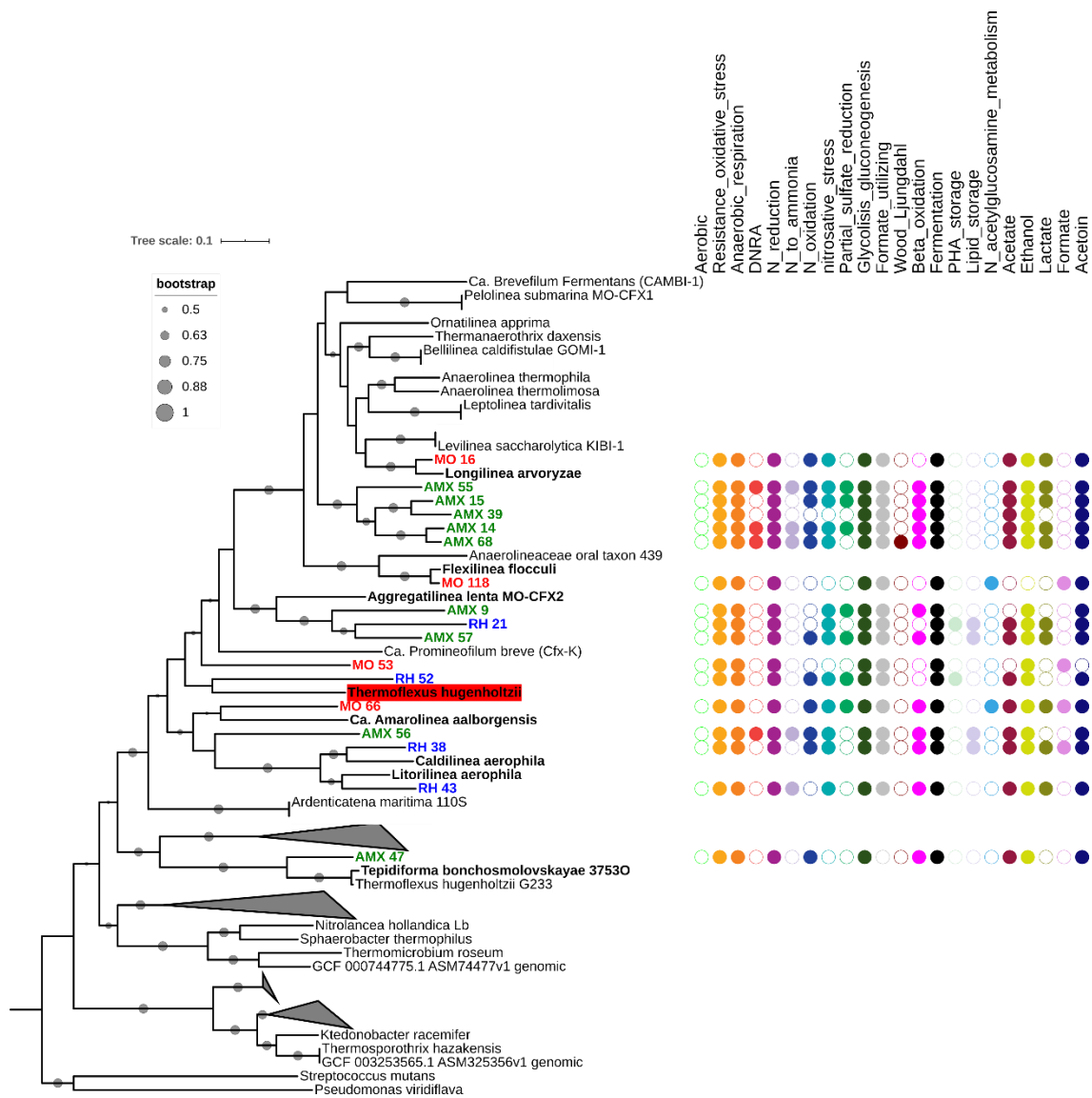


Figura 4. Árbol filogenómico a partir del alineamiento de 120 genes marcadores. Se incluyen 9 genomas ensamblado de un reactor Anammox (AMX, en verde), 4 genomas de reactor aerobio de residuos hospitalarios (RH, en azul), cuatro genomas de reactor anaerobio de una planta procesadora de malta (MO, en rojo), y 99 genomas de referencia obtenidos del NCBI. Vías metabólicas presentes en cada sistema: círculo lleno.

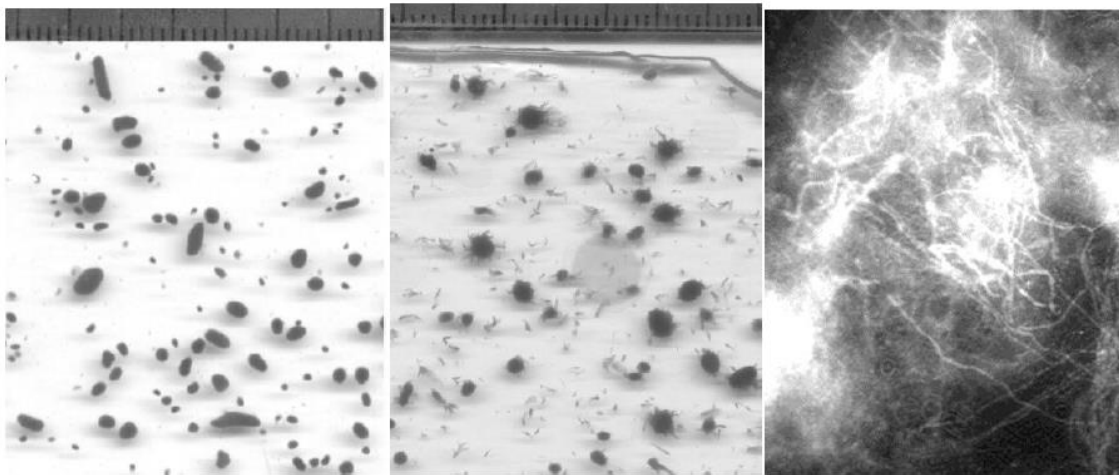


Figura 5. Bulking filamentoso en un reactor UASB de Maltería de Uruguay a) Gránulos correctamente formados b) Gránulos con sobrecrecimiento de bacterias filamentosas c) Bacterias filamentosas del filo Chloroflexota detectadas con FISH utilizando las sondas GNSB941 y CFX1223. Borzacconi et al. 2008.

Tabla 2. Reactores estudiados en nuestro laboratorio y que actualmente están en funcionamiento. Se muestra la abundancia relativa de Chloroflexota en el total de la comunidad, estudiada mediante secuenciación masiva del gen de ARNr de 16S amplificando la región V4. Por otro lado se especifica que reactores fueron estudiados por FISH y metagenómica, y a través de que financiación se obtuvieron los fondos.

		Abundancia relativa Chloroflexi (%)	FISH Metagenoma		Proveniencia de datos
Reactores anaerobios UASB	Coleme A	33	si	no	Maestría Bovio, FCE7062
	Coleme B	27	si	no	Maestría Bovio, FCE7062
	MOSA	3	si	si	Doctorado Bovio, FCE7062, FVF
	OSE ciudad de la costa	?	?	no	-
Reactores aerobios	RH	14	si	si	Doctorado Bovio, FVF, Tesis de grado Lic. Garcia
	MOSA	0,79 ; 3,62	si	no	Proyecto MIDAS, Tesis de grado Lic. Garcia
	OSE Canelones	5	no	no	Proyecto MIDAS
	Bebidas analcolicas	8	si	no	Tesis de grado Lic. Garcia

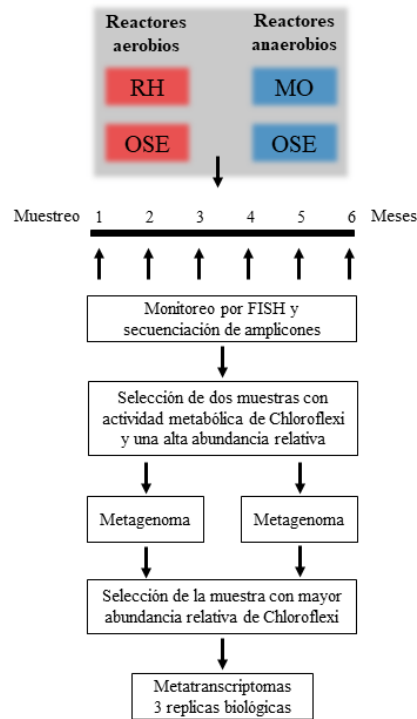


Figura 6. Estrategia de muestreo y técnicas de biología molecular aplicadas para el monitoreo del filo Chloroflexota en cada reactor

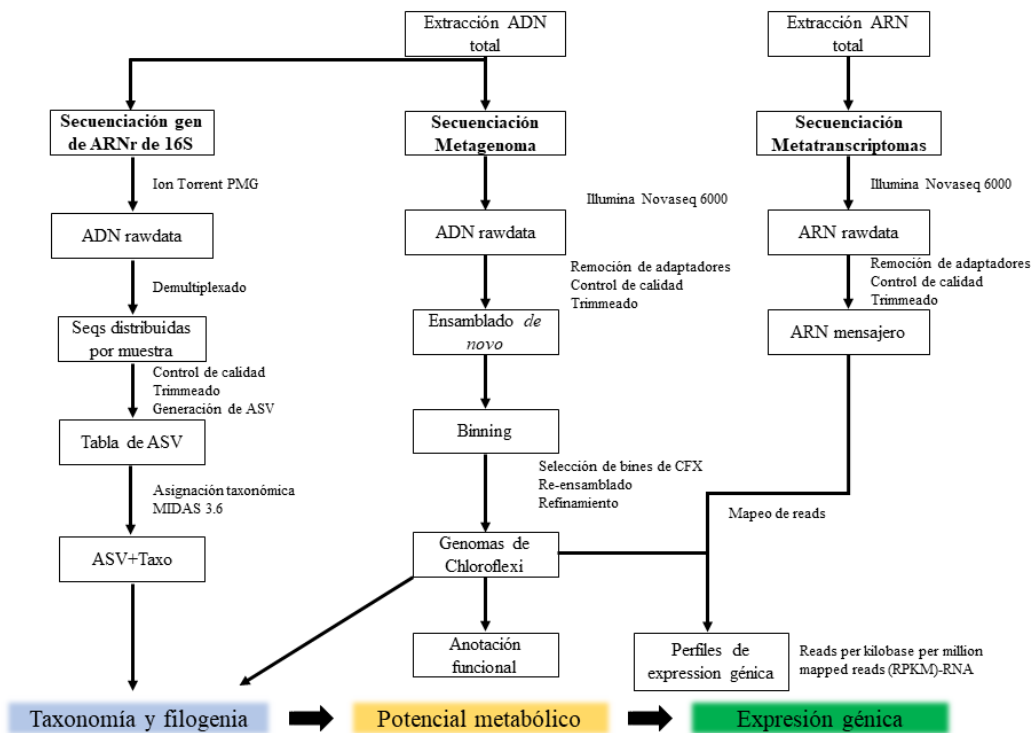


Figura 7. Esquema general del análisis bioinformático de los datos de secuenciación masiva del gen de ARNr de 16S, metagenomas y metatranscriptomas

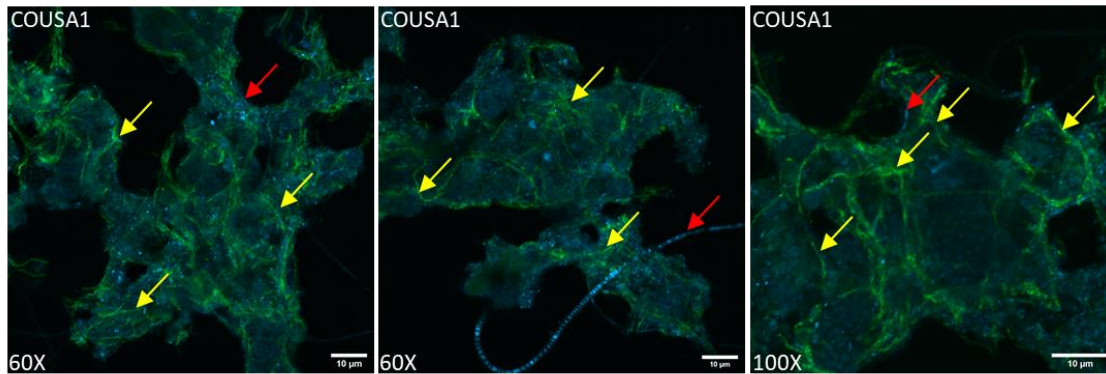


Figura 8. Micrografías obtenidas mediante la técnica de FISH con sondas específicas para el filo Chloroflexota con un microscopio láser confocal para la muestra CO1. Sonda dirigida a Chloroflexota en color verde. DAPI en color azul. Flechas amarillas indican filamentos del filo Chloroflexota, flechas rojas indican filamentos que no hibridaron con la sonda de Chloroflexota.

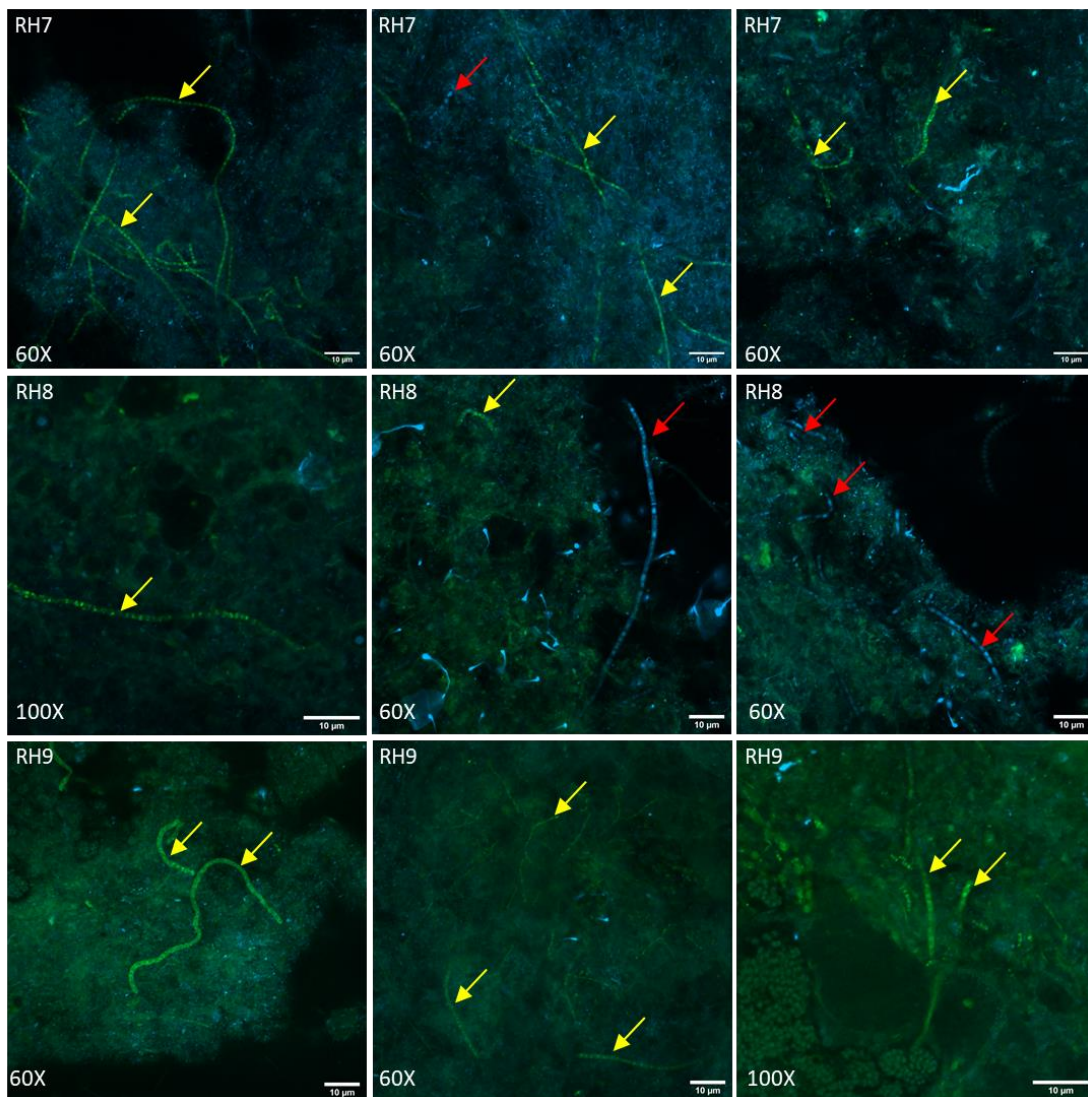


Figura 9. Micrografías obtenidas mediante la técnica de FISH con sondas específicas para el filo Chloroflexota con un microscopio láser confocal para las muestras RH7, RH8 y RH9. Sonda dirigida a Chloroflexota en color verde. DAPI en color azul. Flechas amarillas indican filamentos del filo Chloroflexota, flechas rojas indican filamentos que no hibridaron con la sonda de Chloroflexota.

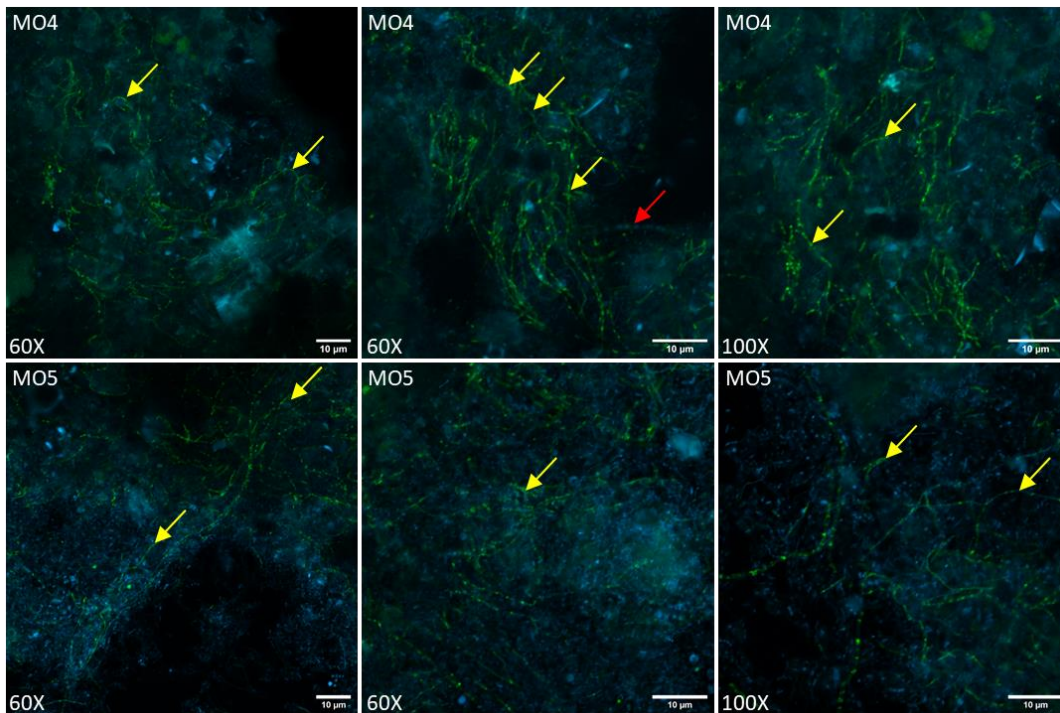


Figura 10. Micrografías obtenidas mediante la técnica de FISH con sondas específicas para el filo Chloroflexota con un microscopio láser confocal para las muestras MO4 y MO5. Sonda dirigida a Chloroflexota en color verde. DAPI en color azul. Flechas amarillas indican filamentos del filo Chloroflexota, flechas rojas indican filamentos que no hibridaron con la sonda de Chloroflexota.

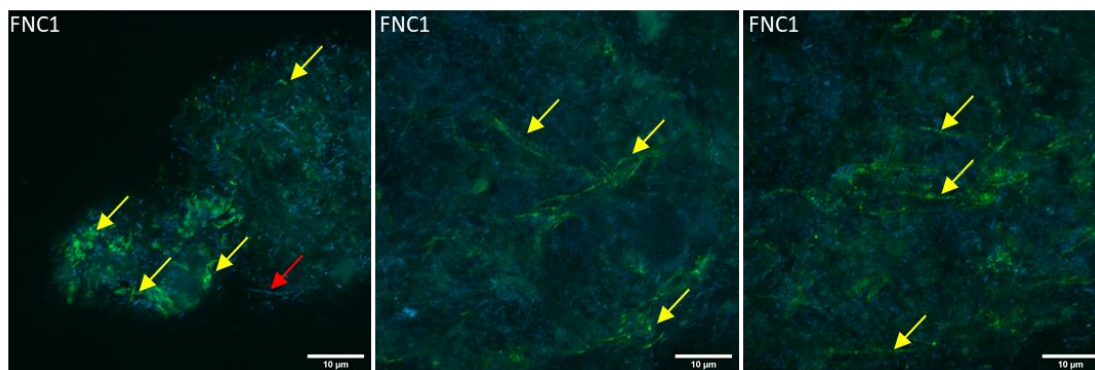


Figura 11. Micrografías obtenidas mediante la técnica de FISH con sondas específicas para el filo Chloroflexota con un microscopio láser confocal para la muestra FNC. Sonda dirigida a Chloroflexota en color verde. DAPI en color azul. Flechas amarillas indican filamentos del filo Chloroflexota, flechas rojas indican filamentos que no hibridaron con la sonda de Chloroflexota.

Total community- Phylum		Activated sludge 1						Activated sludge 2						Methanogenic 1					Methanogenic 2					
		CO1	CO2	CO3	CO4	CO5	CO6	RH7	RH8	RH9	RH10	RH11	RH12	FNC1	FNC2	FNC3	FNC4	FNC5	MO4	MO5	MO6	MO7	MO8	MO9
Proteobacteria-	88.8	86.6	65.9	82.5	73.5	28.5	44.8	20.2	51.3	27.5	48.3	29.3	0.3	1.3	2	1.8	0.7	3	2.8	3.7	2.4	5	4.9	
Firmicutes-	0.5	2.1	7.7	2.4	0.8	0.8	1.1	0.6	0.5	0.8	0.4	0.6	18.4	12.4	10.2	17.9	8.3	47.1	49.5	48.1	54.8	34.9	50.9	
Synergistota-	0.1	0.5	1.2	0.5	0.1	0.2	0.3	0.1	0	0.1	0	0	39.2	32	33.4	21	14.1	31.4	31.6	25.7	25.5	30.5	15.7	
Chloroflexi-	2.9	1.6	0.7	1.7	4.5	8.3	10.6	11.4	15	41.6	12.2	1.3	9.6	5.2	6.8	11.4	9.6	5	5.6	5.7	6	5	2.3	
Spirochaetota-	0.1	0.4	0.7	0.3	0	2.1	2.6	0.2	0.2	0.1	0.1	0.4	17.2	28.5	23.8	11.8	25.7	1.3	0.6	1.5	0.5	6.4	3.2	
Desulfobacterota-	0.4	1	2	1	0.7	2.2	0.3	2.3	1.5	1.4	2.3	0.6	7.1	10.5	14.2	21.4	23.7	2.9	3	3.5	2.9	5.2	3.8	
Dadabacteria-	0	0	0	0	0	0	6.4	36.1	5.9	5.1	1.9	27.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Planctomycetota-	2.9	3.3	10.9	2.8	3.8	9.5	2.9	9	7.6	5.9	5	5.1	0.4	0.5	1	0.9	3.8	0.7	0.5	0.5	0.5	0.4	1.1	
Acidobacteriota-	1.3	0.8	1.8	1.8	6.2	24.2	3.2	1.8	1.6	4.9	0.4	0.9	1.9	2.5	2.9	5.4	2.5	0.8	0.7	1.3	0.7	0.5	2.4	
Patescibacteria-	0	0.1	0.1	0.1	0.7	5.6	4.1	6.3	4.7	5.3	11	24.2	0.2	0.1	0.1	0	0.4	1	1	2	1.1	1.2	1.5	
Verrucomicrobiota-	0.6	0.6	1.5	2.6	2.9	5.7	1.2	1.4	0.6	1.2	0.2	2.9	0.3	0.8	0.8	1.1	0.9	2.6	1.7	3.4	2.5	4.4	8.5	
Bacteroidota-	0.3	0.7	4	2	0.9	6.5	5.1	0.6	0.6	0.3	0.1	1.8	2.9	1.2	0.3	1	0.6	0.1	0.2	0.1	0.3	0.1	0.5	
Bdellovibrionota-	0.7	1	1.9	0.8	1.3	2.4	11.4	2.2	1.6	0.7	3	0.5	0	0	0.1	0.1	0	0.1	0	0.1	0	0.2	0.1	
Myxococcota-	0.4	0.3	0.2	0.5	0.5	0.5	1.4	2.4	3.7	2.3	8.3	0.3	0.1	0	0.2	0.1	0.5	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0	
Actinobacteriota-	0.3	0.2	0.6	0.3	2.6	0.7	1.1	1.2	2.3	0.4	0.3	0.1	0.3	0.2	0.2	0	0.3	0.8	0.9	0.7	1.4	0.4	0.3	
Remaining taxa (31)-	0.7	1	0.9	0.8	1.6	2.9	3.5	4.2	2.8	2.5	6.5	4.8	2.2	4.8	4.1	6.1	8.9	3	1.8	3.5	1.4	5.6	4.7	

Figura 12. Analisis de la comunidad total a nivel de filo de las muestras de CO, RH, FNC y MO a partir de la secuenciacion del gen de ARNr 16S.

Total Chloroflexi- Class		Activated sludge 1						Activated sludge 2						Methanogenic 1					Methanogenic 2					
		CO1	CO2	CO3	CO4	CO5	CO6	RH7	RH8	RH9	RH10	RH11	RH12	FNC1	FNC2	FNC3	FNC4	FNC5	MO4	MO5	MO6	MO7	MO8	MO9
Anaerolineae-	72.6	61.8	43.8	79.5	48	89.8	91.9	85.8	95.1	98.5	95.4	70.1	99.3	100	98.7	100	100	92.9	93.2	93.8	96.2	95.1	83.5	
Chloroflexia-	21.1	22.9	34.2	14.7	38.5	5.5	1.9	8.9	3.2	0.9	2.9	5.4	0	0	0	0	0	0.4	1.8	0.5	0	0.5	1.2	
Dehalococcoidia-	2.2	7.1	12.3	0	3.9	2.6	1.6	2.3	0.3	0.1	0.4	4.8	0.3	0	0.3	0	0	6	3.3	5.1	3.5	2.4	14.9	
OLB14-	2.8	8.2	4.1	4.2	4.5	1.6	2.5	1.4	0.8	0.3	0.9	2	0.2	0	0	0	0	0	0.3	0	0	0	0.4	
p__Chloroflexi_ASV8312-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
KD4-96-	0	0	5.5	1.1	4.7	0	0.3	0.3	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
p__Chloroflexi_ASV8314-	0	0	0	0	0	0	1.5	0.9	0.5	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Remaining taxa (13)-	1.3	0	0	0.5	0.4	0.4	0.2	0.3	0.1	0	0.4	0	0.2	0	1.1	0	0	0.7	1.5	0.6	0.3	2	0	

Figura 13. Analisis de la comunidad total a nivel de clase dentro del filo Chloroflexota de las muestras de CO, RH, FNC y MO a partir de la secuenciacion del gen de ARNr 16S.

Tabla 2. Características de los genomas ensamblados del filo Chloroflexota

Genoma	Complejidad	Contaminacion	Tamaño (Mb)	Clase	Orden	Familia	Genero	Especie
CO4	97,11	7,21	7,9	Anaerolineae	Promineofilales	Promineofilaceae	JACSRF01	s__JACSRF01 sp014879875
FNC27	96,6	7,11	2,5	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	UBA4781	s__UBA4781 sp012797975
FNC19	86,89	3,85	1,8	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	T78	s__
MO4	93,34	7,31	5,3	Anaerolineae	CG2-30-64-16	CG2-30-64-16	MWBF01	s__
MO18	84,54	6,87	4,4	Anaerolineae	CG2-30-64-16	CG2-30-64-16	MWBF01	s__
MO49	78,08	3,58	2,4	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Longilinea	s__
MO51	68,53	2,49	3,2	Anaerolineae	CG2-30-64-16	CG2-30-64-16	MWBF01	s__
MO55	53,29	7,01	1,6	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	Flexilinea	s__
MO72	50,15	2,38	1,2	Anaerolineae	Anaerolineales	Anaerolineaceae	UBA4781	s__
RH16	98,88	3,05	4,7	Anaerolineae	Anaerolineales	EnvOPS12	OLB14	s__
RH70	96,85	1,21	3,7	Anaerolineae	Anaerolineales	EnvOPS12	OLB14	s__
RH47	94,1	1,62	3,8	Dehalococcoidia	Tepidiformales	Tepidiformaceae	41671,0	s__
RH56	85,13	9,4	3,6	Anaerolineae	Anaerolineales	EnvOPS12	OLB14	s__OLB14 sp002343775
RH73	74,39	2,88	5,4	Anaerolineae	Anaerolineales	JABWBV01	JABWBV01	s__JABWBV01 sp013359445
RH61	63,08	5,36	5,0	Anaerolineae	Promineofilales	Promineofilaceae	GCA-2699125	s__
RH81	49,77	5,79	3,4	Anaerolineae	Anaerolineales	UBA6663	SpSt-583	s__
RH15	43,16	1,81	2,1	Anaerolineae	Anaerolineales	EnvOPS12	OLB14	s__
RH82	40,97	0,37	2,5	Anaerolineae	Aggregatilinales	Phototrophicaceae	OLB15	s__

