



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS DEL METAMETALOMA EN LOS TAPETES
MICROBIANOS DE DOMOS DEL ARQUEANO, CUATRO
CIÉNEGAS, COMO RECAPITULACIÓN DEL USO DE
METALES A LO LARGO DE LA HISTORIA DE LA TIERRA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA

PRESENTA:

DAVID MADRIGAL TREJO

TUTORA:

LIC. JAZMÍN SÁNCHEZ PÉREZ

Ciudad de México, México, 2022





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A Norma y a mi mamá, los pilares de mi vida.

Agradecimientos

Son incontables los seres, momentos y sitios a los que les tengo un profundo sentimiento de gratitud. Así, aprovecho esta sección para particularizar algunos agradecimientos pertinentes al presente trabajo.

A mi mamá y a Norma, quienes han sido lo más excepcional e importante para mí. Este trabajo es una pequeña retribución a todo lo que he ganado al crecer con ustedes, pues todo lo que he soñado desde niño se ha vuelto una realidad a su lado.

A Saúl P., a quien tanto admiro y se ha vuelto parte fundamental en mi vida. Su compañía y apoyo, tanto emocional como académico, han sido un componente crítico para la elaboración de este proyecto.

A la UNAM, que me ha dado la oportunidad de estudiar mi licenciatura y me ha dado muchas más lecciones de las que me hubiera podido imaginar. Por permitirme expandir mis ambiciones con libertad y por su hospitalidad dentro y fuera de la Facultad de Ciencias.

Al Dr. Alejandro Heredia, Dra. Elizabeth Chacón y Dra. Lilia Montoya, por sus valiosos comentarios para el refinamiento de este trabajo.

A Laura E., por ser mi primer acercamiento al laboratorio y por ser un nexo importante para que yo pudiera elaborar este trabajo. Por siempre ser un apoyo para mí desde el primer día de servicio social hasta el día de hoy.

A Jazmín S., por ser una excelente tutora de tesis y por compartirme su conocimiento y pensamiento crítico. Estas enseñanzas las llevo muy en alto y ahora rigen mi forma de razonar.

A la Dra. Valeria Souza, por abrirme las puertas a su laboratorio y por permitirme crecer académicamente durante mi estadía en él. Por transmitirme su conocimiento y pasión que han influido en mí para continuar trabajando estos temas.

Finalmente, a Cuatro Ciénegas, por permitirme trabajar mi tesis en este sitio y por mostrarme de sus encantadores y fascinantes secretos.



Figura 1: Domos del Arqueano, Cuatro Ciénegas, durante el muestreo de septiembre de 2021

Introducción

“... La naturaleza de la vida y su origen y desarrollo solo pueden ser estudiados a la luz de su indisoluble asociación”

- A. I. Oparin

Los seres vivos “son” el entorno. A pesar de la separación epistemológica entre lo vivo y el ambiente donde prolifera, la vida es fundamentalmente incomprendida al pretender diseccionarla desde un enfoque reduccionista; una práctica heredada de la física. Con la génesis de la química orgánica se ha sembrado la concepción de que la química de la vida es reducible a un conjunto muy pequeño de elementos: CHONPS. Así, los metales de transición, elementos comúnmente asociados con minerales y rocas, entidades carentes de vida, parecieran no tener relación alguna con lo vivo *prima facie*. Nada estaría más alejado de la realidad. Los metales traza cumplen con funciones imprescindibles en la vida como la conocemos. Estos han sido sujetos a cambios de escala planetaria a lo largo de eones de tiempo, moldeando a los sistemas biológicos desde su origen hasta la actualidad, desde células hasta biomas.

Este trabajo busca ser una apología a la transdisciplina; la convergencia de las ciencias de la Tierra desde sus distintas esferas enfocadas al estudio de laboratorios naturales: los tapetes microbianos. Hoy más que nunca, el estudio de estos ecosistemas promete guardar información clave sobre el pasado y el futuro, tanto la Tierra precámbrica como el actual cambio climático global. ¿Qué clase de secretos nos susurran estos sitios, y qué retos conlleva su interpretación?

En este proyecto, se propone la integración de la bioinformática de metaloproteínas como un acercamiento novedoso para la ecología microbiana, con un potencial astrobiológico importante. Particularmente, se infiere el metametaloma, conjunto de iones metálicos y metaloproteínas a nivel comunidad, del sitio de tapetes microbianos: Domos del Arqueano, Cuatro Ciénegas. A través de la abundancia relativa de genes, se sugiere a Domos del Arqueano como un análogo al arqueano tardío, con un empobrecimiento de Cu relativo a Fe, Zn, Mo, Co, Ni y W, impactando el ciclado de nutrientes a nivel local en rutas metabólicas conocidas por su dependencia al Cu.

La presente tesis se divide en tres partes. La parte I, marco teórico, pretende mostrar una revisión de antecedentes de interés en este trabajo. En el capítulo 1 se hace un breve paseo por la Tierra precámbrica, registrando algunos de los eventos más importantes que han dirigido la coevolución Tierra-vida; se hace una inspección a detalle en las transiciones de biodisponibilidad de iones metálicos, sus debates e incertidumbres. El capítulo 2 se centra en

el papel de los metales en la vida, su distribución y función en metalomas contemporáneos, así como su relevancia en el origen y evolución de la vida. El capítulo 3 expone a los tapetes microbianos como máquinas del tiempo para estudiar a la vida antigua, con particular énfasis en la cuenca de Cuatro Ciénegas y Domos del Arqueano. La parte II muestra los objetivos y la metodología empleada en este trabajo en los capítulos 4 y 5 respectivamente. Finalmente, la parte III presenta los resultados en el capítulo 6 y la discusión en el capítulo 7, con la integración de perspectivas y reflexiones asociadas. Esta tesis cierra con el capítulo 8, donde se presenta una serie de conclusiones generales sobre el trabajo expuesto.

Acrónimos y Glosario

Acrónimos

ASV Variante de secuencia de amplicón. 53

BIF Formación de hierro bandeado. 10

C Carbono. 23, 32, 40, 51, 53, 91

CAIs Inclusiones ricas en calcio-aluminio. 3

CCC Cuenca de Cuatro Ciénegas. 51–53, 57

Co Cobalto. 11, 13, 14, 23, 28–30, 35, 36, 77, 78, 80, 82, 85, 87, 93, 94

Cu Cobre. 14, 23, 29–31, 35, 37, 39, 40, 77, 78, 82, 85, 91–96, 103

DA Domos del Arqueano. 53, 54, 56, 57, 77, 78, 80–82, 85, 87, 91–93, 95

Fe Hierro. 6, 7, 10–12, 23, 26, 27, 29, 30, 32, 33, 35–37, 39, 40, 77, 78, 80, 82, 85, 87, 88, 91, 93, 94, 96

FI Formaciones de hierro. 7, 10–15

GOE Gran Evento Oxidativo. 6–8, 11, 12, 14, 37, 53, 92, 94

GSSP Sección estratotipo y punto de límite global. 3

H Hidrógeno. 23

ICS Comisión internacional de estratigrafía. 3

LUCA Último ancestro común universal. 6, 35

MISS Estructura sedimentaria inducida por microbios. 49, 94

Mo Molibdeno. 11, 12, 15, 29, 31–33, 35, 37, 39, 40, 77, 78, 80, 82, 85, 87, 88, 93–96

MoCo Cofactor de molibdeno. 32, 33, 80, 81, 85

MpM Metaloproteínas monometálicas. 69, 77

MpP Metaloproteínas polimetálicas. 69, 71, 77, 87

N Nitrógeno. 14, 23, 28, 40, 51, 53, 91

Ni Níquel. 12, 23, 28–30, 35, 39, 40, 77, 78, 80, 85, 87, 93, 94

NOE Evento oxidativo del Neoproterozóico. 8, 13, 92

O Oxígeno. 23

OTU Unidad taxonómica operativa. 54

P Fósforo. 23, 51–53

PAL Nivel atmosférico actual. 6, 8

PDB Protein Data Bank. 77, 80

S Azufre. 23, 32, 40

W Tungsteno. 15, 33, 35, 39, 40, 77, 78, 81, 82, 85, 87, 88, 93, 94, 96

Zn Zinc. 13, 14, 23, 27–31, 35–37, 39, 77, 78, 81, 82, 85, 88, 93

Glosario

Adecuación Éxito reproductivo y de supervivencia de un individuo, población o comunidad biológica. 47

Euxinia Condición en la columna de agua que se caracteriza por la ausencia de oxígeno y altos niveles de ácido sulfhídrico (H_2S). 8, 11–14

Evolución química Evolución basada en procesos químicos, no biológicos, que comprenden la transición gradual de compuestos inorgánicos simples a compuestos orgánicos complejos. 6, 34

Fraccionamiento isotópico Procesos a través de los cuales la composición isotópica de un elemento de un determinado compuesto cambia por medio de la transición de este compuesto de un estado físico o de una composición química a otra. 7, 94

Intemperismo Alteración *in situ* de los materiales rocosos debido a la actividad física, química o biológica. 7, 8, 11, 12, 14, 92, 94

Metalicidad Concepto astrofísico utilizado para describir la abundancia relativa de elementos más pesados que el helio en una estrella. 3

Metaloma Conjunto intracelular de iones metálicos, metaloproteínas, metaloenzimas y biomoléculas que contienen metales. 23, 77, 78, 82, 92

Metametaloma Conjunto de iones metálicos, metaloproteínas, metaloenzimas y biomoléculas que contienen metales a nivel comunidad biológica. 77, 78, 93

Presión de selección Cualquier causa que reduzca el éxito reproductivo de una población o comunidad en una proporción significativa. 36, 51

Sección estratotipo y punto de límite global Es una sección estratigráfica de reconocimiento internacional que funge como referente para la delimitación del límite inferior de un piso en la tabla cronoestratigráfica internacional. 3

Índice general

Introducción	v
Acrónimos y Glosario	vii
I Marco Teórico	1
1 La Evolución del Planeta Tierra y sus Metales	3
1.1 Eventos Principales en la Tierra Precámbrica	3
1.1.1 La Tierra Primitiva: El Hadeano y Arqueano	3
1.1.2 El Gran Evento Oxidativo	6
1.1.3 Hacia la Base el Fanerozoico: El Proterozoico	7
1.2 Transiciones en la Biodisponibilidad de Metales a lo largo del Tiempo Geológico	8
1.2.1 Hierro	10
1.2.2 Molibdeno	11
1.2.3 Níquel	12
1.2.4 Zinc	13
1.2.5 Cobalto	13
1.2.6 Cobre	14
1.2.7 Tungsteno	15
2 Interacciones Bioinorgánicas a través de los Eones	23
2.1 La Química de la Vida: El Metaloma	23
2.1.1 Proteínas Dependientes de Hierro	26
2.1.2 Proteínas Dependientes de Zinc	27
2.1.3 Proteínas Dependientes de Níquel	28
2.1.4 Proteínas Dependientes de Cobalto	29
2.1.5 Cuproproteínas	30
2.1.6 Molibdoproteínas	32
2.1.7 Tungstoproteínas	33
2.2 Vida que Brota de las Rocas: Los Metales en la Emergencia de los Sistemas Celulares	34
2.3 Los Metales en la Evolución de la Vida	36
2.4 Limitantes en la Bioinformática de Metales	40

3	Tapetes Microbianos: Una Ventana al Pasado	47
3.1	Memorias del Precámbrico en Rocas y en Comunidades Modernas	48
3.2	Cuatro Ciénegas y los Domos del Arqueano	51
3.2.1	La Cuenca de Cuatro Ciénegas: Un Mundo Perdido	51
3.2.2	Los Domos del Arqueano: Un Análogo al Precámbrico	53
II	Objetivos y Metodología	63
4	Objetivos	65
4.1	Objetivo General	65
4.2	Objetivos Particulares	65
5	Metodología	67
5.1	Descripción del Metametaloma	67
5.1.1	Adquisición de Datos Experimentales	67
5.1.2	Adquisición de Datos de Referencia	68
5.1.3	Búsqueda de Genes Homólogos	69
5.1.4	Anotación Taxonómica y Funcional	69
5.1.5	Normalización de Datos y Análisis Estadísticos	70
5.2	Metaloproteínas en Rutas Metabólicas	70
III	Resultados y Discusión	75
6	Resultados	77
6.1	El Metametaloma de Domos del Arqueano	77
6.2	El Metabolismo de Domos del Arqueano	87
7	Discusión y Perspectivas	91
7.1	Empobrecimiento de Cobre y su Impacto en la Biogeoquímica Local	91
7.2	Las Comunidades Microbianas Reflejan los Requerimientos Metálicos del Pre-Neoproterozoico	92
7.3	¿Vestigios Hidrotermales?: el uso de Tungsteno, Níquel y Cobalto	93
7.4	Enriquecimientos de Genes asociados a Molibdeno previo al GOE	93
7.5	Reimaginando Domos del Arqueano	94
7.6	Perspectivas del Metametaloma en Domos del Arqueano	96
7.7	El Metametaloma: Estudiando a las Comunidades bajo una Nueva Perspectiva	96
7.8	Metales Traza como Posible Biofirma: Implicaciones Astrobiológicas	97
8	Conclusiones Generales	103
	Anexos	105

Índice de figuras

1	Domos del Arqueano, Cuatro Ciénegas, durante el muestreo de septiembre de 2021 . . .	IV
1.1	División geocronológica actual del Precámbrico reconocida por la ICS basada en Plumb y James (1986) y Plumb (1991). Todas las divisiones del Precámbrico son datadas geocronométricamente a excepción de la base del Ediacárico, la cual está marcada por un GSSP. Próximamente se actualizarán las bases del Sidérico y Criogénico para ser marcadas por un GSSP. Imagen modificada de: Van Kranendonk et al. (2012)	4
1.2	Abundancias elementales del sistema solar relativas a 10^6 átomos de Si en función del número de masa (denotado por A). Átomos con masas pares son más abundantes relativo a aquellos átomos adyacentes con masas impares (regla Oddo-Harkins). Imagen modificada de: Palme et al. (2013).	5
1.3	Evolución del contenido de oxígeno atmosférico a través del tiempo. El eje derecho muestra la presión parcial de O_2 respecto a niveles atmosféricos presentes (PAL). El eje izquierdo muestra la presión parcial de O_2 en escala logarítmica. La curva roja muestra la visión clásica en la evolución atmosférica. La curva azul muestra un modelo emergente, mostrando posibles exhalaciones de O_2 previo al GOE e incertidumbres asociadas a las transiciones mayores (GOE y NOE). Imagen modificada: Lyons et al. (2014)	7
1.4	Evolución de la estructura redox del océano. <i>a)</i> Océano Arqueano, <i>b)</i> océano Proterozoico temprano/medio, <i>c)</i> océano Proterozoico tardío/Fanerozóico. Los recuadros muestran perfiles de O_2 (azul), H_2S (verde) y Fe^{2+} (rojo); también se muestra el flujo de C orgánico en dirección costa afuera y su impacto en el perfil redox en la columna de agua. Flechas dobles muestran expansión/contracción de condiciones ferruginosas/sulfídicas en zonas de alta productividad oceánica (i.e., hacia los márgenes/costas). Imagen modificada: Lyons et al. (2014)	9
1.5	Transiciones en la concentración de metales de interés para este estudio a través de cambios en la química redox en el océano. En la figura se muestra una perspectiva actual integrada por el registro sedimentario, el modelado geoquímico y la filogenómica comparada. Imagen modificada: Robbins, Lalonde, Planavsky et al. (2016)	10
2.1	Tabla periódica de los elementos, señalando su papel en los sistemas biológicos. Nótese los metales traza, donde la gran mayoría de ellos son esenciales para los organismos. Imagen modificada de: Madigan et al. (2019)	24
2.2	Similitud estructural entre minerales y centros metálicos de algunas metaloenzimas. Se muestra el índice de similitud sobre las flechas. Imagen modificada: Zhao et al. (2020) . .	36

2.3	Comparación entre estructuras que rodean a un ión metálico de Fe que catalizan la dismutación del H_2O_2 . <i>a)</i> Fe^{3+} hidratado, <i>b)</i> Fe dentro de porfirina (grupo hemo), <i>c)</i> grupo hemo dentro de la enzima catalasa. Este modelo aplicable a otras metaloproteínas visualiza la ventaja que confieren algunos péptidos (y estructuras organometálicas) hacia una selección positiva hacia la construcción de pliegues de mayor peso molecular y mayor actividad catalítica. Imagen modificada: Belmonte y Mansy (2016)	37
2.4	Coevolución de la vida y el sistema océano-atmósfera. <i>a)</i> Evolución de la presión parcial de O_2 relativo a los niveles atmosféricos actuales (PAL). En esta se muestran posibles exhalaciones locales de O_2 , el Gran Evento Oxidativo (GOE) durante el Paleoproterozoico y el Evento Oxidativo del Neoproterozoico (NOE). Se muestran también en letras grises la proporción (a escala) de donadores y aceptores de electrones relevantes en función de la oxigenación planetaria. Incertidumbres de incrementos y decrementos en la concentración de O_2 se indican con signos de interrogación. <i>b)</i> Modelo de la evolución temprana de la vida, destacando algunos metabolismos de importancia evolutiva. Las líneas punteadas indican incertidumbres en el registro sedimentario/fósil. <i>c)</i> Reconstrucción tentativa de la evolución de la geoquímica marina. En este modelo, la mayoría del Arqueano estuvo dominado por un océano anóxico ferruginoso con posibles exhalaciones locales de O_2 . Condiciones de euxinia se formaron en márgenes oceánicos debido a la reducción microbiana de sulfatos por intemperismo oxidativo de los continentes. El NOE indujo a la oxigenación del mar profundo, aunque pulsos locales/temporales de oxigenación previos son posibles. Incertidumbres en el estado redox oceánico son indicados por signos de interrogación. Imagen modificada: Moore, Jelen et al. (2017) y Lepot (2020)	38
3.1	Diagrama simplificado de la distribución funcional de grupos representativos en tapetes microbianos. A la izquierda se muestra una serie de mediciones representativas de O_2 y H_2S a profundidad durante los ciclos día-noche, en conjunto con la penetración de la luz solar a distintas longitudes de onda. B=azul, G=verde, Y=amarillo, O=naranja, R=rojo. Imagen modificada de Rich y Maier (2015)	48
3.2	Comparación morfológica entre tapetes microbianos modernos y tapetes microbianos del Precámbrico. <i>a)</i> Tapetes fósiles del grupo Moodies (3.2 Ga) preservados en laminaciones carbonáceas en areniscas. <i>b)</i> Tapetes modernos de Domos del Arqueano, Cuatro Ciénegas; la estratificación de nicho diferencial es notable en la coloración de los estratos. Fotografías: <i>a)</i> Homann et al. (2015), <i>b)</i> David Jaramillo	49
3.3	Potencial correlación entre transiciones metabólicas fundamentales y cambios en el estado redox atmosférico a lo largo de la historia de la Tierra. <i>a)</i> Distribución espacial de rutas energéticas y de asimilación a lo largo de un gradiente redox vertical en Salar de la Llamara, Chile. <i>b)</i> Transiciones en la concentración de oxígeno atmosférico a lo largo del tiempo. BC=bacterioclorofila, PRC=centro de fotoreacción, DC/HB=dicarboxilato/hidroxibutirato, HP/HB=3-hidroxipropionato,4-hidroxibutirato, RHP=hexulosa fosfato reductiva, rTCA=ciclo de los ácidos tricarbóxicos reverso, ACL=citrato liasa dependiente de ATP. Imagen modificada de Gutiérrez-Preciado et al. (2018)	50
3.4	Cuenca de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. En la imagen se muestran los principales sistemas de pozas, canales y la distribución de humedales originalmente presente en el valle. Imagen modificada de Pérez Ortega (2020).	52

3.5	<i>a)</i> Cuenca de Cuatro Ciénegas, Coahuila; en el recuadro se señala la ubicación de la poza Domos del Arqueano, dentro del rancho de Pozas Azules. <i>b)</i> Imagen aérea de Domos del Arqueano durante el muestreo de 2019 (época de húmedas). Fotografía: Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, UNAM	54
3.6	Rasgos de Domos del Arqueano durante época de lluvias <i>a),b),c)</i> y época de secas <i>d),e),f)</i> . <i>a)</i> Domos del Arqueano durante el muestreo de 2017, <i>b)</i> detalle de los domos y <i>c)</i> detalle de los círculos naranja sumergidos en agua. <i>(e)</i> Mismo sitio durante el muestreo de 2019, <i>d)</i> detalle de círculos naranja evaporados y <i>f)</i> el interior de un domo rígido por la costra de sal. Fotografías: Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, UNAM	55
3.7	Distribución de especies procariontes descritas en Domos del Arqueano y otros sitios destacados por su abundancia en arqueas. Domos del Arqueano notablemente muestra una alta diversidad de procariontes, tanto en arqueas como bacterias. Imagen modificada de Pérez Ortega (2020).	56
6.1	Correlograma pareado entre los distintos metales estudiados. En la región triangular inferior se muestran gráficas de dispersión y líneas de tendencia ajustadas con un modelo lineal; las áreas sombreadas corresponden a intervalos de confianza (95 %). En la región triangular superior se muestran coeficientes de correlación de Pearson para cada par de metales.	78
6.2	Distribución del número de genes estructurales proteínicos que ligan metales en los metagenomas de Domos del Arqueano. Los rombos representan datos individuales para cada metagenoma. La abundancia es presentada como número de cuentas por <i>query</i> normalizado al tamaño del metagenoma. Con asterisco se muestran los grupos que presentan diferencias significativas relativo a los demás grupos.	79
6.3	Funciones moleculares más abundantes entre los distintos metales. La abundancia está representada como abundancia promedio normalizada por metal.	83
6.4	Procesos biológicos más abundantes entre los distintos metales. La abundancia está representada como abundancia promedio normalizada por metal.	84
6.5	Distribución de metaloproteínas a través de los phyla presentes en Domos del Arqueano. La proporción de las barras se presenta en escala logarítmica.	86
6.6	Distribución de metaloproteínas en rutas metabólicas energéticas presentes en Domos del Arqueano. Los metabolismos están designados según los módulos metabólicos de KEGG. Los nombres en azul muestran rutas metabólicas dependientes de O ₂ , mientras que los nombres en rojo muestran rutas independientes de O ₂ . RA=respiración aeróbica	87
6.7	Metales traza utilizados en rutas metabólicas energéticas para distintas clases procariontes. A la izquierda se muestra un árbol de la vida en conjunto con una escala del tiempo geológico y la oxigenación de la atmósfera a lo largo del tiempo. a la derecha se muestran metabolismos asociados a dichas clases y los distintos metales empleados en ellos. 3-HP=3-Hidroxipropionato	89
7.1	Domos del Arqueano como un sitio análogo al Arqueano tardío. La colonización por parte de las cianobacterias genera exhalaciones de oxígeno a nivel local mientras la atmósfera y el interior del tapete permanecen anóxicos. El incremento de Mo y mínimamente en Cu, permiten explorar/potenciar metabolismos que contribuyen al ciclado aeróbico de elementos. En la figura se muestra una simplificación de los posibles procesos presentes en dichas comunidades.	95

A1	Dominios conservados (Pfam) de mayor abundancia en metaloproteínas de Co, Cu, Fe, Mo, Ni, W y Zn presentes en Domos del Arqueano. Las abundancias están reportadas como promedio de abundancia de dominios conservados.	109
A2	Distribución de los phyla más abundantes en función del uso de metales. Se puede observar una distribución taxonómica cohesiva entre los distintos metales.	110
A3	Distribución de uso de metales en clases taxonómicas pertenecientes a los phyla más abundantes en Domos del Arqueano (Proteobacteria, Euryarchaeota, Firmicutes, Bacteroidetes).	112
A4	Anotación funcional KEGG por metal, mostrando rutas y procesos de mayor generalidad.	113
A5	Anotación funcional KEGG por metal para metaloproteínas polimetálicas. Es destacable la fijación de nitrógeno, donde domina la nitrogenasa de cofactor Mo-Fe.	114

Parte I

Marco Teórico

Capítulo 1

La Evolución del Planeta Tierra y sus Metales

1.1. Eventos Principales en la Tierra Precámbrica

El Precámbrico consiste en una división informal de la escala del tiempo geológico que contiene a los eones hadeano (informal, no reconocido por la ICS), arqueano y proterozoico. Comprende el intervalo de los 4567 Ma hasta los 541 (± 1) Ma, que corresponde a más del 88 % de la historia de la Tierra (Stanley y Luczaj, 2015). La subdivisión actual que se tiene del Precámbrico está dada por unidades geocronológicas, i.e., definidas cronométricamente basadas en promedios de mínimos en la actividad tectónica global (Plumb y James, 1986; Plumb, 1991), a excepción de la base del periodo ediacárico, y próximamente, los periodos criogénico y sidérico, que están marcados por un GSSP (Sección estratotipo y punto de límite global) (*International Commission on Stratigraphy*, <https://stratigraphy.org/>). Actualmente, se busca reevaluar la subdivisión del Precámbrico en términos de unidades cronoestratigráficas delimitadas principalmente por eventos geobiológicos (Van Kranendonk et al. 2012). En la Figura 1.1, se muestra la actual subdivisión geocronológica del Precámbrico a la cual se hace referencia en el presente trabajo.

1.1.1. La Tierra Primitiva: El Hadeano y Arqueano

El sistema solar, según la hipótesis nebular, surge del colapso gravitacional de una nube molecular de gas y polvo, producto de una explosión supernova (Gritschneider et al. 2012), para dar origen al Sol, la única estrella del sistema solar (con metalicidad de $Z_{\odot} = 0.0196 \pm 0.0014$) (Vagnozzi, 2019; Palme et al. 2013). La composición del sistema solar, directamente relacionado con la metalicidad estelar, refleja el favorable sitio en el que el sistema solar se encuentra dentro de la vía láctea (Suthar y McKay, 2012). En la Figura 1.2, se puede observar la abundancia elemental en el sistema solar, la materia prima para la construcción de planetas, y eventualmente, la vida. A partir de la nube de gas, grano a grano se fueron condensando los primeros sólidos del sistema solar, los CAIs y los agregados ameboides de olivino entre 4567.1-4568.3 Ma, seguido de condros y otros materiales que conforman a las condritas pri-

Eón	Era	Periodo	Edad (Ma)	
Fanero-zoico	Cenozoico		66	
	Mesozoico		252	
	Paleozoico		541-	
Precámbrico	Neo-proterozoico	Ediacárico	635	
		Criogénico	850	
		Tónico	1000	
		Meso-proterozoico	Esténico	1200
			Ectásico	1400
			Calímico	1600
	Paleo-proterozoico	Estatérico	1800	
		Orosírico	2050	
		Riácico	2300	
		Sidérico	2500	
	Arqueano	Neo-arqueano	2800	
		Meso-arqueano	3200	
		Paleo-arqueano	3600	
Eo-arqueano		4000		
Hadeano (informal)			4568	

Figura 1.1: División geocronológica actual del Precámbrico reconocida por la ICS basada en Plumb y James (1986) y Plumb (1991). Todas las divisiones del Precámbrico son datadas geocronométricamente a excepción de la base del Ediacárico, la cual está marcada por un GSSP. Próximamente se actualizarán las bases del Sidérico y Criogénico para ser marcadas por un GSSP. Imagen modificada de: Van Kranendonk et al. (2012)

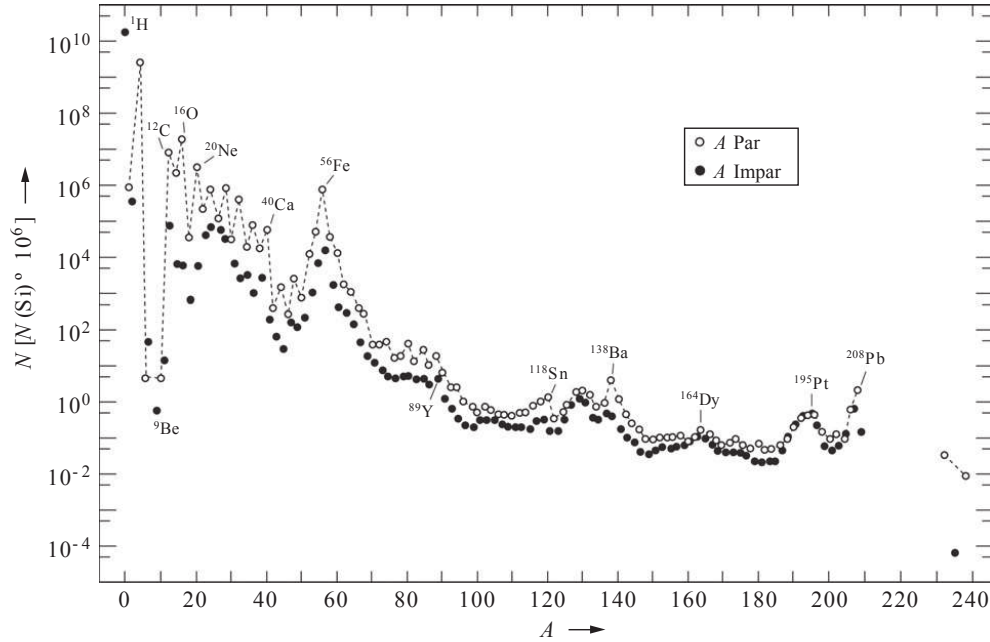


Figura 1.2: Abundancias elementales del sistema solar relativas a 10^6 átomos de Si en función del número de masa (denotado por A). Átomos con masas pares son más abundantes relativo a aquellos átomos adyacentes con masas impares (regla Oddo-Harkins). Imagen modificada de: Palme et al. (2013).

mitivas (Davis et al. 2003; Krot et al. 2013; Van Kranendonk et al. 2012). Precisamente, la datación radiométrica de estos componentes dentro de condritas carbonáceas ha dado lugar al fechamiento del origen del planeta Tierra al $T_0=4567\pm 1$ Ma (Davis et al. 2003). Subsecuentemente, a 500,000 años después de T_0 los procesos de acreción por colisión dieron origen a cuerpos protoplanetarios (planetesimales y embriones planetarios) que experimentaron procesos de formación del núcleo, diferenciación y fusión parcial (Van Kranendonk et al. 2012). El embrión planetario que formaría la mayor masa de la Tierra también sufrió procesos de diferenciación y formación del núcleo, sin embargo, el nacimiento de la Tierra no sería en absoluto un periodo calmo; hace ≈ 4500 Ma, la Tierra fue impactada por un embrión planetario (denominado Theia) de radio similar al actual Marte (Canup, 2012). Esto provocó cambios composicionales y de diferenciación planetaria que afectaron en la formación de un núcleo, manto, corteza, atmósfera y océano (Van Kranendonk et al. 2012). Adicionalmente, este evento dio origen al acompañante satelital de la Tierra, la Luna, a partir de la cual se puede ver reflejado la lluvia de impactores durante etapas tempranas en la Tierra; particularmente, el polémico “bombardeo intenso tardío” hace 4100-3800 Ma (Mann, 2018).

A pesar del abrasador escenario descrito anteriormente, posterior al gran impacto formador de la Luna se formó la atmósfera y un océano primitivo equilibrados. Evidencia de esto queda grabada en los valores de isótopos de oxígeno presentes en zircones de hace 4400 Ma (Jack Hills, Australia) (Van Kranendonk et al. 2012). La fuente de agua provino en mayor proporción del degasamiento del manto, así como del material proporcionado con el impacto de Theia, asteroides helados y, en menor proporción, cometas (Van Kranendonk et al. 2012; Budde et al. 2019). Particularmente, el degasamiento introdujo los gases que componen a la atmósfera primitiva; principalmente vapor de agua (H_2O), hidrógeno (H_2), dióxido de

carbono (CO_2), monóxido de carbono (CO), nitrógeno (N), entre otros. Gases como metano (CH_4), amoníaco (NH_3) y, de forma despreciable, oxígeno molecular (O_2) fueron producto de reacciones químicas en la atmósfera (Stanley y Luczaj, 2015). El estado redox preciso de la atmósfera primitiva aún continúa siendo discutido (Zahnle et al. 2010; Van Kranendonk, 2014; Lammer et al. 2018).

Aunque se reconoce que la protocorteza de composición máfica sufrió procesos de fusión parcial que progresivamente dieron lugar a una corteza félsica granitoide (Stanley y Luczaj, 2015) durante el Hadeano, las evidencias de dichos procesos se han borrado del registro geológico. No es hasta el Arqueano, hace 4000 Ma, eón a partir del cual se tiene registro de rocas, siendo las más antiguas aquellos gneis que pertenecen al complejo Acasta, Canadá (Van Kranendonk et al. 2012). Durante el Paleoarqueano, la presencia de agua en el planeta y la liberación de calor, tanto por impacto como decaimiento radioactivo, dieron lugar a la tectónica de placas moderna (Wicander y Monroe, 2016). Se desconoce aun si una tectónica incipiente o similar a la actual comenzó desde muy temprano en el Hadeano (Condie, 2015; Brenner et al. 2020). Esto tuvo repercusiones importantes en la geósfera, pues hacia el final de este eón, el volumen de la corteza continental aumentó considerablemente, dando lugar a cratones de gran volumen compuestos de cinturones de rocas verdes y complejos granito-gneis (Stanley y Luczaj, 2015; Wicander y Monroe, 2016). En cuanto al sistema océano-atmósfera, este permaneció en un estado redox reducido, con océanos ferruginosos anóxicos (i.e., enriquecidos en Fe^{2+}) durante todo el Arqueano y parte del Paleoproterozoico (Figura 1.4a) (Van Kranendonk et al. 2012; Lyons et al. 2014).

El Arqueano guarda indiscutiblemente una de las memorias de mayor trascendencia en la evolución del planeta Tierra: el surgimiento de la vida. Pese a que aún se desconoce la edad de origen de las primeras células, muy posiblemente la vida surgió durante el Eoarqueano (Pearce et al. 2018), o incluso antes (Bell et al. 2015). La vida emergió a partir de un ambiente inorgánico mediante un proceso de evolución química, a través de una transición de un posible mundo de RNA a un mundo de DNA, RNA y proteínas (Delaye y Becerra, 2012). Toda la vida actual proviene de un mismo origen, siendo el último ancestro común (LUCA) una población primitiva anterior a la diversificación de los dominios Bacteria y Archaea (Gilbert, 1986; Delaye y Becerra, 2012). La evidencia fósil es escasa (Lepot, 2020) y los sitios posibles de química prebiótica, formación y evolución temprana de los sistemas celulares aún son altamente debatidos; entre los sitios de mayor estudio se encuentran las ventilas hidrotermales submarinas y las pozas hidrotermales subaéreas (Sojo et al. 2016; Damer y Deamer, 2020). En las Secciones 2.2, 2.3, 3.1 se profundizan algunos aspectos particulares del origen y evolución de la vida.

1.1.2. El Gran Evento Oxidativo

Durante la primera mitad de la historia de la Tierra, el oxígeno molecular en la atmósfera tenía una proporción menor al 0.001 % respecto a los niveles actuales (PAL) (i.e., 21 % de la composición atmosférica moderna). Así, el primer gran aumento ($\approx 1.0\%$ PAL) en la concentración de oxígeno atmosférico fue durante el Paleoproterozoico, entre los 2300-2100 Ma (Figura 1.3) (Lyons et al. 2014). A esta transición no puntual se le conoce como el Gran Evento Oxidativo (GOE). El agente causal de dicha acumulación de oxígeno fue la fotosíntesis

oxigénica efectuada por las cianobacterias que, en palabras de la Dra. Valeria Souza, burbuja a burbuja transformaron el planeta por completo (Souza y Eguiarte, 2018). Sin embargo, muy posiblemente la fotosíntesis oxigénica surgió al menos 300 Ma previo al GOE (Lyons et al. 2014; Lepot, 2020), y pareciera contraintuitivo la correspondencia temporal entre estos dos fenómenos. La razón por la cual la acumulación de O_2 en la atmósfera se viera limitada por varios millones de años posiblemente refleja la existencia de reservorios/sumideros con afinidad a ser oxidados (e.g iones de Fe) (Stanley y Luczaj, 2015); no obstante, previo al GOE, pequeños pulsos temporales de oxigenación global o *hot spots* de oxigenación a nivel local se han reconocido bajo el nombre de “exhalaciones de oxígeno” (Lyons et al. 2014; Lepot, 2020). La evidencia de la oxigenación permanente del planeta consiste en la desaparición de las señales de fraccionamiento independiente de masa de isótopos de azufre (indicador de la aparición de ozono atmosférico), la precipitación de formaciones de hierro (FI), precipitación e intemperismo de minerales de sulfuros, entre otros (Van Kranendonk et al. 2012; Lyons et al. 2014). Recientemente, se evalúa que la oxigenación permanente ocurrió 200 Ma posterior al GOE (Poulton et al. 2021).

Si bien la fuente de oxígeno molecular está indiscutiblemente asociada a la biósfera, la acumulación de este gas en la atmósfera fue promovido por una retroalimentación positiva por parte de la geosfera. Durante el periodo de 2420-2250 Ma, se muestra en el registro geológico una disminución en la actividad magmática, posiblemente asociado al enfriamiento del manto (Van Kranendonk et al. 2012). Así, el reducido consumo de O_2 en la oxidación de gases de efecto invernadero tal como el metano (CH_4) permitiría la acumulación de oxígeno atmosférico. Con un Sol débil de apenas 70-80 % de la luminosidad actual, la primera glaciación global o evento Tierra bola de nieve, denominada glaciación Huroniana, coincide subsecuentemente con el incremento apreciable de O_2 atmosférico (Kopp et al. 2005; Van Kranendonk et al. 2012; Lyons et al. 2014).

1.1.3. Hacia la Base el Fanerozoico: El Proterozoico

El GOE, aunque se considera actualmente un evento no puntual, coincide *grosso modo* temporalmente con el fin del Arqueano y el comienzo del Proterozoico; un límite establecido

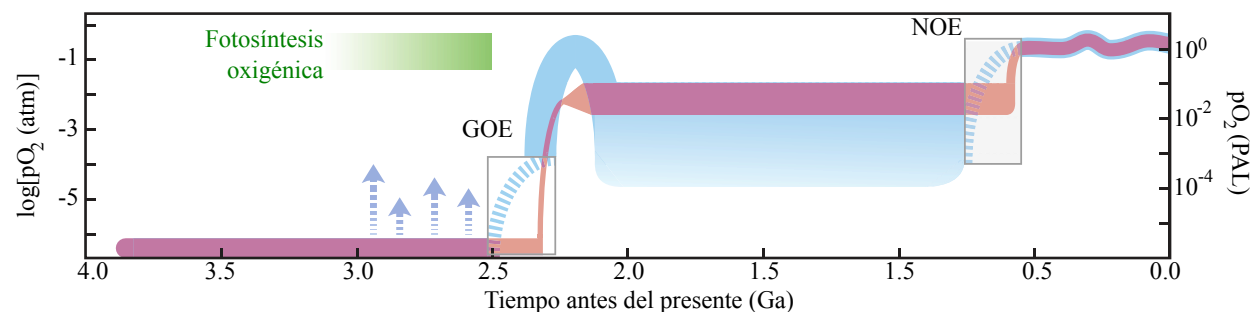


Figura 1.3: Evolución del contenido de oxígeno atmosférico a través del tiempo. El eje derecho muestra la presión parcial de O_2 respecto a niveles atmosféricos presentes (PAL). El eje izquierdo muestra la presión parcial de O_2 en escala logarítmica. La curva roja muestra la visión clásica en la evolución atmosférica. La curva azul muestra un modelo emergente, mostrando posibles exhalaciones de O_2 previo al GOE e incertidumbres asociadas a las transiciones mayores (GOE y NOE). Imagen modificada: Lyons et al. (2014)

por cambios sustanciales en la tectónica global (Van Kranendonk et al. 2012; Lyons et al. 2014). Los niveles atmosféricos durante el Proterozoico presentaron dinámicamente incrementos y decrementos, siendo la excursión Lomagundi-Jatuli el pulso de aumento de O_2 más importante, con anomalías de $\delta^{13}C$ asociadas a enterramiento de materia orgánica y, por tanto, intemperismo de la corteza que proveería a los océanos de nutrientes limitantes para la biósfera (Lyons et al. 2014).

Si bien la atmósfera sufrió una oxidación considerable durante el GOE que esta se equilibrara con el océano tomó un tiempo considerable del Proterozoico. El océano de Canfield (Canfield, 1998; Canfield, 2005) es un modelo que sugiere que el océano del Mesoproterozoico era estratificado, con una capa superficial oxigenada y euxinia prevalente en aguas profundas debido al reservorio aumentado de H_2S (Figura 1.4b) (Van Kranendonk et al. 2012). Este incremento en el reservorio de H_2S refleja el aumento en el flujo de sulfato al océano debido al aumento del intemperismo de rocas continentales; consecuentemente, estos sulfatos experimentarían reducción desasimilatoria microbiana para generar H_2S (Van Kranendonk et al. 2012). Posterior a los 500 Ma, el océano adquiere el estado redox que mantiene hasta la actualidad (Figura 1.4c), con eventos puntuales de euxinia durante el Fanerozoico (Lepot, 2020). Este modelo ha sido objeto de discusión, posiblemente la euxinia no fue extendida hacia todo el océano profundo, sino hacia zonas marginales de las cuencas oceánicas a nivel local (Lyons et al. 2014).

Durante el Proterozoico, los niveles de oxígeno atmosférico oscilarían entre el 8-15 % PAL (Van Kranendonk et al. 2012) hasta el evento oxidativo del Neoproterozoico (NOE) (Figura 1.3), donde se alcanzan niveles similares a los actuales (Och y Shields-Zhou, 2012). Asociado a lo anterior, el Neoproterozoico se caracteriza por presentar múltiples eventos de glaciación global, de las cuales destaca la glaciación Sturtiana y la glaciación Marianoana (Van Kranendonk et al. 2012).

El Proterozoico fue testigo de un evento único en la evolución de la vida, el origen de los eucariontes; posiblemente, este evento fue consecuencia de estrés oxidativo inducido por el GOE cercano a la excursión Lomagundi (Van Kranendonk et al. 2012). La multicelularidad y el surgimiento de los metazoarios ocurren hacia finales del Neoproterozoico, posiblemente debido a las innovaciones genéticas asociadas al poder oxidativo del oxígeno (Sección 2.3) y al intemperismo glaciario de fosforitas (Van Kranendonk et al. 2012).

1.2. Transiciones en la Biodisponibilidad de Metales a lo largo del Tiempo Geológico

Como se explora a detalle en el capítulo 2, Los metales traza son cruciales en la vida actual y posiblemente reflejan en cierto grado las condiciones geoquímicas en las cuales esta se originó y evolucionó (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Los cambios en el estado redox de los océanos durante el Precámbrico influenciaron fuertemente la solubilidad y, por tanto, la biodisponibilidad de diversos metales traza importantes en los sistemas biológicos. Es reconocido que los iones metálicos más utilizados por los sistemas biológicos son aquellos que se encuentran fácilmente disponibles en el ambiente con una concentración de al menos 1 nM

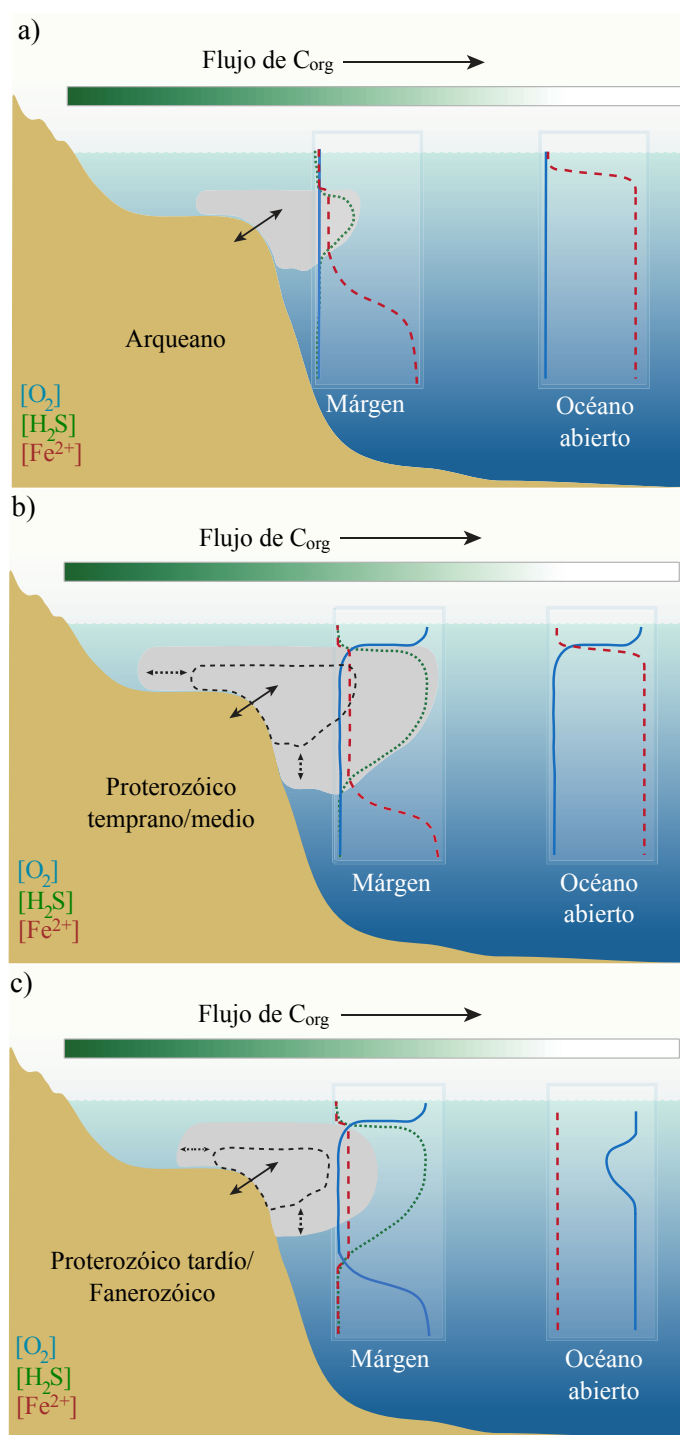


Figura 1.4: Evolución de la estructura redox del océano. *a)* Océano Arqueano, *b)* océano Proterozoico temprano/medio, *c)* océano Proterozoico tardío/Fanerozoico. Los recuadros muestran perfiles de O_2 (azul), H_2S (verde) y Fe^{2+} (rojo); también se muestra el flujo de C orgánico en dirección costa afuera y su impacto en el perfil redox en la columna de agua. Flechas dobles muestran expansión/contracción de condiciones ferruginosas/sulfídicas en zonas de alta productividad oceánica (i.e., hacia los márgenes/costas). Imagen modificada: Lyons et al. (2014)

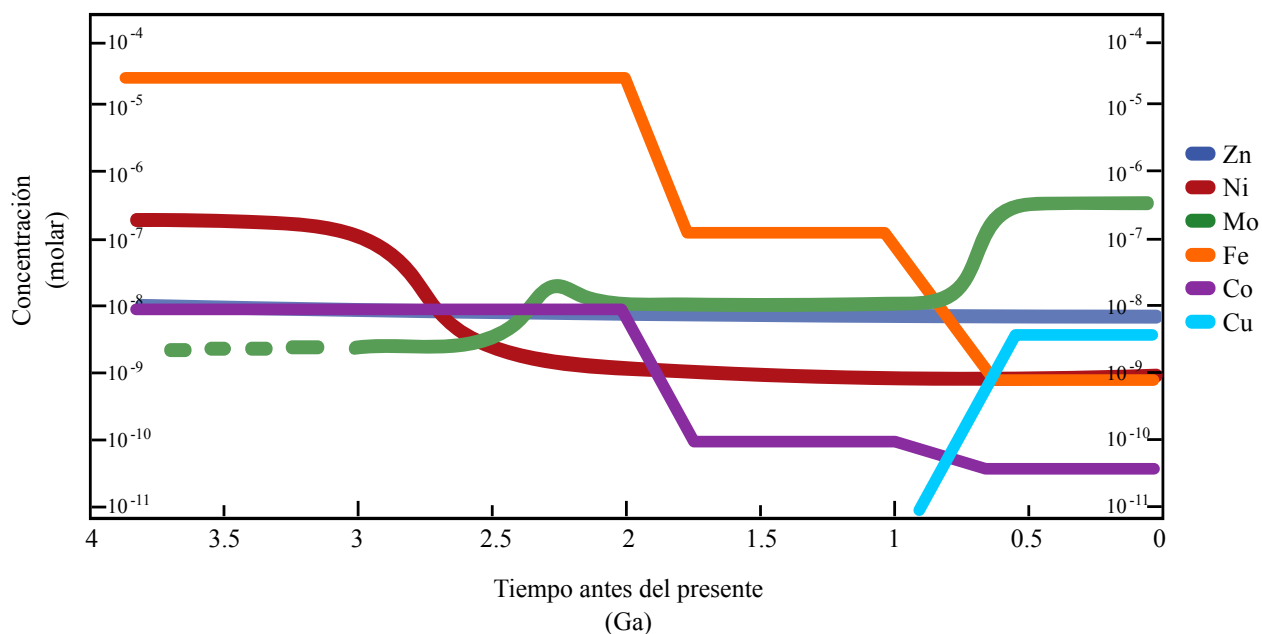


Figura 1.5: Transiciones en la concentración de metales de interés para este estudio a través de cambios en la química redox en el océano. En la figura se muestra una perspectiva actual integrada por el registro sedimentario, el modelado geoquímico y la filogenómica comparada. Imagen modificada: Robbins, Lalonde, Planavsky et al. (2016)

(Belmonte y Mansy, 2016). Bajo este esquema, acotar la concentración de metales traza en la geoquímica acuática a lo largo del tiempo geológico resulta imprescindible para comprender los factores que han moldeado la estequiometría elemental en los sistemas biológicos.

Para inferir la biodisponibilidad de los metales a lo largo del tiempo, se han empleado dos aproximaciones relevantes. Por una parte, a través de filogenómica comparada, se han evaluado firmas biogeoquímicas en múltiples genomas microbianos para evaluar la distribución de metaloproteínas a lo largo del tiempo geológico, infiriendo la concentración paleomarina de elementos traza (Zerkle et al. 2005). Por otra parte, desde una aproximación de las ciencias de la Tierra, es posible conocer la geoquímica paleomarina y sus condiciones redox a través del modelado geoquímico y del registro sedimentario precámbrico de formaciones de hierro (FI), lutitas negras, pirita sedimentaria, y carbonatos. En el resto del capítulo, se desglosa lo comprendido hasta el momento sobre la biodisponibilidad a lo largo de la historia de la Tierra para algunos de los metales más relevantes en los sistemas biológicos y de los cuales se enfoca el presente trabajo. En la Figura 1.5 se muestra un resumen actual de las concentraciones de metales traza en el océano primitivo y moderno según el registro sedimentario, modelado geoquímico y filogenómica comparada.

1.2.1. Hierro

El hierro (Fe) posiblemente es el ion metálico que ha experimentado las transiciones de solubilidad en agua marina más dramáticas. El ejemplo macroscópico más evidente de dichas transiciones son los depósitos masivos de formaciones de hierro bandeado (BIF) previo a los

1800 Ma y su posterior desaparición en el registro geológico debido a la escasez de Fe^{+2} en los océanos modernos debido a la oxigenación del sistema océano-atmósfera (Bekker et al. 2013). En los océanos oxigenados, el Fe^{2+} es oxidado a Fe^{3+} , que a su vez reacciona con OH^- para formar oxihidróxidos de hierro insolubles. De forma similar, en un esquema de océano de Canfield (i.e., en condiciones de euxinia), la reacción de Fe^{2+} con H_2S genera sulfuros de hierro insolubles (Canfield, 1998; Anbar, 2008). Así, el hierro es un elemento limitante tanto para el océano oxigenado como en condiciones de euxinia extensa ($\sim 10^{-9}$ M y $\sim 10^{-7}$ M respectivamente). Por el contrario, durante el Arqueano, el océano se encontraba desprovisto de O_2 disuelto y, por lo tanto, el hierro era abundante en forma de complejos de Fe^{2+} ($\sim 10^{-5}$ M) (Anbar, 2008). En cuencas anóxicas modernas se observan usualmente concentraciones altas de Fe que disminuyen hacia la superficie en conjunto con Mn, Co y H_2S , reflejando en cierto grado la biodisponibilidad de metales en un océano Arqueano/Paleoproterozoico (Saito et al. 2003; Busigny et al. 2014).

Mediante isótopos de hierro y otros metales es posible conocer el estado redox de la química marina antigua y el comportamiento de Fe en dichos reservorios (Rouxel et al. 2005). Los isótopos de hierro muestran que las Fe del Arqueano y Paleoproterozoico son abundantes en Fe isotópicamente pesado, mientras que las Fe del resto del Proterozoico y Fanerozoico son abundantes en óxidos de hierro (Planavsky et al. 2012). A través de un estudio de FI arqueanas metamorfoseadas, (Dolega, 2018) identifican que la fuente principal de suministro de hierro y sílice al océano arqueano son las ventilas hidrotermales. Adicionalmente, a través de isótopos de Ce, Y/Ho y Cr, se sugiere que el ambiente de formación de las FI era anóxico (Dolega, 2018).

1.2.2. Molibdeno

El molibdeno (Mo) es un metal de transición que se encuentra en una diversidad de minerales de la clase de los sulfuros y es suministrado a los océanos principalmente por el intemperismo oxidativo de la corteza continental. En aguas oxigenadas, el Mo es conservado en disolución, y en los océanos modernos es el metal de transición de mayor abundancia (~ 150 nM) (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Por el contrario, el Mo es removido en aguas con H_2S en altas concentraciones (producción de partículas reactivas de tiomolibdatos), siendo un elemento biolimitante durante el Proterozoico ($\sim 10^{-8}$ M). De la misma forma, el Mo tendría concentraciones limitantes en un océano arqueano ferruginoso ($\sim 10^{-9}$ M) con posibles pulsos de exhalaciones de O_2 (Anbar y Knoll, 2002; Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016).

Scott, Lyons et al. (2008) identifican dos etapas de incrementos en las concentraciones de Mo en lutitas negras, relacionados directamente con incrementos en la concentración de oxígeno atmosférico. Se muestra un límite difuso a los ~ 2000 Ma que corresponde a un incremento inicial en las tasas de Mo/TCO (Total de Carbono Orgánico) seguidas del GOE, siendo resultado probable de un incremento en el aporte fluvial de Mo acoplado con la oxigenación de la superficie del océano (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Subsecuentemente, se muestran decrementos en Mo asociados a euxinia global, y a los ~ 551 Ma se muestra un segundo pulso, muy definido, que coincide con el incremento en la oxigenación planetaria hacia el Neoproterozoico tardío (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Los registros de Mo en piritas sinsedimentaria/de diagénesis temprana muestran patrones similares a aquellos de

las lutitas negras, con eventos de incremento en la concentración de Mo hace ~ 660 -800 Ma, que pueden atribuirse a pulsos transitorios (Large, Halpin, Danyushevsky et al. 2014; Large, Halpin, Lounejeva et al. 2015). Se ha sugerido que las tasas de Mo/TCO en lutitas negras del Proterozoico son consistentes con un reservorio de Mo que corresponde a un 10-20 % al del océano moderno, donde no necesariamente se desarrollaron condiciones de euxinia global (Scott, Lyons et al. 2008). Esto implicaría que el reservorio de Mo en el Proterozoico se encontraba cerca de concentraciones biolimitantes para las cianobacterias fijadoras de nitrógeno (diazótrofas) (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Boyd et al. (2011) sugieren una correlación entre el surgimiento de las nitrogenasas de Mo-Fe y la creciente concentración de Mo en aguas marinas alrededor del GOE (para más información sobre las nitrogenasas, ir al capítulo 2). Sin embargo, se han reportado registros sedimentarios fluviales y marinos de una *suite* de rocas de 3200 Ma cuya composición isotópica de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) apuntan claramente a un origen biogénico empleando nitrogenasas de Mo, sugiriendo un origen relativamente temprano para estas enzimas (Stüeken et al. 2015). Los registros sedimentarios son consistentes con un origen temprano para las nitrogenasas de Mo, seguido de un periodo de limitación en la fijación de nitrógeno debido a un océano Proterozoico deficiente en Mo (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016).

1.2.3. Níquel

Estudios iniciales de modelado geoquímico (Saito et al. 2003) y genómica comparada (Zerkle et al. 2005) sugieren una concentración constante de níquel (Ni) ($\sim 10^{-8}$ - 10^{-9}M) en el agua marina desde el Arqueano hasta el océano moderno, como consecuencia de una respuesta conservativa del Ni ante distintas condiciones redox.

Sin embargo, Konhauser, Pecoits et al. (2009) y Konhauser, Robbins et al. (2015) analizan los contenidos de Ni en FI a lo largo del tiempo geológico, sugiriendo un decremento de más de la mitad del reservorio paleomarino de Ni (estimados de 400 nM a $<< 200$ nM de Ni) entre los 2700 y 2500 Ma (incluso poco después de 2450 Ma) (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Konhauser, Pecoits et al. (2009) denominan a este evento como “La hambruna de níquel”, debido al impacto del cambio en biodisponibilidad de Ni sobre las comunidades metanogénicas (para mayor información sobre el impacto el Ni en metanógenas, ir a la sección 2.1.3) (Konhauser, Pecoits et al. 2009; Konhauser, Robbins et al. 2015). Se atribuye este decremento en el reservorio paleomarino de Ni al enfriamiento del manto terrestre y, en consecuencia, la disminución en la frecuencia de erupciones ultramáficas (i.e., una disminución de komatitas). Así, se limitó el intemperismo de rocas ultramáficas (ricas en Ni) y con ello la biodisponibilidad de Ni (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Adicionalmente, Rothman et al. 2014 correlacionan los eventos de derrames de basalto siberianos (cca. 252.8 Ma) con un incremento transitorio del reservorio de Ni y, en consecuencia, la estimulación de flujos de metano en el sistema océano-atmósfera, intensificando la extinción masiva del Pérmico-Triásico (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016).

1.2.4. Zinc

El zinc (Zn) también ha sido objeto de estudio en el registro sedimentario. Los modelados geoquímicos sugieren un incremento en el reservorio de Zn con la transición de un océano anóxico ($\sim 10^{-4}$ M) a uno con posible euxinia extensa ($\sim 10^{-17}$ M) y hacia un océano oxigenado ($\sim 10^{-8}$) (Saito et al. 2003). Sin embargo, recientemente se ha reevaluado las concentraciones paleomarinas de Zn a lo largo del tiempo geológico a través del registro sedimentario.

Por una parte, mediante el análisis de lutitas negras, Scott, Planavsky et al. (2013) no encuentran evidencia significativa sobre un reservorio empobrecido de Zn en el Precámbrico, sugiriendo, por el contrario, una concentración relativamente constante a lo largo del tiempo (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Consistentemente, Robbins, Lalonde, Saito et al. (2013) encuentran enriquecimientos de Zn en FI que apuntan a concentraciones constantes a lo largo del tiempo. El estudio de isótopos estables de Zn en el registro de carbonatos tiene el potencial de generar inferencias en la productividad, así como generar relaciones sobre fuentes y sumideros de Zn (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Más estudios de carbonatos revelarán el potencial y limitaciones de estas herramientas.

De esta manera, es posible que los modelados geoquímicos sobreestimen la complejación de Zn con sulfuros en medio acuoso, (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Así mismo, resulta contradictorio este comportamiento, pues en ciertos sitios anóxicos, como el lago *jellyfish*, Palau, la concentración total de Zn aumenta en función de la profundidad debido a la complejación de Zn con sulfuros (Landing et al. 1991; Dierssen et al. 2001). Adicionalmente, Robbins, Lalonde, Saito et al. (2013) proponen incrementos en el flujo hidrotermal asociado con un incremento en el transporte de Zn, lo que conservaría un reservorio de este metal constante desde el Precámbrico (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Otro motivo que intensificó esta visión en la biolimitación de Zn, se debe a que se hipotetizaba que el Zn^{+2} era la única especie química en la que el Zn se podía incorporar a los sistemas biológicos. Sin embargo, la mayoría del Zn en las aguas superficiales oceánicas (90-98 %) se encuentra en complejos con ligandos orgánicos. Recientemente, se ha demostrado no solo que el Zn puede incorporarse cuando este se encuentra en forma de complejos orgánicos, sino que este tipo de especies químicas favorecen las tasas de incorporación de Zn (en fitoplancton) (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016).

1.2.5. Cobalto

Trabajos de modelado geoquímico de Saito et al. (2003) apuntan a que las concentraciones de cobalto (Co) permanecieron relativamente altas durante el Arqueano ($\sim 10^{-8}$ M) para disminuir durante el Proterozoico (océano de Canfield, $\sim 10^{-10}$ M) y subsecuentemente en el Neoproterozoico (Seguido de los pulsos de oxigenación del NOE, $< 10^{-10}$ M).

Condiciones de anoxia conservan al Co en solución y, por lo tanto, aumentando su tiempo de residencia en océanos anóxicos comparado con océanos oxigenados (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Este esquema se ve reflejado en el Lago Matano, Célebes Meridional, Indonesia, donde las concentraciones de Co son altas en la profundidad del lago (aguas ferruginosas, anóxicas) en comparación con las aguas superficiales (oxigenadas) (Crowe et al. 2008). Sin embargo, el empleo de Co en los sistemas biológicos ha incrementado a lo largo

del tiempo, posiblemente debido a la presencia de ligandos de Co que complejan a este metal en medio acuoso. Se sugiere que un alto grado de complejación del cobalto puede favorecer el florecimiento de cianobacterias sobre algas eucariontes (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016).

A través del registro de pirita sedimentaria, FI, y lutitas euxínicas, Swanner et al. (2014) sugieren una expansión en el reservorio paleomarino de Co alrededor de 2800 y 1800 Ma. Esta expansión del reservorio de Co podría coincidir con un incremento en la actividad de plumas mantélicas y, por tanto, flujos hidrotermales incrementados. A su vez, esta expansión resulta coincidente de forma general con un incremento de genes que ligan Co (David y Alm, 2011).

1.2.6. Cobre

El cobre (Cu), similar a otros metales traza, es incorporado al océano mediante intemperismo oxidativo, particularmente, de minerales de sulfuros (Moore et al. 2017). Al igual que el Zn, a través de modelado geoquímico se infiere que el reservorio de Cu era limitado durante el Arqueano anóxico y ferruginoso ($\sim 10^{-22}$ M) y aún más ($\sim 10^{-24}$ M) durante el Mesoproterozoico debido a euxinia oceánica expandida (Saito et al. 2003), con un abrupto incremento posterior a la oxigenación oceánica ($\sim 10^{-9}$ M).

A través del estudio de enriquecimientos de Cu autigénicos en formaciones de hierro bandedado (BIF) y lutitas negras, Fru et al. (2016) identifican un reservorio paleomarino de Cu relativamente constante desde el Precámbrico. No obstante, existen variaciones isotópicas en el registro de lutitas negras asociadas a variaciones en fuentes/sumideros de Cu (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Por otra parte, el secuestro preferencial de ^{65}Cu por óxidos de hierro genera un enriquecimiento en ^{63}Cu en el agua marina, que posteriormente sería incorporada a la biomasa del plancton y, eventualmente, generarían enriquecimientos de ^{63}Cu en lutitas negras (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Este esquema se vería transformado posterior al GOE, pues el intemperismo oxidativo de los continentes aumentaría el flujo de ^{65}Cu e incrementaría la concentración de Cu(II) disuelto en los océanos.

Zerkle et al. (2005) destacan la expansión en el uso de Cu en metaloenzimas posterior a la oxigenación del sistema océano-atmósfera durante el Neoproterozoico. Sugiriendo como factor causal la expansión del reservorio de Cu. Así, por la relevancia de este metal traza en la desnitrificación (y otras rutas del metabolismo del N, ver Sección 2.3), el ciclo del N permanecería incompleto. En consecuencia, habría una acumulación de N_2O con impacto en el clima a nivel global (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016; Buick, 2007). Sin embargo, los resultados de Fru et al. (2016) no son consistentes con las hipótesis expuestas con anterioridad, pues un reservorio de Cu constante (y, por tanto, concentraciones de Cu biodisponibles) mantendría un ciclo del N estable desde el Precámbrico (Robbins, Lalonde, Planavsky et al. 2016). Recientemente, mediante el registro de metales traza en pirita muestra concentraciones relativamente altas de Cu durante el Arqueano y Paleoproterozoico, disminuciones marcadas durante el Paleoproterozoico-Mesoproterozoico y un subsecuente durante el Neoproterozoico y Cámbrico (Mukherjee y Large, 2020).

Una mayor comprensión del comportamiento de Cu en cuanto a su abundancia y distribución

de isótopos estables en respuesta a cambios en el estado redox oceánico permitirá en los próximos años tener un esquema más cohesivo. En general, el esquema de un aumento del uso de cobre debido a una expansión en el reservorio del mismo es una visión compartida entre la comunidad científica hasta la actualidad (Khademian e Imlay, 2021).

1.2.7. Tungsteno

Aunque aún es necesario un análisis exhaustivo del tungsteno (W) en el registro sedimentario, se conocen algunos patrones de su biodisponibilidad a través del tiempo.

Mediante el registro de piritita, se identifican altas concentraciones de W en la química acuática del Arqueano (Mukherjee y Large, 2020). Por el contrario, los registros de FI y lutitas negras muestran incrementos de W entre ~ 2300 – 2150 Ma y ~ 1100 – 800 Ma con niveles cercanos a los de la corteza en distintos momentos en la historia de la Tierra, incluyendo el Arqueano (Partin et al. 2016). Actualmente, el W se encuentra presente en aguas oxigenadas en forma de WO_4^{2-} , un oxianión estable y soluble (Partin et al. 2016). Sin embargo, el W forma a su vez $\text{W}(\text{OH})_6$ que precipita en ácidos diluidos; posiblemente, esto explique la sustancial disminución de W soluble respecto al Mo en condiciones óxicas (Williams, 1997).

Referencias

- Anbar, A. D. y A. H. Knoll (2002). «Proterozoic ocean chemistry and evolution: A bioinorganic bridge?» En: *Science*. ISSN: 00368075. DOI: 10.1126/science.1069651.
- Anbar, Ariel D. (2008). «Oceans: Elements and evolution». En: *Science* 322.5907, págs. 1481-1483. ISSN: 00368075. DOI: 10.1126/science.1163100. URL: <https://science.sciencemag.org/content/322/5907/1481%20https://science.sciencemag.org/content/322/5907/1481.abstract>.
- Bekker, A., N. J. Planavsky, B. Krapež, B. Rasmussen, A. Hofmann, J. F. Slack, O. J. Rouxel y K. O. Konhauser (2013). «Iron Formations: Their Origins and Implications for Ancient Seawater Chemistry». En: *Treatise on Geochemistry: Second Edition*. ISBN: 9780080983004. DOI: 10.1016/B978-0-08-095975-7.00719-1.
- Bell, Elizabeth A., Patrick Boehnke, T. Mark Harrison y Wendy L. Mao (2015). «Potentially biogenic carbon preserved in a 4.1 billion-year-old zircon». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112.47, págs. 14518-14521. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/PNAS.1517557112. URL: <https://www.pnas.org/content/112/47/14518%20https://www.pnas.org/content/112/47/14518.abstract>.
- Belmonte, Luca y Sheref S. Mansy (2016). «Metal catalysts and the origin of life». En: *Elements* 12.6, págs. 413-418. ISSN: 18115217. DOI: 10.2113/gselements.12.6.413.
- Boyd, E. S., A. D. Anbar, S. Miller, T. L. Hamilton, M. Lavin y J. W. Peters (2011). «A late methanogen origin for molybdenum-dependent nitrogenase». En: *Geobiology*. ISSN: 14724677. DOI: 10.1111/j.1472-4669.2011.00278.x.
- Brenner, Alec R., Roger R. Fu, David A.D. Evans, Aleksey V. Smirnov, Raisa Trubko y Ian R. Rose (2020). «Paleomagnetic evidence for modern-like plate motion velocities at 3.2 Ga». En: *Science Advances* 6.17, págs. 8670-8692. DOI: 10.1126/SCIADV.AAZ8670. URL: <https://www.science.org>.
- Budde, Gerrit, Christoph Burkhardt y Thorsten Kleine (2019). «Molybdenum isotopic evidence for the late accretion of outer Solar System material to Earth». En: *Nature Astronomy* 3.8, págs. 736-741. ISSN: 23973366. DOI: 10.1038/s41550-019-0779-y. URL: <https://www.nature.com/articles/s41550-019-0779-y>.
- Buick, R. (2007). «Did the Proterozoic 'Canfield Ocean' cause a laughing gas greenhouse?» En: *Geobiology*. ISSN: 14724677. DOI: 10.1111/j.1472-4669.2007.00110.x.
- Busigny, Vincent, Noah J. Planavsky, Didier Jézéquel, Sean Crowe, Pascale Louvat, Julien Moureau, Eric Viollier y Timothy W. Lyons (2014). «Iron isotopes in an Archean ocean analogue». En: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 133, págs. 443-462. ISSN: 00167037. DOI: 10.1016/j.gca.2014.03.004.
- Canfield, D E (2005). «THE EARLY HISTORY OF ATMOSPHERIC OXYGEN: Homage to Robert M. Garrels». En: *Annu. Rev. Earth Planet. Sci* 33, págs. 1-36. DOI: 10.1146/annurev.earth.33.092203.122711.
- (1998). «A new model for Proterozoic ocean chemistry». En: *Nature*. ISSN: 00280836. DOI: 10.1038/24839.
- Canup, Robin M. (2012). «Forming a moon with an Earth-like composition via a giant impact». En: *Science* 338.6110, págs. 1052-1055. ISSN: 10959203. DOI: 10.1126/science.1226073. URL: <https://science.sciencemag.org/content/338/6110/1052>.

- [//science.sciencemag.org/content/338/6110/1052](https://science.sciencemag.org/content/338/6110/1052)<https://science.sciencemag.org/content/338/6110/1052.abstract>.
- Condie, Kent C. (2015). *Earth as an Evolving Planetary System: Third Edition*. ISBN: 9780128037096. DOI: 10.1016/C2015-0-00179-4.
- Crowe, Sean A., Andrew H. O'Neill, Sergei Katsev, Peter Hehanussa, G. Douglas Haffner, Bjørn Sundby, Alfonso Mucci y David A. Fowle (2008). «The biogeochemistry of tropical lakes: A case study from Lake Matano, Indonesia». En: *Limnology and Oceanography*. ISSN: 00243590. DOI: 10.4319/lo.2008.53.1.0319.
- Damer, Bruce y David Deamer (2020). «The hot spring hypothesis for an origin of life». En: *Astrobiology* 20.4, págs. 429-452. ISSN: 15311074. DOI: 10.1089/ast.2019.2045. URL: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ast.2019.2045>.
- David, Lawrence A. y Eric J. Alm (2011). «Rapid evolutionary innovation during an Archaean genetic expansion». En: *Nature*. ISSN: 00280836. DOI: 10.1038/nature09649.
- Davis, Andrew M., H.D. Holland y K.K. Turekian (2003). «Meteorites, Comets, and Planets». En: *Treatise on Geochemistry*. ISSN: 1098-6596.
- Delaye, Luis y Arturo Becerra (2012). «Cenacestor, the Last Universal Common Ancestor». En: *Evolution: Education and Outreach* 5.3, págs. 382-388. ISSN: 19366434. DOI: 10.1007/s12052-012-0444-8.
- Dierssen, Holger, Wolfgang Balzer y William M. Landing (2001). «Simplified synthesis of an 8-hydroxyquinoline chelating resin and a study of trace metal profiles from Jellyfish Lake, Palau». En: *Marine Chemistry*. ISSN: 03044203. DOI: 10.1016/S0304-4203(00)00107-9.
- Dolega, Simon (2018). «Geochemistry of shallow and deep water archaean meta-iron formations and their post-depositional alteration in western Superior Province, Canada». En: URL: <https://knowledgecommons.lakeheadu.ca/handle/2453/4319>.
- Fru, Ernest Chi, Nathalie P. Rodríguez-Guez, Camille A. Partin, Stefan V. Lalonde, Per Andersson, Dominik J. Weiss, Abderrazak El Albani, Ilia Rodushkin y Kurt O. Konhauser (2016). «Cu isotopes in marine black shales record the Great Oxidation Event». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. ISSN: 10916490. DOI: 10.1073/pnas.1523544113.
- Gilbert, Walter (1986). «Origin of life: The RNA world». En: *Nature* 1986 319:6055 319.6055, págs. 618-618. ISSN: 1476-4687. DOI: 10.1038/319618a0. URL: <https://www.nature.com/articles/319618a0>.
- Gritschneder, M., D. N.C. Lin, S. D. Murray, Q. Z. Yin y M. N. Gong (2012). «The supernova triggered formation and enrichment of our solar system». En: *Astrophysical Journal* 745.1, pág. 22. ISSN: 15384357. DOI: 10.1088/0004-637X/745/1/22. URL: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0004-637X/745/1/22><https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0004-637X/745/1/22/meta>.
- Khademian, Maryam y James A. Imlay (2021). «How Microbes Evolved to Tolerate Oxygen». En: *Trends in Microbiology* 29.5, págs. 428-440. ISSN: 0966-842X. DOI: 10.1016/J.TIM.2020.10.001.
- Konhauser, Kurt O., Ernesto Pecoits, Stefan V. Lalonde, Dominic Papineau, Euan G. Nisbet, Mark E. Barley, Nicholas T. Arndt, Kevin Zahnle y Balz S. Kamber (2009). «Oceanic nickel depletion and a methanogen famine before the Great Oxidation Event». En: *Nature*. ISSN: 14764687. DOI: 10.1038/nature07858.

- Konhauser, Kurt O., Leslie J. Robbins, Ernesto Pecoits, Caroline Peacock, Andreas Kappler y Stefan V. Lalonde (2015). «The Archean Nickel Famine Revisited». En: *Astrobiology*. ISSN: 15311074. DOI: 10.1089/ast.2015.1301.
- Kopp, Robert E., Joseph L. Kirschvink, Isaac A. Hilburn y Cody Z. Nash (2005). «The Paleoproterozoic snowball Earth: A climate disaster triggered by the evolution of oxygenic photosynthesis». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102.32, págs. 11131-11136. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/PNAS.0504878102. URL: <https://www.pnas.org/content/102/32/11131%20https://www.pnas.org/content/102/32/11131.abstract>.
- Krot, A. N., K. Keil, E. R.D. Scott, C. A. Goodrich y M. K. Weisberg (2013). «Classification of Meteorites and Their Genetic Relationships». En: *Treatise on Geochemistry: Second Edition*. ISBN: 9780080983004. DOI: 10.1016/B978-0-08-095975-7.00102-9.
- Lammer, Helmut, Aubrey L. Zerkle, Stefanie Gebauer, Nicola Tosi, Lena Noack, Manuel Scherf, Elke Pilat-Lohinger, Manuel Güdel, John Lee Grenfell, Mareike Godolt y Athanasia Nikolaou (2018). «Origin and evolution of the atmospheres of early Venus, Earth and Mars». En: *The Astronomy and Astrophysics Review* 2018 26:1 26.1, págs. 1-72. ISSN: 1432-0754. DOI: 10.1007/S00159-018-0108-Y. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00159-018-0108-y>.
- Landing, William M., William C. Burnett, W. Berry Lyons y William H. Orem (1991). «Nutrient cycling and the biogeochemistry of manganese, iron, and zinc in Jellyfish Lake, Palau». En: *Limnology and Oceanography*. ISSN: 19395590. DOI: 10.4319/lo.1991.36.3.0515.
- Large, Ross R., Jacqueline A. Halpin, Leonid V. Danyushevsky, Valeriy V. Maslennikov, Stuart W. Bull, John A. Long, Daniel D. Gregory, Elena Lounejeva, Timothy W. Lyons, Patrick J. Sack, Peter J. McGoldrick y Clive R. Calver (2014). «Trace element content of sedimentary pyrite as a new proxy for deep-time ocean-atmosphere evolution». En: *Earth and Planetary Science Letters*. ISSN: 0012821X. DOI: 10.1016/j.epsl.2013.12.020.
- Large, Ross R., Jacqueline A. Halpin, Elena Lounejeva, Leonid V. Danyushevsky, Valeriy V. Maslennikov, Daniel Gregory, Patrick J. Sack, Peter W. Haines, John A. Long, Charles Makoundi y Aleksandr S. Stepanov (2015). «Cycles of nutrient trace elements in the Phanerozoic ocean». En: *Gondwana Research*. ISSN: 1342937X. DOI: 10.1016/j.gr.2015.06.004.
- Lepot, Kevin (2020). «Signatures of early microbial life from the Archean (4 to 2.5 Ga) eon». En: *Earth-Science Reviews* 209, pág. 103296. ISSN: 00128252. DOI: 10.1016/j.earscirev.2020.103296.
- Lyons, Timothy W., Christopher T. Reinhard y Noah J. Planavsky (2014). «The rise of oxygen in Earth's early ocean and atmosphere». En: *Nature*. ISSN: 00280836. DOI: 10.1038/nature13068.
- Mann, Adam (2018). «Bashing holes in the tale of Earth's troubled youth». En: *Nature* 553.7689, págs. 393-395. ISSN: 14764687. DOI: 10.1038/d41586-018-01074-6.
- Moore, Eli K., Benjamin I. Jelen, Donato Giovannelli, Hagai Raanan y Paul G. Falkowski (2017). «Metal availability and the expanding network of microbial metabolisms in the Archaeal eon». En: *Nature Geoscience* 10.9, págs. 629-636. ISSN: 17520908. DOI: 10.1038/ngeo3006. URL: <https://www.nature.com/articles/ngeo3006>.
- Mukherjee, Indrani y Ross R. Large (2020). «Co-evolution of trace elements and life in Precambrian oceans: The pyrite edition». En: *Geology* 48.10, págs. 1018-1022. ISSN: 19432682. DOI: 10.1130/G47890.1.

- Och, Lawrence M. y Graham A. Shields-Zhou (2012). «The Neoproterozoic oxygenation event: Environmental perturbations and biogeochemical cycling». En: *Earth-Science Reviews* 110.1-4, págs. 26-57. ISSN: 00128252. DOI: 10.1016/j.earscirev.2011.09.004.
- Palme, H., K. Lodders y A. Jones (2013). «Solar System Abundances of the Elements». En: *Treatise on Geochemistry: Second Edition*. ISBN: 9780080983004. DOI: 10.1016/B978-0-08-095975-7.00118-2.
- Partin, C A, L J Robbins, S V Lalonde y K O Konhauser (2016). *Tungsten in ancient seawater: did early microbes like heavy metal?* Inf. téc.
- Pearce, Ben K.D., Andrew S. Tupper, Ralph E. Pudritz y Paul G. Higgs (2018). «Constraining the Time Interval for the Origin of Life on Earth». En: *Astrobiology* 18.3, págs. 343-364. ISSN: 15311074. DOI: 10.1089/ast.2017.1674. URL: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ast.2017.1674>.
- Planavsky, Noah, Olivier J. Rouxel, Andrey Bekker, Axel Hofmann, Crispin T.S. Little y Timothy W. Lyons (2012). «Iron isotope composition of some Archean and Proterozoic iron formations». En: *Geochimica et Cosmochimica Acta* 80, págs. 158-169. ISSN: 00167037. DOI: 10.1016/j.gca.2011.12.001.
- Plumb, K.A. (1991). «New Precambrian time scale». En: *Episodes*. ISSN: 0705-3797. DOI: 10.18814/epiiugs/1991/v14i2/005.
- Plumb, Kenneth A. y Harold L. James (1986). «Subdivision of precambrian time: recommendations and suggestions by the subcommission on precambrian stratigraphy». En: *Precambrian Research*. ISSN: 03019268. DOI: 10.1016/0301-9268(86)90031-8.
- Poulton, Simon W., Andrey Bekker, Vivien M. Cumming, Aubrey L. Zerkle, Donald E. Canfield y David T. Johnston (2021). «A 200-million-year delay in permanent atmospheric oxygenation». En: *Nature* 592.7853, págs. 232-236. ISSN: 14764687. DOI: 10.1038/s41586-021-03393-7. URL: <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03393-7>.
- Robbins, L. J., S. V. Lalonde, M. A. Saito, N. J. Planavsky, A. M. Mloszewski, E. Pecoits, C. Scott, C. L. Dupont, A. Kappler y K. O. Konhauser (2013). «Authigenic iron oxide proxies for marine zinc over geological time and implications for eukaryotic metallome evolution». En: *Geobiology*. ISSN: 14724677. DOI: 10.1111/gbi.12036.
- Robbins, L. J., Stefan V. Lalonde, Noah J. Planavsky, Camille A. Partin, Christopher T. Reinhard, Brian Kendall, Clint Scott, Dalton S. Hardisty, Benjamin C. Gill, Daniel S. Alessi, Christopher L. Dupont, Mak A. Saito, Sean A. Crowe, Simon W. Poulton, Andrey Bekker, Timothy W. Lyons y Kurt O. Konhauser (2016). «Trace elements at the intersection of marine biological and geochemical evolution». En: *Earth-Science Reviews*. ISSN: 00128252. DOI: 10.1016/j.earscirev.2016.10.013.
- Rothman, Daniel H., Gregory P. Fournier, Katherine L. French, Eric J. Alm, Edward A. Boyle, Changqun Cao y Roger E. Summons (2014). «Methanogenic burst in the end-Permian carbon cycle». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. ISSN: 10916490. DOI: 10.1073/pnas.1318106111.
- Rouxel, Olivier J., Andrey Bekker y Katrina J. Edwards (2005). «Iron isotope constraints on the Archean and Paleoproterozoic ocean redox state». En: *Science* 307.5712, págs. 1088-1091. ISSN: 00368075. DOI: 10.1126/science.1105692. URL: <https://science.sciencemag.org/content/307/5712/1088%20https://science.sciencemag.org/content/307/5712/1088.abstract>.

- Saito, Mak A., Daniel M. Sigman y François M.M. Morel (2003). «The bioinorganic chemistry of the ancient ocean: The co-evolution of cyanobacterial metal requirements and biogeochemical cycles at the Archean-Proterozoic boundary?» En: *Inorganica Chimica Acta*. ISSN: 00201693. DOI: 10.1016/S0020-1693(03)00442-0.
- Scott, C., T. W. Lyons, A. Bekker, Y. Shen, S. W. Poulton, X. Chu y A. D. Anbar (2008). «Tracing the stepwise oxygenation of the Proterozoic ocean». En: *Nature*. ISSN: 14764687. DOI: 10.1038/nature06811.
- Scott, Clint, Noah J. Planavsky, Chris L. Dupont, Brian Kendall, Benjamin C. Gill, Leslie J. Robbins, Kathryn F. Husband, Gail L. Arnold, Boswell A. Wing, Simon W. Poulton, Andrey Bekker, Ariel D. Anbar, Kurt O. Konhauser y Timothy W. Lyons (2013). «Bioavailability of zinc in marine systems through time». En: *Nature Geoscience*. ISSN: 17520894. DOI: 10.1038/ngeo1679.
- Sojo, Victor, Barry Herschy, Alexandra Whicher, Eloi Camprubí y Nick Lane (2016). «The Origin of Life in Alkaline Hydrothermal Vents». En: *Astrobiology* 16.2, págs. 181-197. ISSN: 15311074. DOI: 10.1089/ast.2015.1406. URL: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ast.2015.1406>.
- Souza, Valeria y Luis E. Eguiarte (2018). «In the Beginning, There Was Fire: Cuatro Ciénegas Basin (CCB) and the Long History of Life on Earth». En: Springer, Cham, págs. 21-33. DOI: 10.1007/978-3-319-93423-5_{_}2. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-319-93423-5_2.
- Stanley, Steven M y John A Luczaj (2015). *Earth system history*. English. New York, NY: Freeman/Macmillan Higher Education.
- Stüeken, Eva E., Roger Buick, Bradley M. Guy y Matthew C. Koehler (2015). «Isotopic evidence for biological nitrogen fixation by molybdenum-nitrogenase from 3.2 Gyr». En: *Nature*. ISSN: 14764687. DOI: 10.1038/nature14180.
- Suthar, Falguni y Christopher P. McKay (2012). «The galactic habitable zone in elliptical galaxies». En: *International Journal of Astrobiology* 11.3, págs. 157-161. DOI: 10.1017/S1473550412000055.
- Swanner, Elizabeth D., Noah J. Planavsky, Stefan V. Lalonde, Leslie J. Robbins, Andrey Bekker, Olivier J. Rouxel, Mak A. Saito, Andreas Kappler, Stephen J. Mojzsis y Kurt O. Konhauser (2014). «Cobalt and marine redox evolution». En: *Earth and Planetary Science Letters*. ISSN: 0012821X. DOI: 10.1016/j.epsl.2014.01.001.
- Vagnozzi, Sunny (2019). «New solar metallicity measurements». En: *Atoms*. ISSN: 22182004. DOI: 10.3390/atoms7020041.
- Van Kranendonk, Martin J (2014). «Earth's early atmosphere and surface environments: A review». En: *Earth's Early Atmosphere and Surface Environment*. Ed. por George H Shaw. Vol. 504. Geological Society of America, págs. 1-26. ISBN: 9780813725048. DOI: 10.1130/2014.2504(12). URL: [https://doi.org/10.1130/2014.2504\(12\)](https://doi.org/10.1130/2014.2504(12)).
- Van Kranendonk, Martin J, Contributors: Wladyslaw Altermann, Brian L Beard, Paul F Hoffman, Clark M Johnson, James F Kasting, Victor A Melezhik, Allen P Nutman, Dominic Papineau y Franco Pirajno (2012). «A Chronostratigraphic Division of the Precambrian: Possibilities and Challenges». En: *The Geologic Time Scale*. Ed. por Felix M Gradstein, James G Ogg, Mark D Schmitz y Gabi M Ogg. Boston: Elsevier. Cap. 16, págs. 299-392. ISBN: 978-0-444-59425-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-59425-9.00016-0>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444594259000160>.
- Wicander, Reed y James S Monroe (2016). *Historical geology*. English.

- Williams, R. J.P. (1997). «The natural selection of the chemical elements». En: *Cellular and Molecular Life Sciences* 53.10, págs. 816-829. ISSN: 1420682X. DOI: 10.1007/s000180050102. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9432285/>.
- Zahnle, Kevin, Laura Schaefer y Bruce Fegley (2010). «Earth's Earliest Atmospheres». En: *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2.10, a004895. DOI: 10.1101/CSHPERSPECT.A004895. URL: <http://cshperspectives.cshlp.org/content/2/10/a004895.full%20http://cshperspectives.cshlp.org/content/2/10/a004895%20http://cshperspectives.cshlp.org/content/2/10/a004895.abstract>.
- Zerkle, Aubrey L., Christopher H. House y Susan L. Brantley (2005). «Biogeochemical signatures through time as inferred from whole microbial genomes». En: *American Journal of Science*. ISSN: 00029599. DOI: 10.2475/ajs.305.6-8.467.

Capítulo 2

Interacciones Bioinorgánicas a través de los Eones

2.1. La Química de la Vida: El Metaloma

La vida en la Tierra está constituida por un conjunto de elementos químicos esenciales para la construcción, sostén y reproducción de todos los sistemas celulares y subcelulares. La mayor parte de la biomasa está constituida por carbono (C) (50 % en peso seco), hidrógeno (H) y oxígeno (O) (combinados, 25 %), nitrógeno (N) (13 %), fósforo (P) y azufre (S) (en conjunto, <5 %) (Madigan et al. 2019; Kacar et al. 2021). Adicionalmente, y en cantidades traza, la vida requiere elementos tales como el hierro (Fe), cobalto (Co), níquel (Ni), cobre (Cu), zinc (Zn), entre otros, cuyas funciones son imprescindibles en el crecimiento, desarrollo y metabolismo de los organismos, en entidades y procesos tales como cofactores, catalizadores redox, señalización celular, estabilización estructural entre otras funciones (Figura 2.1) (Kacar et al. 2021; Zhang, Ying et al. 2019).

Al conjunto intracelular de iones metálicos, metaloproteínas, metaloenzimas y biomoléculas que contienen metales se le conoce como metaloma (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019). Aunque presente en cantidades traza, la importancia del metaloma en los sistemas celulares puede visualizarse directamente en el metaloproteoma, pues se estima que entre el 30 % y 50 % de todas las proteínas son metaloproteínas (Belmonte y Mansy, 2016). A continuación, se presenta una breve revisión de algunos de los metales empleados en los sistemas celulares modernos y sus funciones principales. En la tabla 2.1 se muestran algunas familias de proteínas de dichos metales.

Grupo →		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18				
Periodo ↓		Esenciales para todos los organismos Cationes/aniones esenciales Metales traza, algunos esenciales Utilizados en funciones especializadas No esenciales, metabolizados No esenciales, no metabolizados																					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18				
1		1 H																	2 He				
2		3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne				
3		11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar				
4		19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr				
5		37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe				
6		55 Cs	56 Ba	57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	71 Lu	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
7				57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd																

Figura 2.1: Tabla periódica de los elementos, señalando su papel en los sistemas biológicos. Nótese los metales traza, donde la gran mayoría de ellos son esenciales para los organismos. Imagen modificada de: Madigan et al. (2019)

Tabla 2.1: Lista de familias/miembros de metaloproteínas para ciertos metales de transición en procariontes y eucariontes. Modificada de Zhang y Zheng (2020).

Metal	Procariontes	Eucariontes
Fe	Fotosistema I	
	Rubredoxina	Fotosistema I
	Aconitasa	Aconitasa
	Ferredoxina	Peroxidasas
	Hidrogenasa	Citocromo P450
	Peroxidasas	Citocromo c oxidasa
	Citocromo P450	Citocromo c oxidasa mitocondrial (mtCcOs)
	Citocromo c oxidasa	Ribonucleótido reductasa
	Ribonucleótido reductasa	de cluster dihierro-oxígeno clase I
	Ribonucleótido reductasa	Ribonucleótido reductasa
Zn	de cluster Fe-S clase III	de cluster Fe-S clase III
	DNA polimerasa familia beta	
	DNA primasa	
	RNA polimerasa subunidad N	Miembros de alcohol deshidrogenasa
	Superóxido dismutasa Cu-Zn	Miembros de carboxipeptidasa
	Metionina aminopeptidasa	Miembros de anhidrasa carbónica
	Miembros de proteasas	Dedos de Zinc:
	Miembros de deacetilasas	Cis ₂ His ₂
	Miembros de lactamasas	Nudillo
	Miembros de metalofosfatasas	Listón de Zn
	Miembros de aminoacil-tRNA sintetasas	Clave de Sol
	Dedo de Zn Ros Cis ₂ His ₂	Zn ₂ /Cis ₆

Table 2.1 continuación

Metal	Procariontes	Eucariontes
Cu	Citocromo c oxidasa subunidad I	Citocromo c oxidasa subunidad I
	Citocromo c oxidasa subunidad II	Citocromo c oxidasa subunidad II
	Plastocianina	Plastocianina
	Superóxido dismutasa Cu-Zn	Cu-Zn superóxido dismutasa
	Oxidasa multicobre	Oxidasa multicobre
	Tirosinasa	Tirosinasa
	Azurina	Galactosa oxidasa
	Rusticianina	Hemocianina
	Nitrosocianina	Plantacianina
	Óxido nitroso reductasa	Peptidilglicina monooxigenasa
	Nitrito reductasa	alpha-hidroxilante
Mo	NADH deshidrogenasa 2	Dopamina beta-monooxigenasa
	Metano monooxigenasa particulada	Cnx1G
	Sulfito oxidasa	Sulfito oxidasa
	Xantina oxidasa	Xantina oxidasa
	Dimetilsulfóxido reductasa	Proteínas de MOSC (mARC)
W	Proteínas de MOSC	
	Nitrogenasa de Fe-Mo	
	Aldehído ferredoxina oxidorreductasa	
	Ciertos miembros de dimetilsulfóxido reductasa:	
W	- Formato deshidrogenasa (bacterias anaeróbicas)	NA
	- Acetileno hidratasa (bacterias anaeróbicas)	
	- Fromilmetanofurano deshidrogenasa (metanógenas)	
Ni	Ureasa	
	Hidrogenasa Ni-Fe	
	Monóxido de carbono deshidrogenasa	
	Superóxido dismutasa SodN	Ureasa
	Acetil-CoA sintasa/decarbonilasa	
	Metil-CoM reductasa	
	Lactato racemasa	

Table 2.1 continuación

Metal	Procariontes	Eucariontes
Co	Metilmalonil-CoA mutasa	
	Isobutiril-CoA mutasa	
	Etilmalonil-CoA mutasa	
	Glutamato mutasa	
	Metilenglutarato mutasa	
	D-lisina 5,6-aminomutasa	
	Diol deshidratasa	
	Glicerol deshidratasa	
	Etanolamina amoniaco liasa	Metilmalonil-CoA mutasa
	Ribonucleótido reductasa	Ribonucleótido reductasa
	dependiente de B ₁₂ clase II	dependiente de B ₁₂ clase II
	Metionina sintasa	Metionina sintasa
	Metiltetrahidrometanopterina:coenzima M	
	metiltransferasa subunidad A	
	Ciertas metiltransferasas	
	deshalogenasa reductora dependiente de B ₁₂	
	PceA/CprA	
	LitR/CarH/CarA	
	PpaA	
	Epoxiqueuosina reductasa	

2.1.1. Proteínas Dependientes de Hierro

Comenzando por el hierro (Fe), el metal traza más abundante para todos los seres vivos, este metal se encuentra en la célula en estados de oxidación +2 y +3 en iones de Fe y diversos cofactores de Fe, convirtiéndolo en el ion metálico con la mayor diversidad de sitios de unión a proteínas (Gladyshev y Zhang, 2013). Muchos procesos biológicos dependen de la presencia de Fe, incluido procesos de respiración, fotosíntesis, metanogénesis, producción de H₂, ciclo de Krebs, transporte de oxígeno, fijación de oxígeno, síntesis y reparación de DNA (Andrews, Robinson et al. 2003; Andrews, Norton et al. 2013). El hierro también tiene el potencial de catalizar la producción de especies reactivas de oxígeno, por lo que es importante un riguroso sistema de homeostasis de Fe (Anderson, 2013).

En procariontes, particularmente bacterias, los sistemas de importe, almacén y desintoxicación de Fe están bien caracterizados. Para el importe de hierro, se emplean queladores férricos de alta afinidad (sideróforos) y sistemas de transporte tal como FeoAB, transportadores ABC (SfuABC, SitABCD, YfeABCD, FbpABC y FutABC); la adquisición del hierro en patógenos está dada por receptores transferrina y lactoferrina. El almacén de hierro puede presentarse en forma de ferritinas, bacterioferritinas y proteínas Dps. La regulación en la homeostasis de hierro se encuentra en distintos grupos de bacterias, ejemplos de regulación son el sistema Fur, FecA-FecR-FecI, DtxR (Andrews, Robinson et al. 2003).

Los sitios de Fe son clasificados en dos grandes clases con base en la estructura de sus cofactores: sitios de Fe hémico y sitios de Fe no hémico. Las proteínas de Fe hémico, como su nombre lo indica, contienen al grupo prostético hemo, un complejo de coordinación compuesto por una porfirina quelando un átomo de Fe. Estas proteínas cumplen con una variedad

de funciones biológicas, incluido el transporte de oxígeno (hemoglobinas y mioglobinas en eucariontes), activación de oxígeno molecular (citocromo oxidasas, catalasas, peroxidasas y citocromo P450), catálisis enzimática, transferencia de electrones (citocromo oxidasa a, b, c), entre otros. La mayoría de los sitios de Fe no hémico se encuentra en enzimas con actividad oxidorreductasa, consistente con el hecho de que el Fe es el metal más utilizado en la catálisis redox. De los sitios de Fe no hémico, 40 % corresponden a clústers Fe-S (Gladyshev y Zhang, 2013), que consisten en átomos de Fe unidos a átomos de S y participan en procesos fisiológicos fundamentales tales como metabolismo central y síntesis de DNA y proteínas. Los clústers Fe-S más comunes son los mononucleares, clústers Fe_2S_2 y clústers Fe_4S_4 (Belmonte y Mansy, 2016). Ejemplos de proteínas Fe-S incluyen a los complejos respiratorios I-III de bacterias y mitocondrias, fotosistema I, ferredoxinas e hidrogenasas. Adicionalmente, a los clústers Fe-S, otras proteínas no hémicas y no Fe-S, incluyen a las enzimas de Fe no hémico mononucleares (catecol dioxigenasas, oxigenasas Rieske, hidroxilasas dependientes de pterina, oxigenasas dependientes de alfa-cetoglutarato), enzimas de Fe no hémico dinucleares (ribonucleótido reductasas, monooxigenasas multicomponente bacterianas, ferritinas) (Crichton, 2016). Estudios bioinformáticos muestran que el proteoma de Fe no hémico constituye $\approx 7\%$ en arqueas, $\approx 4\%$ en bacterias y $\approx 1.1\%$ en eucariontes. La mayoría de dichas proteínas tienen homólogos en los tres dominios de la vida (Gladyshev y Zhang, 2013).

2.1.2. Proteínas Dependientes de Zinc

El zinc (Zn) es de los metales traza de mayor importancia en los sistemas biológicos, principalmente en eucariontes. En este dominio, el Zn representa el metal de mayor abundancia en dominios proteínico seguido del Fe. Este metal se utiliza en forma de Zn(II), y está presente en una gran cantidad de metaenzimas de Zn que son utilizadas en procesos involucrados en la síntesis de DNA y RNA, al igual que múltiples enzimas de todas las clases existentes (Maret, 2013). En eucariontes, el Zn es ampliamente utilizado en pequeños motivos estructurales proteínicos denominados dedos de zinc, que funcionan como agentes de señalización en procesos nucleares (Robbins et al. 2016), así como componente clave para proteínas estructurales y proteínas ribosomales (Zhang, Ying et al. 2019).

Al igual que otros metales, a pesar de su importancia en los sistemas biológicos, un exceso de Zn puede provocar citotoxicidad severa; así, las concentraciones de Zn intracelular deben ser reguladas a través del importe, exporte y secuestro por metalochaperonas. En procariontes, se han caracterizado sistemas de transporte ABC (ZnuABC) con alta afinidad a Zn. Adicionalmente, el importe de Zn se realiza mediante Nramp, Mramp, ZupT, sistemas de transporte no específicos (CorA), MgtA. En eucariontes, la superfamilia ZIP está involucrada en el importe de Zn al igual que ZnT-(1-4). Metalochaperonas tales como las metalotioneínas están presentes en eucariontes y en bacterias (particularmente cianobacterias); ejemplos de estas incluyen SmtA, SmtB y PZP1. Los sistemas de exporte de Zn en procariontes consisten en ATPasas tipo P (CadA, ZiaS y XntA) y transportadores secundarios (transenvoltura RND, determinante *czc*) (Blencowe y Morby, 2003).

Las funciones de las proteínas que contienen Zn son muy diversas. En orden decreciente, el Zn se encuentra presente en: factores de transcripción, dedos de zinc, hidrolasas, ligasas, proteínas de señalización, transferasas, proteínas de transporte/almacén, oxidorreductasas

y liasas/isomerasas (Maret, 2013). De forma general, los sitios de zinc pueden clasificarse en tres funciones distintas: zinc catalítico, zinc estructural y zinc regulatorio. Cabe destacar la importancia de los pequeños motivos denominados dedos de zinc; estos están presentes (casi) únicamente en eucariontes y se caracterizan por ser sitios de unión a DNA así como poseer interacciones de RNA-proteína y proteína-proteína (Andreini y Bertini, 2013). En procariontes, la función principal de las proteínas de Zn es la catálisis enzimática; por el contrario, en eucariontes primordialmente se utilizan en la regulación de la transcripción de DNA, y de igual forma en catálisis (Andreini y Bertini, 2013).

A diferencia de múltiples metales de transición de importancia biológica, existe una correlación lineal entre el número de metaloproteínas de Zn y el tamaño del proteoma de los organismos, siendo mayor en eucariontes (8.8 %) que en procariontes (5-6 %) (Andreini, Banci et al. 2006); este incremento en eucariontes se debe a un gran número de proteínas de Zn involucradas en procesos de regulación (Maret, 2013). Aproximadamente 66 % de las proteínas de Zn en procariontes tienen homólogos en eucariontes, mientras que 75 % de las enzimas de Zn eucariontes no tienen homólogos con procariontes (Andreini, Banci et al. 2006; Maret, 2013).

2.1.3. Proteínas Dependientes de Níquel

El níquel (Ni) es un metal imprescindible en muchas enzimas procariontes. Entre sus principales usos, se encuentra involucrado en procesos energéticos, metabolismo del N, procesos de desintoxicación, patogénesis, inactivación de enzimas, peroxidación de lípidos y en rutas de reducción de carbono (metanogénesis y acetogénesis). Además, el Ni es empleado en hidrogenasas, monóxido de carbono deshidrogenasa (CODH), y en la catálisis de la reducción del CO₂ a CO, con la producción de acetil CoA (Gladyshev y Zhang, 2013; Robbins et al. 2016).

En procariontes, tanto el Ni como el Co utilizan sistemas de transporte similares. En bacterias, el importe de estos metales es mediado principalmente por el sistema de transportadores ABC y varios transportadores secundarios; entre estos se encuentran NikABCDE, Cbi/NikMNQO, NikKL, NiCoT, UreH, HupE/UreJ. Además, el operón *nikABCDE* y los sistemas NikMNQO y NiCoT presentan genes de represión (NikR) que muestran la actividad regulatoria ante las concentraciones celulares de Ni (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019). De los transportes microbianos mencionados, Cbi/NikMNQO en conjunto con NikKL está extensamente distribuido en diversos taxa. En eucariontes, el sistema TgMTP1 se ha reportado con potencial de acumulación de Ni (Gladyshev y Zhang, 2013).

Enzimas estrictamente dependientes de Ni en procariontes incluyen a la ureasa (hidrólisis de urea a CO₂ y amoníaco), hidrogenasas de Fe-Ni (reacción reversible de oxidación de H₂), monóxido de carbono deshidrogenasa (oxidación de CO a CO₂, H₂O fuente de oxígeno), metil-CoM reductasa (producción de metano biogénico) y superóxido dismutasa SodN (desproporción del superóxido). En eucariontes, la ureasa es la única metaloproteína dependiente de Ni. En bacterias, la ureasa es la proteína con mayor distribución, mientras que en arqueas las hidrogenasas de Fe-Ni son más abundantes; en arqueas es escaso (o ausente) la ureasa.

Análisis de genómica comparada revelan que, a excepción de las Deltaproteobacteria y varias especies de *Methanosarcina*, los metaloproteomas dependientes de Ni o Co son pequeños en los procariontes (típicamente 1-4 proteínas). Adicionalmente, para organismos endosimbiontes o parásitos intracelulares obligados existe una tendencia para una utilización reducida en Ni y Co; este patrón es muy similar a la utilización de Mo (ver Sección 2.1.6) (Gladyshev y Zhang, 2013). En eucariontes la utilización de Ni es mucho más restringida que en procariontes; En este dominio, la ureasa es la enzima dependiente de Ni más abundante en conjunto con los transportadores NiCoT (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019).

2.1.4. Proteínas Dependientes de Cobalto

A pesar de ser encontrado en menor proporción en metaloenzimas que otros metales de transición (particularmente Fe, Zn y Cu), el cobalto (Co) es imprescindible y su está presente mayoritariamente en forma de cobalamina (vitamina B₁₂), cofactor constituido por un átomo de Co dentro de un anillo de tetrapirrol denominado corrina. este cofactor es esencial en múltiples metaloenzimas tales como la metionina sintasa, ribonucleótido reductasa, y anhidrasa carbónica cambialística (Gladyshev y Zhang, 2013; Robbins et al. 2016).

Como fue discutido en la Sección 2.1.3, el Co es incorporado a las células a través de transportadores mayormente compartidos junto con el Ni. Dentro de los procariontes, destaca el sistema CbiMNQO y el potencial transportador CbtABCDEFGX. En eucariontes, se desconoce a la actualidad de algún sistema de alta afinidad a la incorporación de Co, sin embargo, se han detectado supresores de citotoxicidad a Co tal como COT1 y GRR1 (Gladyshev y Zhang, 2013). Se sugiere que el transporte de Co es compartido junto con el transporte de Zn y Fe (Zhang, Ying et al. 2019).

La biosíntesis de vitamina B₁₂ está dada por dos vías alternativas: una ruta dependiente de oxígeno (aeróbica, de inserción de Co tardía) y una ruta independiente de oxígeno (anaeróbica, de inserción de Co temprana) (Gladyshev y Zhang, 2013). La ruta aeróbica incorpora oxígeno molecular al macrociclo previo a la contracción del anillo (corrina), mientras que la ruta anaeróbica utiliza un ion de Co quelado para promover la contracción de anillo. Las enzimas CbiD, CbiG, CbiK aparentemente son específicas para la ruta aeróbica mientras que CobE, CobF, CobG, CobN, CobS, CobT y CobW son específicas para la ruta anaeróbica (Gladyshev y Zhang, 2013). Para organismos sin la capacidad de sintetizar la cobalamina de novo, es crucial que posean mecanismos de incorporación de la misma; esta función se ha descrito en el sistema BtuFCD en procariontes y las proteínas haptocorrina, factor intrínseco y transcobalamina en eucariontes (Gladyshev y Zhang, 2013).

La cobalamina está presente en tres clases de enzimas en procariontes basadas en las propiedades químicas de dicho cofactor: isomerasa dependiente de adenosilcobalamina (rearreglos 1,2 que proceden a través de un mecanismo de radicales libres), metiltransferasa dependiente de metilcobalamina y deshalogenasa reductora dependiente de B₁₂ (esta última importante en la desintoxicación de compuestos orgánicos aromáticos y alifáticos clorados). Dentro de la isomerasa dependiente de adenosilcobalamina se encuentran las subclases: metilmalonil-CoA mutasa (isomerización del metilmalonil-CoA a succinil-CoA), isobutiril-CoA mutasa (rearreglo de isobutiril-CoA a n-butil-CoA), etilmalonil-CoA mutasa (transformación del

etilmalonil-CoA a metilsuccinil-CoA), glutamato mutasa (isomerización del L-glutamato a L-treo-metilaspartato), metilenglutarato mutasa (transformación del 2-metilenglutarato a (*R*)-3-metilaconitato), D-lisina 5,6-aminomutasa (rearreglos 1,2 del grupo amino terminal de D-lisina y L-beta-lisina), diol/glicerol deshidratasa (eliminación de agua del glicerol o 1,2-propanodiol a su respectivo aldehído), etanolamina amoniaco liasa (desaminación de etanolamina y 2-aminopropanol) y ribonucleótido reductasa dependiente de B₁₂ clase II (conversión de ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos). En cuanto a las subclases de la metiltransfera dependiente de metilcobalamina, se reconocen, por una parte, aquellas proteínas que se unen a sustratos sencillos tales como metanol (MtaB), aminas metiladas (MttB, MtbB, MtmB), tioles metilados (MtsB), anillos aromáticos metoxilados (MtvB) y metales pesados metilados; por otra parte, está la metionina sintasa (MetH) que cataliza la transferencia de metilo del metiltetrahidrofolato a homocisteína. Finalmente, existen otras metiltransferasas dependientes de cobalamina designadas como Mtx (siendo x el donador de metilo). En eucariontes únicamente se han identificado tres enzimas dependientes de B₁₂ (tabla 2.1), sugiriendo la restricción del uso de Co en este dominio (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019).

Existen proteínas que utilizan al Co sin estar en forma de cobalamina; a este grupo se les conoce como proteínas que unen a cobalto no corrinoide. Algunos ejemplos donde se emplea el Co no corrinoide son la metionina aminopeptidasa, prolidasa, nitrilo hidratasa, metilmalonil-CoA carboxitransferasa, aldehído descarbonilasa, glucosa isomerasa. Sin embargo, estas enzimas son cambialísticas y pueden utilizar otros metales (tales como Fe, Zn, Mn) en lugar de Co (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019).

Similar a otros metales, la distribución de Co en los distintos dominios de la vida no es homogéneo. En bacterias y eucariontes, la metionina sintasa dependiente de cobalamina es la más abundante. Por el contrario, en arqueas se reporta que la ribonucleótido reductasa dependiente de B₁₂ clase II está mayormente distribuida. Al igual que para el Ni, la utilización de Co está mucho más restringida en eucariontes (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019). Otros rasgos de la utilización de Co se mencionaron en la sección anterior (Sección 2.1.3)

2.1.5. Cuproproteínas

El cobre (Cu) consiste en un metal utilizado en cofactores involucrados en la transferencia de electrones, captura de energía, dismutación de superóxido, monooxigenación, transporte de oxígeno molecular y hierro, y otras enzimas oxidativas (sustratos orgánicos y metales). Particularmente, las metaloenzimas modernas de Cu cumplen un papel importante en la nitrificación, desnitrificación, oxidación de amoníaco y fotosíntesis (Gladyshev y Zhang, 2013; Robbins et al. 2016; Zhang, Ying et al. 2019). Por otra parte, el Cu es altamente tóxico en su forma libre debido a su capacidad de producir radicales libres en el ciclado de Cu(I) y Cu(II); debido a esto, es muy importante que los organismos que utilizan Cu controlen la concentración intracelular de Cu (Gladyshev y Zhang, 2013); esto es logrado a través de la homeostasis de la incorporación, tráfico (chaperonas y ATPasas tipo P) y regulación del Cu (Zhang, Ying et al. 2019).

Procesos involucrados con el tráfico de Cu son requeridos para satisfacer las necesidades celulares y para limitar la toxicidad de Cu. El importe de Cu principalmente requiere de la coordinación de proteínas que utilizan dominios que ligan a metales, mientras que la desintoxicación de Cu requiere la unión de Cu a proteínas específicas. En procariontes, los mecanismos involucrados en el transporte y homeostasis del Cu no están completamente comprendidos. Para la mayoría de bacterias, no se ha identificado un sistema de importe de Cu específico, reflejando posiblemente que este metal no es indispensable para todos los organismos (Gladyshev y Zhang, 2013). Entre algunas proteínas relacionadas con el transporte de Cu en procariontes se encuentran MspA, metanobactina, RopAeCopA/PacS, CusCFBA, CutC, PcoABCDRSE (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019). En eucariontes, la homeostasis del cobre se logra a través de transportadores de alta afinidad a Cu (Ctr) (importe), proteínas de la familia ATP7 (exporte) (Gladyshev y Zhang, 2013).

De forma general, los centros de Cu en las proteínas pueden clasificarse en tres grupos basados en sus propiedades espectroscópicas y estructurales: Cu tipo 1, tipo 2 y tipo 3. Las cuproproteínas de Cu tipo 1 (también llamadas de Cu azul por su absorbancia alrededor de 600 nm) están representadas por proteínas pequeñas (denominadas cupredoxinas) que catalizan la transferencia de electrones en cadenas respiratorias y fotosintéticas de bacterias y plantas (e.g. plastocianina, azurina, rusticianina, plantacianina); además, estos centros de cobre también están presentes en enzimas de mayor peso molecular, tal como la nitrito reductasa, y proteínas del grupo de la multicobre oxidasa encargadas del transporte de electrones intramolecular. el centro Cu_A es una variante del centro Cu tipo I y se encuentra presente en la citocromo c oxidasa (enzimas terminales en cadenas respiratorias) y en la óxido nítrico reductasa (transformación de N_2O a N_2). Los centros de Cu tipo 2 están presentes en la superóxido dismutasa de Cu-Zn (estrés oxidativo), Cu amina oxidasa (desaminación con transformación de O_2 a H_2O_2), peptidilglicina monooxigenasa R-hidroxilante y dopamina beta-monooxigenasa (estas últimas presentes principalmente en metazoarios, ambas participando en la ruptura de O_2 como fuente de grupos OH). Finalmente, el grupo de proteínas con centros de Cu 3 son la NADH deshidrogenasa 2 (función antioxidante y homeostasis de Cu), tirosinasas (pigmentación, factores en sanación de heridas, respuesta inmune primaria), hemocianina (hemolinfa de algunos artrópodos y moluscos, carreadores extracelulares de oxígeno), metano oxigenasa particulada (oxidación de metano a metanol en metanórofas), Cnx1G (catálisis de la inserción de Mo en la molibdopterina) y galactosa oxidasa (oxidación de galactosa. Presente en hongos) (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019).

Finalmente, estudios de genómica comparada muestran que la proporción de proteoma de Cu es menor al 1 % del proteoma total tanto en procariontes y en eucariontes. Además, la distribución del uso de Cu en los distintos dominios de la vida muestran no es homogénea; alrededor del 80 % de bacterias utilizan Cu (con algunos phyla carentes de cuproproteínas), mientras que en arqueas solo el 50 % parece utilizar cobre. Aparentemente, casi todos los eucariontes (>95 %) utilizan Cu, sugiriendo una uniforme y esencial naturaleza de este metal en este dominio (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019).

2.1.6. Molibdoproteínas

El molibdeno (Mo) es un metal de transición que cataliza reacciones de oxo-transferencia en una gran cantidad de enzimas (molibdoenzimas), incluyendo el complejo enzimático de la nitrogenasa, la nitrato reductasa, y enzimas eucariontes para la asimilación de nitrato (Robbins et al. 2016); adicionalmente, las molibdoenzimas tienen una participación relevante en el metabolismo de C y S (Gladyshev y Zhang, 2013). Con excepción del cofactor Fe-Mo presente en la nitrogenasa, todas las molibdoenzimas utilizan este metal en forma de cofactor de molibdeno (MoCo), que consiste en un átomo de Mo coordinado con una entidad de piranopterina cíclica, denominada molibdopterina (Gladyshev y Zhang, 2013). La presencia de molibdoproteínas se encuentra distribuida en prácticamente todos los organismos vivos, incluyendo animales, plantas, hongos y bacterias (Gladyshev y Zhang, 2013).

La incorporación de Mo se lleva a cabo mediante transportadores de alta afinidad a Mo. En bacterias, el primer transportador de Mo identificado es el sistema de transporte Mo-dABC consiste en ModA (proteína que liga molibdato), ModB (canal integral de membrana), ModC (ATPasa citoplásmica); además, ModE es un represor del operón *modABC* (Gladyshev y Zhang, 2013). Dos transportadores adicionales con distinta afinidad a sustrato es el WtpABC (transporta tanto Mo como W) así como PerO (familia de la permeasa). El sistema ModABC es el sistema de transporte más ampliamente utilizado en bacterias mientras que WtpABC es el más utilizado en arqueas (Zhang, Ying et al. 2019). La información sobre el transporte de Mo en eucariontes es limitada; actualmente se han reconocido los sistemas MOT1 (miembro de la superfamilia de transportador de sulfato) y MOT2 (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019).

La biosíntesis de MoCo se lleva a cabo a través de una ruta conservada evolutivamente a lo largo de los tres dominios de la vida (Gladyshev y Zhang, 2013). esta ruta consiste en: i) conversión de un derivado de guanosín (GTP principalmente) en piranopterina monofosfato cíclica (cPMP); ii) transformación de cPMP en molibdopterina; iii) incorporación del metal en el apo-cofactor; y iv) maduración a un cofactor activo. En procariontes, las proteínas requeridas para la biosíntesis de MoCo se encuentran codificadas en los operones *moa-mog*. Por el contrario, en eucariontes existen al menos seis proteínas (homólogas a sus equivalentes procariontes) involucradas en este proceso (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019). Debido a la alta inestabilidad de MoCo, este cofactor requiere ser inmediatamente transferido a las molibdoenzimas o bien unirse a una proteína carreadora/de almacén hasta su posterior inserción. En bacterias se han identificado chaperonas tales como NarJ y DmsD que unen MoCo y asisten en la incorporación del cofactor (Gladyshev y Zhang, 2013), mientras que en eucariontes se desconocen en gran medida los mecanismos asociados al almacén y acarreadores de MoCo (más allá de la proteína acarreadora de MoCo, MoCo sulfurasa y el transportador mitocondrial ABC ATM3) (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019).

Basado en la composición de cofactores y función catalítica, las molibdoenzimas pueden ser clasificadas en dos grupos: molibdoenzimas que ligan MoCo y la nitrogenasa dependiente de Mo que contiene al cofactor Fe-Mo (Zhang, Ying et al. 2019). La nitrogenasa es indispensable para la fijación biológica de nitrógeno; de los cuatro tipos de nitrogenasa reconocidos, la más

abundante y ampliamente estudiada es aquella que utiliza el cofactor Fe-Mo. En cuanto a aquellas molibdoenzimas que utilizan MoCo se encuentran aquellas de las familias proteínicas de la sulfito oxidasa (transferencia de un átomo de oxígeno de o hacia un par de electrones no pareados), xantina oxidasa (hidroxilación oxidativa de aldehídos y heterociclos aromáticos), dimetilsulfóxido reductasa (la mayoría enzimas terminales de cadenas respiratorias anaeróbicas) y algunos miembros de la aldehído ferredoxina oxidorreductasa (interconversión de aldehídos y carboxilatos) (Gladyshev y Zhang, 2013).

Estudios de genómica comparada para la utilización de molibdeno muestran que una amplia distribución de genes codificantes en el transporte de Mo, biosíntesis de MoCo y proteínas que contengan Mo se encuentran cohesivamente en casi todos los organismos que utilizan Mo (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019). Este metal es empleado en casi todos los phyla de bacterias y arqueas, sugiriendo que la utilización de este metal es un rasgo primitivo de la vida en la Tierra (Gladyshev y Zhang, 2013). Por el contrario, el Mo es esencial para todos los animales, plantas terrestres, algas eucariontes, ciertos hongos y estramenópilos; sin embargo, parásitos, levaduras y ciliados de vida libre han perdido este rasgo.

2.1.7. Tungstoproteínas

El tungsteno (W) es utilizado por procariontes anaerobios primitivos, principalmente arqueas termofílicas (Gladyshev y Zhang, 2013); hasta el momento, se desconoce que algún eucarionte utilice tungsteno para sus funciones celulares (Basu, 2013). Debido a que pertenece al mismo grupo químico que el Mo (i.e., metales de transición del grupo 6), su papel en los sistemas biológicos es mayormente análogo al papel que juega el Mo (Robbins et al. 2016). Asimismo, las metaloproteínas de tungsteno están en gran parte representadas por la familia aldehído ferredoxina oxidorreductasa (Gladyshev y Zhang, 2013).

Como fue mencionado con anterioridad, el W presenta una alta similitud con el Mo en cuanto a propiedades fisicoquímicas y, eventualmente, en las funciones celulares que desempeñan. Esto se ve reflejado claramente en los sistemas de transporte para incorporar W. En la Sección 2.1.6 se planteó la afinidad diferencial a sustrato de los transportadores ModABC y WtpABC; ambos transportadores son capaces de movilizar W al igual que Mo. Adicionalmente, se han caracterizado a los transportadores TupABC, que muestran una alta especificidad al transporte de W.

Debido a las similitudes fisicoquímicas entre el W y el Mo, usualmente es imposible distinguir la utilización de estos dos elementos basados en análisis de secuencias (Gladyshev y Zhang, 2013). Sin embargo, basados en estudios teóricos y experimentales, se ha intentado implementar algoritmos para distinguir entre tungstoproteínas y molibdoproteínas (Zhang, Ying et al. 2019). El refinamiento de dichos algoritmos es imprescindible para futuros avances en la utilización de W en procariontes.

2.2. Vida que Brota de las Rocas: Los Metales en la Emergencia de los Sistemas Celulares

El irremplazable papel que tienen los metales en la bioquímica moderna permite especular sobre la contribución que estos tuvieron en procesos prebióticos hacia la construcción de sistemas celulares en la Tierra primitiva (Kacar et al. 2021). Adicionalmente, la dependencia de estos iones metálicos posiblemente refleja el ambiente geológico en el cual la vida celular emergió (Belmonte y Mansy, 2016). Dos fuentes principales de evidencia fundamentan estas hipótesis; por una parte, la experimentación con minerales (o iones metálicos) como catalizadores y estabilizadores de relevancia prebiótica y, por otro lado, está el estudio de sitios activos en metaloenzimas: su semejanza con la estructura cristalina en minerales y su posible evolución a partir de iones libres. A continuación se profundiza en ambos puntos.

Impulsado por pioneros como Luis Alfonso Herrera (Cleaves et al. 2014) y los reconocidos experimentos de Stanley Miller (Miller, 1953; Miller, 1957; Miller, 1986), la creación abiótica de compuestos de importancia biológica fundó la abiogénesis, el esquema científico actual que estudia el surgimiento de la vida a partir de lo inerte. La formación de prebiótica de monómeros tales como aminoácidos, lípidos y nucleótidos ha sido investigada a gran profundidad; en contraste, aún se desconoce a detalle los mecanismos prebióticos de ensamblamiento de nucleótidos y aminoácidos, semejante a la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos en organismos actuales (Belmonte y Mansy, 2016). El desarrollo de una evolución química en la Tierra primitiva, una transición de creciente complejidad, guarda una íntima relación con el ambiente fisicoquímico, particularmente en la consideración de superficies minerales. Actualmente, se reconocen a las superficies minerales como agentes de gran relevancia en el autoensamblamiento de compuestos orgánicos sencillos hacia complejos supramoleculares (Rimola et al. 2019). Esto pudo ser logrado mediante las propiedades adsorbentes de los minerales, actuando como mecanismos de concentración, selección y organización de reactantes (Hazen, 2006) en conjunto con actividad catalítica de síntesis y polimerización de aminoácidos y nucleótidos (Maurel y Leclerc, 2016); además, la protección brindada ante la actividad hidrolítica del agua y radiación ultravioleta (Maurel y Leclerc, 2016; Rimola et al. 2019) otorga una mayor estabilidad molecular y, por tanto, aumentar los tiempos de vida para los cuales estos sistemas son susceptibles a incrementar en complejidad. Algunos ejemplos de estudios acerca de estabilidad y ensamblamiento molecular incluyen a la estabilidad de la guanina bajo montmorillonita sódica (Arriaga et al. 2016); autoensamblamiento de glicina en superficies de pirita (Cruz-López et al. 2016); autoensamblamiento de histidina en sulfuros, carbonatos y serpentinas (Madrigal-Trejo et al. 2021); entre otros (para mayor profundización, revisar: Hazen y Sverjensky (2010), Maurel y Leclerc (2016) y Kitadai y Maruyama (2018))

Adicionalmente, los metales, confinados en superficies minerales o bien en forma de iones disueltos, pudieron tener una participación imprescindible en un metabolismo primitivo en un posible mundo de RNA, donde las ribozimas tienen limitantes para la catálisis metabólica y las proteínas catalíticas aún no toman un papel central en la biología (Belmonte y Mansy, 2016). Este esquema protometabólico que involucra fuertemente a los minerales fue promovido extensamente en los trabajos de Günter Wächtershäuser (Wächtershäuser, 1988a; Wächtershäuser, 1988b; Wächtershäuser, 1990). Evidencia experimental sugiere que

rutas clave del metabolismo central fue moldeado por iones metálicos que fungieron como catalizadores (Belmonte y Mansy, 2016). Keller et al. (2014) muestran que la mayoría de las reacciones en la glucólisis y en la vía de las pentosas fosfato (ambas rutas de ruptura de carbohidratos) pueden ser catalizadas por Fe^{2+} a altas temperaturas, sugiriendo una dependencia de estos iones libres en un océano ferruginoso. Adicionalmente, minerales de sulfuros y óxidos promueven reacciones de fijación de nitrógeno, hidroformilación, aminación y síntesis tipo Fischer-Tropsch (Hazen y Sverjensky, 2010). Como último ejemplo, la fougierita ($[\text{Fe}_{6x}^{2+}\text{Fe}_{6(x-1)}^{3+}\text{O}_{12}\text{H}_{2(7-3x)}]^{2+} \cdot [(\text{CO}_3^{2-}) \cdot 3\text{H}_2\text{O}]^{2-}$) en conjunto con la mackinawita niquelífera ($\text{Fe}[\text{Ni}]\text{S}$) presentan propiedades que conducen energía libre y potencialmente la generación de protometabolismo autotrófico (reducción de CO_2) en membranas/vesículas compuestas por estos minerales (Russell y Ponce, 2020).

Además del Fe, otros metales de transición presentes en la bioquímica moderna también han sido objeto de estudio en condiciones de Tierra primitiva. Minerales de Ni como la mackinawita niquelífera ($\text{Fe}[\text{Ni}]\text{S}$) (mencionada anteriormente) y la schreibersita ($[\text{Fe},\text{Ni}]_3\text{P}$) presentan mecanismos de conducción de electrones y fosforilación respectivamente (Pasek, 2017; Russell y Ponce, 2020). El Co proveniente de rocas máficas pudo ser componente primordial en la fijación de carbono (Moore, Hao et al. 2018). Para el caso del Cu, cianocupratos sometidos a radiación UV producen carbohidratos de importancia prebiótica (Todd et al. 2018). Iones de $\text{Zn}(\text{II})$ y superficies de ZnS catalizan reacciones que producen compuestos orgánicos de importancia prebiótica, tal como intermediarios del ciclo de Krebs (Mulkiđjanian y Galperin, 2009; Mulkiđjanian, 2009). Finalmente, la mayoría de miembros de la superfamilia del complejo hierro-azufre-molibdoenzima estuvieron posiblemente presentes en el último ancestro común (LUCA); aunque con menor claridad, es probable que el Mo y W tuvieran un papel relevante en la química prebiótica en un ambiente hidrotermal (Schoepp-Cothenet et al. 2012).

Como segundo punto, es notable el parecido que tienen los centros activos de algunas metaloenzimas contemporáneas a diversos minerales de origen natural. Recientemente, algoritmos de comparación estructural aplicados a cristales y sitios activos selectos muestran diversos grados de semejanza (Figura 2.2) (Zhao et al. 2020). Algunos de estos centros metálicos son catalíticamente activos aún al ser despojados de sus componentes orgánicos; esto remonta al clásico experimento de Calvin (1959), donde se observa que iones libres de Fe^{3+} catalizan la dismutación del peróxido de hidrógeno. Esta reacción tiene un incremento de 1000 veces cuando el Fe se coordina con porfirina, y un incremento adicional de 10^7 cuando esta porfirina de hierro (grupo hemo) se coordina a la enzima catalasa (Figura 2.3). Este ejemplo ilustra como la actividad intrínseca del centro metálico puede ser aumentada por material codificado genéticamente (Figura 2.3) (Belmonte y Mansy, 2016). Esto puede representar no solo un caso de evolución a perfeccionar la actividad innata de los iones metálicos; la prevalencia de metaloenzimas en organismos modernos puede reflejar la dificultad a evolucionar secuencias independientes de metales. Así, el espacio de posibles secuencias catalíticas está compuesto mayoritariamente por secuencias dependientes de metales (Belmonte y Mansy, 2016). Por otro lado, desde una perspectiva *top-down*, los motivos estructurales y secuencias de aminoácidos que coordinan iones metálicos usualmente son altamente conservadas; basado en esto, es posible trazar péptidos con potencial prebiótico (Nitschke et al. 2013;

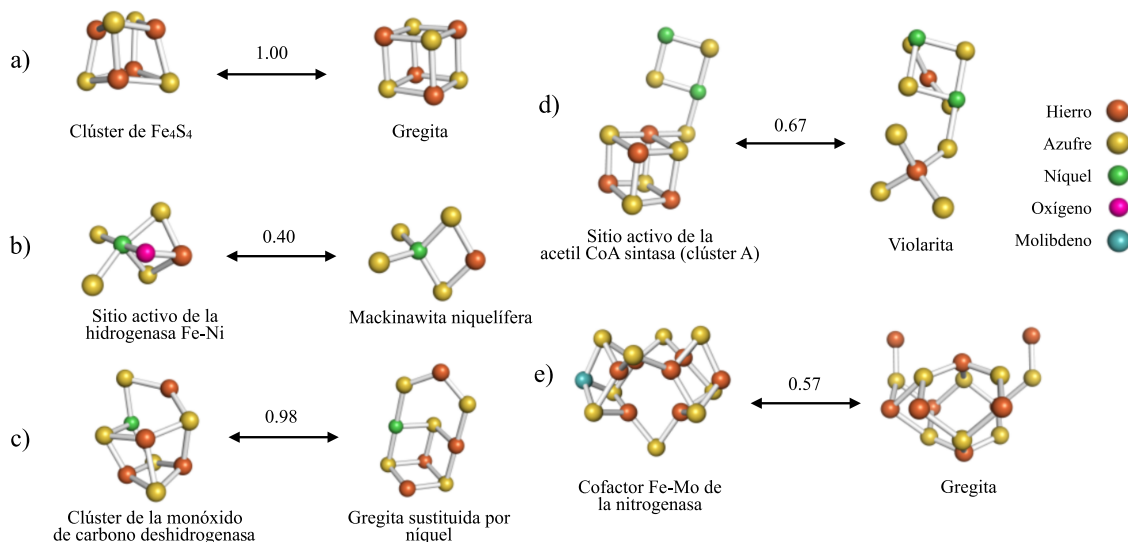


Figura 2.2: Similitud estructural entre minerales y centros metálicos de algunas metaloenzimas. Se muestra el índice de similitud sobre las flechas. Imagen modificada: Zhao et al. (2020)

Belmonte y Mansy, 2016). Por ejemplo, una clase de proteínas Fe_4S_4 son coordinadas por el motivo Cis-X-X-Cis-X-X-Cis (Nitschke et al. 2013). También, los motivos Asp-X-Asp-X-Asp y Asp-X-X-X-Asp-X-Asp están asociados con la unión a Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} y Ni^{2+} ; los aminoácidos que los componen son considerados como aminoácidos prebióticos (Belmonte y Mansy, 2016).

2.3. Los Metales en la Evolución de la Vida

Los metales han acompañado a la vida desde sus orígenes (Sección 2.2) hasta el día de hoy. Sin embargo, una pregunta central es a qué grado dos factores influenciaron a la selección natural de los elementos a lo largo de la historia de la Tierra: las características fisicoquímicas innatas de los elementos, o la función de los mismos dependiente de un contexto biológico (i.e., constricciones ambientales como la biodisponibilidad) que varían a lo largo del tiempo (Kacar et al. 2021). Muy posiblemente, esta cuestión no conlleva a una respuesta dicotómica, sino en un espectro entre ambas influencias. En la presente sección, se muestra una concepción actual de la evolución de los metales traza en los sistemas biológicos, inclinada hacia una perspectiva de influencia ambiental dependiente del estado redox del sistema océano-atmósfera (Figura 2.4).

La oxigenación del sistema océano-atmósfera fue sin duda uno de los eventos más relevantes en la historia de la Tierra (Sección 1.1). Los cambios en el estado redox global del océano y la atmósfera influenciaron dramáticamente la química de los metales traza así como su biodisponibilidad (Sección 1.2) (Dupont, Yang et al. 2006). Así, estas transiciones en la biodisponibilidad de metales redox sensibles (Fe, Mn, Zn, Co, entre otros) generó una presión de selección hacia la utilización de estos iones, dejando vestigios en los genomas y proteomas de organismos modernos (Dupont, Yang et al. 2006). Adicionalmente, la biodisponibilidad

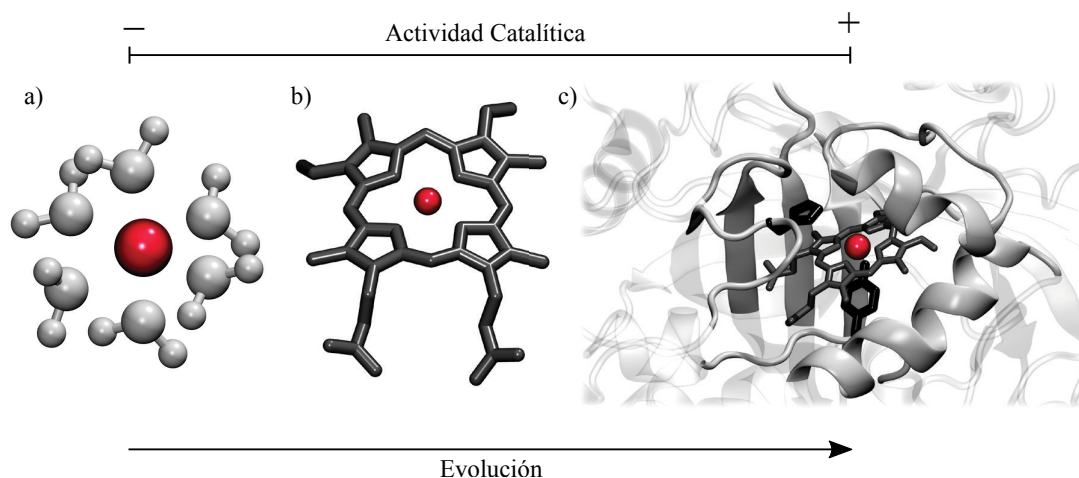


Figura 2.3: Comparación entre estructuras que rodean a un ión metálico de Fe que catalizan la dismutación del H₂O₂. a) Fe³⁺ hidratado, b) Fe dentro de porfirina (grupo hemo), c) grupo hemo dentro de la enzima catalasa. Este modelo aplicable a otras metaloproteínas visualiza la ventaja que confieren algunos péptidos (y estructuras organometálicas) hacia una selección positiva hacia la construcción de pliegues de mayor peso molecular y mayor actividad catalítica. Imagen modificada: Belmonte y Mansy (2016)

de metales pudo ser una fuerte restricción ambiental (o bien un detonador) a la radiación de los eucariontes, la evolución de la multicelularidad, y subsecuentemente, la explosión cámbrica (Anbar y Knoll, 2002; Isson et al. 2018; Mukherjee et al. 2018). Esta hipótesis sobre la influencia de la biodisponibilidad de metales traza en la coevolución del ambiente y la vida se le denominó un “puente bioinorgánico” por Anbar y Knoll (2002).

En un primer estudio bioinformático, Dupont, Yang et al. (2006) describen una correlación entre las abundancias de estructuras que ligan metales y el tamaño del proteoma donde se observa que estas escalan en una ley de potencias característica para cada dominio de la vida. Las diferencias en las potencias que describen las abundancias de estos metales en los proteomas presentan un patrón distinguible, sugiriendo una evolución en ambientes anóxicos y oxigenados, respectivamente, para procariontes y eucariontes (Dupont, Yang et al. 2006). Entre las tendencias mostradas, pareciera que la vida ha seleccionado metaloproteínas de un *pool* diverso de metales; sin embargo, la elección de un elemento conlleva a la eliminación de otros. Esta sustitución de metales a lo largo de la historia evolutiva es posiblemente la causa de las leyes de potencia observadas para los metales descritos con anterioridad (Dupont, Butcher et al. 2010). Posteriormente, en Dupont, Butcher et al. (2010) se expande este esquema en la generación de filogenias de superfamilias de plegamientos (FSFs) para dilucidar tiempos de emergencia de las mismas. Así, en este estudio distinguen tres épocas para la evolución de plegamientos que ligan metales: la primera, aquellos FSFs ubicuos para toda la vida y que, en gran medida, son catalizadores en el metabolismo moderno; la segunda, la evolución de estructuras proteínicas en la diversificación de dominios y la emergencia de los primeros linajes; y la tercera, la emergencia de arquitecturas proteínicas específicas y ampliamente distribuidas en eucariontes. Adicionalmente, se determina que el Fe, Mn y Mo fueron seleccionados preferencialmente por la vida primitiva, en contraste con Cu y Zn cuya utilización evolucionó posterior al GOE (Dupont, Butcher et al. 2010), sugiriendo una influencia ambiental en la utilización de iones metálicos.

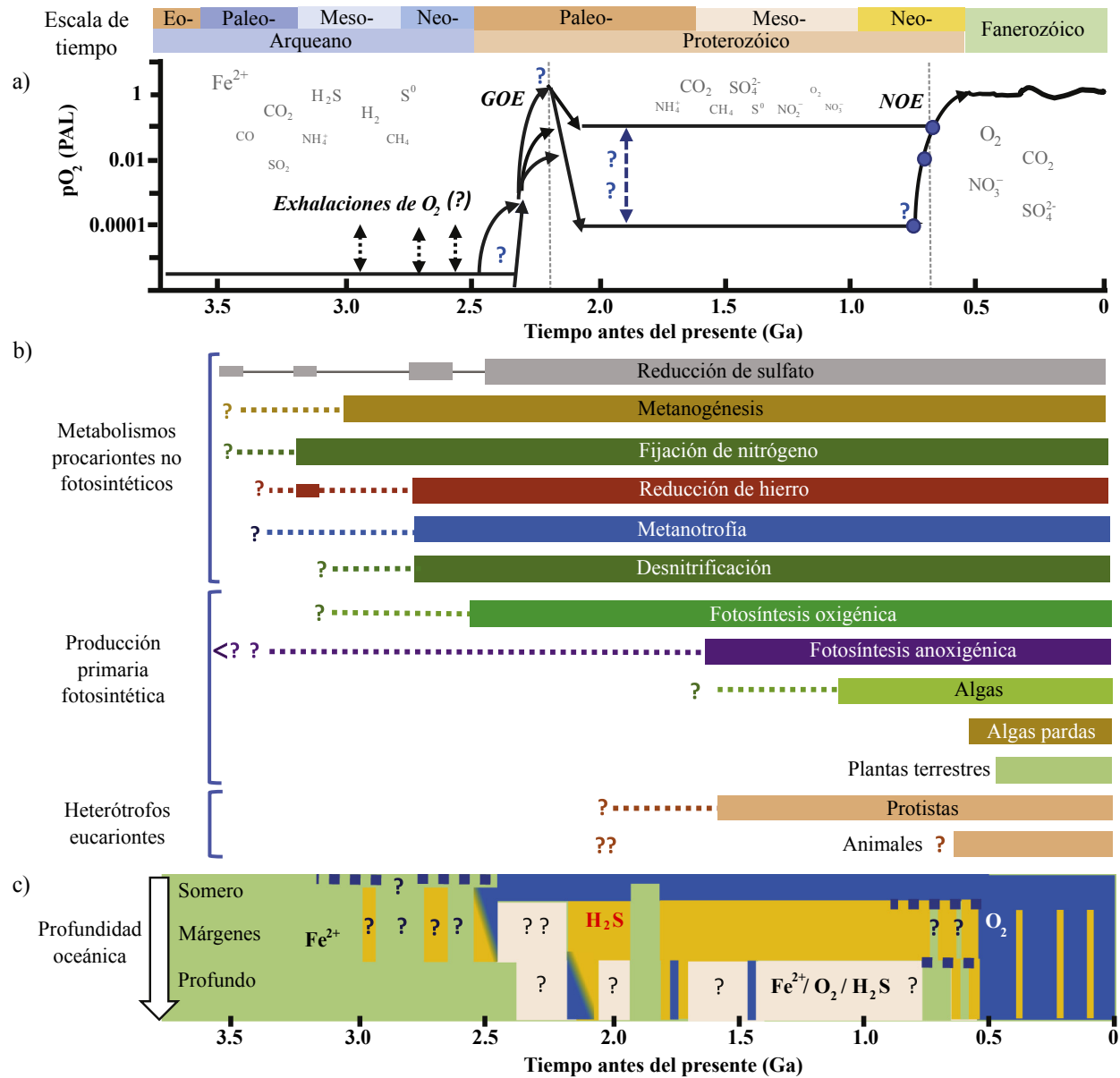


Figura 2.4: Coevolución de la vida y el sistema océano-atmósfera. *a)* Evolución de la presión parcial de O_2 relativo a los niveles atmosféricos actuales (PAL). En esta se muestran posibles exhalaciones locales de O_2 , el Gran Evento Oxidativo (GOE) durante el Paleoproterozoico y el Evento Oxidativo del Neoproterozoico (NOE). Se muestran también en letras grises la proporción (a escala) de donadores y aceptores de electrones relevantes en función de la oxigenación planetaria. Incertidumbres de incrementos y decrementos en la concentración de O_2 se indican con signos de interrogación. *b)* Modelo de la evolución temprana de la vida, destacando algunos metabolismos de importancia evolutiva. Las líneas punteadas indican incertidumbres en el registro sedimentario/fósil. *c)* Reconstrucción tentativa de la evolución de la geoquímica marina. En este modelo, la mayoría del Arqueano estuvo dominado por un océano anóxico ferruginoso con posibles exhalaciones locales de O_2 . Condiciones de euxinia se formaron en márgenes oceánicos debido a la reducción microbiana de sulfatos por intemperismo oxidativo de los continentes. El NOE indujo a la oxigenación del mar profundo, aunque pulsos locales/temporales de oxigenación previos son posibles. Incertidumbres en el estado redox oceánico son indicados por signos de interrogación. Imagen modificada: Moore, Jelen et al. (2017) y Lepot (2020)

Otros estudios bioinformáticos particulares a ciertos metales también se han elaborado. Las metaloproteínas primitivas de Fe fueron predominantemente con clústers Fe-S; posteriormente emergieron estructuras que ligan Fe a través de anillos de porfirina o bien por enlaces de aminoácidos (Dupont, Butcher et al. 2010). Análisis funcional de proteínas de Cu muestran que las cuproproteínas posiblemente forman parte de una red protéica que representa un *core* antiguo crucial para la homeostasis de Cu. La especiación de los procariontes pareciera no haber modificado sustancialmente este cuproproteoma ancestral, mientras que en eucariontes posiblemente se observe una expansión de proteínas de cobre al evolucionar nuevos dominios de Cu y reusando dominios antiguos para funciones nuevas (Gladyshev y Zhang, 2013; Zhang, Ying et al. 2019). Un hallazgo importante mediante genómica comparada es que organismos presentes en ambientes oxigenados utilizan Cu, mientras que la mayoría de los organismos anaeróbicos no lo emplean. Adicionalmente, los cuproproteomas de organismos aeróbicos son generalmente más grandes en comparación con anaerobios. Estos resultados sugieren una íntima conexión entre la utilización de cobre y la disponibilidad de O₂ a lo largo de la historia de la Tierra (Ridge et al. 2008; Gladyshev y Zhang, 2013). En cuanto a Mo/W, organismos que poseen proteínas de W de la aldehído ferredoxina oxidorreductasa aparentemente se ven favorecidos a un ambiente anaeróbico. De igual forma, organismos con nitrogenasa de Fe-Mo se inclinan a ambientes anaeróbicos y relativamente cálidos (Gladyshev y Zhang, 2013). Aparentemente, no existe una correlación significativa entre distintos factores estudiados y el tamaño de los molibdo-proteomas (Gladyshev y Zhang, 2013). Por tener características fisicoquímicas muy similares, se piensa que en un pasado las metaloproteínas que ahora utilizan molibdeno empleaban W debido a su biodisponibilidad (Kacar et al. 2021). Con respecto al Ni, no se observa que el proteoma de níquel escale significativamente en función del tamaño del proteoma (Dupont, Butcher et al. 2010). Como fue descrito en una sección anterior, los patrones de distribución de Zn en eucariontes y procariontes son distintos. Particularmente, la mayoría de enzimas de Zn procariontes poseen homólogos en eucariontes y, por el contrario, los factores de transcripción (que en su mayoría contienen dedos de Zn) son prácticamente exclusivos en eucariontes. Debido a esto, pareciera ser que las enzimas de Zn derivan de un proteoma de Zn antiguo y los factores de transcripción de Zn evolucionaron en organismos de mayor complejidad debido a las necesidades de regulación génica, incluido procesos complejos tales como compartimentalización o diferenciación celular (Andreini y Bertini, 2013). De forma similar, la amplia homología de proteínas de Fe entre arqueas, bacterias y eucariontes sugiere que una gran parte del proteoma de Fe fue heredado por el último ancestro común (Gladyshev y Zhang, 2013).

Por otra parte, vestigios en los genomas de organismos actuales revelan la participación de los metales en la diversificación metabólica durante los eones Arqueano y Proterozoico. David y Alm (2011) encuentran un pulso de innovación genética hace 3.33-2.85 Ga que da lugar al 27% de las familias génicas modernas; análisis funcional de genes que se originaron durante este evento muestran estar involucrados en el transporte de electrones y rutas respiratorias, utilizando metales redox sensibles así como un creciente uso de oxígeno molecular. Esta coordinada emergencia de proteínas con capacidad de transferir electrones aumentó el número de potenciales nichos ecológicos para los nacientes linajes de bacterias y arqueas (Figura 2.4)(Dupont, Butcher et al. 2010). A manera de recapitulación, la reducción/dismutación de azufre y sulfato (catalizadas por metaloproteínas de Fe-S, hemo, iones

de Fe ligados con aminoácidos) consiste en uno de los metabolismos clave del Paleoarqueano junto con la metanogénesis (Fe, Ni, Mo/W) y la fotosíntesis anoxigénica (Fe, Mg). Estos metabolismos conformaron el *core* inicial de una red global de transferencia de electrones a partir de la cual, ha experimentado adiciones debido a innovaciones metabólicas. Posterior a la expansión génica del Arqueano, el surgimiento de la fotosíntesis oxigénica (Fe, Mn, Mg) y sus impactos en la atmósfera y océano terrestre provocaron posiblemente la emergencia de la oxidación de metano (Fe, Cu), fijación de nitrógeno (Fe, Mo, V), nitrificación y desnitrificación (ambas catalizadas por Fe, Mo, Cu) (Moore, Jelen et al. 2017). Una revisión de las evidencias isotópicas sobre el surgimiento de dichos metabolismos va más allá de los objetivos del presente trabajo; para una mayor profundización, revisar Lyons et al. (2015), Moore, Jelen et al. (2017) y Lepot (2020). Asistido por un cambio en la biodisponibilidad del Cu, la expansión de la red metabólica permitió a la vida no solo explorar potenciales redox con mayor rendimiento energético, transitando de un rango de -500 a 0 mV en la evolución temprana a rangos de -500 a 1,200 mV posterior a la introducción del oxígeno en los ecosistemas; la innovación metabólica permitió el cerrado de los ciclos biogeoquímicos del C, N y S que prevalecen y mantienen los ecosistemas modernos.

2.4. Limitantes en la Bioinformática de Metales

Como fue mostrado en secciones previas, los estudios asociados a la bioinformática del metaloma prometen interesantes resultados a las ciencias de la vida y de la Tierra. Aunado con el hecho de la creciente información genómica en bases de datos, la bioinformática de metales pareciera ser una alternativa idónea en la investigación metalómica. No obstante, esta aproximación aún presenta una serie de limitantes que dificultan la precisión y exactitud en cuanto a la inferencia del metaloma.

Dos retos principales acompañan a la bioinformática de metales contemporánea: la inferencia de dominios con actividad de ligar metales y la determinación de afinidad metálica para dichos dominios. En el primer caso, hace referencia a la complejidad de predicción de dominios metálicos (principalmente proteínicos) a partir de secuencia primaria o secundaria, sugiriendo que la capacidad de ligar metales es una propiedad emergente, íntimamente relacionada con la estructura tridimensional de la molécula y el ambiente fisicoquímico molecular. Actualmente, la inferencia de metaloproteínas se recarga principalmente en la identificación de homólogos de metaloproteínas ya descritas, principalmente por métodos cristalográficos. Adicionalmente, se han desarrollado software que prometen identificar patrones de afinidad metálica en motivos proteínicos, permitiendo así la identificación de metaloproteínas aún no descritas (Zhang, Ying et al. 2019; Zhang y Zheng, 2020).

Una segunda problemática ligada a la anterior es la confirmación del uso de cierto metal en los dominios predichos. La afinidad metálica de las metaloproteínas pareciera caer dentro de un espectro de dos extremos: dominios altamente específicos a cierto metal y dominios altamente promiscuos (o cambialísticos). Esto representa un reto importante particularmente para metales con propiedades fisicoquímicas similares, tal como el caso del Mo y el W, nublando así la capacidad de distinción entre un metal y otro (Zhang, Ying et al. 2019). Así, sería recomendable utilizar métodos de verificación de ligandos metálicos, tal como la cristalografía de proteínas, para la predicción de metaloproteínas basada en homología.

Referencias

- Anbar, A. D. y A. H. Knoll (2002). «Proterozoic ocean chemistry and evolution: A bioinorganic bridge?» En: *Science*. ISSN: 00368075. DOI: 10.1126/science.1069651.
- Anderson, Gregory J. (2013). «Iron Homeostasis in Health and Disease». En: *Encyclopedia of Metalloproteins*. Springer New York, págs. 985-995. DOI: 10.1007/978-1-4614-1533-6{_}347. URL: https://link-springer-com.pbidi.unam.mx:2443/referenceworkentry/10.1007/978-1-4614-1533-6_347.
- Andreini, Claudia, Lucia Banci, Ivano Bertini y Antonio Rosato (2006). «Zinc through the three domains of life». En: *Journal of Proteome Research* 5.11, págs. 3173-3178. ISSN: 15353893. DOI: 10.1021/pr0603699. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17081069/>.
- Andreini, Claudia e Ivano Bertini (2013). «Zinc-Binding Proteins, Abundance». En: *Encyclopedia of Metalloproteins*. Springer New York, págs. 2549-2554. DOI: 10.1007/978-1-4614-1533-6{_}180. URL: https://link-springer-com.pbidi.unam.mx:2443/referenceworkentry/10.1007/978-1-4614-1533-6_180.
- Andrews, Simon, Ian Norton, Arvindkumar S. Salunkhe, Helen Goodluck, Wafaa S.M. Aly, Hanna Mourad-Agha y Pierre Cornelis (2013). «Control of iron metabolism in Bacteria». En: *Metal Ions in Life Sciences* 12, págs. 203-239. ISSN: 20419821. DOI: 10.1007/978-94-007-5561-1{_}7. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23595674/>.
- Andrews, Simon C., Andrea K. Robinson y Francisco Rodríguez-Quñones (2003). «Bacterial iron homeostasis». En: *FEMS Microbiology Reviews* 27.2-3, págs. 215-237. ISSN: 01686445. DOI: 10.1016/S0168-6445(03)00055-X. URL: <https://academic.oup.com/femsre/article/27/2-3/215/614497>.
- Arriaga, A.P, E. Angeles-Camacho, A.L. Meléndez-López, A. Heredia y A. Negrón-Mendoza (2016). «Estudio experimental y computacional de la estabilidad de la guanina y su interacción con montmorillonita de sodio al ser expuesta a la radiación gamma.» En: DOI: 10.13140/RG.2.2.26647.78240. URL: <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.26647.78240>.
- Basu, Partha (2013). «Tungsten in Biological Systems». En: *Encyclopedia of Metalloproteins*. Springer New York, págs. 2274-2283. DOI: 10.1007/978-1-4614-1533-6{_}138. URL: www.zone.ul.ca.
- Belmonte, Luca y Sheref S. Mansy (2016). «Metal catalysts and the origin of life». En: *Elements* 12.6, págs. 413-418. ISSN: 18115217. DOI: 10.2113/gselements.12.6.413.
- Blencowe, Dayle K. y Andrew P. Morby (2003). «Zn(II) metabolism in prokaryotes». En: *FEMS Microbiology Reviews* 27.2-3, págs. 291-311. ISSN: 01686445. DOI: 10.1016/S0168-6445(03)00041-X. URL: www.fems-microbiology.org.
- Calvin, Melvin (1959). «Evolution of enzymes and the photosynthetic apparatus». En: *Science* 130.3383, págs. 1170-1174. ISSN: 00368075. DOI: 10.1126/science.130.3383.1170. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13807054/>.
- Cleaves, Henderson James, Antonio Lazcano, Ismael Ledesma Mateos, Alicia Negrón-Mendoza, Juli Peretó y Ervin Silva (2014). *Herrera's 'Plasmogenia' and Other Collected Works*. 1.^a ed. New York, NY: Springer New York. ISBN: 978-1-4939-0735-9. DOI: 10.1007/978-1-4939-0736-6.
- Crichton, Robert (2016). «The Essential Role of Iron in Biology». En: *Iron Metabolism*. John Wiley & Sons, Ltd, págs. 22-70. DOI: 10.1002/9781118925645.ch2. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/9781118925645.ch2%20https://onlinelibrary.wiley.com/>

- doi/abs/10.1002/9781118925645.ch2%20https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118925645.ch2.
- Cruz-López, Azarhel de la, Ebelia del Ángel-Meraz, María Colín-García, Sergio Ramos-Bernal, Alicia Negrón-Mendoza y Alejandro Heredia (2016). «Ultraviolet irradiation of glycine in presence of pyrite as a model of chemical evolution: an experimental and molecular modelling approach». En: *International Journal of Astrobiology*, págs. 1-7. ISSN: 1473-5504, 1475-3006. DOI: 10.1017/S1473550416000161. URL: <https://www.cambridge.org/core/journals/international-journal-of-astrobiology/article/div-classtitleultraviolet-irradiation-of-glycine-in-presence-of-pyrite-as-a-model-of-chemical-evolution-an-experimental-and-molecular-modelling-approachdiv/685D72D1A9D5D>.
- David, Lawrence A. y Eric J. Alm (2011). «Rapid evolutionary innovation during an Archaean genetic expansion». En: *Nature*. ISSN: 00280836. DOI: 10.1038/nature09649.
- Dupont, Christopher L., Andrew Butcher, Ruben E. Valas, Philip E. Bourne y Gustavo Caetano-Anollés (2010). «History of biological metal utilization inferred through phylogenomic analysis of protein structures». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. ISSN: 00278424. DOI: 10.1073/pnas.0912491107.
- Dupont, Christopher L., Song Yang, Brian Palenik y Philip E. Bourne (2006). «Modern proteomes contain putative imprints of ancient shifts in trace metal geochemistry». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. ISSN: 00278424. DOI: 10.1073/pnas.0605798103.
- Gladyshev, Vadim N. y Yan Zhang (2013). «Comparative genomics analysis of the metallomes». En: *Metal Ions in Life Sciences*. ISSN: 20419821. DOI: 10.1007/978-94-007-5561-1{ }16.
- Hazen, Robert M. (2006). «Mineral surfaces and the prebiotic selection and organization of biomolecules». En: *American Mineralogist*. ISSN: 0003004X. DOI: 10.2138/am.2006.2289.
- Hazen, Robert M. y Dimitri A. Sverjensky (2010). «Mineral surfaces, geochemical complexities, and the origins of life.» En: *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 2.5. ISSN: 19430264. DOI: 10.1101/cshperspect.a002162. URL: [/pmc/articles/PMC2857174/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2857174/) %20/pmc/articles/PMC2857174/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2857174/.
- Isson, Terry T., Gordon D. Love, Christopher L. Dupont, Christopher T. Reinhard, Alex J. Zumberge, Dan Asael, Bleuenn Gueguen, John McCrow, Ben C. Gill, Jeremy Owens, Robert H. Rainbird, Alan D. Rooney, Ming Yu Zhao, Eva E. Stueeken, Kurt O. Konhauser, Seth G. John, Timothy W. Lyons y Noah J. Planavsky (2018). «Tracking the rise of eukaryotes to ecological dominance with zinc isotopes». En: *Geobiology*. ISSN: 14724669. DOI: 10.1111/gbi.12289.
- Kacar, Betul, Amanda K. Garcia y Ariel D. Anbar (2021). «Evolutionary History of Bioessential Elements Can Guide the Search for Life in the Universe». En: *ChemBioChem*. ISSN: 14397633. DOI: 10.1002/cbic.202000500.
- Keller, Markus A., Alexandra V. Turchyn y Markus Ralser (2014). «Non-enzymatic glycolysis and pentose phosphate pathway-like reactions in a plausible Archean ocean». En: *Molecular Systems Biology* 10.4. ISSN: 17444292. DOI: 10.1002/msb.20145228. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24771084/>.
- Kitadai, Norio y Shigenori Maruyama (2018). «Origins of building blocks of life: A review». En: *Geoscience Frontiers* 9.4, págs. 1117-1153. ISSN: 16749871. DOI: 10.1016/j.gsf.2017.07.007.

- Lepot, Kevin (2020). «Signatures of early microbial life from the Archean (4 to 2.5 Ga) eon». En: *Earth-Science Reviews* 209, pág. 103296. ISSN: 00128252. DOI: 10.1016/j.earscirev.2020.103296.
- Lyons, Timothy W., David A. Fike y Aubrey Zerkle (2015). «Emerging biogeochemical views of Earth's ancient microbial worlds». En: *Elements* 11.6, págs. 415-421. ISSN: 18115217. DOI: 10.2113/gselements.11.6.415.
- Madigan, Michael T, Kelly S Bender, Daniel H Buckley, David Allan Stahl y W Matthew Sattley (2019). *Brock biology of microorganisms*. English. 15.^a ed. New York: Pearson.
- Madrigal-Trejo, D., P.S. Villanueva-Barragán, R. Zamudio-Ramírez, K. E. Cervantes-de la Cruz, I. Mejía-Luna, E. Chacón-Baca, A. Negrón-Mendoza, S. Ramos-Bernal y A. Heredia-Barbero (2021). «Histidine Self-assembly and Stability on Mineral Surfaces as a Model of Prebiotic Chemical Evolution: An Experimental and Computational Approach». En: *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, págs. 1-14. ISSN: 0169-6149. DOI: 10.1007/s11084-021-09606-3. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11084-021-09606-3>.
- Maret, Wolfgang (2013). «Zinc and the zinc proteome». En: *Metal Ions in Life Sciences* 12, págs. 479-501. ISSN: 20419821. DOI: 10.1007/978-94-007-5561-1_14. URL: [https://link-springer-com.pbidi.unam.mx:2443/chapter/10.1007/978-94-007-5561-1_14](https://link.springer-com.pbidi.unam.mx:2443/chapter/10.1007/978-94-007-5561-1_14).
- Maurel, Marie Christine y Fabrice Leclerc (2016). «From foundation stones to life: Concepts and results». En: *Elements* 12.6, págs. 407-412. ISSN: 18115217. DOI: 10.2113/gselements.12.6.407.
- Miller, Stanley L (1957). «The mechanism of synthesis of amino acids by electric discharges». En: *Biochimica et Biophysica Acta* 23, págs. 480-489. ISSN: 00063002. DOI: 10.1016/0006-3002(57)90366-9. URL: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006300257903669>.
- (1986). «Current status of the prebiotic synthesis of small molecules». En: *Chemica Scripta* 26B, págs. 5-11. ISSN: 0004-2056.
 - (1953). «A production of amino acids under possible primitive earth conditions». En: *Science* 117.3046, págs. 528-529. ISSN: 00368075. DOI: 10.1126/science.117.3046.528. URL: <https://science.sciencemag.org/content/117/3046/528%20https://science.sciencemag.org/content/117/3046/528.abstract>.
- Moore, Eli K., Jihua Hao, Anirudh Prabhu, Hao Zhong, Ben I. Jelen, Mike Meyer, Robert M. Hazen y Paul G. Falkowski (2018). «Geological and Chemical Factors that Impacted the Biological Utilization of Cobalt in the Archean Eon». En: *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 123.3, págs. 743-759. ISSN: 21698961. DOI: 10.1002/2017JG004067. URL: <https://doi.org/10.1002/>.
- Moore, Eli K., Benjamin I. Jelen, Donato Giovannelli, Hagai Raanan y Paul G. Falkowski (2017). «Metal availability and the expanding network of microbial metabolisms in the Archaeal eon». En: *Nature Geoscience* 10.9, págs. 629-636. ISSN: 17520908. DOI: 10.1038/ngeo3006. URL: <https://www.nature.com/articles/ngeo3006>.
- Mukherjee, Indrani, Ross R. Large, Ross Corkrey y Leonid V. Danyushevsky (2018). «The Boring Billion, a slingshot for Complex Life on Earth». En: *Scientific Reports* 8.1, págs. 1-7. ISSN: 20452322. DOI: 10.1038/s41598-018-22695-x. URL: www.nature.com/scientificreports.
- Mulkidjanian, Armen Y. (2009). «On the origin of life in the Zinc world: 1. Photosynthesizing, porous edifices built of hydrothermally precipitated zinc sulfide as cradles of life on Earth». En:

- Biology Direct* 4.1, págs. 1-39. ISSN: 17456150. DOI: 10.1186/1745-6150-4-26. URL: <http://www.biology-direct.com/content/4/1/26>.
- Mulkidjanian, Armen Y. y Michael Y. Galperin (2009). «On the origin of life in the Zinc world. 2. Validation of the hypothesis on the photosynthesizing zinc sulfide edifices as cradles of life on earth». En: *Biology Direct* 4, pág. 27. ISSN: 17456150. DOI: 10.1186/1745-6150-4-27. URL: [/pmc/articles/PMC2749021/%20/pmc/articles/PMC2749021/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2749021/](http://pmc/articles/PMC2749021/%20/pmc/articles/PMC2749021/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2749021/).
- Nitschke, Wolfgang, Shawn E. McGlynn, E. James Milner-White y Michael J. Russell (2013). «On the antiquity of metalloenzymes and their substrates in bioenergetics». En: *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*. DOI: 10.1016/j.bbabi.2013.02.008.
- Pasek, Matthew A. (2017). «Schreibersite on the early Earth: Scenarios for prebiotic phosphorylation». En: *Geoscience Frontiers* 8.2, págs. 329-335. ISSN: 16749871. DOI: 10.1016/j.gsf.2016.06.008.
- Ridge, Perry G., Yan Zhang y Vadim N. Gladyshev (2008). «Comparative genomic analyses of copper transporters and cuproproteomes reveal evolutionary dynamics of copper utilization and its link to oxygen». En: *PLoS ONE* 3.1. ISSN: 19326203. DOI: 10.1371/journal.pone.0001378. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18167539/>.
- Rimola, Albert, Mariona Sodupe y Piero Ugliengo (2019). «Role of mineral surfaces in prebiotic chemical evolution. In silico quantum mechanical studies». En: *Life* 9.1. ISSN: 20751729. DOI: 10.3390/life9010010. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30658501/>.
- Robbins, L. J., Stefan V. Lalonde, Noah J. Planavsky, Camille A. Partin, Christopher T. Reinhard, Brian Kendall, Clint Scott, Dalton S. Hardisty, Benjamin C. Gill, Daniel S. Alessi, Christopher L. Dupont, Mak A. Saito, Sean A. Crowe, Simon W. Poulton, Andrey Bekker, Timothy W. Lyons y Kurt O. Konhauser (2016). «Trace elements at the intersection of marine biological and geochemical evolution». En: *Earth-Science Reviews*. ISSN: 00128252. DOI: 10.1016/j.earscirev.2016.10.013.
- Russell, Michael J. y Adrian Ponce (2020). «Six ‘must-have’ minerals for life’s emergence: olivine, pyrrhotite, bridgmanite, serpentine, fougierite and mackinawite». En: *Life* 10.11, págs. 1-24. ISSN: 20751729. DOI: 10.3390/life10110291. URL: www.mdpi.com/journal/life.
- Schoepp-Cothenet, Barbara, Robert Van Lis, Pascal Philippot, Axel Magalon, Michael J. Russell y Wolfgang Nitschke (2012). «The ineluctable requirement for the trans-iron elements molybdenum and/or tungsten in the origin of life». En: *Scientific Reports* 2.1, págs. 1-5. ISSN: 20452322. DOI: 10.1038/srep00263. URL: www.nature.com/scientificreports.
- Todd, Zoe R., Albert C. Fahrenbach, Christopher J. Magnani, Sukrit Ranjan, Anders Björkbohm, Jack W. Szostak y Dimitar D. Sasselov (2018). «Solvated-electron production using cyanocuprates is compatible with the UV-environment on a Hadean-Archaeon Earth». En: *Chemical Communications* 54.9, págs. 1121-1124. ISSN: 1364548X. DOI: 10.1039/c7cc07748c. URL: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/cc/c7cc07748c%20https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/cc/c7cc07748c>.
- Wächtershäuser, G. (1990). «Evolution of the first metabolic cycles». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87.1, págs. 200-204. ISSN: 00278424. DOI: 10.1073/pnas.87.1.200. URL: <https://www.pnas.org/content/87/1/200%20https://www.pnas.org/content/87/1/200.abstract>.

- Wächtershäuser, G. (1988a). «Before enzymes and templates: theory of surface metabolism.» En: *Microbiological reviews* 52.4, págs. 452-484. ISSN: 01460749. DOI: 10.1128/mmbr.52.4.452-484.1988. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373159/>.
- Wächtershäuser, Günter (1988b). «Pyrite Formation, the First Energy Source for Life: a Hypothesis». En: *Systematic and Applied Microbiology* 10.3, págs. 207-210. ISSN: 07232020. DOI: 10.1016/S0723-2020(88)80001-8.
- Zhang, Yan, Huimin Ying y Yinzhen Xu (2019). «Comparative genomics and metagenomics of the metallomes». En: *Metallomics* 11.6, págs. 1026-1043. ISSN: 1756591X. DOI: 10.1039/c9mt00023b.
- Zhang, Yan y Junge Zheng (2020). «Bioinformatics of metalloproteins and metalloproteomes». En: *Molecules*. ISSN: 14203049. DOI: 10.3390/molecules25153366.
- Zhao, Daniel, Stuart Bartlett y Yuk L. Yung (2020). «Quantifying mineral-ligand structural similarities: Bridging the geological world of minerals with the biological world of enzymes». En: *Life* 10.12, págs. 1-9. ISSN: 20751729. DOI: 10.3390/life10120338. URL: www.mdpi.com/journal/life.

Capítulo 3

Tapetes Microbianos: Una Ventana al Pasado

En la naturaleza, es común que entidades biológicamente diversas se adhieran al sustrato para formar complejos ensamblajes ecológicos (Prieto-Barajas et al. 2018), incrementando la adecuación de la comunidad.

Los tapetes microbianos son un ancestral ejemplo de organización biológica que se adhiere al sustrato para formar complejos ensamblajes ecológicos (Noffke, 2010; Prieto-Barajas et al. 2018), incrementando la adecuación de la comunidad, y así, sobrevivir en colectivo ante una gran gama de presiones de selección. Estas estructuras bénticas, laminadas verticalmente y de grosores de milímetros a centímetros consisten en comunidades autosostenibles que se desarrollan en la interfase sólido-líquido en diversidad de ambientes (Rich y Maier, 2015), desde ventilas hidrotermales hasta plataformas de hielo. Los millones de organismos pertenecientes a estas comunidades pertenecen a grupos filogenéticamente diversos (principalmente bacterias), que interactúan entre sí a través de una matriz de exopolisacáridos, intercambiando señales, nutrientes, genes y energía entre sí (Des Marais, 1990; Prieto-Barajas et al. 2018). Bajo este esquema, Los tapetes microbianos han sido denominados “laboratorios naturales” donde la diversidad microbiana, procesos evolutivos, adaptación a ambientes extremos y recapitulación histórica pueden ser estudiados (Prieto-Barajas et al. 2018).

La estructura y función de los tapetes microbianos está dada por la dinámica de gradientes fisicoquímicos verticales (Des Marais, 1990) que establecen nichos potenciales, ocupados por especies funcionalmente diversas (Figura 3.1). Esta distribución diferencial de nicho se visualiza con facilidad en los estratos de los tapetes (Figura 3.2b). Para un tapete microbiano común en la superficie de la Tierra, procesos tales como fotosíntesis, fijación de nitrógeno, desnitrificación, reducción de metales y sulfatos y metanogénesis son vitales para su desempeño (Prieto-Barajas et al. 2018). En la parte más superficial del tapete se encuentran los productores primarios: las cianobacterias (fotosíntesis oxigénica) y otros fotótrofos encargados de realizar fotosíntesis anoxigénica (bacterias púrpuras, verdes del azufre y verdes del no azufre) (Rich y Maier, 2015; Prieto-Barajas et al. 2018). Progresivamente, las capas más profundas presentan una considerable disminución de O_2 , formando microambientes anaero-

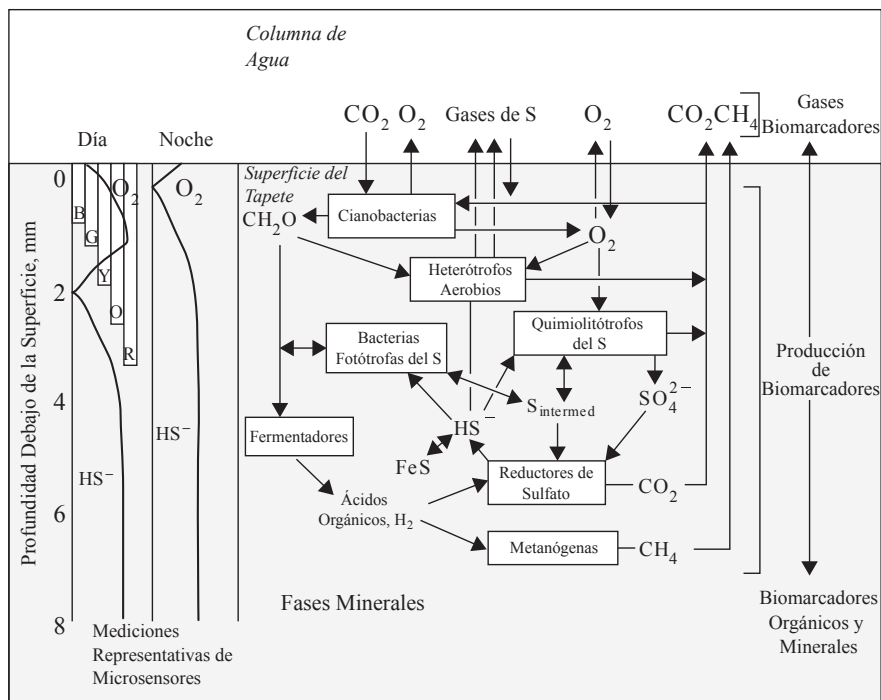


Figura 3.1: Diagrama simplificado de la distribución funcional de grupos representativos en tapetes microbianos. A la izquierda se muestra una serie de mediciones representativas de O₂ y H₂S a profundidad durante los ciclos día-noche, en conjunto con la penetración de la luz solar a distintas longitudes de onda. B=azul, G=verde, Y=amarillo, O=naranja, R=rojo. Imagen modificada de Rich y Maier (2015)

bios; estas regiones favorecen procesos libres de oxígeno tales como la reducción de sulfato y la metanogénesis (representada por el phylum Euryarchaeota) que movilizan la materia nuevamente hacia la columna de agua (Des Marais, 1990; Rich y Maier, 2015; Prieto-Barajas et al. 2018).

La presencia y proliferación de estas cohesivas comunidades no solo se reduce a parches hiperdiversos con afectaciones microambientales; a lo largo de la historia de la Tierra, modificaciones sustanciales en la atmósfera tal como la producción global de O₂, H₂ y CH₄ han sido generadas por distintos metabolismos presentes en comunidades microbianas (Prieto-Barajas et al. 2018), teniendo así profundas implicaciones en los ciclos biogeoquímicos a escalas planetarias.

3.1. Memorias del Precámbrico en Rocas y en Comunidades Modernas

Los tapetes microbianos, incluyendo los diversos tipos de microbialitas, son estructuras biológicas que representan, posiblemente, los primeros ecosistemas del planeta (Des Marais, 1990; Prieto-Barajas et al. 2018), capaces del ciclado completo de nutrientes debido a la diversificación metabólica en el Arqueano tardío (David y Alm, 2011; Moore et al. 2017). Es natural cuestionarse sobre las líneas de evidencia que conducen a afirmar la antigüedad de

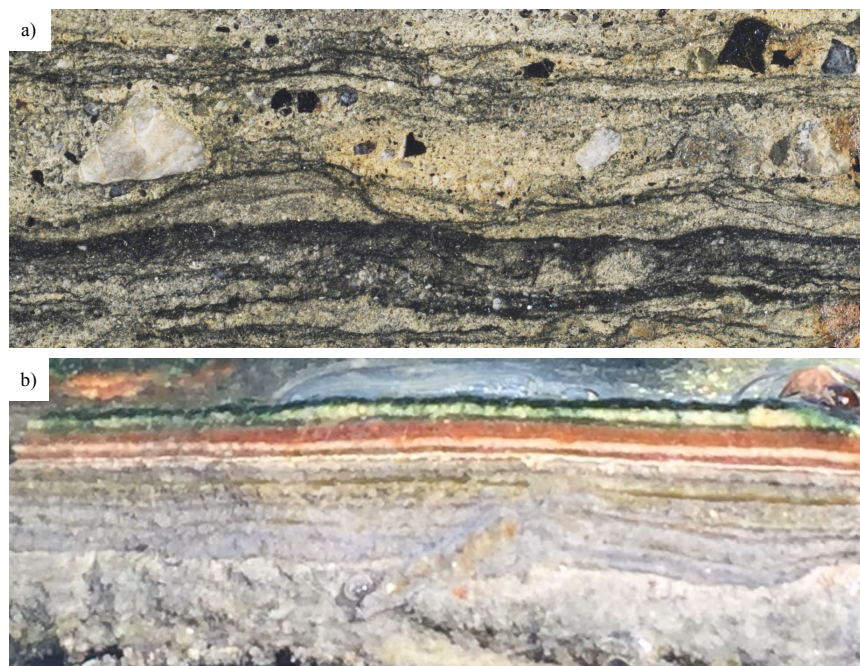


Figura 3.2: Comparación morfológica entre tapetes microbianos modernos y tapetes microbianos del Precámbrico. a) Tapetes fósiles del grupo Moodies (3.2 Ga) preservados en laminaciones carbonáceas en areniscas. b) Tapetes modernos de Domos del Arqueano, Cuatro Ciénegas; la estratificación de nicho diferencial es notable en la coloración de los estratos. Fotografías: a) Homann et al. (2015), b) David Jaramillo

estas complejas estructuras. En esta sección, se exploran dos aproximaciones a ello: el registro fósil, y los tapetes microbianos modernos como ecosistemas análogos al pasado.

El registro de estructuras sedimentarias inducidas por microbios (MISS), aunque escaso, muestra evidencia de la presencia de comunidades de este tipo desde el Precámbrico (Figura 3.2), siendo los registros más antiguos aquellos en rocas sedimentarias de 3700 Ma en Australia (Nutman et al. 2016), aunque su biogenicidad está altamente discutida (Lepot, 2020). Sin embargo, no todos los registros de tapetes microbianos presentan estos debates. Entre las MISS más antiguas que han sido caracterizadas macroscópica y microscópicamente se encuentran los afloramientos del grupo Moodies de hace 3220 Ma en Sudáfrica (Figura 3.2a) (Homann et al. 2015). Otros estudios donde se identifican potenciales tapetes microbianos incluyen a registros de hace 3420 Ma de Buck Reef Chert, Sudáfrica; formación Hooggenoeg de hace 3470 Ma en Sudáfrica; pedernales de hace 3460 Ma del Apex Basalt, Australia; y la formación Dresser de hace 3480 Ma en Australia (Lepot, 2020). Aunque en un inicio escasos, la abundancia de tapetes microbianos incrementó durante el Proterozoico, alcanzando una distribución cosmopolita (Zhao et al. 2020), donde posiblemente todo nicho ecológico es ocupado por tapetes microbianos (Des Marais, 1990). En el presente, estas estructuras biológicas aún son observadas, aunque su distribución está en función de la competencia por espacio y recursos (particularmente con algas eucariontes y depredación por protistas y metazoarios), siendo probablemente menos abundantes que en el Proterozoico. Así, cabe enfatizar los más de 3500 Ma que los tapetes microbianos han poblado al planeta, un reflejo de la resiliencia y resistencia de estas comunidades ante los incesantes cambios ambientales (Prieto-Barajas

et al. 2018).

Por otra parte, mediante un enfoque uniformitarista, se especula que los tapetes microbianos modernos tienen una composición y organización similar a aquellos del Precámbrico. Esta perspectiva se ve intensificada en sitios de tapetes cuyas condiciones ambientales asemejan a la Tierra primitiva, tal como ausencia de oxígeno (Visscher et al. 2020), baja oxigenación local (Sumner et al. 2015), afinidad a arsénico (Visscher et al. 2020), afinidad hidrotermal (Miranda et al. 2016), entre otros. Adicionalmente, las transiciones metabólicas entre estratos funcionales dentro de los tapetes microbianos modernos sugieren una posible recapitulación metabólica a través del tiempo. Gutiérrez-Preciado et al. (2018) describen el contenido génico involucrado en metabolismos particulares a través de un gradiente redox vertical en Salar de la Llamara, Chile (Figura 3.3). En este estudio, se encuentra una fuerte correlación entre los metabolismos predominantes a lo largo del gradiente y el estado redox presente en la atmósfera a lo largo del tiempo; rutas como Wood-Ljungdahl, reducción de sulfato y metanogénesis se distribuyen hacia las zonas profundas de la poza (región de potencial redox negativo), mientras que ciclo de Calvin, respiración de O_2/NO , oxidación de S, desnitrificación y fotosíntesis (oxigénica y anoxigénica) se distribuyen en zonas someras (región de potencial redox positivo) (Gutiérrez-Preciado et al. 2018). Así, los tapetes microbianos fungen no solo como modelo para el estudio de comunidades análogas y transiciones metabólicas a nivel biósfera, también son ecosistemas clave para estudiar el estado redox del sistema océano-atmósfera en la evolución planetaria.

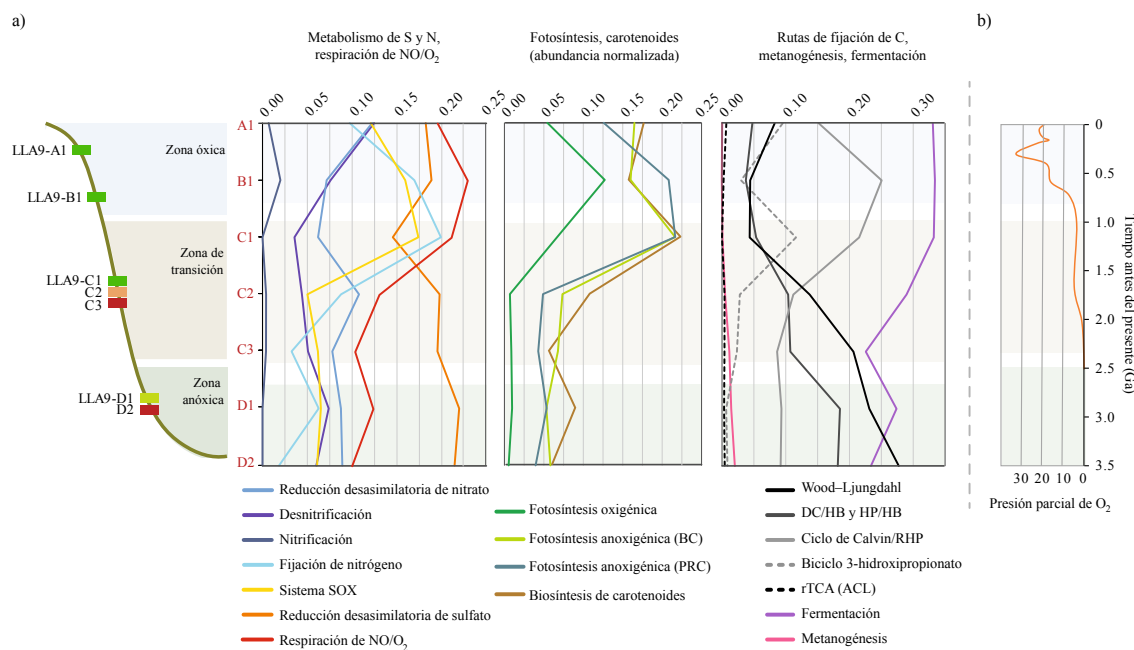


Figura 3.3: Potencial correlación entre transiciones metabólicas fundamentales y cambios en el estado redox atmosférico a lo largo de la historia de la Tierra. a) Distribución espacial de rutas energéticas y de asimilación a lo largo de un gradiente redox vertical en Salar de la Llamara, Chile. b) Transiciones en la concentración de oxígeno atmosférico a lo largo del tiempo. BC=bacterioclorofila, PRC=centro de fotoreacción, DC/HB=dicarboxilato/hidroxibutirato, HP/HB=3-hidroxiisopropionato,4-hidroxibutirato, RHP=hexulosa fosfato reductiva, rTCA=ciclo de los ácidos tricarbónicos reverso, ACL=citrato liasa dependiente de ATP. Imagen modificada de Gutiérrez-Preciado et al. (2018)

3.2. Cuatro Ciénegas y los Domos del Arqueano

3.2.1. La Cuenca de Cuatro Ciénegas: Un Mundo Perdido

Al centro del desierto de Chihuahua, en Coahuila, México, se encuentra un valle intermontañoso a ≈ 740 m s.n.m. rodeado por sistemas montañosos elevándose a más de 2500 m s.n.m (Souza, Espinosa-Asuar et al. 2006; Souza, Siefert et al. 2012). La Cuenca de Cuatro Ciénegas (CCC) (coordenadas $27^{\circ}11'24''$ - $26^{\circ}42'36''$ N, $102^{\circ}48'00''$ - $101^{\circ}54'36''$ W) es una cuenca endorreica evaporítica que recibe ≈ 150 mm de precipitación anual; pese a su condición desértica, la CCC posee múltiples sistemas de pozas, manantiales y ríos, siendo considerado un humedal (Figura 3.4)(Souza, Espinosa-Asuar et al. 2006; Pérez Ortega, 2020). Los sistemas de pozas presentes en la CCC son sistemas oligotróficos, desprovistos de nutrientes, con índices N:P que van desde bajo P (157:1) a bajo N (1.8:1); se ha propuesto a estos patrones estequiométricos como una presión de selección notable que dirige la dinámica poblacional en estos sitios (Souza, Siefert et al. 2012). Una clara evidencia de lo anterior corresponde al alto endemismo y biodiversidad presente en el sitio, particularmente en comunidades microbianas, motivo por el cual la CCC ha sido designada como Área de Protección de Flora y Fauna por la SEMARNAT, así como un sitio de alta prioridad para la conservación según la WWF, UNESCO, PRONATURA y Ramsar (Souza, Espinosa-Asuar et al. 2006; Souza, Siefert et al. 2012).

Las comunidades microbianas de Cuatro Ciénegas guardan una fuerte correlación con la evolución geológica del sitio. La CCC consiste principalmente de rocas carbonatadas del Triásico tardío-Cretácico temprano, colocando a todo el norte de México bajo el mar durante este periodo de tiempo; posiblemente, la orogenia Laramide comenzó una regresión continua del Mar Interior Occidental que terminó por aislar a la CCC en el Eoceno medio con el levantamiento de la Sierra Madre Oriental (Souza, Espinosa-Asuar et al. 2006; Souza, Siefert et al. 2012). El aislamiento de Cuatro Ciénegas del mar Cretácico ocasionó una progresiva desertificación en el sitio desde hace 15 Ma (Souza, Siefert et al. 2012). Análisis filogenómicos de los microbios de Cuatro Ciénegas presentan un parentesco cercano con taxa modernos de hábitats marinos, en contraste con taxa pertenecientes a ambientes salinos epicontinentales; las señales marinas presentes en procariontes, diatomeas y caracoles de la CCC han llevado a hipotetizar que esta región es un “mundo perdido” (Souza, Moreno-Letelier et al. 2018). Bajo esta hipótesis, el aislamiento de la CCC ofreció un refugio a las comunidades microbianas en el sistema hidrológico subterráneo que permitió la adaptación, diversificación y endemismo de linajes, promoviendo la coexistencia en comunidades hiperdiversas, muy heterogéneas, sobre la dominancia de solo algunos grupos taxonómicos (Souza, Siefert et al. 2012).

Cuatro Ciénegas y su empobrecida química del fósforo y nitrógeno permite comprender los efectos de la limitación de nutrientes en la evolución de las redes tróficas y las diferentes estrategias de supervivencia. Esta marcada escasez de P, con relaciones C:P de hasta 15,000, recuerda a una Tierra precámbrica donde el reservorio principal de P se encontraba en minerales y rocas, antes de un hipotetizado evento de glaciación global durante en Paleoproterozoico que aportaría P biodisponible a los océanos precámbricos. Posiblemente, el incremento de P fue trascendental en la radiación de los eucariontes y la evolución de los metazoarios (Papineau, 2010; Souza y Eguiarte, 2018). En consecuencia de las limitantes en

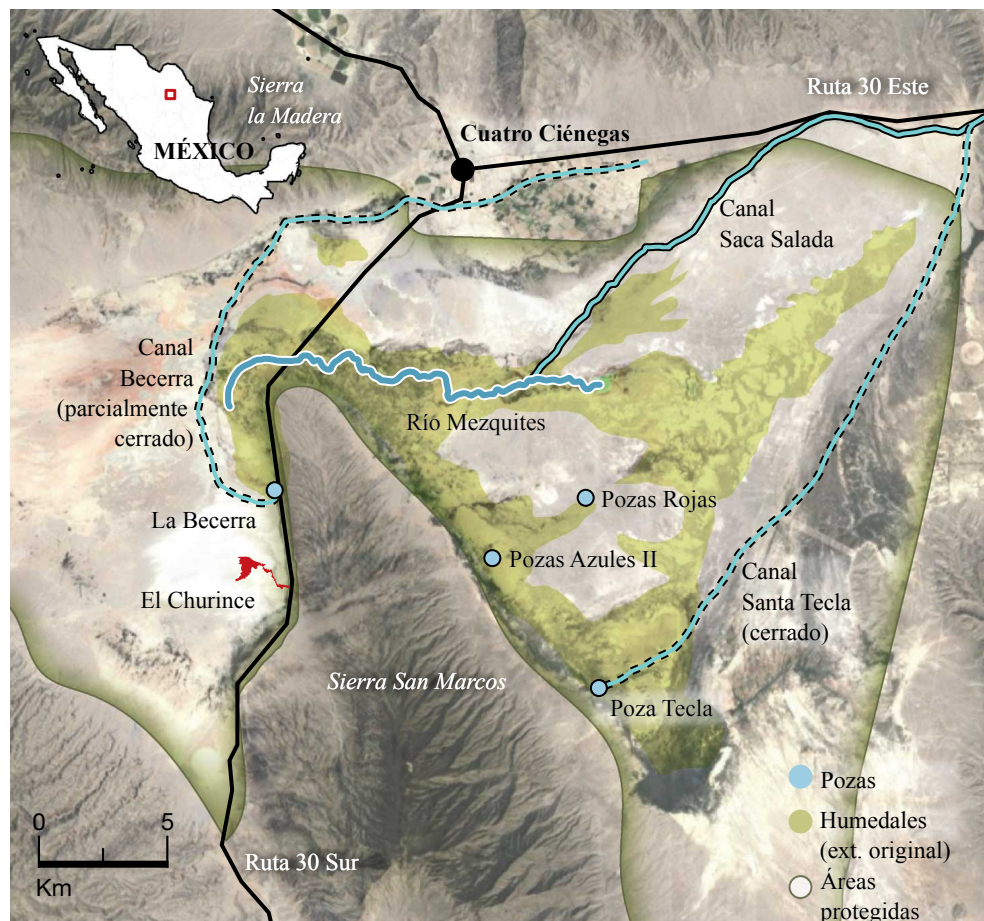


Figura 3.4: Cuenca de Cuatro Ciénegas, Coahuila, México. En la imagen se muestran los principales sistemas de pozas, canales y la distribución de humedales originalmente presente en el valle. Imagen modificada de Pérez Ortega (2020).

P en la cuenca, se ha propuesto que los consumidores se han adaptado a dietas de bajo contenido en nutrientes, y de forma concomitante, afectados negativamente ante suministros de P excesivos (Elser y Hamilton, 2007; Souza, Siefert et al. 2012). Adicionalmente, descripciones detalladas del genoma de *Bacillus coahuilensis*, una especie del phylum Firmicutes endémica de CCC, muestran el empleo de sulfolípidos sobre fosfolípidos; componentes esenciales en las membranas celulares en los tres dominios de la vida. Lo anterior posiblemente sea una adaptación a un ambiente empobrecido en fósforo y abundante en sulfatos (Alcaraz et al. 2008), permitiendo especular sobre las posibles “químicas de la vida” ante distintas presiones de selección más allá de la Tierra. Así, los ecosistemas en las pozas de Cuatro Ciénegas han mostrado ser un buen modelo de las comunidades y ambientes tempranos en la evolución de la vida en la Tierra (o tal vez más allá de esta), siendo objeto de interés para estudios astrobiológicos (Souza, Siefert et al. 2012; Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020; Pérez Ortega, 2020).

En la siguiente sección, se describe detalladamente al sistema Domos del Arqueano, uno de los múltiples sistemas de tapetes microbianos y microbialitas presentes en la cuenca de Cuatro Ciénegas y el cual es objeto de estudio en el presente trabajo.

3.2.2. Los Domos del Arqueano: Un Análogo al Precámbrico

Domos del Arqueano (DA) es una poza fluctuante, somera y rica en limos y arcillas (23.4 % y 8.5 % respectivamente) que cubre un área de 50 m x 25 m, ubicada en el Rancho Pozas Azules, en la CCC (coordenadas 26°49'42"N,-102°1'29"W) (Figura 3.5). A diferencia de otros sitios dentro de la CCC, Domos del Arqueano presenta un ligero desbalance estequiométrico, con una razón C:N:P de 122:42:1 (Espinosa-Asuar et al. 2021). Este sitio alberga comunidades microbianas capaces de formar tapetes microbianos de escala milimétrica con una peculiar estructura de domos en temporada de lluvias (agosto-diciembre); esta formación de domos está íntimamente relacionada con el desarrollo de una capa superficial elástica donde prolifera la actividad aeróbica y fotosintética (Figura 3.6a, b y c) (Medina-Chávez, Viladomat Jasso et al. 2019; Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020; Espinosa-Asuar et al. 2021). En el interior de los domos, aislados del oxígeno por la capa superficial, predomina un ambiente anaerobio rico en metano, ácido sulfhídrico y otros hidrocarburos volátiles que recuerdan a una atmósfera precámbrica, previo al GOE (Espinosa-Asuar et al. 2021). Durante la época de secas, la poza se evapora, dando lugar a la precipitación de una costra evaporítica por encima del tapete (Figura 3.6d, e y f). Aún en temporada de húmedas, la poza es un sitio hipersalino, con una salinidad de hasta 5.3 % (Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020).

Anteriormente, se han reportado otros tapetes microbianos con ciertas estructuras organosedimentarias similares a las de este sitio (Gerdes et al. 1993; Bose y Chafetz, 2009; Aref et al. 2014; Cuadrado et al. 2015); estas incluyen a los domos de gas, petees, grietas poligonales de desecación y regiones de tapetes desgarrados. Adicionalmente, el registro fósil revela la existencia de tapetes con cierto grado de similitud de hace 3.48 y 3.22 Ma (Heubeck, 2009; Noffke et al. 2013; Homann et al. 2015). De manera inusual, estos registros, tanto antiguos como contemporáneos, representan tapetes en ambientes intermareales y supramareales a diferencia de la poza epicontinental de DA.

Para las primeras muestras de la poza en época de húmedas (2016), se reporta la presencia de 40 phyla procariontes fueron detectados de librerías de RNAr 16S y una totalidad de 6,063 ASVs distintos, con una proporción de 11.8 % no clasificados. Los phyla más abundantes en orden decreciente son Bacteroidetes (28 %), Proteobacteria (19 %), Cyanobacteria (18 %), Spirochaetes (8 %), Chloroflexi (4 %); los phyla Firmicutes, Patesibacteria y Halanaerobiota comprenden el 2 %. 923 ASVs de Eukarya pertenecen a los grupos Alveolata (77 %), Fungi (11 %), Viridiplantae (8 %); Metazoa, Protista, Amoebozoa, Rhodoplantae, Chromista y Stramenopila componen en colectivo el 4 %. 28 ASVs corresponden al dominio Archaea que a su vez corresponden a los phyla Woesearchaeota y Euryarchaeota, con la familia Halobacterium siendo la más abundante. 401 géneros detectados en DA comprenden <1 % del total de géneros encontrados, formando en colectivo la denominada biósfera rara; en total, la biósfera rara compone alrededor del 30 % de la comunidad microbiana (Espinosa-Asuar et al. 2021). Parece ser que la biósfera rara juega un papel esencial en la resistencia y resiliencia del ecosistema ante perturbaciones (y fluctuaciones); en este contexto, la biósfera rara podría ser imprescindible para la vida temprana en la Tierra y, posiblemente, en otros cuerpos planetarios (Sánchez-Pérez et al. 2020).

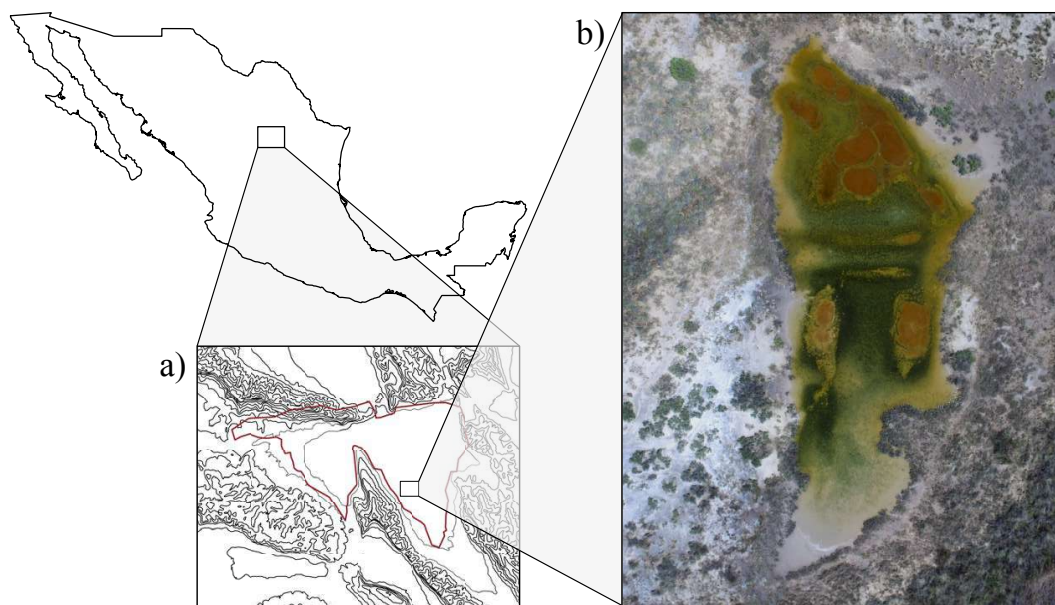


Figura 3.5: a) Cuenca de Cuatro Ciénegas, Coahuila; en el recuadro se señala la ubicación de la poza Domos del Arqueano, dentro del rancho de Pozas Azules. b) Imagen aérea de Domos del Arqueano durante el muestreo de 2019 (época de húmedas). Fotografía: Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, UNAM

En estudios posteriores, se ha encontrado que DA presenta una abundante e hiperdiversa comunidad de arqueas; estas arqueas se comportan cohesivamente en una comunidad núcleo que mantiene su abundancia y diversidad a lo largo del tiempo, pese a las fluctuaciones que sufre la poza (Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020). Mediante un análisis SGS de genoma completo, se han reportado 230 especies pertenecientes a los phyla Euryarchaeota, Crenarchaeota, Thaumarchaeota, Korarchaeota, y Nanoarchaeota que corresponden a un inusual 5 % de abundancia relativa de arqueas (en función de una escala de muestreo de cm^2) (Medina-Chávez, Viladomat Jasso et al. 2019; Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020). Más del 50 % de toda la diversidad de arqueas corresponde a miembros halófilos y metanógenos; estos corresponden a linajes ancestrales y están comúnmente presentes en tapetes asociados a la precipitación mineral (sales) (Medina-Chávez, Viladomat Jasso et al. 2019). 50 OTUs fueron determinados como estrictamente raros, con una abundancia $<0.01\%$ para cada uno. 11 OTUs corresponden a grupos condicionalmente raros, siendo estrictamente raros en algunas muestras y raros (i.e., $<0.1\%$) para otras; estos resultados sugieren que la comunidad estrictamente rara de arqueas es dinámica, y es dependiente de condiciones adecuadas para su proliferación (Medina-Chávez, Viladomat Jasso et al. 2019). La abundancia relativa de arqueas ha incrementado con el paso del tiempo, tomando valores de hasta $\approx 30\%$ en una escala de muestreo muy pequeña (escala de cm^2); esto convierte a Domos del Arqueano en uno de los sitios con mayor diversidad de arqueas del mundo (Figura 3.7) (Medina-Chávez, Viladomat Jasso et al. 2019; Pérez Ortega, 2020). El éxito de las comunidades arqueanas en DA posiblemente sea explicado por adaptaciones fisiológicas que superan a las bacterias en nichos específicos oligotróficos y de baja energía (Medina-Chávez, Viladomat Jasso et al. 2019).



Figura 3.6: Rasgos de Domos del Arqueano durante época de lluvias *a),b),c)* y época de secas *d),e),f)*. *a)* Domos del Arqueano durante el muestreo de 2017, *b)* detalle de los domos y *c)* detalle de los círculos naranja sumergidos en agua. *(e)* Mismo sitio durante el muestreo de 2019, *d)* detalle de círculos naranja evaporados y *f)* el interior de un domo rígido por la costra de sal. Fotografías: Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, UNAM

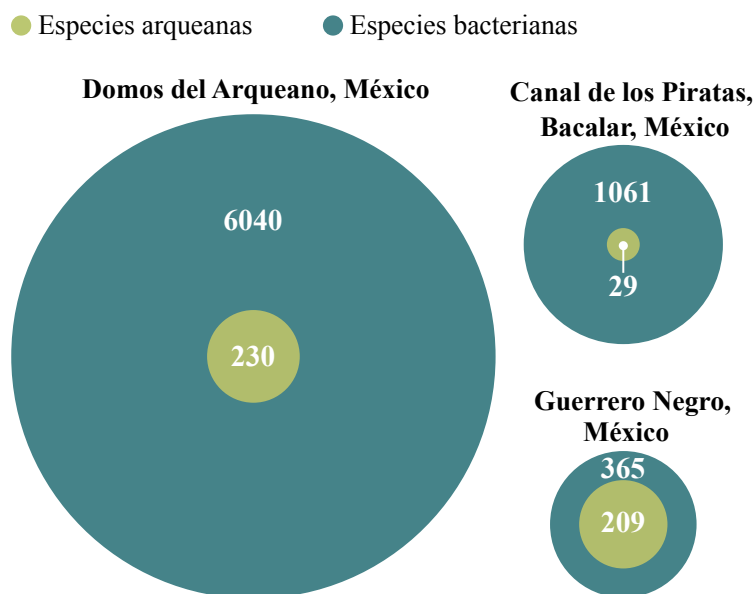


Figura 3.7: Distribución de especies procariontes descritas en Domos del Arqueano y otros sitios destacados por su abundancia en arqueas. Domos del Arqueano notablemente muestra una alta diversidad de procariontes, tanto en arqueas como bacterias. Imagen modificada de Pérez Ortega (2020).

En cuanto a interacciones bióticas, análisis de Pearson muestran que la mayoría de correlaciones de coocurrencia negativa en DA están asociadas con el dominio Bacteria, particularmente el phylum Bacteroidetes; estas correlaciones también se presentan en los grupos Fungi y Archaea en menor proporción (Espinosa-Asuar et al. 2021). Adicionalmente, la mayoría de correlaciones positivas se encuentran dentro de interacciones tipo Archaea-Archaea, mientras que las interacciones Eukarya-Eukarya presentan la menor proporción de correlaciones positivas (Espinosa-Asuar et al. 2021). Las correlaciones negativas tienen la funcionalidad de identificar competencia metabólica, nichos separados o interacciones antagonistas, mientras que las correlaciones positivas permiten la identificación de mutualismo, simbiosis, parasitismo, depredación, requerimientos abióticos comunes, asociaciones con gradientes redox y sintrofia metabólica. Posiblemente, las correlaciones de coocurrencia negativa en bacterias esté posiblemente asociado con antagonismo a diferencia de competencia metabólica y nichos separados, sin embargo, definir los tipos de interacciones presentes en este sitio requieren estudios más detallados, incluyendo estudios metagenómicos detallados.

Perfiles metabolómicos agrupan metabolitos encontrados en DA en 140 familias químicas. De los metabolitos identificados están presentes antibióticos, inhibidores de germinación, agentes antifúngicos y antimetabólicos (Espinosa-Asuar et al. 2021). La complejidad metabolómica sugiere procesos adaptativos, siguiendo una posible dinámica ecoevolutiva.

Bajo una perspectiva ecológica, es aún necesario dilucidar algunas correlaciones ambientales que moldean a la comunidad microbiana. Domos del Arqueano es un sitio rodeado de una capa de suelo carbonatado y poca vegetación alrededor. Dado que durante los muestreos de secas los tapetes se encuentran únicamente bajo la costra de sal (y no bajo el suelo carbonatado), parece ser que la salinidad es un factor abiótico importante en la comunidad microbiana (Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020). En DA, las fluctuaciones en la

abundancia relativa de taxa raros parece estar correlacionada con la precipitación del sitio, patrón que se ha observado en otros sitios de la CCC (De Anda et al. 2018). Adicionalmente, tanto en húmedas como en secas, la poza presenta dos secciones diferenciadas: una zona de crecimiento de tapetes verdes y flexibles que dan lugar a la formación de domos [Figura 3.6 b) y f)], y otras zonas donde no hay desarrollo de domos, sino áreas semicirculares de coloración naranja [Figura 3.6 c) y d)]; los factores bióticos y abióticos que influyen en la diferenciación de estas dos zonas son aún desconocidos.

De forma similar a otras pozas dentro de la CCC (López-Lozano et al. 2012), Domo del Arqueano posee un potencial astrobiológico como sitio análogo a la Tierra precámbrica y, posiblemente, a Marte temprano (Medina-Chávez, Viladomat Jasso et al. 2019; Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020; Espinosa-Asuar et al. 2021). Depósitos minerales de sulfatos y haluros se han reportado en Marte, sugiriendo la presencia de ambientes evaporíticos en un pasado tal como salmueras y pozas hipersalinas (Martínez y Renno, 2013; Smith et al. 2014); DA posee una abundante y diversa comunidad de halófilas que permiten especular sobre comunidades primitivas en Marte y en la Tierra precámbrica. Adicionalmente, el *rover Curiosity* de la NASA ha reportado metano en distintas concentraciones estacionalmente en Marte, alcanzando una medición de concentración máxima en junio de 2019 (Webster et al. 2018); de ser producido biogénicamente, es posible que el metano sea producido por microorganismos similares a los Euryarchaeota metanogénicos que han sido encontrados en alta abundancia en DA, particularmente en temporada de secas (Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020). Finalmente, un aspecto ampliamente estudiado en ambientes análogos es la poliextremofilia. DA presenta no solo una indiscutible halofilia; las fluctuaciones estacionales claramente presentan presiones ambientales de hidratación/deshidratación y cambios de pH de ácido a básico (alcanzando valores de pH de 10) (Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020). La dormancia y otros mecanismos de resistencia y resiliencia pueden ser procesos clave para el mantenimiento de la comunidad ante condiciones de estrés; condiciones de estrés similares a DA en Marte o en la Tierra temprana pudieran activar estos mecanismos (y posiblemente dificultar la detección de vida en otros cuerpos planetarios) (Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020).

Referencias

- Alcaraz, Luis David, Gabriela Olmedo, Germán Bonilla, René Cerritos, Gustavo Hernández, Alfredo Cruz, Enrique Ramírez, Catherine Putonti, Beatriz Jiménez, Eva Martínez, Varinia López, Jacqueline L. Arvizu, Francisco Ayala, Francisco Razo, Juan Caballero, Janet Siefert, Luis Eguiarte, Jean Philippe Vielle, Octavio Martínez, Valeria Souza, Alfredo Herrera-Estrella y Luis Herrera-Estrella (2008). «The genome of *Bacillus coahuilensis* reveals adaptations essential for survival in the relic of an ancient marine environment». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105.15, págs. 5803-5808. ISSN: 10916490. DOI: 10.1073/pnas.0800981105. URL: /pmc/articles/PMC2311347/%20/pmc/articles/PMC2311347/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2311347/.
- Aref, Mahmoud A.M., Mohammed H. Basyoni y Gerhard H. Bachmann (2014). «Microbial and physical sedimentary structures in modern evaporitic coastal environments of Saudi Arabia and Egypt». En: *Facies* 60.2, págs. 371-388. ISSN: 01729179. DOI: 10.1007/s10347-013-0379-8. URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s10347-013-0379-8.
- Bose, Sushanta y Henry S. Chafetz (2009). «Topographic control on distribution of modern microbially induced sedimentary structures (MISS): A case study from Texas coast». En: *Sedimentary Geology* 213.3-4, págs. 136-149. ISSN: 00370738. DOI: 10.1016/j.sedgeo.2008.11.009.
- Cuadrado, Diana G., Jerónimo Pan, Eduardo A. Gómez y Lucía Maisano (2015). «Deformed microbial mat structures in a semiarid temperate coastal setting». En: *Sedimentary Geology* 325, págs. 106-118. ISSN: 00370738. DOI: 10.1016/j.sedgeo.2015.06.001.
- David, Lawrence A. y Eric J. Alm (2011). «Rapid evolutionary innovation during an Archaean genetic expansion». En: *Nature*. ISSN: 00280836. DOI: 10.1038/nature09649.
- De Anda, Valerie, Icoquih Zapata-Peñasco, Jazmín Blaz, Augusto Cesar Poot-Hernández, Bruno Contreras-Moreira, Marcos González-Laffitte, Niza Gámez-Tamariz, Maribel Hernández-Rosales, Luis E. Eguiarte y Valeria Souza (2018). «Understanding the mechanisms behind the response to environmental perturbation in microbial mats: A metagenomic-network based approach». En: *Frontiers in Microbiology* 9.NOV, pág. 2606. ISSN: 1664302X. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02606. URL: www.frontiersin.org.
- Des Marais, David J. (1990). «Microbial mats and the early evolution of life». En: *Trends in Ecology and Evolution* 5.5, págs. 140-144. ISSN: 01695347. DOI: 10.1016/0169-5347(90)90219-4.
- Elser, James J y Andrew Hamilton (2007). «Stoichiometry and the New Biology: The Future Is Now». En: *PLoS Biology* 5.7. Ed. por Simon Levin, e181. ISSN: 1545-7885. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050181. URL: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pbio.0050181.
- Espinosa-Asuar, Laura, Camila Monroy, David Madrigal-Trejo, Marisol Navarro, Jazmín Sánchez, Jhoseline Muñoz, Juan Diego Villar, Julián Cifuentes, Diego A Esquivel-Hernández, Mariette Viladomat, Ana Elena, Patricia Velez, Mario Figueroa, Santiago Ramírez, Jaime Gasca-Pineda, Luis E Eguiarte y Valeria Souza (2021). «Ecological relevance of abundant and rare taxa in a high-diverse elastic hypersaline microbial mat, using a small-scale sampling». En: *bioRxiv*, pág. 2021.03.04.433984. DOI: 10.1101/2021.03.04.433984. URL: https://doi.org/10.1101/2021.03.04.433984.
- Gerdes, Gisela, Marianne Claes, Katharina Dunajtschik-Piewak, Heike Riege, Wolfgang E. Krumbein y Hans Erich Reineck (1993). «Contribution of microbial mats to sedimentary surface struc-

- tures». En: *Facies* 29.1, págs. 61-74. ISSN: 01729179. DOI: 10.1007/BF02536918. URL: <https://link-springer-com.pbidi.unam.mx:2443/article/10.1007/BF02536918>.
- Gutiérrez-Preciado, Ana, Aurélien Saghaï, David Moreira, Yvan Zivanovic, Philippe Deschamps y Purificación López-García (2018). «Functional shifts in microbial mats recapitulate early Earth metabolic transitions». En: *Nature Ecology and Evolution* 2.11, págs. 1700-1708. ISSN: 2397334X. DOI: 10.1038/s41559-018-0683-3. URL: <https://www.nature.com/articles/s41559-018-0683-3>.
- Heubeck, Christoph (2009). «An early ecosystem of Archean tidal microbial mats (Moodies Group, South Africa, ca. 3.2 Ga)». En: *Geology* 37.10, págs. 931-934. ISSN: 00917613. DOI: 10.1130/G30101A.1.
- Homann, Martin, Christoph Heubeck, Alessandro Airo y Michael M. Tice (2015). «Morphological adaptations of 3.22 Ga-old tufted microbial mats to Archean coastal habitats (Moodies Group, Barberton Greenstone Belt, South Africa)». En: *Precambrian Research* 266, págs. 47-64. ISSN: 03019268. DOI: 10.1016/j.precamres.2015.04.018.
- Lepot, Kevin (2020). «Signatures of early microbial life from the Archean (4 to 2.5 Ga) eon». En: *Earth-Science Reviews* 209, pág. 103296. ISSN: 00128252. DOI: 10.1016/j.earscirev.2020.103296.
- López-Lozano, Nguyen E., Luis E. Eguiarte, Germán Bonilla-Rosso, Felipe García-Oliva, Celeste Martínez-Piedragil, Christine Rooks y Valeria Souza (2012). «Bacterial communities and the nitrogen cycle in the gypsum soils of Cuatro Ciénegas Basin, Coahuila: A mars analogue». En: *Astrobiology* 12.7, págs. 699-709. ISSN: 15311074. DOI: 10.1089/ast.2012.0840. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22920518/>.
- Martínez, G. M. y N. O. Renno (2013). «Water and brines on mars: Current evidence and implications for MSL». En: *Space Science Reviews* 175.1-4, págs. 29-51. ISSN: 00386308. DOI: 10.1007/s11214-012-9956-3. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11214-012-9956-3>.
- Medina-Chávez, Nahui Olin, Susana De la Torre-Zavala, Alejandra E. Arreola-Triana y Valeria Souza (2020). «Cuatro Ciénegas as an Archaeal Astrobiology Park». En: Springer, Cham, págs. 219-228. DOI: 10.1007/978-3-030-46087-7_11. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-46087-7_11.
- Medina-Chávez, Nahui Olin, Mariette Viladomat Jasso, Gabriela Olmedo Álvarez, Luis Eguiarte, Valeria Souza y Susana De la Torre-Zavala (2019). «Diversity of archaea domain in Cuatro Ciénegas Basin: Archaeal domes». En: *bioRxiv*, pág. 766709. DOI: 10.1101/766709. URL: <https://doi.org/10.1101/766709>.
- Miranda, Priscilla J., Nathan K. McLain, Roland Hatzenpichler, Victoria J. Orphan y Jesse G. Dillon (2016). «Characterization of Chemosynthetic Microbial Mats Associated with Intertidal Hydrothermal Sulfur Vents in White Point, San Pedro, CA, USA». En: *Frontiers in Microbiology* 7.JUL, pág. 1163. DOI: 10.3389/FMICB.2016.01163. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4961709/>.
- Moore, Eli K., Benjamin I. Jelen, Donato Giovannelli, Hagai Raanan y Paul G. Falkowski (2017). «Metal availability and the expanding network of microbial metabolisms in the Archaeal eon».

- En: *Nature Geoscience* 10.9, págs. 629-636. ISSN: 17520908. DOI: 10.1038/ngeo3006. URL: <https://www.nature.com/articles/ngeo3006>.
- Noffke, Nora (2010). *Geobiology: Microbial Mats in Sandy Deposits from the Archean Era to Today*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. ISBN: 978-3-642-12771-7. DOI: 10.1007/978-3-642-12772-4.
- Noffke, Nora, Daniel Christian, David Wacey y Robert M. Hazen (2013). «Microbially induced sedimentary structures recording an ancient ecosystem in the ca. 3.48 Billion-year-old dresser formation, pilbara, Western Australia». En: *Astrobiology* 13.12, págs. 1103-1124. ISSN: 15311074. DOI: 10.1089/ast.2013.1030. URL: <https://pmc/articles/PMC3870916/%20/pmc/articles/PMC3870916/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3870916/>.
- Nutman, Allen P., Vickie C. Bennett, Clark R.L. Friend, Martin J. Van Kranendonk y Allan R. Chivas (2016). «Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures». En: *Nature* 537.7621, págs. 535-538. ISSN: 14764687. DOI: 10.1038/nature19355. URL: <https://www.nature.com/articles/nature19355>.
- Papineau, Dominic (2010). «Global biogeochemical changes at both ends of the Proterozoic: Insights from phosphorites». En: *Astrobiology* 10.2, págs. 165-181. ISSN: 15311074. DOI: 10.1089/ast.2009.0360. URL: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ast.2009.0360>.
- Pérez Ortega, Rodrigo (2020). «Pools in the Mexican desert are a window into Earth's early life». En: *Science*. ISSN: 0036-8075. DOI: 10.1126/science.abd5785.
- Prieto-Barajas, Cristina M., Eduardo Valencia-Cantero y Gustavo Santoyo (2018). «Microbial mat ecosystems: Structure types, functional diversity, and biotechnological application». En: *Electronic Journal of Biotechnology* 31, págs. 48-56. ISSN: 07173458. DOI: 10.1016/j.ejbt.2017.11.001.
- Rich, Virginia I. y Raina M. Maier (2015). «Aquatic Environments». En: *Environmental Microbiology: Third Edition*. Elsevier Inc., págs. 111-138. ISBN: 9780123946263. DOI: 10.1016/B978-0-12-394626-3.00006-5.
- Sánchez-Pérez, Jazmín, Juan Diego Villar, Nohely Alvarez-López, Bernardo Águila, Jhoselinne Buenrostro, Luis J. Chino-Palomo, Marisol Navarro-Miranda, Julián Felipe Cifuentes, Ana G. Cruz-Cruz, Benjamín Vega-Baray, Mariette Viladomat, Maria Kalambokidis, Luis E. Eguiarte y Valeria Souza (2020). «The Importance of the Rare Biosphere for Astrobiological Studies and the Diversification and Resilience of Life on Earth». En: Springer, Cham, págs. 135-148. DOI: 10.1007/978-3-030-46087-7_{_}6. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-46087-7_6.
- Smith, Megan L., Mark W. Claire, David C. Catling y Kevin J. Zahnle (2014). «The formation of sulfate, nitrate and perchlorate salts in the martian atmosphere». En: *Icarus* 231, págs. 51-64. ISSN: 00191035. DOI: 10.1016/j.icarus.2013.11.031.
- Souza, Valeria y Luis E. Eguiarte (2018). «In the Beginning, There Was Fire: Cuatro Ciénegas Basin (CCB) and the Long History of Life on Earth». En: Springer, Cham, págs. 21-33. DOI: 10.1007/978-3-319-93423-5_{_}2. URL: https://doi.org/10.1007/978-3-319-93423-5_2.
- Souza, Valeria, Laura Espinosa-Asuar, Ana E. Escalante, Luis E. Eguiarte, Jack Farmer, Larry Forney, Lourdes Lloret, Juan M. Rodríguez-Martínez, Xavier Soberón, Rodolfo Dirzo y James J. Elser (2006). «An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103.17,

- págs. 6565-6570. ISSN: 00278424. DOI: 10.1073/pnas.0601434103. URL: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0601434103.
- Souza, Valeria, Alejandra Moreno-Letelier, Michael Travisano, Luis David Alcaraz, Gabriela Olmedo y Luis Enrique Eguiarte (2018). «The lost world of cuatro ciénegas basin, a relictual bacterial niche in a desert oasis». En: *eLife* 7. ISSN: 2050084X. DOI: 10.7554/eLife.38278.
- Souza, Valeria, Janet L Siefert, Ana E Escalante, James J Elser y Luis E Eguiarte (2012). «The Cuatro Ciénegas Basin in Coahuila, Mexico: An Astrobiological Precambrian Park». En: *Astrobiology* 12. DOI: 10.1089/ast.2011.0675.
- Sumner, Dawn Y., Ian Hawes, Tyler J. Mackey, Anne D. Jungblut y Peter T. Doran (2015). «Antarctic microbial mats: A modern analog for Archean lacustrine oxygen oases». En: *Geology* 43.10, págs. 887-890. ISSN: 0091-7613. DOI: 10.1130/G36966.1.
- Visscher, Pieter T., Kimberley L. Gallagher, Anthony Bouton, Maria E. Farias, Daniel Kurth, Maria Sancho-Tomás, Pascal Philippot, Andrea Somogyi, Kadda Medjoubi, Emmanuelle Vennin, Raphaël Bourillot, Malcolm R. Walter, Brendan P. Burns, Manuel Contreras y Christophe Dupraz (2020). «Modern arsenotrophic microbial mats provide an analogue for life in the anoxic Archean». En: *Communications Earth & Environment* 2020 1:1 1.1, págs. 1-10. ISSN: 2662-4435. DOI: 10.1038/s43247-020-00025-2. URL: <https://www.nature.com/articles/s43247-020-00025-2>.
- Webster, Christopher R., Paul R. Mahaffy, Sushil K. Atreya, John E. Moores, Gregory J. Flesch, Charles Malespin, Christopher P. McKay, German Martinez, Christina L. Smith, Javier Martin-Torres, Javier Gomez-Elvira, Maria Paz Zorzano, Michael H. Wong, Melissa G. Trainer, Andrew Steele, Doug Archer, Brad Sutter, Patrice J. Coll, Caroline Freissinet, Pierre Yves Meslin, Raina V. Gough, Christopher H. House, Alexander Pavlov, Jennifer L. Eigenbrode, Daniel P. Glavin, John C. Pearson, Didier Keymeulen, Lance E. Christensen, Susanne P. Schwenzer, Rafael Navarro-Gonzalez, Jorge Pla-García, Scot C.R. Rafkin, Álvaro Vicente-Retortillo, Henrik Kahanpää, Daniel Viudez-Moreiras, Michael D. Smith, Ari Matti Harri, Maria Genzer, Donald M. Hassler, Mark Lemmon, Joy Crisp, Stanley P. Sander, Richard W. Zurek y Ashwin R. Vasavada (2018). «Background levels of methane in Mars' atmosphere show strong seasonal variations». En: *Science* 360.6393, págs. 1093-1096. ISSN: 10959203. DOI: 10.1126/science.aag0131. URL: <http://science.sciencemag.org/>.
- Zhao, Chuxue, Min Shi, Qinglai Feng, Yan Ye, Maliha Zareen Khan y Fanbin Feng (2020). «New study of microbial mats from the Mesoproterozoic Jixian Group, North China: Evidence for photosynthesis and oxygen release». En: *Precambrian Research* 344, pág. 105734. ISSN: 03019268. DOI: 10.1016/j.precamres.2020.105734.

Parte II

Objetivos y Metodología

Capítulo 4

Objetivos

4.1. Objetivo General

Determinar si el conjunto de iones metálicos y genes de dominios que ligan metales en los tapetes microbianos de Domos del Arqueano, Cuatro Ciénegas, Coahuila, guarda preferencia en el uso de metales correspondiente a los cambios en su biodisponibilidad a lo largo de la historia de la Tierra.

4.2. Objetivos Particulares

- Revisar bibliográficamente las transiciones en biodisponibilidad de metales a lo largo del tiempo geológico.
- Inferir el metametaloma de Domos del Arqueano a partir de metagenomas y sitios funcionales de centros metálicos.
- Describir y comparar con base a la temporalidad descrita de ciertas rutas metabólicas, la distribución de uso de metales de los tapetes microbianos de Domos del Arqueano.

Capítulo 5

Metodología

5.1. Descripción del Metametalloma

5.1.1. Adquisición de Datos Experimentales

La recolección, extracción, secuenciación y procesamiento de estos datos fue realizado en años previos por colaboradores del Laboratorio de Evolución Molecular y Experimental, Instituto de Ecología, UNAM.

Se realizaron siete muestreos de los tapetes microbianos Doms del Arqueano, Cuatro Ciéne-gas, Coahuila, correspondientes al periodo 2016-2020; los muestreos del 2016, 2018, y 2019 se realizaron en temporada de lluvias, mientras que los restantes se realizaron en temporada de secas. Se recolectaron por año muestras de ≈ 8 cm de espesor (tapete y sedimento asociado) en un área alrededor de ≈ 1.5 m. Las muestras fueron transferidas a tubos cónicos estériles de 50 mL y mantenidas en nitrógeno líquido para su procesamiento en el laboratorio. El procesamiento de las mismas solo involucró tapete microbiano.

a) Lisis de muestras

La extracción de DNA se realizó mediante el protocolo presentado en Marroquín-Rodríguez (2020) y De Anda et al. (2018) basado en el método presentado por Purdy (2005). A continuación se presenta el procedimiento de dicho protocolo.

Previo a la extracción, se prepararon columnas de HTP de 0.6-0.7 mL y columnas de *Sephadex* de 2 mL. Posteriormente, se mantuvieron a 4 °C para su sedimentación. La extracción fue realizada tomando únicamente la sección de tapete microbiano para todas las muestras recolectadas. En un tubo de 2 mL se agregó 0.5 mL de *glass beads*, 0.5 mL de muestra y 600 μ L de fosfato de sodio 120 mM pH 8.1, y se agitó suavemente. Posteriormente, se agregó 400 μ L de la fase superior de Tris-fenol pH 8 y 40 μ L de SDS al 20 % pH 8, se agitaron los tubos de lisis en el *Bead beat* durante 30 s a máxima velocidad y se colocaron en hielo por 30 s, estos dos últimos pasos se repitieron 3 veces. Se centrifugaron los tubos a 13,000 rpm por 1 min; de las 3 fases observables (pastilla, fenol y fase líquida) se recuperó la fase líquida, se cargó en la columna de HTP y se centrifugó a 1,500 rpm por 2 min. Al tubo que contiene

fenol y pastilla se le colocó 600 μL de fosfato de sodio 120 mM pH 8, se agitó en vortex hasta desprender la pastilla y se repitieron los pasos de la agitación en el *Bead beat* hasta colocar nuevamente la fase líquida en la columna de HTP.

b) Purificación de ácidos nucleicos

La columna de HTP se lavó con 500 μL de fosfato de sodio 120 mM pH 7.2 y se centrifugó a 1,500 rpm por 6 min, este paso se repitió 3 veces. Posteriormente, se agregó 400 μL de fosfato dipotásico 300 mM pH 7.2 en la columna y se centrifugó a 1,500 rpm por 6 min. Se recuperó el eluyente, se colocó en la columna de *Sephadex* y se centrifugó a 6,000 rpm por 8 min. Al precipitado se le agregó en el siguiente orden: 2 μL de *Glycoblue*, 40 μL de acetato de sodio 3 M y 1 mL de etanol 100 %; finalmente, se dejó pernoctar a -20°C . Al día siguiente, se centrifugó a 13,000 rpm por 10 min y se decantó el sobrenadante. A la pastilla se le agregó 1 mL de etanol 70 %, se agitó en vortex por 10 s, centrifugó a 13,000 rpm por 2 min y se removió el sobrenadante por aspiración. Por último, se dejó evaporar el etanol en campana de flujo laminar por 3 horas y se resuspendió en 20 μL de agua libre de RNAsas.

c) Secuenciación de metagenomas

El DNA purificado fue enviado a LANGE BIO-CINVESTAV para la secuenciación a través de metagenómica *shotgun*. Se prepararon librerías de DNA de secuenciación *paired-end* Illumina para cada muestra sin amplificar. Todas las muestras de DNA fueron secuenciadas en la plataforma Illumina MiSeq (2x300 lecturas de pares de bases *paired-end*). El número total de lecturas *paired-end* por metagenoma presentan un rango de 4.7-28.0 Gpb por librería y orientación (*forward* y *reverse*).

d) Ensamble y filtrado de metagenomas

Las lecturas crudas de secuenciación fueron procesadas con el software Trimmomatic v0.38 (Bolger et al. 2014) con una ventana de 4 con un valor de corte de calidad *Phred* de 30, longitud mínima de 35 y calidad promedio de 28. Para cada conjunto de lecturas por metagenoma se realizó un ensamble en *contigs* para facilitar la predicción de genes. Las lecturas pareadas de *forward* y *reverse* así como lecturas no pareadas tanto de *forward* y *reverse* fueron ensambladas usando MEGAHIT v1.1.1 (Li, Liu et al. 2015) con una longitud de *contig* mínima de 500 y parámetros ajustados para metagenomas altamente diversos (k-min de 27 y k-step de 10). Las lecturas no ensambladas fueron recolectadas con BBmap (Bushnell, 2020) y SAMtools (Li, Handsaker et al. 2009).

5.1.2. Adquisición de Datos de Referencia

Para la identificación de genes de metaloproteínas en los metagenomas, se hizo uso de datos de referencia en bases de datos curadas. Mediante esta aproximación, es posible la anotación de genes homólogos con dichas secuencias de referencia.

En el presente trabajo, los análisis de distribución y empleo de metales se realizaron sobre

W, Mo, Cu, Co, Ni, Fe y Zn. (★)

La elección de estos metales está dada en función de las transiciones en disponibilidad de los mismos a lo largo del tiempo geológico, los registros de concentraciones paleomarinas en el registro sedimentario, así como en la relevancia que estos tienen en los seres vivos. Para la obtención de secuencias de proteínas de referencia, se accedió a la base de datos PDB, que consiste en una base de datos de proteínas cuya secuencia y estructura han sido comprobadas mediante cristalografía (<https://www.rcsb.org/>, Berman et al. 2000), reduciendo así los sesgos asociados a la incertidumbre de iones metálicos asociados; se realizó un filtrado por metal, así como la exclusión de entradas cuyas secuencias no fueran de aminoácidos.

Haciendo uso de Ligand Expo (<http://ligand-expo.rcsb.org/>, Feng et al. 2004), se establecieron dos categorías en función del número y naturaleza de ligandos para cada entrada: metaloproteínas monometálicas (MpM) y metaloproteínas polimetálicas (MpP). Las MpM son aquellas cuyos ligandos contienen átomos de a lo más un metal de (★). Por el contrario, las MpP son todas aquellas que ligan más de dos átomos en (★) ya sea en una misma molécula o en entidades distintas. Las MpM, por definición, presentan alta afinidad a un metal, mientras que al mismo tiempo pueden ser proteínas cambialísticas (intercambio de metales sobre el mismo sitio). El número de secuencias *query* de MpM para cada metal fue de: 620 (Co), 3716 (Fe), 834 (Ni), 815 (Cu), 83 (Mo), 64 (W), 8334 (Zn).

Adicionalmente, se obtuvieron de la base de datos UniProt (<https://www.uniprot.org/>, Bateman et al. 2021) genes involucrados en la incorporación, tráfico, desintoxicación, biosíntesis de cofactores, entre otras funciones para cada metal en (★). La selección de estos genes fue dada a partir de publicaciones al respecto (Zhang et al. 2019), así como el empleo de búsqueda avanzada en UniProt, filtrando genes que no ligan metales, pero están involucrados en algún proceso de los anteriormente mencionados. El número de secuencias *query* de genes involucrados para cada metal fue de: 993 (Co), 6594 (Fe), 1541 (Ni), 1430 (Cu), 776 (Mo), 23 (W), 3441 (Zn).

5.1.3. Búsqueda de Genes Homólogos

Se realizó la predicción de genes estructurales proteínicos en los metagenomas utilizando el software Prodigal v2.6.3 (Prokaryotic dynamic programming genefinding algorithm) (Hyatt et al. 2010). El número de genes predichos para cada metagenoma fue de: 4929837, 1295365, 1783815, 2709036, 4525137, 4111171 y 4187426 respectivamente. A través de BLAST v2.11.0 (blastp) (Altschul et al. 1990; Camacho et al. 2009) se procedió a la búsqueda de genes homólogos en las bases de datos de proteínas predichas; se configuró como valor de corte un *e-value* de 1×10^{-6} .

5.1.4. Anotación Taxonómica y Funcional

Las potenciales secuencias homólogas obtenidas a través de BLAST fueron sujetas a un procedimiento de anotación taxonómica y funcional. Para la clasificación taxonómica se obtuvieron los IDs de taxonomía de NCBI utilizando el algoritmo LCA con la configuración predeterminada y con la base de datos no redundante (nr) de NCBI (O’Leary et al. 2016) a través del software DIAMOND v2.0.4.142 (Buchfink et al. 2014); para la traducción de IDs de taxonomía de NCBI a grupos taxonómicos se empleó la paquetería `taxonomizr`

(<https://cran.r-project.org/web/packages/taxonomizr/>, Sherrill-Mix, 2021). El análisis funcional de proteínas se realizó a través de un análisis Pfam (Mistry et al. 2021) mediante el software InterProScan v5.50 (Blum et al. 2021); adicionalmente, se obtuvieron anotaciones GO asociadas a componentes celulares, funciones moleculares y procesos biológicos (Ashburner et al. 2000; Carbon et al. 2021).

5.1.5. Normalización de Datos y Análisis Estadísticos

La normalización de datos y los análisis estadísticos asociados se realizaron utilizando el lenguaje de programación R v4.0.2 y el IDE Rstudio v1.3.1056 (R Core Team, 2020; RStudio Team, 2020).

La abundancia cruda de genes por metal fue normalizada en función de: 1) el número de secuencias *query* con mínimo una secuencia presente en los metagenomas estudiados, 2) la profundidad de secuenciación reflejada en el número de genes predichos y 3) un paso de normalización mediante el método RLE (Ecuación 1)

$$N_j = \text{mediana}_i \cdot \frac{Y_{ij}}{(\prod_{j'=1}^n Y_{ij'})^{\frac{1}{n}}} \quad (1)$$

con i los genes por metal y j las muestras estudiadas (i.e., metagenomas) (para mayor profundidad en este y otros métodos de normalización en metagenomas, ver Pereira et al. 2018). Para el cálculo de factores RLE se empleó la paquetería edgeR (<https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/edgeR.html>, Robinson et al. 2009).

Para el soporte estadístico de los datos, se realizaron consecutivamente las pruebas que se mencionan a continuación. Para evaluar el ajuste de normalidad a los datos, se empleó la prueba de Shapiro-Wilks. Para la comparación entre grupos (i.e., Metales), se realizó una prueba de Kruskal-Wallis seguido de una prueba U de Mann-Whitney para muestras pareadas en la determinación de grupos significativamente distintos. En esta última prueba se implementó el método propuesto por Benjamini y Hochberg (1995) para el ajuste de *p-values* para comparaciones múltiples. A través de la aplicación de estas pruebas se asume que las observaciones entre los grupos son independientes entre sí y que provienen de un muestreo aleatorio.

5.2. Metaloproteínas en Rutas Metabólicas

Se realizó un filtrado de la base de datos UniProt para la obtención de identificadores Pfam en función de términos GO asociados a rutas metabólicas de interés (las rutas metabólicas selectas son aquellas presentadas en Gutiérrez-Preciado et al. (2018)). Para aquellas rutas metabólicas poco representadas o no presentes en Uniprot, se efectuó un análisis Pfam para las secuencias procedentes de módulos metabólicos de la base de datos KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>, Kanehisa y Goto, 2000; Kanehisa, 2019). A través de la anotación Pfam realizada con InterProScan (para las secuencias provenientes de los metagenomas), se asignaron rutas metabólicas a aquellos dominios proteínicos que tuvieran participación en estas. Los identificadores Pfam que estuvieran presente en más de una ruta metabólica fueron

descartados. Mediante la anotación taxonómica de DIAMOND (Sección 5.1.4) se realizó la asignación de funciones metabólicas (parciales) a nivel de clase. Para la construcción del árbol de la vida se empleó el software TimeTree (<http://www.timetree.org/>, Kumar et al. 2017)

Las secuencias fueron sometidas a un análisis de anotación funcional mediante el software GhostKOALA (<https://www.kegg.jp/ghostkoala/>, Kanehisa, Sato et al. 2016) utilizando la base de datos KEGG. Por metal, se asignaron módulos funcionales de metabolismo energético, parciales y totales, para la inferencia de funciones metabólicas dentro de los tapetes microbianos. La profundidad de secuenciación para cada grupo de secuencias por metal fue de: 84.5 % (Co), 79.5 % (Fe), 75.5 % (Ni), 77.9 % (Cu), 69.3 % (Mo), 85.6 % (W), 82.4 % (Zn). Un estudio análogo se realizó para MpP. En este estudio la profundidad de secuenciación por grupo de secuencias por metal fue de: 81.0 % (Co), 83.1 % (Fe), 78.8 % (Ni), 77.4 % (Cu), 67.2 % (Mo), 70.3 % (W), 80.0 % (Zn).

Referencias

- Altschul, Stephen F., Warren Gish, Webb Miller, Eugene W. Myers y David J. Lipman (1990). «Basic local alignment search tool». En: *Journal of Molecular Biology* 215.3, págs. 403-410. ISSN: 00222836. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2231712/><https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2231712/?dopt=Citation>.
- Ashburner, Michael, Catherine A. Ball, Judith A. Blake, David Botstein, Heather Butler, J. Michael Cherry, Allan P. Davis, Kara Dolinski, Selina S. Dwight, Janan T. Eppig, Midori A. Harris, David P. Hill, Laurie Issel-Tarver, Andrew Kasarskis, Suzanna Lewis, John C. Matese, Joel E. Richardson, Martin Ringwald, Gerald M. Rubin y Gavin Sherlock (2000). «Gene ontology: Tool for the unification of biology». En: *Nature Genetics* 25.1, págs. 25-29. ISSN: 10614036. DOI: 10.1038/75556. URL: [/pmc/articles/PMC3037419/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3037419/)[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3037419/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3037419/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3037419/).
- Bateman, Alex et al. (2021). «UniProt: The universal protein knowledgebase in 2021». En: *Nucleic Acids Research* 49.D1, págs. D480-D489. ISSN: 13624962. DOI: 10.1093/nar/gkaa1100. URL: www.earthbiogenome.org.
- Benjamini, Yoav y Yosef Hochberg (1995). «Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing». En: *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 57.1, págs. 289-300. ISSN: 00359246. URL: <http://www.jstor.org/stable/2346101>.
- Berman, Helen M., John Westbrook, Zukang Feng, Gary Gilliland, T. N. Bhat, Helge Weissig, Ilya N. Shindyalov y Philip E. Bourne (2000). «The Protein Data Bank». En: *Nucleic Acids Research* 28.1, págs. 235-242. ISSN: 03051048. DOI: 10.1093/nar/28.1.235. URL: <http://www.rcsb.org/pdb/status.html>.
- Blum, Matthias, Hsin Yu Chang, Sara Chuguransky, Tiago Grego, Swaathi Kandasamy, Alex Mitchell, Gift Nuka, Typhaine Paysan-Lafosse, Matloob Qureshi, Shriya Raj, Lorna Richardson, Gustavo A. Salazar, Lowri Williams, Peer Bork, Alan Bridge, Julian Gough, Daniel H. Haft, Ivica Letunic, Aron Marchler-Bauer, Huaiyu Mi, Darren A. Natale, Marco Necci, Christine A. Orengo, Arun P. Pandurangan, Catherine Rivoire, Christian J.A. Sigrist, Ian Sillitoe, Narmada Thanki, Paul D. Thomas, Silvio C.E. Tosatto, Cathy H. Wu, Alex Bateman y Robert D. Finn (2021). «The InterPro protein families and domains database: 20 years on». En: *Nucleic Acids Research* 49.D1, págs. D344-D354. ISSN: 13624962. DOI: 10.1093/nar/gkaa977. URL: <https://academic.oup.com/nar/article/49/D1/D344/5958491>.
- Bolger, Anthony M., Marc Lohse y Bjoern Usadel (2014). «Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data». En: *Bioinformatics* 30.15, págs. 2114-2120. ISSN: 14602059. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170. URL: [/pmc/articles/PMC4103590/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4103590/)[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4103590/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4103590/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4103590/).
- Buchfink, Benjamin, Chao Xie y Daniel H. Huson (2014). «Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND». En: *Nature Methods* 12.1, págs. 59-60. ISSN: 15487105. DOI: 10.1038/nmeth.3176. URL: <https://www.nature.com/articles/nmeth.3176>.
- Bushnell, B (2020). *BBmap*.
- Camacho, Christiam, George Coulouris, Vahram Avagyan, Ning Ma, Jason Papadopoulos, Kevin Bealer y Thomas L. Madden (2009). «BLAST+: Architecture and applications». En: *BMC Bio-*

- informatics* 10. ISSN: 14712105. DOI: 10.1186/1471-2105-10-421. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20003500/%20https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20003500/?dopt=Citation>.
- Carbon, Seth et al. (2021). «The Gene Ontology resource: Enriching a GOld mine». En: *Nucleic Acids Research* 49.D1, págs. D325-D334. ISSN: 13624962. DOI: 10.1093/nar/gkaa1113. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33290552/>.
- De Anda, Valerie, Icoquih Zapata-Peñasco, Jazmín Blaz, Augusto Cesar Poot-Hernández, Bruno Contreras-Moreira, Marcos González-Laffitte, Niza Gámez-Tamariz, Maribel Hernández-Rosales, Luis E. Eguiarte y Valeria Souza (2018). «Understanding the mechanisms behind the response to environmental perturbation in microbial mats: A metagenomic-network based approach». En: *Frontiers in Microbiology* 9.NOV, pág. 2606. ISSN: 1664302X. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02606. URL: www.frontiersin.org.
- Feng, Zukang, Li Chen, Himabindu Maddula, Ozgur Akcan, Rose Oughtred, Helen M. Berman y John Westbrook (2004). «Ligand Depot: A data warehouse for ligands bound to macromolecules». En: *Bioinformatics* 20.13, págs. 2153-2155. ISSN: 13674803. DOI: 10.1093/bioinformatics/bth214. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15059838/>.
- Gutiérrez-Preciado, Ana, Aurélien Saghaï, David Moreira, Yvan Zivanovic, Philippe Deschamps y Purificación López-García (2018). «Functional shifts in microbial mats recapitulate early Earth metabolic transitions». En: *Nature Ecology and Evolution* 2.11, págs. 1700-1708. ISSN: 2397334X. DOI: 10.1038/s41559-018-0683-3. URL: <https://www.nature.com/articles/s41559-018-0683-3>.
- Hyatt, Doug, Gwo Liang Chen, Philip F. LoCascio, Miriam L. Land, Frank W. Larimer y Loren J. Hauser (2010). «Prodigal: Prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification». En: *BMC Bioinformatics* 11.1, pág. 119. ISSN: 14712105. DOI: 10.1186/1471-2105-11-119. URL: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-11-119>.
- Kanehisa, Minoru (2019). «Toward understanding the origin and evolution of cellular organisms». En: *Protein Science* 28.11, págs. 1947-1951. ISSN: 1469896X. DOI: 10.1002/pro.3715. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31441146/>.
- Kanehisa, Minoru y Susumu Goto (2000). «KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes». En: *Nucleic Acids Research* 28.1, págs. 27-30. ISSN: 03051048. DOI: 10.1093/nar/28.1.27. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10592173/>.
- Kanehisa, Minoru, Yoko Sato y Kanae Morishima (2016). «BlastKOALA and GhostKOALA: KEGG Tools for Functional Characterization of Genome and Metagenome Sequences». En: *Journal of Molecular Biology* 428.4, págs. 726-731. ISSN: 10898638. DOI: 10.1016/j.jmb.2015.11.006.
- Kumar, Sudhir, Glen Stecher, Michael Suleski y S. Blair Hedges (2017). «TimeTree: A Resource for Timelines, Timetrees, and Divergence Times». En: *Molecular biology and evolution* 34.7, págs. 1812-1819. ISSN: 15371719. DOI: 10.1093/molbev/msx116. URL: <http://www.timetree.org>.
- Li, Dinghua, Chi Man Liu, Ruibang Luo, Kunihiro Sadakane y Tak Wah Lam (2015). «MEGAHIT: An ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph». En: *Bioinformatics* 31.10, págs. 1674-1676. ISSN: 14602059. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv033. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25609793/>.

- Li, Heng, Bob Handsaker, Alec Wysoker, Tim Fennell, Jue Ruan, Nils Homer, Gabor Marth, Goncalo Abecasis y Richard Durbin (2009). «The Sequence Alignment/Map format and SAMtools». En: *Bioinformatics* 25.16, págs. 2078-2079. ISSN: 13674803. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19505943/>.
- Mistry, Jaina, Sara Chuguransky, Lowri Williams, Matloob Qureshi, Gustavo A. Salazar, Erik L.L. Sonnhammer, Silvio C.E. Tosatto, Lisanna Paladin, Shriya Raj, Lorna J. Richardson, Robert D. Finn y Alex Bateman (2021). «Pfam: The protein families database in 2021». En: *Nucleic Acids Research* 49.D1, págs. D412-D419. ISSN: 13624962. DOI: 10.1093/nar/gkaa913. URL: <https://covid-19..>
- O’Leary, Nuala A. et al. (2016). «Reference sequence (RefSeq) database at NCBI: Current status, taxonomic expansion, and functional annotation». En: *Nucleic Acids Research* 44.D1, págs. D733-D745. ISSN: 13624962. DOI: 10.1093/nar/gkv1189. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26553804/>.
- Pereira, Mariana Buongiorno, Mikael Wallroth, Viktor Jonsson y Erik Kristiansson (2018). «Comparison of normalization methods for the analysis of metagenomic gene abundance data». En: *BMC Genomics* 19.1, pág. 274. ISSN: 14712164. DOI: 10.1186/s12864-018-4637-6. URL: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4637-6>.
- Purdy, Kevin J. (2005). «Nucleic acid recovery from complex environmental samples». En: *Methods in Enzymology* 397, págs. 271-292. ISSN: 00766879. DOI: 10.1016/S0076-6879(05)97016-X.
- R Core Team (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria.
- Robinson, Mark D., Davis J. McCarthy y Gordon K. Smyth (2009). «edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data». En: *Bioinformatics* 26.1, págs. 139-140. ISSN: 14602059. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp616. URL: <http://bioconductor.org>.
- RStudio Team (2020). *RStudio: Integrated Development Environment for R*. Boston, MA.
- Sherrill-Mix, Scott (2021). *Package ‘taxonomizr’*. URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/taxonomizr/>.
- Zhang, Yan, Huimin Ying y Yinzhen Xu (2019). «Comparative genomics and metagenomics of the metallomes». En: *Metallomics* 11.6, págs. 1026-1043. ISSN: 1756591X. DOI: 10.1039/c9mt00023b.

Parte III

Resultados y Discusión

Capítulo 6

Resultados

6.1. El Metametaloma de Domos del Arqueano

Extrapolando la definición del metaloma (Sección 2.1), en el presente trabajo se propone el concepto de metametaloma como el conjunto de iones metálicos, metaloproteínas, metaloenzimas y biomoléculas que contienen metales presentes en una comunidad biológica. Dicho concepto pretende ser jerárquicamente equivalente al de metagenoma, metaproteoma y metatranscriptoma. Similar a las restricciones que están impuestas en estos conceptos, las limitaciones que existen en la inferencia de uso de metales a través de bioinformática, particularmente desde metagenomas, (Zhang y Zheng, 2020) posiblemente representan un sesgo en el entendimiento holístico del metametaloma, por lo que la medición de concentración de iones metálicos así como ensayos experimentales asociados permitirán refinar y complementar los resultados bioinformáticos.

Como fue descrito en la sección 5.1.2, se realizó una clasificación entre metaloproteínas monometálicas (MpM) y metaloproteínas polimetálicas (MpP). En conjunto, ambas clases de metaloproteínas constituyen el total de la parte proteínica del metametaloma. Aunque parte importante del metametaloma, el análisis e interpretación de datos de metaloproteínas polimetálicas (MpP) se desprecia en este trabajo debido a la dificultad adicional para distinguir la afinidad metálica que este grupo presenta. En las siguientes secciones, se asume como una muestra representativa del metametaloma de Domos del Arqueano (DA) al conjunto de MpM inferidas.

Infiriendo el metametaloma de Domos del Arqueano, a través de la búsqueda de homólogos utilizando secuencias *query* que ligan metales pertenecientes a la base de datos PDB, se obtuvo la distribución de metaloproteínas de W, Mo, Cu, Co, Ni, Fe y Zn en los metagenomas de DA (Figura 6.2). Pese a las limitaciones asociadas a una distribución muestral reducida, es posible observar que el tamaño del metagenoma y el número de metaloproteínas sigue una relación positiva, es decir, a mayor tamaño de metagenoma, mayor el número de metaloproteínas (posterior a normalización RLE) encontradas. De forma complementaria, la correlación pareada entre metales muestra que sigue una clara tendencia lineal, reflejando una relación directamente proporcional entre los distintos metales estudiados (Figura

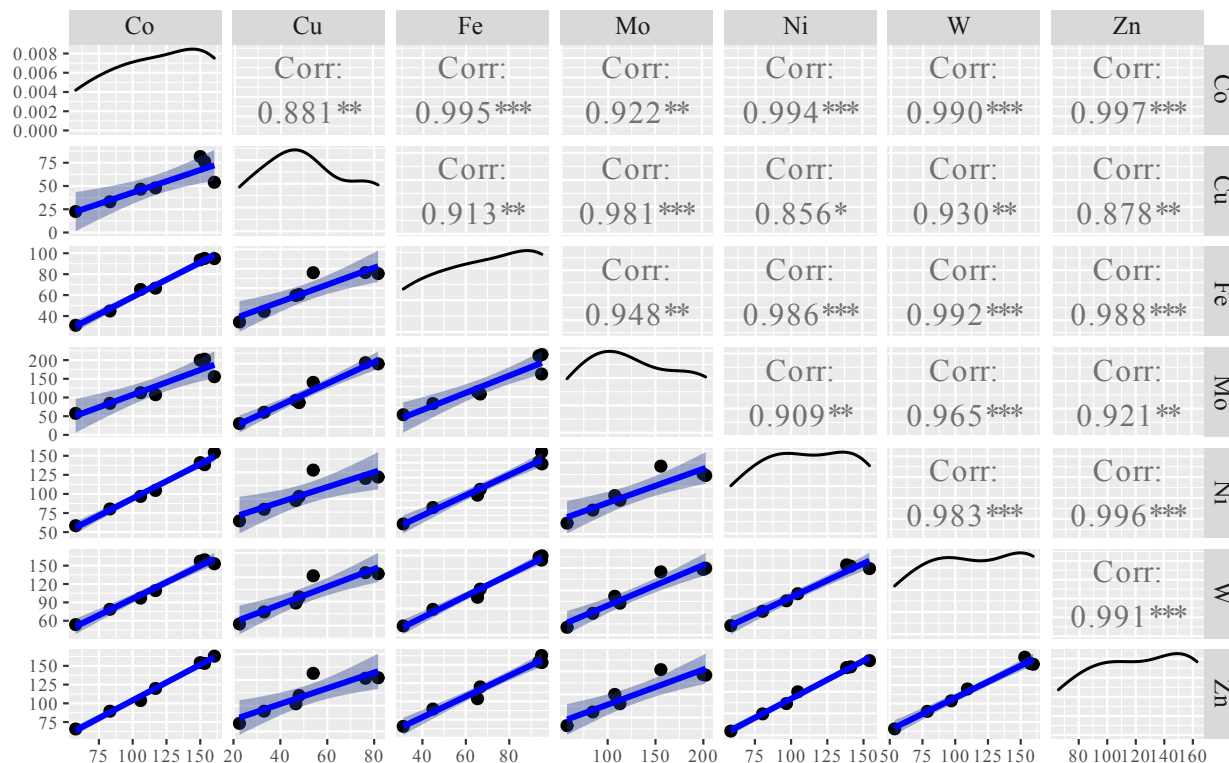


Figura 6.1: Correlograma pareado entre los distintos metales estudiados. En la región triangular inferior se muestran gráficas de dispersión y líneas de tendencia ajustadas con un modelo lineal; las áreas sombreadas corresponden a intervalos de confianza (95 %). En la región triangular superior se muestran coeficientes de correlación de Pearson para cada par de metales.

6.1). Estos resultados sugieren que el metametaloma inferido para cada metagenoma es una muestra representativa de la población. Incrementar el tamaño de la distribución muestral en próximos muestreos permitirá posiblemente establecer una ley de potencias entre el metaproteoma y el metametaloma a nivel de comunidad, análogo a las relaciones ya establecidas con anterioridad entre el proteoma y el metaloma a nivel de célula (Dupont et al. 2006).

Al estudiar la distribución de genes de metaloproteínas por metal, los resultados sugieren una diferencia entre el número de genes asociados a Cu, Fe y el número de genes asociados a los demás metales (Figura 6.2). Mediante una prueba de Kruskal-Wallis, se comprueba que existen diferencias significativas entre los distintos metales ($p = 2.92 \times 10^{-5}$) y una prueba U de Mann-Whitney para muestras pareadas refleja que los grupos de Cu y Fe son significativamente distintos con respecto al número de genes encontrados para los demás metales. El número de metaloproteínas de Co, Mo, Ni, W y Zn no presentan diferencias significativas entre sí (ver Anexos).

La anotación funcional de metaloproteínas muestra tendencias generales del papel que juegan los metales traza en los tapetes microbianos (en la Figura A1: Anexos se muestran los dominios proteínicos (pfam) más abundantes en DA por metal). En la Sección 2.1 se da una descripción con mayor detalle de algunos de los dominios presentados a continuación. Para el cobalto, como de esperarse, el dominio más abundante es el dominio de unión a B₁₂, el

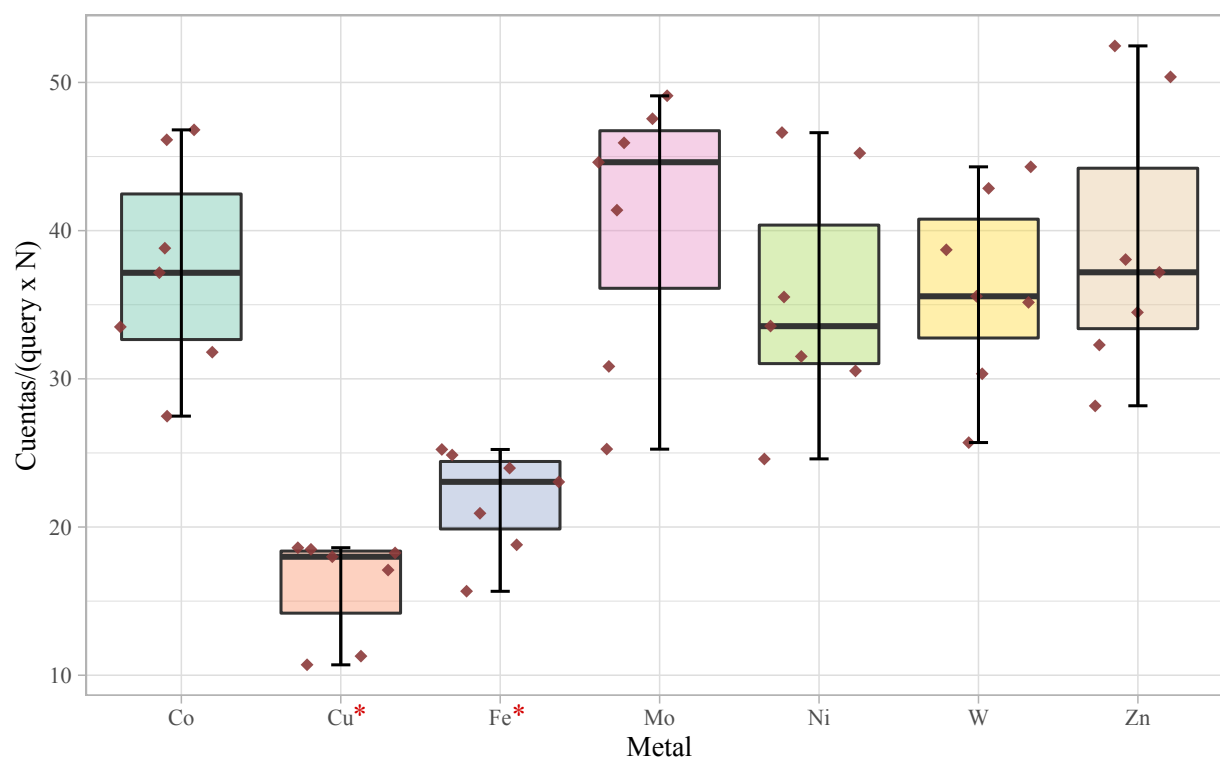


Figura 6.2: Distribución del número de genes estructurales proteínicos que ligan metales en los metagenomas de Domos del Arqueano. Los rombos representan datos individuales para cada metagenoma. La abundancia es presentada como número de cuentas por *query* normalizado al tamaño del metagenoma. Con asterisco se muestran los grupos que presentan diferencias significativas relativo a los demás grupos.

cofactor de Co más común (Sección 2.1.4), seguido de la familia M24 de metallopeptidasas (ruptura de enlaces peptídicos), metilmalonil-CoA mutasa (involucrada en diversas rutas catabólicas y anabólicas), dominios que ligan ATP, aldolasas y carboxilasas (participación en rutas glucolíticas y en adición de átomos de carbono), proteínas cinasas (fosforilación) y alfa-amilasas (ruptura de enlaces glucosídicos). Destaca también la presencia del dominio barril de la ribonucleótido reductasa (producción de ribonucleótidos), tRNA sintetasas clase II (producción de aminoacil-tRNA), factor de elongación Tu GTP (transcripción), así como dominios de metiltransferasa, deshidrogenasa, liasa (ruptura de enlaces C-C, C-S, C-N) y enolasa (participación en rutas glucolíticas).

En el caso de dominios de cobre, los dominios más abundantes corresponden respectivamente a Citocromo C/Quinol oxidasa (transferencia de electrones), dominios de regulación de respuesta (señalización), familias AcrB/AcrD/AcrF (transportadores y fusión de membranas), thioredoxina (señalización redox/antioxidantes). Adicionalmente, se observa la presencia de piridina nucleótido-disulfuro oxidoreductasa (participación en metabolismo de nucleótidos), aldolasas y carboxilasas, DAHP sintetasa (biosíntesis de aminoácidos aromáticos), dominios HIT (unión a DNA), multicobre oxidasa y la familia de plastocianina/azurina. Con una abundancia considerable, se encuentra el dominio asociado a metales pesados, involucrado en procesos de desintoxicación por metales (Cd y Pb principalmente).

Los dominios que ligan Fe con mayor abundancia son las aminohidrolasas (desaminación), dominio dielúster 4Fe-4S, dominio HD (fosfohidrolasas), dominio 2Fe-2S dielúster, transportador de protones de membrana y alcohol deshidrogenasa de Fe (interconversión de alcoholes a aldehídos/cetonas). Entre la diversidad de Fe, también se encuentran los dominios que ligan FAD (carreador de electrones), tRNA N6-adenosin treonilcarbamoiltransferasa (involucrado en traducción), Citocromo C/Quinol oxidasa, dominios tipo ferritina (transporte de Fe), transportadores ABC, entre otros. Destaca la presencia de Nitrogenasa de Fe (Fijación de nitrógeno), así como superóxido dismutasa de Fe/Mn (antioxidante), hidrogenasa de solo Fe (oxidación de H₂) y variedad de dominios involucrados en cadenas respiratorias.

Las metaloproteínas de molibdeno presentan en su mayor parte dominios de unión a molibdopterina, cofactor de Mo (ver Sección 2.1.6). Adicionalmente, también se encuentran dominios de regulación de respuesta, dominios que ligan FAD, dominio SLBB (transporte), aldehído oxidasa/xantina deshidrogenasa (oxidación de aldehídos a ácidos carboxílicos), MoeA (biosíntesis de MoCo), acilfosfatasa (conversión de acilfosfato en carboxilato y fosfato), flavoproteína monóxido de carbono deshidrogenasa (Oxidación de CO), entre otros. Dentro de este grupo se presentan varios dominios asociados a Fe, reflejando su codependencia en las molibdoпротеínas presentes en DA pese al filtrado previo de PDB en las secuencias *query*.

En cuanto a dominios de Ni, hay una destacada abundancia de dominios WD (transducción de señales, regulación de transcripción, control de ciclo celular), seguido de dominios HD, transportadores de solutos extracelulares, amidohidrolasas y transportadores ABC. También se encuentran dominios asociados a enoil reductasa (participación en la biosíntesis de ácidos grasos), proteínas cinasas, dominios de unión a ATP, transportadores crB/AcrD/AcrF, deshidrogenasas, metalopeptidasa M24, subtilasa (serina peptidasa, ruptura de enlaces peptídicos) y otras peptidasas, tRNA N6-adenosin treonilcarbamoiltransferasa, aldehído deshidrogenasa,

piridina nucleótido-disulfuro oxidoreductasa, entre otros.

Los dominios asociados a W presentan sitios relacionados con la molibopterina (MoCo). Muy posiblemente esto se deba a la semejanza estructural del MoCo y el cofactor de molibdeno (Sección 2.1.7); por otra parte, las limitaciones bioinformáticas actuales no permiten la distinción de uso entre ambos metales. En cuanto a otros dominios, los más abundantes son: dominios de regulación de respuesta, transportadores ABC, pirofosfatasa inorgánica de protones (bomba de protones para establecer gradiente electroquímico) y tRNA N6-adenosin treonilcarbamoiltransferasa. Entre otros dominios, cabe mencionar la presencia de la hidrolasa tipo dehalogenasa haloácida, dominio PBP (unión periplásmica), dominio TOBE (transporte de iones), dominios de unión a RNA, 3' exoribonucleasa (remoción de nucleótidos), entre otros. Adicionalmente, al realizar una búsqueda por HMMER del dominio aldehído ferredoxina oxidoreductasa, se encuentra como una familia de proteínas que supera a otras familias de metaloproteínas en abundancia (4733 hits, $e\text{-value}=1\times 10^{-6}$).

Finalmente, las metaloproteínas de Zn más abundantes corresponden al dominio de Helicasa (separación hebras de DNA), seguido de la amidohidrolasa, dominio WD, la caja helicasa DEAD/DEAH (separación de hebras de DNA) y la sulfatasa (hidrólisis de ésteres sulfato). También están presentes la superfamilia metalo-beta-lactamasa (tiolesterasas, glioxilasas, importe de DNA), tRNA sintetasa (síntesis de tRNA), alcohol deshidrogenasa, dominios de regulación de respuesta, transportadores ABC, metalopeptidasa M24, dominio sigma 70 (participación en el complejo RNA polimerasa), aldo/ceto reductasa, transportadores membranales de protones, proteínas cinasas y peptidasas varias.

Mediante los términos GO asociados a la anotación de proteínas, se obtuvieron procesos y funciones asociadas a las mismas. Observando las funciones moleculares (Figura 6.3), es consistente la presencia y abundancia de múltiples términos asociados con metales, tales como unión a metales de transición, unión a iones hierro, unión a hierro férrico, unión a hemo, unión a catión níquel, unión a cofactor molibdopterina, unión a iones cobre, unión a clúster hierro-azúfre, unión a iones metálicos, entre otros. Entre los distintos metales, estos presentan en distinta abundancia actividad de oxidoreductasa, transferencia de electrones, hidrolasa, catalítica, transporte transmembranal, superóxido dismutasa, cinasa, ATPasa, lisosima, peptidasa/metallopeptidasa, amino oxidasa y liasa. Así, se aprecia que la mayoría de las funciones moleculares de metaloproteínas están asociadas a actividad enzimática, particularmente en actividad de óxido-reducción/transferencia de electrones, un resultado previamente descrito para proteomas (i.e., a nivel organismo) (Sección 2.1).

Los procesos biológicos de DA que presentan participación de metaloproteínas son muy diversos (Figura 6.4). De forma general, todos los metales están involucrados en procesos de biosíntesis (de tiamina, asparagina, leucina, ácidos grasos, hemo, desoxirribonucleótidos, isoprenoides, terpenoides, aminas), catabolismo (de peptidoglicano, triptófano, macromoléculas de pared celular, nucleótidos, glucólisis, proteólisis), transporte (de iones metálicos, otros cationes, péptidos, transporte transmembranal), de señalización (transducción de señales, sistema de transducción de señales por fosforilación), procesos informacionales (reparación, recombinación y replicación de DNA, regulación de transcripción, procesamiento de RNA, aminoacilación de tRNA para traducción), entre otros procesos metabólicos (metabolismo de ácidos grasos, compuestos aromáticos, nucleósidos, lípidos, aminas, aminoácidos,

carbohidratos, compuestos nitrogenados, quimiotaxis, superóxido, plegamiento y fosforilación de proteínas, cadena transportadora de electrones, respiración aeróbica, homeostasis redox).

Particularizando, el Co presenta una alta abundancia de genes asociados a las funciones moleculares y procesos biológicos compartidos entre todos los metales. Por el contrario, el W y Mo muestran una menor abundancia en dichas funciones y procesos respecto a los demás metales. Los grupos de Co y Zn parecen tener una participación relevante en funciones y procesos informacionales tales como unión a DNA, regulación de transcripción y aminoacilación de tRNA para el Zn; y reparación, recombinación y replicación de DNA para el Co; esto resulta consistente con observaciones previas (Secciones 2.1.4 y 2.1.2). El Cu muestra tener un papel crucial en el transporte transmembranal, la homeostasis redox y enzimas involucradas en respiración aeróbica, reflejando su papel como potencial tóxico y como mediador del poder del oxígeno (Secciones 2.1.5 y 2.3). Adicionalmente, el Fe muestra consistentemente una participación en cadenas transportadoras de electrones, así como en el metabolismo del superóxido (Sección 2.1.1). Tanto para funciones moleculares como para procesos celulares no se observan agrupamientos significativos entre los diferentes metales, sugiriendo un “nicho” funcional de alta especificidad para cada metal.

La anotación taxonómica de metaloproteínas es consistente con los grupos taxonómicos previamente descritos (Medina-Chávez, Viladomat Jasso et al. 2019; Medina-Chávez, De la Torre-Zavala et al. 2020; Espinosa-Asuar et al. 2021). En promedio, las bacterias (72.20 %) dominan los tapetes microbianos de Domo del Arqueano, seguido de arqueas (12.80 %) y eucariontes (0.26 %). Hay un particular enriquecimiento en arqueas (>20 %) en las muestras de marzo 2019 y septiembre 2019. A nivel de phylum se observa una alta diversidad de Proteobacteria (16.44 %) y Euryarchaeota (8.33 %), siendo los phyla más abundantes, seguidos de Bacteroidetes (5.90 %), Firmicutes (4.95 %), Spirochaetes (3.43 %), Cyanobacteria (2.10 %), Planctomycetes (1.41 %), Chloroflexi (1.05 %) y Tenericutes (1.03 %); los demás phyla se encuentran en abundancia por debajo del 1 % (Figura A2: Anexos). Cabe destacar que es considerable el número de secuencias no anotadas (14.7 % a nivel dominio, 50.67 % a nivel phylum), por lo que una mayor profundidad de anotación permitirá confirmar estos patrones observados.

Para los phyla más abundantes, se exploró la composición de clases taxonómicas en función de los distintos metales (Figura A3: Anexos). En promedio, para el phylum Proteobacteria, las clases más abundantes son: Deltaproteobacteria (40.97 %), Alphaproteobacteria (23.19 %) y Gammaproteobacteria (22.94 %). En el caso de Euryarchaeota: Halobacteria (86.13 %), Methanomicrobia (3.59 %) y Nanohaloarchaea (2.61 %). En Firmicutes: Clostridia (76.90 %) y Bacilli (5.58 %). Finalmente, para el phylum Bacteroidetes: Bacteroidia (38.82 %), Cytophagia (4.97 %) y Flavobacteria (2.75 %). Por otra parte, en cianobacterias, destacan los órdenes Oscillatoriales (39.81 %), Synechococcales (1.50 %), Nostocales (1.25 %) y Chroococcales (1.12 %).

Explorando la distribución del metaloma en los phyla presentes en DA, se pueden observar tendencias entre los distintos phyla y a nivel dominio (Figura 6.5). Para los phyla más abundantes, se observa una mayor diversidad de metales en comparación con aquellos cuya abundancia es menor, posiblemente debido a un sesgo en la presencia de secuencias de

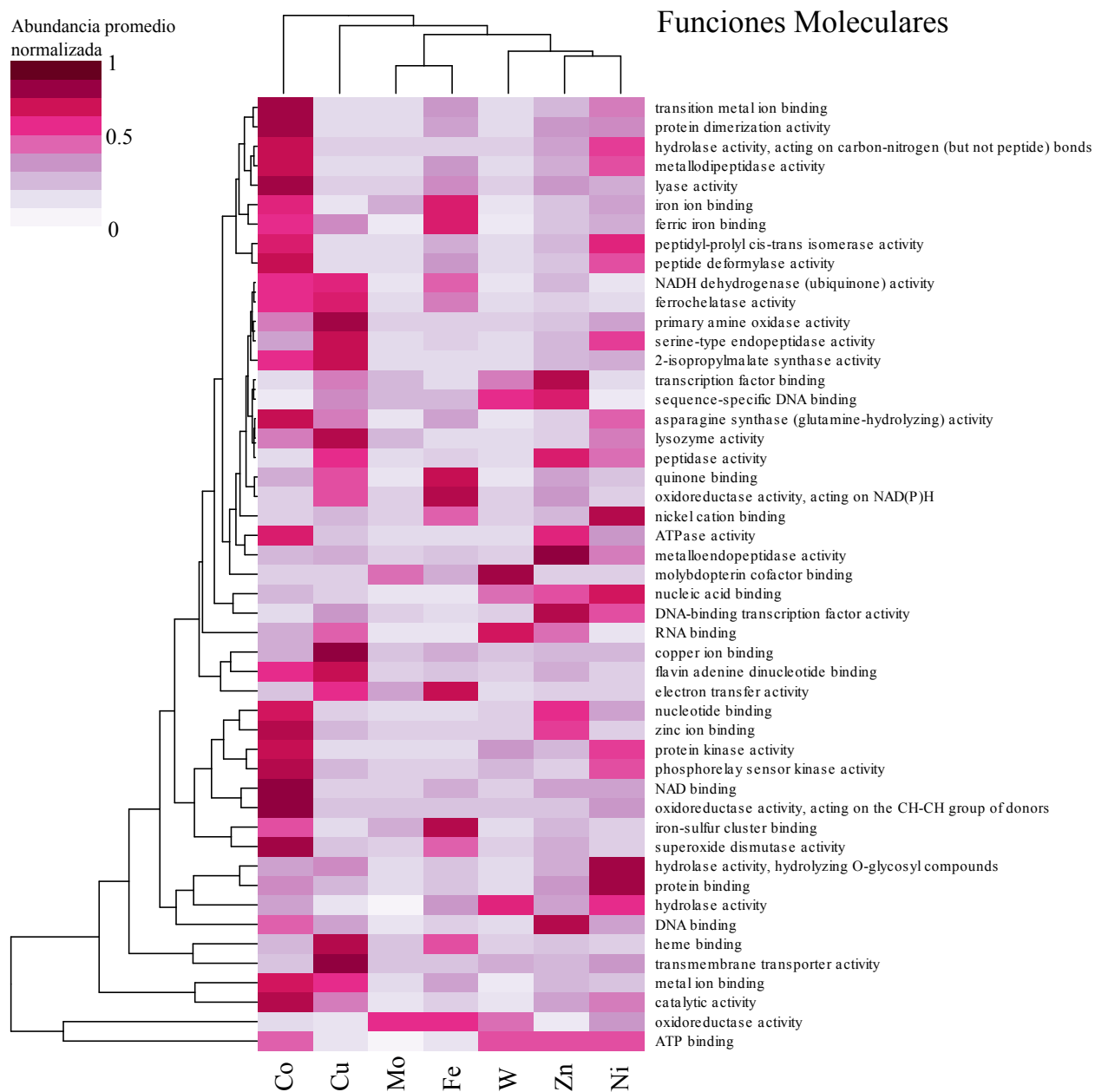


Figura 6.3: Funciones moleculares más abundantes entre los distintos metales. La abundancia está representada como abundancia promedio normalizada por metal.

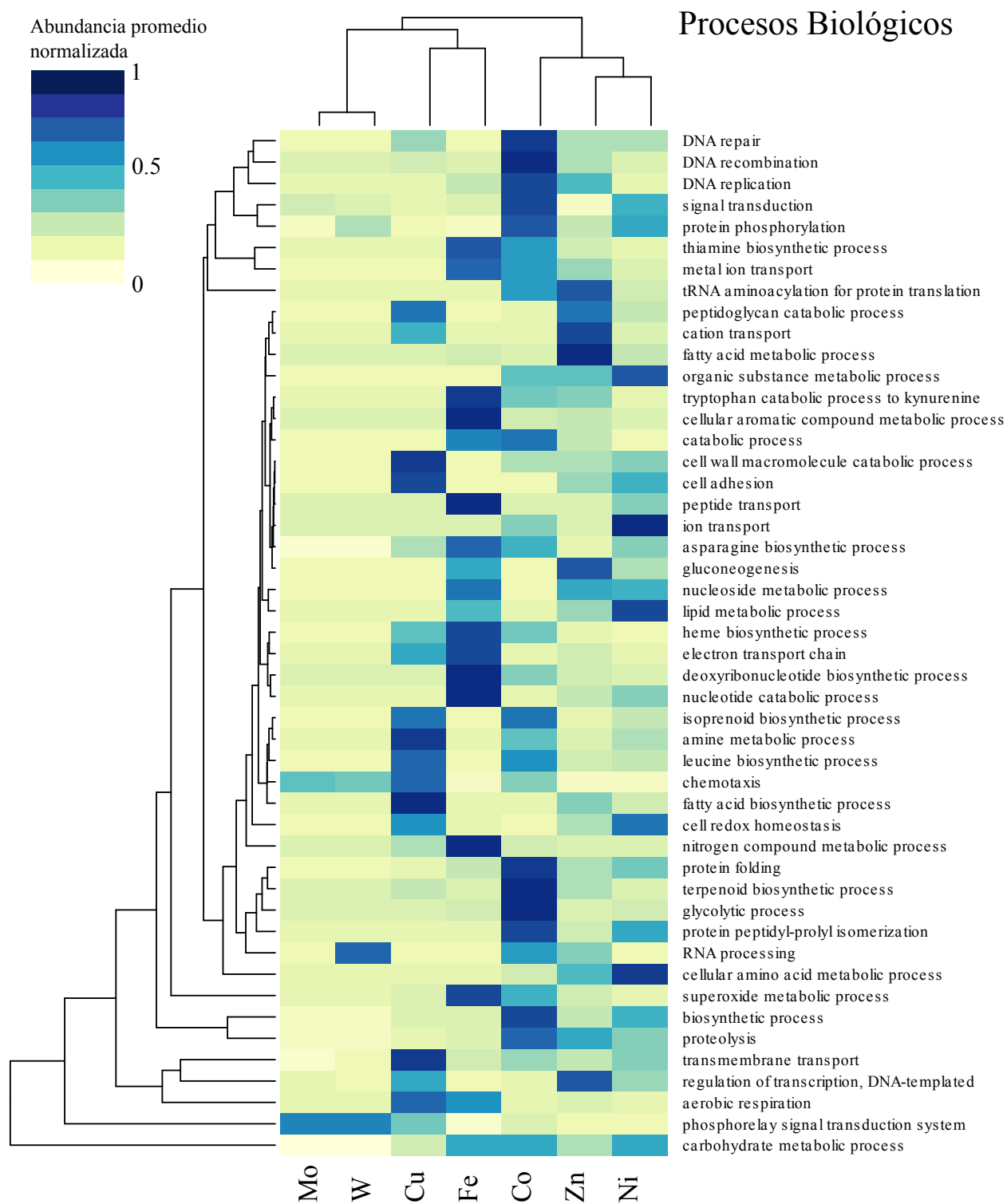


Figura 6.4: Procesos biológicos más abundantes entre los distintos metales. La abundancia está representada como abundancia promedio normalizada por metal.

dichos grupos. La utilización de W se ve restringida a algunos phyla de arqueas y bacterias, con una presencia anómala en eucariontes (Sección 2.1.7). El Mo en arqueas pareciera no presentar una distribución uniforme entre los phyla, ya que la mayoría de este se encuentra localizado dentro de los Euryarchaeota. Por el contrario, las secuencias de Zn se encuentran ampliamente distribuidas en los tres dominios, posiblemente asociado al tamaño de la base de datos de Zn. En eucariontes se observa consistentemente un amplio empleo en Co, Fe, Ni, Zn en contraste con una inusual deficiencia en el empleo de Mo. También se hallaron secuencias de virus asociado a la utilización de Zn, Co y Cu mayoritariamente; un resultado previamente descrito (Chaturvedi y Shrivastava, 2005). La elaboración de cultivos axénicos y su sometimiento a distintas concentraciones de metales ayudará al entendimiento de los requerimientos de metales traza en los distintos taxa.

La anotación GhostKOALA usando la base de datos KEGG ofrece tendencias similares en procesos de mayor generalidad (Figura A4: Anexos). La mayor porción de metaloproteínas de Fe, Cu, Mo están involucradas en el metabolismo energético y de carbohidratos, mientras que el Zn domina los procesos de información genética y el metabolismo de carbohidratos. Las metaloproteínas de W como de Mo tienen una proporción considerable de procesos de información ambiental relativo a los demás grupos. Otros procesos relevantes en todos los metales incluye el metabolismo de cofactores y vitaminas, metabolismo de aminoácidos, metabolismo de nucleótidos y procesos celulares y de señalización.

Adicionalmente, se exploró la presencia de módulos de genes involucrados en el tráfico y biosíntesis de cofactores de los metales discutidos. Dichos genes generalmente no están involucrados en ligar iones metálicos directamente (i.e., no son metaloproteínas). Tanto para el Co como Mo, resalta la presencia de módulos completos para la biosíntesis de cobalamina y MoCo respectivamente; la biosíntesis de cobalamina presenta el potencial de sintetizarse tanto de forma aerobia como anaerobia. Las rutas de biosíntesis de grupo hemo también se hacen presentes dentro de DA, tanto para procariontes como eucariontes. La presencia del cofactor F430 de Ni es posible debido a su presencia de módulos biosintéticos completos. En cuanto al W, se identificaron módulos asociados con la biosíntesis de MoCo, posiblemente debido a su similitud funcional. Aunque sin un cofactor característico como los demás metales, para el Cu se pudieron identificar los sistemas *cusS* y *cusR*, que funcionan como exportadores de Cu y otros metales (Sección 2.1.5).

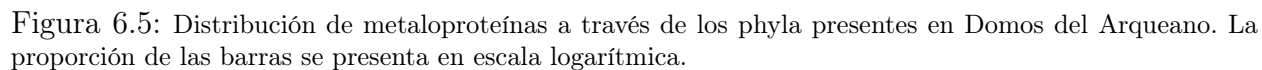


Figura 6.5: Distribución de metaloproteínas a través de los phyla presentes en Doms del Arqueano. La proporción de las barras se presenta en escala logarítmica.

6.2. El Metabolismo de Domos del Arqueano

Es preponderante la presencia de iones metálicos en los ciclos biogeoquímicos (Sección 2.3), por lo que en esta sección se explora el vínculo entre las metaloproteínas presentes en el sitio y rutas metabólicas asociadas a las mismas, con el fin de establecer relaciones entre la afinidad metálica de ciertas rutas y su tiempo de surgimiento.

Con ayuda de la clasificación de módulos de metabolismo energético de la base de datos KEGG, se realizó la anotación de las metaloproteínas encontradas en DA (Figura 6.6). Resalta la abundancia de metaloproteínas para las rutas de biciclo 3-hidroxipropionato, respiración aeróbica (citocromo c oxidasa), ciclo del citrato reductivo y ciclo de Calvin, particularmente con la distinguida presencia de metaloproteínas de Co. Así mismo, el Fe se presenta en mayor o menor proporción en las diversas rutas metabólicas, sugiriendo su versatilidad catalítica. Los distintos tipos de metanogénesis muestran resultados consistentes en cuanto a la presencia de Ni y Fe (Sección 2.1), en conjunto con la presencia de W/Mo. La reducción disimilatoria de sulfato presenta en su mayoría metaloproteínas de Co. Por otra parte, tanto la desnitrificación como la respiración aeróbica (citocromo c oxidasa) presentan en su mayoría genes de cuproproteínas, que contrasta con la ausencia de cobre en rutas metabólicas que no utilizan oxígeno molecular. Se observa adicionalmente que la fijación de nitrógeno se presenta a través de nitrogenasas de Mo-Fe (MpP, ver Figura A5: Anexos) así como nitrogenasas de solo Fe (Sección 2.1.6). Finalmente, es notable la deficiencia de metaloproteínas en rutas como nitrificación, oxidación de metano, entre otras.

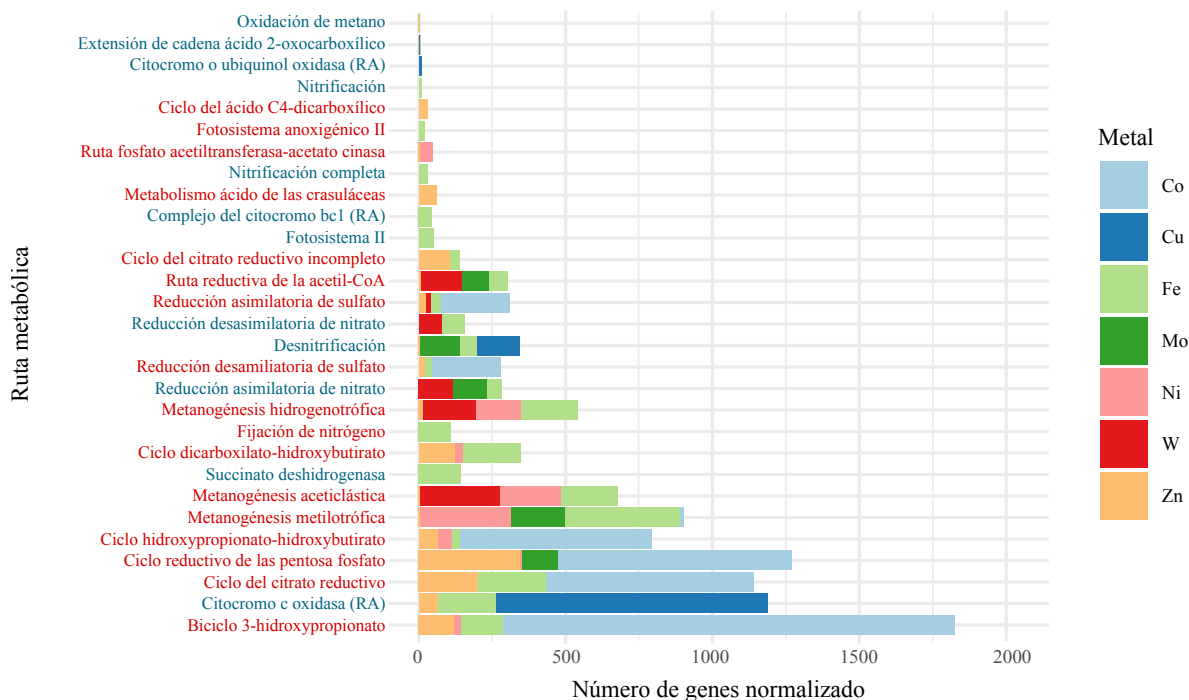


Figura 6.6: Distribución de metaloproteínas en rutas metabólicas energéticas presentes en Domos del Arqueano. Los metabolismos están designados según los módulos metabólicos de KEGG. Los nombres en azul muestran rutas metabólicas dependientes de O_2 , mientras que los nombres en rojo muestran rutas independientes de O_2 . RA=respiración aeróbica

Algunas de las metaloproteínas pertenecientes a rutas metabólicas presentadas con anterioridad fueron mapeadas con clases taxonómicas presentes en el sitio (Figura 6.7). Consistentemente, los metabolismos de metanogénesis y fotosíntesis oxigénica están restringidos a los Euryarchaeota y Cyanobacteria respectivamente; la fotosíntesis anoxigénica se encuentra en miembros de Protobacteria, Chlorobi, Chloroflexi, Acidobacteria y la clase Halobacteria (Archaea). Esta última asociada a un sistema fototrófico basado en el pigmento bacteriorodopsina (Lake et al. 1985). Las metaloproteínas asociadas a respiración aeróbica se distribuyen extensamente en las distintas clases, a diferencia de procesos como nitrificación, del cual no se encuentran muchas metaloproteínas asociadas. El proceso de desnitrificación se encuentra mayoritariamente en linajes que emergen posterior al Arqueano. No se observa un claro patrón en un aumento de diversidad de iones metálicos en función del tiempo, sin embargo, es muy notable la presencia del Fe y Zn para todas las rutas. Tanto el W como Mo son metales empleados en un menor número de rutas metabólicas para las distintas clases. La transferencia horizontal de genes de metaloproteínas es un factor a explorar para los distintos linajes presentados.

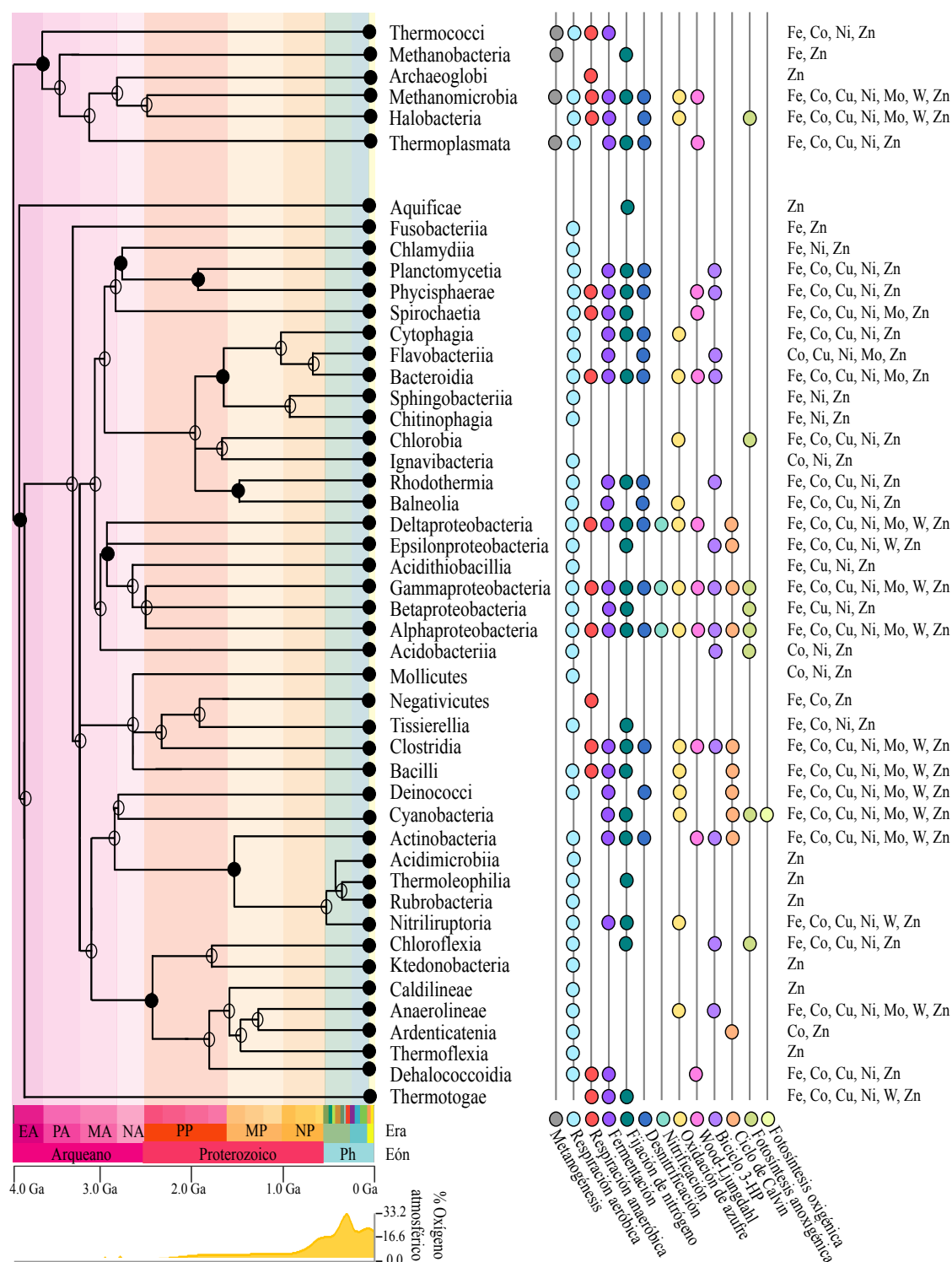


Figura 6.7: Metales traza utilizados en rutas metabólicas energéticas para distintas clases procariontes. A la izquierda se muestra un árbol de la vida en conjunto con una escala del tiempo geológico y la oxigenación de la atmósfera a lo largo del tiempo. a la derecha se muestran metabolismos asociados a dichas clases y los distintos metales empleados en ellos. 3-HP=3-Hidroxipropionato

Capítulo 7

Discusión y Perspectivas

7.1. Empobrecimiento de Cobre y su Impacto en la Biogeoquímica Local

Como fue mostrado previamente, de los metales estudiados, el Cu presenta el menor número de genes de metaloproteínas. La predominancia de metaloproteínas de Cu en rutas metabólicas aeróbicas tal como desnitrificación y en la respiración (citocromo c oxidasa y citocromo o ubiquinol oxidasa) reflejan la importancia que este metal tiene en rutas metabólicas aeróbicas. De hecho, el Cu es crucial para la oxidación aeróbica de metano, oxidación aeróbica de amoníaco y nitrificación. Esto puede observarse claramente en la ubicuidad de este ion en la metano monooxigenasa particulada, la amonio monooxigenasa, y la nitrito reductasa (Glass y Orphan, 2012). La ausencia de estas cuproproteínas clave en los metabolismos de oxidación de metano, amoníaco y nitrificación da paso a preguntarse qué impacto tiene su ausencia en los ciclos biogeoquímicos tanto de C como de N a nivel local.

La nitrificación, un proceso con alta dependencia de oxígeno, es capaz de proceder a muy bajas concentraciones de O_2 (10 nM) (Bristow et al. 2016). No obstante, los requerimientos de Cu para la transformación de amoníaco a nitrito, el primer paso en la nitrificación (Stüeken, Kipp et al. 2016), sugieren otros mecanismos para la producción de nitrito y nitrato, pues la desnitrificación pareciera ser un potencial proceso presente en DA. Abióticamente, se ha propuesto mecanismos tales como rayos para fijación de nitrógeno en especies oxidadas (tal como NO , NO_2^- , NO_3^- , N_2O) (Navarro-González et al. 2001), sin embargo, es posible que este aporte no sea muy significativo en la biósfera tanto moderna como antigua. Adicionalmente, la fotoquímica puede jugar un papel importante (Doane, 2017). Otras rutas biológicas alternativas tal como fotoammox o feammox (Broda, 1977; Fischer y Knoll, 2009) han sido poco caracterizadas; aún se desconoce su participación en ecosistemas en conjunto con otras posibles rutas biológicas de nitrificación. La oxidación anaeróbica de amoníaco (anammox) pareciera una alternativa ante la ausencia de enzimas en su contraparte aeróbica, sin embargo, aún se desconoce la naturaleza de los cofactores involucrados (Cu o bien Fe); es posible que la misma limitación de Cu restringiera tanto las rutas aeróbicas y anaeróbicas de oxidación de amoníaco (Stüeken, Kipp et al. 2016).

La oxidación de metano en condiciones aeróbicas se ha mostrado presente incluso en condiciones de escasez de cobre (Guggenheim et al. 2019). Sin embargo, las comunidades de DA no parecen expresar genes de metano monooxigenasa particulada. Otros mecanismos de oxidación anaeróbica de metano podrían ser viables, incluyendo una oxidación dependiente de Fe^{3+} (Roland et al. 2021), aunque dichos mecanismos no fueron detectados en el presente trabajo. Es posible que en este sitio el metano no sea reciclado, por lo que haya un flujo negativo de C.

7.2. Las Comunidades Microbianas Reflejan los Requerimientos Metálicos del Pre-Neoproterozoico

El uso de metales de los tapetes de Domo del Arqueano permiten especular sobre la Tierra en un pasado, donde la biodisponibilidad de metales seleccionó el uso de los mismos (Sección 2.3). La notable escasez de genes de cobre, particularmente para las rutas metabólicas de oxidación aeróbica de metano, oxidación aeróbica de amoníaco y nitrificación reflejan posiblemente un momento en la historia de la Tierra en el que el reservorio de Cu era limitado y la vida aún no exploraba/potenciaba dichos metabolismos (Sección 2.3).

Los registros isotópicos de biofirmas indican que la metanogénesis ya era abundante hace 3.45. Subsecuentemente, mediante fraccionamiento isotópico en valores del $\delta^{13}\text{C}$, la evolución de la fotosíntesis oxigénica tuvo lugar hace 2.8 Ga o antes. Así, se sugiere que la metanotrofia (oxidación aeróbica de metano) tuvo origen entre los 2.9 a 2.7 Ga (Moore et al. 2017). Por otra parte, valores de fraccionamiento isotópico en $\delta^{15}\text{N}$ en kerógeno y lutitas ricas en orgánicos de 2.67 y 2.5 Ga respectivamente muestran acoplamiento de nitrificación/desnitrificación (Moore et al. 2017). Es evidente que la presencia de dichos metabolismo precede al GOE y esto pareciera inusual debido al requerimiento indispensable de oxígeno tanto en la nitrificación/desnitrificación como en la oxidación. No obstante, el registro de biofirmas indica la presencia de ligeras concentraciones de oxígeno (Moore et al. 2017), posiblemente asociadas con exhalaciones locales debido a la actividad por cianobacterias. Alrededor del mismo tiempo (2.72 a 2.45 Ga) se ha registrado un posible origen de la respiración aeróbica (Moore et al. 2017), aunque este es discutido.

Como fue descrito en secciones anteriores, el Cu es un metal indispensable para rutas metabólicas aeróbicas (Secciones 2.1.5, 2.3 y 7.1). Con la oxigenación global expandida durante el GOE y particularmente el NOE, el reservorio de Cu en el océano aumentaría debido al intemperismo oxidativo de sulfuros (Sección 1.2.6). Subsecuentemente, la utilización de Cu en metaloproteínas incrementaría, potenciando rutas metabólicas que involucran el uso de oxígeno molecular; esto no es casualidad alguna, puesto que el Cu es un ion altamente estable al acomplejarse con ligandos de azufre y nitrógeno además de ser una fuente de electrones con altos potenciales redox, capaz de utilizar el poder del oxígeno como sumidero de electrones (Moore et al. 2017). Si bien las reconstrucciones de Cu son discutidas, estudios recientes sobre el paleo-metaloma muestran un uso disminuido en Cu previo al GOE (Hickman-Lewis et al. 2020). A nivel local, aunque es posible que exhalaciones de oxígeno impulsen el intemperismo oxidativo de sulfuros, el Cu es un metal traza altamente afín a H_2S , siendo posible su precipitación de la columna de agua incluso con bajas concentraciones de oxígeno.

De esta manera, los resultados sugieren que Domos del Arqueano representa a una comunidad con limitado uso de Cu y, en consecuencia, con un potencial metabólico limitado en cuanto a metabolismos aerobios. Domos del Arqueano posiblemente es el reflejo de una biósfera antigua que precede la dominación de comunidades aeróbicas alrededor de los 2.7 a 2.5 Ga (Eigenbrode y Freeman, 2006), previo a la oxigenación completa del sistema océano-atmósfera durante el Neoproterozoico. Esto es consistente con la edad de surgimiento de metabolismos en los que el cobre es un metal indispensable.

7.3. ¿Vestigios Hidrotermales?: el uso de Tungsteno, Níquel y Cobalto

En ambientes hidrotermales (particularmente submarinos) y, a gran escala, en un océano Arqueano temprano, el flujo de Fe, Ni, Co y W llegaría a concentraciones biodisponibles. Así, se ha hipotetizado que el metametaloma de ambientes del Arqueano temprano hacían uso de estos metales, mientras que iones metálicos como Cu, Mo y Zn serían empleados posterior a la oxigenación del sistema océano atmósfera (Sección 2.3). Las novedosas mediciones paleometalómicas de pedernal asociado a ambientes hidrotermales (*cca.* 3.33 Ga) muestra ser consistente con el uso de metales hipotetizado para el Paleoarqueano, lo que según Hickman-Lewis et al. (2020), representan consorcios litotróficos u organotróficos capaces del ciclado de nitrógeno y metano. Particularmente, el empleo de estos metales es consistente con algunas de las rutas metabólicas de mayor antigüedad tal como lo es la metanogénesis (empleo de Fe y Ni) (Hickman-Lewis et al. 2020).

Es muy notable la alta abundancia de genes proteínicos pertenecientes a la familia aldehído ferredoxina oxidorreductasa en DA. La mayoría de estas proteínas de W se han caracterizado como sensibles al oxígeno y pertenecientes a anaerobios; muchas de estas aisladas de arqueas hipertermofílicas así como en miembros de Firmicutes. Estas enzimas generalmente funcionan en altas temperaturas y participan en variedad de rutas asociadas al metabolismo de carbohidratos (Roy et al. 2006). Según Williams (1997), el uso de W es un claro reflejo de vestigios hidrotermales en organismos primitivos, e incluso, con un rol fundamental en la abiogenesis (Schoepp-Cothenet et al. 2012). La distinción refinada respecto al uso de Mo o W permitirá soportar lo hipotetizado así como abrir la posibilidad de una exploración a detalle del uso de W en este sitio.

7.4. Enriquecimientos de Genes asociados a Molibdeno previo al GOE

Dentro de las reconstrucciones paleoceanográficas, el Mo es un metal traza ampliamente utilizado por ser un indicador redox sensible. Así, la historia de biodisponibilidad de Mo en el registro sedimentario ha sido caracterizada a profundidad (ver Sección 1.2.2) y ha sido categorizado como un ejemplo clásico en cuanto a la utilización biológica en función de cambios en la concentración paleomarina (Anbar y Knoll, 2002; Kacar et al. 2021), con un océano arqueano empobrecido en Mo y un incremento sustancial de este posterior al

GOE, permitiendo una reasignación de metales e innovación de molibdo proteínas. Bajo este esquema, es natural cuestionarse cómo encaja Domos del Arqueano con una abundancia alta de genes de molibdo proteínas en un ambiente que posiblemente refleja los requerimientos metálicos previo al GOE.

Las mediciones paleo-metalómicas de (Hickman-Lewis et al. 2020) sugieren un uso incrementado en Mo posterior al GOE. Sin embargo, durante la transición de comunidades anaeróbicas a aeróbicas (*cca.* 2.75-2.5 Ga), se registran incrementos de Mo y H₂S en conjunto con la oxigenación de ambientes marinos someros (Stüeken, Kipp et al. 2016); así, ante ligeros incrementos en la concentración de oxígeno, el intemperismo oxidativo es capaz de aportar iones de Mo que considerablemente generan enriquecimientos locales. Adicionalmente, se ha mostrado que tapetes microbianos contemporáneos hipersalinos poseen un alto potencial en generar enriquecimientos locales de Mo por múltiples causas: evaporación de agua y subsecuente acumulación celular debido a fijación de nitrógeno, y la asociación de Mo con óxidos de Mn en regiones óxicas del tapete para su subsecuente disolución debido a H₂S generado por la reducción de sulfato (Valdivieso-Ojeda et al. 2014).

Estudios filogenéticos y de fraccionamiento isotópico soportan un uso abundante de Mo desde el Mesoarqueano. Con el origen de la Mo-Fe nitrogenasa entre los 3.2 a 2.9 Ga (Moore et al. 2017), estas enzimas preceden a las nitrogenasas de vanadio y solo Fe (Stüeken, Kipp et al. 2016; Moore et al. 2017). Esto es consistente con los fraccionamientos isotópicos del $\delta^{15}\text{N}$, cuya fuente de fraccionamiento apunta hacia las nitrogenasas Mo-Fe a diferencia de las demás nitrogenasas que generan fraccionamientos con valores mayores (Stüeken, Kipp et al. 2016).

7.5. Reimaginando Domos del Arqueano

Domos del Arqueano es un análogo a un tapete microbiano del Arqueano tardío (2.7 a 2.5 Ga) (Figura 7.1), previo al GOE, bajo un régimen de exhalación de oxígeno o bien bajo el dominio de aguas superficiales oceánicas oxigenadas (Eigenbrode y Freeman, 2006; Kendall et al. 2015; Stüeken, Buick et al. 2015). Este tapete microbiano presenta MISS características de tapetes en ambientes intermareales a supramareales (Bouougri y Porada, 2012; Homann et al. 2015; Lakhdar et al. 2021); así, podemos visualizar a Domos del Arqueano ubicado en las apenas crecientes márgenes costeras que abrirían nicho a tapetes microbianos y microbialitas cuya proliferación en la Tierra no es hasta el Proterozoico (Stanley y Luczaj, 2015).

Se podría especular que, durante este periodo, la producción local de oxígeno favorecería al intemperismo oxidativo en el tapete microbiano, mientras la atmósfera a escala planetaria permanecería anóxica (Stüeken, Kipp et al. 2016). A nivel local, las concentraciones de Mo se encuentran relativamente altas en comparación al aún anóxico mar profundo, mientras que una parte apreciable de iones de Cu aún están complejados con sulfuros y otros quelantes que inducen su precipitación de la columna de agua. Otros metales traza como el Fe, Ni, Co y W muestran cambios importantes en su biodisponibilidad respecto al Arqueano temprano (Robbins et al. 2016); muy posiblemente, un decremento (en mayor o menor grado) en la concentración de estos en la columna de agua debido al cambio de estado redox acuático.

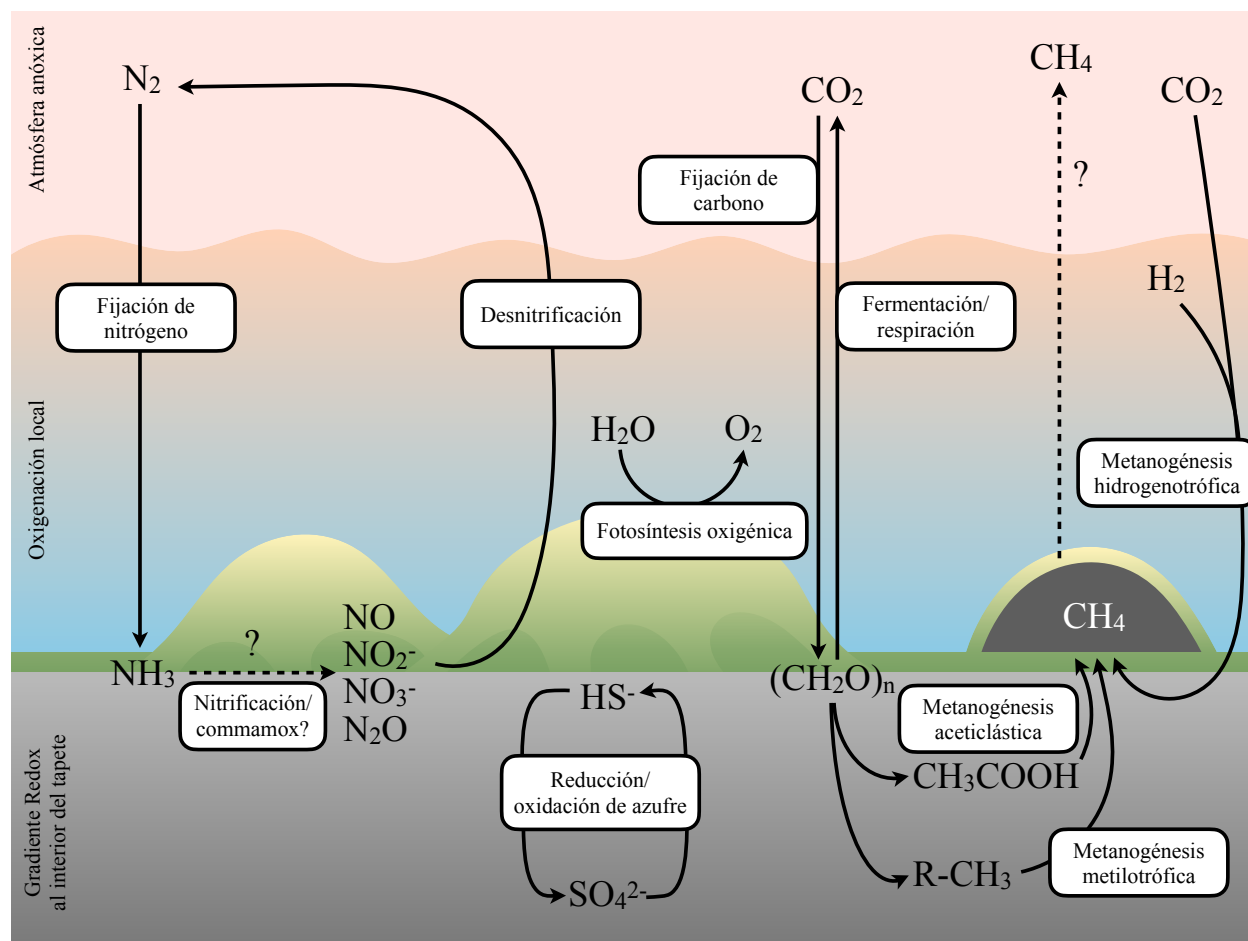


Figura 7.1: Domos del Arqueano como un sitio análogo al Arqueano tardío. La colonización por parte de las cianobacterias genera exhalaciones de oxígeno a nivel local mientras la atmósfera y el interior del tapete permanecen anóxicos. El incremento de Mo y mínimamente en Cu, permiten explorar/potenciar metabolismos que contribuyen al ciclado aeróbico de elementos. En la figura se muestra una simplificación de los posibles procesos presentes en dichas comunidades.

Las comunidades se encuentran en un momento de transición, de un régimen anóxico a una dinámica donde el oxígeno juega un papel central. Las cianobacterias, agentes causales de la producción local de oxígeno, son los principales fotótrofos del sitio (Nisbet y Fowler, 1999), desplazando nichos antes ocupados por distintos grupos con potencial de realizar fotosíntesis anoxigénica tal como fotótrofos de Proteobacteria, Chloroflexi y Chlorobi. Posiblemente, este momento en la historia del planeta nos muestra el encuentro entre las cianobacterias y las halobacterias (Haloarchaea), fotótrofos abundantes en DA de los cuales se hipotetiza tuvieron un rol relevante en la fotosíntesis temprana (DasSarma y Schwieterman, 2021).

En cuanto a las rutas metabólicas del sitio, el flujo de nutrientes anuncia cambios sustanciales en su dinámica (Figura 7.1). La introducción del oxígeno y el aumento de Mo y Cu permiten la potenciación/exploración de metabolismos cruciales en los ciclos biogeoquímicos contemporáneos. El Mo durante este momento supera las concentraciones mínimas de bio-disponibilidad y, por tanto, la fijación de nitrógeno es un proceso más eficiente y mayormente

distribuido en todo el tapete. El incremento en la disponibilidad de Cu ha permitido que se exploren novedosas rutas tales como desnitrificación y la respiración aeróbica, traducido en la máxima expresión de eficiencia metabólica (Moore et al. 2017). La oxidación de amoníaco es un proceso que aún no se origina en los tapetes sino hasta posiblemente posterior al Neoproterozoico (Ward et al. 2021). El ciclo del nitrógeno moderno comienza a ensamblarse a partir de un “vector” de nitrógeno: la transformación de nitrógeno molecular en amoníaco. Por otro lado, el ciclo del carbono carece de la oxidación de metano aeróbica (metanotrofía), generando así un flujo negativo del sistema en forma de metano; el tamaño que presentan estos domos posiblemente sea debido a la gran acumulación de metano previo al colapso de los mismos por sobrepresurización.

7.6. Perspectivas del Metametaloma en Domos del Arqueano

Adicional a las nitrogenasas de Mo, posiblemente, las nitrogenasas de solo Fe o bien las nitrogenasas de V (no exploradas en este trabajo) jueguen un papel relevante en las interacciones bioinorgánicas, tal como la producción de metano y amoníaco y su influencia en el desarrollo de comunidades microbianas (Harwood, 2020).

Es probable que el impacto de la limitación biológica en genes de Cu se extienda más allá del metabolismo energético. Explorar a detalle la participación del Cu en otras rutas y procesos celulares permitirá tener un panorama más completo de este sistema. Otro aspecto relevante a estudiar son las diferencias entre la abundancia de genes de Fe respecto a los demás grupos; estudiar la dinámica del ciclo de Fe puede revelar patrones de interés que permitan soportar la hipótesis presentada.

En general, explorar la química de elementos traza del sitio permitirá correlacionar la abundancia de genes de potenciales metaloproteínas con la concentración de iones metálicos en el ambiente. Además, las crecientes bases de datos así como los avances en la predicción de metaloproteínas podrán otorgar un estudio bioinformático más refinado, particularmente, en metaloproteínas cuyos metales presentan propiedades fisicoquímicas muy similares (e.g. W y Mo).

7.7. El Metametaloma: Estudiando a las Comunidades bajo una Nueva Perspectiva

Durante los últimos años, la importancia que tienen los iones metálicos en los sistemas biológicos ha ganado atención desde múltiples perspectivas; sin embargo, contados son los estudios que exploran el uso de metales más allá del nivel orgánico. La diversidad funcional descrita en Domos del Arqueano revela el abanico de procesos en los que los metales se ven impregnados; desde el procesamiento de la información genética, la catálisis de múltiples procesos metabólicos hasta mecanismos de transporte y homeostasis.

La caracterización metametalómica de un sitio posiblemente funja como una estrategia no-

vedosa hacia la comprensión y diferenciación de comunidades microbianas. Anteriormente, se han reportado genes de óxido-reducción que fungen como indicadores de distintos biomas microbianos (Ramírez-Flandes et al. 2019). Bajo el entendido que una porción abundante de oxidoreductasas son metaloproteínas, es posible que a estas diferencias entre comunidades les subyace una componente metalómica, ligado a la bioenergética ambiental y al ciclado de elementos local. Así, la metametalómica es una propuesta con un valioso potencial dentro del área de la ecología microbiana; esta creciente rama de las “ómicas” es una convergencia entre las distintas técnicas ya empleadas en el área: la metagenómica, metaproteómica, métodos dependientes de cultivo y un especial énfasis en la biogeoquímica. La implementación de dichas técnicas con un enfoque en metametalómica permitirá a futuro refinar las observaciones presentadas aquí.

7.8. Metales Traza como Posible Biofirma: Implicaciones Astrobiológicas

Gran parte de la búsqueda de vida en otros cuerpos planetarios se ha enfocado en la búsqueda de sitios cuya química pueda producir vida como la conocemos. Desde el famoso eslogan de la NASA *follow the water* y su evolución a *follow the elements*, la comunidad científica reconoce el papel de buscar vida mediante la naturaleza química de la misma. Sin embargo, nuevas perspectivas respecto a la sobreestimación de los CHONPS, tanto en la búsqueda de biofirmas extraterrestres así como *proxy* para revelar cambios ambientales en la selección natural de elementos. En palabras de Kacar et al. (2021), “los elementos CHONPS... posiblemente sean demasiado esenciales”. Posiblemente, la búsqueda de metales traza en sistemas exoplanetarios así como en muestras con potencial biogénico ayude a constreñir las incertidumbres de presencia de vida en dichos escenarios. Tanto los estudios presentados por Hickman-Lewis et al. (2020), como los resultados presentados en este trabajo sugieren que posiblemente existan firmas metalómicas de comunidades en distintas configuraciones geológicas/ambientales. La exploración de dichas composiciones metametalómicas en comunidades presentes y paleo-metalomas permitirán explorar el potencial de la metalómica como herramienta astrobiológica.

Referencias

- Anbar, A. D. y A. H. Knoll (2002). «Proterozoic ocean chemistry and evolution: A bioinorganic bridge?» En: *Science*. ISSN: 00368075. DOI: 10.1126/science.1069651.
- Bouougri, El Hafid y Hubertus Porada (2012). «Wind-induced mat deformation structures in recent tidal flats and sabkhas of SE-Tunisia and their significance for environmental interpretation of fossil structures». En: *Sedimentary Geology* 263-264, págs. 56-66. ISSN: 0037-0738. DOI: 10.1016/J.SEDGEO.2011.12.011.
- Bristow, Laura A., Tage Dalsgaard, Laura Tiano, Daniel B. Mills, Anthony D. Bertagnolli, Jody J. Wright, Steven J. Hallam, Osvaldo Ulloa, Donald E. Canfield, Niels Peter Revsbech y Bo Thamdrup (2016). «Ammonium and nitrite oxidation at nanomolar oxygen concentrations in oxygen minimum zone waters». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113.38, págs. 10601-10606. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/PNAS.1600359113. URL: <https://www.pnas.org/content/113/38/10601><https://www.pnas.org/content/113/38/10601.abstract>.
- Broda, E (1977). «Two kinds of lithotrophs missing in nature». En: *Zeitschrift fur allgemeine Mikrobiologie* 17.6, págs. 491-493. ISSN: 0044-2208. DOI: 10.1002/JOBM.3630170611. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/930125/>.
- Chaturvedi, Umesh C. y Richa Shrivastava (2005). «Interaction of viral proteins with metal ions: Role in maintaining the structure and functions of viruses». En: *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 43.2, págs. 105-114. ISSN: 09288244. DOI: 10.1016/j.femsim.2004.11.004. URL: <https://pmc/articles/PMC7110337/><https://pmc/articles/PMC7110337/?report=abstract><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7110337/>.
- DasSarma, Shiladitya y Edward W. Schwieterman (2021). «Early evolution of purple retinal pigments on Earth and implications for exoplanet biosignatures». En: *International Journal of Astrobiology* 20.3, págs. 241-250. ISSN: 1473-5504. DOI: 10.1017/S1473550418000423. URL: <https://www-cambridge-org.pbidi.unam.mx:2443/core/journals/international-journal-of-astrobiology/article/early-evolution-of-purple-retinal-pigments-on-earth-and-implications-for-exoplanet-biosignatures/63A1AD8AF544BEEF4C6D4A2D53130327>.
- Doane, Timothy A. (2017). «The Abiotic Nitrogen Cycle». En: *ACS Earth and Space Chemistry* 1.7, págs. 411-421. DOI: 10.1021/ACSEARTHSPACECHEM.7B00059. URL: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsearthspacechem.7b00059>.
- Dupont, Christopher L., Song Yang, Brian Palenik y Philip E. Bourne (2006). «Modern proteomes contain putative imprints of ancient shifts in trace metal geochemistry». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. ISSN: 00278424. DOI: 10.1073/pnas.0605798103.
- Eigenbrode, Jennifer L. y Katherine H. Freeman (2006). «Late Archean rise of aerobic microbial ecosystems». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103.43, págs. 15759-15764. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/PNAS.0607540103. URL: <https://www.pnas.org/content/103/43/15759><https://www.pnas.org/content/103/43/15759.abstract>.
- Espinosa-Asuar, Laura, Camila Monroy, David Madrigal-Trejo, Marisol Navarro, Jazmín Sánchez, Jhoseline Muñoz, Juan Diego Villar, Julián Cifuentes, Diego A Esquivel-Hernández, Mariette Viladomat, Ana Elena, Patricia Velez, Mario Figueroa, Santiago Ramírez, Jaime Gasca-Pineda, Luis E Eguiarte y Valeria Souza (2021). «Ecological relevance of abundant and rare taxa in a high-diverse elastic hypersaline microbial mat, using a small-scale sampling». En: *bioRxiv*,

- pág. 2021.03.04.433984. DOI: 10.1101/2021.03.04.433984. URL: <https://doi.org/10.1101/2021.03.04.433984>.
- Fischer, Woodward W. y Andrew H. Knoll (2009). «An iron shuttle for deepwater silica in Late Archean and early Paleoproterozoic iron formationOrigin of Late Archean and Early Paleoproterozoic iron formation». En: *GSA Bulletin* 121.1-2, págs. 222-235. ISSN: 0016-7606. DOI: 10.1130/B26328.1.
- Glass, Jennifer B. y Victoria J. Orphan (2012). «Trace metal requirements for microbial enzymes involved in the production and consumption of methane and nitrous oxide». En: *Frontiers in Microbiology* 3.FEB, pág. 61. ISSN: 1664302X. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00061. URL: www.frontiersin.org.
- Guggenheim, Carole, Andreas Brand, Helmut Bürgmann, Laura Sigg y Bernhard Wehrli (2019). «Aerobic methane oxidation under copper scarcity in a stratified lake». En: *Scientific Reports* 2019 9:1 9.1, págs. 1-11. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-019-40642-2. URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-40642-2>.
- Harwood, Caroline S. (2020). «Iron-Only and Vanadium Nitrogenases: Fail-Safe Enzymes or Something More?». En: <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-022620-014338> 74, págs. 247-266. DOI: 10.1146/ANNUREV-MICRO-022620-014338. URL: <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-micro-022620-014338>.
- Hickman-Lewis, Keyron, Barbara Cavalazzi, Stéphanie Sorieul, Pascale Gautret, Frédéric Foucher, Martin J Whitehouse, Heejin Jeon, Thomas Georgelin, Charles S Cockell y Frances Westall (2020). «Metallomics in deep time and the influence of ocean chemistry on the metabolic landscapes of Earth's earliest ecosystems». En: DOI: 10.1038/s41598-020-61774-w.
- Homann, Martin, Christoph Heubeck, Alessandro Airo y Michael M. Tice (2015). «Morphological adaptations of 3.22 Ga-old tufted microbial mats to Archean coastal habitats (Moodies Group, Barberton Greenstone Belt, South Africa)». En: *Precambrian Research* 266, págs. 47-64. ISSN: 03019268. DOI: 10.1016/j.precamres.2015.04.018.
- Kacar, Betul, Amanda K. Garcia y Ariel D. Anbar (2021). «Evolutionary History of Bioessential Elements Can Guide the Search for Life in the Universe». En: *ChemBioChem*. ISSN: 14397633. DOI: 10.1002/cbic.202000500.
- Kendall, Brian, Robert A. Creaser, Christopher T. Reinhard, Timothy W. Lyons y Ariel D. Anbar (2015). «Transient episodes of mild environmental oxygenation and oxidative continental weathering during the late Archean». En: *Science Advances* 1.10, e1500777. ISSN: 2375-2548. DOI: 10.1126/SCIADV.1500777. URL: <https://advances.sciencemag.org/content/1/10/e1500777><https://advances.sciencemag.org/content/1/10/e1500777.abstract>.
- Lake, J. A., M. W. Clark, E. Henderson, S. P. Fay, M. Oakes, A. Scheinman, J. P. Thornber y R. A. Mah (1985). «Eubacteria, halobacteria, and the origin of photosynthesis: The photocytes». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82.11, págs. 3716-3720. ISSN: 00278424. DOI: 10.1073/pnas.82.11.3716. URL: [/pmc/articles/PMC397858/?report=abstract](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC397858/?report=abstract)<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC397858/>.
- Lakhdar, Rached, Mohamed Soussi y Rachida Talbi (2021). «Modern and Holocene microbial mats and associated microbially induced sedimentary structures (MISS) on the southeastern coast of Tunisia (Mediterranean Sea)». En: *Quaternary Research* 100, págs. 77-97. ISSN: 0033-5894. DOI:

- 10.1017/QUA.2020.91. URL: <https://www-cambridge-org.pbidi.unam.mx:2443/core/journals/quaternary-research/article/modern-and-holocene-microbial-mats-and-associated-microbially-induced-sedimentary-structures-miss-on-the-southeastern-coast-of-tunisia-mediterranean-sea/F40527FC87BDBF79087E75E6A02748DC>.
- Medina-Chávez, Nahui Olin, Susana De la Torre-Zavala, Alejandra E. Arreola-Triana y Valeria Souza (2020). «Cuatro Ciénegas as an Archaean Astrobiology Park». En: Springer, Cham, págs. 219-228. DOI: 10.1007/978-3-030-46087-7_{_}11. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-46087-7_11.
- Medina-Chávez, Nahui Olin, Mariette Viladomat Jasso, Gabriela Olmedo Álvarez, Luis Eguiarte, Valeria Souza y Susana De la Torre-Zavala (2019). «Diversity of archaea domain in Cuatro Ciénegas Basin: Archaean domes». En: *bioRxiv*, pág. 766709. DOI: 10.1101/766709. URL: <https://doi.org/10.1101/766709>.
- Moore, Eli K., Benjamin I. Jelen, Donato Giovannelli, Hagai Raanan y Paul G. Falkowski (2017). «Metal availability and the expanding network of microbial metabolisms in the Archaean eon». En: *Nature Geoscience* 10.9, págs. 629-636. ISSN: 17520908. DOI: 10.1038/ngeo3006. URL: <https://www.nature.com/articles/ngeo3006>.
- Navarro-González, Rafael, Christopher P. McKay y Delphine Nna Mvondo (2001). «A possible nitrogen crisis for Archaean life due to reduced nitrogen fixation by lightning». En: *Nature* 412.6842, págs. 61-64. ISSN: 00280836. DOI: 10.1038/35083537. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11452304/>.
- Nisbet, E. G. y C. M. R. Fowler (1999). «Archaean metabolic evolution of microbial mats». En: *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 266.1436, pág. 2375. DOI: 10.1098/RSPB.1999.0934. URL: <https://pmc/articles/PMC1690475/?report=abstract%20https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1690475/>.
- Ramírez-Flandes, Salvador, Bernardo González y Osvaldo Ulloa (2019). «Redox traits characterize the organization of global microbial communities». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116.9, págs. 3630-3635. ISSN: 0027-8424. DOI: 10.1073/PNAS.1817554116. URL: <https://www.pnas.org/content/116/9/3630%20https://www.pnas.org/content/116/9/3630.abstract>.
- Robbins, L. J., Stefan V. Lalonde, Noah J. Planavsky, Camille A. Partin, Christopher T. Reinhard, Brian Kendall, Clint Scott, Dalton S. Hardisty, Benjamin C. Gill, Daniel S. Alessi, Christopher L. Dupont, Mak A. Saito, Sean A. Crowe, Simon W. Poulton, Andrey Bekker, Timothy W. Lyons y Kurt O. Konhauser (2016). «Trace elements at the intersection of marine biological and geochemical evolution». En: *Earth-Science Reviews*. ISSN: 00128252. DOI: 10.1016/j.earscirev.2016.10.013.
- Roland, Fleur A. E., Alberto V. Borges, François Darchambeau, Marc Llirós, Jean-Pierre Descy y Cédric Morana (2021). «The possible occurrence of iron-dependent anaerobic methane oxidation in an Archean Ocean analogue». En: *Scientific Reports* 2021 11:1 11.1, págs. 1-11. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-021-81210-x. URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-81210-x>.
- Roy, Roopali, Ish K Dhawan, Michael K Johnson, Douglas C Rees y Michael WW Adams (2006). «Aldehyde Ferredoxin Oxidoreductase». En: *Handbook of Metalloproteins*. DOI: 10.1002/0470028637.MET180. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/0470028637.met180>

- 20<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/0470028637.met180>%20<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/0470028637.met180>.
- Schoepp-Cothenet, Barbara, Robert Van Lis, Pascal Philippot, Axel Magalon, Michael J. Russell y Wolfgang Nitschke (2012). «The ineluctable requirement for the trans-iron elements molybdenum and/or tungsten in the origin of life». En: *Scientific Reports* 2.1, págs. 1-5. ISSN: 20452322. DOI: 10.1038/srep00263. URL: www.nature.com/scientificreports.
- Stanley, Steven M y John A Luczaj (2015). *Earth system history*. English. New York, NY: Freeman/Macmillan Higher Education.
- Stüeken, Eva E., Roger Buick y Ariel D. Anbar (2015). «Selenium isotopes support free O₂ in the latest Archean». En: *Geology* 43.3, págs. 259-262. ISSN: 0091-7613. DOI: 10.1130/G36218.1.
- Stüeken, Eva E., Michael A. Kipp, Matthew C. Koehler y Roger Buick (2016). «The evolution of Earth's biogeochemical nitrogen cycle». En: *Earth-Science Reviews* 160, págs. 220-239. ISSN: 0012-8252. DOI: 10.1016/J.EARSCIREV.2016.07.007.
- Valdivieso-Ojeda, Jacob Alberto, Miguel Angel Huerta-Díaz y Francisco Delgadillo-Hinojosa (2014). «High enrichment of molybdenum in hypersaline microbial mats of Guerrero Negro, Baja California Sur, Mexico». En: *Chemical Geology* 363, págs. 341-354. ISSN: 00092541. DOI: 10.1016/j.chemgeo.2013.11.021.
- Ward, L. M., D. T. Johnston y P. M. Shih (2021). «Phanerozoic radiation of ammonia oxidizing bacteria». En: *Scientific Reports* 2021 11:1 11.1, págs. 1-9. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-021-81718-2. URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-81718-2>.
- Williams, R. J.P. (1997). «The natural selection of the chemical elements». En: *Cellular and Molecular Life Sciences* 53.10, págs. 816-829. ISSN: 1420682X. DOI: 10.1007/s000180050102. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9432285/>.
- Zhang, Yan y Junge Zheng (2020). «Bioinformatics of metalloproteins and metalloproteomes». En: *Molecules*. ISSN: 14203049. DOI: 10.3390/molecules25153366.

Capítulo 8

Conclusiones Generales

Domos del Arqueano es un sitio que recapitula un momento en la historia de la Tierra. El empobrecimiento de genes de Cu, particularmente en rutas metabólicas aeróbicas, refleja la presencia de comunidades cuyo requerimiento de metales traza asemeja probablemente a comunidades previo a la oxigenación permanente del planeta y al aumento de las concentraciones de Cu en la columna de agua. La descripción metametalómica de este sitio rescata la relevancia de los iones metálicos en funciones moleculares y procesos celulares, así como su extensa distribución en los distintos linajes procariontes, abriendo una puerta a la investigación puntual y detallada de fenómenos y mecanismos poco explorados. Así, la introducción de la metametalómica como una herramienta ómica y astrobiológica deberá ser explorada a profundidad en otros sistemas terrestres. La expansión del reservorio de información en las bases de datos, así como los crecientes esfuerzos en la predicción de metaloproteínas permitirán un estudio bioinformático con mayor precisión, integrando un porcentaje mayor del metametaloma físico.

Anexos

Tabla A1: Medidas de tendencia central y de dispersión para las distribuciones de metaloproteínas en los metagenomas estudiados para cada metal. DE=Desviación estándar, IQR=Rango intercuartílico.

Métrica	Co	Cu	Fe	Mo	Ni	W	Zn
Media	37.38415	16.06183	21.78973	40.66682	35.36615	36.09085	39.00439
Mediana	37.15616	17.99507	23.04887	44.61634	33.55353	35.56931	37.18892
DE	7.205244	3.502203	3.532524	9.097121	7.970469	6.609497	9.103147
IQR	9.824325	4.188496	4.553965	10.633869	9.346510	8.020896	10.827348
Mínimo	27.48354	10.70138	15.66263	25.25399	24.59730	25.70099	28.18213
Máximo	46.79897	18.60541	25.23253	49.09481	46.60975	44.30433	52.46539

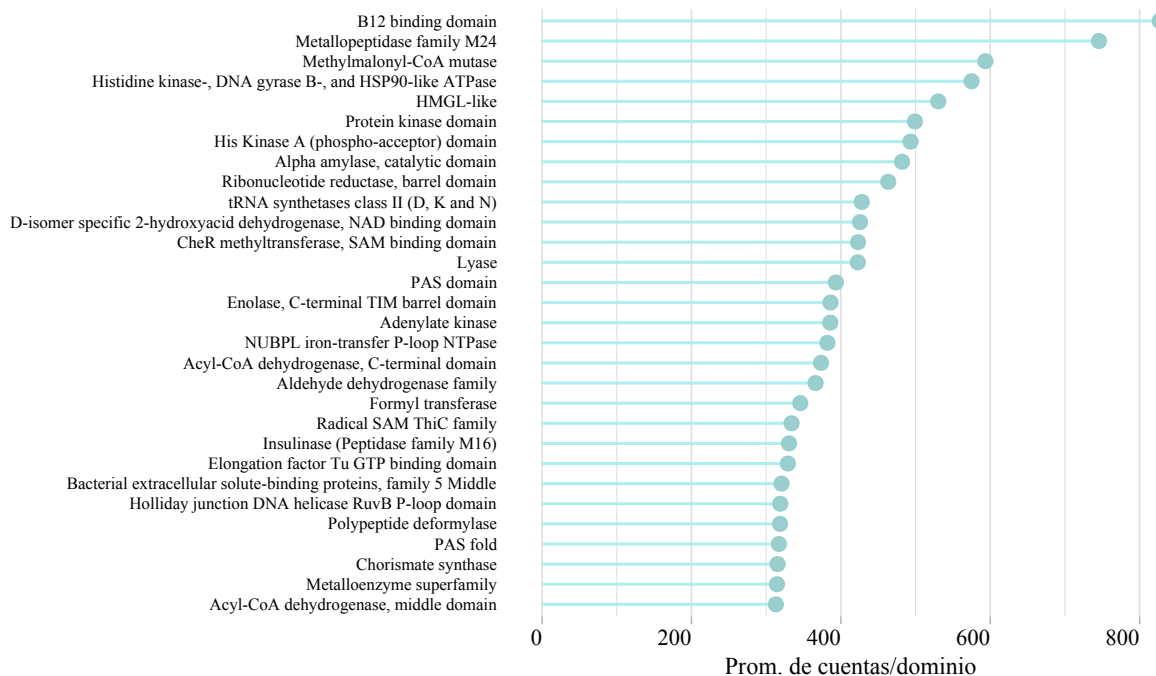
Tabla A2: *p-values* asociados a una prueba de normalidad de Shapiro-Wilks aplicada a las distribuciones de metaloproteínas por metal.

	Co	Cu	Fe	Mo	Ni	W	Zn
<i>p-value</i>	0.6564	0.0060	0.3584	0.1273	0.4744	0.8377	0.310811

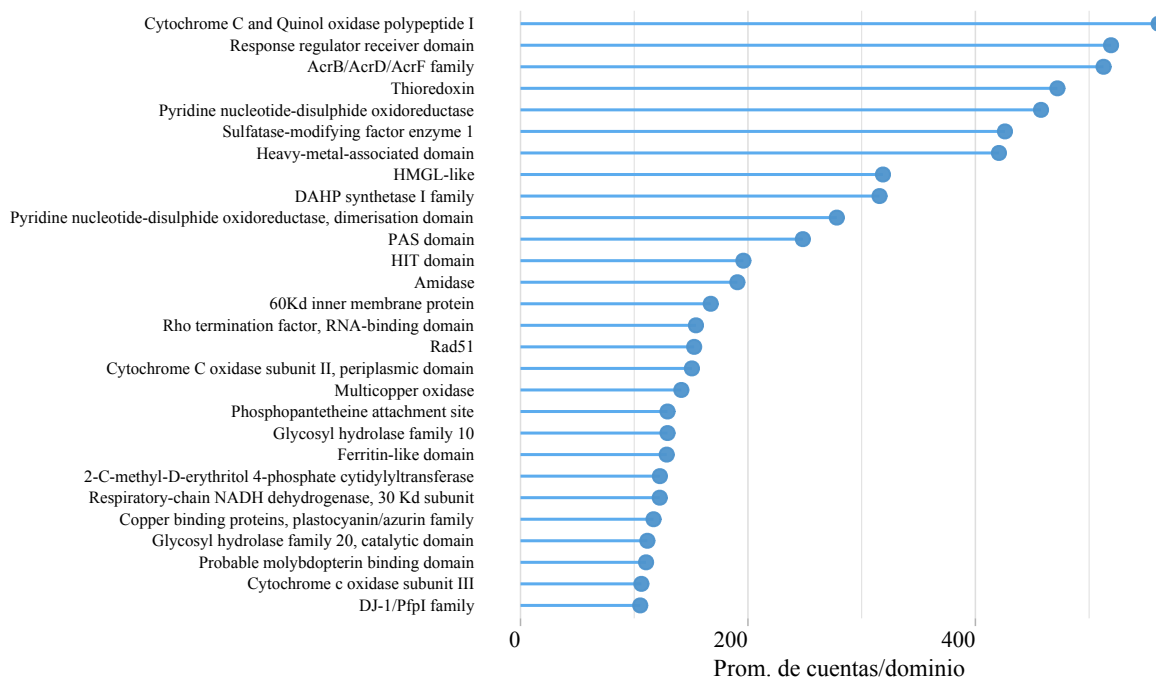
Tabla A3: *p-values* asociados a una prueba U de Mann-Whitney para muestras pareadas de metaloproteínas por metal.

	Co	Cu	Fe	Mo	Ni	W
Cu	0.0014	-	-	-	-	-
Fe	0.0014	0.0211	-	-	-	-
Mo	0.7021	0.0014	0.0014	-	-	-
Ni	0.7021	0.0014	0.0049	0.5130	-	-
W	0.8288	0.0014	0.0014	0.9015	0.5743	0.8895

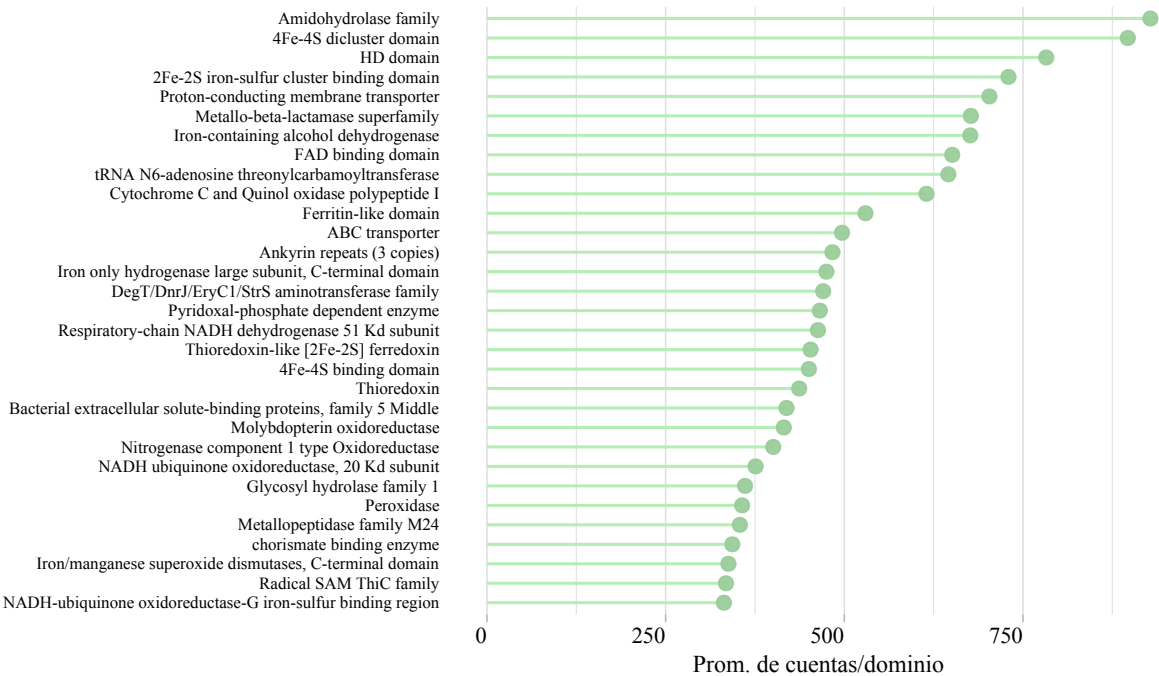
Dominios conservados de metaloproteínas de Co



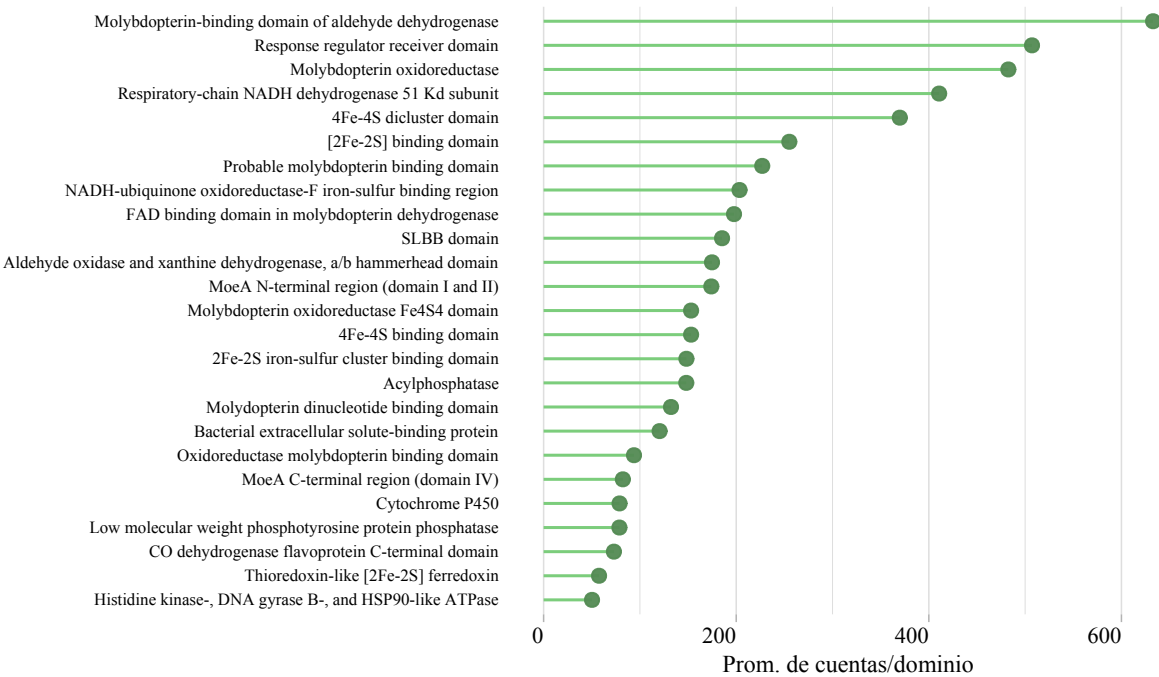
Dominios conservados de metaloproteínas de Cu



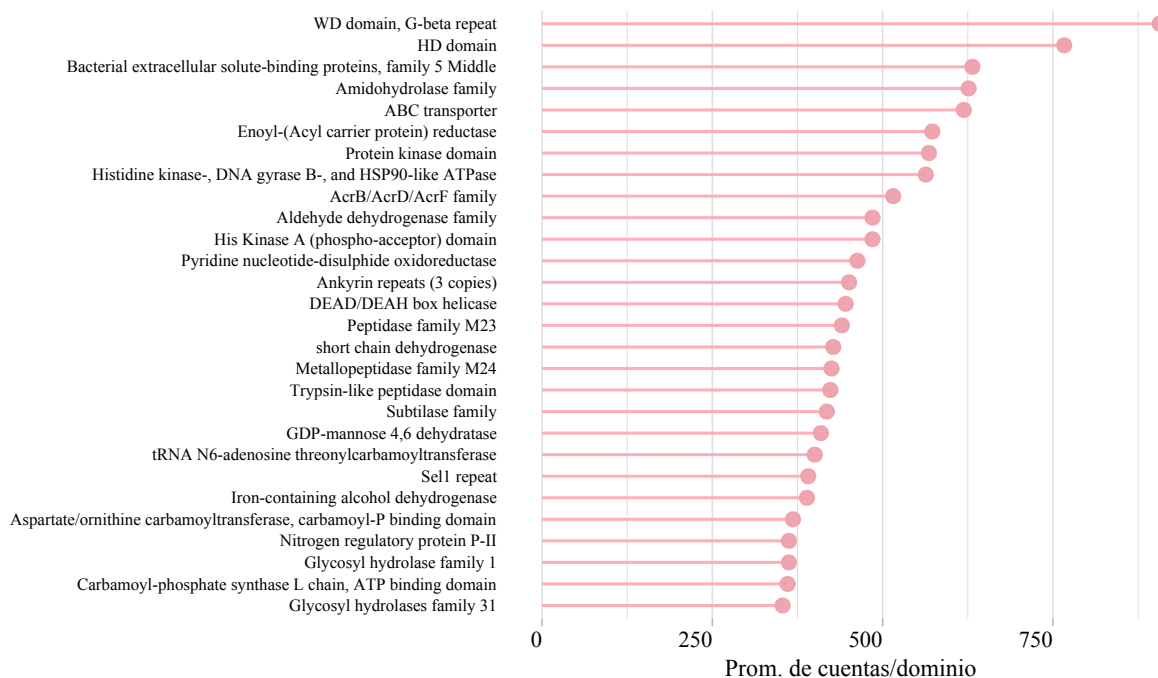
Dominios conservados de metaloproteínas de Fe



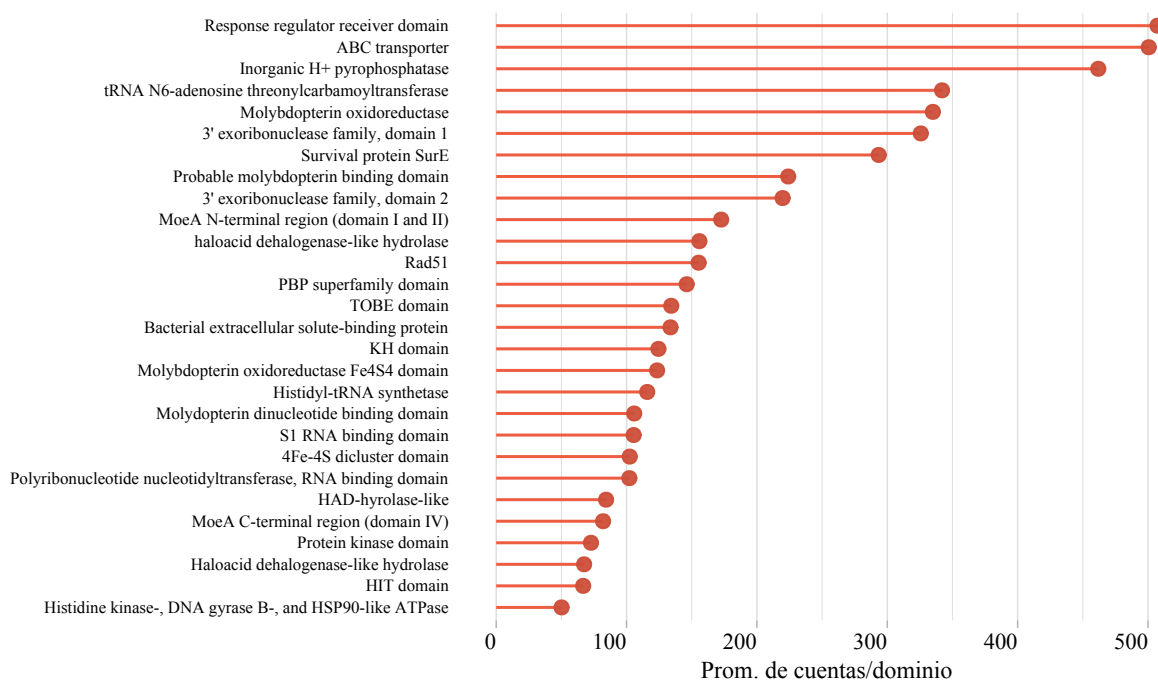
Dominios conservados de metaloproteínas de Mo



Dominios conservados de metaloproteínas de Ni



Dominios conservados de metaloproteínas de W



Dominios conservados de metaloproteínas de Zn

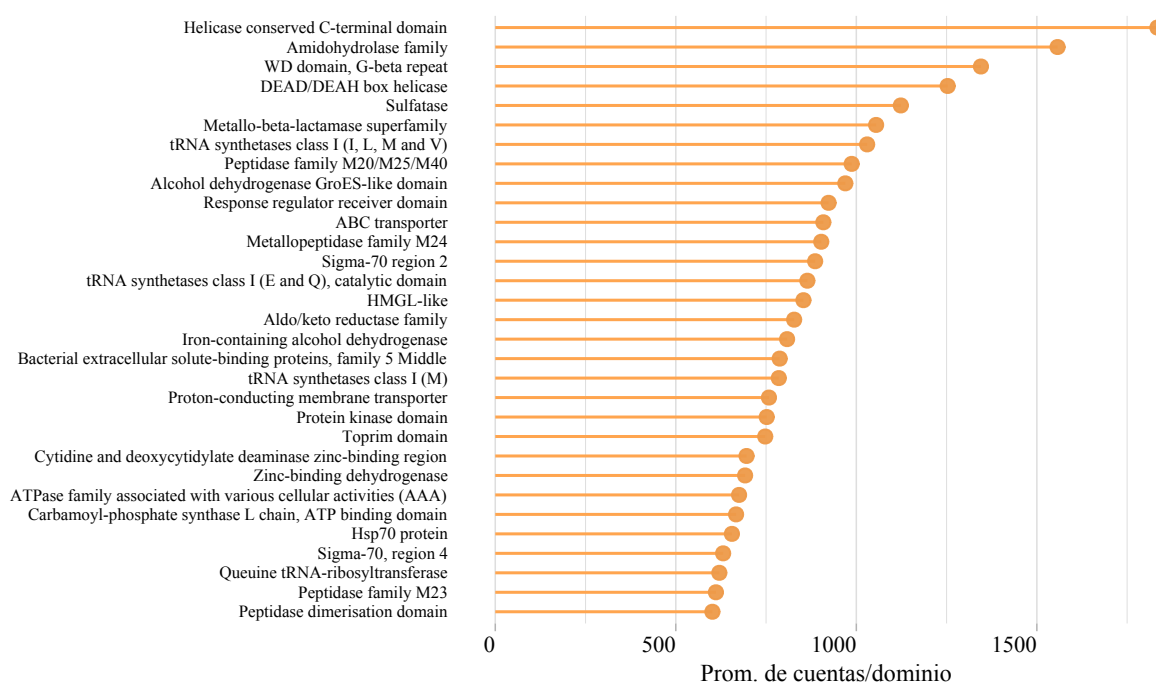


Figura A1: Dominios conservados (Pfam) de mayor abundancia en metaloproteínas de Co, Cu, Fe, Mo, Ni, W y Zn presentes en Domos del Arqueano. Las abundancias están reportadas como promedio de abundancia de dominios conservados.

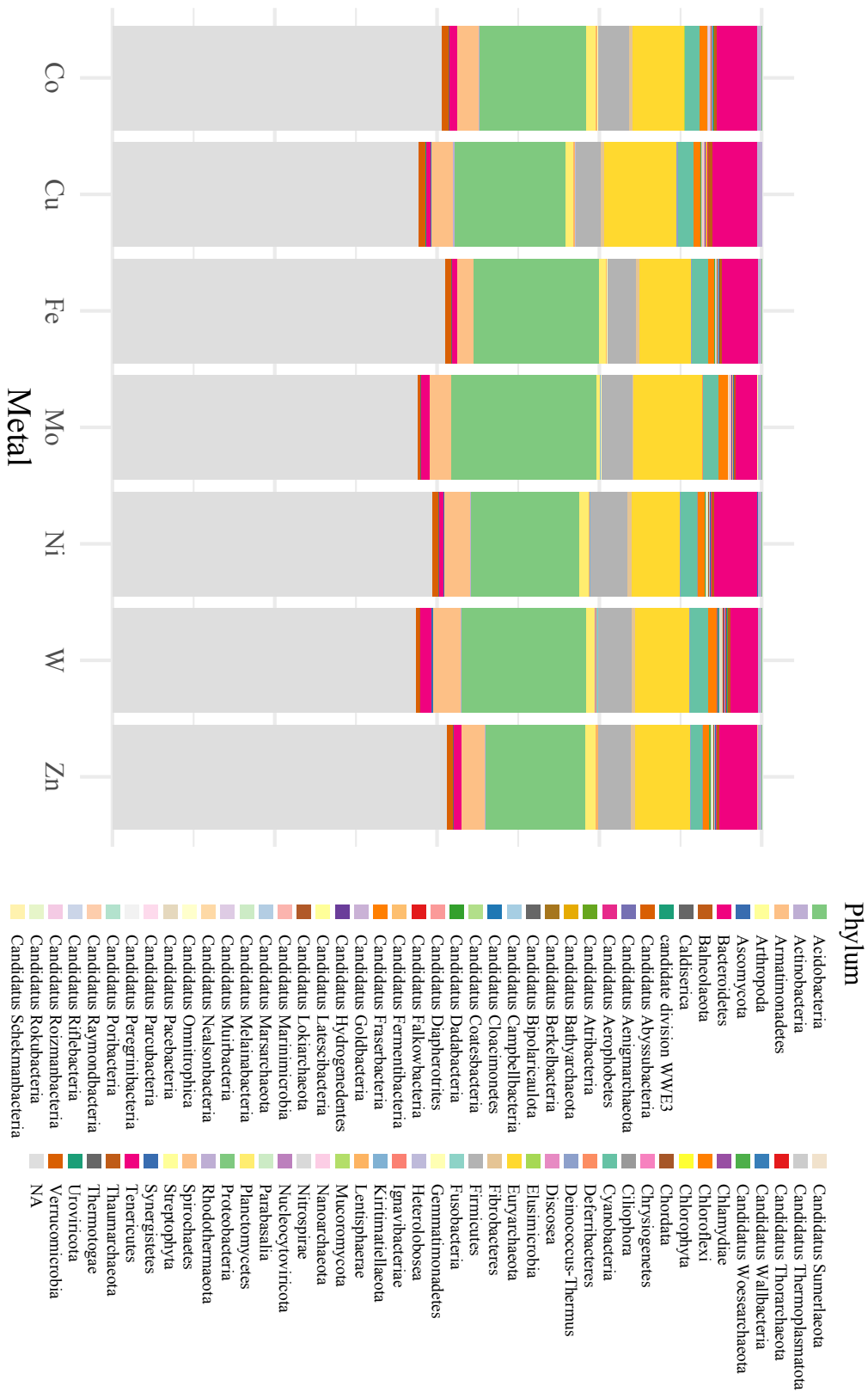
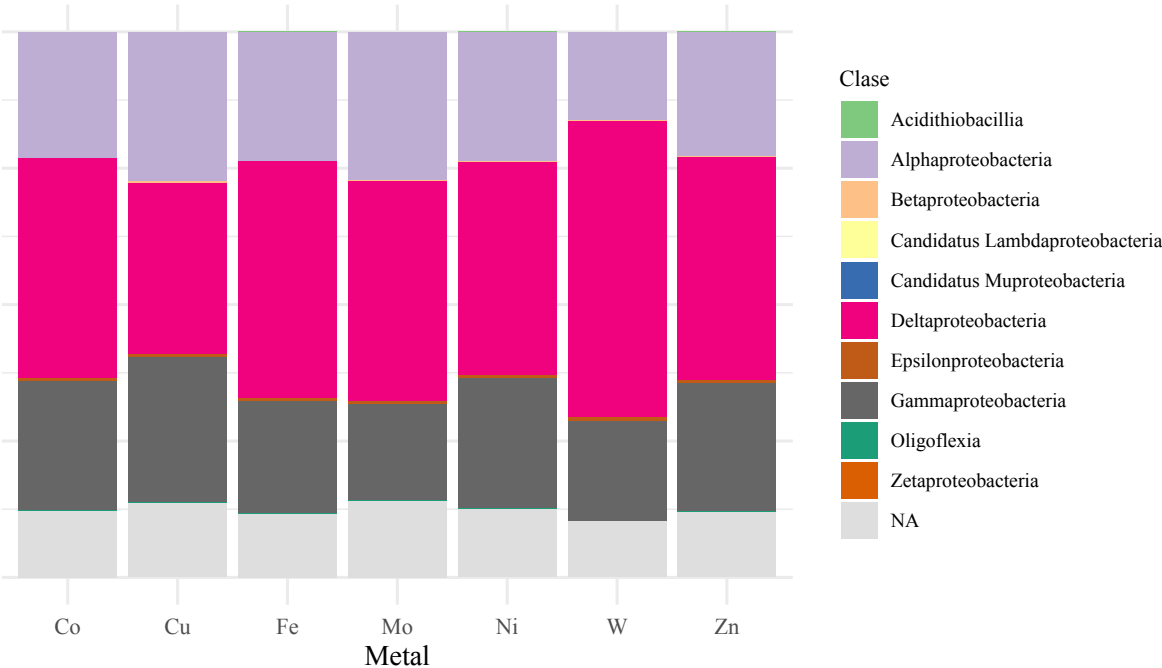
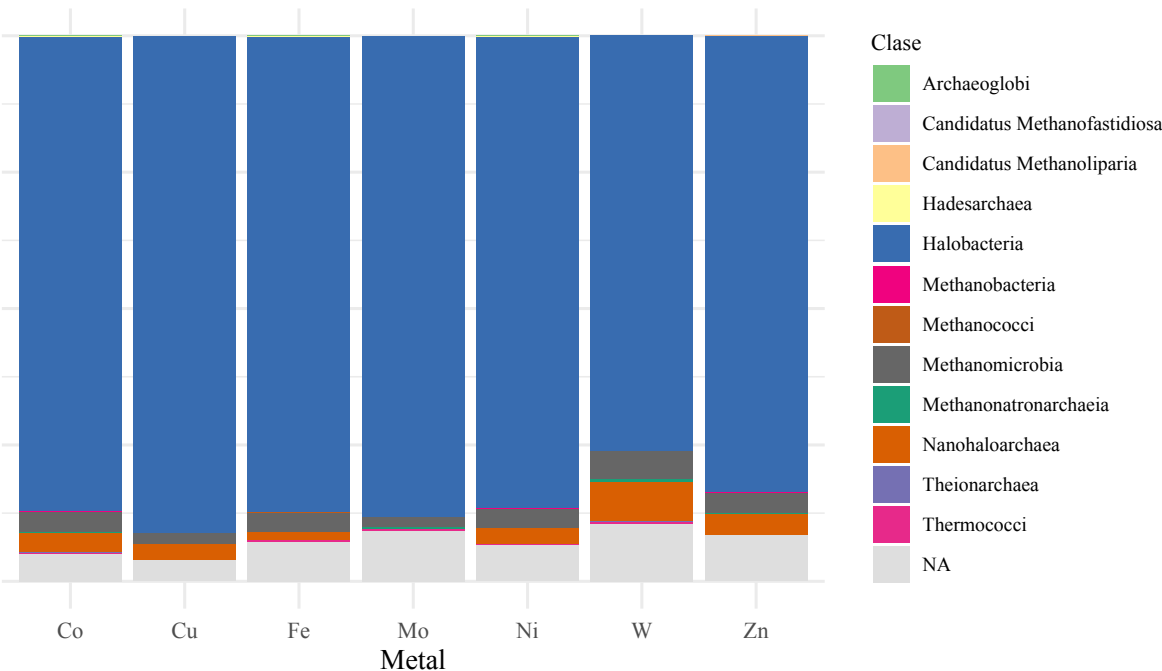


Figura A2: Distribución de los phyla más abundantes en función del uso de metales. Se puede observar una distribución taxonómica cohesiva entre los distintos metales.

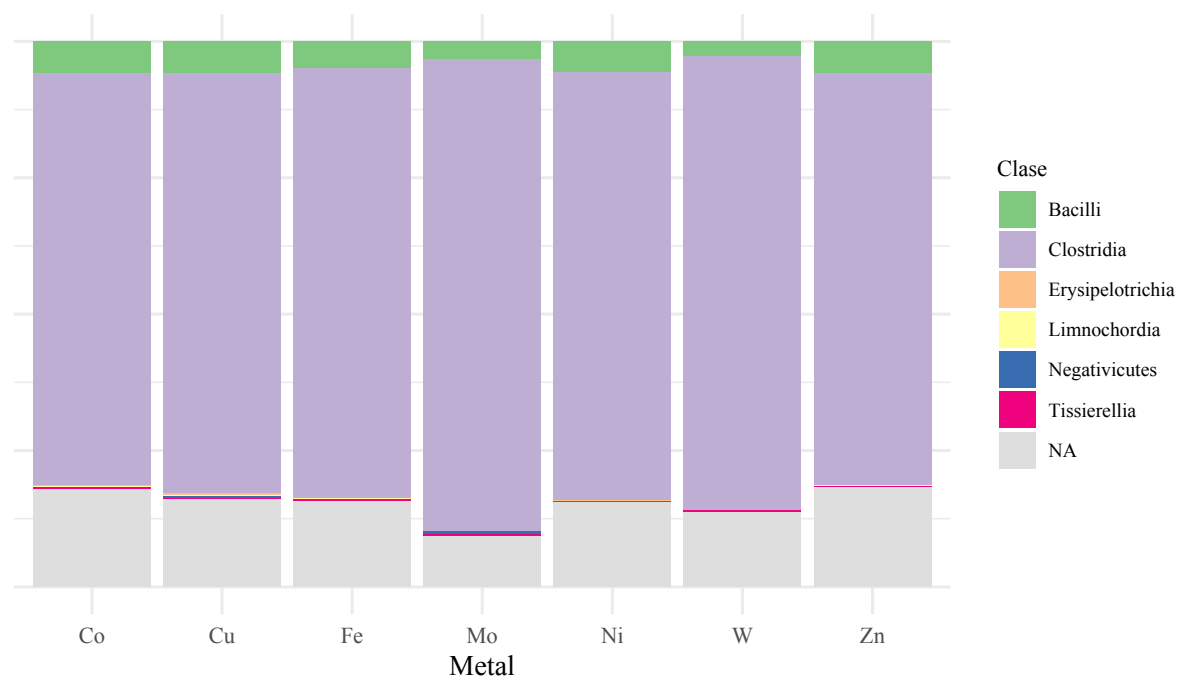
Proteobacteria



Euryarchaeota



Firmicutes



Bacteroidetes

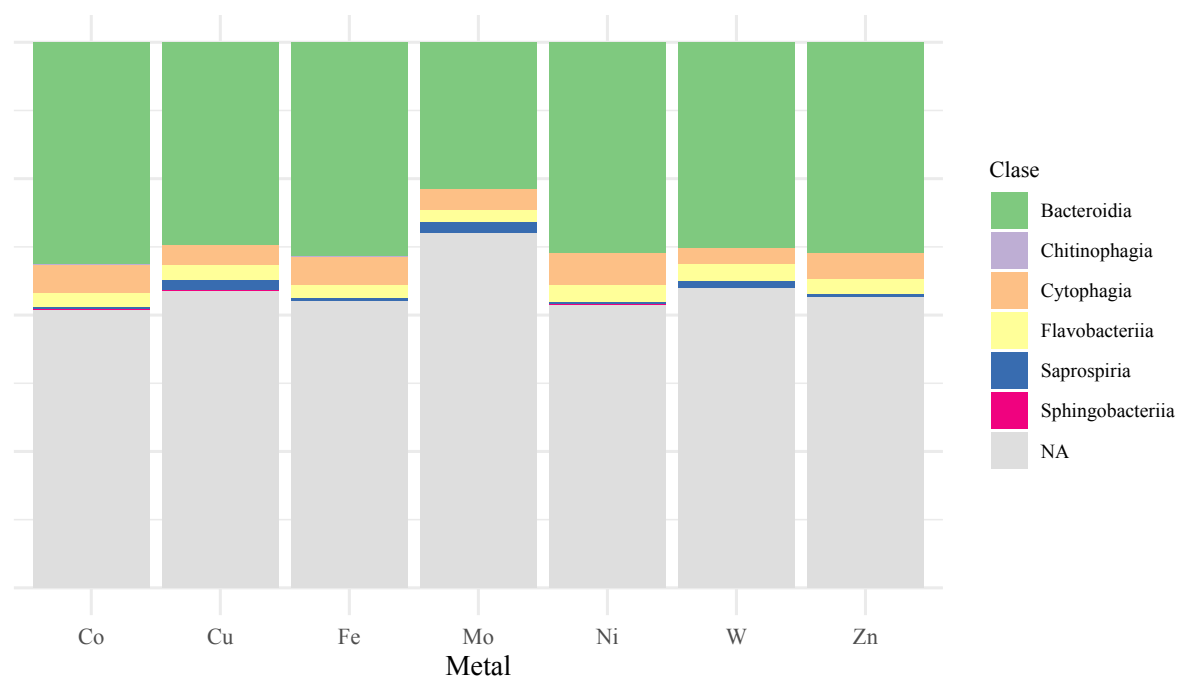


Figura A3: Distribución de uso de metales en clases taxonómicas pertenecientes a los phyla más abundantes en Domos del Arqueano (Proteobacteria, Euryarchaeota, Firmicutes, Bacteroidetes).

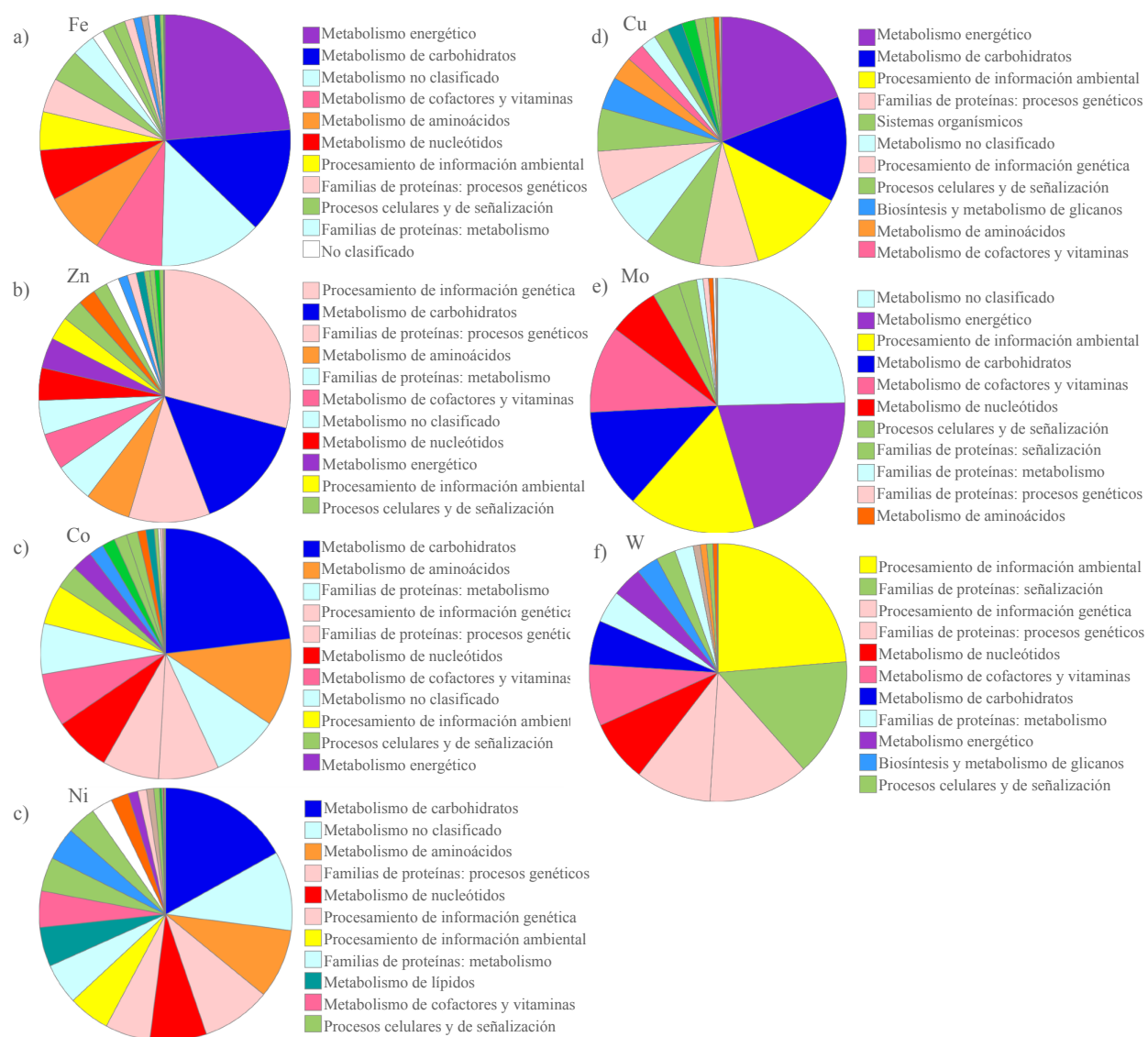


Figura A4: Anotación funcional KEGG por metal, mostrando rutas y procesos de mayor generalidad.

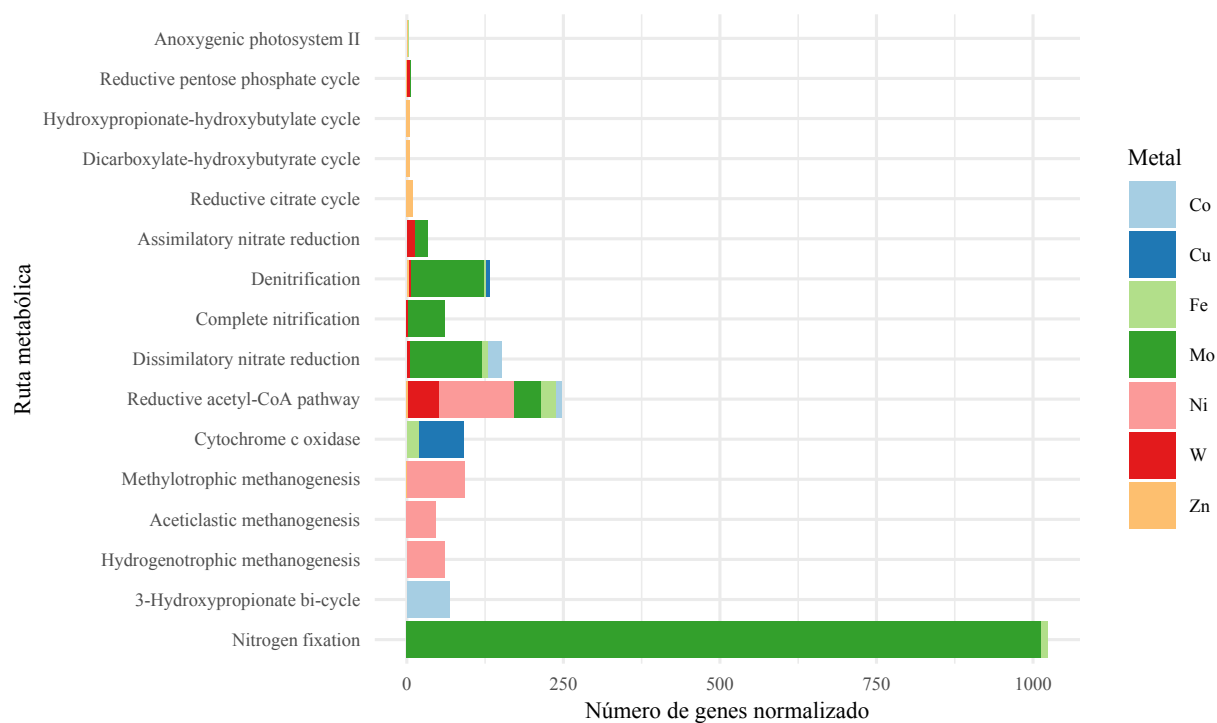


Figura A5: Anotación funcional KEGG por metal para metaloproteínas polimetálicas. Es destacable la fijación de nitrógeno, donde domina la nitrogenasa de cofactor Mo-Fe.