

Variabilidad de la relación de racemización de aminoácidos en un grupo de gasterópodos terrestres cuaternarios de Murcia

Variability of the amino acid racemization relation in a group of Quaternary continental gastropods in Murcia (Spain)

Alessandro Giusto-Díaz de Cerio¹, Julián García-Mayordomo², Juan M. Insua-Arévalo¹, José E. Ortiz³ y Trinidad Torres³.

¹ Facultad de Ciencias Geológicas (UCM), Ciudad universitaria s/n, Madrid 28040 agiusto@ucm.es, insuarev@geo.ucm.es

² Instituto Geológico y Minero de España (IGME), c/ La Calera, 1 Tres Cantos, Madrid 28760 julian.garcia@igme.es

³ Laboratorio de Estratigrafía Biomolecular, E.T.S.I.M.E. (UPM), c/ Ríos Rosas, 21, Madrid 28003 joseeugenio.ortiz@upm.es, trinidad.torres@upm.es

ABSTRACT

The use of the amino acid racemization technique in geochronology offers a great advantage compared to other techniques, as racemization analyses are usually much faster and cheaper. However, as in any other technique, amino acid racemization is subject to a number of uncertainties, which have to be thoroughly analysed previously to any interpretation of the data. In this work, we present the results obtained in a group of 25 continental gastropods found in a paleoseismological trench in Alhama de Murcia (Betic Range, Spain). We carry out the comparison of dextrorotatory and levorotatory configuration (relation D/L) of the aspartic and glutamic acids. First, we review the different sources of uncertainty in the racemization process. Subsequently we show the methodology followed for discarding samples and, finally, we interpret in preliminary terms the results in relation to the local stratigraphy and paleoseismology.

Key-words: amino acid racemization, gastropods, paleoseismology, active fault, Murcia (Spain).

RESUMEN

La aplicación de los resultados de un análisis de racemización de aminoácidos en geocronología ofrece importantes ventajas respecto a otras técnicas, al ser esta más rápida y económica. Sin embargo, como con cualquier otra técnica, la racemización no está exenta de fuentes de incertidumbres que deben ser analizadas previamente a la interpretación. En este trabajo se exponen los resultados obtenidos del análisis de racemización de un grupo de 25 gasterópodos continentales fósiles hallados en una excavación de investigación paleosismológica en el municipio de Alhama de Murcia. En particular se compara la ratio entre aminoácidos con estructura dextrógira y levógira (relación D/L) de los ácidos aspártico y glutámico. En primer lugar, se revisan las principales fuentes de incertidumbre que afectan a la racemización. Seguidamente se muestra la metodología empleada para descartar muestras y, finalmente, se aborda una interpretación preliminar de los resultados en relación con la estratigrafía local y la paleosismología.

Palabras clave: racemización de aminoácidos, gasterópodos, paleosismología, falla activa, Murcia.

Geogaceta, 67 (2020), 119-122
ISSN (versión impresa): 0213-683X
ISSN (Internet): 2173-6545

Fecha de recepción: 01/07/2019

Fecha de revisión: 17/10/2019

Fecha de aceptación: 22/11/2019

Introducción

La racemización es una reacción química que ocurre en los seres vivos, que lleva a la sustitución de algunos aminoácidos por sus pares quirales. Los seres vivos poseen aminoácidos con orientación levógira (el grupo amino está situado a la izquierda de la molécula). Tras la muerte de los individuos se inicia la reacción de racemización, que lleva a la transformación de estos aminoácidos con estructura levógira en otros aminoácidos dextrógiros (el grupo amino está situado a la derecha), que es una consecuencia del envejecimiento de las proteínas. Esto sucede hasta alcanzar un equilibrio, el estado racémico, cuando la relación entre aminoácidos dextrógiros y levógiros alcanza la unidad, (D/L=1). De esta manera, el análisis de racemización de aminoácidos persigue determinar la ratio D/L, indicador del tiempo transcurrido desde el fallecimiento del organismo.

Resulta evidente el interés de esta técnica en geocronología, ya que puede servir para establecer la edad relativa de fósiles y determinar isocronías o heterocronías entre yacimientos con base en los valores de racemización (aminozonas). Adicionalmente, la relación de racemización puede aportar edades numéricas, toda vez que se haya calibrado anteriormente con edades provistas por otros métodos (e.g., radiocarbono, luminiscencia ópticamente estimulada OSL, etc.).

No obstante, debe tenerse en cuenta que los resultados que se obtienen con el método de la racemización de aminoácidos están, como con cualquier otro método geocronológico, sujetos a una serie de incertidumbres (Murray-Wallace, 1995; Torres *et al.* 1999). El primero es debido al propio proceso físico de la racemización, puesto que depende de condiciones

ambientales externas, en especial de la historia térmica. En segundo lugar, hay factores que dependen del resto fósil *per se*, ya que la velocidad de racemización es diferente de un taxón a otro (variación interespecífica), y también de qué parte del organismo se analice (variación individual). En un contexto geocronológico cuaternario el factor más importante es el paleoambiental, dado que la temperatura (historia térmica) controla fuertemente la velocidad de racemización. Es por ello muy importante comparar resultados de restos fósiles recogidos en áreas geográficas que hayan sufrido una evolución climática similar. Por otra parte, también hay que tener en cuenta procesos tafonómicos y diagenéticos que hayan podido afectar al yacimiento en particular (e.g., incendios).

La variación interespecífica (o intergénero) puede ser muy importante

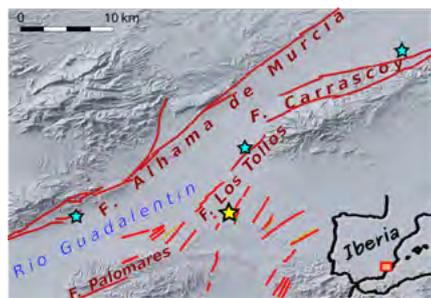


Fig. 1.- Marco geográfico y tectónico de la zona de estudio. Las trazas rojas representan fallas cuaternarias activas. La estrella amarilla localiza el yacimiento estudiado en este trabajo; las estrellas azules la localización de otras zanjas estudiadas en García-Mayordomo *et al.* (2014a, b). Ver figura en color en la web.

*Fig. 1.- Geographical and tectonic context of the studied area. Red traces represent Quaternary active faults. The yellow star locates the site studied here; blue stars indicate other sites studied in García-Mayordomo *et al.* (2014a, b). See color figure in the web.*

(Coeficiente de Variación CV del orden del 30%) dado que existen importantes diferencias en la racemización según la distinta estructura interna (o presencia de estructuras anatómicas distintas o diferentes proteínas) entre taxones diferentes. El siguiente factor está relacionado con la variación intragénero, diferencias entre especies distintas debido, a su vez, a variaciones en la estructura interna, y que puede suponer aproximadamente un CV del 12%. Y, finalmente la variación intrafósil o individual, variaciones dentro de una misma muestra, que dependiendo de la parte de la concha que se analice, puede suponer un CV de un 8% aproximadamente.

La técnica de la racemización de aminoácidos puede ser particularmente útil en estudios de paleosismología, ya que se trata de una técnica que puede usarse de modo intensivo al ser económica y rápida. En España esta técnica ya ha sido aplicada a este fin en la Región de Murcia (García-Mayordomo *et al.*, 2014a, b), donde se analizaron las relaciones D/L en gasterópodos encontrados en trincheras paleosismológicas excavadas en las fallas de Carrascoy, Los Tollos y Alhama de Murcia (Béticas Orientales), y se llegó a plantear preliminarmente una curva de calibración numérica para la región.

En el presente trabajo se presentan nuevos datos obtenidos en la zona de falla de Los Tollos, en particular en dos trincheras abiertas en un escarpe tectónico en el borde meridional de la depresión del Guadalentín a la altura del tramo conocido como La Alcanara (Fig. 1).

Metodología

Se recogieron un total de 25 muestras de gasterópodos pulmonados en dos trincheras excavadas en el paraje Casas del Manzano (Alhama de Murcia), en depósitos aluviales (Figs. 1 y 2) constituidos por una sucesión aluvial de arenas, limos y lentejones de gravas.

El estudio de las zanjas aportó un gran número de gasterópodos fósiles de gran calidad que permitieron analizar los resultados de racemización en conjuntos de muestras localizadas tanto en el interior de una misma unidad estratigráfica como entre unidades diferentes.

Dichos restos fósiles, muchos de los cuales constituyen fragmentos aislados, se clasificaron a nivel de especie habiéndose identificado los siguientes taxones (García-Meseguer *et al.*, 2017): *Otala lactea*; *Iberus gualterianus*; *Iberus calaensis*; *Iberus guiraoanus*; y *Sphincterochila candidissima*. En algunas muestras no fue posible la clasificación a nivel específico por mala conservación.

El análisis se realizó en el Laboratorio de Estratigrafía Biomolecular de la U. Politécnica de Madrid. El pre-tratamiento de las muestras consistió en una limpieza y esterilización en ácido clorhídrico de las conchas de los gasterópodos. De cada ejemplar se separó un fragmento de unos 30 mg cerca de la abertura. Las muestras se analizaron siguiendo el protocolo de Kaufman y Manley (1998) en un cromatógrafo de líquidos de altas prestaciones HPLC-1100 con detector de fluorescencia. Se determinaron las relaciones D/L de diversos aminoácidos: en especial ácido aspártico y ácido glutámico, que son las que se suelen emplear en geocronología.

Resultados y discusión

En la tabla I se presentan los valores de la relación D/L del ácido aspártico y glutámico, para cada espécimen de gasterópodo, en orden de más antiguo a más moderno de acuerdo con la estratigrafía de las trincheras. En este trabajo se analizan los resultados en términos del ácido aspártico y del ácido glutámico, como ya se hizo en García-Mayordomo *et al.*, 2014a).

De las 25 muestras analizadas, 4 se interpretaron como contaminadas por aminoácidos recientes: ALC-2-S-Ca-21; ALC-2-S-Ca-18; ALC-3 Ca-1 y ALC-3 Ca-3. Este es un problema típico en los análisis de racemización, debido a la contaminación de los restos fósiles por aminoácidos modernos. Este proceso se detecta en el laboratorio cuando la cantidad de L-serina es mayor que la de L-aspártico; usualmente se considera que es contaminación cuando esta relación es superior a 0,8 (Kaufman y Manley, 1998; Hearty *et al.*, 2004), por lo que estas muestras se descartan.

En la figura 3 se han representado las relaciones de racemización obtenidas distinguiendo las tres unidades estratigráficas reconocidas, de más antiguo a más moderno: 50, 40 y 30. En la gráfica se observa como determinadas muestras presentan desviaciones acusadas de la tendencia general dentro de una misma unidad estratigráfica (ALC-2-N-Ca-30 y ALC-2-S-Ca-17). Estas muestras se interpretan como ejemplares resedimentados, ya que tienen una ratio D/L mucho más alta que la de las muestras de su mismo nivel estratigráfico, dibujando un pico muy marcado en la gráfica. Así mismo, la muestra ALC-3 Ca-101 también

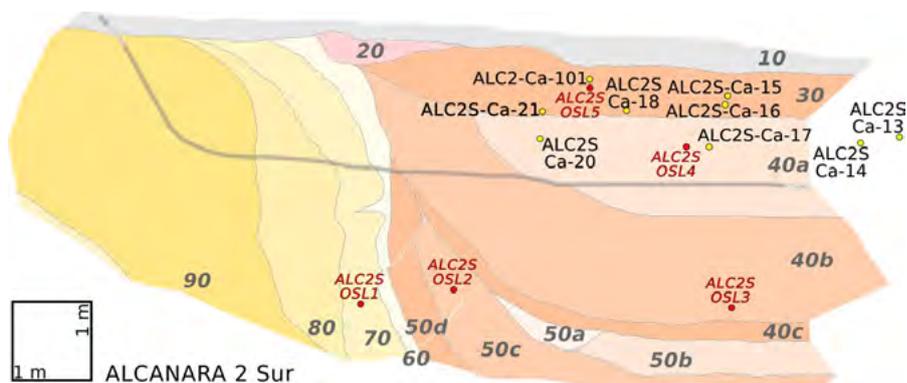


Fig. 2.- Esquema estratigráfico de una de las trincheras abiertas cerca de Casas del Manzano (Alhama de Murcia) con indicación de las muestras de gasterópodos recogidas y de OSL. Ver figura en color en la web.

Fig. 2.- Stratigraphic scheme of one of the trenches excavated in Casas del Manzano site (Alhama de Murcia) with indication of the gastropods samples collected and OSL. See color figure in the web.

debe descartarse, ya que presenta una desviación muy fuerte, unido al hecho de que se desconoce el género del gasterópodo (fragmento), factor que podría controlar una velocidad de racemización diferente a la de los dos géneros dominantes: *Iberus* o *Sphincterochila*.

Por otra parte, también se observa en la figura 3 como las relaciones de ácido aspártico y glutámico covarían, a excepción de una muestra (ALC-2-Ca-20). Esta tendencia es esperable ya que estos aminoácidos presentan velocidades de racemización diferentes, siendo la del glutámico menor. Si no hay covariación en una muestra, puede interpretarse que han actuado procesos diagenéticos o tafonómicos diferentes. Por tanto, la muestra ALC-2-Ca-20 debe ser descartada de los análisis.

Por último, en cuanto a las relaciones con la cronoestratigrafía, puede observarse en la figura 3 como las relaciones D/L Asp de los fósiles encontrados en una misma unidad son muy parecidas y, también, como la relación media D/L Asp de los gasterópodos encontrados en la unidad 30 (0,62) es muy similar a la de la unidad 40 (0,60), y los de la unidad 50 (0,67) presentan las relaciones más altas. Dado que la relación D/L depende del tiempo se interpreta que los resultados de racemización obtenidos son coherentes con la estratigrafía.

Sin embargo, el hecho de que los valores medios D/L de la unidad 30 y 40 sean tan similares puede ser interpretado de dos formas posibles. Por una parte, podría ser que los eventos de relleno del escarpe por episodios aluviales sean muy próximos en el tiempo. Por otro lado, podría ser que valores D/L de ese orden ($>0,6 \pm 0,05$) no permitan discriminar con precisión diferencias de edad.

Una cuestión adicional importante es constatar la escasa variación intergénero que se observa entre las dos especies analizadas en este trabajo: *Iberus* sp (*qualterianus* y *guiraoanus*) y *Sphincterochila candidissima*. También, si se comparan las ratios D/L del ácido aspártico, se puede ver como la variación intragénero es bastante pequeña (desviación estándar baja). Los valores oscilan entre 0,5 y 0,6. Se confirma que todos los ejemplares pertenecientes a un mismo género o especie han debido tener una racemización parecida, al igual que los representantes de *Iberus*.

Cabe resaltar el único gasterópodo clasificado como *Sphincterochila candi-*

Muestra	Taxón	D/L Aspártico	D/L Glutámico	Unidad	Observaciones
ALC-2-Ca-101a	<i>Iberus</i> sp	0,621	0,464	30	Individuo fragmentado
ALC-2-Ca-101b	<i>Sphincterochila</i> sp	0,577	0,328	30	Individuo fragmentado
ALC-2-S-Ca-15	<i>Iberus</i> <i>qualterianus</i>	0,560	0,358	30	Fragmentos
ALC-2-S-Ca-21	<i>Iberus</i> sp	—	—	30	Indiv. fragmtdo. *Contaminado
ALC-2-S-Ca-16	Indeterminado	0,402	0,613	30	Fragmentos
ALC-2-S-Ca-18	Indeterminado	—	—	30	Fragmentos *Contaminado
ALC-2-N-Ca-10	<i>Iberus</i> sp	0,540	0,333	30	Individuo fragmentado
ALC-2-N-Ca-30	<i>Iberus calaensis</i>	0,695	0,509	30	Indiv. comp. *Descartada
ALC-2-N-Ca-31	<i>Iberus</i> sp	0,592	0,350	30	Individuo fragmentado
ALC-2-N-Ca-34	<i>Iberus</i> sp	0,651	0,439	30	Individuo fragmentado
ALC-2-N-Ca-35	<i>Iberus</i> sp	0,667	0,480	30	Individuo fragmentado
ALC-2-N-Ca-36	<i>Iberus</i> sp	0,673	0,466	30	Individuo fragmentado
ALC-2-S-Ca-19	<i>Iberus</i> <i>qualterianus</i>	0,603	0,382	30	Individuo fragmentado
ALC-2-S-Ca-13	<i>Iberus</i> sp	0,589	0,349	40	Individuo fragmentado
ALC-2-S-Ca-14	<i>Iberus</i> sp	0,557	0,298	40	Individuo fragmentado
ALC-2-S-Ca-17	Indeterminado	0,684	0,487	40	Indiv. fragmtdo. *Descartada
ALC-2-S-Ca-20	Indeterminado	0,513	0,447	40	Fragmentos *Descartada
ALC-2-N-Ca-32	Indeterminado	0,577	0,307	40	Fragmentos
ALC-2-N-Ca-33	<i>Iberus</i> sp	0,558	0,317	40	Individuo fragmentado
ALC-2-S-Ca-11	Indeterminado	0,546	0,308	40	Fragmentos
ALC-2-S-Ca-12	<i>Iberus</i> sp	0,636	0,399	40	Individuo fragmentado
ALC-3-Ca-1	Indeterminado	—	—	50	Fragmento *Contaminado
ALC-3-Ca-101	Indeterminado	0,461	0,313	50	Fragmento *Descartada
ALC-3-Ca-2	<i>Iberus</i> <i>guiraoanus</i>	0,673	0,505	50	Individuo fragmentado
ALC-3-Ca-3	Indeterminado	—	—	50	Indiv. fragmtdo. *Contaminado

Tabla I.- Relación de las muestras analizadas en este trabajo, indicando su taxón correspondiente cuando este se ha podido reconocer, y las respectivas ratios D/L de los ácidos aspártico y glutámico. Se indica también la unidad estratigráfica local donde fueron encontradas y un comentario sobre el tipo y características de la muestra.

Table I.- List of the samples analysed in this work, indicating their corresponding taxa, whenever it has been possible to classify it, as well as their respective aspartic and glutamic acids D/L ratios. There is also indication of the local stratigraphic unit in which they were found, and a commentary on the type and characteristics of the sample.

dissima, mostró unas relaciones de racemización muy parecidas a la de *Iberus*. Obsérvese un ejemplo de las muestras de gasterópodos analizadas en este estudio (Fig. 4).

Conclusiones

A la vista de los datos preliminares obtenidos, y a la espera de que estos sean contrastados por los resultados de OSL, que permitan analizar la precisión y la fiabilidad de los resultados de racemización, se obtienen las siguientes conclusiones.

En primer lugar, es fundamental antes de realizar la interpretación de los datos, analizar los resultados en conjunto debido al elevado número de incertidumbres, causadas por contaminaciones, alteraciones o procesos diagenéticos y tafonómicos, que pueden llevar a la discriminación de numerosas muestras que no pueden ser utilizadas con el fin de la datación.

Así mismo, para que los datos obtenidos se puedan comparar entre ellos, es imprescindible que las muestras recogidas puedan ser clasificables al menos a nivel genérico.

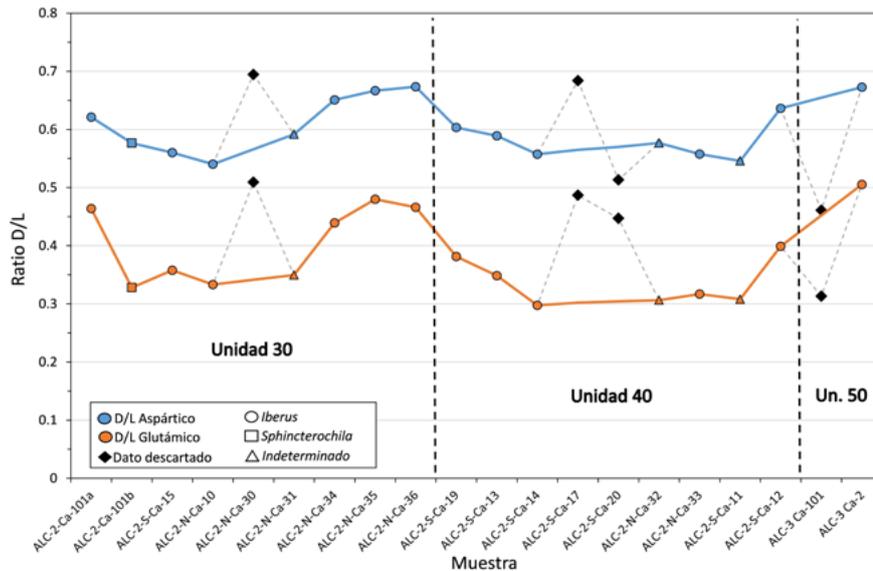


Fig.3.-Distribución de la ratio D/L del ácido aspártico y glutámico en las muestras analizadas en este trabajo. Obsérvese que las muestras están agrupadas por la unidad estratigráfica en la que fueron encontradas. Ver figura en color en la web.

Fig. 3.- Distribution of the D/L ratio of the aspartic and glutamic acids in the samples analysed in this work. Note that the samples are grouped according to the stratigraphic unit in which they were found. See color figure in the web.

Por otra parte, al observar los valores de las ratios D/L obtenidas de los fósiles dentro de un mismo nivel estratigráfico, se ha podido calcular una desviación estándar de 0,05. Este valor puede servir como una estimación preliminar del umbral de precisión que se puede obtener mediante el método de racemización de aminoácidos en gasterópodos pulmonados, lo cual es importante para poder realizar una curva de calibración.

En segundo lugar, se deduce que es probable que las unidades estratigráficas 30 y 40 se hayan depositado en eventos aluviales cercanos en el tiempo, dado que las ratios D/L medias del conjunto de las muestras en ambos niveles estratigráficos tienen valores muy similares. A falta

de conocer los resultados del OSL que sustenten esta hipótesis, podría interpretarse que el tiempo transcurrido desde el cese de la deformación de la unidad 40 hasta la deposición de la unidad 30 podría haber sido muy corto y, por lo tanto, el número de eventos sísmicos responsables de la deformación fueran asimismo pocos.

Agradecimientos

Investigación financiada por los proyectos PREVENT (CGL2015-66263-R) y RECOGNES (IGME 2592). La revisión del manuscrito por la Dra. Eulalia Masana y por el Dr. José J. Martínez Díaz, han sido imprescindibles en la mejora de la calidad del trabajo.



Fig. 4.- Ejemplo de muestra de gasterópodo analizado, Iberus calaensis. Foto A. Giusto Díaz de Cerio. Ver figura en color en la web.

Fig. 4.- Example of one of the gastropods analysed, Iberus calaensis. Photo A. Giusto Díaz de Cerio. See color figure in the web.

Referencias

García-Mayordomo, J., Ortiz, J.E., Torres, T., Insua-Arévalo, J.M., Martínez-Díaz, J.J., Altolaguirre, Y., Canales-Fernández, M.L. y Martín-Banda, R. (2014a). *Geogaceta* 56, 15-18.

García-Mayordomo, J. Ortiz, J.E., Torres, T., Insua-Arévalo, J.M., Martínez-Díaz, J.J., Altolaguirre, Y., Canales-Fernández, M.L. y Martín-Banda, R. (2014b). *Geophysical Research Abstracts* 16, EGU2014-10832.

García-Meseguer, A.J., Esteve, M.A., Robledano, F. y Miñano, J. (2017). *Atlas y Libro Rojo de los Moluscos Continentales de la Región de Murcia*. Consejería de Agua, Agricultura y Medio Ambiente de la CA de la Región de Murcia, 338 pp.

Hearty, P.J., O’Leary, M.J., Kaufman, D., Page, M.C. y Bright, J. (2004). *Paleoceanography* 19, PA4022.

Kaufman, D.S. y Manley, W.F. (1998). *Quaternary Geochronology* 17, 987-1000.

Murray-Wallace C.V. (1995). *Quaternary International* 26, 69-86.

Torres, T., Llamas F.J., Canoira, L., García-Alonso, P. y Ortiz, J.E. (1999). *Estratigrafía Biomolecular*. ENRESA, Madrid, 156.