

## Experimentos con tapetes microbianos lagunares: influencia de sus metabolismos en la precipitación mineral

### *Experiments with microbial mats from shallow lakes: Metabolic influence of the microorganisms in the precipitation of minerals*

O. Cabestrero<sup>1</sup>, M.E. Sanz-Montero<sup>2</sup>, P. del Buey<sup>2</sup>, C. Tebes<sup>1</sup>, C. Demergasso<sup>1</sup> y P.T. Visscher

1 Centro de Biotecnología, Universidad Católica del Norte, Antofagasta (Chile). oscar.cabestrero@ucn.cl; ctebes@ucn.cl; cdemerga@ucn.cl

2 Departamento de Mineralogía y Petrología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid (España). mesanz@ucm.es; pabodelbuey@ucm.es

3 Department of Marine Sciences, College of Liberal Arts y Sciences. UCONN, Groton (USA). pieter.visscher@uconn.edu

**Resumen:** El proceso de formación de minerales puede observarse en lagunas continentales, donde los carbonatos, sulfatos, cloruros y silicatos precipitan en asociación con tapetes microbianos. Los modelos clásicos explican la precipitación de la mayoría de las fases por mecanismos fisicoquímicos puros sin considerar la influencia biológica. Estudios recientes consideraron la influencia biológica, sin embargo, se han enfocado en aislar los microorganismos de forma individual. En nuestro estudio proponemos una serie de experimentos para crecer tapetes microbianos completos y evaluar la precipitación mineral que ocurre en los distintos tipos de lagos, especialmente sulfatos y carbonatos. En paralelo se han colocado controles diseñados para simular la precipitación abiótica pura. Por lo tanto, las observaciones realizadas en los experimentos, incluido el desarrollo de los tapetes y los minerales precipitados, pueden usarse como una herramienta para comprender las interacciones microbio-minerales en comparación con las observaciones de campo. Los precipitados de los experimentos de tapetes se parecen a los precipitados naturales en sus texturas y paragénesis.

**Palabras clave:** experimentos de precipitación, minerales, tapetes microbianos, metabolismos, lagunas someras.

**Abstract:** *The process of mineral formation may be observed in modern shallow lakes, where carbonates, sulfates, chlorides y silicates precipitate in association with microbial mats. Classical models explained the precipitation of most of the phases with pure physicochemical mechanisms without considering biological influence. Recent studies considered biological influence focusing to isolate microorganisms. Here, we propose an experimental design to incubate the whole microbial mats running in parallel with controls designed for pure abiotic precipitation. Thus, the observations made in the experiments, including the development of the mats y the minerals precipitated, can be used as a tool for understanding microbial-mineral interactions by comparison with field observations. Remarkably, the minerals precipitated in the laboratory resemble the natural precipitates in textures y paragenesis.*

**Keywords:** *precipitation experiments, minerals, microbial mats, metabolisms, shallow lakes.*

## INTRODUCCIÓN

Resulta común observar minerales recién formados en asociación espacial con tapetes microbianos que proliferan en lagunas alcalinas, salinas (*playa-lakes*) y salares. Los modelos clásicos explican que la precipitación de la mayoría de las fases ocurre por factores fisicoquímicos que están controlados por el clima, como la concentración de iones (evaporación) y la temperatura (Eugster y Hardie, 1978).

Desde comienzos del siglo XXI, cada vez más autores coinciden en que las fases que precipitan dentro de los tapetes microbianos alcanzan la sobresaturación debido a las interacciones bioquímicas de los microorganismos con el medio (Warren, 2006; Konhauser, 2007). Para demostrar el origen biótico de las fases minerales en estos ambientes, la mayoría de los estudios realizados se han basado en el aislamiento y/o enriquecimiento de algunas especies microbianas concretas, por ejemplo, Machulás *et al.* (2008), Sánchez-Román *et al.* (2009), Gallagher *et*

al. (2012) y Sanz-Montero *et al.* (2019). En cambio, hay pocos trabajos en donde se tenga en cuenta la comunidad al completo para establecer relaciones entre minerales y microorganismos.

Con el objetivo de conocer que metabolismos microbianos están implicados en la formación de las distintas fases, se han diseñado varios experimentos de precipitación mineral utilizando fragmentos de tapetes microbianos. Estos fragmentos de tapetes son la entidad más pequeña con la que experimentar, representativa de toda la comunidad.

## MÉTODOS

Estos experimentos se han llevado a cabo incubando tapetes microbianos (Fig. 1) con diferentes parámetros (salinidad, contenido iónico, luz, presencia o ausencia de oxígeno, etc).



FIGURA 1. Tapetes microbianos incubados en el laboratorio. Nótese la existencia de distintos colores en función de las comunidades microbianas predominantes y los distintos minerales precipitados.

Los tapetes microbianos empleados han sido recogidos de diferentes lagunas que presentan condiciones geoquímicas variables para abarcar el máximo espectro de posibilidades de encontrar similitudes/diferencias. Algunos de los lugares elegidos están clasificados como hipersalinos (Lagunas de Lillo, Toledo, España; lagunas del Salar de Pajonales, Antofagasta, Chile), hipersalinos ácidos (lagunas del Salar de Gorbea, Antofagasta, Chile) e incluso hiperalcalinos (Lagunas de Coca-Olmedo, Segovia-Valladolid, España).

Las lagunas y salares muestreados presentan precipitados autigénicos que han sido descritos en varias publicaciones (Tabla 1), algunas de las más recientes son: en el Salar de Gorbea, Cortez-Rivera (2014); en las Lagunas de Lillo, Cabestrero *et al.* (2018); en el Salar de Pajonales, Rodríguez-Albornoz (2018) y en las lagunas de Coca-Olmedo, Sanz-Montero *et al.* (2019).

Lugar	Minerales principales	Otros minerales
L. de Lillo	Yeso y sulfatos de Mg y Na	Carbonatos de Ca y Mg, filosilicatos de Mg, y halita
L. de Coca-Olmedo	Carbonatos de Mg, Ca y Na	Sulfatos de Mg, Na, Ca y azufre nativo
S. de Pajonales	Yeso y halita	Carbonatos de Ca y azufre nativo
S. de Gorbea	Yeso y halita	Sulfatos de Mg, Na, K, Fe, óxidos

TABLA I. Minerales autigénicos que precipitan de forma natural en las lagunas estudiadas. L. = laguna. S. = Salar.

Dada la controversia en el origen biótico o abiótico de los minerales, y con el fin de poder realizar controles negativos se han realizado experimentos de precipitación puramente

abiótica de forma paralela. Estos experimentos carecen de tapetes microbianos, por lo que la precipitación se simula usando únicamente las salmueras filtradas con una luz de malla de 0.45 y 0.22  $\mu\text{m}$  (sin microorganismos).

La obtención de resultados se ha basado en el control periódico de la evolución de los experimentos mediante técnicas moleculares, microscópicas, y mineralógicas. Dentro de las anteriores, cabe especificar la microscopía óptica tradicional, fluorescencia, confocal y electrónica para la identificación de microorganismos, minerales y texturas. Adicionalmente se han usado técnicas moleculares para la descripción de la diversidad microbiana. La caracterización mineral se ha realizado complementada con difracción de Rayos X. A las técnicas anteriores, se suma la medición periódica de parámetros fisicoquímicos del agua de los experimentos tales como salinidad, pH y temperatura. Los parámetros medidos se modelizaron con Phreeqc para contrastar los resultados de los tres escenarios evaluados: natural, experimental y teórico.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados preliminares demuestran que muchos de los minerales observados en el campo, también precipitan en los tapetes microbianos incubados en el laboratorio (Fig. 2). Entre los minerales más abundantes caben destacar los carbonatos de calcio (calcita y aragonito) que precipitan prácticamente en la totalidad de las muestras. También se ha observado abundante formación de yeso en las muestras de tapetes que provienen de ambientes hipersalinos. Además, han precipitado sulfatos magnésicos y magnésicos sódicos (epsomita, bloedita, konyaita, etc.) en las muestras de las Lagunas de Lillo. El azufre nativo ha sido encontrado en algunas muestras de ambientes hipersalinos e hiperalcalinos. Por último, se han precipitado carbonatos de magnesio (hidromagnesita-dypingita y nesquehonita) en las muestras de los ambientes hiperalcalinos.

En el caso del yeso, se ha observado frecuentemente con hábito lenticular y acicular en las muestras de tapete microbiano, a diferencia de las muestras control -sin tapete-, donde se cristalizó únicamente yeso prismático tabular. Por último, en los controles de las lagunas de Coca-Olmedo ha precipitado nesquehonita y fosfato magnésico y, en las muestras de ambientes hipersalinos, halita.

En cuanto a las comunidades microbianas se ha observado que varían sustancialmente en función de la química del medio y esto influye en los minerales que precipitan.

El predominio de metabolismos heterótrofos o mixótrofos de organismos como *Plantomycetes*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Firmicutes* (Sanz-Montero *et al.*, 2019) y *Chloroflexi*, influyen en la precipitación de carbonatos magnésicos en las lagunas hiperalcalinas (Coca-Olmedo).

Se ha podido corroborar mediante los experimentos que algunos organismos con metabolismos similares a los anteriores junto con arqueas metanógenas son los responsables de la cristalización de sulfatos magnésicos y magnésicos sódicos en los fangos oscuros de las

lagunas hipersalinas de Lillo, tal y como se había descrito en Cabestrero *et al.* (2018).

El desarrollo de cianobacterias y bacterias sulfoxidantes -fototróficas- se relaciona con la precipitación de carbonatos cálcicos en las Lagunas de Lillo, Coca-Olmedo y en el Salar de Pajonales.

Los últimos resultados obtenidos permiten establecer vínculos entre el azufre nativo y los sulfatos en relación con la presencia de algunas cianobacterias cocoides como *Chroococcidiopsis sp.* y *Dactylococcopsis sp.* y con bacterias sulfoxidantes bacilares parecidas a *Chromatium* y *Thiocystis*. Estos resultados preliminares han sido obtenidos tanto de las lagunas hiperalcalinas como para las hipersalinas, excepto en el Salar de Gorbea.

## CONCLUSIONES

Los experimentos de precipitación realizados hasta el momento han permitido confirmar, para los ambientes estudiados, la precipitación de diversos minerales según distintos metabolismos involucrados (Fig. 2):

1. Carbonatos magnésicos, al relacionarse con procesos degradativos de forma similar a lo que ocurre con los carbonatos cálcicos precipitados a partir de la degradación de la urea.
2. Sulfatos magnésicos y magnésico-sódicos en relación con actividades degradativas de la materia orgánica.
3. Carbonatos de calcio por incremento de pH, en la matriz de tapetes microbianos donde abundan microorganismos fotótrofos, que han sido descritos y confirmados previamente de forma extensa.

Se espera que los experimentos que están en desarrollo en la actualidad desvelen información adicional sobre los mecanismos de precipitación del azufre nativo y de algunos sulfatos como el yeso.

## AGRADECIMIENTOS

La colaboración del Centro de Biotecnología Profesor Alberto Ruiz (CBAR) de la Universidad Católica del Norte (UCN). El aporte del Proyecto CONICYT-POSTDOCTORADO/3190821, el Proyecto CGL2015-66455-R (MINECO-FEDER) que es parte del grupo de investigación UCM-910404 de la Universidad Complutense de Madrid, y el Proyecto 32002137 de la Donación Minera Escondida Ltda.

## REFERENCIAS

Cabestrero, Ó., del Buey, P. y Sanz-Montero, M.E. (2018): Biosedimentary and geochemical constraints on the precipitation of mineral crusts in shallow sulphate lakes. *Sedimentary Geology*, 366: 32-46.

Cortez-Rivera, P.A. (2014): *Caracterización geológica de los Salares Gorbea e Ignorado y su asociación con su microbiota*. Tesis de pregrado. Universidad Católica Del Norte, Antofagasta. 234 p.

Eugster, H.P. y Hardie, L.A. (1978): Saline Lakes. En: *Physics and chemistry of lakes* (A. Lerman, ed.). Springer Verlag, 237-293.

Gallagher, K.L., Kading, T.J., Braissant, O., Dupraz, C. y Visscher, P.T. (2012): Inside the alkalinity engine: the role of electron donors in the organomineralization potential of sulfate-reducing bacteria. *Geobiology*, 10(6): 518-530.

Konhauser, K. (2007): *Introduction to geomicrobiology*. Blackwell Publications, 425 p.

Machulás García, K.C., Chong, G., y Demergasso, C. (2008). *Desarrollo de microorganismos en rocas carbonáticas de paleofuentes termales; Sierra Vaquillas Altas y Sierra Candeleros, región de Antofagasta*. Tesis Doctoral 279. Universidad Católica Del Norte, Antofagasta.

Rodríguez-Albornoz, C.A. (2018): *Caracterización geológica del Salar de Pajonales y parte de su fauna microbiana (7.209.000–7.226.500N, -510.000–530.000E), Antofagasta, Norte de Chile*. Tesis de pregrado. Universidad Católica Del Norte, Antofagasta, 99 p.

Sánchez-Román, M., Vasconcelos, C., Warthmann, R., Rivadeneyra, M. y McKenzie, J.A. (2009): Microbial dolomite precipitation under aerobic conditions: results from Brejo do Espinho Lagoon (Brazil) and culture experiments. *Perspectives in Sedimentary Geology: A Tribute to the Career of Robert Nathan Ginsburg*, 41: 167-178.

Sanz-Montero, M.E., Cabestrero, Ó. y Sánchez-Román, M. (2019): Microbial Mg-rich carbonates in an extreme alkaline lake (Las Eras, Central Spain). *Frontiers in microbiology*, 10.

Warren, J.K. (2006). *Evaporites; Sediments, Sources and Hydrocarbons*: Springer Verlag, Berli

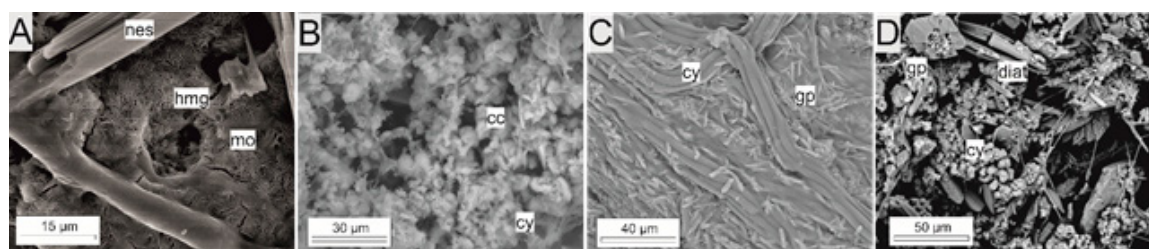


FIGURA 2. Microfotografías de algunos minerales precipitados en los tapices microbianos observados mediante microscopía electrónica de barrido. Abreviaturas: nes = nesquehonita, hmg = hidromagnesita, mo = materia orgánica, cc = calcita, cy = cianobacterias, gp = yeso, diat = diatomeas.