

# Revista de Investigación Geofísica: Biogeociencias

## ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

10.1029/2018JG004621

### Puntos clave:

- La diversidad microbiana de las salmueras del Salar de Atacama difiere según la concentración de litio
- Las salmueras con bajas concentraciones de litio fueron dominadas por Archaea, y las bacterias dominaron las salmueras con concentración de litio.
- Nuestra investigación reveló la presencia de vida microbiana en uno de los ambientes más salinos que se ha descrito en la Tierra

### Información de soporte:

- Información de apoyo S1

### Correspondencia a:

C. Dorador,  
cristina.dorador@uantof.cl

### Citación:

Cubillos, CF, Aguilar, P., Grágeda, M., & Dorador, C. (2018). Microbiano comunidades de la reserva de litio más grande del mundo, Salar de Atacama, Chile: Vida en altas concentraciones de LiCl. *Revista de Investigación Geofísica: Biogeociencias*, 123,3668–3681. <https://doi.org/10.1029/2018JG004621>

Recibido el 23 DE MAYO DE 2018 Aceptado el 18 DE

NOVIEMBRE DE 2018 Artículo aceptado en línea el 3 DE

DICIEMBRE DE 2018 Publicado en línea el 22 DE

DICIEMBRE DE 2018

## Comunidades microbianas de la reserva de litio más grande del mundo, Salar de Atacama, Chile: la vida en las alturas

### Concentraciones de LiCl



Carolina F Cubillos<sup>1,2,3</sup> , Pablo Aguilar<sup>4</sup> , Mario Grageda<sup>2</sup>  y Cristina Dorador<sup>1,3,5</sup> 

<sup>1</sup>Laboratorio de Complejidad Microbiana y Ecología Funcional, Instituto Antofagasta, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile, <sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Química y Procesos Minerales y Centro de Estudios Avanzados de Litio y Minerales Industriales (CELiMIN), Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile, <sup>3</sup>Centro de Biotecnología y Bioingeniería, Universidad de Chile, Santiago, Chile, <sup>4</sup>Grupo de Investigación de Ecología de Lagos y Glaciares, Departamento de Ecología, Universidad de Innsbruck, Innsbruck, Austria, <sup>5</sup>Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Biológicos, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile

**Resumen** El Salar de Atacama es uno de los mayores reservorios mundiales de salmueras naturales de litio (concentración media de litio = 1.500 ppm), lo que permite a Chile ser un productor líder de productos de litio. Este gran salar (3.000 km<sup>2</sup>), ubicado en el Desierto de Atacama a 2.300 m sobre el nivel del mar, está dominado por microorganismos; sin embargo, se sabe poco sobre los microbios presentes en las salmueras asociadas con este importante proceso minero económicamente. Aquí estudiamos el litio como modulador de la riqueza y diversidad microbiana en salmueras que representan condiciones naturales (34,7 % de salinidad) y condiciones previas a la producción de litio con una salmuera concentrada (55,6 % de salinidad). Las salmueras solo admitían una sola familia de arqueas (Halobacteriaceae): las salmueras naturales incluían los géneros de arqueas Halovenus, Natronomonas, Haloarcula, y Halobacteria. Las salmueras concentradas incluían los géneros archaeal Haloveno, Halobacterium, y Halococo. Las familias bacterianas más abundantes en salmuera natural fueron Rhodothermaceae y Staphylococcaceae; Xanthomonadaceae dominó la comunidad bacteriana en la salmuera concentrada. Una comparación de toda la comunidad microbiana (Archaea y Bacteria) reveló que solo se compartían siete unidades taxonómicas operativas entre las muestras, todas las cuales eran Archaea. Además, nuestros resultados mostraron que las bacterias eran filogenéticamente más diversas y ricas en la salmuera concentrada, mientras que la diversidad de arqueas se maximizaba en la salmuera natural. Las salmueras concentradas de litio del Salar de Atacama representan uno de los ambientes más salinos descritos hasta la fecha (dominado por LiCl).

**Resumen en lenguaje sencillo** El litio es un componente principal de muchas de las baterías en las que confiamos para nuestro uso diario. En los últimos años, casi el 40% de todo el litio obtenido a nivel mundial provino de un solo ecosistema frágil de lago salado: el Salar de Atacama en el desierto de Atacama en el norte de Chile. Este salar tiene aguas extremadamente salinas llamadas salmueras (dominadas por NaCl, también conocida como sal de mesa), que naturalmente tienen una alta concentración de litio y se concentran en estanques de evaporación. En total, las salmueras concentradas tienen una salinidad del 55,6 % (salinidad del océano = 0,3 %), lo que representa uno de los ambientes más salinos descritos en la Tierra hasta la fecha (dominado por cloruro de litio). Nuestra investigación ha demostrado que las salmueras concentradas sustentan la vida y están dominadas por cientos de especies de microorganismos. Debido al estrés salino, estos “extremófilos” han desarrollado estrategias muy especiales (y no descritas anteriormente) para sobrevivir en esta sopa de litio. Estos resultados tienen implicaciones más allá de la Tierra: tienen marcadas implicaciones para nuestra comprensión del potencial de vida en Marte, donde se sabe que el agua líquida se encuentra en forma de salmuera. Aunque la producción de litio tiene una clara importancia económica, nuestros resultados muestran que debemos considerar cómo preservaremos estos ecosistemas inusuales que actúan como reservorios de vida microbiana única.

## 1. Introducción

Ubicado en los Andes centrales del norte de Chile, el Salar de Atacama tiene una superficie de 3.000 km<sup>2</sup> (Lowenstein y Risacher, 2009). Se formó a principios del Cretácico superior como consecuencia de la inversión del arco posterior mesozoico y se encuentra a una altura de 2.300 m sobre el nivel del mar (Mpodozis et al., 2005).

Los hábitats acuáticos en el salar son altamente salinos, con salmueras dominadas por NaCl (Lowenstein & Risacher, 2009). Brevemente, las salmueras se definen como soluciones salinas concentradas que ocurren naturalmente en forma de lagunas costeras naturales, lagos de sal y de sosa, o como salinas artificiales o salinas (Trüper & Galinski, 1986) y típicamente se asocian con NaCl. Las salmueras del Salar de Atacama se forman bajo condiciones particulares que determinan no solo sus características físicas y químicas sino también la composición de sus comunidades microbianas. Estos sistemas salinos incluyen varios constituyentes diferentes: estos incluyen una fracción líquida, compuesta en gran parte por salmueras cloradas; una fracción detrítica, constituida por arenas, sales y arcillas entrelazadas en el cuerpo salino; y una fracción de sal, producido por la deposición de diferentes sales resultando en áreas dominadas por carbonato, sulfato y cloruros (Vila, 2010). De estas sales, el litio es importante en el Salar de Atacama, que exhibe algunas de las concentraciones de litio más altas reportadas en el mundo (Munk et al., 2016), con una concentración media de 1500 ppm (1,5 g/L) de Li (Habashi, 1997). Se ha estimado que el salar incluye reservas totales de litio superiores a 1.200.000 t (Vine, 1976).

El litio es un elemento metálico alcalino con un punto de fusión bajo (Habashi, 1997) y es el vigésimo séptimo elemento más abundante en la naturaleza (Aral & Vecchio-Sadus, 2008; Habashi, 1997). La mayor parte del litio se encuentra en salmueras naturales, y la mitad de todas las reservas mundiales se encuentran en tres países de América del Sur (Argentina, Bolivia y Chile; Del Barco & Foladori, 2014). En los últimos años, la extracción de litio de salmueras naturales ha aumentado notablemente: Chile domina la producción mundial con el Salar de Atacama como fuente principal. Aquí, el litio se extrae mediante el bombeo de salmueras en estanques de evaporación poco profundos, seguido de la evaporación en condiciones controladas que eliminan en gran medida otros componentes/iones (Gruber et al., 2011). En 2004, Garret demostró que la composición química de las salmueras naturales del Salar de Atacama está dominada por sodio (91 ppm), potasio (23.600 ppm), litio (1.570 ppm) y magnesio (9.650 ppm). La industria minera de la región aprovecha las altas tasas de evaporación (3.700 mm/año) y la radiación solar ( $6,3 \times 10^6$  cal/m<sup>2</sup>-día), combinado con bajas tasas de precipitación (10-25 mm/año), para permitir la extracción de litio (Garcés, 2000; Garrett, 2004). Durante la fase inicial del proceso de extracción (Figura S1), el litio se concentra de 0,12% a 6% en estanques de evaporación solar (Garcés, 2000; Garrett, 2004). Esta salmuera concentrada se transporta posteriormente a una planta de proceso químico, donde se obtiene como producto final el carbonato de litio. Aunque la composición química de las salmueras saladas del Salar de Atacama ha sido ampliamente estudiada (p. ej., Garcés, 2000; Garrett, 2004; Vila, 2010), se ha prestado poca atención a la vida microbiana asociada con estas salmueras. En particular, los estudios que examinan los efectos de altas concentraciones de litio en microorganismos,

Los ambientes hipersalinos han sido ampliamente estudiados, a menudo con un enfoque en sus composiciones salinas, alta salinidad y, en algunos casos, para comprender la composición de la comunidad microbiana. Algunos sitios han sido particularmente bien estudiados, incluido el Gran Lago Salado (dominado por NaCl; Brock, 1975), el Mar Muerto (MgCl<sub>2</sub>; Oren, 1992), Salar de Uyuni (NaCl/LiCl; Haferburg et al., 2017) y Lago Abu Gabara (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; Imhoff et al., 1978). Los organismos halófilos o amantes de la sal se clasifican como ligeros, moderados o extremos, dependiendo de las concentraciones de sales requeridas para su crecimiento (DasSarma & DasSarma, 2012). Generalmente, los principales grupos bacterianos detectados en ambientes salinos pertenecen a Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Actinobacteria y Bacteroidetes (Oren et al., 2014; Ventosa et al., 2015), y Euryarchaeota y Nanoarchaeota en Archaea (Mora-Ruiz et al., 2018; Ochsenreiter et al., 2002). En el caso de las salmueras de litio, solo se han reportado Halobacteriaceae, una familia dentro de Euryarchaeota (Haferburg et al., 2017).

El papel biológico del litio sigue sin estar claro y se ha descrito como un elemento que no parece ser esencial para la vida (Wakett et al., 2004). Tiene una capacidad notablemente alta para reemplazar otros cationes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, magnesio<sup>+2</sup> y Ca<sup>+2</sup>) en organismos vivos, debido a su reducido radio iónico y alta fuerza de polarización (Sapse & Schleyer, 1995; Shahzad et al., 2017). En el caso de las procariontes, se ha sugerido que algunos grupos fúngicos presentan mecanismos de resistencia o tolerancia frente al litio (de Assunção, 2012). Además, se han demostrado otros efectos del litio en las células microbianas, incluida la estimulación de la autólisis (Sugahara et al., 1983) y la esporulación (Warburg et al., 1985), así como la inhibición del crecimiento (Kurita & Funabashi, 1984; Takenishi & Takada, 1984). Por el contrario, el litio se ha utilizado como medio de crecimiento para el aislamiento de *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, y *Bifidobacteriasp.* (Cox et al., 1990; Lapierre et al., 1992; Minor & Marth, 1976), y existe evidencia de su acumulación en bacterias, actinomicetos, hongos y levaduras (Perkins & Gadd, 1993; Tsuruta, 2005). Además, se ha demostrado que *Micrococcus variantesssp.*

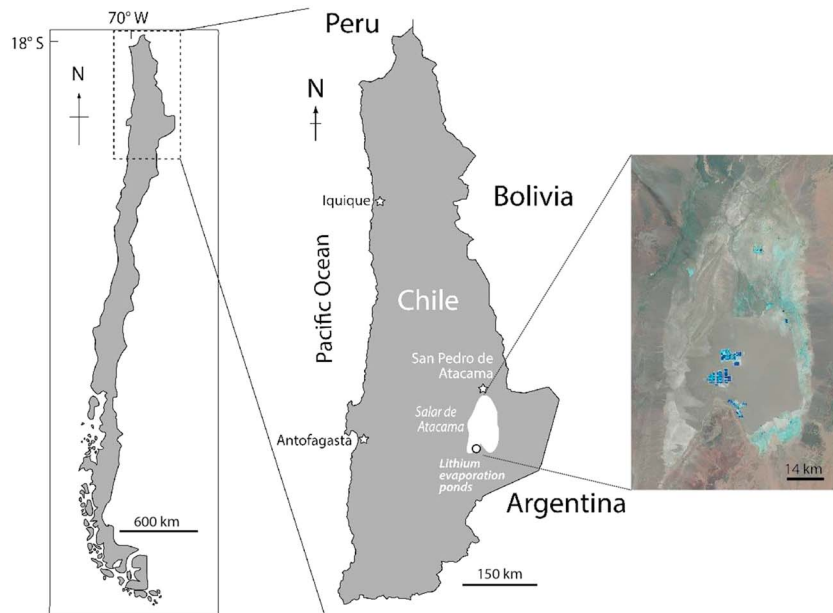


Figura 1. Mapa del Salar de Atacama e imagen satelital de pozas de evaporación del proceso de concentración de salmueras de litio (cuadrados azules; fuente EarthExplorer, US Geological Survey, <https://earthexplorer.usgs.gov/>).

halófilo, una bacteria halófila moderada, puede crecer en concentraciones de hasta 1.5 M de cloruro de litio (Kamekura & Onishi, 1982), uno de los valores más altos reportados.

A pesar del creciente interés en la extracción y uso del litio para producir electrodomésticos, existe poco conocimiento sobre la composición de las comunidades microbianas presentes en las salmueras de litio, las cuales pueden considerarse como un hábitat microbiano poco explorado. Los objetivos de este estudio son determinar y describir la diversidad y composición de Archaea y Bacterias presentes en salmueras naturales y concentradas altamente enriquecidas en litio del Salar de Atacama. También buscamos esclarecer el papel del litio como modulador de cambios en la diversidad microbiana asociados al proceso de concentración de salmueras en el Salar de Atacama. Por lo tanto, nuestros resultados describieron la composición de la comunidad microbiana de un entorno con altas concentraciones de sales que no son de NaCl, lo que puede ser clave para los enfoques en la búsqueda de vida extraterrestre, por ejemplo,

## 2. Métodos

### 2.1. Área de Estudio y Muestreo

El proceso industrial de extracción de litio de las salmueras del Salar de Atacama se inicia con la extracción de salmuera natural a una profundidad de 50 m ( $>31,5$  L/s) de la costra salina del Salar (Figura 1). Estas salmueras se depositan posteriormente en balsas de almacenamiento, donde las condiciones ambientales locales como la alta tasa de evaporación ( $3.200$  mm/año), mínima precipitación media ( $10$  mm/año) y elevadas concentraciones de radiación solar ( $6,3 \times 10^6$  cal $\cdot$ m $^{-2}$ ·día) permite la evaporación del agua y la cristalización/precipitación de sales en un proceso secuencial de 12 a 14 meses (Garcés, 2000). Aquí se analizaron dos muestras de diferentes tipos de salmueras: una salmuera natural con 0,16% de litio y una salmuera concentrada del proceso industrial con 8,12% de litio. Ambas salmueras son líquidas (Figura S2); sin embargo, la salmuera concentrada era muy viscosa con un tono amarillo. Se recolectaron cinco litros de cada salmuera directamente de las piscinas de evaporación (etapa inicial y final respectivamente) en agosto de 2014. Estudios previos han demostrado que las diferentes piscinas de evaporación exhiben una concentración salina creciente liderada por el litio (Garrett, 2004). Debido al acceso restringido (solo dos empresas principales producen litio en Chile) y las dificultades de muestreo en el Salar de Atacama, lamentablemente no fue posible muestrear todo el proceso. Sin embargo, esta es una de las primeras descripciones de comunidades microbianas asociadas con estanques de evaporación de litio.

## 2.2. Caracterización de Salmueras

Ambas salmueras se almacenaron a 4 °C en la oscuridad hasta su procesamiento. El litio, el magnesio, el sodio, el potasio y el calcio se midieron mediante espectrofotometría de absorción atómica de llama-aire por aspiración directa (Modelo 220FS-Varian, Inc.). Las mediciones de cloruro se realizaron a través del método argentométrico y, finalmente, la determinación de sulfato a sulfato a través del secado del residuo. Además, medimos acidez (análisis volumétrico ácido-base), conductividad (Metrohm conductividad-cinco anillos), densidad (Anton Paar, modelo DSA 5000 M), pH (781 pH/Ion Meter-Metrohm), salinidad (salinidad absoluta calculada a partir de análisis químico), tensión superficial (Lauda TD-3), sales disueltas totales (secado a 180 °C-SM 2540 C), carbono orgánico total (SM 5310 C), turbidez (Turbidímetro Zhifong, modelo WGZ-B), viscosidad (viscosímetro AVS 310 Schott Gerate), y la actividad del agua (centro Novasina aw, modelo AWC503-C; Asociación Estadounidense de Salud Pública, 1915). Paralelamente, medimos la presencia de solventes orgánicos, hidrocarburos y aceites en ambas salmueras (SM 5220 B).

## 2.3. Extracción de ADN y secuenciación masiva del gen 16S rRNA

Se usaron dos tratamientos para obtener ADN genómico a partir de muestras de salmuera. La primera consistió en filtrar 50 mL de ambas salmueras a través de filtros de 0,22 µm (Supor 200 Membrane Disc Filters, Pall Corporation). El segundo usó 1 ml de salmuera, que se transfirió directamente a un tubo PowerBead de 2 ml (MoBio Lab, Inc). A continuación, las muestras se homogeneizaron utilizando un batidor de perlas con 5 ciclos repetidos de 1 min. Posteriormente, se extrajo el ADN genómico de cada tratamiento para ambas salmueras utilizando el kit PowerBiofilm DNA Isolation (MoBio Lab, Inc), siguiendo el protocolo del fabricante. La concentración y la calidad del ADN se midieron con un espectrofotómetro Nanodrop (Nanodrop 8000, Thermo Scientific). La concentración de ADN fue mayor en el tratamiento filtrado para salmueras naturales (8,8 ng/µl), y en la extracción directa para salmueras concentradas (5,6 ng/µl); por lo tanto, estos tratamientos fueron elegidos para su posterior análisis. Las muestras de ADN se enviaron al Laboratorio de Investigación y Pruebas (Lubbock, Texas, EE. UU.) para la secuenciación de Illumina. Las muestras se amplificaron para la secuenciación en un proceso de dos pasos. El cebador directo se construyó con (5'-3') el cebador de secuenciación Illumina i5 (TCGTCCGGCAGCGTCAG ATGTGTATAAGAGACAG) y el cebador 515F (GTGCCAGCMCCGCGGTAA; Caporaso et al., 2011). El cebador inverso se construyó con (5'-3') el cebador de secuenciación Illumina i7 (GTCTCTGGGCTCGGAGAT GTGTATAAGAGACAG) y el cebador 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT; Caporaso et al., 2011). Las amplificaciones se realizaron en reacciones de 25 µl con mezcla maestra Qiagen HotStar Taq (Qiagen Inc, Valencia, California), 1 µl de cada cebador 5 µM y 1 µl de plantilla. Las reacciones se realizaron en termocicladores ABI Veriti (Applied Biosystems, Carlsbad, California) bajo el siguiente perfil térmico: 95 °C por 5 min, luego 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 54 °C por 40 s, 72 °C por 1 min, seguido de un ciclo de 72 °C durante 10 min y mantenimiento a 4 °C. Los productos de la primera etapa de amplificación se agregaron a una segunda PCR en función de las concentraciones determinadas cualitativamente. Los cebadores para la segunda PCR se diseñaron en base a los cebadores de PCR Illumina Nextera de la siguiente manera: Adelante: AATGATACGGGACCACCGAGATCTACAC [índice i5] TCGTCCGGCAGCGTC; Reverso: CAAGCAGAAGCGGCATACGAGAT [índice i7] GTCTCTGGGCTCGG. La amplificación de la segunda etapa se ejecutó igual que la primera etapa excepto por 10 ciclos. Los productos de amplificación se visualizaron con eGels (Life Technologies, Grand Island, Nueva York). A continuación, los productos se agruparon de forma equimolar y se seleccionó el tamaño de cada grupo en dos rondas usando Agencourt AMPure XP (BeckmanCoulter, Indianápolis, Indiana) en una proporción de 0,75 para ambas rondas. Los grupos seleccionados por tamaño se cuantificaron luego con el fluorómetro Qubit 2.0 (Life Technologies) y se cargaron en una celda de flujo Illumina MiSeq (Illumina, Inc. San Diego, California) 2 × 300 a 10 pM. Las lecturas de amplicones sin procesar se han depositado en el archivo de lectura de secuencias de NCBI con el número de registro SRP091434. La amplificación de la segunda etapa se ejecutó igual que la primera etapa excepto por 10 ciclos. Los productos de amplificación se visualizaron con eGels (Life Technologies, Grand Island, Nueva York). A continuación, los productos se agruparon de forma equimolar y se seleccionó el tamaño de cada grupo en dos rondas usando Agencourt AMPure XP (BeckmanCoulter, Indianápolis, Indiana) en una proporción de 0,75 para ambas rondas. Los grupos seleccionados por tamaño se cuantificaron luego con el fluorómetro Qubit 2.0 (Life Technologies) y se cargaron en una celda de flujo Illumina MiSeq (Illumina, Inc. San Diego, California) 2 × 300 a 10 pM. Las lecturas de amplicones sin procesar se han depositado en el archivo de lectura de secuencias de NCBI con el número de registro SRP091434. A continuación, los productos se agruparon de forma equimolar y se seleccionó el tamaño de cada grupo en dos rondas usando Agencourt AMPure XP (BeckmanCoulter, Indianápolis, Indiana) en una proporción de 0,75 para ambas rondas. Los grupos seleccionados por tamaño se cuantificaron luego con el fluorómetro Qubit 2.0 (Life Technologies) y se cargaron en una celda de flujo Illumina MiSeq (Illumina, Inc. San Diego, California) 2 × 300 a 10 pM. Las lecturas de amplicones sin procesar se han depositado en el archivo de lectura de secuencias de NCBI con el número de registro SRP091434. A continuación, los productos se agruparon de forma equimolar y se seleccionó el tamaño de cada grupo en dos rondas usando Agencourt AMPure XP (BeckmanCoulter, Indianápolis, Indiana) en una proporción de 0,75 para ambas rondas. Los grupos seleccionados por tamaño se cuantificaron luego con el fluorómetro Qubit 2.0 (Life Technologies) y se cargaron en una celda de flujo Illumina MiSeq (Illumina, Inc. San Diego, California) 2 × 300 a 10 pM. Las lecturas de amplicones sin procesar se han depositado en el archivo de lectura de secuencias de NCBI con el número de registro SRP091434. A continuación, los productos se agruparon de forma equimolar y se seleccionó el tamaño de cada grupo en dos rondas usando Agencourt AMPure XP (BeckmanCoulter, Indianápolis, Indiana) en una proporción de 0,75 para ambas rondas. Los grupos seleccionados por tamaño se cuantificaron luego con el fluorómetro Qubit 2.0 (Life Technologies) y se cargaron en una celda de flujo Illumina MiSeq (Illumina, Inc. San Diego, California) 2 × 300 a 10 pM. Las lecturas de amplicones sin procesar se han depositado en el archivo de lectura de secuencias de NCBI con el número de registro SRP091434.

## 2.4. Análisis de datos

Las lecturas de Illumina se procesaron con Mothur versión 1.27.0 (Schloss et al., 2009), siguiendo el procedimiento operativo estándar ([www.mothur.org/wiki/Miseq\\_SOP](http://www.mothur.org/wiki/Miseq_SOP)) (Schloss et al., 2011). El comando screen.seqs se usó para cortar secuencias y eliminar cualquier secuencia que no estuviera dentro del rango de 100 a 400 pb. Las secuencias se alinearon con la base de datos SILVA compatible con Mothur. Las quimeras fueron eliminadas usando UCHIME implementado en Mothur. Los comandos classify.seqs y remove.lineage se utilizaron para identificar y eliminar contaminantes clasificados como mitocondrial, cloroplasto, Eukarya y desconocido. En total, 47 865 lecturas de ambas salmueras estudiadas se agruparon en unidades taxonómicas operativas (OTU), con un nivel de divergencia del 3 % mediante el comando cluster.classic.

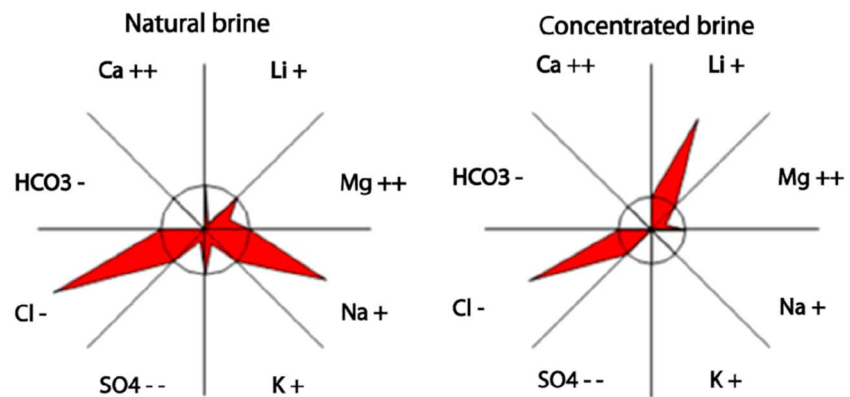


Figura 2. Diagramas de Maucha que caracterizan el contenido aniónico y catiónico de salmuera natural, con concentraciones de NaCl de 255 g/L; y salmuera concentrada, con concentraciones de LiCl de 495 g/L.

La exponencial de la entropía de Shannon de las muestras se usó para calcular la diversidad alfa de las muestras, de acuerdo con la integridad de la muestra en lugar de un tamaño de muestra igual (Chao & Jost, 2012) utilizando el paquete iNEXT en R, para calcular y trazar la rarefacción y la extrapolación sin interrupciones. curvas de muestreo para este índice de diversidad (Hsieh et al., 2016). Para probar las diferencias en la composición microbiana y las abundancias relativas, las muestras se submuestrearon aleatoriamente al mismo tamaño según la muestra con el menor número de lecturas. Se construyó un árbol filogenético de unión de vecinos relajado usando CLEARCUT (Evans et al., 2006) implementado en Mothur y visualizado a través de iTOL (<http://itol.embl.de/>) (Letunic & Bork, 2011).

Los archivos de taxonomía y compartidos de Mothur se convirtieron en un archivo de red de Cytoscape utilizando un script R personalizado (Neave et al., 2014). El conjunto de datos se utilizó sin singletons. La red que contiene OTU y muestras como nodos, y los bordes se dibujaron entre OTU y salmueras en las que se detectaron. El peso de la arista fue proporcional a la abundancia de la UTO. Las redes se visualizaron usando Cytoscape v3.5.0 (Shannon et al., 2003).

### 3. Resultados

#### 3.1. Características fisicoquímicas

Los principales iones detectados en la salmuera natural fueron sodio y cloruro, mientras que el litio y el cloruro dominaron las salmueras concentradas (Figura 2 y Tabla S1 en la información de respaldo) y las concentraciones de iones fueron marcadamente diferentes en las dos salmueras. Ambas salmueras fueron circumneutrales (pH natural = 6,9; concentrado = 7,3). Las salmueras eran hipersalinas (salinidad natural = 347; concentrada = 556 g/L; Tabla 1), sólidos disueltos totales (TDS natural = 348; concentrada = 566 g/L) y carbono orgánico total (TOC natural = 6,4; concentrada = 8,0 mg/L). La conductividad fue 4 veces mayor en las salmueras naturales que en las concentradas, reflejando el proceso de evaporación solar, que enriquece las salmueras en solutos (sales) y disminuye la cantidad de agua presente. Los valores de tensión superficial fueron similares en ambas salmueras (natural = 80; concentrada = 86 mN/m). La turbidez de la salmuera natural (2 NTU) fue menor que la registrada en las salmueras concentradas (82 NTU), mientras que las salmueras concentradas (26 mPa·s) fueron más viscosas que la natural (2 mPa·s). Las diferencias en composición y concentraciones de iones resaltan los efectos del proceso industrial involucrado en

tabla 1

Parámetros fisicoquímicos de registrados a partir de salmueras concentradas y naturales del Salar de Atacama, Chile

Muestras	Acidez (g/L)	Conductividad (mS/cm)	Densidad (g/ml)	dinámico viscosidad (mPa·s)	pH	Salinidad (g/L)	Superficie tensión (mN/m)	Turbiedad (UNT)	total disuelto sólidos (g/L)	orgánicos totales carbono (mg/L)	Agua actividad (aw)
salmuera concentrada	2 9.7	59	1.32	26.28	7.03	556.1	86.4	82	566.6	8.0	DAKOTA DEL NORTE
Salmuera natural	DAKOTA DEL NORTE	231	1.22	2.23	6,92	347,3	80.2	<2	348.8	6.4	0.74

Nota. Temperatura de medición 22–25 °C. ND no detectado.

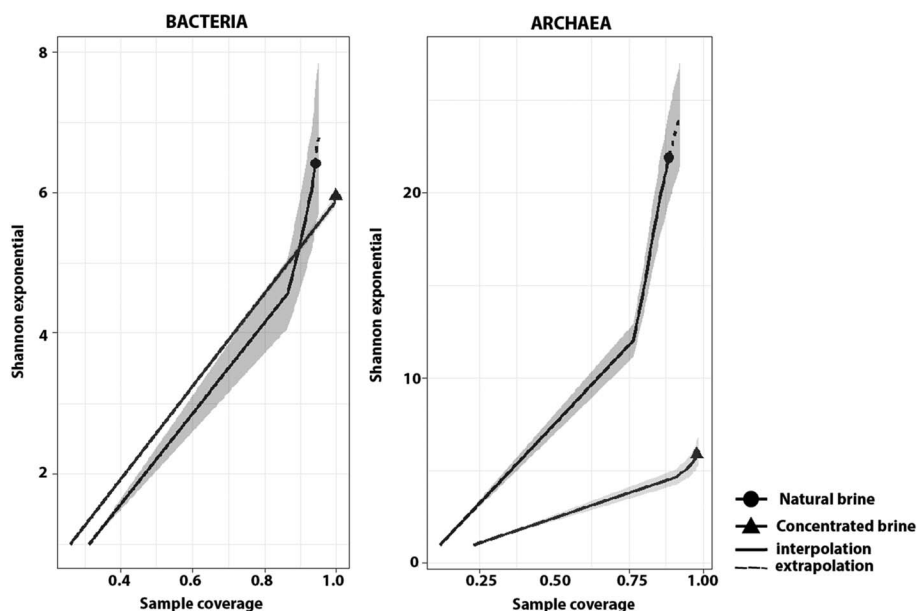


Figura 3.El índice exponencial de Shannon entre muestras. La sombra gris muestra intervalos de confianza estimados del 95 %.

concentrando las salmueras (Figura S1). No hubo concentraciones detectables de solventes orgánicos, hidrocarburos o aceites en ambas salmueras.

### 3.2. Diferencias en la estructura de la comunidad microbiana entre salmueras

Después de la limpieza posterior a la secuenciación, 591 lecturas (agrupadas en 50 OTU) se clasificaron como bacterias en la salmuera natural. De la salmuera concentrada se obtuvo un mayor número de lecturas (45.731 agrupadas en 158 OTUs). Por el contrario, en Archaea se obtuvieron 1.194 lecturas (agrupadas en 193 OTU) en la salmuera natural y 349 lecturas (agrupadas en 16 OTU) en la salmuera concentrada. La riqueza bacteriana fue 3 veces mayor en la salmuera concentrada en comparación con la natural, pero la diversidad bacteriana (índice exponencial de Shannon) fue similar en ambas salmueras (Figura 3). La diversidad de arqueas fue menor en la salmuera concentrada (Shannon = 6) en comparación con la salmuera natural (Shannon = 22). Este cambio en la composición de la comunidad microbiana de la salmuera se corroboró mediante la cuantificación del gen 16S rRNA de Archaea a través del análisis Q-PCR (datos no mostrados). Los patrones de riqueza microbiana que se muestran en las muestras se reflejaron en los resultados de las comparaciones filogenéticas: las bacterias fueron filogenéticamente más diversas en la salmuera concentrada (Figura 4a) y las arqueas fueron filogenéticamente más diversas en la salmuera natural (Figura 4b). Estos resultados muestran que las salmueras naturales están dominadas por Archaea, mientras que las bacterias dominan las salmueras concentradas.

### 3.3. Composición de la comunidad microbiana

Las salmueras naturales y concentradas solo admitían una sola familia de arqueas halófilas: las Halobacteriaceae, que diferían en abundancia relativa a nivel de género entre las dos salmueras (Figura S3a). Esto probablemente reflejó diferencias en la concentración de sales de cloruro de sodio y cloruro de litio. Los géneros de arqueas más abundantes (abundancia relativa) encontrados en salmuera natural fueron Halovenos (26,8%), Natronomonas (20,1%), haloarcula (14%), Halobacteria (13%), haloorientalis (4,6%), Halomicroarcula (1,7%), y halorubro (1,6%). Además, la salmuera natural incluía una abundancia relativa alta (17 %) de lecturas no clasificadas en la familia Halobacteriaceae. Otros géneros incluyendo Candidatus halobonum, halobellus, y Halococostuvieron presentes en abundancias relativas bajas (<1%).

En la salmuera concentrada, halovenofue el género de arqueas más abundante (41%), seguido de haloarcula, halomicroarculaynatronomonas, la cual mostró menor abundancia relativa con respecto a la salmuera natural. Además, las lecturas no clasificadas dentro de la familia Halobacteriaceae alcanzaron un 2,3 % de abundancia relativa en la salmuera concentrada. HalobacteriayHalococofueron los únicos géneros que mostraron una mayor abundancia en salmuera concentrada en relación con la salmuera natural. Esto fue particularmente marcado en halococo, lo que representó el 15% de las lecturas en salmueras concentradas y solo el 0,5% en salmueras naturales.

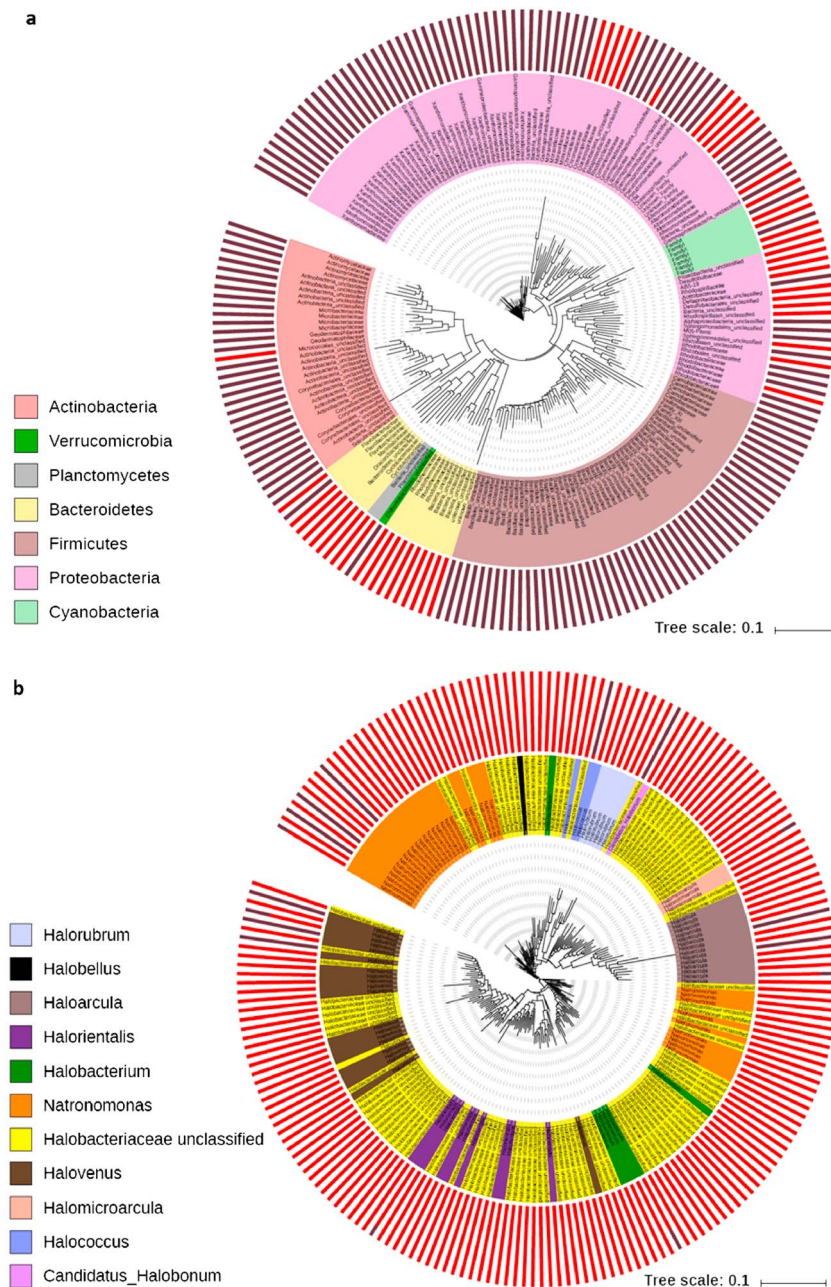


Figura 4. Relación filogenética de los taxones encontrados en las muestras. Los gráficos de barras en el anillo exterior muestran la abundancia de OTU en salmuera natural (rojo) y salmuera concentrada (marrón). (a) Dominio bacteriano; (b) Dominio de las arqueas. Tenga en cuenta que algunas OTU se producen en dos muestras. OTU = unidad taxonómica operativa.

Examinamos la composición de la comunidad bacteriana a nivel de familia (Figura S3b), debido a la gran cantidad de géneros bacterianos detectados. Solo se identificaron 34 familias en total y 19 grupos bacterianos se consideraron sin clasificar a nivel de orden. Juntas, las familias Rhodothermaceae (Bacteroidetes) y 2B4 (Gammaproteobacteria) aportaron el 65,1% de la composición bacteriana total en la salmuera natural. La familia Rhodothermaceae (56% de abundancia relativa) estuvo representada únicamente por el género *Salinibacter*: la familia 2B4 (9,1% de abundancia relativa) estuvo representada por géneros no clasificados. Sin embargo, otras familias también hicieron contribuciones considerables, incluida una familia no descrita, representada por el género *Halohalobacterium* realizó un aporte del 15,3% en la salmuera natural. Un total de 8,9% estuvo representado por lecturas no clasificadas asociadas al orden Oceanospirillales, y 2,7% estuvo representado por bacterias no clasificadas. Se detectaron otras familias pero con una abundancia relativa baja (<1%), incluyendo:

Rhodospirillaceae (0,8 %), Familia I (cianobacterias; 0,7 %), Desulfobulbaceae (0,7 %), Xanthomonadaceae (0,5 %), Chromatiaceae (0,5 %), Cyclobacteriaceae (0,3 %), Draconibacteriaceae (0,3 %), Rhodobacteraceae (0,3 %), Flavobacteriaceae (0,3 %), Alteromonadaceae (0,2 %), Carnobacteriaceae (0,2 %), Marinilabiaceae (0,2 %), Oceanospirillaceae (0,2 %) y Planctomycetaceae (0,2 %).

Se observó una composición de la comunidad bacteriana marcadamente diferente en la salmuera concentrada en relación con la salmuera natural, por ejemplo, no se detectó la familia Rhodothermaceae, y las familias Xanthomonadaceae (abundancia relativa = 39,8 %) y Staphylococcaceae (26,9 %) dominaron la comunidad bacteriana. Dentro de las Xanthomonadaceae, el 99,9% de las lecturas no estaban clasificadas; El 99,9% de las lecturas asociadas a Staphylococcaceae se relacionaron con el género *Stafilococo*. Además, se detectó Actinobacteria no clasificada con un 17% de abundancia relativa. Otras familias, incluidas Actinomycetaceae, Carnobacteriaceae, Family\_XI (Cyanobacteria) y Rhodobacteraceae, se detectaron en abundancias relativas bajas (entre 1,8 % y 2,4 %). Se detectaron otras catorce familias a partir de salmuera concentrada con muy baja abundancia relativa (<1%). Se clasificaron como Acetobacteraceae, Bacillaceae, Comamonadaceae, Corynebacteriaceae, Familia XIII (Cyanobacteria), Geodermatophilaceae, Litoricolaceae, Microbacteriaceae, Moraxellaceae, Paenibacillaceae, Pseudomonadaceae, Rhodocyclaceae, Solirubrobacteraceae y Veillonellaceae. De las lecturas clasificadas a nivel de familia, el 61% no estaban clasificadas a nivel de género.

Una comparación de las comunidades microbianas (Archaea y Bacteria) recuperadas de los dos tipos de salmuera mostró que solo se encontraron siete OTU en común (Figura S4): todas eran Archaea (*Halobacterium*, *Natronomonas*, *Halomicroarcula*, *Halorientalis*, *Halococcus*, *Haloarcula*, y *Halovento*).

#### 4. Discusión

Examinamos dos salmueras de litio (salmueras naturales y concentradas): mostraron composiciones marcadamente diferentes en términos tanto de su fisicoquímica como de sus comunidades microbianas. Las principales diferencias fisicoquímicas entre las dos salmueras fueron la viscosidad y la turbidez, donde fueron mayores en la salmuera concentrada, dándole un tono amarillo y un carácter aceitoso. Valores elevados en estos parámetros se han asociado con altas concentraciones de sales (Jones & Talley, 1933; Onsager & Samaras, 1934). Entonces un y li- (iones principales de las salmueras) se consideran agentes de salmuera, ya que disminuyen la solubilidad de los solutos no polares en agua (Breslow & Guo, 1990; Kunz et al., 2004) e inducen el orden en la estructura del agua al aumentar la número de enlaces de hidrógeno, lo que aumenta la viscosidad de la solución (Zangi, 2009). Este último efecto se pudo observar en las medidas de viscosidad en salmueras (Cuadro 1). Además, la tensión superficial en ambas salmueras (80–86 mN/m) fue alta en comparación con los valores registrados en el agua de mar (72,93 mN/m; Matubayasi et al., 2001).

La reducción de la disponibilidad de agua en ambientes hipersalinos representa un estrés fundamental para los sistemas celulares (Hallsworth et al., 2003). El más bajo el valor de crecimiento registrado hasta la fecha es de 0,4 (Steinle et al., 2018). En este estudio observamos que la salmuera natural presentaba valores de  $\mu$  de 0,74. Sin embargo, no fue posible estimar este parámetro a partir de salmuera concentrada, debido a la alta concentración de sales (>500 g/L), valor 14 veces superior a la concentración media de sal en los océanos contemporáneos (35 g/L; Gargaud, 2011). En cualquier entorno dado, la salinidad depende de varios factores, incluida la tasa de evaporación (más evaporación resulta en un aumento de la concentración de sal) y la precipitación (más precipitación resulta en una disminución de la concentración de sal; Mahajan & Tuteja, 2005). Los valores de salinidad obtenidos en este estudio se compararon con los de los lagos más hipersalinos del mundo (Tabla S2; Arabbeigi et al., 2014; Berube et al., 2007; Bratina et al., 1998; Brock, 1979; Craig, 1969; Dickson et al., 2013; Eder et al., 2001; Haynes & Hammer, 1978; Herbst, 1998; Jiang et al., 2006; Larsen, 1980; Quiroz et al., 2015; Rawson y Moore, 1944; Risacher y Fritz, 1991; Svaletta et al., 2011). Esto reveló que la salmuera natural del Salar de Atacama puede considerarse uno de los ambientes naturales más hipersalinos del mundo (dominado por NaCl), además de los lagos Wadi Natrun (Zugm, Rizunia; Imhoff et al., 1979) y el lago Assal (Brisou et al., 1974). Las salmueras concentradas de litio del Salar de Atacama representan uno de los ambientes más salinos descritos hasta la fecha (dominado por LiCl), seguida de la salmuera Discovery, dominada por MgCl (1979) y el lago Assal (Brisou et al., 1974). Las salmueras concentradas de litio del Salar de Atacama representan uno de los ambientes más salinos descritos hasta la fecha (dominado por LiCl), seguida de la salmuera Discovery, dominada por MgCl (1979) y el lago Assal (Brisou et al., 1974). Las salmueras concentradas de litio del Salar de Atacama representan uno de los ambientes más salinos descritos hasta la fecha (dominado por LiCl), seguida de la salmuera Discovery, dominada por MgCl<sub>2</sub> (Yakimov et al., 2015). Además, se ha reportado que el cloruro de litio presenta una solubilidad muy alta (820 g/L a 20 °C) (Thies et al., 2002), lo que explica las altísimas salinidades que alcanzan estas salmueras.

Existe una extensa literatura que describe la presencia de varios taxones que viven en condiciones extremadamente salinas (por ejemplo, Brisou et al., 1974; Imhoff et al., 1979; Pedrós-Alió, 2004; Trüper & Galinski, 1986; Ventosa et al., 1998).); sin embargo, la salinidad en estos estudios típicamente refleja sales de sodio. Se ha informado que las salinas dominadas por NaCl están dominadas por Euryarchaeota (Kambourova et al., 2016; Maturrano et al., 2006) y



Gammaproteobacteria (Maturrano et al., 2006; Yeon et al., 2005), y mostrar una alta diversidad de arqueas (Andrei et al., 2012; Kambourova et al., 2016), similar a nuestros resultados, donde Euryarchaeota domina la salmuera natural. Sin embargo, esto no ocurre en salmueras con otras composiciones químicas. Para salmueras ricas en  $\text{CaCO}_3$ , la diversidad microbiana suele estar dominada por Deltaproteobacteria y Alphaproteobacteria (Foti et al., 2008). En el caso de un lago de salmuera de aguas profundas en el Mar Mediterráneo rico en  $\text{MgCl}_2$ , el ambiente estaba dominado por bacterias de Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria y Epsilonproteobacteria sobre Archaea (van der Wielen et al., 2005). Además, una investigación reciente ha detectado la presencia de los primeros miembros haloalcalifílicos del candidato Phyla Radiation en sedimentos de lagos de sosa ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), así como la dominancia de Firmicutes, Bacteroidetes y Gammaproteobacteria sobre Archaea (Vavourakis et al., 2018).

Es probable que la composición relativa de las sales no sea la única influencia selectiva sobre la diversidad microbiana en ambientes hipersalinos, sino que el estado físico y la disponibilidad de agua (p. ej., salmuera o roca) también juegan un papel importante. En el caso de las rocas-halita encontradas en el Salar de Atacama, su composición salina (casi en su totalidad  $\text{NaCl}$ ) es similar a la salmuera natural aquí estudiada. Sin embargo, su composición microbiana está característicamente adaptada a la sal, por ejemplo, Cyanobacteriasp., Salinibactersp., Halococosp., y Halorhabdussp. (Robinson et al., 2015) y es notablemente diferente de la alta diversidad de arqueas que se observa en la salmuera natural.

Antes de este estudio, poco se sabía sobre la microbiota asociada a las lagunas de evaporación de litio en el Salar de Atacama. Un informe sugirió que las salmueras extremadamente salinas (40% y 70% de salinidad) del Salar de Atacama estaban desprovistas de vida (Pedrós-Alió, 2004), y otro informe mostró la presencia de Archaea pero no de bacterias en este tipo de estanques (Demergasso et al., 2004). Recientemente, Haferburg et al. (2017) examinaron la diversidad microbiana en salmueras naturalmente ricas en litio del Salar de Uyuni, Bolivia (salinidad  $\leq 356$  g/L), reportando únicamente la presencia de Archaea en sus salmueras. Estos grupos microbianos también se encontraron en nuestro estudio, pero reportamos la presencia de ambos dominios Bacteria y Archaea (Figuras 4 y S3), en salmueras hipersalinas de litio del Salar de Atacama (salinidad = 556 g/L). Los diferentes resultados con respecto a la presencia de bacterias probablemente reflejen diferencias metodológicas, dado que los resultados de la secuenciación de alto rendimiento dependen en gran medida de la elección del cebador (Klinworth et al., 2013).

La alta abundancia relativa de Salinibactersp. (56%) que se encuentran en la salmuera natural (dominada por  $\text{NaCl}$ ) han sido ampliamente descritas, ya que es una bacteria típica reportada en ambientes hipersalinos (Antón et al., 2000; del Mora-Ruiz et al., 2017; Maturrano et al., 2006). Las principales familias detectadas en las salmueras concentradas fueron Staphylococcaceae (99,9%) y Xanthomonadaceae-sin clasificar (99,9%). Se ha informado que algunas Staphylococcaceae muestran halotolerancia (Daoud et al., 2013). Es más, Estafilococosp. han sido aisladas de un lago hipersalino y salinas solares que tienen  $\text{NaCl}$  como sal principal (Brisou et al., 1974; Ghozlan et al., 2006). Sin embargo, a nuestro entender, la presencia de Estafilococo sp. en ambientes hipersalinos de litio, así como su capacidad halófila, no ha sido reportada hasta el momento. Otro resultado sorprendente fue el elevado número de lecturas no clasificadas de la familia Xanthomonadaceae, ya que estos grupos no son grupos típicos en ambientes con una concentración de sal extremadamente alta; por el contrario, las cepas de Xanthomonas se han aislado de suelos contaminados y aguas residuales (Chang & Zylstra, 2010).

El proceso de concentración de salmuera por evaporación y posterior recolección de sales resultó en un cambio en la composición salina de la salmuera natural (concentración alta en sodio/litio baja) a una salmuera concentrada en litio (concentración baja en sodio/litio alta). Además, este cambio resultó en un marcado cambio en la diversidad microbiana en las salmueras inicial/final del proceso, con Archaea como la más filogenéticamente diversa en la salmuera natural, y Bacteria como la más filogenéticamente diversa en la salmuera concentrada de litio (Figuras 4a y 4b). Sin embargo, Archaea fue el único grupo compartido en ambos (Figura S4). Postulamos que el factor que impulsa la tolerancia a los cambios en la composición y concentración de sal en estos microorganismos es su estructura externa. Archaea halófilas como Halobacterium salinarum tener una capa superficial (Scapa), compuesta de una sola especie de proteína o glicoproteína (Albers & Meyer, 2011). Estas estructuras celulares incluyen grandes cantidades de aminoácidos cargados negativamente, incluidos el aspartato y el glutamato (Bullock, 2000). Cuando los halófilos están presentes en ambientes salinos como las salmueras, los iones de sodio neutralizan las cargas negativas de los grupos carboxilo, evitando la lisis celular (Trachtenberg et al., 2000). Esto podría explicar cómo la salmuera natural tiene una mayor riqueza en Archaea; sin embargo, esto puede verse afectado cuando las concentraciones de sodio disminuyen en los estanques de evaporación, lo que resulta en una disminución de Archaea y un aumento proporcional posterior de Bacteria.

En salmueras de estanques de evaporación, el litio se puede considerar como un agente estresante que actúa sobre la diversidad microbiana seleccionando microorganismos intolerantes al litio. Esto podría explicar la ausencia de extremadamente halófila

bacterias como *Salinibacter* sp. y *Halomonas* sp. (Haferburg et al., 2017) a partir de salmuera concentrada. *Estafilococcus* sp., *Xantomonass* sp., y *Archaea* presentes en la salmuera concentrada probablemente desarrollarían nuevas estrategias para sobrevivir a altas concentraciones de litio. En el caso de Bacteria, un aislado tolerante al litio clasificado como *Rhodococcus* sp. (Urbano et al., 2013) mostró la sobreexpresión de enzimas, como la proteasa degradadora de proteínas mal plegadas o dañadas y proteínas relacionadas con un proceso de transcripción y traducción, como respuesta al estrés osmótico (Belfiore et al., 2017). Paralelamente, la acumulación intracelular de solutos compatibles podría ser clave para la supervivencia, reflejando el estrés osmótico de la sal de sodio no solo en los halófilos (Oren, 2010) sino también en el caso del litio. Las bacterias aeróbicas halotolerantes y halofílicas utilizan una estrategia de osmoadaptación de "salida salina", o la acumulación de solutos osmóticos para evitar el estrés salino (Oren et al., 2002). No obstante, se ha informado que *Salinibacter* ruber muestran una estrategia de osmoadaptación "sal-in" (similar al orden Halobacteriales; *Archaea*). En condiciones de crecimiento, cuando la concentración de NaCl es superior a 200 g/L, estas células bacterianas acumulan K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> concentraciones intracelulares (Oren et al., 2002). Esto podría explicar la gran abundancia de *Salinibacter* en salmueras naturales (donde la concentración y proporción de Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> son altos y similares, respectivamente) y la ausencia de este género en salmueras concentradas, donde las concentraciones de sodio disminuyen y las de cloruro aumentan drásticamente. Además, la estrategia salt-in puede considerarse como un método de osmoadaptación inflexible y muy específico (Welsh, 2000), ya que todo proceso intracelular debe ser funcional a altas concentraciones de NaCl; por lo tanto, el cambio en la composición química de las salmueras (proceso de evaporación del pensamiento) también podría actuar como una fuerza selectiva sobre la comunidad microbiana. La presencia de manchas de proteínas para glutamina sintetasa, glicerol-3-fosfato deshidrogenasa (GDPH) y glicina deshidrogenasa en *Rhodococcus* sp., cultivadas en litio, podrían revelar información sobre estrategias de resistencia al litio, a través de la acumulación y síntesis de glutamina, glicerol y glicina, como solutos compatibles y chaperonas químicas para el correcto plegamiento de proteínas (Belfiore et al., 2017; Diamant et al., 2001). Otra posible estrategia para sobrevivir en altas concentraciones de litio podría ser la acumulación extracelular de litio. Esto está respaldado por un estudio previo, que demostró que las bacterias Gram positivas son capaces de acumular las mayores concentraciones de litio, a diferencia de las bacterias Gram negativas, los hongos o las levaduras, debido a la presencia de ácidos teicoicos en sus paredes celulares (Tsuruta, 2005). Esta acumulación de litio por bacterias podría considerarse como un mecanismo de tolerancia al litio, como se describió previamente para otros metales (Lemire et al., 2013). Sin embargo, hasta la fecha, *Archaea*.

La vida microbiana que se encuentra en los ecosistemas extremos contemporáneos puede proporcionar información sobre cómo evolucionó la vida temprana debido a las similitudes con las condiciones ambientales del pasado (Gutiérrez-Preciado et al., 2018). Por ejemplo, los tapetes microbianos ubicados en el desierto de Atacama se han considerado como un análogo de los principales ambientes precámbricos (Gutiérrez-Preciado et al., 2018). Además, considerando los iones dominantes en este estudio (Cl<sup>-</sup>, Li<sup>+</sup> y Na<sup>+</sup>) y el nivel de delicuescencia de las sales y la actividad del agua presente en los sistemas salinos (Dávila et al., 2010), sugerimos que cada ambiente salino extremo representa un patrón específico de vida microbiana que puede proporcionar evidencia sobre la ecología y geología de los antiguos ecosistemas. Aunque extremadamente complicado, los intentos de obtener vida microbiana antigua probablemente proporcionarán información adicional importante sobre los mecanismos de supervivencia y adaptación, por ejemplo, relacionados con la composición iónica de entornos naturales como los lagos salinos de la Antártida (Matsubaya et al., 1979).

Los salares (cuencas salinas cerradas) del norte de Chile están bajo amenaza continua, en gran parte asociada con la extracción de agua para apoyar la minería, o la explotación directa de sus sales (Li y B). La extracción de sal se encuentra en las primeras etapas de desarrollo y aumentará considerablemente en el futuro cercano para respaldar las demandas del desarrollo industrial comercial y doméstico, especialmente las relacionadas con las baterías de iones de litio para automóviles eléctricos.

Es importante resaltar que la vida microbiana, que representa a los principales organismos presentes en estos ambientes extremos, requiere protección en un marco de conservación. Nuestros resultados demuestran claramente la singularidad del Salar de Atacama como un hábitat inusual y distintivo para los microorganismos. Las características únicas de estos entornos son importantes no solo para la comprensión de los microorganismos que habitan en altas concentraciones de LiCl, sino también para otras áreas, incluida la astrobiología. Por ejemplo, la presencia de sales hidratadas (higroscópicas) como el sulfato de magnesio (Crisler et al., 2012), percloratos de sodio y calcio en los suelos marcianos (Ojha et al., 2015) podría ser clave para el desarrollo de la vida.

En las últimas décadas, el Desierto de Atacama ha sido objeto de un mayor interés por la investigación astrobiológica, en gran parte debido a la presencia de suelos "similares a Marte" (Bull et al., 2016; Navarro-González et al., 2003). Estos suelos albergan comunidades microbianas halófilas activas (Ojha et al., 2015; Oren, 2013), específicamente en áreas con alta

concentraciones de NaCl, como las rocas de halita (Robinson et al., 2015). La presencia de abundantes depósitos de sales de magnesio y sodio (cationes mayoritarios), así como de sulfatos y cloruros (aniones mayoritarios) en Marte (Clark & van Hart, 1981; Forte et al., 2016); y la abundante presencia de litio en meteoritos (Shima & Honda, 1963) y estrellas, incluido el Sol (Grevesse, 1968), presentan potencialmente importantes similitudes químicas con las salmueras estudiadas en esta investigación.

Nuestros resultados muestran una diversidad bacteriana notablemente más alta en salmueras concentradas en relación con las salmueras naturales, combinada con los efectos delicuescentes del cloruro en ambientes secos (como el desierto de Atacama) para apoyar una comunidad microbiana activa en Halita (donde a una humedad relativa específica la corteza se transforma a salmueras; Dávila et al., 2010), tienen implicaciones para la vida potencial en Marte. No es demasiado difícil creer que las salmueras profundas (Orosei et al., 2018) y los depósitos ricos en cloruro de Terra Sirenum (Glotch et al., 2010) de Marte podrían representar un hábitat adecuado para bacterias existentes o extintas (similares a las salmueras concentradas de litio). Si está presente, la vida microbiana marciana probablemente muestre una estrategia de osmoadaptación de sal, lo que permite flexibilidad para la variación en la composición iónica y la disponibilidad de agua.

En consecuencia, proponemos que las salmueras del Salar de Atacama podrían representar un modelo futuro útil para estudios que examinen los mecanismos de resistencia biológica en condiciones limitantes de la vida, así como posibles indicadores biológicos para la búsqueda y probable desarrollo de vida extraterrestre.

#### Expresiones de gratitud

Agradecemos a Esteban Severino, Patricio Muñoz, Drina Vejar, Vinko Zadjelovic, Vladimir Ávalos y Lucy Muruchi por sus importantes comentarios. Un agradecimiento especial a Rodrigo Arriaza, Nicolás Miranda y Chris Harrod por las correcciones en inglés y la figura.

producción para calcular la producción. A Patricia Castillo, Elsa Flores, Teófilo Graber y Verónica Molina por la asistencia técnica. Finalmente, nuestro agradecimiento a Johannes F. Imhoff por sus valiosos comentarios que nos ayudaron a mejorar el manuscrito y a ambos revisores por sus útiles comentarios. Los datos utilizados se enumeran en la sección 2. Contribuciones de los autores: CFC preparó las muestras para el análisis, CFC y PA ejecutaron el análisis bioinformático y escribieron la mayor parte del manuscrito, y MG y CD contribuyeron con la redacción. CD y MG obtuvieron financiación para el proyecto. Todos los autores han leído y aprobado este manuscrito. Financiamiento: Este trabajo fue apoyado por una Beca de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica de Chile para Estudios de Doctorado (CONICYT-PCHA/ Doctorado Nacional/2014-21140165) a CFC El apoyo adicional provino de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (FONDECYT 1140179; Centro CeBIB FB 0001) a CD y el Centro de Investigación de Energía Solar FONDAP (15110019) a MGPA cuenta con el apoyo de becas de doctorado de la Universidad de Innsbruck (Austria) y la Corporación Cultural Norte Grande (Universidad de Antofagasta, Chile). Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés. cuenta con el apoyo de becas de doctorado de la Universidad de Innsbruck (Austria) y la Corporación Cultural Norte Grande (Universidad de Antofagasta, Chile). Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés. cuenta con el apoyo de becas de doctorado de la Universidad de Innsbruck (Austria) y la Corporación Cultural Norte Grande (Universidad de Antofagasta, Chile). Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

#### Referencias

- Albers, SV y Meyer, BH (2011). La envoltura celular de las arqueas. *Nature Reviews Microbiología*, 9(6), 414-426. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2576>
- Asociación Estadounidense de Salud Pública. (1915). Asociación Estadounidense de Obras Hidráulicas, Federación de Control de la Contaminación del Agua y Medio Ambiente del Agua Federación. Métodos estándar para el examen de agua y aguas residuales (Vol. 2). Asociación Estadounidense de Salud Pública.
- Andrei, A.S., Banciu, HL y Oren, A. (2012). Viviendo con sal: Diversidad metabólica y filogenética de arqueas que habitan ecosistemas salinos. *Cartas de microbiología FEMS*, 330 (1), 1-9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02526.x>
- Antón, J., Rosselló-Mora, R., Rodríguez-Valera, F., & Amann, R. (2000). Bacterias extremadamente halófilas en estanques cristalizadores de salinas solares. *Microbiología Ambiental y Aplicada*, 66(7), 3052-3057. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.7.3052-3057.2000>
- Arabbegi, M., Arzani, A., Majii, MM, Kiani, R., Tabatabaei, BES y Habibi, F. (2014). Tolerancia a la salinidad de *Aegilops cylindrica* genotipos recolectados de costas hipersalinas de Uremia Salt Lake utilizando rasgos fisiológicos y marcadores SSR. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(8), 2243-2251. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1602-0>
- Aral, H. y Vecchio-Sadus, A. (2008). Toxicidad del litio para los humanos y el medio ambiente: una revisión de la literatura. *Ecotoxicología y Seguridad Ambiental*, 70(3), 349-356. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.026>
- Belfiore, C., Curia, MV, & Fariás, ME (2017). Caracterización de *Rhodococcus* sp. A5 wh aislado de un lago andino de gran altura para desentrañar la estrategia de supervivencia bajo estrés por litio. *Revista Argentina de Microbiología*. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.005>
- Berube, D., Diebel, P., Rollin, A. y Stark, D. (2007). Estanques de evaporación mineros masivos construidos en el desierto chileno. *Geosintéticos*, 25(1), 1-6.
- Bratina, BJ, Stevenson, BS, Green, WJ y Schmidt, TM (1998). Reducción de manganeso por microbios de las regiones óxicas del lago Vanda (Antártida) columna de agua. *Microbiología Ambiental y Aplicada*, 64(10), 3791-3797.
- Breslow, R. y Guo, T. (1990). Las mediciones de la tensión superficial muestran que los desnaturalizantes caotrópicos de la salazón no son solo propiedades de la estructura del agua. *Interruptores Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*, 87(1), 167-169.
- Brisou, J., Courtois, D. y Denis, F. (1974). Estudio microbiológico de un lago hipersalino en la Somalilandia francesa. *Diario de Microbiología Aplicada*, 27(5), 819-822.
- Brock, TD (1975). Salinidad y ecología de *Dunaliella* del Gran Lago Salado. *Microbiología*, 89(2), 285-292. <https://doi.org/10.1099/00221287-89-2-285>
- Brock, TD (1979). Ecología de los lagos salinos. En M. Shilo (Ed.), *Estrategias de la vida microbiana en ambientes extremos* (págs. 29-47). Berlín: Dahlem Konferenzen.
- Bull, AT, Asenjo, JA, Goodfellow, M. y Gómez-Silva, B. (2016). El Desierto de Atacama: Recursos técnicos y la creciente importancia de Nueva diversidad microbiana. *Revisión anual de microbiología*, 70, 215-234. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095236>
- C. (2000). Las arqueas: una perspectiva bioquímica. *Educación en bioquímica y biología molecular*, 28 (4), 186-191. <https://doi.org/10.1111/j.1539-3429.2000.tb00142.x>
- Caporaso, JG, Lauber, CL, Walters, WA, Berg-Lyons, D., Lozupone, CA, Turnbaugh, PJ, et al. (2011). Patrones globales de diversidad de ARNr 16S a una profundidad de millones de secuencias por muestra. *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*, 108(Suplemento\_1), 4516-4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107>
- Chang, HK y Zylstra, GJ (2010). Xanthomonads. En KN Timmis (Ed.), *Manual de microbiología de hidrocarburos y lípidos*. Berlín, Heidelberg: Saltador.
- Chao, A. y Jost, L. (2012). Extrapolación y rarefacción basadas en la cobertura: estandarización de muestras por integridad en lugar de tamaño. *Ecología*, 93, 2533-2547. <https://doi.org/10.1890/11-1952.1>
- Clark, BC y van Hart, DC (1981). Las sales de Marte. *Ícaro*, 45(2), 370-378. [https://doi.org/10.1016/0019-1035\(81\)90041-5](https://doi.org/10.1016/0019-1035(81)90041-5)
- Cox, L., Dooley, D. y Nestik, A. (1990). Efecto del crecimiento de cloruro de litio de *Listeria* spp. *Revista Internacional de Microbiología Alimentaria*, 7, 311-325. Craig, H. (1969). Geoquímica y origen de las salmueras del Mar Rojo. En *Salmueras calientes y depósitos recientes de metales pesados en el Mar Rojo* (págs. 368-401). Berlín Heidelberg: Springer.
- Crisler, JD, Newville, TM, Chen, F., Clark, BC y Schneegurt, MA (2012). Crecimiento bacteriano a altas concentraciones de sulfato de magnesio encuentra en suelos marcianos. *Astrobiología*, 12(2), 98-106. <https://doi.org/10.1089/ast.2011.0720>
- Daoud, L., Kamoun, J., Ali, MB, Jallouli, R., Bradai, R., Mechichi, T., et al. (2013). Purificación y caracterización bioquímica de un halotolerante *Staphylococcus* sp. lipasa extracelular. *Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas*, 57, 232-237. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.03.018>

- DasSarma, S. y DasSarma, P. (2012). halófilos. En *Enciclopedia de las ciencias de la vida* (págs. 175–186). Nueva York: John Wiley.
- Davila, AF, Duport, LG, Melchiorri, R., Jänchen, J., Valea, S., de los Rios, A., et al. (2010). Sales higroscópicas y el potencial de vida en Marte. *Astrobiología*, 10(6), 617–628. <https://doi.org/10.1089/ast.2009.0421>
- de Assunção, LS, da Luz, JMR, da Silva, MDCS, Vieira, PAF, Bazzolli, DMS, Vanetti, MCD, & Kasuya, MCM (2012). Enriquecimiento de hongos: Una estrategia interesante para la adquisición de litio. *Química de los alimentos*, 134(2), 1123–1127. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.044>
- Del Barco, R. y Foladori, G. (2014). Nanotecnología y Litio: ¿Una ventana de oportunidad para Bolivia? Avances y Desafíos. Papel presentado en la 6.ª Conferencia Científica Internacional sobre Desarrollo Económico y Social y en la 3.ª Conferencia EDS de Europa del Este: Business Continuity Book of Proceedings: 283, Viena, Austria.
- del Mora-Ruiz, MR, Cifuentes, A., Font-Verdera, F., Pérez-Fernández, C., Fariás, ME, González, B., et al. (2017). Patrones biogeográficos de comunidades bacterianas y arqueales de ambientes hipersalinos distantes. *Microbiología Sistemática y Aplicada*, 10(2), 139–150. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2017.10.006>
- Demergasso, C., Casamayor, EO, Chong, G., Galleguillos, P., Escudero, L., & Pedrés-Alíó, C. (2004). Distribución de la genética procariótica diversidad en lagunas athalassohalinas del Desierto de Atacama, Norte de Chile. *FEMS Microbiología Ecología*, 48(1), 57–69. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2003.12.013>
- van der Wielen, PWJJ, Bolhuis, H., Borin, S., Daffonchio, D., Corselli, C., Giuliano, L., et al. (2005). El enigma de la vida procariótica en profundidad cuencas anóxicas hipersalinas. *Ciencias*, 307(5706), 121–123. <https://doi.org/10.1126/science.1103569>
- Diamant, S., Eliahu, N., Rosenthal, D. y Goloubinoff, P. (2001). Las chaperonas químicas regulan las chaperonas moleculares in vitro y en células bajo Estrés combinado de sal y calor. *Revista de química biológica*, 276 (43), 39 586–39 591. <https://doi.org/10.1074/jbc.M103081200> Dickson, JL, Head, JW, Levy, JS y Marchant, DR (2013). Estanque Don Juan, Antártida: CaCl cercano a la superficie-salmuera que alimenta la mayor parte de la salinidad de la Tierra lago e implicaciones para Marte. *Informes científicos*, 3(1), 1166. <https://doi.org/10.1038/srep01166>
- Eder, W., Jahnke, LL, Schmidt, M. y Huber, R. (2001). Diversidad microbiana de la interfaz salmuera-agua de mar de Kebrut Deep, Mar Rojo, estudiada a través de secuencias del gen 16S rRNA y métodos de cultivo. *Revista de Microbiología Ambiental y Aplicada*, 67(7), 3077–3085. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.3077-3085.2001>
- Evans, J., Sheneman, L. y Foster, J. (2006). Unión relajada de vecinos: un método rápido de construcción de árboles filogenéticos basado en la distancia. *Diario de Evolución molecular*, 62(6), 785–792. <https://doi.org/10.1007/s00239-005-0176-2>
- Forte, E., Dalle Fratte, M., Azzaro, M. y Guglielmin, M. (2016). Salmueras presaturadas en la Antártida continental como posible análogo de Marte. *Informes científicos*, 6, 33158. <https://doi.org/10.1038/srep33158>
- Foti, MJ, Sorokin, DY, Zacharova, EE, Pimenov, NV, Kuenen, JG y Muyzer, G. (2008). Diversidad bacteriana y actividad a lo largo de una salinidad gradiente en lagos de soda de la estepa Kulunda (Altai, Rusia). *Extremófilos*, 12(1), 133–145. <https://doi.org/10.1007/s00792-007-0117-7>
- Garcés, I. (2000). *Minerales Industriales: Boro, Litio, Salitre y sus derivados. Recursos, Procesos asociados, Mercados y Usos*. Registro N°13602, Universidad de Antofagasta. Chile.
- Gargaud, M. (2011). *Enciclopedia de astrobiología*. Francia: Springer.
- Garret, DE (2004). *manual de litio y cloruro de calcio natural*. Ámsterdam: Prensa académica.
- Ghozlan, H., Deif, H., Kandil, RA y Sabry, S. (2006). Biodiversidad de bacterias moderadamente halófilas en hábitats hipersalinos en Egipto. *Diario de Microbiología General y Aplicada*, 52(2), 63–72. <https://doi.org/10.2323/jgam.52.63>
- Glotch, TD, Bandfield, JL, Tornabene, LL, Jensen, HB y Seelos, FP (2010). Distribución y formación de cloruros y filosilicatos en Terra Sirenum, Marte. *Cartas de investigación geofísica*, 37, L16202. <https://doi.org/10.1029/2010GL044557>
- Grevesse, N. (1968). Abundancia solar de litio, berilio y boro. *Física solar*, 5(2), 159–180.
- Gruber, PW, Medina, PA, Keoleian, GA, Kesler, SE, Everson, MP y Wallington, TJ (2011). Disponibilidad mundial de litio. *Revista de Industrias Ecológicas*, 15(5), 760–775. <https://doi.org/10.1111/j.1530-9290.2011.00359.x>
- Gutiérrez-Preciado, A., Saghai, A., Moreira, D., Zivanovic, Y., Deschamps, P., & López-García, P. (2018). Cambios funcionales en los tapetes microbianos recapitulando las primeras transiciones metabólicas de la Tierra. *Naturaleza Ecología y Evolución*, 1, 1700–1708. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0683-3>
- Habashi, F. (1997). *Manual de metalurgia extractiva*. Alemania: Wiley-Vch.
- Haferburg, G., Gröning, JA, Schmidt, N., Kummer, NA, Erquicia, JC y Schlömann, M. (2017). Diversidad microbiana de los hipersalinos y Salar de Uyuni, Bolivia, rico en litio. *Investigación microbiológica*, 199, 19–28. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.02.007>
- Hallsworth, JE, Heim, S. y Timmis, KN (2003). Los solutos caotrópicos causan estrés hídrico en *Pseudomonas putida*. *microbiología ambiental*, 5(12), 1270–1280. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2003.00478.x>
- Haynes, RC y Hammer, UT (1978). Los lagos salinos de Saskatchewan IV. Producción primaria por fitoplancton en ecosistemas salinos seleccionados. *Revista Internacional de Hidrobiología*, 63(3), 337–351. <https://doi.org/10.1002/iroh.19780630304>
- Herbst, DB (1998). Limitaciones potenciales de salinidad en la fijación de nitrógeno en sedimentos de Mono Lake, California. *Revista Internacional de la Sal Investigación del lago*, 7(3), 261–274. <https://doi.org/10.1007/BF02441878>
- Hsieh, TC, Ma, KH y Chao, A. (2016). Interpolación y extrapolación para diversidad de especies, paquete R versión 2.0.12. Disponible en <http://CRAN.R-project.org/package=iNEXT>
- Imhoff, JF, Hashwa, F. y Trüper, HG (1978). Aislamiento de bacterias fototróficas extremadamente halófilas del alcalino Wadi Natrun, Egipto. *Archiv für Hydrobiologie*, 84, 381–388.
- Imhoff, JF, Sahl, HG, Soliman, GS y Trüper, HG (1979). El Wadi Natrun: composición química y evolución de la masa microbiana en salmueras alcalinas de lagos desérticos eutróficos. *Revista de geomicrobiología*, 1(3), 219–234. <https://doi.org/10.1080/01490457909377733> Jiang, H., Dong, H., Zhang, G., Yu, B., Chapman, LR y Fields, MW (2006). Diversidad microbiana en agua y sedimentos del lago Chaka, un lago atalassohalino en el noroeste de China. *Revista de Microbiología Ambiental y Aplicada*, 72(6), 3832–3845. <https://doi.org/10.1128/AEM.02869-05>
- Jones, G. y Talley, SK (1933). La viscosidad de las soluciones acuosas en función de la concentración. *Revista de la Sociedad Química Estadounidense*, 55(2), 624–642. <https://doi.org/10.1021/ja01329a024>
- Kambourova, M., Tomova, I., Boyadzhieva, I., Radchenkova, N. y Vasileva-Tonkova, E. (2016). Diversidad arqueológica inusualmente alta en un Crystallizer Pond, Pomorie Salterns, Bulgaria, revelado por análisis filogenético. *Arqueas*, 2016, 7459679. <https://doi.org/10.1155/2016/7459679>
- Kamekura, M. y Onishi, H. (1982). Cationes asociados a células del halófilo moderado *Micrococcus varians* ssp. *halophilus* crecido en medios de altas concentraciones de LiCl, NaCl, KCl, RbCl o CsCl. *Revista canadiense de microbiología*, 28 (2), 155–161. <https://doi.org/10.1139/m82-020>
- Klinworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplis, J., Quast, C., Horn, M. y Glöckner, F. (2013). Evaluación de la PCR general del gen del ARN ribosomal 16S cebadores para estudios de diversidad basados en secuenciación clásicos y de próxima generación. *Investigación de ácidos nucleicos*, 41 (1), e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>

- Kunz, W., Henle, JWNB y Ninham, BW (2004). 'Zur Lehre von der Wirkung der Salze' (sobre la ciencia del efecto de las sales): Franz Documentos históricos de Hofmeister. *Opinión actual en ciencia de interfaces y coloides*, 9(1), 19–37. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.05.005> Kurita, N. y Funabashi, M. (1984). Efecto inhibitorio del crecimiento sobre hongos de cationes alcalinos y aniones inorgánicos monovalentes y antagonismo entre diferentes cationes alcalinos. *Química Agrícola y Biológica*, 48(4), 887–893. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.48.887> Lapierre, L., Undeland, P. y Cox, LJ (1992). Agar de cloruro de litio-propionato de sodio para el recuento de bifidobacterias en fermentados productos lácteos. *Revista de Ciencias Lácteas*, 75(5), 1192–1196. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)77866-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)77866-7)
- Larsen, H. (1980). Ecología de ambientes hipersalinos. *Avances en sedimentología*, 28, 23–39. [https://doi.org/10.1016/S0070-4571\(08\)70227-9](https://doi.org/10.1016/S0070-4571(08)70227-9)
- Lemire, JA, Harrison, JJ y Turner, RJ (2013). Actividad antimicrobiana de los metales: mecanismos, dianas moleculares y aplicaciones. *Naturaleza Reseñas Microbiología*, 11(6), 371–384. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3028>
- Letunic, I. y Bork, P. (2011). Interactive Tree Of Life v2: anotación en línea y visualización de árboles filogenéticos de forma sencilla. *Investigación de ácidos nucleicos*, 39(suplemento\_2), 475–478. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr201>
- Lowenstein, TK y Risacher, F. (2009). Evolución de la salmuera en cuenca cerrada y la influencia de las aguas de entrada de Ca-Cl: Death Valley y Bristol Dry Lago California, Cuenca Qaidam, China y Salar de Atacama, Chile. *Geoquímica acuática*, 15(1-2), 71–94. <https://doi.org/10.1007/s10498-008-9046-z>
- Mahajan, S. y Tuteja, N. (2005). Estrés por frío, salinidad y sequía: una visión general. *Archivos de Bioquímica y Biofísica*, 444(2), 139–158. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>
- Matsubaya, O., Sakai, H., Torii, T., Burton, H. y Kerry, K. (1979). Lagos salinos antárticos: proporciones isotópicas estables, composiciones químicas y evolución. *Geoquímica et Cosmochimica Acta*, 43(1), 7–25. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(79\)90042-5](https://doi.org/10.1016/0016-7037(79)90042-5)
- Matubayasi, N., Tsunetomo, K., Sato, I., Akizuki, R., Morishita, T., Matuzawa, A. y Natsukari, Y. (2001). Cantidades termodinámicas de superficie formación de soluciones electrolíticas acuosas: IV. Haluros de sodio, mezclas de aniones y agua de mar. *Revista de ciencia de interfaces y coloides*, 243 (2), 444–456. <https://doi.org/10.1006/jcis.2001.7890>
- Maturrano, L., Santos, F., Rosselló-Mora, R., & Antón, J. (2006). Diversidad microbiana en las salinas de Maras: Un ambiente hipersalino en el Perú Andes. *Revista de Microbiología Ambiental y Aplicada*, 72(6), 3887–3895. <https://doi.org/10.1128/AEM.02214-05> Minor, TE y Marth, EH (1976). Estafilococos y su importancia en los alimentos. *Ámsterdam, Oxford: Elsevier Scientific Publishing*. Mora-Ruiz, MDR, Cifuentes, A., Font-Verdera, F., Pérez-Fernández, C., Fariás, ME, González, B., et al. (2018). Patrones biogeográficos de comunidades bacterianas y arqueales de ambientes hipersalinos distantes. *Microbiología sistemática y aplicada*, 41(2), 139–150. Mpodozis, C., Arriagada, C., Basso, M., Roperch, P., Cobbold, P. y Reich, M. (2005). Estratigrafía del Mesozoico tardío al Paleógeno del Salar de Cuenca de Atacama, Antofagasta, Norte de Chile: Implicaciones para la evolución tectónica de los Andes Centrales. *Tectonofísica*, 399(1), 125–154. <https://doi.org/10.1016/j.tecto.2004.12.019>
- Munk, LA, Hynek, SA, Bradley, D. y Jochens, H. (2016). Salmueras de litio: una perspectiva global. *Geología Económica*, 18, 339–365. Navarro-González, R., Rainey, FA, Molina, P., Bagaley, DR, Hollen, BJ, de la Rosa, J., et al. (2003). Suelos marcianos en el desierto de Atacama, Chile. y el límite seco de la vida microbiana. *Ciencias*, 302(5647), 1018–1021. <https://doi.org/10.1126/science.1089143>
- Neave, M., Luter, H., Padovan, A., Townsend, S., Schobben, X. y Gibb, K. (2014). Múltiples enfoques para el seguimiento de fuentes microbianas en zonas tropicales el norte de Australia. *Microbiología*, 3(6), 860–874. <https://doi.org/10.1002/mbo3.209>
- Ochsenreiter, T., Pfeifer, F. y Schleper, C. (2002). Diversidad de Archaea en ambientes hipersalinos caracterizada por molecular-filogenético y estudios de cultivo. *extremófilos*, 6(4), 267–274. <https://doi.org/10.1007/s00792-001-0253-4>
- Ojha, L., Wilhelm, MB, Murchie, SL, McEwen, AS, Wray, JJ, Hanley, J., et al. (2015). Evidencia espectral de sales hidratadas en pendiente recurrente lineal en Marte. *Geociencias de la naturaleza*, 8(11), 829–832. <https://doi.org/10.1038/ngeo2546>
- Onsager, L. y Samaras, NN (1934). La tensión superficial de los electrolitos de Debye-Hückel. *Revista de física química*, 2 (8), 528–536. <https://doi.org/10.1063/1.1749522>
- Orén, A. (1992). Actividades bacterianas en el Mar Muerto, 1980–1991: Supervivencia en el límite superior de salinidad. *Revista internacional de Salt Lake Investigación*, 1(1), 7–20. <https://doi.org/10.1007/BF02904949>
- Orén, A. (2010). Aplicaciones industriales y medioambientales de los microorganismos halófilos. *Tecnología Ambiental*, 31(8-9), 825–834. <https://doi.org/10.1080/09593330903370026>
- Orén, A. (2013). La vida en ambientes hipersalinos ricos en magnesio y calcio: estrés salino por iones caotrópicos. En J. Seckbach, A. Oren y H. Stan-Lotter (Eds.), *Poliextremófilos: la vida bajo múltiples formas de estrés* (págs. 217–232). Dordrecht, Países Bajos: Springer. Oren, A., Bardavid, RE y Mana, L. (2014). Perclorato y procarioras halófilas: implicaciones para la posible vida halófila en Marte. *Extremófilos*, 18(1), 75–80. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0594-9>
- Oren, A., Haldal, M., Norland, S. y Galinski, EA (2002). Las concentraciones intracelulares de iones y solutos orgánicos de las bacterias extremadamente halófilas *Terium Salinibacter ruber*. *extremófilos*, 6(6), 491–498. <https://doi.org/10.1007/s00792-002-0286-3>
- Orosei, R., Lauro, SE, Pettinelli, E., Cicchetti, A., Coradini, M., Cosciotti, B., et al. (2018). Evidencia de radar de agua líquida subglacial en Marte. *ciencia*, 361(6401), 490–493. <https://doi.org/10.1126/science.aar7268>
- Pedros-Alíó, C. (2004). Ecología trófica de salinas solares. En *Microorganismos halófilos* (págs. 33–48). Berlín, Heidelberg: Springer. Perkins, J. y Gadd, GM (1993). Acumulación y compartimentación intracelular de iones de litio en *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMA Cartas de microbiología*, 107 (2-3), 255–260. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1993.tb06039.x>
- Quiroz, M., Triadó-Margarit, X., Casamayor, EO, & Gajardo, G. (2015). Comparación de asociaciones *Artemia*-bacteria en salmueras, laboratorio culturas y el ambiente intestinal: un estudio basado en ambientes hipersalinos chilenos. *Extremófilos*, 19(1), 135–147. <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0694-1>
- Rawson, DS y Moore, JE (1944). Los lagos salinos de Saskatchewan. *Revista canadiense de investigación en enfermería*, 22 (6), 141–201. <https://doi.org/10.1139/cjr44d-011>
- Risacher, F. y Fritz, B. (1991). Evolución geoquímica cuaternaria de los salares de Uyuni y Coipasa, Altiplano Central, Bolivia. *Químico Geología*, 90(3-4), 211–231. [https://doi.org/10.1016/0009-2541\(91\)90101-V](https://doi.org/10.1016/0009-2541(91)90101-V)
- Robinson, CK, Wierzbos, J., Black, C., Crits-Christoph, A., Ma, B., Ravel, J., et al. (2015). Diversidad microbiana y presencia de algas en halita Las comunidades endolíticas están correlacionadas con la humedad atmosférica en la zona hiperárida del Desierto de Atacama. *Microbiología Ambiental*, 17(2), 299–315. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12364>
- Sapse, AM y Schleyer, PVR (Eds) (1995). *Química del litio: una descripción teórica y experimental*. Nueva York: John Wiley. Schloss, PD, Gevers, D. y Westcott, SL (2011). Reducción de los efectos de la amplificación de PCR y los artefactos de secuenciación en 16S rRNA-based estudios. *PLoS Uno*, 6(12), e27310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027310>
- Schloss, PD, Westcott, SL, Ryabin, T., Hall, JR, Hartmann, M., Hollister, EB, et al. (2009). Presentamos a momur: plataforma de código abierto software independiente respaldado por la comunidad para describir y comparar comunidades microbianas. *Microbiología Ambiental y Aplicada*, 75(23), 7537–7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>

- Shahzad, B., Mughal, MN, Tanveer, M., Gupta, D. y Abbas, G. (2017). ¿Es el litio biológicamente un elemento importante o tóxico para los órganos vivos? ismos? Una visión general. *Investigación de Ciencias Ambientales y Contaminación*, 24(1), 103–115. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7898-0> Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, NS, Wang, JT, Ramage, D., et al. (2003). Cytoscape: un entorno de software para modelos integrados de redes de interacción biomolecular. *Investigación del genoma*, 13 (11), 2498–2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- Shima, M. y Honda, M. (1963). Abundancia isotópica de litio meteorítico. *Revista de Investigación Geofísica*, 68 (9), 2849–2854. <https://doi.org/10.1029/JZ068i009p02849>
- Steinle, L., Knittel, K., Felber, N., Casalino, C., de Lange, G., Tessarolo, C., et al. (2018). La vida al límite: comunidades microbianas activas en el Tanque de salmuera Kryos MgCl 2 con actividad de agua muy baja. *Revista ISME*, 12. [https://doi.org/10.1038/s41396-018-0107-z\(6\)](https://doi.org/10.1038/s41396-018-0107-z(6)), 1414–1426.
- Svaletta, N., Barbieri, R., Cevenini, F. y López-García, P. (2011). Condiciones fisicoquímicas y diversidad microbiana asociadas a la depósitos de evaporitas en la Laguna de la Piedra (Salar de Atacama, Chile). *Revista de geomicrobiología*, 28 (1), 83–95. <https://doi.org/10.1080/01490451003653102>
- Sugahara, I., Hayashi, K., Kimura, T. y Jinno, C. (1983). Estudios sobre bacterias marinas productoras de enzimas líticas-IX: Efecto de las sales inorgánicas en el autólisis de células bacterianas capaces de producir enzima lítica. *Boletín de la Facultad de Pesca-Universidad Mie (Japón)*, 10,33–39. Takenishi, M. y Takada, H. (1984). Efecto de los iones de litio sobre el crecimiento de mutantes deficientes respiratorios de *Saccharomyces cerevisiae* en medio suministrado con galactosa como única fuente de carbono. *Revista Internacional de Agentes Antimicrobianos*, 12,323–328.
- Thies, H., Nickus, U., Arnold, C. y Psenner, R. (2002). Un experimento de trazador hidrológico con LiCl en un lago de alta montaña. *Hidrológico Procesos*, 16(12), 2329–2337. <https://doi.org/10.1002/hyp.1004>
- Trachtenberg, S., Pinnick, B. y Kessel, M. (2000). La capa de glicoproteína de la superficie celular del halófilo extremo *Halobacterium salinarum* y su relación con *Haloferax volcanii*: tomografía crioeléctrica de células sustituidas por congelación y estudios de proyección de envolturas teñidas negativamente. *Revista de Biofísica y Biología Estructural*, 130(1), 10–26. <https://doi.org/10.1006/jsbi.2000.4215>
- Truper, HG y Galinski, EA (1986). Las salmueras concentradas como hábitat de microorganismos. *Ciencias de la vida celular y molecular*, 42 (11), 1182–1187. <https://doi.org/10.1007/BF01946388>
- Tsuruta, T. (2005). Eliminación y recuperación de litio utilizando diversos microorganismos. *Revista de Biociencia y Bioingeniería*, 100(5), 562–566. <https://doi.org/10.1263/jbb.100.562>
- Urbano, SB, Albarracín, VH, Ordoñez, OF, Fariás, ME, & Alvarez, HM (2013). Almacenamiento de lípidos en extremófilos de lagos andinos de gran altitud y su movilización bajo condiciones de estrés en *Rhodococcus* sp. A5, una actinobacteria resistente a los rayos UV. *Extremófilos*, 17(2), 217–227. <https://doi.org/10.1007/s00792-012-0508-2>
- Vavourakis, CD, Andrei, AS, Mehrshad, M., Ghai, R., Sorokin, DY y Muyzer, G. (2018). Una hoja de ruta metagenómica para lo inculto Diversidad del genoma en sedimentos hipersalinos de lagos de soda. *Microbioma*, 6(1), 168. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0548-7> Ventosa, A., de la Haba, RR, Sánchez-Porro, C., & Papke, RT (2015). Diversidad microbiana de ambientes hipersalinos: una metagenómica Acercarse. *Opinión actual en microbiología*, 25,80–87. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.05.002>
- Ventosa, A., Nieto, JJ y Oren, A. (1998). Biología de bacterias aeróbicas moderadamente halófilas. *Revisión de Microbiología y Biología Molecular*, 62(2), 504–544.
- Vila, T. (2010). Geología de los depósitos salinos andinos, Provincia de Antofagasta, Chile. *Geología Andina*, 2. <https://doi.org/10.5027/andgeoV2n1-a05>
- Vid, JD (1976). Recursos y requerimientos de litio para el año 2000 (No. 1005). Estados Unidos, Gobierno de EE. Impresión. Apagado.,
- Wackett, LP, Dodge, AG y Ellis, LB (2004). La genómica microbiana y la tabla periódica. *Revista de Microbiología Ambiental y Aplicada*, 70(2), 647–655. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.2.647-655.2004>
- Warburg, RJ, Moir, A. y Smith, DA (1985). Influencia de los cationes de metales alcalinos en la germinación de esporas de mutantes de tipo salvaje y gerD de *Bacillus subtilis*. *Microbiología*, 131(2), 221–230. <https://doi.org/10.1099/00221287-131-2-221>
- Galés, DT (2000). Importancia ecológica de la acumulación de solutos compatibles por microorganismos: desde células individuales hasta el clima global. *FEMA Revisión de microbiología*, 24 (3), 263–290. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00542.x>
- Yakimov, MM, la Cono, V., Spada, GL, Bortoluzzi, G., Messina, E., Smedile, F., et al. (2015). Comunidad microbiana del lago de salmuera de aguas profundas La interfaz de agua de mar y salmuera de Kryos está activa por debajo del límite de caotropicidad de la vida, como lo revela la recuperación del ARNm. *Microbiología Ambiental*, 17(2), 364–382. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12587>
- Yeon, SH, Jeong, WJ y Park, JS (2005). La diversidad de bacterias organotróficas cultivables de las salinas solares locales. *revista de microbiología*, 43(1), 1–10.
- Zangi, R. (2009). ¿Pueden los iones salting-in/salting-out clasificarse como caotrops/cosmotrops? *Revista de química física B*, 114 (1), 643–650. <https://doi.org/10.1021/jp909034c>