

**ANALISIS BIOINFORMATICO COMPARATIVO DEL CONJUNTO DE
GENES DEL FOTOSISTEMA I, II, Y ATP SINTETASA DE LAS
CIANOBACTERIAS**

ADRIÁN CAMILO RODRÍGUEZ ARARAT

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO BIOLOGÍA
POPAYÁN
2009

ANALISIS BIOINFORMATICO COMPARATIVO DEL CONJUNTO DE GENES DEL
FOTOSISTEMA I, II, Y ATP SINTETASA DE LAS CIANOBACTERIAS

ADRIÁN CAMILO RODRÍGUEZ ARARAT

Trabajo de Grado para Optar al Título de Biólogo

Directora
PATRICIA EUGENIA VELEZ VARELA
M.Sc

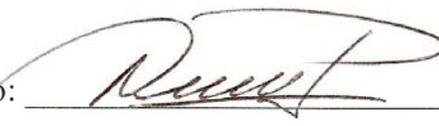
Asesor
PEDRO ANTONIO MORENO TOVAR
Ph.D.

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO BIOLOGÍA
POPAYÁN
2009

Nota de aceptación

A probado.

Director: Patricia E. Velez U.
Mg. PATRICIA E. VELEZ

Jurado: 
Mg. NILZA VELASCO PALOMINO

Jurado: 
Mg. LEONIDAS ZAMBRANO

A mi Familia que me apoyó, me enseñó a superar los obstáculos y a lograr mis objetivos inspirándome a seguir progresando.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Patricia E. Vélez y Pedro A. Moreno, Directores de este proyecto por haber sido los maestros y amigos que me ofrecieron su visión y valiosas orientaciones en mi formación como persona y hombre de ciencia.

Reconozco encarecidamente a cada uno de los integrantes del grupo “de Biología Molecular Ambiental y Cáncer (BIMAC)”, su compañía, sus valiosos consejos y palabras de aliento que me acompañaron en la realización de este proyecto.

A mis amigos, las familias Ararat, Rodríguez Fory, Zapata Caldas, Ochoa Cajiao, Rodríguez Aguilar, Ramírez Gutiérrez, Marín Casanova, Moreno Vélez, los cuales aportaron los granitos de arena que hicieron que el camino de la vida fuese un goce de pies descalzos y experiencias nuevas.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	
INTRODUCCIÓN	
1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
2. OBJETIVO GENERAL	3
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. HIPÓTESIS	4
4. MARCO TEÓRICO	5
4.1 LA FOTOSÍNTESIS	5
4.1.2 <i>transformación de energía en el aparato fotosintético</i>	5
4.1.3 <i>Organismos fotosintéticos</i>	6
4.2 FOTOSÍNTESIS OXIGENICA	7
4.2.2 <i>Plantas</i>	7
4.2.4 <i>Sistema fotoquímico primario del centro de reacción del FSII y FSI.</i>	7
4.2.5 <i>Transporte de Electrones</i>	9
4.2.6 <i>Síntesis de ATP</i>	10
4.2.7 <i>Eficiencia de la conversión de energética en el aparato fotosintético</i>	10
4.2.8 <i>Fotosíntesis oxigénica en algas</i>	10
4.2.9 <i>La fotosíntesis oxigénica bacterial</i>	11
4.3 FOTOSÍNTESIS ANOXIGENICA	12
4.3.1 <i>Bacterias Purpuras</i>	13
4.3.2 <i>Bacterias verdes sulfurosas</i>	14
4.3.3 <i>Bacterias verdes no sulfurosas</i>	14
4.3.4 <i>Heliobacterias</i>	15
4.4 CIANOBACTERIAS	16
4.4.1 <i>Características generales</i>	16
4.4.2 <i>Algunos ejemplos de cianobacterias</i>	17
4.4.3 <i>Ecotipos</i>	18
4.4.4 <i>Historia</i>	19
4.5 CLASIFICACIÓN Y FILOGENIA CLÁSICA DE LAS CIANOBACTERIAS	20

4.5.1 <i>Clasificación Taxonómica</i>	20
4.6 La filogenia molecular de las cianobacterias	21
4.6.1 <i>Perfil filogenético basado en RNA Ribosomal</i>	22
4.7 GENÓMICA COMPARATIVA	24
4.8 RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA	24
4.8.1 <i>Secuencias de ADN.</i>	27
4.8.2 <i>Alineamiento de secuencias</i>	27
4.8.4 <i>Recolección de datos</i>	28
4.8.5 <i>Inferencia de árbol filogenético</i>	28
5. ANTECEDENTES	30
6. DISEÑO METODOLÓGICO	32
6.1 BÚSQUEDA DE SECUENCIAS EN BASES DE DATOS PÚBLICAS	32
6.1.1 <i>Definición y número de individuos a utilizar</i>	32
6.1.2 <i>Obtención de las secuencias por anotación</i>	32
6.1.3 <i>Agrupamiento de las secuencias</i>	33
6.2 TRATAMIENTO DE DATOS	33
6.3 ALINEAMIENTO MÚLTIPLE Y ANÁLISIS FILOGENÉTICO	34
6.3.1 <i>Formato de los datos</i>	34
6.3.2 <i>Alineamiento múltiple</i>	34
6.3.3 <i>Construcción de árboles filogenéticos</i>	35
6.4 AGRUPAMIENTOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	36
6.4.1 <i>Búsqueda del mínimo número de genes comunes</i>	36
6.4.2 <i>Construcción de árboles filogenéticos.</i>	36
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
7.1 GENES COMUNES APLICACIÓN A3SComp	39
7.2 ALINEAMIENTOS	40
7.3 ÁRBOLES FILOGENÉTICOS	41
7.3.1 <i>Topología del gen ARNr 16S</i>	42
7.3.2 <i>Topología de los genes del fotosistema II.</i>	44
7.3.3 <i>Topología de los genes del fotosistema I.</i>	51
7.3.4 <i>Topología de los genes del complejo ATP sintetasa</i>	54
7.3.5 <i>Topología de los genes del complejo Citocromo</i>	56
7.3.6 <i>Topología de los genes del transporte de electrones</i>	57
7.4 COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS HECHOS EN ESTE TRABAJO <i>VERSUS</i> LOS HALLADOS POR OTROS AUTORES	58
8. CONCLUSIONES	66

9. RECOMENDACIONES	67
BIBLIOGRAFÍA	68
ANEXOS	79

Índice de Figuras

	Pág.
Ilustración 1. Distribución del contenido de genes fotosintéticos en diferentes linajes de fotótrofos y dirección propuesta de transferencia lateral de genes.	2
Ilustración 2. Esquema fotosintético de referencia para las cianobacterias sin antena.	12
Ilustración 3. Esquema de fosforilación Oxidativa de <i>Rhodospseudomonas palustris</i> .	14
Ilustración 4. Esquema de fosforilación Oxidativa de <i>Chloroflexus aurantiacus J-10-f</i>	15
Ilustración 5 Esquema de fosforilación Oxidativa <i>Heliobacterium modeticaldum</i>	16
Ilustración 6. Estructura de la célula cianobacterial típica.	17
Ilustración 7. Árbol filogenético para secuencias de ADN subunidad ribosomal pequeña 16S y proteínas de RuBisCo (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa) Forma 1 (L8S8) subunidad grande	23
Ilustración 8. Diagrama de flujo general del proyecto	37
Ilustración 9. Esquema de Alineamiento y construcción de árboles Filogenéticos	38
Ilustración 10. Esquema filogenético propuesto para el origen de la fotosíntesis a partir de procoianobacterias. adaptación y refinamiento del trabajo de Mulkidjanian et al., 2006.	61
Ilustración 11. Esquema propuesto alternativo para el origen y establecimiento sin existencia de una hipotética pro-cianobacteria.	63

Índice de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica de Cianobacterias.	21
Tabla 2. Algunas técnicas moleculares de tipificación y análisis filogenético.	26
Tabla 3. Apartado general de discusión	64
Tabla 4. Organismos utilizados en los alineamientos y sus códigos	80
Tabla 5. Distribución de los genes comunes implicados en el fotosistema II, I, Citocromo, plastocianinas y ATP sintetasa	85

Índice de Anexos

	Pág.
Anexo A. Tabla de organismos utilizados en los alineamientos y códigos	80
Anexo B. Distribución de los genes comunes implicados en el fotosistema II, I, citocromo, plastocianinas y ATP sintetasa	85
Anexo C. Topologías de árboles filogenéticos	86

RESUMEN

La fotosíntesis es el proceso fundamental en el cual, se toma energía lumínica para la síntesis de componentes orgánicos. Aunque se han realizado variados y numerosos análisis de este proceso y los organismos que lo realizan, aun hay grandes vacíos sobre el origen de este mecanismo debido a la falta de secuencias de genes específicos a este sistema que sean representativos del dominio de organismos fotosintéticos.

Para probar el esquema filogenético del aparato fotosintético, se extrajeron las secuencias de genes y anotaciones implicados en los fotosistemas I y II y ATP sintetasa de cianobacterias, bacterias purpuras, bacterias verdes, heliobacterias y Eucariotes representativos de taxones fotosintéticos (Ilustración 1). El análisis se llevó a cabo en dos fases: 1- la comparación de genes ortólogos de genomas completos, para obtener el número mínimo de genes comunes implicados en la fase lumínica de la fotosíntesis mediante la aplicación A3SComp (Ceter y Caicedo, 2008) y 2- el análisis filogenético, que se efectuó mediante métodos de distancia, máxima verosimilitud, máxima parsimonia y cercanía de vecinos. El análisis combinado reveló que los *Prochlorales* son el grupo ancestral entre las cianobacterias (junto con el organismo gloeobacterial: *Gloeobacter violaceus* PCC7421, y los synechococcus: *Cyanobacterium Yellowstone A-Prime* y *Cyanobacterium Yellowstone B-Prime*), como el grupo del cual divergen las otras cianobacterias lo cual concuerda con los análisis hechos por Honda *et al.*, 1999, mediante análisis del gen ARNr 16S. Las bacterias verdes sulfurosas se ubicaron como el linaje fotosintético más temprano en gran parte de los esquemas filogenéticos, mientras que las heliobacterias como el ancestro de los organismos con fotosíntesis oxigénica coincidiendo con lo hallado por Xiong *et al.*, 1998. El consenso de todo el análisis filogenético y la revisión bibliográfica hecha indican que la fotosíntesis sobre la Tierra es el resultado de eventos alternos que no siguen una línea directa de eficiencia y adaptación, de la reacción en fase lumínica en diferentes ambientes, sino que esta alternancia pudo haber sido fuertemente afectada por factores ambientales tales como, disposición de nitrógenos y hierro y sus efectos, sobre la disponibilidad de oxígeno hace 2.7 – 2.5 billones de años (Brocks *et al.*, 2003).

Palabras claves: Bioinformática comparativa, fotosistema, cianobacterias, análisis filogenético.

INTRODUCCIÓN

El reciente desarrollo de nuevas herramientas matemáticas y computacionales, enfocadas al estudio de datos biológicos y la gran cantidad de genomas secuenciados o en proceso, impulsa el análisis informático, exploración y comprensión de éstos.

Actualmente se dispone de nuevas técnicas para examinar diversidad inter e intra especies mediante el análisis de moléculas biológicas fundamentales. Existen métodos basados en electroforesis de proteínas, hibridación de ADN-ADN (ácido desoxirribonucleico), RFLP's (*restriction fragment length polymorphism*), y el secuenciamiento directo de ADN y proteínas, que permite comparar especies relacionadas distantes. La rápida obtención de información genómica y su disponibilidad estimula la genómica comparativa, basada en paralelos, perspectivas del estructuramiento, función molecular e información adicional: pertenencia a familias conocidas, perfil filogenético (presencia en otros organismos), agrupamiento de genes (con implicaciones funcionales y diferentes escenarios hipotéticos relacionados con estas implicaciones).

“Aunque la historia de la atmósfera terrestre es esencialmente la del oxígeno atmosférico...”, Catling & Mark (2005), hipotéticamente se plantean dos escenarios para los “*primeros*” organismos fotosintéticos: ambiente altamente reductor con alta disponibilidad de donadores de electrones, escenario volcánico con gases de monóxido de carbono (CO), hidrógeno (H₂), nitrógeno (N₂) o amonio (NH₃), sin oxígeno libre (O₂) y alta radiación ultravioleta (UV), planteado por Urey y compañía en los cincuentas. El otro escenario es una atmósfera mínimamente reductora con mínima concentración de donadores de electrones y alta luz UV.

Las cianobacterias, uno de los grupos de organismos más antiguos sobre la Tierra, realizaron fotosíntesis en presencia de oxígeno disminuyendo la concentración de CO₂ hace 2.7 – 2.5 billones de años, Brocks et al., (2003). En referencia a un escenario mínimamente reductor, evidencias y datos geológicos recientes sugieren que el origen u orígenes de la fotosíntesis cianobacterial sucedieron bajo presión selectiva de luz (UV) y baja concentración de donadores de electrones, con una fotosíntesis anoxigénica mediada por el uso del centro de reacción similar al fotosistema I. De esta manera, los primeros fotótrofos pudieron ser ancestros anaeróbicos de las cianobacterias, llamados “*procianobacterias*”; aunque también, Xiong et al., (2000), plantea a “las *bacterias púrpura como* linaje fotosintético emergente más temprano” en uno de los escenarios alternos.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Bioinformática del Grupo de Biología Molecular, Ambiental y Cáncer (BIMAC), Nodo Cauca del Centro de Excelencia en Genómica y Bioinformática de la Universidad del Cauca. Para lograr los objetivos propuestos en este Trabajo de Grado, se utilizó la Bioinformática Comparativa de las secuencias con anotación disponible, para trazar un perfil filogenético basado en el conjunto de genes del sistema que soportan el metabolismo energético de la fotosíntesis, a fin de estudiar los orígenes de las principales rutas que caracterizan dicho proceso.

1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

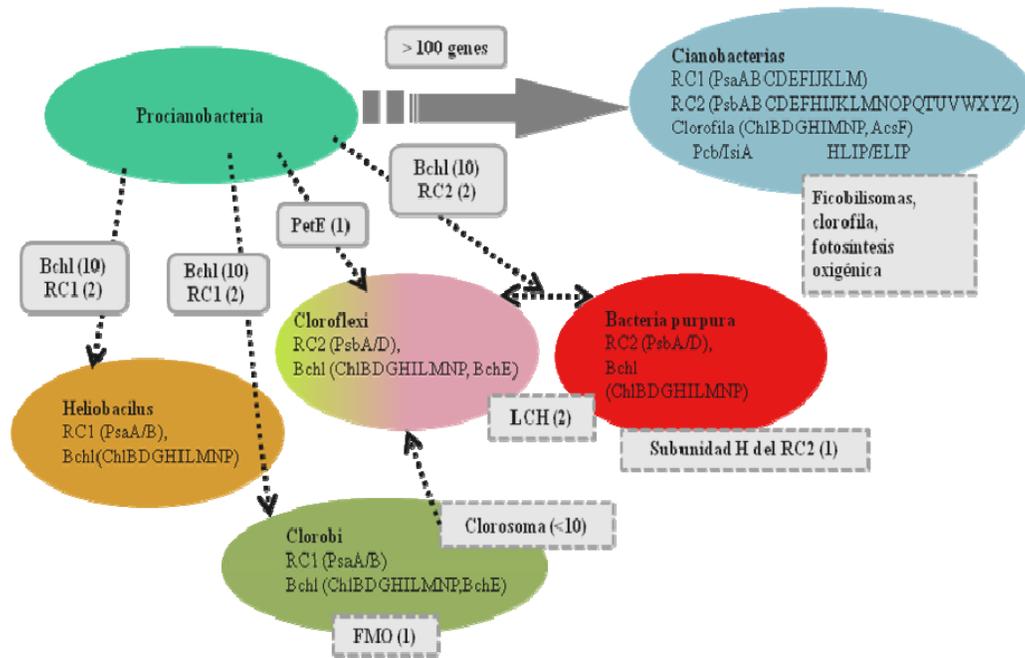
La filogenia de las cianobacterias en la actualidad es causa de discusiones debido a que los caracteres morfológicos, utilizados para agrupar estos organismos no son concluyentes. “*En general estudios filogenéticos moleculares han sustentado filogenias tradicionales construidas sobre la base de caracteres no moleculares proveyendo soluciones para debate*” (Filipski & Kumar, 2001).

Recientemente se examinó el mínimo número de genes compartidos por las cianobacterias Martin et al., (2003). Los autores revelan que no toda la fotosíntesis puede explicarse mediante este conjunto de genes y que posiblemente desconocemos mucho acerca de esta a pesar de ser uno de los procesos más estudiados a la fecha. Es posible producir hipótesis filogenéticas del origen de la fotosíntesis basada en una serie de genes más directamente relacionados al metabolismo energético.

Por otra parte, evidencia reciente Mulkidjanian et al., (2006), reveló (por COG: *Cluster Orthologous Group*) el *core* (núcleo), genómico de las cianobacterias y el origen de la fotosíntesis. Los autores encontraron familias de proteínas presentes en un grupo de 15 cianobacterias. La mayoría del *core* está implicado con las funciones centrales de la célula y es compartido por otras bacterias. Se encontró además que 50 familias de proteínas son específicas de las cianobacterias y 84 son compartidas con plantas. Estas evidencias acopladas con datos geológicos recientes indican que la fotosíntesis se originó en el taxón cianobacterial bajo presión selectiva de luz UV y concentración baja de donadores de electrones, es decir, bajo una fotosíntesis anoxigénica mediada por el uso del centro de reacción similar al fotosistema I. De esta manera, los primeros fotótrofos pudieron ser ancestros anaeróbicos de las cianobacterias, llamados “procianobacterias”.

Mulkidjanian *et al.*, (2006) propone que el origen de la fotosíntesis proviene de “*procianobacterias*” o “pro – protocianobacteria” que dieron origen al Centro de Reacción Fotosintético 1 (CR1) y Centro de Reacción Fotosintético 2 (CR2) los cuales fueron transferidos posteriormente a *Heliobacillus*, *Chloroflexi*, *Chlorobi*, bacterias púrpuras y las cianobacterias (Ilustración 1). A fin de demostrar si tal hipótesis es cierta, se realizó un análisis del conjunto de genes del fotosistema I, II, y ATP sintetasa de las cianobacterias.

Ilustración 1. Distribución del contenido de genes fotosintéticos en diferentes linajes de fotótrofos y dirección propuesta de transferencia lateral de genes.



Adaptado de: Mulkidjanian. *et al.*, (2006).

2. OBJETIVO GENERAL

Construir el perfil filogenético de un conjunto de cianobacterias y bacterias fotosintéticas asociadas, basado en los genes ortólogos anotados que conforman el fotosistema I, II y ATP sintetasa mediante Bioinformática Comparada y que aporte al esclarecimiento del origen de la fotosíntesis.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Validar (o refutar) el esquema filogenético del conjunto de cianobacterias y bacterias fotosintéticas representativas, obtenido mediante cada uno de los genes con función común anotada del *fotosistema I, II* y *ATP asa*, versus el esquema filogenético realizado mediante el gen *ARNr 16S*.
- Realizar un paralelo de los resultados obtenidos con respecto a algunas hipótesis filogenéticas propuestas relacionadas con el aparato fotosintético de estas cianobacterias.
- Aportar al estudio y análisis en la biología de procesos naturales como la fotosíntesis mediante las herramientas bioinformáticas.

3. HIPÓTESIS

Como se mencionó en la introducción, según (Mulkidjanian. et al., 2006) “50 familias de proteínas son específicas de las cianobacterias y 84 son compartidas con plantas”. Estas evidencias acopladas con datos geológicos recientes sugieren que la fotosíntesis se originó en el linaje cianobacterial bajo presión selectiva de luz UV y concentración baja de donadores de electrones, es decir, bajo una fotosíntesis anoxigénica mediada por el uso del centro de reacción similar al fotosistema I.

Si tal escenario de aparición es cierto, los árboles filogenéticos de los diferentes subsistemas bioquímicos y/o genéticos que conforman los fotosistemas I, II y ATPasa deberían señalar al fotosistema I como el sistema ancestral de la fotosíntesis.

Si por el contrario, todos los árboles filogenéticos de cada subsistema cuentan la misma historia que cuenta el árbol filogenético elaborado con el ARN 16S, entonces refutarán la aparición del fotosistema I, como el subsistema ancestral sobre el cual se acopló la fotosíntesis.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 LA FOTOSÍNTESIS

La fuente primaria de energía para los seres vivos es la luz solar, esta energía es introducida a la biosfera mediante la fotosíntesis realizada por algunos tipos de bacterias, plantas, algas, y es la fuente de energía y de carbono reducido de casi todo ser vivo en el planeta; cada año más del 10% del dióxido de carbono atmosférico total es reducido a carbohidratos por organismos fotótrofos (Whitmarsh y Govindjee 1995).

El proceso fotosintético depende de un conjunto de moléculas proteicas que se encuentran localizadas dentro y alrededor de una membrana altamente organizada. A través de una serie de reacciones de transducción de energía, la maquinaria fotosintética transforma la energía lumínica en una forma estable. El resultado de la fotosíntesis oxigénica es la liberación de oxígeno molecular y la remoción de dióxido de carbono de la atmósfera que es usado para la síntesis de carbohidratos. Otro tipo de bacterias realizan fotosíntesis anoxigénica la cual usa energía lumínica para crear componentes orgánicos pero no producen oxígeno.

4.1.2 transformación de energía en el aparato fotosintético

La reacción fotosintética se fracciona en “*fase lumínica*”, compuesta de reacciones de transferencia de electrones y protones y la “*fase oscura*”, la cual consiste de biosíntesis de carbohidratos a partir de CO₂.

El proceso fotosintético en las plantas y algas ocurre en los cloroplastos que se encuentran localizados dentro de la células, y en los organismos fotosintéticos oxigénicos primitivos como las cianobacterias y bacterias anoxigénicas, las reacciones de fase lumínica ocurren en el sistema de membranas fotosintéticas. Este sistema de membranas está compuesto por complejos de proteínas, transportadores de electrones y moléculas lipídicas, con una fase acuosa interna y externa, con una única orientación con respecto a la fase interna y externa.

El arreglo asimétrico de los complejos de proteína permite el paso de energía liberada durante el transporte de electrones, para crear un gradiente electroquímico de protones a través de la membrana, este proceso de transporte de electrones se compone de pasos individuales de transferencia de electrones a través de complejos de iones metálicos y aromáticos integrados en la proteína. La asociación de proteínas es controlada por la estructura, y por sus propiedades electro – químicas y a su vez esta define la transferencia de electrones.

Entre los transportadores se encuentran las formas reducidas de plastoquinona o ubiquinona y Nicotinamida Adenina Di Nucleótido Fosfato (NADPH o NADH), que son transportadores móviles entre complejos de proteínas, que se unen específicamente y controlan la tasa de transferencia de electrones.

Las reacciones lumínicas convierten la energía; primero por conversión de un fotón a un estado excitado de una molécula de pigmento antena localizada en el sistema antena, compuesto principalmente por clorofila o bacterioclorofila y carotenoides que se anclan a proteínas en el sistema de membranas fotosintéticas y sirven al complejo de centro de reacción.

El estado electrónico excitado es transferido sobre las moléculas antena como un exciton algunos de estos son reconvertidos en fotones y emitidos como fluorescencia, en energía calórica, y otros atrapados por las proteínas del centro de reacción, (Govindjee et al., 1986; Krause and Weis, 1991). Los excitones atrapados por un centro de reacción proveen la energía para la reacción fotoquímica primaria de la fotosíntesis, en la cual se transfiere un electrón de una molécula donadora a un aceptora, que se encuentra unida al complejo de proteínas del centro de reacción. Una vez la primera carga de separación ocurre, las subsecuentes reacciones de transferencia son energéticamente en declive.

En organismos fotosintéticos oxigénicos el fotosistema II y I trabajan concurrentemente pero en serie. En presencia de luz el fotosistema II alimenta electrones al fotosistema I (FSI), estos son transferidos del fotosistema II al I por transportadores intermedios; La reacción es de transferencia de electrones de una molécula de agua a NADP⁺, produciendo la forma reducida, NADPH. En el proceso fotosintético, gran parte de la energía lumínica es almacenada como energía química “redox” libre NADPH, para ser usada posteriormente en la reducción de carbono. La energía electroquímica almacenada en el protón es usada por un complejo de proteína adherido a la membrana la (ATP-Sintetasa) para que covalentemente sea unido un grupo Fosfato Adenosin Di Fosfato (ADP), formando Adenosin Trifosfato (ATP), la energía contenida en esta molécula puede ser transferida a otra por transferencia del grupo fosfato.

El efecto de estas reacciones lumínicas es convertir energía radiante a energía redox libre en forma de NADPH y la transferencia de energía grupos fosfatos en forma de ATP. En la fase lumínica de la reacción, la transferencia de un simple electrón de H₂O a NADP⁺ implica 30 iones metálicos y 7 grupos aromáticos. El NADPH y ATP producidos en fase lumínica dan la energía para las reacciones de fase oscura de la fotosíntesis “ciclo de Calvin”.

4.1.3 Organismos fotosintéticos

Toda la vida puede ser dividida en tres dominios Arquea, Bacteria y Eucariote, los cuales se originaron de un ancestro común (Woese *et al.*, 1990). El termino fotosíntesis ha sido aplicado a organismos que dependen de la *clorofila* o *bacterioclorofila* para la conversión

de energía lumínica en energía química libre (Gest, 1993). Esto incluye organismos en los dominios Bacteria (Bacterias fotosintéticas) y Eucariotes (algas y plantas superiores). El dominio más primitivo, Arqueas, incluye las halobacterias. El mecanismo por el cual las halobacterias las cuales no realizan reacción de oxidación - reducción y no usa CO_2 como recurso de carbono.

Las investigaciones demuestran que la estructura y función del FSII es similar en plantas, algas y ciertas bacterias, así que el conocimiento puede extrapolarse entre especies.

Algunos organismos pueden utilizar energía lumínica para extraer electrones de moléculas diferentes al agua. Estos organismo primigenios realizan fotosíntesis anoxigénica y se presume evolucionaron antes que la fotosíntesis oxigénica apareciera. Los organismo primigenios pertenecen al dominio de las bacterias y están representados en tres taxones: Bacterias Verdes, Purpura y Halobacterias.

4.2 FOTOSÍNTESIS OXIGENICA

4.2.2 Plantas

En plantas el proceso fotosintético ocurre en los cloroplastos en la membrana tilacoidal que provee la energía y carbón reducido necesarios para el crecimiento y desarrollo de la planta y esta provee al cloroplasto de CO_2 , agua, nitrógeno, moléculas orgánicas y minerales para su biogénesis. Se plantea la hipótesis de que los cloroplastos fueron una vez bacterias libres que invadieron una célula huésped no- fotosintética millones de años atrás. Estos retuvieron el ADN necesario para su ensamblaje pero gran parte del material esta en el núcleo celular.

4.2.4 Sistema fotoquímico primario del centro de reacción del FSII y FSI.

El fotosistema II usa energía lumínica para dirigir dos reacciones – la oxidación de agua y la reducción de plastoquinona.

El complejo del FSII está compuesto de más de 50 polipéptidos y al menos nueve componentes redox diferentes (clorofila, feofitina, plastoquinona, tirosina, Mn, Fe, citocromo b_{559} , carotenoides y histidina) cuya transferencia de electrones es inducida por luz (Debus, 1992).

Solo cinco de estos componentes redox son relacionados en la transferencia de electrones de H_2O a la plastoquinona – el agua oxidando el cluster manganeso $(\text{Mn})_4$, el aminoácido tirosina, el centro de reacción clorofila ($P680$), feofitina, y las moléculas de plastoquinona, Q_A y Q_B . De estos componentes redox esenciales: tirosina, $P680$, feofitina, Q_A y Q_B se unen a dos polipéptidos que forman los heterodímero de reacción núcleo del fotosistema II (D1 y D2). Recientes trabajos indican que los polipéptidos D1 y D2 también proveen ligandos para el grupo $(\text{Mn})_4$ (Whitmarsh y Govindjee 1995).

La fotoquímica en el fotosistema II es iniciada por separación de cargas entre P680 y feofitina (*P680+/Pheo-*). Los pasos subsecuentes de la transferencia de cargas han sido diseñados a través de la evolución para prevenir la recombinación de la separación primaria de cargas (Whitmarsh y Govindjee 1995); esto es realizado por la transferencia de electrones de una molécula de feofitina a plastoquinona (Q_A) que está unida al fotosistema. La reducción total de plastoquinona requiere de la adición de dos electrones y dos protones, es el caso de la adición de dos átomos de hidrogeno que posteriormente se separan del Centro de reacción (CR) y se difuminan en el núcleo hidrofóbico de la membrana.

El fotosistema II es el *único complejo de proteínas que puede oxidar agua*, resultando en la liberación de O_2 a la atmósfera. Energéticamente, el agua es un donador pobre de electrones y en el fotosistema II esta reacción es dirigida por la oxidación del centro de reacción *P680*; como los electrones son transferidos del agua al *P680+* es un misterio (Govindjee and Coleman, 1990). Es sabido que el *P680+* oxida una tirosina sobre la proteína D1 y que los cuatro iones Mn son claves en la oxidación del agua.

Cada reacción fotoquímica crea un oxidante que remueve un electrón. La red de reacción resulta en la liberación de una molécula de O_2 , deposición de cuatro protones en la fase acuosa interna, y transferencia de cuatro electrones al lado Q_B (produciendo dos moléculas reducidas de plastoquinona) (Renger, 1993; Klein et al., 1993).

El centro de reacción del fotosistema II contiene un número de componentes redox, un ejemplo es el *citocromo b559* cuya función es donar electrones a la plastocianina (Bricker et al 1996), y es una hemo proteína esencial del centro reacción del fotosistema II (Whitmarsh and Pakrasi, 1996). Si el citocromo no está presente en la membrana, no se puede formar un FSII estable. Es sabido que el citocromo no está relacionado en la actividad enzimática primaria del FS II, la cual es transferir electrones del agua a plastoquinona. Porque el CR del FSII contiene componentes redox que no se relacionan en reacciones enzimáticas primarias; según Govindjee la respuesta puede ser hallada en la forma inusual de reacción química que ocurre en el FS II y el hecho que el centro de reacción opera en un nivel bastante alto de energía.

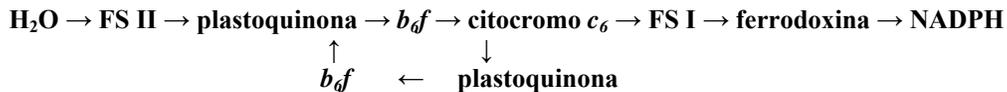
El fotosistema II es un transformador de energía que debe cambiar entre varios estados altos de energía y que envuelve la creación de poderosos oxidantes requeridos para remover electrones del agua y el complejo químico de reducción de plastoquinona, el cual es fuertemente influenciado por protones. En saturación de luz un solo centro de reacción puede tener un rendimiento de 600 eV/s (equivalente a 60,000 kW por mol de PS II); este nivel tan alto de energía resulta dañino al centro de reacción. Según Whitmarsh y Govindjee (1995), esto podría justificar la presencia “extra” de componentes redox en el FSII que pueden servir como protección.

El complejo del fotosistema I cataliza la oxidación de plastocianina, un complejo cobre proteína soluble, y la reducción de ferredoxina complejo FeS proteína. El fotosistema I está

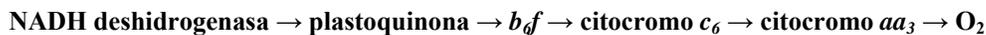
compuesto de un heterodímero de proteínas que actúa como ligando para la mayoría de transportadores de electrones (Krauss et al., 1993). El centro de reacción es alimentado por el sistema antena, conformado por 200 moléculas de clorofila principalmente tipo *a* y la fotoquímica primaria es iniciada por un dímero de clorofila P700. En contraste al fotosistema II, la mayor parte de las moléculas de clorofila en el fotosistema I están unidas a proteínas del centro de reacción. También, los centros FeS sirven como transportadores de electrones en el FSI y se sabe que la transferencia de electrones del FSI no es acompañada por translocación de protones. La separación primaria de cargas ocurre entre el donador primario P700 un dímero de clorofila y un monómero de clorofila (A_0) (Golbeck, 1994).

4.2.5 Transporte de Electrones

El transporte de electrones del agua a $NADP^+$ requiere tres complejos proteicos unidos en serie - FSII, el complejo *Citocromo bf* (*Cit bf*) y el FSI. Los electrones son transferidos entre estos complejos por: plastoquinona y plastocianina en plantas como lo muestran los esquemas de (Whitmarsh y Govindjee 1995).



La transferencia de electrones del *Cit bf* al FSI es mediado por el complejo proteína Cobre (Cu) - plastocianina (PC). La el esquema transferencia de electrones del FSI al $NADP^+$ requiere ferredoxina, oxidoreductasa ferredoxina-NADP.



La vía de los electrones es determinada en gran parte por la energética de la reacción y la distancia entre transportadores, las reacciones durante el proceso fotosintético no están en equilibrio. Posterior a la separación primaria de cargas, el transporte de electrones es de un estado más electronegativo a uno superior más electropositivo, es este flujo el que provee energía libre para la creación de un gradiente químico de protón.

4.2.5.1 Creación de potencial electroquímico de protones

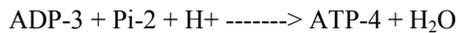
El transporte de electrones crea el potencial electroquímico de la membrana por dos tipos de reacción.

(1) La liberación de protones durante la oxidación de agua por el FSII y la translocación de protones de la fase acuosa externa a la interna del fotosistema II y el citocromo bf.

(2) La separación primaria de cargas en el centro de reacción guía un electrón a través de la membrana fotosintética, lo cual crea un potencial a través de la membrana.

4.2.6 Síntesis de ATP

El proceso de conversión de energía electroquímica en química libre, es acompañado por el complejo de proteína "ATP sintetasa. Esta enzima cataliza la fosforilación, la cual es la formación de ATP por adición de fosfato inorgánico (Pi) a ADP



Esta reacción es de menor a mayor nivel energético y es conducido por transferencia de protones a través de la proteína ATP sintetasa.

La ATP sintetasa se compone de las subunidades CF₀ que se extienden en la membrana fotosintética y forman un canal de protones a través de la membrana y la subunidad CF₁ unida a la parte superior de CF₀ sobre el lado exterior de la membrana y se encuentra localizada en la fase acuosa. CF₁ está compuesta de las subunidades alpha, beta, gamma, delta, épsilon y la porción superior compuesta por tres dímeros *ab* que contiene sitios catalíticos para la síntesis de ATP el proceso molecular implica la transferencia de protones a través de la proteína y la adición química de fosfato a ADP (Whitmarsh y Govindjee 1995).

4.2.7 Eficiencia de la conversión de energética en el aparato fotosintético

El requerimiento mínimo de quantum teórico para la fotosíntesis es 8 cuantos por cada molécula de oxígeno transformado repartidos al FSII y FSI por partes iguales (Emerson, 1958). Bajo condiciones optimas, las plantas pueden realizar el proceso de conversión con un 90% de eficiencia teórica. Bajo condiciones normales de crecimiento la eficiencia se disminuye por los factores limitantes bioquímicos y ambientales (Whitmarsh y Govindjee 1995).

4.2.8 Fotosíntesis oxigénica en algas

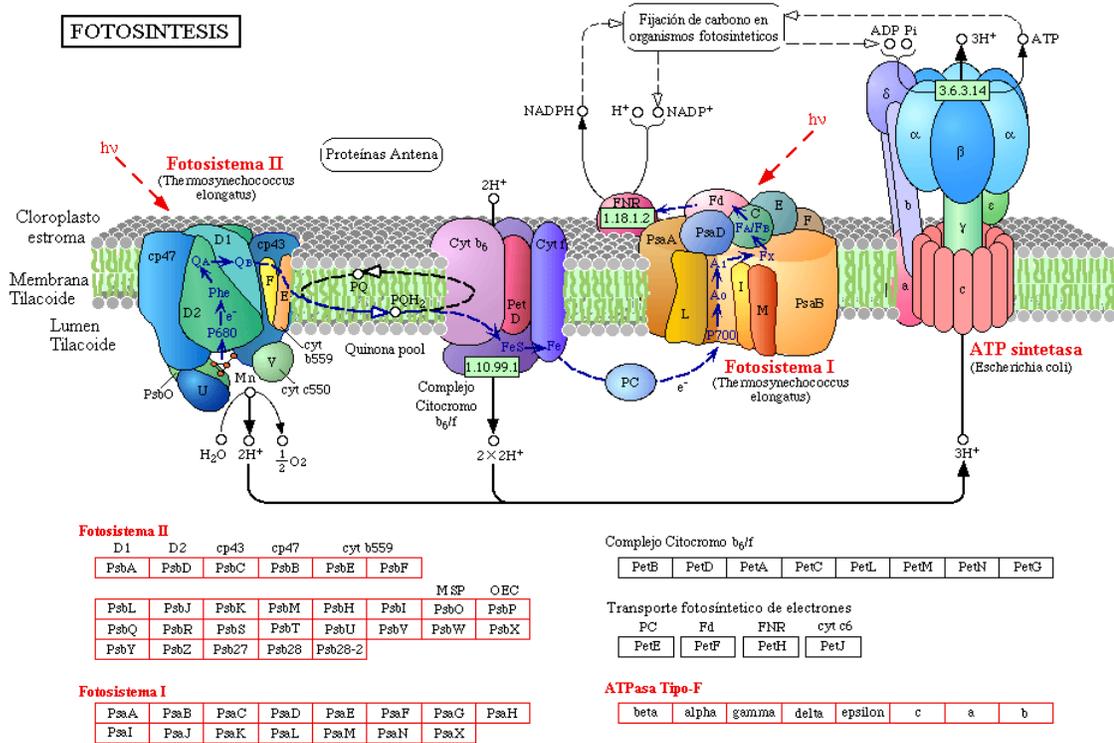
Las Algas son Eucariotes fotosintéticos que poseen mecanismos de transformación de O₂ y reducción de CO₂. Están representadas por un grupo diverso que incluye dinoflagelados, euglenoides, algas verde amarillas, algas doradas cafés, diatomeas, algas rojas, algas cafés y verdes. El aparato y el mecanismo fotosintético son similares al de las plantas: poseen cloroplastos e inmersos el FSII y FSI, *Cit bf*, las enzimas del ciclo de Calvin y complejos proteína pigmento que contienen clorofila *a*, y otros pigmentos antena como clorofila *b* en las algas verdes, clorofila *c* y fucoxantol en algas cafés y diatomeas, y ficobilinas en algas rojas. Las algas verdes se cree fueron el grupo ancestral del cuales las plantas evolucionaron (Douglas, 1994).

4.2.9 La fotosíntesis oxigénica bacterial

Las cianobacterias son procariotas fotosintéticos que generan O₂ (Bryant, 1994). Evidencia fósil indica que estas existieron hace 3 billones de años atrás y se piensa que fueron las primeras en realizar fotosíntesis oxigénica en la tierra (Wilmotte, 1994). Las cianobacterias se presume evolucionaron de ambientes acuáticos en una atmosfera carente de oxígeno. Inicialmente, el O₂ liberado por las cianobacterias reacciono con hierro ferroso en los océanos y no fue liberado a la atmosfera. Evidencia geológica indica que el Fe ferroso se agoto cerca de 2 billones de años atrás, y la atmosfera de la tierra se volvió aeróbica. El aparato fotosintético es similar al de los cloroplastos y principalmente se diferencia por su sistema antena que depende en las cianobacterias de clorofila *a* y los ficobilisomas para reunir la energía lumínica (Sidler, 1994) no contienen clorofila *b*.

Las cianobacterias son modelos de estudio del aparato fotosintético debido a su sistema genético menos complejo y manipulable que el de las plantas y algas. Los investigadores pueden investigar la relación entre estructura molecular y sus mecanismos (ilustración 2) (Barry et al., 1994).

Ilustración 2. Esquema fotosintético de referencia para las cianobacterias sin antena.



Cyanobase URL: <http://www.kazusa.or.jp/cyano/cyano.html>.

Los Proclórofitos o oxiclوروبacterias contiene clorofila *a* y *b*, pero no ficobilisomas y debido a esto se investigan como modelos de fotosíntesis en plantas (Palenik and Haselkorn 1992, Urbach et al., 1992; Matthijs et al., 1994).

4.3 FOTOSÍNTESIS ANOXIGENICA

Las bacterias anoxigénica poseen solo un tipo de centro de reacción (Blankenship et al., 1995). En algunas bacterias fotótrofas el centro de reacción es similar al FSII y en otras, similar al FSI, estos no pueden extraer electrones del agua y no generan oxígeno.

Estas bacterias están determinadas por ambientes con bajas concentraciones de oxígeno y en la obtención de electrones para la reducción de CO₂ las bacterias anoxigénicas deben oxidar elementos inorgánicos, o moléculas orgánicas disponibles en su ambiente. Varias bacterias fotosintéticas dependen del rubisco y el ciclo de Calvin para la reducción de CO₂,

pero algunas son capaces de reducir CO₂ por mecanismos bioquímicos alternos (Blankenship et al., 1995).

Los principios generales de transducción de energía son los mismos para la fotosíntesis oxigénica y no oxigénica. La fotosíntesis anoxigénica bacteriana depende de bacterioclorofila que absorbe luz en rangos de onda entre 700 y 1000 nm. El sistema antena consiste de bacterioclorofila y carotenoides que sirven como centro de reacción donde ocurre la separación primaria de cargas. Entre los transportadores de electrones se encuentran las quinonas como: ubiquinona y menaquinona y el complejo *citocromo bc*, similar al complejo *citocromo bf* de las bacterias fotosintéticas. Como en la fotosíntesis oxigénica, la transferencia de electrones está acompañada por la generación de potencial electroquímico que conduce a la fosforilación por la ATPasa y la energía para la reducción de CO₂, la provee el ATP y el NADH molécula similar al NADPH.

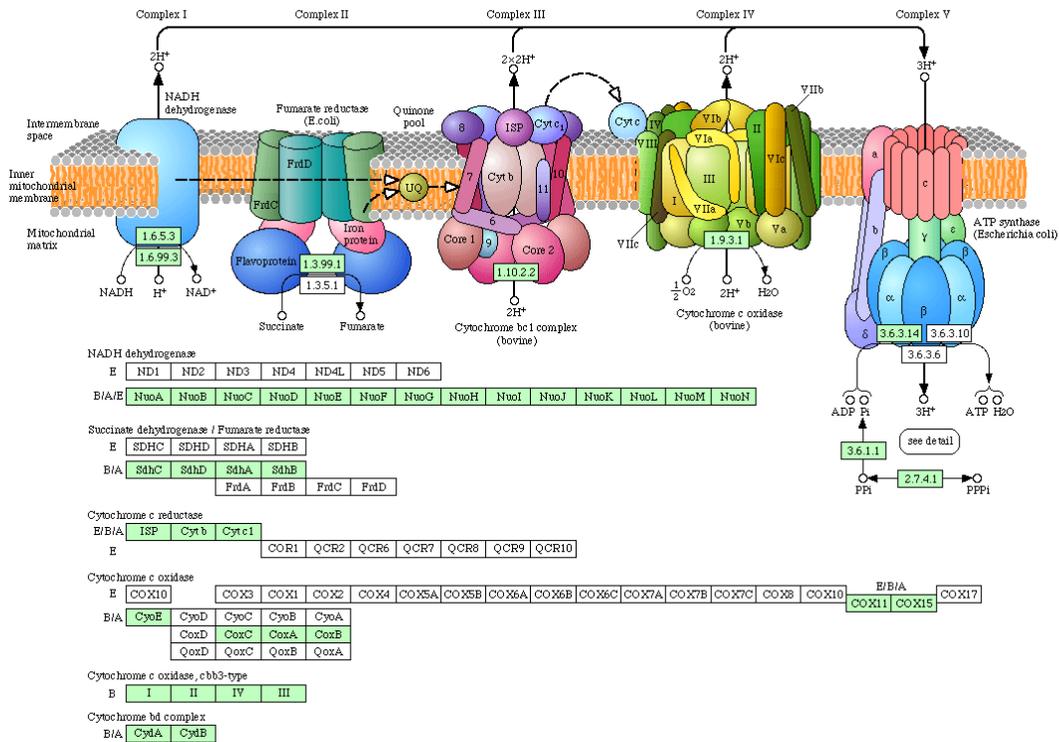
4.3.1 Bacterias Purpuras

Hay dos divisiones de bacterias purpura fotosintéticas, las no-sulfurosas como *Rhodobacter sphaeroides* y *Rhodospseudomonas viridis* y las sulfurosas *Chromatium vinosum* (Blankenship et al., 1995). Las bacterias no sulfurosas típicamente usan un donador de electrones orgánico, tal como succinato o malato, pero pueden usar gas hidrogeno. La bacteria sulfurosa usa un componente sulfuroso inorgánico como donador de electrones tal como sulfuro de hidrogeno. La única vía para la fijación de carbono de las bacterias purpura es el ciclo de Calvin. La bacteria purpura sulfurosa debe fijar CO₂ para vivir, sin embargo la bacteria purpura no sulfurosa, puede crecer anaeróticamente en la oscuridad con un recurso de carbono orgánico.

La posición de los componentes transportadores de electrones en el centro de reacción de *Rhodobacter sphaeroides* posee tres subunidades proteicas *L*, *M*, y *H*. El centro de reacción contiene 4 bacterioclorofilas y dos moléculas bacteriofeofitinas. 2 moléculas de bacterioclorofila del donador primario P870. El donador P870, las bacteriofeofitinas y quinonas aceptores del centro de reacción de las bacterias purpura son similares al centro de reacción del FSII.

La transferencia de electrones guiada por energía lumínica es cíclica en *Rhodobacter sphaeroides* y otras bacterias purpura. El centro de reacción produce quinona reducida, la cual es oxidada por el complejo *citocromo bc* (*cit bc*). Los electrones del *cit. bc* son transferidos a un transportador soluble de electrones el *citocromo c2*, el cual reduce el donador primario P870+ oxidado el producto de esta transferencia es ATP.

Ilustración 3. Esquema de fosforilación Oxidativa de *Rhodospseudomonas palustris*.



Cyanobase URL: <http://www.kazusa.or.jp/cyano/cyano.html>.

4.3.2 Bacterias verdes sulfurosas

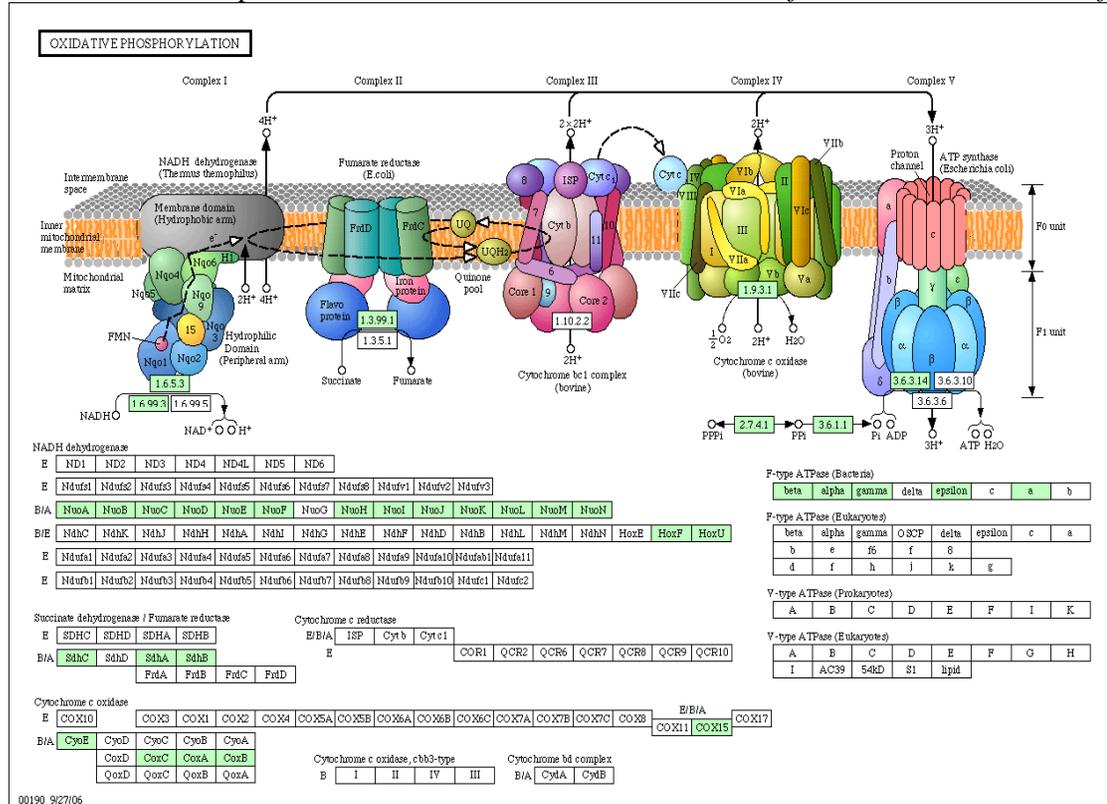
A este grupo pertenecen *Chlorobium thiosulfatophilum* y *Chlorobium vibrioforme* los cuales pueden usar componentes de sulfuro como donadores de electrones, así como donadores orgánicos de hidrogeno (Blankenship et al., 1995). El centro de reacción de las bacterias es similar al del FSI de los organismos oxigénicos (Feiler and Hauska, 1995). El centro FeS puede reducir NAD⁺ o NADP⁺ por las enzimas ferredoxina y ferredoxin-NAD (P)⁺ oxidoreductasa, y por esto las bacterias no son dependientes del flujo reverso de electrones para la reducción de carbono. Su sistema de antena es similar en arreglo a los ficobilisomas de las cianobacterias.

4.3.3 Bacterias verdes no sulfurosas

Estas bacterias verdes filamentosas como *Chloroflexus aurantiacus*, pueden crecer fotosintéticamente bajo condiciones anaeróbicas o en la oscuridad por respiración bajo condiciones anaeróbicas. Como las bacterias verdes, las verdes sulfurosas capturan la energía lumínica usando clorosomas, y poseen centro de reacción similar al de las bacterias purpura, pero en vez de dos monómeros de bacterioclorofila, *C. aurantiacus* tiene una

bacterioclorofila y una bacteriofeofitina y posee Mn entre las dos quinonas en vez de Fe (Feick et al., 1995). *C. aurantiacus* aparentemente fija CO₂ por un mecanismo que implica ciclo de Calvin o el ciclo reverso de Krebs (Ivanovsky et al., 1993).

Ilustración 4. Esquema de fosforilación Oxidativa de *Chloroflexus aurantiacus* J-10-f



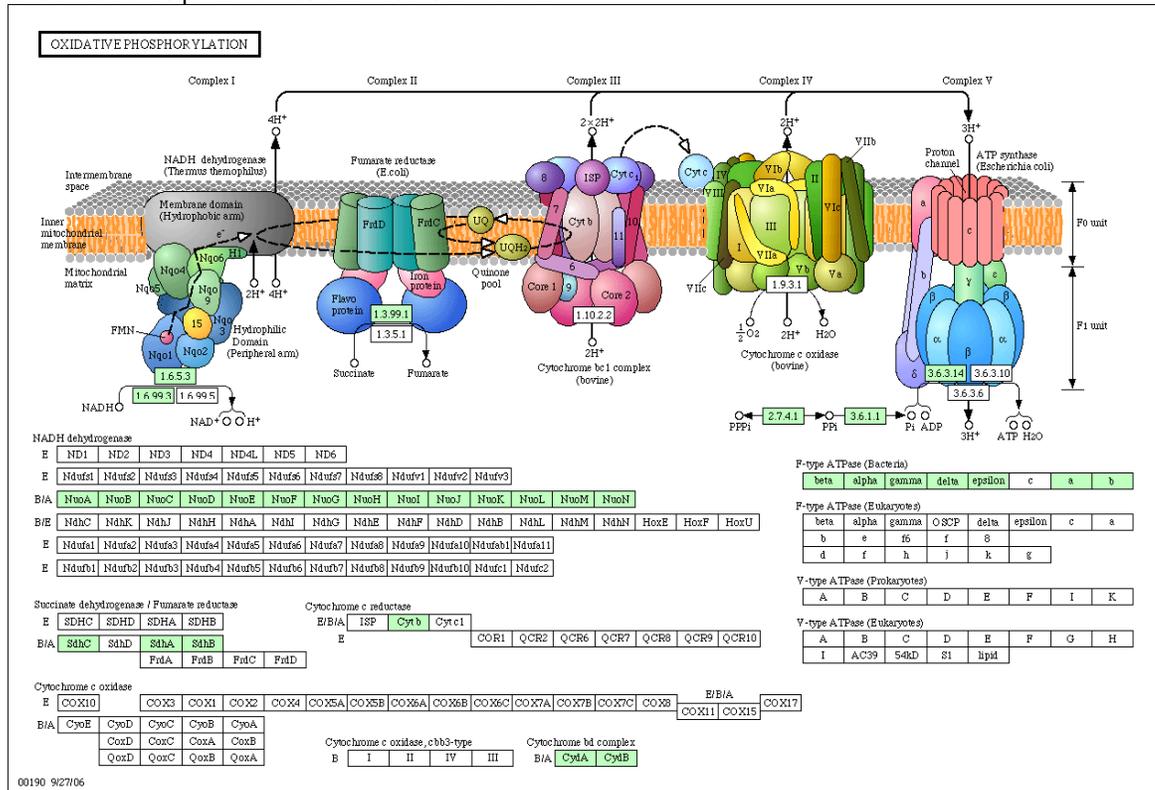
Cyanobase URL: <http://www.kazusa.or.jp/cyano/cyano.html>.

4.3.4 Heliobacterias

A este grupo pertenece *Heliobacillus mobilis*, del phylum Bacterias Gram Positivas estas no son anaerobios estrictos. El centro de reacción es similar al CR FSI en que puede reducir NAD⁺ o NADP⁺, y contiene un tipo diferente de clorofila “bacterioclorofila g” (Amez, 1995).

El Transporte de electrones según el análisis de Xiong et al., (1998) sobre *H. mobilis* indica que esta especie sintetiza un complejo *citocromo bc* similar al *citocromo bc1* de la bacteria purpura y *citocromo b6f* de la cianobacteria. Contiene el gen *petC*, el cual codifica para proteína Fe-S que posee un sitio 2Fe-2S conservado (Cys-87, His-89, Cys-108, and His-111) como se observa en otras especies.

Ilustración 5 Esquema de fosforilación Oxidativa *Heliobacterium modeticaldum*



Cyanobase URL: <http://www.kazusa.or.jp/cyano/cyano.html>.

4.4 CIANOBACTERIAS

4.4.1 Características generales

Las cianobacterias no poseen gran variedad de formas pero si gran diversidad química; una cianobacteria está entre 1 y 10 micrones, es unicelular o multicelular, con pared celular clásicamente Gram-negativa y realizan locomoción por deslizamiento. Estas bacterias fueron una vez clasificadas como "algas verde azules" debido a su semejanza superficial con las algas verdes eucarióticas y aunque ambos grupos son fotosintéticos, se relacionan distantemente (Goldenkranz's 1999). Las cianobacterias no poseen organelos internos, pero tiene un elaborado y altamente organizado sistema de membranas internas las cuales funcionan en fotosíntesis y una pared celular contiene péptidoglicano (*ver ilustración 2*).

Algunas colonias filamentosas de cianobacterias muestran la habilidad de diferenciarse en tres tipos celulares diferentes: *Células vegetativas* que se encuentran en condiciones de crecimiento favorables y realizan fotosíntesis, *esporas* resistentes al clima que se forman

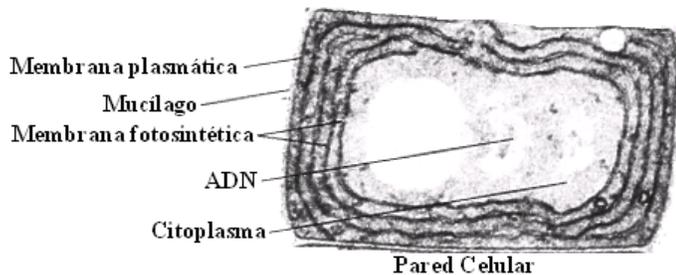
cuando las condiciones ambientales se tornan adversas y *heterocistes* con densa pared celular, que contienen la enzima nitrogenasa que permite fijar nitrógeno.

Pueden reproducirse por: bipartición, división binaria en organismos unicelulares, fragmentación de filamentos (tricomas, filamentos sin vaina), a partir de células especializadas o modificadas o incluso por fragmentación y esporas.

Toman apariencias variadas: parches, masas fangosas, secuencias o cadenas, filamentos y filamentos ramificados, explicadas por la variedad de métodos de reproducción.

La ocurrencia de simbiosis cianobacterial es amplia y el rango de hospederos es impresionante e incluye simbiosis con animales, protistas (*Paulinella chromatophora* y *Cyanophora paradoxa*), esponjas marinas (*Theonella* y *Siphonochalina*), y gusanos echiruides (*Ikedosoma gogoshimense* y *Bonellia fuliginosa*). Entre los fotosintéticos incluye, angiospermas (*Gunnera*), gimnospermas (*Cicas*, *Zamia*), pteridofitos (*Azolla*), musgos (*Sphagnum*) y líquenes. La diatomea de agua fresca *Rhopalodia gibba* es la única simbiosis cianobionte unicelular que se conoce que fija nitrógeno, El cianobionte está localizado intracelularmente en el hospedero fotosintético.

Ilustración 6. Estructura de la célula cianobacterial típica.



Modificado de: I KINGDOM MONERA

4.4.2 Algunos ejemplos de cianobacterias

Nostoc: Son organismos muy importantes para la vitalidad y crecimiento de muchas plantas por ser uno de los pocos grupos de organismos que pueden convertir nitrógeno atmosférico inerte a su forma orgánica, tales como nitrato de amonio; la nitrificación no ocurre, en presencia de oxígeno, así el nitrógeno es fijado en células especializadas llamadas *heterocistes*. Estas células tienen una pared especialmente engrosada que contiene un ambiente anaeróbico.

Oscillatoria: Algunas formas comunes de esta bacteria son rojas o rosadas por el pigmento ficoeritrina y con células agrupadas en filamentos sin heterocistes. Sin vaina mucilaginosa marcada, los tricomas de células son móviles pudiendo desplazarse por el sustrato.

Spirulina: Esta ha sido evaluada como recurso alimenticio; es alta en proteínas, y puede ser cultivada fácilmente en pozos en países tropicales.

Azolla: Son bacterias nitrificantes que forman relaciones simbióticas con muchas plantas, especialmente leguminosas, que proveen tejidos especializados en sus raíces o tallos para estas, recibiendo nitrógeno orgánico. Estas se han usado en el cultivo de arroz.

Anabaena: Se encuentran colonias de esta cianobacteria, en las hojas de los helechos donde éstas fijan nitrógeno. Los helechos entonces proveen una fuente natural de nitrógeno y fertilizantes para las plantas cuando estos mueren.

Lyngbya: Producen poblaciones que son tóxicas a los humanos y animales. La espuma de bacterias verde azuladas en abrevaderos charcos ha sido asociada al envenenamiento de ganado, perros, y ocasionalmente humanos; Una especie de *Lyngbya* es responsable de una de las irritaciones cutáneas conocidas como "picazón del nadador".

Prochloron también forma relaciones simbióticas con varios hongos, formando organismos simbióticos complejos conocidos como líquenes.

4.4.3 Ecotipos

Las Cianobacterias son halladas en casi todo hábitat, desde océanos, aguas frescas, rocas hasta suelos. Producen los componentes responsables de los olores "terrosos" en el suelo y algunos cuerpos de agua. El limo verdoso sobre superficies húmedas son en su mayoría cianobacterias.

Los ecotipos de cianobacterias marinas fueron clasificados de acuerdo a sus requerimientos de radiación lumínica, ejemplo de esto son los *Prochlorococcus* que se diferencian genéticamente y fisiológicamente por tener divinil clorofila *a* (*chl a2*), monovinil y divinil clorofila *b* (*chl b*) en mayor cantidad que clorofila *a*, a diferencia de las otras cianobacterias (Rocap et al., 2001); esto ha permitido clasificarlas en dos grupos aislados: "Alto B/A": que tienen grandes radios de clorofila *b* con respecto a la tipo *a2* (*chl b/a2*) y son capaces de crecer en extremadamente bajas tasas de irradiancia (menos que $10 \mu\text{mol de quantos } [Q] m^{-2} s^{-1}$), donde los aislados de "Bajo b/a" son incapaces de crecer (Rocap et al., 2002)". Los aislados de Bajo B/A: tienen menor radio de *chl b/a2* y son capaces de crecer en tasas muy altas, a niveles altos de luz (Goericke y Chisholm., 1995).

Los análisis de secuencias de 16S rDNA realizados por Rocap y colaboradores sobre los ecotipos de *Prochlorococcus* se correlacionan con su fisiología. Las cepas de ecotipos de *Bajo-B/A* se encuentran filogenéticamente muy relacionados con un 99% de identidad en las secuencias de 16S rDNA) y forman un buen clado (Rocap et al 2002).

Los ecotipos de *Synechococcus* generan una población altamente variable fisiológicamente y se adaptan a diferentes nichos ecológicos (Postius and Ernst 1999); la cepa asignada al *Grupo Marino A* de *Synechococcus* son genéticamente y fisiológicamente diversos (Waterbury et al., 1986), y también han sido observados genotipos adaptados a altas y bajas condiciones lumínicas entre *Synechococcus* de aguas frescas (Postius and Ernst 1999). Todos contienen ficoeritrinas como sus pigmentos principales de recepción de luz, así como algunos poseen el cromoforo ficourobilina (*FUB*), el cual se puede unir a las ficoeritrinas combinado con ficoeritrobilinas (*FEB*), estos organismos son agrupados por su ratio de (*FUB*)/(*FEB*) aunque se han encontrado también clados definidos por su motilidad implicando directamente procesos de adaptación a diferentes condiciones de luz y de aclimatación.

Las cepas de *Prochlorococcus* de *Alto-b/a* también tienen un alto grado de identidad con el GRUPO A de cepas marinas de *Synechococcus*, más que con el ecotipo de *Bajo-b/a* de los mismo *Synechococcus* y esto en efecto se refleja en su filogenia mediante 16S rDNA que aun no ha sido resuelta (Rocap et al., 1998).

Las cepas de *Gloeobacter* son sensibles a condiciones fuertes de luz y recientes estudios filogenéticos moleculares muestran que este linaje fue el más temprano en divergir de la radiación cianobacterial y de los cloroplastos. Estas características soportan fuertemente la idea de que estas especies poseen características ancestrales de los organismos fotosintéticos oxigénicos.

4.4.4 Historia

Las cianobacterias son procariontas fotosintéticos, oxigénicos, que pueden ser hallados en casi todo ambiente acuático y terrestre, Castenholz y Waterbury, (1989) y son organismos antiguos que datan de 3,5 billones de años atrás en los registros fósiles Castenholz, (1992) esta evidencia isotópica es apoyada por los registros fósiles de 3,3 a 3,5 billones de años aunque sigue siendo controversial (Des Marais, 2000), con respecto a la firme evidencia paleontológica de cianobacterias hace 2,7 billones de años (Buick, 1992), y la síntesis de evidencia isotópica con datos filogenéticos (secuencias de 16S rDNA) propone un origen más temprano de 3,8 billones de años (Martin, 2002).

Desde hace algún tiempo ha venido proponiéndose que las cianobacterias fueron responsables de convertir la antigua atmósfera terrestre anaeróbica a una aeróbica (Hayes, 1983).

Las cianobacterias tienen un amplio registro fósil. La morfología en el grupo ha permanecido casi invariable por billones de años. Estas han sido extraídas de rocas Precámbricas, y estudiadas a través de microscopía de transmisión electrónica.

Varios depósitos de petróleo de hace 2500 millones años (era Proterozoica) son atribuidos a la actividad de las cianobacterias, tales como *Gloeocapsomorpha*.

4.5 CLASIFICACIÓN Y FILOGENIA CLÁSICA DE LAS CIANOBACTERIAS

4.5.1 Clasificación Taxonómica

La taxonomía de las cianobacterias ha sido vigorosamente debatida y revisada varias veces (Henson et al., 2004), estas han sido reclasificadas usando el criterio bacteriológico en vez del botánico, basado en características morfológicas y de desarrollo, pero la mayoría de las especies aun no han sido validadas (Rippka et al., 1979). Las Cianobacterias se clasifican comúnmente en cinco secciones. Sub sección I: unicelulares y se dividen por fisión binaria o afloramiento. La Sub sección II: unicelulares que se dividen por fisión múltiple (Castenholz, 2001). Sub sección III: filamentosas, cianobacterias no-heterocistas que se reproducen por ruptura de tricomas. Sub sección IV y V están compuestas exclusivamente de cianobacterias heterocistas, las cuales son filamentosas y se reproducen por formación de hormogonios (pequeños pedazos de tricoma que contiene entre tres y diez células al ser liberados) y tienen la habilidad de desarrollar heterocistes y aquinetes, (Rippka et al., 1979; Castenholz, 2001).

Se postula que algunos caracteres morfológicos que han sido usados para delinear las cianobacterias podrían no reflejar un verdadero agrupamiento del linaje (Rippka & Herdman, 1992).

Como se puede observar en el esquema de clasificación taxonómica de las cianobacterias (tabla 1), la filogenia actualmente se esquematiza por morfología celular, colonias o forma de reproducción. Esfuerzos recientes podrían proveer pronto esquemas más precisos basados en caracteres más específicos.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de Cianobacterias.

<i>Sub sección I</i>	<i>Sub sección II</i>	<i>Sub sección III</i>	<i>Sub sección IV</i>	<i>Sub sección V</i>
<i>Chamaesiphon</i>	<i>Yanocystis</i>	<i>Arthrospira</i>	<i>Anabaena</i>	<i>Chlorogloeopsis</i>
<i>Chroococcus</i>	<i>Dermocarpella</i>	<i>Borzia</i>	<i>Anabaenopsis</i>	<i>Fischerella</i>
<i>Cyanobacterium</i>	<i>Stanieria</i>	<i>Crinalium</i>	<i>Aphanizomenon</i>	<i>Geitleria</i>
<i>Cyanobium</i>	<i>Xenococcus</i>	<i>Geitlerinema</i>	<i>Calothrix</i>	<i>Iyengariella</i>
<i>Cyanothece</i>	<i>Chroococciopsis</i>	<i>Halospirulina</i>	<i>Cyanospira</i>	<i>Nostochopsis</i>
<i>Dactylococcopsis</i>	<i>Myxosarcina</i>	<i>Leptolyngbya</i>	<i>Cylindrospermopsis</i>	<i>Stigonema</i>
<i>Gloeobacter</i>	<i>Pleurocapsa</i>	<i>Limnothrix</i>	<i>Cylindrospermum</i>	
<i>Gloeocapsa</i>		<i>Lyngbya</i>	<i>Nodularia</i>	
<i>Gloeothece</i>		<i>Microcoleus</i>	<i>Nostoc</i>	
<i>Microcystis</i>		<i>Oscillatoria</i>	<i>Rivularia</i>	
<i>Prochlorococcus</i>		<i>Planktothrix</i>	<i>Scytonema</i>	
<i>Prochloron</i>		<i>Prochlorothrix</i>	<i>Tolypothrix</i>	
<i>Synechococcus</i>		<i>Pseudanabaena</i>		
<i>Synechocystis</i>		<i>Spirulina</i>		
		<i>Starria</i>		
		<i>Symploca</i>		
		<i>Trichodesmium</i>		
		<i>Tychonema</i>		

Adaptado de: Castenholz (2001)

4.6 LA FILOGENIA MOLECULAR DE LAS CIANOBACTERIAS

En un intento para dividir las cianobacterias en agrupamientos filogenéticos, se han usado una composición de pigmentos fotosintéticos y secuencias de subunidades de RNA ribosomal. El agrupamiento de *prochlorofitos* se sugirió como un agrupamiento útil para agrupar aquellas cianobacterias con y sin receptores lumínicos “ficobilisomas” (Badger y Price, 2003).

Las cianobacterias se encuentran claramente agrupadas dentro de una radiación (divergencia de miembros de una línea filética), con aparente división dentro de esta primera radiación. Este análisis según los autores muestra su separación de las *b-proteobacterias*, *algas no verdes*, *algas verdes*, y *plantas superiores* (Badger y Price, 2003). Análisis genómicos de un número de cianobacterias sugirieron que la división de especies cianobacteriales basado en su tipo de *Rubisco* podría ser mucho más apropiado particularmente con respecto a la evolución de su sistema de CCMs ó mecanismo de concentración de CO₂ (*CO₂ concentrating mechanism*) (Badger et al., 2002).

En la *ilustración 4* se muestra *Árbol filogenético* para secuencias de ADN, subunidad ribosomal pequeña 16S; secuencia de proteínas de rubisco Forma 1 (L8S8) subunidad grande

4.6.1 Perfil filogenético basado en RNA Ribosomal

Como ya se denotó, los parámetros de selección de caracteres determinan la vía de muestreo y la principal vía que se conoce para muestrear la diversidad microbial es la filogenia molecular como ya se ha mencionado. Los Árboles más fuertes han sido generados basados en alineamientos múltiples de la secuencia 16S ARNr de varias especies, ver *ilustración 4*. El RNA Ribosomal tiene excelentes características como molécula para realizar filogenia: *Esta se encuentra distribuida globalmente, Esta altamente conservada aun exhibiendo suficiente variabilidad para revelar diferencias informativas y esta es solo raramente transferida entre especies. Por medio del análisis de las secuencias de ARNr, Woese y Fox, (1977) & Fox et al., (1980), concluyeron en estudios tempranos que, Bacteria y Archeae son grupos distintos.*

Estudios de similaridades metabólicas y secuencia de RNA ribosomal sugieren que las cianobacterias forman un buen taxón monofilético.

4.7 GENÓMICA COMPARATIVA

Este enfoque se basa en la comparación de secuencias genómicas, para ganar una perspectiva tanto en el diseño molecular, así como su estructuramiento cromosómico, al comparar secuencias de un gran número de especies relacionadas distantes, permitiendo identificar los elementos de DNA sometidos a presión selectiva, los cuales mutan a un índice mayor o menor con respecto a una constante. Se presume que tales elementos tienen propiedades funcionales.

En comparación con el acercamiento clásico a la reconstrucción de filogenia, cada sitio (posición numerada) en un conjunto de secuencias homologas puede ser considerada como correspondiente a un carácter, y la identidad de la base del nucleótido en aquel sitio corresponde al estado del carácter para la secuencia dada (Filipski & Kumar, 2001).

Enfoques como la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) han sido utilizados para el análisis de especies cercanamente relacionadas, para obtener la información mediante comparación. En comparaciones genómicas de gran escala y de especies relacionadas distantes. Una de las principales estrategias es comparar genomas completos por secuenciación de redundancia baja (o alta) de bibliotecas de pequeños insertos y depende de la aproximación o exceso del número de lecturas de secuencias con respecto a la redundancia del genoma. Una comparación más precisa y completa puede ser derivada mediante el tamizaje de colecciones de clones con sondas "conservadas" de un número selecto de regiones genómicas. Si la conservación es alta al comparar especies relacionadas distantes se dificulta descubrir la conservación funcional de elementos recientemente mutados en secuencias de ADN relacionados con un bajo número de mutaciones.

El uso de datos de secuencias moleculares posee varias ventajas comparado a los caracteres morfológicos utilizados tradicionalmente. El acercamiento no subjetivo está envuelto en la determinación del estado del carácter; las técnicas de laboratorio indican exactamente que nucleótido se encuentra en un sitio. Esta es otra ventaja ya que la misma serie de estados (cuatro bases) aplica para todo organismo, y así pueden ser directamente comparadas las formas de vida más diversas (Filipski & Kumar, 2001).

4.8 RECONSTRUCCIÓN FILOGENÉTICA

Actualmente, se dispone de varias técnicas de laboratorio (*tabla 2*), para examinar la diversidad entre especies y dentro de estas, por análisis de moléculas biológicas fundamentales, una de estas técnicas es el secuenciamiento directo de ADN y proteínas (polipéptidos), mediante la cual se puede comparar secuencias de ADN haciéndola la más informativa y poderosa herramienta de las últimas décadas. Secuencias completas de ADN de muchos genomas han sido obtenidas y se han construido, de este modo se ha alineado

secuencias completas de ADN y se han construido bases de datos publicas con la información de miles de genes de diversas especies (Kumar y Filipski, 2001).

Como ya se expresó, en comparación al acercamiento clásico de la reconstrucción de filogenia en el cual se utilizan métodos directos como la reconstrucción de series fósiles o métodos indirectos como: anatomía comparada, embriología comparada y fisiología comparada, la filogenia basada en secuencias de ADN, ARN o aminoácidos, se fundamenta en que cada (posición numerada) en un conjunto de secuencias homólogas puede ser considerada como correspondiente a un carácter, y la identidad de la base (nucleótido o aminoácido) en ese sitio corresponde a un estado del carácter para cada secuencia.

El uso de datos de secuencias moleculares tiene varias ventajas comparadas a los caracteres morfológicos usados tradicionalmente: no relaciona acercamientos subjetivos en la determinación del estado del carácter. Las técnicas de laboratorio indican exactamente que nucleótido está presente en un sitio. Otra ventaja es que el mismo *set* de estados (cuatro bases), aplica para todo organismo, esto permite comparar diversas formas de vida.

La cantidad de datos es enorme y relativamente fácil de adquirir para un conjunto de especies. La disponibilidad a bajo costo de poderosos computadores y algoritmos computacionales impulsa el uso rutinario de secuencias moleculares en la reconstrucción de una filogenia de organismos a varios niveles taxonómicos.

Tabla 2. Algunas técnicas moleculares de tipificación y análisis filogenético.

Técnicas	Método	Ventajas	desventajas
Hibridación ADN-ADN	Se basa en que la doble hélice del ADN puede separarse a altas temperaturas y asociarse en bajas temperaturas.	Especialmente útil cuando las cepas comparten más del 97% de sus secuencias de genes.	<ul style="list-style-type: none"> • Presenta límites de comparación. • Costos • Disponibilidad Instrumental
Electroforesis de proteínas	Se basa en la diferencia de cargas de las proteínas, que se mueven en el campo.	Permite comparar proteínas pertenecientes a especies emparentadas o no y establecer relaciones filogenéticas.	<ul style="list-style-type: none"> • Presenta límites de comparación. • Costos • Disponibilidad Instrumental
La Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR)	<p>Se utiliza comúnmente en los laboratorios de investigación para amplificar el ADN.</p> <p>Es la herramienta con el más profundo efecto sobre la Biología molecular (Boxer. 2000).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Amplia aplicabilidad de tareas. • La secuenciación de nucleótidos de genes amplificados por PCR es el medio más preciso y sensitivo de indexar el polimorfismo del ADN localizado para la tipificación de cepas bacterianas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Costos • Disponibilidad Instrumental
Análisis de Endonucleasas de Restricción de ADN de Plásmidos (REAP)	Basada en la detección de fragmentos de restricción Genómica por amplificación.	<ul style="list-style-type: none"> • Aplicabilidad universal con alto poder de discriminación y reproducibilidad. • Permite mapeo genético de plantas y animales, estudios filogenéticos, diagnósticos clínicos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Costos • Disponibilidad Instrumental
Análisis de la secuencia de los nucleótidos	La herramienta más poderosa para tipificación y análisis filogenéticos.	<ul style="list-style-type: none"> • La disponibilidad pública de secuencias, hace que sea menor la inversión en infraestructura 	<ul style="list-style-type: none"> • Disponibilidad de las secuencias o de su anotación.

Modificado de: Bedoya et al, 2006.

4.8.1 Secuencias de ADN.

Para inferir la relación de un *set* de organismos usando datos de secuencias moleculares, primero se debe asegurar que la secuencia a ser comparada sea homóloga. Para esto se seleccionan genes con un homólogo en cada organismo bajo estudio mediante parámetros estadísticos y biológicos. Además las secuencias no deben ser solo homólogas, deben satisfacer la condición fundamental de ser *ortólogos*: que hayan sufrido divergencia por eventos más bien que por duplicación de genes; esta ortología se determina usando criterios tales como: la identidad total de la secuencia y similaridad funcional, a través de familias de multigenes a los cuales la secuencia pertenece.

Se usan tanto secuencias de nucleótidos del gen, como secuencias de aminoácidos de la proteína producto de este nucleótido. Para esto se considera que organismos relacionados distantemente se analicen mediante secuencias de aminoácidos, debido a que las secuencias de nucleótidos cambian mucho más rápido que las secuencias de aminoácidos, debido a la redundancia del código genético.

Las secuencias de nucleótidos se utilizan por ser más informativas, y permitir distinguir entre sustitución de nucleótidos que no alteran el aminoácido codificado (sustituciones silentes) de aquellas que sí alteran, (Kumar & Filipski, 2001).

En estudios genéticos intraespecíficos de una población y para estudios de interespecies cercanamente relacionadas, se utilizan secuencias de nucleótidos ya que cambian más rápido y proveen mayor variación para la reconstrucción filogenética.

4.8.2 Alineamiento de secuencias

Para poder realizar el análisis de los datos obtenidos mediante los parámetros anteriores en las bases de datos, es necesario alinear las correspondientes posiciones en las diferentes secuencias. Esto no es superficial debido a que los genes difieren en longitud como resultado de mutaciones (inserciones o deleciones). Usualmente se insertan guiones (*gaps*), en las secuencias para maximizar la similaridad en cada sitio, mientras se minimiza el costo asociado con el número de sitios con guión insertado y es aquí donde las matrices de sustitución con puntuación predeterminada para cada tipo de remplazamiento determinan la sensibilidad y la velocidad del alineamiento brindándole mayor o menor peso a cada tipo de evento, la elección de una matriz determinada puede afectar enormemente el resultado del análisis y contienen una relación evolutiva específica.

Las matrices de sustitución más utilizadas son:

PAM (Percentage Accepted Mutation)

Son las matrices más sensibles para alineamientos de secuencias con homólogos relacionados evolutivamente. Mientras más alto sea el número PAM (por ej. PAM40,

PAM120), más grande la distancia evolutiva esperada. Si la distancia mutacional es desconocida, se deberían hacer por lo menos tres búsquedas utilizando las matrices PAM40, PAM120 y PAM250. Entonces se puede escoger la utilización de PAM para identificar secuencias conservadas o para establecer la evolución de una secuencia (Moreno P., 2005).

BLOSUM (Blocks Substitution Matrix)

Las matrices de BLOSUM son las más sensitivas para hacer alineamientos locales de secuencias relacionadas. Las matrices BLOSUM son ideales si se está tratando de identificar una secuencia de nucleótidos desconocida. BLOSUM62 es la matriz recomendada para proteínas y su valor de corte es 62, e indica que las secuencias fueron puestas en el mismo grupo si estas fueran más del 62% idénticas en un alineamiento sin inserciones (Moreno P., 2005).

Por último ya que *el alineamiento de secuencias de ADN de especies distantemente relacionadas o con genes que cambian rápidamente (fast evolving genes) es generalmente mas difícil* Kumar y Filipski, (2001), Los análisis de las secuencias de ADN que codifican proteínas son alineadas construyendo primero el alineamiento de las secuencias de aminoácidos correspondientes. La secuencia de la proteína es usada entonces como guía para obtener el alineamiento de las secuencias de ADN subyacente.

4.8.4 Recolección de datos

Un capítulo importante en toda colección de datos para los filogenéticos moleculares es el muestreo de taxones, lo cual refiere al uso de datos de solo un pequeño conjunto representativo de especies para inferir el nivel más alto de historia evolutiva. Un muestreo insuficiente de taxones es a menudo citado como fuente significativa de error en estudios filogenéticos y consecuentemente se indica la adquisición de conjuntos grandes, Rosenberg y Kumar, (2001). Para probar la afirmación, condujeron simulaciones computacionales los datos mostraron que la cantidad de errores filogenéticos por ramas internas es similar y se mantiene verdadero para los métodos de *Neighbor joining, Minimum evolution, Maximum parsimony, y Maximum likelihood...*, Rosenberg y Kumar, sugieren que secuencias más extensas producen mayor exactitud en la inferencia filogenética, que el muestreo extensivo de taxones.

Es importante tener en cuenta lo anterior ya que el muestreo de los taxones se hace con respecto a genomas secuenciados y con anotación disponible de las secuencias lo cual limita el muestreo extensivo de estos.

4.8.5 Inferencia de árbol filogenético

Con las secuencias alineadas se puede inferir el árbol filogenético. La estructura esencial de este es brindada por la disposición de los nodos (topología).

Según Felsenstein, (1978, 1988) *se ha considerado la topología de un árbol como un parámetro que se puede estimar y se ha contemplado el procedimiento de construcción de árboles filogenéticos como un estimador estadístico.*

Casi todos los métodos de reconstrucción de árboles filogenéticos se realizan sin hacer asunciones sobre ascendencia o nodo común (*grupo externo*). De otro modo, se puede usar una secuencia de un grupo externo conocido como raíz, aunque hay que tener en cuenta que un grupo externo mal elegido podrá cambiar totalmente la topología del árbol. Para la clarificación del patrón del árbol se analizan los patrones de distribución del árbol y usualmente se tiene en cuenta la longitud de sus ramas; una vez establecida la topología, se utilizan métodos estadísticos basados en Mínimos cuadrados (*least squares*) o Máxima Probabilidad para determinar la longitud de las ramas (Nei y Kumar, 2000).

Según Dopazo y Valencia (2001), en la Bioinformática y Genómica se pueden considerar dos abordajes distintos para estimar la confianza de árboles filogenéticos: utilizar el propio criterio estadístico como un criterio para decidir cuál es la topología óptima en una estrategia de adición paso a paso (igual que se hacía con los criterios de mínimos cuadrados, distancia mínima o parsimonia) o utilizar un método que permita saber el grado de fiabilidad de un árbol reconstruido por medio de un método cualquiera; ejemplo *Jukes y Cantor ó bootstrap* que obtiene estimados de error en situaciones no estándar re - muestreando conjuntos de datos, varias veces para probar una distribución en contra de hipótesis que deben haber sido probadas (Soltis & Soltis, 2003).

El “*bootstrap*” es un método estadístico para obtener un estimado no paramétrico de error (Efron 1979, 1982). Felsenstein (1985) fue el primero que lo aplico a la estimación filogenética y este método a la estimación filogenética, y este enfoque ahora es el más utilizado. Los taxones se mantienen constantes, y los caracteres (para datos de secuencias, los sitios de nucleótidos o aminoácidos) son re muestreados al azar. Una filogenia es construida para cada replicación de datos, y la frecuencia de aparición de un grupo filogenético particular (grupos de alelos o taxones) entre todos los árboles generados por este re muestreo es el límite de confianza del bootstrap, o valor P del bootstrap (BP).

Efron (1987), analizo y demostró que en el caso de intervalos de confianza la variación del bootstrap es de 9% con solo 200 replications y tiende a decrecer a 4% con 1000 replications, aunque para calcular el error estándar basta con un número menor de 100. El número de replications es determinado por criterio del investigador ya que un número alto de bootstraps tal como 1000 o 2000 disminuye el coeficiente de variación pero aumenta considerablemente el tiempo de análisis.

Diferentes métodos se encuentran disponibles para la reconstrucción de árboles filogenéticos. Actualmente, los filogenéticos moleculares usan comúnmente tres criterios para la construcción de árboles: Máxima parsimonia (***Maximum Parsimony*** “**MP**”),

Máxima Probabilidad (*Maximum Likelihood* “*ML*”) y Mínima Evolución (*Minimum Evolution* *ME*).

En el criterio MP, la topología requiere el más pequeño número de cambios de nucleótidos para ajustarse a la secuencia observada; el dato es elegido para representar el árbol verdadero (Fitch, 1971).

En el método ML, bajo un modelo probabilístico de sustitución de nucleótidos es seleccionada la topología con el mejor ML (Felsenstein, 1981), ya que las probabilidades calculadas para cada árbol son muy bajas se acostumbra a tomar el logaritmo de la probabilidad del dato para hacer el número más manejable y evaluable por esto las anotaciones del ML son negativas y el mejor árbol es aquel mas con el ML log más cercano a cero.

El método **Neighbor Joining** (“**NJ**”) (Saitou & Nei., 1987), utiliza el criterio de mínima evolución para obtener la topología final, basado en Unidades Taxonómicas Operacionales o Vecinos “*OTUs*” por su sigla en ingles, selecciona la topología con la menor longitud en sus brazos, en cada paso de su algoritmia y aunque no brinda el verdadero árbol, este se acerca mucho al árbol real, con la virtud de no tomar tanto tiempo en procesar grupos grandes de datos.

5. ANTECEDENTES

Los antecedentes denotan el avance en post de una descripción más completa del aparato fotosintético y cada uno implica un enfoque diferente; los expuestos en este documento han sido los análisis más influyentes realizados sobre el aparato fotosintético y su esquema filogenético y los investigadores más relevantes en el tema a la fecha.

Xiong y su grupo de trabajo en el 2000 realizó la comparación de múltiples genes de síntesis de tetrapirrol – magnesio hallando 31 ORF’s de enzimas relacionadas con biosíntesis de bacterioclorofila, carotenoides, y transferencia de electrones fotosintéticos en 100 kilo pares de bases de nucleótidos y sugirió a las bacterias purpura como primer linaje fotosintético emergente mediante enfoques de análisis filogenético.

Badger y Price, en el 2002 realizaron la comparación de genes del “Mecanismo de concentración de CO₂” (MCC) en 9 genomas cianobacteriales y concluyeron que las cianobacterias han evolucionado dos tipos de carboxisomas, correlacionados con rubisco

(Forma 1A y 1B).

Martin et al., 2003 realizó la comparación de 8 genomas cianobacteriales en disponibilidad 181 genes entre 1000 ORF's aproximadamente. Tomando como modelo *Synechocystis sp. PCC6803* (Kaneko et al. 2001) encontraron 43 genes asociados a función y realizaron la definición de un grupo de genes firma para las cianobacterias.

Mulkidjanian y colaboradores en el 2006 compararon un conjunto de proteínas codificadas en 20 genomas cianobacteriales completos y hallaron 3188 familias de proteínas por agrupamiento de ortólogos, 892 cianobacteriales y 162 en 14 de los 15 genomas y sugieren como primeros organismos fotótrofos a las “Pro – cianobacterias” El trabajo de Mulkidjanian retoma los anteriores enfoques y propone dejando la solución a un eslabón perdido entre la adaptación del fotosistema en otros organismos y su origen.

En Colombia no se encuentran publicaciones sobre el análisis bioinformático comparado de la fotosíntesis. Entendido como el análisis molecular y genómico (secuenciación de ADN/ARN, proteínas y bases de datos de plantas, animales y microorganismos) y su análisis filogenético. Este es el primer trabajo realizado a este nivel. De hecho, el porcentaje de proyectos en biotecnología es de 0.1% con respecto a un 27% en salud humana. Y un 61% de estos aportes se realiza a nivel de los diferentes grupos de investigación de educación superior; datos obtenidos de Construcción de indicadores en biotecnología para la OEA en el 2004.

En la Universidad del Cauca el grupo de Biología Molecular Ambiental y Cáncer (BIMAC) Categoría A Colciencias 2005-2008, realiza un importante trabajo en aportar avances en los campos de la Bioinformática y el análisis genómico multifractal para Colombia (<http://bimac.unicauca.edu.co/web3> o en su defecto <http://bimac.unicauca.edu.co>).

6. DISEÑO METODOLÓGICO

Ya que una filogenia molecular refiere a una hipótesis de sucesos que desconocemos. Esta debe ser fundamentada y verificada, factor tomado en cuenta para la realización de este trabajo. La fiabilidad la brindan las bases de datos, así como la obtención de los datos primarios (secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos y su anotación), y de modo relevante los parámetros estadísticos implícitos en los métodos de alineamiento y de reconstrucción filogenética con el mayor soporte estadístico y fiabilidad; este proceso de selección de los métodos se realizó previa revisión bibliográfica de los trabajos más notables en el tema.

6.1 BÚSQUEDA DE SECUENCIAS EN BASES DE DATOS PÚBLICAS

Para los siguientes pasos de la metodología se realizó el análisis de disponibilidad de los datos biológicos, debido al enfoque específico, que requirió de secuencias y tablas de genomas con anotación disponible, coherente y pertinente al sistema y su función. Se extrajo información de las bases de datos del gobierno Japonés “*Kazusa* (<http://www.kazusa.or.jp/cyano/cyano.html>)” y “National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)”, en el formato de almacenamiento *fasta* y *ptt*; a los datos se les dio el formato correspondientes al algoritmo filogenético a utilizar. Todo este trabajo se realizó en el laboratorio de Bioinformática del grupo de Biología Molecular, Ambiental y Cáncer de la Universidad del Cauca con la ayuda de un servidor (Dell *PowerEdge* 2800) que facilito y acelero el proceso.

6.1.1 Definición y número de individuos a utilizar

Mediante revisión bibliográfica y de las bases de datos, se decidió tomar organismos fotótrofos de los 5 grupos fotosintéticos y posteriormente se evaluaron las bases de datos y disponibilidad de secuencias anotadas. Se extrajeron datos genómicos de individuos representativos de cianobacterias, Eucariotes fotótrofos, bacterias verdes sulfurosas, bacterias verdes no sulfurosas, bacterias purpura y heliobacterias y arqueas, estos fueron tomados e intercambiados de acuerdo a la presencia de anotación en su genoma, (tabla anexa 3).

6.1.2 Obtención de las secuencias por anotación

Para la obtención de los datos biológicos de estudio se requirió dos bases de datos principalmente, debido a la indisponibilidad de organismos fotótrofos representativos tanto en formato *fasta* (*.fas*), como en tablas de anotación, se tomo un registro en donde se determino la base de datos disponibilidad de anotación, fecha y hora exacta de la toma de las secuencias; este proceso permitió cuantificar el ritmo de trabajo y la actualidad de los datos así como las limitaciones causadas por la ausencia de estos.

- El grupo de secuencias pertenecientes a los fotosistemas I, II y ATP así se obtuvieron de las bases de datos *KEGG* y *NCBI*, donde se encontró el conjunto de genes secuenciados, con anotación y función actual.
- Esto se realizó mediante las herramientas de búsqueda propias de estas bases, en este caso la búsqueda por “*kegg/pathway*” en las bases de datos contenidas en Kazusa para la vía metabólica y “*dbget gen locus*”, para la secuencia de los genes y la información de los mismos. Para la base de datos *NCBI* la búsqueda se realizó utilizando el filtro *COG*: “*Cluster of Orthologous Group*” y las tablas de anotación de proteínas (*.ptt*) y sus secuencias de aminoácidos en formato fasta (*.faa*), en el FTP (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/>) mediante referencia de los grupos taxonómicos.
- Para la obtención del conjunto de secuencias completas, se analizaron todos los genes y su anotación los cuales se agruparon en carpetas por fotosistema I, II y ATP sintetasa y luego por subunidad, (α , β , γ).
- Se organizaron bloques de texto en los cuales se colocó la secuencia ortóloga representativa de los organismos fotótrofos asociados con ese sistema, para su posterior alineamiento.
- Se creó una copia de seguridad de las bases de datos usadas para cada uno de los procesos con la fecha y hora de toma de las secuencias y una base en EXCEL.

6.1.3 Agrupamiento de las secuencias

- Las secuencias obtenidas fueron filtradas por anotación y función específica en el fotosistema y se agruparon en carpetas y subcarpetas del siguiente modo: secuencias del fotosistema I, fotosistema II, ATP sintetasa y las secuencias de 16SARNr para facilitar el orden en la realización del agrupamiento, paralelo de cada unidad y su posterior análisis filogenético.

6.2 TRATAMIENTO DE DATOS

Los datos de la búsqueda, se presentaron con diferentes identificaciones dependientes de la base de datos de los cuales se extrajeron: Por esto se basó la búsqueda en el enfoque de grupos ortólogos, lo cual evitó el sesgo causado por ambigüedad de anotación u obtención de parálogos, esto facilitó el agrupamiento funcional común.

Mediante la algoritmia del software *BioEdit* se limpio los bloques de secuencias de duplicados causados por ambigüedad de anotación, tanto para secuencias de nucleótidos como de aminoácidos.

- Trato de evitarse el uso de secuencias sin anotación disponible o hipotética ya que causan pérdida de fidelidad de la filogenia y la falta de anotación haría necesario enfoques no concernientes a esta fase de la investigación.
- Se alinearon las secuencias de nucleótidos y aminoácidos en busca de las regiones conservadas, principalmente las regiones comunes necesarias para conservar la función como preliminar de evaluación antes de realizar la construcción de los árboles filogenéticos.

6.3 ALINEAMIENTO MÚLTIPLE Y ANÁLISIS FILOGENÉTICO

Los árboles filogenéticos se construyeron de acuerdo a los siguientes pasos y mediante algoritmos específicos. Los programas de uso libre *BioEdit 7.0.9.0* (Thompson et al., 1994), *MEGA 4.0* (Tamura et al., 2007) y *PHYLIP 3.67* (J. Felsenstein et al., 1989), reúnen los principales algoritmos filogenéticos y son los más referenciados en la actualidad.

6.3.1 Formato de los datos

Las secuencias de nucleótidos y aminoácidos se extrajeron en formato “*fas*”, de la base de datos *KEGG* y *NCBI*, estos formatos fueron tomados y transformados de acuerdo a las necesidades del algoritmo a utilizar también se obtuvieron datos en formatos: “.*ptt*” el cual es una tabla de características de proteínas; “.*goa*” tabla de anotación de ontología de genes y “.*gff*” tabla de anotación de genes usados principalmente por la *NCBI*. Este trabajo se realizó sobre el software que contiene los algoritmos y de acuerdo a las herramientas que este posee.

Las secuencias de nucleótidos y aminoácido en formato “*fasta*” del alineamiento múltiple hecho en el programa *BioEdit*, se transformaron mediante herramientas de edición de texto y exportador de formato “.*meg*” de los programas *MEGA 4.0* y *PHYLIP 3.67* con formato “.*phy*”, para la construcción de los árboles filogenéticos.

6.3.2 Alineamiento múltiple

Se realizó un alineamiento múltiple con las secuencias de ADN y proteínas ortólogas mediante el algoritmo *ClustalW* contenido en el programa *BioEdit 7.0.9.0* (Thompson et al., 1994), utilizando las matrices de distancia *Blossum62*, *PAM40*, *PAM120*, *PAM250* con el fin de evaluar la de mejor ajuste al patrón de mutación entre las secuencias y se efectuó corrección manual de los alineamientos para proceder en la construcción filogenética.

6.3.3 Construcción de árboles filogenéticos

Los árboles filogenéticos se construyeron mediante *métodos de distancia* (Saitou N & Nei M., 1987) debido a que los genes pertenecientes a los diferentes sistemas del metabolismo energético, poseen una homología ortóloga o están muy estrechamente relacionados, permitiendo que los métodos de distancia sean muy exactos en sus resultados.

Se construyeron los árboles filogenéticos de los cuales según Felsenstein, (1978) “*la construcción de su topología será un estimador estadístico*”.

6.3.3.1 Construcción de árboles mediante Máxima Probabilidad

Se usó la algoritmia de “*DNA Maximum Likelihood (dnaml)*” y “*Protein Maximum Likelihood (proml)*” contenido en el paquete *PHYMLIP 3.67*, y también la de los paquetes “*seqboot*” para realizar un bootstrap de 100 y “*consense*” para obtener el árbol consenso, con los parámetros por defecto; En todas las inferencias mediante ML se asumió el modelo de cambio de Dayhoff (PAM) (Schwarz & Dayhoff, 1979), reordenamiento al azar en la adición de las secuencias “*randomized jumbled*”, reordenamiento global, y la opción de análisis más liviana “*not rough*” del *DNAML* y *PROML* debido al consumo en tiempo que causa un análisis más exhaustivo, pero sin dejar de lado la fiabilidad del proceso aplicando los parámetros estadísticos propios del algoritmo usado, los árboles se visualizaron en entorno gráfico mediante el programa TREEVIEW (Page R., et al 1996).

6.3.3.2. Construcción de árboles mediante Cercanía de Vecinos y UPGMA

Se realizó mediante el método “*Neighbor-Joining*” y “*UPGMA*” en el programa *MEGA 4.0* (Tamura et al., 2007) con bootstrap de 100 y todas las posiciones conteniendo gaps y datos perdidos fueron eliminados del conjunto de datos “*Complete Deletion option*”.

6.3.3.3. Construcción de árboles mediante Máxima Parsimonia

Se utilizó la algoritmia de *Maximum Parsimony (MP)* (Eck R.V. & Dayhoff M. O., 1966), contenido en *MEGA 4.0* se realizaron 100 replicados completos y cada ronda de búsqueda fue hecha con replicas de adición al azar de los taxones y con el algoritmo de Intercambio de Vecinos Cercanos “*Close-Neighbor-Interchange*” con nivel de búsqueda 3.

Finalmente se comprobó la fiabilidad de la topología según Dopazo y Valencia (2001), mediante estrategia de adición paso a paso (criterios de mínimos cuadrados *UPGMA*, distancia mínima o parsimonia *MP*) y mediante “*Bootstrap*” estimando el error en situaciones no estándar, re-muestreando conjuntos de datos varias veces para probar una distribución en contra de hipótesis que deben haber sido probadas (Soltis & Soltis, 2003).

Se selecciono el árbol filogenético consenso que señalara los diferentes clados del árbol filogenético (agrupamientos filogenéticos) en similaridad de parámetros, como tipo de matriz y se contrasto para el posterior análisis.

La selección del árbol final se realizó evaluando la homología de los árboles para las diferentes algoritmas que implica cada modelo (ML, NJ, MP y UPGMA) después de la corrección del mismo.

6.4 AGRUPAMIENTOS Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

El proceso de análisis de los resultados se dividió en dos fases, debido a que se sumo a la relación filogenética de agrupamiento, la comparación de anotaciones de genomas en búsqueda del grupo de genes comunes a los sistemas de interés.

6.4.1 Búsqueda del mínimo número de genes comunes

Se tomaron 37 organismos representativos, para lo cual se extrajo del ftp de la NCBI las tablas “.ptt, .goa .gff y .faa” las cuales contienen anotaciones del genoma completo sobre los genes presentes, productos, códigos de agrupamiento de ortólogos (COG), códigos UIPAC y secuencias fasta de aminoácidos; mediante la aplicación **A3SComp** desarrollada por (Ceter & Caicedo 2008), se realizó la comparación de los individuos por descripción, código UIPAC y COG; este análisis siguió la estrategia del mínimo número de genes comunes de Martin y colaboradores en el 2003 y se complemento con los análisis de agrupamiento de grupos ortólogos de cianobacterias (*CyOG*) de (Mulkijadian et al., 2006)

6.4.2 Construcción de árboles filogenéticos.

Siguiendo la estrategia de utilizar *COG's* se extrajeron un total de 748 secuencias de aminoácidos del *fotosistema I*, 352 del *fotosistema II* y 333 *ATP asa* en total 1470 secuencias de aminoácidos y el mismo número de secuencias de nucleótidos para un análisis final de 2940 secuencias que se alinearon en su correspondiente grupo ortólogo.

Se trato de usar solo secuencias completas y anotadas de los grupos en orden de minimizar potenciales artefactos en la reconstrucción filogenética, derivadas por el uso de grupos distantes y también se evaluó el efecto de atracción de grupos distantes y se analizo la filogenia de las cianobacterias con y sin grupos distantes, no se encontró alteración del taxón cianobacterial.

Ilustración 8. Diagrama de flujo general del proyecto

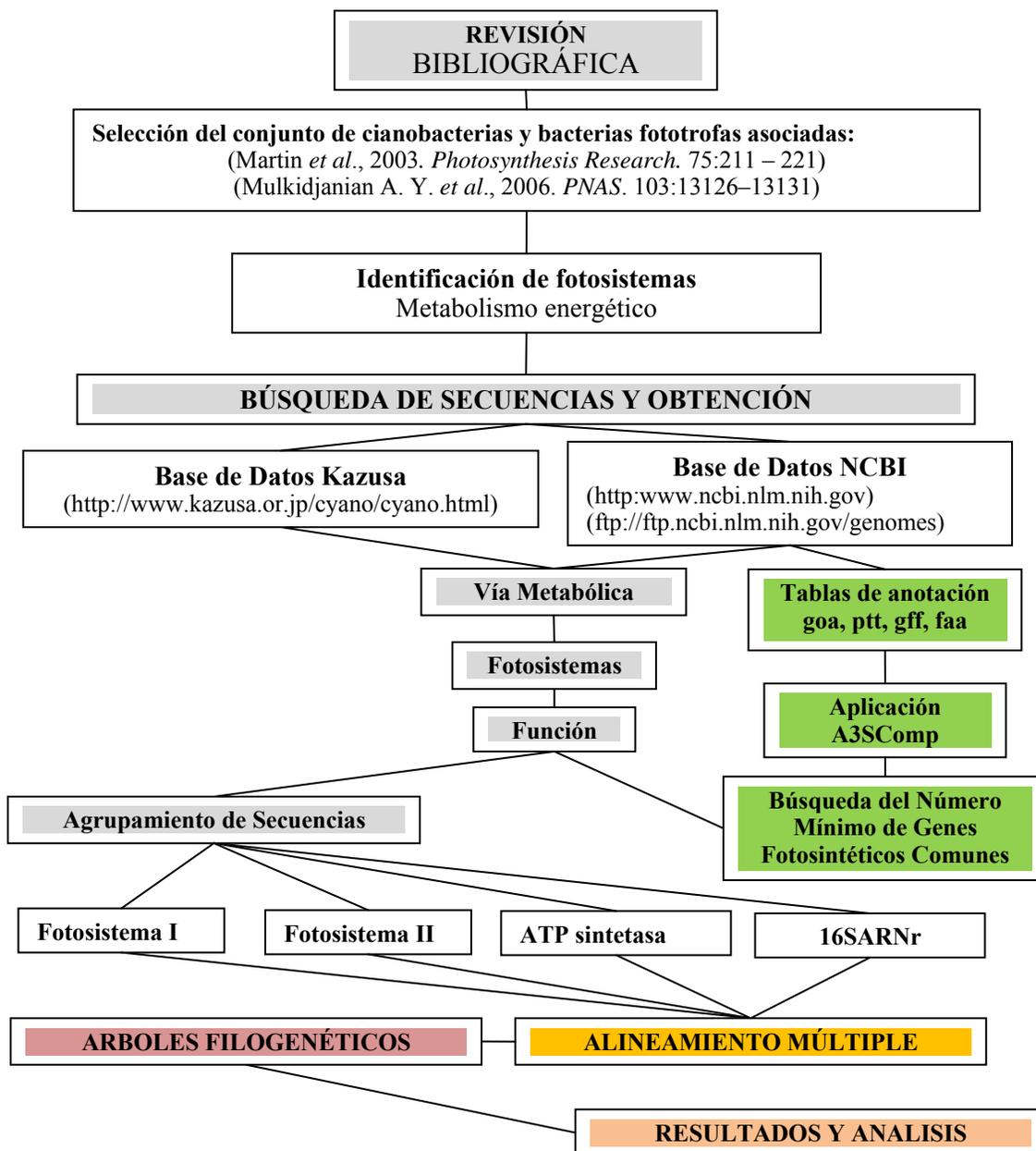
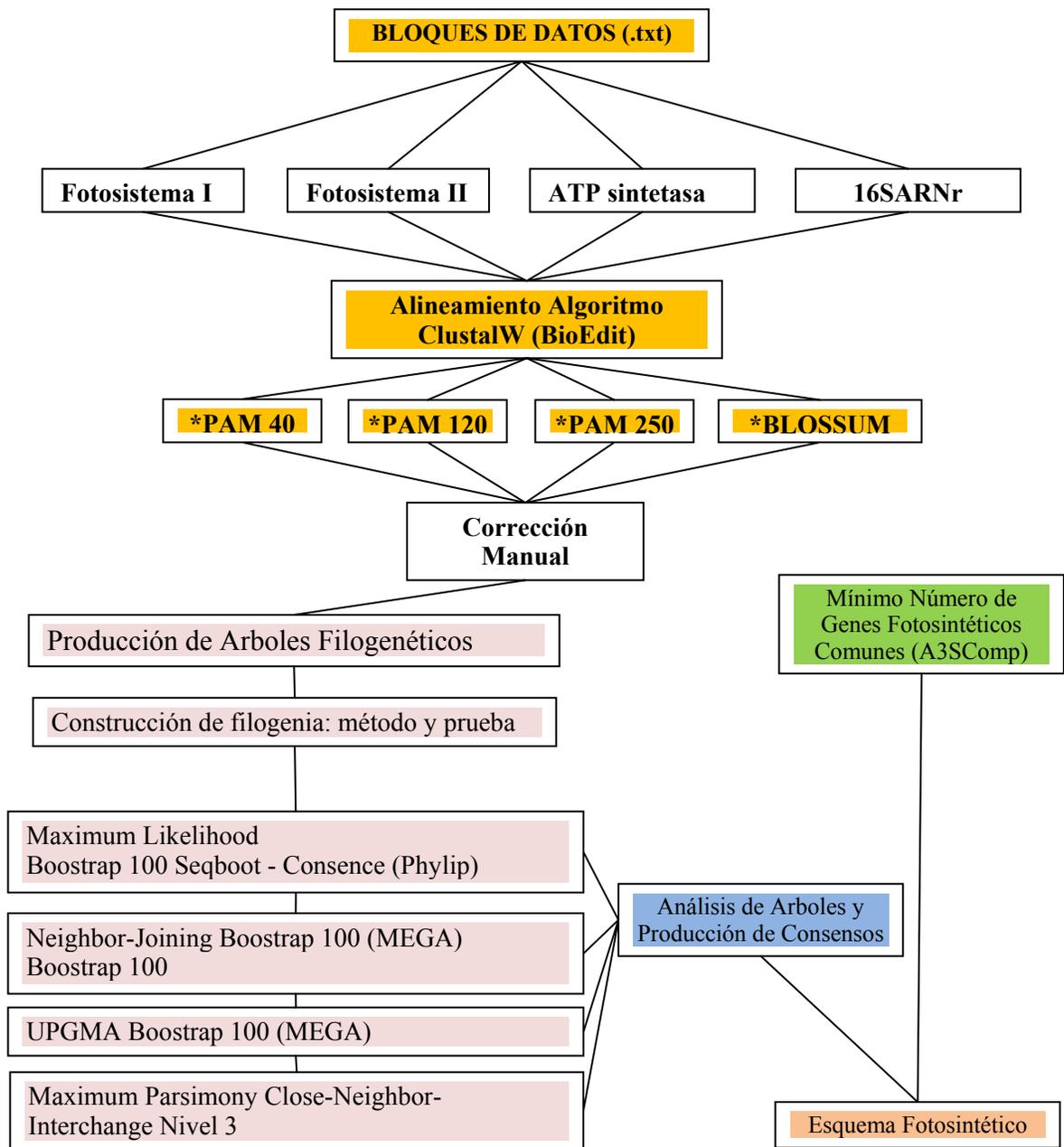


Ilustración 9. Esquema de alineamiento y construcción de árboles filogenéticos



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actualmente, la descripción de las especies y la clasificación de gran número de cepas cianobacteriales se basa solo en morfología, en este trabajo la clasificación y filogenia de las cianobacterias no es congruente, y se evidencia en los resultados de agrupamientos polifileticos de los diferentes árboles filogenéticos, y aunque este estudio no pretende llevar a una revisión de la clasificación taxonómica, sino evidenciar mediante organismos representativos de diferentes ecosistemas el ensamble del aparato fotosintético cianobacterial, esta incongruencia se refleja en lo diverso del agrupamiento de los nodos de *prochlorococcus* y *synechococcus*; evidenciado también por el análisis de diversidad cianobacterial en aguas templadas de Pirjo W. en el 2006.

Nota: Los nombres científicos de los organismos usados en este trabajo se referencian por su código, el cual fue extraído de las bases de datos consultadas (*tabla anexa A*), y este mismo código es usado en la totalidad del texto.

7.1 GENES COMUNES APLICACIÓN A3SComp

Mediante la aplicación *A3SComp* se extrajeron de las tablas de anotación de proteínas (*.ptt*) de la base de datos de NCBI, en total 18714 anotaciones de secuencias de 37 organismos, 1337 fueron secuencias anotadas de modo ambiguo: función similar, 314 proteínas desconocidas, 2465 proteínas definidas por similitud de secuencias, 1010 con función relacionada y 285 hipotéticas; en total 13429 o 72% fueron anotaciones ambiguas o referencias de secuencias distintas con el mismo nombre caso de *PsbW-Psb28* (Thidholmab, E. et al., 2002) y *Psb27-PsbZ* (Kashino et al. 2002).

Se seleccionaron las anotaciones de secuencias implicadas en la conformación de las unidades del fotosistema II, I, ATP *asa* y Citocromos implicados en el transporte de electrones a través del fotosistema II y I, con el fin de evaluar el posible sistema o unidad intermedia que pudiera dilucidar un patrón de origen del fotosistema entre los organismos a evaluar. En este grupo de anotaciones un 18% fueron ambiguas del total 235 secuencias.

Se encontro que, 3 genes (*PsbY*, *PsbZ*, and *Psb27*) de la sudunidad FSII (*anexo B. tabla de genes comunes*) y también el gen *psbY* (*Ycf32*) referenciado por Mulkidjanian *et al.* (2006) y 4 genes (*PsaI*, *PsaJ*, *PsaK*, *PsaX*) de la sudunidad FSI están perdidos en el genoma de *Gloeobacter violaceus PCC7421* los genes ausentes en *Gloeobacter* han sido referenciados por (Honda et al., 1999, Nakamura et al., 2003 y Mulkidjanian *et al.*, 2006).

También se observo la ausencia de genes del fotosistema II (*PsbQ*, *PsbV*, *PsbU*) (*anexo B. tabla de genes comunes*), ausencias también observadas por Mulkidjanian *et al.*, 2006, en

los organismos: *Prochlorococcus marinus* str. NATL1A, *Prochlorococcus marinus* str. NATL2A, *Prochlorococcus marinus* CCMP1986 (ecotipos Marinos Alto-B/A), Clado I y II, excluyendo *Prochlorococcus marinus* str. MIT 9312 de ecotipo Bajo -B/A, Clado II, genes que en las otras cianobacterias se encuentran implicados en: *PsbV*: en la transferencia de electrones, ligado al complejo de evolución de oxígeno, *PsbQ*: Participa en la estabilización del FSII mediante la modulación del requerimiento de Ca^+ , *PsbU*: cuya función es estabilizar el FSII modulando el requerimiento de Cl^- (Mullineaux W., *et al.*, 2007);

Tampoco se presentó *PsbN* (con función específica no determinada) en dos *Prochlorococcus marinus* str. NATL1A y NATL2A ausencia referenciada para el segundo organismo por Mulkidjanian *et al.*, 2006.

El gen *PetJ* no fue hallado en el agrupamiento de genes ortólogos de Mulkidjanian *et al.*, 2006, *Prochlorococcus marinus* CCMP1986, mientras la aplicación A3SComp encontró anotación ortóloga referente a este gen en este organismo.

Las implicaciones de ausencia o presencia entre las tablas de Mulkidjanian y las producidas mediante A3SComp se deben a que la aplicación utilizada se basa en la presencia de anotación para poder obtener resultados, mientras que el autor mencionado se basó en el método de agrupamiento de ortólogos (Tatusov *et al.* 2000) y la herramienta BLAST con la cual agrupó mediante rangos de probabilidad sus genes homólogos no representados en algunos organismos, produciéndose así un posible sesgo por los parámetros utilizados por el método de Tatusov que pudieron ser muy estrictos o laxos incluyendo o eliminando algunos genes representativos; por otro lado la utilización del valor BLAST usado para evaluar cual rango era el equivalente a ortología implica lo anterior y ya ha sido expuesto por Martin y colaboradores en el 2003; para evitar sesgos se complementó lo obtenido en la tabla A3SComp mediante los datos de análisis realizados por Mulkidjanian y Martin.

7.2 ALINEAMIENTOS

Las secuencias de ARNr 16S y de los genes implicados en los sistemas FSII, FSI, ATP *asa* y citocromos, fueron alineadas probando las matrices de sustitución. Las matrices que mejor se ajustaron al patrón de cambio fueron las matrices PAM que resultó ser más sensible con respecto a los alineamientos debido a la cercanía evolutiva intra cianobacterias la diferencia entre los diferentes índices de PAM se denota a medida que se incluían grupos externos y PAM40 se ajustó mejor al menos en el taxón cianobacterial y la matriz BLOSUM62 fue la más sensitiva para hacer alineamientos ya que esta es ideal si se está tratando de identificar una secuencia de nucleótidos desconocida (Pevsner J. 2003), pero para realizar la topología filogenética no fue usada, ya que no representa patrones evolutivos, debido a que su objetivo es ser más sensible en hallar patrones entre secuencias desconocidas y deja de lado los patrones evolutivos mutacionales (Pevsner J. 2003).

7.3 ÁRBOLES FILOGENÉTICOS

En este trabajo se siguió el modo de evaluar un “método” para la inferencia de árboles evolutivos dividido según Steel M. *et al.* (2000) en tres componentes independientes:

- La escogencia del criterio optimo,
- Asunción acerca del modelo evolutivo,
- Búsqueda de la estrategia sobre la topología (espacio) del árbol.

El criterio de optimo de inicio se obtuvo mediante revisión bibliográfica por la cual se optó por usar la matriz PAM (Schwarz R & Dayhoff M., 1979), y para la construcción de los árboles se obtuvo por los métodos más usados en la literatura, debido a que, aunque se referencian filogenias con organismo utilizados en este trabajo la inclusión de otros organismo y genes, hace de este proceso algo experimental; se probaron los métodos de Máxima Parsimonia, Maximun Likelihood, Neiborg Joining y UPGMA con el fin de obtener consenso y se obtuvieron bootstraps similares (exceptuando UPGMA) (Tabla Anexa Estadísticos de Topologías); al revisar la bibliografía el método más consistente fue el de Máxima Parsimonia.

Los resultados expuestos por el método MP se deben al principio explicado por Willi Hennig sobre el principio de Parsimonia, el cual se basa en el concepto minimalista, también conocido como “Ockham’s razor”, y los estados en los cuales se debe tender por las explicaciones más simples (que requieren pocas asunciones) sobre las más complejas *ad hoc*.

En la reconstrucción filogenética, se aplican estos principios en dos formas:

1. MP favorece los árboles que requieren los menores eventos evolutivos (ej., Mutaciones), para explicar los datos observados y en este sentido obtener la descripción más “simple” u “optima” de los datos (Steel M. *et al.*, 2000).
2. MP asume mínimamente cualquier posible modelo o mecanismo evolutivo (Steel M. *et al.*, 2000).

El Segundo principio en especial favorece el desarrollo de esta fase del trabajo debido a la complejidad, abundancia de modelos y al desconocimiento de los parámetro exactos de cambio entre el conjunto de secuencias y organismos a utilizar, y se optó por parámetros de aproximación ya referenciados por otros autores (Xiong *et al.*, 1998, 2000, 2002, Olsen y Woese 1993, Roca *et al.*, 2002), este principio fue probado estadísticamente en la “Zona Farris” por Siddall en 1998, escenario donde dos taxones que tiene una tasa de cambio rápida se encuentran relacionados, mientras ML probó ser mucho menos eficiente en esta “zona” mientras el tamaño de las secuencias fuera pequeño, que fue el caso de muchas de las secuencias analizadas.

El método ML el cual es citado y usado como el método más robusto, requiere de parámetros de optimización suplementarios para su estimación del árbol (y pruebas estadísticas entre los diferentes árboles), los cuales son estadísticamente problemáticos (Steel M. *et al.*, 2000), y se ha probado que es afectado por la heterotaquia, situación en la cual la tasa de cambio en una posición dada puede variar a través del tiempo, situación que sucede ampliamente (Philippe et al 2005). Sumado a lo anterior los parámetros no mostraron ajustarse y ser consecuentes con una topología consistente con las referencias en otros artículos (Xiong et al., 1998, 2000, 2002, Olsen yWoese 1993, Rocap et al., 2002), con bajo soporte de bootstrap en el 90% de las filogenias inferidas mediante este método, por lo cual se reportan agrupamientos no resueltos o hipotético con bajo soporte estadístico.

En general y con los principios anteriormente expuestos se puede denotar que ha mayor cantidad de sitios informativos menor variación en la topología entre los diferentes métodos y mayor soporte de bootstrap.

En cuanto al uso de grupos externos, donde no fue posible usar (bacterias purpuras, verdes, heliobacterias o Eucariotes fotosintéticos) usados por (Olsen yWoese 1993, Rocap et al., 2002, Xiong et al., 1998, 2000, 2002), se uso la cianobacteria primitiva *Gloeobacter violaceus* como raíz, con el fin de entender mejor el patrón evolutivo dentro del taxón cianobacterial siguiendo lo expuesto por Six C., *et al.*, (2007).

7.3.1 Topología del gen ARNr 16S

El objetivo de recurrir a la subunidad ARNr 16S no es obtener un parámetro de ensamblaje de la fotosíntesis en sí, sino obtener un esquema filogenético de comparación cuyos parámetros ya hayan sido ampliamente analizados para la mayoría de los organismos examinados; según Xiong et al. (2000) debe ser enfatizado que hay una diferencia conceptual entre evolución de la fotosíntesis y la de un organismo fotosintético. La primera envuelve solo un número limitado de genes para este proceso bioenergético, y el otro relaciona todo el genoma, representado por genes estrictamente heredados verticalmente tal es el caso de los genes de la subunidades ARNr y esta no refleja la filogenia de los genes para una ruta metabólica específica, aunque se observe procesos de transferencia horizontal evidenciados por la divergencia de la filogenia en los dos sistemas en los nodos más profundos.

El árbol filogenético de ARNr 16S fue construido usando como raíz las arqueobacterias siguiendo las inferencias de Olsen yWoese 1993, la topología mostro en consenso a las bacterias verdes no sulfurosas como los organismos fotosintéticos más ancestrales coincidiendo con lo expuesto por Olsen yWoese 1993 y a las bacterias verdes no sulfurosas como grupos cercanos, las bacterias purpuras y verdes se agrupan juntas para convertirse en grupo hermano de las heliobacterias y sucesivamente emergen las cianobacterias ubicándose *cyb* (*Synechococcus- Ecotipo de aguas continentales termales*) en el análisis

hecho por Woese en 1987, el único organismo cyanobacterial utilizado cercano a las heliobacterias es la cianobacteria *Synechocystis 6803* (*Synechococcus* - *Ecotipo de aguas continentales*) y *Gloeobacter violaceus PCC7421* (*Gloeobacterial- Ecotipo de aguas continentales*) como los nodos más basales; y como ya se ha expuesto es evidente el nexo entre cianobacterias que tentativamente serían los *Prochlorococcus* los más cercanos a las plantas, aunque la topología de los árboles no permitió definir un organismo de transición ya que: el poder de resolución del gen ARNr 16S aunque es, en o por encima de los niveles de especie (Fox *et al.*, 1992) la Transferencia Horizontal de Genes y las múltiples copias heterogéneas de ARNr son factores importantes en la determinación errónea de un nodo.

Dentro del grupo de las cianobacterias es conocido que *Synechococcus* y *Prochlorococcus* son polifileticos (Rocap *et al.*, 2002), (grupo que no incluye al antepasado común más reciente de todos sus miembros; está constituido por la unión artificial de ramas dispersas del árbol y se justifica por errores de clasificación), pero sus ecotipos se encuentran bien definidos dentro de la radiación de las cianobacterias como lo denotan Prochlorales los cuales son todos marinos mientras en los Chroococcales se encuentran: *Cyanobacterium Yellowstone B-Prime* (aguas continentales termales), *Synechococcus CC9605*, *Synechococcus CC9902*, *Synechococcus CC9311* (marinos), *Synechococcus sp. WH8102* (marino de océano abierto), *Synechocystis sp. PCC6803* y *Synechococcus elongatus PCC6301*, *Synechococcus PCC7942* (aguas continentales).

Los Prochlorales muestran agrupamiento definido y vinculado a su ecotipo en el siguiente orden: *Prochlorococcus marinus SS120* pma (oligotrófico marino/Alto -b/a, clado II), *Prochlorococcus marinus NATL2A* pmn (marinos/Alto -B/A, clado I), *Prochlorococcus marinus AS9601* pmb (marino/Bajo -b/a, clado II), *Prochlorococcus marinus MED4* pmm (marino oceánico/ Bajo-b/a, clado I), *Prochlorococcus marinus MIT 9515* pmc (marino oceánico/ Bajo-b/a, clado I), esto ya ha sido expuesto por Rocap *et al.*, (2003) mediante análisis de ARNr 16S.

Los otros grupos están representados por *Gloeobacter* (*Gloeobacter violaceus PCC7421*) de agua continental el cual es el más temprano en divergir de las cianobacterias confirmado por los análisis de ARNr 16S de Nelissen *et al.* (1995) y junto con la *Cyanobacterium Yellowstone B-Prime* (*Synechococcus*) lo cual concuerda con lo expuesto por Honda *et al.*, (1999), los cuales realizaron un análisis de linajes cianobacteriales mediante secuencias del gen ARNr 16S.

Esta filogenia muestra claramente la transición entre organismo anoxigénicos y oxigénicos soportada con un soporte estadístico ó bootstrap promedio de 78,1.

Xiong y colaboradores exponen mediante construcción de árboles filogenéticos de un grupo de genes implicados en la biosíntesis de pigmentos fotosintéticos (BchL/ChlL y BChH/ChlH), que sí hay una transición clara de organismos anoxigénicos a oxigénicos situando a las bacterias purpuras como el organismo ancestral de la fotosíntesis, luego las heliobacterias y posteriormente las cianobacterias (*Synechocystis 6803* “la cianobacteria

mas basal de este grupo”, *Synechococcus* 7942, *Anabaena variabilis*) ligadas a los Eucariotes.

Ya que el análisis filogenético de Mulkidjanian et al. (2006), se baso directamente en el contenido de genes implicados en la fotosíntesis y basado en agrupamiento de genes ortólogos comunes a todo el grupo fotosintético (bacterias purpuras, verdes, cianobacterias y plantas), este no expone una hipótesis paralelizable directamente a lo expuesto en el árbol de ARNr 16S, en el cual se procede de organismo anoxigénicos a oxigénicos con el orden ya mencionado arriba; Mulkidjanian expone un origen incierto en el cual no se evidencia la transición ya expuesta y opta por un organismo anoxigénico intermedio entre las cianobacterias y los organismos anoxigénicos y explica la presencia de genes comunes por Transferencia Lateral de Genes.

7.3.2 Topología de los genes del fotosistema II.

7.3.2.1 Gen psbA

El gen psbA codifica para la proteína D1 que junto con la proteína D2 forman el heterodímero que une los cofactores envueltos en la separación primaria de cargas y subsecuente transferencia de electrones dentro del FSII.

Para producir esta topología se uso como grupos externos genes ortólogos de las bacterias purpuras y verdes siguiendo lo encontrado por Woese en 1987, ubicándose estas como el organismo oxigénico ancestral en la topología del árbol ML más no así en MP y NJ, los cuales muestran a las bacterias verdes como el organismo ancestral y en general la topología sigue el patrón de organismos fotosintéticos anoxigénico hacia oxigénicos.

El grupo de cianobacterias Nostocales se ubica como el nodo mas basal, del cual divergen los otros grupos de cianobacterias, en el cual *Prochlorococcus* se encuentra bien definido, junto al grupo hermano de *Synechococcus* (marinos), conformado en orden de divergencia por: cya, cyb, syn, tel gvi y ter repitiéndose el mismo agrupamiento ocurrido en la topología del gen ARNr 16S.

Los *Prochlorales* muestran agrupamiento por ecotipo: *Prochlorococcus marinus* SS120 pma (oligotrofico marino/Alto -B/A, clado II), *Prochlorococcus marinus* NATL2A pmn (marinos/Alto -B/A, clado I), *Prochlorococcus marinus* AS9601 pmb (marino/Bajo -B/A, clado II), *Prochlorococcus marinus* MED4 pmm (marino oceánico/ Bajo-B/A, clado I), *Prochlorococcus marinus* MIT 9515 pmc (marino oceánico/ Bajo-B/A, clado I), *Prochlorococcus marinus* MIT 9313 pmt (marino/Alto -B/A, clado IV), *Prochlorococcus marinus* MIT 9303 pmf (marino/Alto -B/A, clado IV), *Prochlorococcus marinus* NATL1A pme (marino/Alto -B/A, clado I), *Prochlorococcus marinus* MIT9312 pmi (marino/Bajo -B/A, clado II),

7.3.2.2 Gen psbB

La topología de este gen no poseía un ortólogo de bacterias purpuras y verdes no sulfurosas y se procedió a utilizar el Gloebacter (*Gloeobacter violaceus* PCC7421) siguiendo lo realizado por (Honda et al., 1999), como nodo ancestral de las cianobacterias y grupo externo las plantas.

El grupo más basal Gloebacter (*Gloeobacter violaceus* PCC7421), se agrupa con los *Synechococcus* *cya* y *cyb* del cual divergen las otras cianobacterias y posteriormente las plantas esto soportado por un bajo bootstrap. La radiación interna de las cianobacterias, muestra un clado bien definido de *Prochlorococcus*, mientras los *Synechococcus* mostraron ser polifileticos distribuyéndose más por sus homologías de ecotipo que por un ancestro común, agrupándose con Nostocales y Gloebacterales mostrando amplia divergencia entre sí.

Xiong y colaboradores en el 1998 realizaron un análisis de este gen, usando como grupo externo los genes homólogos PshA de *Heliobacillus mobilis* (heliobacteria) y pscA de *Clorobium limicola* (Bacteria Verde no sulfurosa); *Heliobacillus mobilis* se ubico como el organismo mas divergente, de aquí concluye Xiong y colaboradores en 1998, que el organismo ancestral de la fotosíntesis es un organismo anoxigénico una (Heliobacteria). Con respecto a la radiación de las cianobacterias no se podría hacer un paralelo ya que solo fueron usados organismos cianobacteriales representativos: *Synechococcus* (*Synechococcus* 7002 y 7942, *Synechocystis* 6803), Nostocales (*Anabaena variabilis*).

Esta conclusión usando estos genes homólogos como grupo externo podría ser efecto de un proceso que solo representa divergencia más no ancestralidad según Mulikidjanian y colaboradores 2006.

7.3.2.3 Gen psbC

Este gen presento una topología sin consenso en ninguna de las algoritmiás utilizadas ML, MP, y NJ; lo único en común y soportado por un bajo bootstrap fue el agrupamiento definido entre los *Prochlorococcus* (marinos), y los *Synechococcus* mostraron un agrupamiento polifiletico concentrando ecotipos marinos, mientras que los de aguas continentales se agruparon junto con los Nostocales y Oscillatoriales.

El grupo *gvi*, *cya* y *cyb* se muestra agrupado a las plantas y las otras cianobacterias con bajo soporte del bootstrap. Se evidencia una gran divergencia de los *Gloeobacter* (*gvi*) y los *Synechococcus* (*cya* y *cyb*).

Estudios realizados por La Roche y colaboradores en 1996, sobre clorofila a y b en los prochlorofitos y las plantas verdes, demostraron que las Proteínas de union de Chl a/b, psbC (CP43) y psbB (CP47), no relacionan a los prochlorales como ancestros mas cercanos

de las plantas verdes, y que sus sistemas de cosecha de luz han evolucionado independientemente. Lo cual soporta lo expuesto por este trabajo para esta secuencia en específico.

7.3.2.4 Gen psbD

Esta topología posee como grupo externo a una bacteria purpura (rpa) y una bacteria verde no sulfurosa (cau), las cuales forman un grupo del cual divergen las cianobacterias.

La radiación de las cianobacterias, muestra el clado bien definido de *Prochlorococcus* y la dispersión de *Synechococcus*, manteniéndose agrupados (sy, w, d, g). El resto del clado no mostro consenso, el agrupamiento particular y el cual se ha mantenido en los anteriores genes fue el de (cya, cyb, tel) del cual divergen cianobacterias y plantas.

La unión entre *Gloeobacter* y el resto de las cianobacterias no lo muestra como organismo basal o más divergente, ubicándose este entre el grupo hermano de *Synechococcus* y *Prochlorococcus* y el grupo de *Synechococcus* (cya, cyb y tel) del cual posteriormente divergen las plantas.

7.3.2.4 Gen psbE

El consenso de estos árboles muestra al *Gloeobacter* (gvi) como la cianobacteria más basal de la cual divergen, el grupo hermano de *Prochlorococcus* bien definido y el grupo de *Synechococcus* (sy, w, g, d) y el agrupamiento de *Synechococcus* (cya, cyb), (syf, c) y syn, junto a los Nostocales (ana y ava) del cual divergen las plantas.

7.3.2.5 Gen psbF

Esta topología mostro poca resolución debido a pocas posiciones informativas 38 en total y esto indujo a que no hubiera consenso en las 3 algoritmiás ML, MP y NJ. La falta de consenso, no indico algún agrupamiento reseñable, con bajos bootstrap soportando las uniones entre los clados más divergentes.

El agrupamiento más basal fue el de los *Synechococcus* (cya, cyb, tel) y *Gloeobacterales* (gvi) del cual divergen las otras cianobacterias en árbol ML con un bajo bootstrap.

7.3.2.6 Gen psbH

Debido a las pocas posiciones informativa, la topología de este gen no mostro consenso entre los nodos más divergentes, mientras los *Prochlorococcus* y los *Synechococcus* (sy, e, w, d), mostraron clados bien definidos y en las tres algoritmiás, mas no hay claridad en el

punto de divergencia entre plantas y cianobacterias indicando con un bajo soporte de bootstrap.

Synechococcus sigue siendo polifiletico, agrupando cya, cyb, syn, syf, syc, tel y Oscillatoriales (ter) y como nodo mas basal Nostoc (ana y ava).

7.3.2.7 Gen psbI

Las pocas posiciones informativas (31) de este gen, no permitieron una buena resolución ni consenso en las tres algoritmas ML, MP y NJ; Las primeras dos algoritmas coincidieron al mostrar a los Synechococcus (syf y syc), como el agrupamiento mas divergente y del cual irradian en orden de aparición el Gloeobacter (gvi), junto al Synechococcus (tel) y el grupo conformado por el Synechococcus (syn), Nostocales (ana y ava), Los Synechococcus (cya y cyb) y el Oscillatorial (ter) del cual divergen las plantas.

7.3.2.8 Gen PsbJ

Topología con bajo soporte del bootstrap, debido a las pocas posiciones informativas en total (35), el único agrupamiento consenso y con alto bootstrap fue el de los Synechococcus (syd, syw, sye, syg), con los Prochlorococcus (pmf, pmt, pma, pme, pmn), y un agrupamiento no resuelto de los Prochlorococcus (pmi, pmb, pmc, pmm).

7.3.2.10 Gen PsbK

En esta topología el Gloeobacter (gvi), fue el organismo basal agrupándose con los Synechococcus (cya y cyb), del cual divergen dos ramas conformadas por los Synechococcus (syd, syw, sye, syg), y otra los Prochlorococcus, en la otra irradiación se hallan Los Synechococcus (syc, syf, syn, tel) agrupados a los Nostocales (ana, ana) y el Oscillatorial (ter) del cual divergen las plantas.

7.3.2.11 Gen PsbL

La topología muestra en MP y NJ el agrupamiento de Gloeobacter (gvi) y los Synechococcus (cya, cyb) como los más divergentes; la irradiación de las cianobacterias se da en dos grandes grupos, uno conformado por Prochlorococcus (pmb, pmi, pmc, pmm, pme, pmn, pma) y Synechococcus (syf, syc, syn) y el Oscillatorial (ter) y el otro grupo mayor está conformado por los Synechococcus (syd, sye, syw) y los Prochlorococcus (pmf, pmf) y divergen del Synechococcus (syg), las plantas en MP y ML divergen del synechococcus (tel), con un bajo soporte de bootstrap.

7.3.2.12 Gen PsbM

La topología obtenida mediante MP mostro a gvi como el organismo mas basal del cual se ramifican posteriormente en el correspondiente orden cya, tel con buen soporte de bootstrap; posteriormente divergen de este nodo dos grupos hermanos: el de plantas y el de cianobacterias que diverge del Synechococcus syn y que se conforma del conjunto monofilético de Prochlorales subdividido en (pmt, pmf), (pmn, pme) (pmm, pma), y (pmi, pmc, pmb) y el conjunto polifilético de Synechococcus y Nostocales.

7.3.2.13 Gen PsbO

Las diferentes algoritmos utilizadas mostraron en consenso y con buen soporte del bootstrap tres agrupamientos de cianobacterias “mas no sus ramas mas externas” conformados en su orden por: grupo hermano de Synechococcus, cuyo grupo basal está conformado por (syf, syc) del cual divergen (syg, sye, syw, syd) y los Prochlorococales (pmb, pmi), (pmc, pmm), y pma, del cual divergen (pme, pmn), (pmf, pmt); el siguiente grupo está conformado por el conjunto de gvi y cya, cyb, grupo que diverge del Oscillatorial (ter) conformado por los Synechococcus (syn, tel) y de estos divergen los Nostocales (ana y ava). La unión entre plantas y cianobacterias no fue resuelta presentándose un bajo soporte del bootstrap.

De todos los componentes de la maquinaria de oxidación el único ubicuo a todos los organismos fotosintéticos oxigénicos es PsbO (Roose et al., 2006).

7.3.2.14 Gen PsbP

Este gen presento una topología sin consenso, el Gloeobacter (gvi) se ubico como punto de divergencia de las plantas con bajo bootstrap y además se encuentra la irradiación de tres grupos de Prochlorococcus (pma, c, m, b, i), que divergen del grupo (pmt, pmf) hermano de los Synechococcus (syg) del cual divergen (syd, w, e). Los nostocales no se agruparon si no que se presentaron dispersos (ana) agrupado al Oscillatorial (ter), y (ana) como punto de divergencia único del otro grupo de cianobacterias conformado por: (ter), (syc, syf) y (cya, cyb), del cual divergen (gvi) y por último las plantas este ultimo nodo con bajo bootstrap.

7.3.2.15 Gen PsbT

Topología con pocas posiciones informativas no se encontró consenso entre los organismo mas divergentes, se agruparon definidos los Prochlorococcus y los Synechococcus que divergen de (syg), el punto de divergencia del Oscillatorial (ter) y el Synechococcus (syn) no fue común, mas syn si fue punto de divergencia de los Synechococcus (cya, cyb, tel); el Gloeobacter (gvi) se ubico entre la irradiación del grupo de plantas y las cianobacterias en las topologías de ML y MP mientras en NJ se agrupó (tel y gvi) y posteriormente se irradiaron de aquí cianobacterias y plantas con bajo soporte de bootstrap.

7.3.2.16 Gen PsbU

En esta topología se conto con un número reducido de secuencias (16) y no hubo consenso de las algoritmias el árbol más consistente fue el MP en el cual se observo mayor resolución, se ubicaron los Nostocales (ana y ava) como los organismo mas basales, mientras los Synechococcus se mostraron dispersos en el árbol filogenético agrupándose con los Oscillatoriales y divergiendo de los Prochlorococcus; El alga roja Cyanidioschyzon merolae 10D (cme) mostro divergir del grupo de Synechococcus (cya, cyb) con un buen soporte del bootstrap.

7.3.2.17 Gen PsbV – Citocromo c550

Este gen mostro consenso en las tres algoritmias ML, MP y NJ utilizando los organismo disponibles 15 y se encontraron 136 posiciones informativas el bootstrap fue alto para cada uno de los nodos, se observo que el Gloebacter (gvi) se ubico como nodo basal del divergieron en orden los Synechococcus (tel, cya, cyb) y de este grupo a su vez divergen dos grupos: el primero conformado por los nostocales (ana, ava) y los Synechococcus (syc, syf), y el segundo por los Prochlorococcus (pmt, pmf) y los Synechococcus (syg, syw, sye, syd) en orden de divergencia.

Este consenso y buena resolución del árbol filogenético puede implicar en buena medida la homología de esta secuencia a otros citocromos tipo “c”, lo cual la hace la única proteína extrínseca con similaridad con proteínas bacterianas anoxigénicas y no fotosintéticas (Raymond and Blankenship 2004)”, esto es debido a que este gen codifica para una proteína de función importante en el FSII, como lo es estabilizar la estructura del FSII y la transferencia de electrones en el complejo de oxidación (Hager et al., 2002), aunque es particular que cuatro Prochlorococcus no lo posean, según la búsqueda de genes comunes de este trabajo y la de Mulkidjian y colaboradores en el 2006.

7.3.2.18 Gen – Psb28 - PsbW

La topología de este gen no mostro, consenso y en MP los Eucariotes introducidos como grupos externos sufrieron algún efecto de atracción de brazo corto o largo debido posiblemente a tasas muy altas de sustitución entre estos y algunas cianobacterias este efecto ha sido evaluado en otros modelos de prueba por Felsenstein en sus escritos sobre filogenia molecular y por Steel M. y colaboradores en el 2000.

Este gen codifica una proteína soluble de 13 kDa que esta ensamblada directamente en el supercomplejo dimerico FSII. Esta proteína fue denominada como PsbW, pero PsbW es ahora reservado para PF07123 (Thidholmab, E. et al., 2002) Psb28 o PsbW se ubica en pilas, para minimizar el contacto del FSII y el FSI y prevenir un desbordamiento de exceso de energía lumínica (Mullineaux W. et al., 2007).

7.3.2.19 gen PsbX

La topología de MP para este gen agrupo a todos los Prochlorococcus en la base del árbol y posteriormente a los Synechococcus (syd, syg) y (syw, sye) que se agruparon junto a los nostocales (ana, ava) que divergieron del grupo (syc, syf, syn) del nodo de Prochlorococcus divergen también el Gloeobacter (gvi) y los Synechococcus (tel, cya, cyb) y de aquí se irradian las plantas.

7.3.2.20 Gen psbY

La topología MP de este gen en particular, no agrupo a los Prochlorococales como los otros árboles filogenéticos, mostrando el Prochlorococcus (pmt) como el organismo más basal del cual divergen el Synechococcus (tel), el Oscillatorial (ter) y el agrupamiento del nostocal (ana) y el Synechococcus (syw, syg, syn); el grupo de Synechococcus (syc, syf) se encuentra unido a otro grupo conformado por los Prochlorococcus (pma, pmi, pmm, pmc, pmb) el grupo de las plantas y su nexa a las cianobacterias no fue resuelto por la algoritmia.

7.2.3.21 Gen PsbZ

Este patrón filogenético, muestra a los prochlorococcus como nodo basal del cual divergieron el grupo de synechococcus (syc, syf) (syg, sye, syw, syd) y posteriormente el oscillatorial (ter), los nostocales (ana, ava) de este grupo los Synechococcus (tel, syn)

7.3.2.22 Psb27

Esta proteína de 11 kDa fue primero denominada PsbZ; sin embargo, de acuerdo a la nueva nomenclatura fue cambiada a Psb27 (Kashino et al. 2002). Una proteína distinta más pequeña es ahora referenciada como PsbZ (Inoue-Kashino et al. 2005).

Este árbol ubica a los synechococcus syd, sye, syw junto con el grupo conformado por syg del cual divergen los prochlorococales (pmt, pmf) como los organismos más basales y de este grupo divergieron los prochlorococales (pma, pmn, pme), (pmc, pmi, pmb), grupo del cual irradian dos grupos uno conformado por synechococcus (syn, syc, syf, tel) y de este los nostocales (ana, ava) y el otro grupo indicando a los synechococcus (cya, cyb) como el nexa entre cianobacterias y plantas esto último con bajo soporte de bootstrap.

7.3.2.23 Gen Psb28-2

Este gen se presentó anotado para 6 organismos representativos de las cianobacterias, esta filogenia indicó el Gloeobacter como el organismo más basal del cual divergieron los synechococcus (syf, syc) y (syn) del cual divergieron los nostocales (ava y ana).

7.3.3 Topología de los genes del fotosistema I.

7.3.3.1 Gen psaA

Este gen posee ortólogos (pshA) en las heliobacterias y bacterias verdes sulfurosas que fueron utilizados como grupo externo, y su topología marca una transición de fotosíntesis anoxigénica a oxigénica, similar a lo ocurrido en la filogenia del FSII, en esta filogenia se agruparon como basales las heliobacterias como grupo hermano de las bacterias verdes sulfurosas, grupo del cual divergen tres conjuntos de de cianobacterias: uno conformado por los prochlorococales (pmn, pme), (pma, pmt, pmf), (pmc, pmi, pmb, pmm), otro conjunto conformado por los synechococcus (syg, syw, sye) y un tercero conformado por (syc, syf), un agrupamiento del synechococcus (tel), el gloeobacter (gvi) del cual divergen los synechococcus (cya, cyb) y otro conformado por los nostocales y las plantas este ultimo nodo con bajo soporte del bootstrap.

7.3.3.2 Gen PsbB

Este árbol filogenético presento un efecto de atracción del Eucariote fotosintético (eta) hacia el grupo basal de las bacterias verdes sulfurosas, y las heliobacterias, pero el agrupamiento cianobacterial mostro consenso en las tres algoritmias mostrando dos grupos hermanos conformados el primero por: los synechococcus (syf, syc) de los cuales divergen (syg, sye, syd, syw), y los prochlorococales (pmt, pmf) de los cuales irradian (pma (pmn, pme) y (pmm, pmc), (pmi, pmb). El segundo grupo de cianobacterias está conformado por los nostocales (ana, ava), el synechococcus (tel), el oscillatorial (ter) y el synechococcus syn del cual divergen el gloeobacter (gvi) y los synechococcus (cya, cyb) estos últimos clado no fueron soportados por un buen valor bootstrap.

7.3.3.3 Gen PsbC

Este árbol no presento buena resolución y se obtuvieron bajos valores de bootstrap para los nodos más divergentes, mientras los nodos internos que representan la filogenia intra cianobacteras fueron bien soportados.

7.3.3.4 Gen psaD

Ese gen codifica como se menciona anteriormente la unidad del núcleo del centro de reacción del FSI junto con psaA, En esta filogenia los organismos basales fueron los Prochlorococales (pmi, pmb) de los cuales divergen (pmm, pmc, pmn, pme) y (pma) del cual divergen los synechococcus (syw, syg), (syd, sye); el otro grupo divergente del anterior está conformado por (pmt, pmf), del cual se irradian los synechococcus (syc, syf) el otro grupo hermano está conformado por el synechococcus (syn) y el oscillatorial (ter) y el agrupamiento de los nostocales (ana, ava), de los cuales divergen los synechococcus (tel, (cya, cyb) y agrupamiento no soportado por bootstrap de el gloeobacter (gvi) y las plantas.

7.3.3.5 Gen psaE

Esta filogenia mostro a los synechococcus (sye, syn), como los organismo mas basales, de los cuales irradiaron dos grupos mayores de cianobacterias el primero agrupando los synechococcus (syg, (syd, syw)) junto a los prochlorococales (pmf, pmt) de los cuales divergen (pma, pmm, pmb, pmi); el otro conjunto está formado por el grupo del gloeobacter (gvi), del cual divergen los synechococcus (cya, cyb), el grupo de synechococcus (syf, syc) de los cuáles divergen el oscillatorial (ter), los nostocales (ana, ava), y un agrupamiento no soportado por bootstrap entre las plantas y el synechococcus (tel).

7.3.3.6 Gen psaF

La topología del árbol filogenético de este gen mostro dos agrupamientos mayores uno conformado por los prochlorococales (pmm, pmc, pmb, pmi, pma, pmn, pme, pmt, pmf) unidos al grupo conformado por el synechococcus (syn) del cual divergen (sye, syw, syd). El otro agrupamiento está compuesto por los synechococcus (syc, syf), del cual divergen el grupo conformado por el gloeobacter (gvi) y los synechococcus (cya, cyb) grupo unido a las plantas y el otro conformado por el synechococcus (tel) del cual divergen el oscillatorial (ter), el synechococcus (syn), y los nostocales (ana, ava) los nodos externos a estos dos últimos agrupamientos presentaron bajos bootstraps.

7.3.3.7 Gen PsaI

Este árbol filogenéticos presento el oscillatorial (ter) como el organismo cianobacterial mas basal del cual divergen los synechococcus (tel, syn, (cya, cyb)), el nostocal (ana) se presento unido a este grupo del cual divergen los synechococcus (syc, syf) el otro grupo que se une a este nodo anterior es conformado por las cianobacterias prochlorococales (pme, pmn), del cual divergen (pmb, pmm), (pmf, pmt) (pmi, pma) y las plantas los nodos de unión entre plantas y cianobacterias, ni la unión del oscillatorial, fueron soportados por bajos bootstrap.

7.3.3.8 Gen psaJ

El conjunto de prochlorales se ubico como basal uniéndose al grupo de synechococcus (syc, syf) (tel) unido al oscillatorial (ter) y el grupo de nostocales (ana, ava) y el synechococcus (syn); de este agrupamiento divergieron los synechococcus (syw, syg) y (syd, sye) y por último se agruparon los synechococcus (cya, cyb) a las plantas.

7.3.3.9 Gen PsaK

Este árbol presento el agrupamiento de prochlorales como nodo basal, del cual divergieron en orden los synechococcus (syw, syf, tel) y el oscillatorial (ter); los nostocales (ana y ava) se ubicaron

dispersos unidos a los synechococcus (cya, cyb) y a las plantas con bajo soporte del bootstrap.

7.3.3.10 Gen psaL

Esta topología al contrario de las anteriores muestra el oscillatorial (ter) como el organismo basal del cual divergen los synechococcus (tel, syn, (cya, cyb)), el gloeobacter (gvi) y los nostocales (ana, ava) (esta unión no fue soportada por bootstrap) en su orden de aparición; por otro lado se agruparon los synechococcus (syf, syc) grupo del cual divergen como hermanos los synechococcus (syg, sye, syw, syd), y los prochlorales (pmf, pmt), (pma, pme, pmn, (pmc, pmb, pmi)) la unión de las cianobacterias al grupo externo (plantas) fue soportada por bootstrap.

7.3.3.12 Gen PsaM

Esta topología conto con solo 12 organismos cianobacteriales representativos y 29 posiciones informativas; el organismo tomado como ancestral fue el gloeobacter (gvi), el árbol no presento buena resolución y solo fueron resueltos los agrupamientos entre los prochlorales.

Discusión Final de la topología del FSI

Se ha sugerido que la evolución del FSI fue iniciada hace 3.5 billones de años atrás mediante la formación de un centro de reacción homodimérico que luego evoluciono a uno heterodimérico vía duplicación de genes, el cual vendría a ser un precursor para el FSII (Nelson et al., 2004; Ben-Shem et al., 2004).

Las diferencias en la búsqueda de genes comunes (tabla anexa B) y la topología filogenética, manifiestan que la estructura del complejo FSI en cianobacterias y otros fotótrofos deberían reflejar el hábitat en el que estas especies se han desarrollado. El ancestro común del FSI en cianobacterias fue monomérico con desarrollo total del núcleo sin necesidad de las unidades psaM, PsaX (*lo cual implicaría proceso de adición de bloques genéticos externos*), u otra unidad específica a las plantas, y sin acompañamiento de complejos periféricos.

Un FSI trimerico es como una nueva invención de las cianobacterias para adaptarse a las bajas intensidades de luz en un tiempo donde habría competencia con las plantas y las algas por la luz (Nelson *et al.*, 2004; Chitnis, P. R. 2001). El aparato de cosecha de luz de las bacterias purpuras fue sugerido como el ancestro de la mayoría de los sistemas fotosintéticos (Xiong et al., 1998), pero la evidencia no es conclusiva (Mulkidjanian et al., 2006).

Debido a que el FSI es un potencial creador de especies reactivas de oxígeno, este podría infringir daño a su alrededor. El daño por altas radiaciones de luz del FSII normalmente ocurre a través de formación endógena de oxígeno libre (Vass et al., 1992).

7.3.4 Topología de los genes del complejo ATP sintetasa

7.3.4.1 Gen Atp Alpha

Este gen posee ortólogos en todos los taxones fotosintéticos, bacterias verdes sulfurosas y no sulfurosas, bacterias purpuras, heliobacterias, cianobacterias y plantas. Este árbol muestra una transición de organismo anoxigénicos a oxigénicos, donde el organismo cianobacterial *gloeobacter* (*gvi*), es el punto de transición entre los organismo anoxigénicos y las cianobacterias del *gloeobacter* irradian en orden los *synechococcus* (*cya*, *cyb*) y agrupamiento de *synechococcus* (*syc*, *syf*) del cual divergen (*syg*, *syw*, *syd*) y los prochlorales iniciado por (*pmt*, *pmf*) del cual divergen (*pmn*, *pme*) luego (*pma*, *pmb*, *pmi*, *pmc*); el grupo hermano es un conjunto del *synechococcus* (*syn*) y los nostocales (*ana*, *ava*) y el *oscillatorial* (*ter*), por otro lado está el grupo de las plantas que se agrupo al *synechococcus* (*tel*) con bajo bootstrap.

7.3.4.2 Gen Atp Beta

A este árbol se le pudo colocar como grupo ancestral las archeas (*Methanosarcina barkeri fusaro* y *Methanosarcina acetivorans C2A*), por lo cual es uno de los árboles con mejor panorama de transición de la fotosíntesis incluyendo la ubicación del organismo fotosintético ancestral para este gen específico. Las bacterias verdes no sulfurosas se ubicaron como los organismos más cercanos a las archeas y de estas irradian las bacterias verdes no sulfurosas que se agruparon con las heliobacterias y de este grupo divergen las bacterias purpuras y posteriormente se da la transición de fotosíntesis anoxigénica a oxigénica cianobacterial a través del *gloeobacter* (*gvi*) (con buen soporte del bootstrap) agrupándose a los *synechococcus* (*cya*, *cyb*) de los cuales divergen dos ramas hermanas: una representada por los *synechococcus* (*syn*, *tel*) de los cuales divergen los nostocales (*ana*, *ava*) y la otra agrupa los *synechococcus* (*syf*, *syc*), de los cuales divergen a su vez, un grupo de *synechococcus* (*syg*, *syw*, *syd*) y otro de prochlorales (*pmb*, *pmi*), (*pmc*, *pmm*) (*pme*, *pmn*), (*pma*, *pmf*, *pmt*), este árbol fue bien soportado por los valores de bootstrap para la unión de los nodos mas externos, pero aun los nodos mas internos que mostraron bajos bootstraps mostraron consenso en las tres algoritmias exceptuando la atracción del nodo de las plantas en el árbol ML.

7.3.4.3 Gen Atp Delta

Este árbol mostro como los organismo ancestrales a las heliobacteria que formaron un grupo hermano con las bacterias purpuras y observo a las bacterias verdes sulfurosas y no

sulfurosas como grupo hermanos unido al anterior, como en la anterior topología el organismo de transición entre anoxigénico y oxigénicos cianobacteriales fue el *gloeobacter* (*gvi*) con buen soporte del bootstrap de este divergen dos ramas hermanas una conformada por las cianobacterias y otra por las plantas. La rama de las cianobacterias en este caso no mostro agrupados a los prochlorales aparte de los *synechococcus* sino que se organizaron de modo tal que los prochlorales (*pmf*, *pmt*), divergieron del *synechococcus* (*syg*), mientras que los *synechococcus* (*syd*, *syw*, *sye*), formaron un grupo hermano con los prochlorales (*pme*, *pmn*, *pma*) y (*pmb*, *pmi*), (*pmc*, *pmm*).

7.3.4.4 Gen Atp Épsilon

Este árbol muestra a las bacterias purpuras agrupada a las verdes sulfurosas y estas a su vez unidas al grupo de heliobacterias y bacterias verdes no sulfurosas como los organismo basales, se mantiene el *gloeobacter* (*gvi*), como el organismo de transición con una repetición del 77% y de este divergen con un bajo bootstrap, pero con consenso en las tres topologías de algoritmos ML, MP y NJ tres grupos de organismo: el primero conformado por una rama de *synechococcus* (*syf*, *sys*), (*cya*, *cyb*) y otra rama con el *synechococcus* (*syn*, *tel*), el *oscillatorial* (*ter*) y los *nostocales* (*ana*, *ava*). El segundo conjunto está conformado por la rama de prochlorales (*pmi*, *pmb*, *pmm*, *pmc*), la rama de *synechococcus* (*syg*, *syw*, *syd*) y los prochlorales (*pmf*, *pmt*), (*pma*, *pme*, *pmn*), la transición entre cianobacterias y plantas mostro un bajo bootstrap.

7.3.4.5 Gen Atp E

Este árbol presento muy baja resolución, y bajos soporte de bootstrap, pero la transición entre organismo anoxigénicos y oxigénicos presento un 69% de bootstrap para el nodo del cual divergen 4 grupos mayores: uno conformado por los prochlorales (*pmi*, *pmc*, *pmb*, *pmm*), (*pmt*, *pmf*), (*pmn*, *pma*, *pme*); el otro grupo está conformado por los *synechococcus* (*syg*) del cual divergen (*syd*, *syw*, *sye*), el *gloeobacter* (*gvi*) en esta topología no fue basal y tampoco se agrupo a los *synechococcus* (*cya*, *cyb*) y no se podría asegurar alguna hipótesis a partir de lo anterior debido a que no posee soporte del bootstrap.

7.3.4.6 Gen Atp F

En esta topología, las heliobacterias anoxigénicas son los organismo más cercanos a los organismo anoxigénicos, de estas divergen tres agrupamientos mayores uno conformado por los prochlorales (*pmt*) del cual divergen (*pma*, *pmn*, *pme*) y (*pmm*, *pmc*, *pmi*, *pmb*), a este se une el segundo grupo hermano de *synechococcus* con bajo bootstrap y representado por (*syg*, *syw*, *syw*, *syd*); por ultimo esta el *gloeobacter* (*gvi*) del cual divergen dos grupos el primero de *synechococcus* (*cya*, *cyb*), (*syf*, *sys*) y el segundo de *nostocales* (*ana*, *ava*) del cual divergen el *synechococcus* (*tel* y *syn*), el *oscillatorial* (*ter*).

7.3.4.7 Gen Atp Gamma

Esta topología muestra con bootstrap de 100, la transición de organismos anoxigénicos a oxigénicos y como punto de transición la cianobacteria gloeobacteral (gvi), de la cual divergen dos grupos de los cuales el único soportado por bootstrap fue el de los prochlorales y los synechococcus (syg) del cual divergen (sye, syw, syd)

7.3.4.5 Gen Atp B

Topología similar a la mostrada por el gen Atp gamma en este caso el taxón anoxigénico más cercano a las cianobacterias, fueron las bacterias verdes sulfurosas, y el organismo de transición fue el gloeobacter (gvi) del cual divergieron los synechococcus (cya, cyb) y posteriormente irradian cianobacterias y plantas.

Las cianobacterias mostraron un agrupamiento definido entre los prochlorales que divergieron de los synechococcus (syc, syf), lo mismo que (syg, sye, syw, syd).

7.3.4.5 Gen Atp I

La topología de este gen se realizó con aproximadamente 60% de anotaciones hipotéticas indicadas con asterisco en el árbol filogenético, presento un bajo bootstrap para los nodos mas externos y solo se podría rescatar que se mantiene el “patrón” de transición de organismo anoxigénicos ancestrales a oxigénicos, no se mostro un organismo de transición sí que se originan dos ramas una conformada por plantas y otra por cianobacterias.

7.3.5 Topología de los genes del complejo Citocromo

7.3.5.1 Gen PetA

Esta topología muestra a los prochlorales (pmm, pmc), (pmi, pmb), (pma, pmt, pmf), synechococcus (syg), del cual divergen (syw, syd, sye), mientras (syc y syf), del cual divergen los nostocales (ana, ava), y los synechococcus (tel, syp, syn) y (cya, cyb) que divergen del gloeobacter (gvi); los nodos fueron soportados por bootstrap altos.

7.3.5.1 Gen PetB

Esta topología presento bajo soporte de bootstrap, para los nodos más externos, mientras los agrupamientos de los prochlorales y los synechococcus que mantuvieron similar posición a la topología del gen PetA mostraron altos bootstrap. La atracción de los Eucariotes hacia las cianobacterias, causo que el agrupamiento de los synechococcus (tel, syn), el oscillatorial (ter), el gloeobacter (gvi) y los synechococcus (cya, cyb) no fueran resueltos ni soportados por bootstrap.

7.3.5.2 Gen PetC

Este árbol filogenético conto con un ortólogo anotado para las bacterias verdes sulfurosas y permitió evidenciar la presencia del nostocal (ana) como el organismo ancestral de las cianobacterias del cual divergen el gloeobacter (gvi) y los synechococcus (cya, cyb) grupo del cual irradian, los synechococcus (tel, syn) divergen a su vez un grupo de synechococcus (syf, syc) y el nostocal (ana), y tres grupos más: el primero conformado por los synechococcus (syg, syd), (sye, syw), el segundo por los prochlorales (pmt, pmf), el tercero conformado por (pma), del cual divergen (pmb, pmi), (pmc, pmm) la unión entre los synechococcus presento bootstraps bajos.

7.3.5.3 Gen PetD

En esta filogenia el gloeobacter se mostro claramente como el organismo ancestral con un bootstrap de 51%, del cual divergieron dos ramas: una conformada por las cianobacterias que divergen del oscillatorial (ter) en el siguiente orden: los nostocales (ana, ava) el synechococcus (tel), (cyb, cya, syn), (syg, syw, syd, sye) y se conserva el agrupamiento definido de los prochlorales (pmf, pmt), (pma) del cual divergen (pme, pmn,) y (pmb, pmi, pmc, pmm).

7.3.5.1 Gen PetG

Este árbol filogenético mostro bajo bootstrap y los diferentes taxones cianobacteriales se ubicaron dispersos exceptuando el agrupamiento de los prochlorales, el gloeobacter se ubico en la mitad de la irradiación sin soporte de bootstrap.

7.3.5.1 Gen PetN

No se pueden crear hipótesis sobre la filogenia de este árbol debido su bajo bootstrap y poca resolución, no se presento consenso en ninguna de las algoritmias que fuese rescatable.

7.3.6 Topología de los genes del transporte de electrones

7.3.6.1 Gen PetE (plastocianina)

Esta topología ubico como basales a un grupo de cianobacterias conformado por los nostocales (ana, ava), agrupados a los synechococcus (cya, cyb) y el gloeobacter (gvi) unido al oscillatorial (ter), de este grupo irradian dos ramas: una conformada por los

synechococcus (syn) del cual divergen (syf, syc) y luego un grupo de prochlorales (pme, pmn, pmf, pmt) de los cuales divergen los synechococcus (sye, syd, syw) y un grupo de prochlorales: (pma) del cual divergen (pmb, pmi) y (pmc, pmm).

7.3.6.2 Gen PetF (ferredoxina)

Esta topología presento un efecto de atracción de los nodos conformados por las plantas (olu, ath), la ubicación de *Oriza sativa* no fue resuelta y los nodos no fueron soportados por bootstraps altos, los prochlorales se agruparon juntos, presentándose entre estos el synechococcus (syd) y el gloeobacter (gvi) divergió de el synechococcus (cya) y se agrupó junto a los synechococcus (syn), el nostocal (ana) y el oscillatorial (ter).

7.3.6.3 Gen PetH (ferredoxin reductasa)

Este árbol filogenético mostro a los prochlorales en la base del árbol junto con los synechococcus (syg) del cual divergieron (syw, syd, sye); de este agrupamiento irradiaron los prochlorales (pmt, pmf) y posteriormente (syn) de este se originan dos ramas. La primera agrupa el synechococcus (tel) y (syc, syf), que divergen de este junto a los nostocales (ana, ava); la segunda agrupa los synechococcus (cya, cyb) y el gloeobacter (gvi) y las plantas este rabil fue soportado en general por buenos valores de bootstrap.

7.3.6.4 Gen PetJ

Esta topología presento bajos bootstrap, y los synechococcus se ubicaron como organismo basales, su unión a otros nodos no mostro buena resolución ni concenso.

7.4 COMPARACIÓN DE LOS HALLAZGOS HECHOS EN ESTE TRABAJO VERSUS LOS HALLADOS POR OTROS AUTORES

Los resultados del análisis filogenético de la subunidad ribosomal pequeña 16S mostraron que la fotosíntesis se ensambló a partir de microorganismos anoxigénicos a oxigénicos, patrón que se repitió a través de las filogenias con organismos representativos de estos grupos fotosintéticos, mas “*no se encontró un patrón de topología filogenética constante en los genes implicados en la fotosíntesis y que siguiera el mismo de la unidad ribosomal 16S en las cianobacterias expresando posibles procesos de transferencia lateral*”, resultados similares obtuvieron Raymond y colaboradores en el 2002 y en especial Zhaxybayeva y colaboradores en el 2006, que cuantificaron los eventos de transferencia lateral entre genomas cianobacteriales hallando que los genes del fotosistema I: psaA, B, C, D, E; fotosistema II: PsbB, C, D, H, O; transporte de electrones PetC y PetF presentaron conflicto con una filogenia lineal.

Aunque se evaluaron genes de taxones fotosintéticos externos y cianobacteriales, se encontró que los genes núcleo o esenciales del fotosistema I (PsaA, B), fotosistema II (PsbA, D) y complejo citocromo (PetB, C), fueron comunes en cuanto a contenido a todo el conjunto de organismos analizados (Anexo B), lo que demuestra que los mecanismos químicos del fotosistema aun perteneciendo a taxones separados filogenéticamente comparten en varios grados muchas similitudes estructurales y funcionales. El contenido genético implicado en este proceso metabólico y lo variable de las topologías (Anexo C) y el ordenamiento de los organismo en las filogenias producidas demuestra la complejidad de la maquinaria bioquímica de la fotosíntesis y su desarrollo, el cual es una suma de partes que se unieron al sistema después de haber evolucionado separadamente en diferentes organismos y ambientes, que moldearon su función en este proceso e implicaron procesos de unión o captura de genes o conjuntos de estos, produciendo un sistema “compuesto” y modificado en el tiempo en diferentes organismos.

Blankenship y colaboradores llegaron a conclusiones similares realizando análisis matemáticos del set de genes compartidos para determinar relaciones evolutivas entre estos, pero llegaron a conclusiones diferentes dependiendo del gen analizado.

El 50% de los árboles filogenéticos examinados las cianobacteriales prochlorococcales y el organismo gloebacterial (gvi) se encuentran en la bases de los árboles, lo cual está de acuerdo con lo encontrado por Shi y colaboradores en el 2007. cuyo resultado, resalta que las cianobacterias que fijan nitrógeno o “diazotroficas”: (*Anabaena sp. 7120*, *Anabaena variabilis*, *Nostoc punctiforme*, *Trichodermium erythraeum*), se agruparon dentro de un grupo diferente, y su divergencia de otros taxa que no fijan nitrógeno “no – diazotrofos”: (*Gloeobacter violaceus*, *Thermosynechococcus elongatus*, *Synechococcus elongatus*, *Synechococcus sp WH8102*, *P. marinus MIT9313*, *P. marinus SS120*, *P. marinus MED4*, *Synechocystis sp. 6803*), parece ocurrir mucho más temprano después del nodo ancestral *Gloeobacter violaceus PCC7421*, (Nakamura Y, et al. 2003), y *T. elongatus BP-1*, estas cianobacterias unicelulares son termofilicas. Las cianobacterias diazotrofos tempranas, al parecer fueron no heterocistes, y posteriormente emergieron los linajes heterocistes, posiblemente como resultado de niveles elevados de oxígeno atmosférico O² (Berman et al 2003).

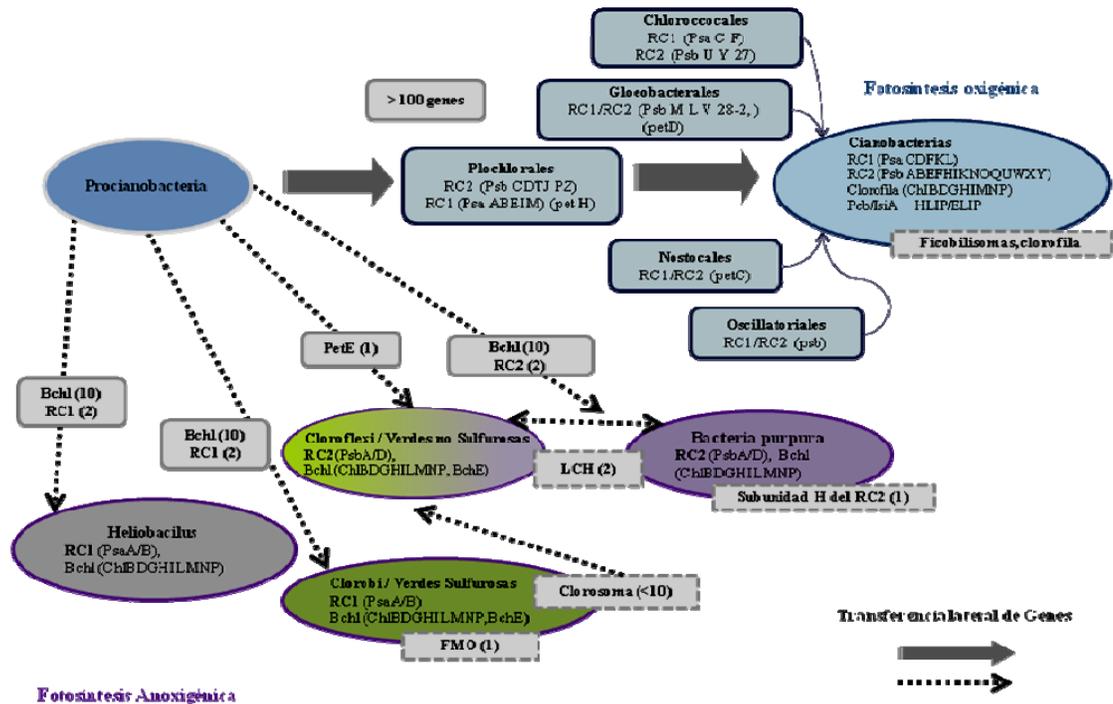
El esquema resultado de este trabajo (ilustración 11) refleja y explica las historias de los genes agrupando los pertenecientes al núcleo funcional y los del grupo extrínseco, evidenciado también por (Xiong et al 2002, Mulkidjanian et al 2006 y Shi et al 2007).

Con la evidencia filogenética expuesta en este trabajo enfocado en la filogenia cianobacterial y taxones fotosintéticos externos se encontró un esquema más amplio de la fotosíntesis (ilustración 11), que es contradictorio con lo expuesto por Xiong en el 2000, el cual propone a las bacterias purpura como ancestro único de las fotosíntesis oxigénica, y a las heliobacterias como los ancestros de la fotosíntesis anoxigénica, basado en que este análisis solo se realizó en enzimas de biosíntesis de bacterioclorofilas (BchL/ChlL y BChH/ChlH), mientras las topologías obtenidas de las moléculas de 16s ribosomal y genes implicados en la fotosíntesis de fase lumínica no mostraron ningún consenso en la

ubicación de las bacterias ancestrales al proceso fotosintético oxigénico y debido a que su estudio no se enfocó en el taxon cianobacterial, solo evidencio que el nodo conformado por las cianobacteria *Synechocystis 6803*, *Synechococcus 7942* y *Anabaena variabilis* es del cual divergen los Eucariotes fotosintéticos.

El análisis de Mulkidjanian et al. (2006) (ilustración 1) sobre el fotosistema implicó directamente el contenido de genes implicados en la fotosíntesis, basado en agrupamiento de genes ortólogos comunes a todo el grupo fotosintético (bacterias purpuras, verdes, cianobacterias y plantas), hallando “50 familias de proteínas que son específicas de las cianobacterias y 84 son compartidas con plantas” y junto a evidencias acopladas con datos geológicos recientes sugieren que la fotosíntesis se originó en el linaje cianobacterial bajo presión selectiva de luz UV y concentración baja de donadores de electrones, es decir, bajo una fotosíntesis anoxigénica mediada por el uso del centro de reacción similar al fotosistema I”. esto no expone una hipótesis paralelizable a lo expuesto directamente en el árbol filogenético de ARNr 16S, ni los genes del fotosistema analizados aquí, el cual procede de organismo anoxigénicos a oxigénicos con el orden ya mencionado arriba; Mulkidjanian expone un origen incierto en el cual no se evidencia la transición ya expuesta y opta por un organismo anoxigénico intermedio entre las cianobacterias y los organismos anoxigénicos y explica la presencia de genes comunes por Transferencia Lateral de Genes.

Ilustración 11. Esquema filogenético propuesto para el origen de la fotosíntesis a partir de prociobacterias. Obsérvese la filogenia propuesta para el linaje de las cianobacterias a partir de las Prochlorales. La filogenia es una adaptación y refinamiento del trabajo de Mulikidjanian et al., 2006.



Este trabajo aporta al diseño de una nueva propuesta sin acudir a la existencia de una hipotética pro-cianobacteria (Ilustración 11), la transferencia de genes se produce por aportes alternos implicados en el fotosistema I y II entre los diferentes taxones cianobacteriales (prochlorales, chlorococales, nostocales y oscillatoriales) y la posición de las bacterias verdes, purpuras y la transferencia de los genes entre estas y las cianobacterias se mantiene con lo expuesto por Shi et al. (2007), que agrupa los organismos diazotrofos primero y luego emergen los no diazotrofos, implicando paralelos del sistema de nitrogenasas y el sistema de evolución de oxígeno del fotosistema.

Los árboles filogenéticos de los diferentes subsistemas bioquímicos y/o genéticos que conforman los fotosistemas I, II y ATPasa; señalan un centro de reacción cuyos genes implicados en las funciones esenciales tales como (psbA y B genes núcleo del RCII y sitio de unión de los transportadores de electrones y los genes de captación de oxígeno psbO W V) mostraron no provenir de un ancestro común al igual que los genes del RC1 (psaA y D nucleos del RC1 y sitio de unión de los transportadores de electrones) lo cual indicaría un proceso de convergencia en cual el aparato fotosintético final sería un efecto de eventos alternos y de organismo externos al taxón cianobacterial final no dilucidable, cuyo posible

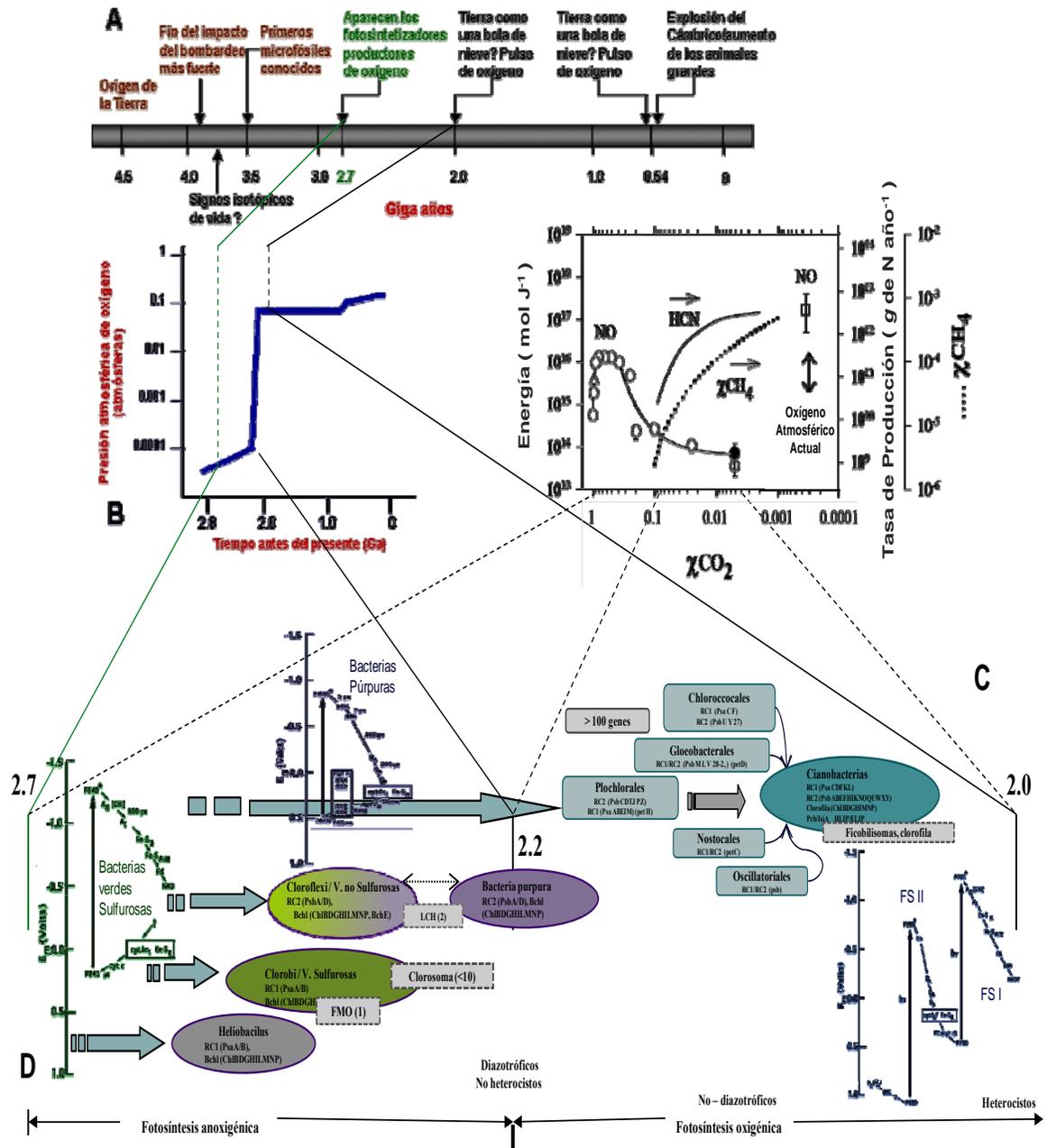
primer escalon de ensamblaje haya sido el grupo de los prochlorococcales que mostro ser nodo ancestral de más de la mitad de los genes del FSI y II descartando al fotosistema I como el sistema ancestral de la fotosíntesis (ilustración 11).

Este trabajo especifica (ilustración 11) sobre la hipótesis de la mayor transferencia de genes implicados en la fotosíntesis cianobacterial sucedida a través del taxa de los prochlorococcales, el cual se mostro en consenso como el agrupamiento ancestral en más del 50% de las topologías filogenéticas realizadas, los prochlorococcales al igual que el gloebacterial y los chlorococcales (*Thermosynechococcus elongatus*, *Synechococcus elongatus*, *Synechococcus sp WH8102*) se encuentran dentro de los organismo diazotrofos (Berman et al 2003), lo cual concuerda con lo expuesto por Shi y colaboradores en el 2007 y aunque algunas topologías no mostraron suficiente resolución estas evidenciaron agrupamientos consenso de organismos cianobacteriales no diazotrofos aparte del grupo de organismos diazotrofos.

Este trabajo evidencia mediante la topología filogenética y hallazgo del conjunto de genes comunes al aparato fotosintético cianobacterial, que los genes y su agrupamiento caracterizan su participación básica en el proceso fotosintético y denotan la tendencia al consenso de las proteínas implicadas en los núcleos de los centros de reacción y ubicación de los trasportadores de electrones (psbA, psaA, D) exceptuando (psbB), los genes que presentaron topologías “dispersas” (Anexo C), fueron los implicados en funciones extrínsecas tales como separación y estabilización entre los fotosistemas e incluso algunos genes de captación de oxígeno que evidencian procesos de ganancia o pérdida de unidades por transferencia lateral para lograr una fotosíntesis más eficiente en una atmosfera con niveles de oxígeno en ascenso (Ilustración 11).

Dentro de los taxas cianobacteriales se contribuye que se pueden lograr agrupamientos que discriminen ecotipos (Anexo C) mediante análisis de genes fotosintéticos, resultados que se obtuvieron similarmente por agrupamiento filogenético del gen ARNr 16S de prochlorococcus y synechococcus marinos en los estudios de (Fuller N., et al 2003; Rocap G., et al 2003; Tomitani A. et al., 2006) y mediante genes implicados en las proteínas de captura de luz ficobilisomas (Six C., et al 2007), lo cual expresa que la complejidad del aparato fotosintético implica una relación con las condiciones ambientales a los cuales se exponen los organismos y podría ser fundamento para una mejor clasificación de estos.

Ilustración 12. Esquema propuesto alternativo para el origen y establecimiento de la fotosíntesis sin necesidad de acudir a la existencia de una hipotética pro-cianobacteria. Adicionalmente la propuesta muestra en paralelo los resultados geológicos y químicos hallados.



A) Línea de tiempo en que se ubica los registros fósiles de los primeros microorganismos fotosintéticos hace 2.7 Giga años. B) Cambios de la concentración de oxígeno entre 2.7 y 2.2 Giga años. C) Modelo de cambios

en la producción de NO (óxido nítrico) dependiente del cambio en la concentración de CO₂. χ : Concentración. El NO decreció drásticamente de 3×10^{11} g de N por año en el tiempo del origen de la vida cuando las concentraciones de CO₂ eran presumiblemente altas, hasta 2.6×10^9 g de N por año, cuando la concentración de CO₂ ya era baja hace 2.2 Giga años justo antes de comenzar la elevación del oxígeno en la atmósfera. Adaptado de Navarro-González et al., 2001. D) Durante la fase anoxigénica emergieron todos los sistemas fotosintéticos de manera independiente. Esta emergencia debió de ser poblacionalmente gradual en la medida que el NO descendía, dado por microorganismos diazotróficos. Hacia los 2.2 Giga años hubo un cambio abrupto en la producción de CH₄, se elevó la presión atmosférica de oxígeno y la fijación de nitrógeno aumentó dramáticamente, de esta manera las cianobacterias pudieron haberse establecidos a partir de las Prochlorales.

Tabla 3. Apartado general de discusión*

Gen	Algoritmia			Agrupamientos	Grupo Externo	Nodo basal cianobacterial	Numero Mínimo de Genes comunes A3SComp
	ML	MP	NJ				
FOTOSISTEMA II							
PsbA		X	X		B. Verdes	Nostocales	Planta Cianobacteria B. V. no sulfurosas B. purpura
PsbD		X			B. purpura, B. verde sulfurosa	Prochlorales	
PsbB		X		Homología de ecotipo	Gloeobacter	Prochlorales	Planta Cianobacteria
PsbC		X		Homología de ecotipo		Prochlorales	
PsbE		X				Gloeobacter	
PsbL		X	X			Gloeobacter	
PsbM		X				Gloeobacter	
PsbK		X				Gloeobacter	
PsbO	X	X	X			Gloeobacter	
PsbP	X	X				Prochlorales	
PsbV	X	X	X			Gloeobacter	
PsbX		X				Prochlorales	
PsbY		X				Chroococales	
PsbZ		X				Prochlorales	
Psb27		X				Chroococales	
Psb28-2		X				Gloeobacter	
FOTOSISTEMA I							
PsaA		X			Heliobacteria - Bacterias Verdes Sulfurosas	Prochlorales	Planta Cianobacteria B. Verde sulfurosa Heliobacteria
PsaD		X				Prochlorales	
PsaE		X				Prochlorales	
PsaF		X				Chroococales	
PsaL		X				Oscillatorial	
PsaI		X				Oscillatorial	Planta Cianobacteria (- gvi)
PsaJ		X				Prochlorales	
PsaK		X				Prochlorales	

ATPasa							
Atp Beta	X	X	X		Archeas	Gloeobacter	
Atp Delta	X	X	X		Heliobacteria	Gloeobacter	
Atp Epsilon	X	X	X		verdes sulfurosas	Gloeobacter	
Atp F	X	X	X		Heliobacteria - B verdes no sulfurosas	Prochlorales	
Atp Gamma	X	X	X		B. purpuras	Gloeobacter	
Atp B		X			B. purpuras	Gloeobacter	
CITOCROMO							
PetA		X				Prochlorales	Planta Cianobacteria
PetD		X				Gloeobacter	
PetC		X			B. verdes sulfurosas	Nostocales	
TRANSPORTE DE ELECTRONES							
PetE		X				Nostocales	Planta Cianobacteria (- tel), B. V. no sulfurosas
PetH		X				Prochlorales	
PetJ		X				Chroococales	Planta Cianobacteria (-pmm)
UNIDAD RIBOSOMAL							
16s rRNA	X	X	X		B.verdes no sulfurosas	Gloeobacter	Todos

* Esta tabla integra y resume los resultados soportados estadísticamente de: alineamientos, construcción filogenética y la búsqueda del Numero Mínimo de genes Comunes a los diferentes organismos fotosintéticos evaluados en este trabajo.

8. CONCLUSIONES

1. El análisis filogenético revela que la fotosíntesis (Ilustración 10), no se ensambló a través de una vía lineal de cambios estables y aumento de complejidad, sino a través de líneas no relacionadas que emergen de manera independiente, y cuyos sistemas químicos convergen como bloques de material genético intercambiados entre las especies bacteriales (transferencia lateral).
2. La utilización de la subunidad ribosomal pequeña 16S, como los genes implicados en la fotosíntesis analizados en este trabajo mostró que la fotosíntesis se ensambló a partir de microorganismos anoxigénicos a oxigénicos, patrón que se repitió a través de las filogenias con organismos representativos de estos grupos fotosintéticos.
3. No se puede proponer a las bacterias purpura como ancestro único de las fotosíntesis oxigénica ni a las heliobacterias como los ancestros de la fotosíntesis anoxigénica.
4. Se halló que los genes núcleo o esenciales del fotosistema I (PsaA, B), fotosistema II (PsbA, D) y complejo citocromo (PetB, C), fueron comunes a todo el conjunto de organismos analizados, lo que demuestra que los mecanismos químicos del fotosistema aún perteneciendo a taxones separados filogenéticamente comparten en varios grados muchas similitudes estructurales y funcionales. Sin embargo, las topologías de los árboles no mostraron una filogenia consenso.
5. El 50% de los árboles filogenéticos examinados mostró a las cianobacterias prochlorococales en la bases de los árboles, lo cual esta de acuerdo con lo encontrado por otros autores. Estos resultados, también concuerda con el agrupamiento filogenético mediante el gen ARNr 16S de plochlorococcus y synechococcus marinos y con los estudios mediante genes implicados en las proteínas de captura de luz ficobilisomas.
6. Los organismos diazotróficos emergieron antes que los organismos no-diazotróficos. Estos resultados estan de acuerdo con los últimos modelos propuestos para la evolución atmosférica del NO, el CO₂ y el oxígeno (Navarro-González et al., 2001).
7. El escenario de origen de la fotosíntesis donde se propone a las pro-cianobacterias, como taxón ancestral para el origen de todas los otros grupos fotobacteriales (Bacterias verdes, purpuras, heliobacterias y cianobacterias) no fue descartado por los árboles filogenéticos de los diferentes subsistemas bioquímicos y/o genéticos que conforman los fotosistemas I, II y ATPasa (Ilustración 10).
8. Un escenario alternativo para el origen de la fotosíntesis y los diferentes grupos de microorganismos fotosintéticos es que esta(os) se haya(n) producido de manera simultánea

e independiente sin necesidad de acudir a la existencia de un hipotética proto-cianobacteria (Ilustración 11).

9. RECOMENDACIONES

Se recomienda para trabajos futuros realizar una filogenia molecular fundamentada en datos combinados derivados de parámetros genómicos, datos fisiológicos, ecológicos y geológicos. Un análisis por minería de datos podría ayudar a comparar datos de origen diverso.

Otras vías metabólicas podrían haber aportado genes a este mecanismo “*varios de los genes relacionados en las vías metabólicas no fotosintéticas de las bacterias han sido adquiridas por el fotosistema*” Blankenship et al. (1995) y sería de gran importancia en el futuro analizar en paralelo el sistema fotosintético y el de captación de nitrógeno.

La capacidad del servidor Power Edge de avanzada del laboratorio de Bioinformática del grupo de investigaciones BIMAC, permitió el desarrollo de este trabajo bajo parámetros restringidos al tiempo de procesamiento, es recomendable en futuro realizar una proyección de estos análisis con un número mayor de datos actuales y por lo tanto implementar computación paralela u otro método que permita reducir el tiempo de cálculo.

BIBLIOGRAFÍA

AMESZ, J. The antenna-reaction center complex of heliobacteria. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic, Netherlands, (1995); p. 687-697.

BADGER, M.R. Hanson, D.T., PRICE, G.D. Evolution and diversity of CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria. En: *Functional Plant Biology*. Vol. 29, (2002); p. 407- 416.

BADGER, M.R. PRICE, G.D.G. CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution, Review Article. En: *Journal of Experimental Botany*. Vol 54, (2003); p. 609 – 622.

BARRY, B.A., R.J. BOERNER and de PAULA J.C. The use of cyanobacteria in the study of the structure and function of photosystem II. D. Bryant ed. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, Kluwer Academic, Netherlands, (1994); p. 217- 257.

BEDOYA G. Brenda Yudith. Importancia y uso actual de las técnicas moleculares en el análisis y tipificación de patógenos, URL: www.monografias.com, visitada Septiembre 2006.

BERGERSEN, F. J. Ammonia, an early stable product of nitrogen fixation by soybean root nodules. En: *Aust. J. Biol. Sci.* Vol. 18, (1965); p. 1-9.

BERMAN-FRANK I, LUNDGREN P, FALKOWSKI P. Nitrogen fixation and photosynthetic oxygen evolution in cyanobacteria. En: *Res Microbiol.* Vol 154, (2003); p.157–164.

BEN-SHEM, A., F. FROLOW, and N. NELSON. Light-harvesting features revealed by the structure of plant photosystem I. En: *Photosynth. Res.* Vol. 81, (2004); 239–250.

BOXER Maureen. Molecular techniques: divide or share. En: *J. Clin. Pathol.* Vol. 53, (2000); p. 19-21. doi:10.1136/jcp.53.1.19.

BLANKENSHIP R., MADIGAN M.T., and BAUER C. Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Kluwer Academic, Netherlands. (1995); p. 871–883.

BRICKER T.M., GHANOTAKIS D.F. Introduction to oxygen evolution and the oxygen-evolving complex. In *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*, eds. DR Ort, CF Yocum, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, (1996). p. 113-36.

BRODA, E., and G. A. PESCHEK. Nitrogen fixation as evidence for the reducing nature of the early biosphere. En: Biosystems Vol. 16 (1983); p. 1-8.

BROCKS J.J; Buick R., SUMMONS R.E., LOGAN G.A. A reconstruction of Archean biological diversity based on molecular fossils from the 2.78 to 2.45 billion-year-old Mount Bruce Supergroup, Hamersley Basin, Western Australia. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67: No 22, En: Elsevier. Vol. 15, (2003); p. 4321-4335.

BRYANT D. (ed.) *The Molecular Biology of Cyanobacteria*. Kluwer Academic, Netherlands, (1994); p. 1-6.

BUICK R. The antiquity of oxygenic photosynthesis: evidence from stromatolites in sulphate-deficient Archaean lakes. En: *Science*. Vol. 255, (1992); p 74–77.

CATLING, D.C. CLAIRE, M.W. How Earth's atmosphere evolved to an oxic state: A status report. En: *Earth and Planetary Science Letters* Vol. 237. (2005); p. 1 – 20.

CASTENHOLZ, R.W. Phylum BX. Cyanobacteria. Oxygenic Photosynthetic Bacteria. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 1: The Archaea and the Deeply Branching and Phototropic Bacteria. 2ed. Garrity G., Boone D. R., & Castenholz R. W. editors Springer-Verlag, New York, (2001). p. 1472-4669

----- & WATERBURY, J. B. Group I. Cyanobacteria. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3. (1989); p. 1710–1728.

----- . Species usage, concept, and evolution in the cyanobacteria (blue–green algae). En: *J Phycol*. Vol 28. (1992); p. 737–745.

CETER T. I.M., CAICEDO J.C. Herramienta de búsqueda y clasificación de genomas microbianos. Cali, (2008). Trabajo de Grado (Ingeniera de Sistemas). Universidad Del Valle. Facultad de Ingeniería. Escuela de Ingeniería de Sistemas y Computación Santiago de Cali.

CHITNIS, P. R. Photosystem I: function and physiology. *Annu. Rev.* En: *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* Vol. 52 (2001); p. 593–626.

DEBUS R. The manganese and the calcium ions of photosynthetic oxygen evolution. En: *Photosynth. Res.* Vol. 1102 (1992); p. 269-352.

DES MARAIS, David J. EVOLUTION: When Did Photosynthesis Emerge on Earth? En: *Science*. Vol. 289, No. 5485, (2000); p. 1703.

DISMUKES G. C., KLIMOV V. V., BARANOV S. V., KOZLOV Yu. N. ,DASGUPTA J. , and TYRYSHKIN A. The origin of atmospheric oxygen on Earth: The innovation of oxygenic photosynthesis. En: *PNAS* vol. 98, No. 5, February 27, (2001); p. 2170–2175

DOE JOINT GENOME INSTITUTE, URL: <http://img.jgi.doe.gov>. Visitada Sep 2006

DOUGLAS S.E. Chloroplast origins and evolution. In: D. Bryant (ed.) *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, Kluwer Academic, Netherlands. (1994); p. 91-118.

DOPAZO, J., y VALENCIA, A. *Bioinformática y Genómica*, (2001); p. 1-76.
URL: <http://bioinfo.cipf.es/docus/courses/filogenias/BioinfoGenomica.pdf>. Citado abril del 2006.

DAYHOFF, M.O., ECK, R.V., and PARK, C.M., in “Atlas of Protein Sequence and Structure”. Ed. Dayhoff, M.O., Nat. Biomed. Res. Found., Washington , D.C. Vol.5, (1972); p.89-99,

EMERSON, R. The quantum yield of photosynthesis. *Ann. Rev. En: Plant Physiol.* Vol. 9, (1958); p. 1- 24.

EFRON B. Bootstrap methods: another look at the jackknife. *En: Ann. Stat.* Vol 7, (1979); 1-26.

----- The jackknife, the bootstrap, and other resampling plans. *Conf. Board Math. Sci. Sot. Ind. En: Appl. Math.* Vol. 38, (1982); p. 1-92.

----- Better bootstrap confidence intervals. *En: J. Am. Stat. Assoc.* Vol. 82, (1987); p. 171-185.

FELSENSTEIN. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. *En: Syst. Zool.* Vol. 27 (1978); p. 401- 410.

----- Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution.* Vol. 39 (1985); p. 783-791.

----- Phylogenies from molecular sequences: inference and reliability. *Annual Rev. Genet.* Vol. 22, (1988); p. 521-565.

----- Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *En: Journal of Molecular Evolution.* Vol. 17, (1981); 368 – 376.

----- PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, USA, (2005);
URL: <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.htm>

KUMAR, Sudhir; and, Filipki, Alan Molecular Phylogeny Reconstruction. In: Encyclopedia of Life Sciences (ELS). John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. (March 2008), p. 1 – 6. DOI: 10.1002/9780470015902.a0001523.pub2

FITCH W. M. Towards. defining the course of evolution: Minimum change for a specific tree topology. En: Systematic Zoology. Vol. 20, (1971); p. 406 – 416.

FEICK R., SHIOZAWA J.A., and ERTLMAIER A. Biochemical and spectroscopic properties of the reaction center of the green filamentous bacterium, chloroflexus aurantiacus. In: Blankenship RE, Madigan MT and Bauer CE eds. Anoxygenic Photosynthetic Bacteria. Advances in Photosynthesis and Respiration, vol 2. Springer, Dordrecht, (1995); p. 699-708.

FEILER U and HAUSKA G. The Reaction Centre from Green Sulphur Bacteria. Advances in Photosynthesis, Anoxygenic Photosynthetic Bacteria; Blankenship RE, Madigan MT, Bauer CE eds., Kluwer Acad.Publ. (1995); p. 665-685.

FORSTHOEFEL N.R., and CUSHMAN J.C. Characterization (psbE, psbF, and Acid Metabolism and Expression of Photosystem II Genes psbL) from the Facultative Crassulacean Plant Mesembryanthemum crystallinum. En: Plant Physiol. Vol. 105, (1994); p. 761-762.

FOX G.E., WISOTZKEY J.D. & JURTSCHUK P., Jr. How close is close: ARNr 16S sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. En: Int J Syst Bacteriol Vol. 42, (1992); p. 166–170.

FOX G.E., STACKEBRANDT E., HESPELL R.B., GIBSON J., MANILOFF J., DYER T.A., WOLFE R.S., BALCH W.E., TANNER R.S., MAGRUM L.J., ZABLEN L.B., R BLAKEMORE, GUPTA R., Bonen L., LEWIS B.J., STAHL D.A., LUEHRSEN K.R., CHEN KN, and WOESE CR. The phylogeny of prokaryotes. En: Science (25 July 1980); p. 457-463 DOI: 10.1126/science.6771870

FULLER N.J., MARIE D., PARTENSKY F., VAULOT D., POST A.F., and SCANLAN D.J. Clade-Specific 16S Ribosomal DNA Oligonucleotides Reveal the Predominance of a Single Marine Synechococcus Clade throughout a Stratified Water Column in the Red Sea. En: Applied and Environmental Microbiology. (May 2003); p. 2430–2443

GEST H. Photosynthetic and quasi-photosynthetic bacteria. En: FEMS Microbiol Lett. Vol. 112 (1993); p. 1–6.

GOLBECK J.H. Photosystem I in cyanobacteria. Bryant DA (ed) The Molecular Biology of Cyanobacteria, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. (1994); p 319-360.

GOLDENKRANZ'S A.P. Cyanobacteria info page for Biology class. (1999).

URL: <http://www.rvt.com/~lucas/school/cyano.html>, added February 15, Visitada: 1/11/2006.

GOERICKE M., and CHISHOLM S. W. Comparative physiology of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*: influence of light and temperature on growth, pigments, fluorescence and absorptive properties. En: *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol. 116 (1995); p. 259–275.

GOVINDJEE, KNOX R.S. & AMESZ J. Photosynthetic Unit: Antenna and Reaction Centers. En: *Photosynth. Res.* Vol 48 (1996); p. 1-319.

GOVINDJEE and W. COLEMAN How Does Photosynthesis Make Oxygen?. En: *Scientific American.* Vol. 262 (1990); p. 50-58.

HAYES, J.M. Geochemical evidence bearing on the origin of aerobiosis, a speculative interpretation. *Earth's Earliest Biosphere: its Origin and Evolution*, Edited by J. W. Schopf. Princeton: En: Princeton University Press. (1983); p. 291 – 301.

HAGER M, HERMANN M, BIEHLER K, KRIEGER-LISZKAY A, BOCK R. Lack of the small plastid-encoded PsbJ polypeptide results in a defective water-splitting apparatus of photosystem II, reduced photosystem I levels and hypersensitivity to light. En: *Journal of Biological Chemistry.* Vol. 277, (2002); p. 14031–14039.

HENSON B.J., HESSELBROCK S.M., WATSON L.E., & BARNUM S.R. Molecular phylogeny of the heterocystous cyanobacteria (subsections IV and V) based on *nifD*. En: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* Vol. 54, (2004); p. 493–497.

HONDA D., YOKOTA, A., and SUGIYAMA, J. Detection of seven major evolutionary lineages in cyanobacteria based on the ARNr 16S gene sequence analysis with new sequences of five marine *Synechococcus* strains. En: *J. Mol. Evol.* Vol. 48, (1999); p. 723–739.

IKEUCHI M., EGGERS B., SHEN G.Z, WEBBER A., YU J.J., HIRANO A., INOUE Y., VERMAAS W. Cloning of the *psbK* gene from *Synechocystis* sp. PCC 6803 and characterization of photosystem II in mutants lacking PSII-K. En: *J Biol Chem.* Vol. 266, No. 17, (Jun 15, 1991); p. 11111–11115.

IKEUCHI M., TAKIO K., INOUE Y. N-terminal sequencing of photosystem II low-molecular-mass proteins. 5 and 4.1 kDa components of the O₂-evolving core complex from higher plants. En: *FEBS Lett*, Vol. 242, No. 2, (Jan 2, 1989); p. 263–269.

IVANOVSKY R.N., KRASILNIKOVA E.N. and Fal Y.I. A pathway of the autotrophic CO₂ fixation in *Chloroflexus auranticus*. En: *Arch. Microbiol.* Vol. 159 (1993); p. 257-264.

JAPAN GOVERNMENT CYANOBASE KAZUSA,
URL: <http://www.kazusa.or.jp/cyano/cyano.html>. Visitada Septiembre 2006.

KANEKO, T., NAKAMURA, Y., WOLK, C. P. et al. Complete genomic sequence of the filamentous nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena* sp. strain PCC 7120. En: DNA Res. Vol 8, (2001); p. 205–213.

KASHINO Y., INOUE-KASHINO N., ROOSE J.L., PAKRASI H.B. Absence of the PsbQ protein results in destabilization of the PsbV protein and decreased oxygen evolution activity in cyanobacterial photosystem II. En: J Biol. Chem. Vol. 281, (2006); p. 20834–20841.

KASHINO Y., LAUBER W.M., CARROLL J.A., WANG Q., WHITMARSH J., SATOH K., PAKRASI H.B. Proteomic analysis of a highly active photosystem II preparation from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 reveals the presence of novel polypeptides. En: Biochemistry. Vol. 41, (2002); p. 8004–8012.

KLEIN M.P., SAUER K., and YACHANDRA Y.K. Perspectives on the structure of the photosynthetic oxygen evolving manganese complex and its relation to the Kok's cycle. En: Photosynth. Res. Vol. 38, (1993); 265-277.

KRAUSE G.H. and WEIS E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. En: Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. Vol. 42. (1991); p. 313-349.

KRAUSS N.W., HINRICHS I., WITT P., FROMME W., PRITZKOW Z., DAUTER C., BETZEL K.S., WILSON H.T., WITT and SAENGER W. Three-dimensional structure of system I of photosynthesis at 6Å resolution. En: Nature. Vol. 361, (1993); p. 326-331.

KINGDOM MONERA,
URL: http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/16cm05/16labman05/lb1pg2_files/image007.jpg.
Visitada Septiembre 2006.

LA ROCHE J., VANDERSTAAY G.W.M., PARTENSKY F., DUCRET A., AEBERSOLD R., LI R., GOLDEN S.S., HILLER R.G., WRENCH P.M., LARKUM A.W.D., and GREEN B.R. Independent evolution of the prochlorophyte and green plant chlorophyll a/b light-harvesting proteins. En: PNAS Vol. 93, (1996); p. 15244-15248

MARTIN A.L. The enigma of the origin of life and its timing, En: Microbiology. Vol. 148, (2002); p. 21 – 27.

MARTIN K.A., SIEFERT J.L., YERRAPRAGADA S., LU, Y., MCNEILL, T.Z., MORENO, P.A., WEINSTOCK G.M., WIDGER W.R. & FOX G.E. Cyanobacterial signature genes. En: Photosynthesis. Res., Vol. 75, (2003); p. 211 – 221.

MATTHIJS, H.C. P., G.W.M. van DER STAAY and L.R. MUR. Prochlorophytes: the "other" cyanobacteria? Kluwer Academic, Netherlands. (1994); 49-64.

MORENO P.A. La búsqueda de proteínas. Análisis de Secuencias II: Matrices de Almacenamiento, Programación Dinámica: El Algoritmo de Needleman y Wunsch. Escuela de Ingeniería de Sistemas y Computación, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle, Cali, COLOMBIA. (Febrero-Junio 2005).

URL:

http://eisc.univalle.edu.co/materias/FundamentosBioinformatica/material/C8_AnalisisSecuencia_II.pdf. Visitado. 05 de Julio de 2006

MULKIDJANIAN A.Y., KOONIN E.V., MAKAROVA K.S., MEKHEDOV S.L., SOROKIN A., WOLF Y.I., DUFRESNE A., PARTENSKY F., BURD H., KAZNADZEY D., HASELKORN R., & GALPERIN M.Y. The cyanobacterial genome core and the origin of photosynthesis. En: PNAS. Vol. 103, (2006); p. 13126-13131.

MULLINEAUX, C.W. Biogenesis and dynamics of thylakoid membranes and the photosynthetic apparatus. In: The Cyanobacteria: Molecular Biology, Genomics and Evolution (A. Herrero and E. Flores, eds, Caister Academic Press, Norfolk, UK) Chapter 11, (2007); p. 289-303.

NAKAMURA Y, et al. Complete genome structure of *Gloeobacter violaceus* PCC 7421, a cyanobacterium that lacks thylakoids. En: DNA Res. Vol. 10, (2003); p. 137-145.

NAVARRO-González R., McKay C. P., Mvondo D. N. A possible nitrogen crisis for archaea life due to reduced nitrogen fixation by lightning. En: Nature 412, 5 July (2001); p. 61-64.

NEI, M. and KUMAR, S. Molecular evolution and phylogenetics. USA. Oxford University Press Vol. 333, (2000); p. 73-178.

NELSON, N. The complex architecture of oxygenic photosynthesis. En: Nat. Rev. Mol. Cell Biol. Vol 5 (2004); p. 971-982.

NELISSEN B., VAN DE PEER Y. WILMOTTE A., DE WACHTER R. En: Mol Biol Evol. Vol 12, (1995); p. 1166-1173.

OEA, COLCIENCIAS. 2004. Observatorio Colombiano de Ciencia y Tecnología. Construcción de indicadores en biotecnología. Región comprendida por cuatro países de América Latina y el Caribe: Colombia, Costa Rica, México y Venezuela. Ed. Luis Antonio Orozco, José Fernando Chaves, Cáp.2, Diciembre.

OLSEN G.J., and WOESE C.R. Ribosomal RNA: a key to phylogeny. En: FASEB J. Vol. 7, (1993); p. 113-123.

PAGE, R.D. M. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. En: *Computer Applications in the Biosciences*. Vol. 12. (1996); p. 357-358.

PALENIK B. and HASELKORN R. Multiple evolutionary origins of prochlorophytes, the chlorophyll b- containing prokaryotes. En: *Nature*. Vol. 355 (1992); p. 265-267.

PEVSNER J. Bioinformatics and functional genomics. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. Chapter 10. (2003); p. 41-81.

PHILIPPE H., ZHOU Y., BRINKMANN H., RODRIGUE N., and DELSUC F. Heterotachy and long-branch attraction in phylogenetics. En: *BMC Evolutionary Biology* Vol. 5, No. 50, (2005). doi:10.1186/1471-2148-5-50

PIRJO W., Biodiversity and Phylogeny of Planktic Cyanobacteria in Temperate Freshwater Lakes. Department of Applied Chemistry and Microbiology University of Helsinki, Finland. (Junio 30 de 2006); p. 1-77.

POSTIUS C., ERNST A. Mechanisms of dominance: coexistence of picocyanobacterial genotypes in a freshwater ecosystem. En: *Arch Microbiol*. Vol. 172, No. 2 (Aug 1999); p. 69-75.

RAYMOND J., ZHAXYBAYEVA O., GOGARTEN J.P., GERDES S.Y., BLANKENSHIP R.E. . Whole-Genome Analysis of Photosynthetic Prokaryotes. En: *Science*, Vol. 22, No. 298, (Nov 2002); p. 1538-9.

RAYMOND J., BLANKENSHIP R.E. The evolutionary development of the protein complement of photosystem 2. En: *Biochim Biophys Acta*. Vol. 1655, (2004); p. 133–139.

RIPPKA R., DERUELLES J., WATERBURY J.B., HERDMAN M. & STANIER R.Y. Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. En: *Journal of General Microbiology*. Vol. 111, (1979); p. 1-61. Citado por: HENSON B.J., HESSELBROCK S.M., WATSON L.E., and BARNUM S.R. Molecular phylogeny of the heterocystous cyanobacteria (subsections IV and V) based on nifD. En: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 54 (2004); p. 493.

RIPPKA R. & HERDMAN H. Pasteur Culture Collection of Cyanobacteria: Catalogue and Taxonomic Handbook. I. Catalogue of Strains. Paris: Institut Pasteur. Citado por: HENSON B.J., HESSELBROCK WATSON L.E., and BARNUM, S.R. 2004. Molecular phylogeny of the heterocystous cyanobacteria (subsections IV and V) based on nifD. En: *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* Vol. 54, (1992); p. 493.

RENGER G. Water cleavage by solar radiation - an inspiring challenge to photosynthesis research. En: *Photosynth. Res*. Vol. 38, (1993); p. 229-287.

- ROCAP G. et al., Genome divergence in two *Prochlorococcus* ecotypes reflects oceanic niche differentiation. En: *Nature*. Vol. 01947, (13 August 2003); p. 1-5.
- ROCAP M., and CHISHOLM W. Physiology and molecular phylogeny of coexisting *Prochlorococcus* ecotypes. En: *Nature* Vol. 393, (1998); p. 464–467.
- ROCAP G., DISTEL D., WATERBURY J., and CHISHOLM S. Resolution of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* Ecotypes by Using 16S-23S Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer Sequences. En: *Applied and Environmental Microbiology*. (Mar.2002); p. 1180–1191.
- ROOSE J.L., WEGENER K.M., and PAKRASI H.B.. REVIEW: The extrinsic proteins of Photosystem II. En: *Photosynth Res*, (2006); DOI 10.1007/s11120-006-9117-1
- ROSENBERG M.S. and KUMAR S. Incomplete taxon sampling is not a problem for phylogenetic inference. En: *PNAS*. Vol 98. (September 11 2001); p. 10751-10756.
- RUJAN T, MARTIN W. How many genes in *Arabidopsis* come from cyanobacteria? An estimate from 386 protein phylogenies. En: *Trends Genet* Vol. 17, (2001); p. 113–120.
- SAITOU N., & NEI M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. En: *Molecular Biology and Evolution*. Vol. 4, (1987); p. 406-425.
- SIDLER, W.A. Phycobilisome and phycobiliprotein structures. D. Bryant ed. *The Molecular Biology of Cyanobacteria*, Kluwer Academic, Netherlands. (1994); p. 139-216.
- SIX C., THOMAS J.C., GARCZAREK L., OSTROWSKI M., DUFRESNE A., BLOT N., SCANLAN D. J. and PARTENSKY F. Diversity and evolution of phycobilisomes in marine *Synechococcus* spp.: a comparative genomics study. En: *Genome Biology*. Vol. 8, (2007); p 259.
- SOLTIS P.S., and SOLTIS, D.E. Applying the Bootstrap in Phylogeny Reconstruction. En: *Statistical Science*. Vol. 18, No. 2, (2003); p. 256–267.
- STEEL M., and PENNY D. Parsimony, Likelihood, and the Role of Models in Molecular Phylogenetics. *Mol. Biol. Evol.* Vol. 17, No. 6 (2000); p. 839–850.
- SCHWARZ R., & DAYHOFF M., Matrices for detecting distant relationships. In Dayhoff M, editor, *Atlas of protein sequences*, National Biomedical Research Foundation, (1979); p. 353 – 358.
- TATUSOV, R.L., GALPERIN, M.Y., NATALE D.A. & KOONIN E.V. Nucleic. En: *Acids Res*. Vol. 28, (2000); p. 33–36.

TAMURA K., DUDLEY J., NEI M., & KUMAR S., MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. En: *Molecular Biology and Evolution* (2007);10.1093/molbev/msm092,

THIDHOLMAB E., LINDSTRÖMA V., TISSIERD C., ROBINSOND C., Schröderbe W. P., FUNKA C. Novel approach reveals localisation and assembly pathway of the PsbS and PsbW proteins into the photosystem II dimer. Vol. 513, No. 2, (27 February 2002); p. 217-222.

THOMPSON J.D., HIGGINS D.G., and GIBSON T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. En: *Nucleic Acids Res.* Vol. 22, No. 22, (November 11 1994); p. 4673–4680.

TOMITANI A., KNOLL A.H., CAVANAUGH C.M., and OHNO T. The evolutionary diversification of cyanobacteria: Molecular–phylogenetic and paleontological perspectives. En: *PNAS.* Vol. 14, No. 103, (April 4 2006); p. 5442–5447.

URBACH E., ROBERTSON D.L. and CHISHOLM S.W. Multiple evolutionary origins of prochlorophytes within the cyanobacterial radiation. En: *Nature.* Vol 355, (1992); p. 267-270.

VASS I, STYRING S, HUNDAL T, KOIVUNIEMI A, ARO EM, ANDERSON B Reversible and irreversible intermediates during photoinhibition of photosystem II: stable reduced Qa species promote chlorophyll triplet formation. En: *Proc Natl Acad Sci USA.* Vol. 89, (1992); p. 1408 – 1412.

WATERBURY, J. B., WATSON, S. W., VALOIS, F. W., FRANKS, D. G. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. Platt, T., Li. W. K. W. (eds.) *Photosynthetic picoplankton.* En: *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* Vol. 214, (1986); p. 71-120.

WHITMARSH J., and GOVINDJEE. THE PHOTOSYNTHETIC PROCESS modified version of "Photosynthesis". *Concepts in Photobiology: Photosynthesis and Photomorphogenesis*", Edited by GS Singhal, G Renger, SK Sopory, K-D Irrgang and Govindjee, Narosa Publishers/New Delhi; and Kluwer Academic/Dordrecht. (1995); 11-51 pp. URL: <http://www.life.uiuc.edu/govindjee/paper/gov.html> Visitada octubre de 2006

WHITMARSH J, PAKRASI H B. In: *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions.* Ort D R, Yocum C F, editors. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer; (1996); p. 249–264.

- WILMOTTE A. Molecular evolution and taxonomy of the cyanobacteria. En: The Molecular Biology of Cyanobacteria. D. Bryant ed., Kluwer Academic, Netherlands. (1994); p. 1-25.
- WOESE C.R. Bacterial Evolution. En: MICROBIOLOGICAL REVIEWS. (June 1987); p. 221-271.
- WOESE C.R., O. KANDLER, M.L. Wheeler Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. En: PNAS Vol. 87, (1990); p. 4576-457
- WOESE C.R., and FOX, G. E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. En: Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 74, (1977); p. 5088-5090.
- XIONG J., FISCHER W.M., INOUE, K., NAKAHARA M., and BAUER, C.E. Molecular Evidence for the Early Evolution of Photosynthesis. En: Science. Vol. 289, No. 5485, (2000); p. 1724. DOI: 10.1126/science.289.5485.1724, 8 September.
- XIONG J., BAUER C.E. A cytochrome b origin of photosynthetic reaction centers: an evolutionary link between respiration and photosynthesis. En: J Mol Biol. Vol. 322, No 5, (Oct 4 2002); p. 1025-37.
- XIONG J., INOUE K., and BAUER C. E. Tracking molecular evolution of photosynthesis by characterization of a major photosynthesis gene cluster from *Heliobacillus mobilis*. En: Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 95 (Dec. 1998); p. 14851–14856.
- ZHAXYBAYEVA O., GOGARTEN J.P., CHARLEBOIS R.L., DOOLITTLE W.F., and THANE P.R. Phylogenetic analyses of cyanobacterial genomes: Quantification of horizontal gene transfer events. En: *Genome Res.* Vol. 16, (2006); p. 1099-1108.

ANEXOS

Anexo A.

Tabla 4. Organismos utilizados en los alineamientos y códigos

Cianobacterias - Fotosíntesis oxigénica					
Código	Organismo	Clasificación	Tipo de RC	Ecotipo	Base de Datos
syn Nombre: SYNY3, 1148	<i>Synechocystis sp. PCC6803</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechocystis	I,II	Aguas continentales	Kazusa
syw Nombre: SYN PX, 84588	<i>Synechococcus sp. WH8102</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechococcus	I,II	Mar abierto	JGI, CYORF, Kazusa, TIGR
syx Nombre: SYN P6, 269084	<i>Synechococcus elongatus PCC6301</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechococcus	I,II	Aguas continentales	Nagoya U, CYORF
syf Nombre: SYN P7, 1140	<i>Synechococcus PCC7942</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechococcus	I,II	Aguas continentales	CYORF, JGI
syd Nombre: SYN SC, 110662	<i>Synechococcus CC9605</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechococcus	I,II	Marino	JGI, CYORF
syz Nombre: SYN S9, 316279	<i>Synechococcus CC9902</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechococcus	I,II	Marino	CYORF, JGI
syg Nombre: SYN S3, 64471	<i>Synechococcus CC9311</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechococcus	I,II	Marino (costero)	TIGR
cya Nombre: SYN JA, 321327	<i>Cyanobacteria bacterium Yellowstone A-Prime (Synechococcus sp. JA- 3-3Ab)</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechococcus	I,II	Aguas continentales Termales	CYORF, TIGR
cyb Nombre: SYN JB, 321332	<i>Cyanobacteria bacterium Yellowstone B-Prime (Synechococcus sp. JA- 2-3B'a(2-13))</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Synechococcus	I,II	Aguas continentales Termales	CYORF, TIGR
tel Nombre: SYN EL, 197221	<i>Thermosynechococcus elongatus BP-1</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Chroococcales; Thermosynechococcus	I,II	Aguas continentales Termales	Kazusa
ana Nombre: AN AS P, 103690	<i>Anabaena sp. PCC 7120 (Nostoc sp. PCC 7120)</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Nostocales; Nostocaceae; Nostoc	I,II	Suelo	Kazusa
ava Nombre: AN AV T, 240292	<i>Anabaena variabilis ATCC 29413 (strain: ATCC 29413, synonym: Anabaena flos-aquae UTEX 1444)</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Nostocales; Nostocaceae; Anabaena	I,II	Acuáticos, Suelo	CYORF, JGI, TIGR
pma Nombre: PRO MA, 167539	<i>Prochlorococcus marinus SS120 (subsp. Marinus CCMP1375)</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae; Prochlorococcus	I,II	oligotrofico marino/Alto -B/A Prochlorococcus clado II	CNRS Roscoff, Genoscope, CYORF
pnc Nombre: P. marinus_MIT9515, PROM5, 167542	<i>Prochlorococcus marinus MIT 9515</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae; Prochlorococcus	I,II	marino oceanico/ Bajo-B/A Prochlorococcus clado I	
pmm Nombre: PRO MP, 59919	<i>Prochlorococcus marinus MED4 (subsp. Pastoris str. CCMP1378 - CCMP1986)</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae; Prochlorococcus	I,II	marino/ Bajo-B/A Prochlorococcus clado I	JGI, CYORF
pmt Nombre: PRO MM, 74547	<i>Prochlorococcus marinus MIT 9313</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae;	I,II	marino/Alto -B/A Prochlorococcus	JGI, CYORF, Kazusa

		Prochlorococcus		ccus clado IV	
pmn Nombre: PROMT, 59920	<i>Prochlorococcus marinus NATL2A</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae; Prochlorococcus	I,II	marinos/Alto -B/A Prochlorococcus clado I	CYORF, JGI
pmi Nombre: PROM9, 74546	<i>Prochlorococcus marinus MIT9312</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae; Prochlorococcus	I,II	marino/Bajo -B/A Prochlorococcus clado II	CYORF, JGI
pmb Nombre: PROMS, 146891	<i>Prochlorococcus marinus AS9601</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae; Prochlorococcus	I,II	marino/Bajo -B/A Prochlorococcus clado II	Venter Inst
pmf Nombre PROM3, 59922	<i>Prochlorococcus marinus MIT 9303</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae; Prochlorococcus	I,II	marino/Alto -B/A Prochlorococcus clado IV	Venter Inst
pme Nombre: PROM1, 167555	<i>Prochlorococcus marinus NATLIA</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Prochlorales; Prochlorococcaceae; Prochlorococcus	I,II	marino/Alto -B/A Prochlorococcus clado I	Venter Inst
gvi Nombre: GLOVI, 251221	<i>Gloeobacter violaceus PCC7421</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Gloeobacteria; Gloeobacterales; Gloeobacter	I,II	Aguas continentales	Kazusa
ter Nombre: TRIEI, 203124	<i>Trichodesmium erythraeum IMS101</i>	Bacteria; Cyanobacteria; Oscillatoriales; Trichodesmium	I,II	Oligotrófico oceánico	JGI
Eucariotes - Fotosíntesis oxigénica					
ath Nombre: ARATH, 3702	<i>Arabidopsis thaliana (thale cress)</i>	Eucariote; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; core eudicotyledons; rosids; eurosids II; Brassicales; Brassicaceae; Arabidopsis	I,II		TIGR, MIPS, Kazusa, TAIR
eta	<i>Triticum aestivum</i>	Eucariote; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; Liliopsida; Poales; Poaceae; BEP clade; Poideae; Triticeae; Triticum	I,II		gbk
osa Nombre: ORYSJ, 39947	<i>Oryza sativa ssp. Japonica cultivar Nipponbare (Japanese rice)</i>	Eucariote; Viridiplantae; Streptophyta; Embryophyta; Tracheophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; Liliopsida; Poales; Poaceae; BEP clade; Ehrhartoideae; Oryzae; Oryza	I,II		RAP-DB
cme Nombre: CYAME, 45157	<i>Cyanidioschyzon merolae 10D</i>	Eukaryota; Rhodophyta; Bangiophyceae; Cyanidiales; Cyanidiaceae; Cyanidioschyzon Red alga	I,II		U. Tokyo
olu Nombre O.lucimarinus,	<i>Ostreococcus lucimarinus CCE9901</i>	Eucariote; Viridiplantae; Chlorophyta;	I,II		JGI

436017		Prasinophyceae; Mamiellales; Ostreococcus			
Bacterias Verdes Sulfurosas - Fotosíntesis anoxigénica					
cte Nombre: C.tepidum, CHLTE, 194439	<i>Chlorobaculum tepidum</i> TLS	Bacteria; Chlorobi; Chlorobia; Chlorobiales; Chlorobiaceae; Chlorobaculum	I	Fosas termales marinas	TIGR
chh Nombre: CHLCH, 340177	<i>Chlorobium chlorochromatii</i> CaD3	Bacteria; Chlorobi; Chlorobia; Chlorobiales; Chlorobiaceae; Chlorobium/Pelodictyon group; Chlorobium	I	Fosas termales marinas	JGI
cph Nombre: CHLPD, 290317	<i>Chlorobium phaeobacteroides</i> DSM 266	Bacteria; Chlorobi; Chlorobia; Chlorobiales; Chlorobiaceae; Chlorobium/Pelodictyon group; Chlorobium	I	Fosas termales marinas	JGI
pvi Nombre: CHLPH, 290318	<i>Prosthecochloris vibrioformis</i> DSM 265	Bacteria; Chlorobi; Chlorobia; Chlorobiales; Chlorobiaceae; Chlorobium/Pelodictyon group; Chlorobium	I	Fosas termales marinas	JGI
plt Nombre: PELLD, 319225	<i>Pelodictyon luteolum</i> DSM 273	Bacteria; Chlorobi; Chlorobia; Chlorobiales; Chlorobiaceae; Chlorobium/Pelodictyon group; Pelodictyon	I	Fosas termales marinas	JGI
Bacterias Verdes No Sulfurosas - Fotosíntesis anoxigénica					
cau Refseq: NC_010175 GenBank: CP000909	<i>Chloroflexus aurantiacus</i> J-10- fl	Bacteria; Chloroflexi; Chloroflexi (class); Chloroflexales; Chloroflexaceae; Chloroflexus; Chloroflexus aurantiacus	II		US DOE Joint Genome Institute
det Nombre: DEHE1, 243164	<i>Dehalococcoides ethenogenes</i> 195	Bacteria; Chloroflexi; Dehalococcoidetes; Dehalococcoides	II		TIGR
deh Nombre: DEHSC, 255470	<i>Dehalococcoides</i> sp. CBDB1	Bacteria; Chloroflexi; Dehalococcoidetes; Dehalococcoides	II		Max-Planck
deb Nombre: 216389	<i>Dehalococcoides</i> sp. BAV1	Bacteria; Chloroflexi; Dehalococcoidetes; Dehalococcoides	II		JGI
rrs Nombre: 357808	<i>Roseiflexus</i> sp. RS-1	Bacteria; Chloroflexi; Chloroflexales; Chloroflexaceae; Roseiflexus	II		JGI
rca Nombre: 383372	<i>Roseiflexus castenholzii</i> DSM 13941	Bacteria; Chloroflexi; Chloroflexales; Chloroflexaceae; Roseiflexus	II		JGI
hau Nombre: 316274	<i>Herpetosiphon aurantiacus</i> ATCC 23779	Bacteria; Chloroflexi; Herpetosiphonales; Herpetosiphonaceae; Herpetosiphon	II		JGI
Bacterias purpuras - Fotosíntesis anoxigénica					
rpa Refseq: NC_005296 GenBank: BX571963	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> CGA009	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Rhodopseudomonas; Rhodopseudomonas palustris	II	Suelo, Acuáticos	DOE, Joint Genome Institute

rpb Nombre: RHOP2, 3160,58	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> <i>HaA2</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Rhodopseudomonas	II	Suelo, Acuaticos	JGI
rpc Nombre: RHOPB, 316056	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> <i>BisB18</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Rhodopseudomonas	II	Suelo, Acuaticos	JGI
rpd Nombre: RHOPS, 316057	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> <i>BisB5</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Rhodopseudomonas	II	Suelo, Acuaticos	JGI
jan Nombre: JANSC, 290400	<i>Jannaschia</i> sp. <i>CCS1</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Jannaschia	II	Suelo, Acuaticos	JGI, TIGRF
rpe Nombre: RHOP5,316055	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> <i>BisA53</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Bradyrhizobiaceae; Rhodopseudomonas	II	Suelo, Acuaticos	JGI
rsp Nombre: RHOS4, 272943	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> 2.4.1	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Rhodobacter	II	Suelo, Acuaticos	JGI, Texas
rde Nombre: ROSDO, 375451	<i>Roseobacter denitrificans</i> <i>OCh</i> <i>114</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Roseobacter Purple non sulfur bacteria	II	Suelo, Acuaticos	TGEN
rsh Nombre: RHOS1, 349101	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC <i>17029</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae; Rhodobacter Purple non sulfur bacteria	II	Suelo, Acuaticos	JGI
rru Nombre: RHORT, 269796	<i>Rhodospirillum rubrum</i> ATCC <i>11170</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodospirillales; Rhodospirillaceae; Rhodospirillum Purple non sulfur bacteria	II	Suelo, Acuaticos	JGI, TIGR
ccr Nombre: CAUCR, 190650	<i>Caulobacter crescentus</i> <i>CB15</i>	Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Caulobacterales; Caulobacteraceae; Caulobacter Purple non sulfur bacteria	II	Suelo, Acuaticos	TIGR
eco Nombre: ECOLI, 83333	<i>Escherichia coli</i> <i>K-12 MG1655</i>	Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales; Enterobacteriaceae; Escherichia Purple non sulfur bacteria	II	Suelo, Acuaticos	Wisconsin, Colibri, RegulonDB
Heliobacterias - Fotosíntesis anoxigénicas					
hlm	<i>Heliobacillus mobilis</i>	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Heliobacteriaceae; Heliobacillus	I		Integrated Genomics

hmo Nombre: 498761	<i>Heliobacterium modesticaldum</i> <i>Ice1</i>	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Heliobacteriaceae; Heliophilum.	I		Tgen
hchlo	<i>Heliobacterium chlorum</i>	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Heliobacteriaceae; Heliobacterium.	I		
hsul	<i>Heliobacterium sulfidophilum</i>	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Heliobacteriaceae; Heliobacterium.	I		
hmg	<i>Heliobacterium gestii</i>	Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Clostridiales; Heliobacteriaceae; Heliophilum.	I		U. Tokyo
Thermotogae					
tma Nombre: T.maritima, THEMA, 243274	<i>Thermotoga maritima</i> MSB8	Bacteria; Thermotogae; Thermotogales; Thermotogaceae; Thermotoga			TIGR
Archeae					
pto Nombre: P.torridus, PICTO, 263820	<i>Picrophilus torridus</i> DSM 9790	Archaea; Euryarchaeota; Thermoplasmata; Thermoplasmatales; Picrophilaceae; Picrophilusc			Goettingen
pfu Nombre: P.furiosus, PYRFU, 186497	<i>Pyrococcus furiosus</i> DSM 3638	Archaea; Euryarchaeota; Thermococci; Thermococcales; Thermococcaceae; Pyrococcus			U.Utah, TIGR
mba Nombre: M.barkeri, METBF, 269797	<i>Methanosarcina barkeri</i> fusaro	Archaea; Euryarchaeota; Methanomicrobia; Methanosarcinales; Methanosarcinaceae; Methanosarcina			JGI, JCVI-CMR
mac Nombre: M.acetivorans, METAC, 188937	<i>Methanosarcina acetivorans</i> C2A	Archaea; Euryarchaeota; Methanomicrobia; Methanosarcinales; Methanosarcinaceae; Methanosarcina			BROAD

Anexo B.

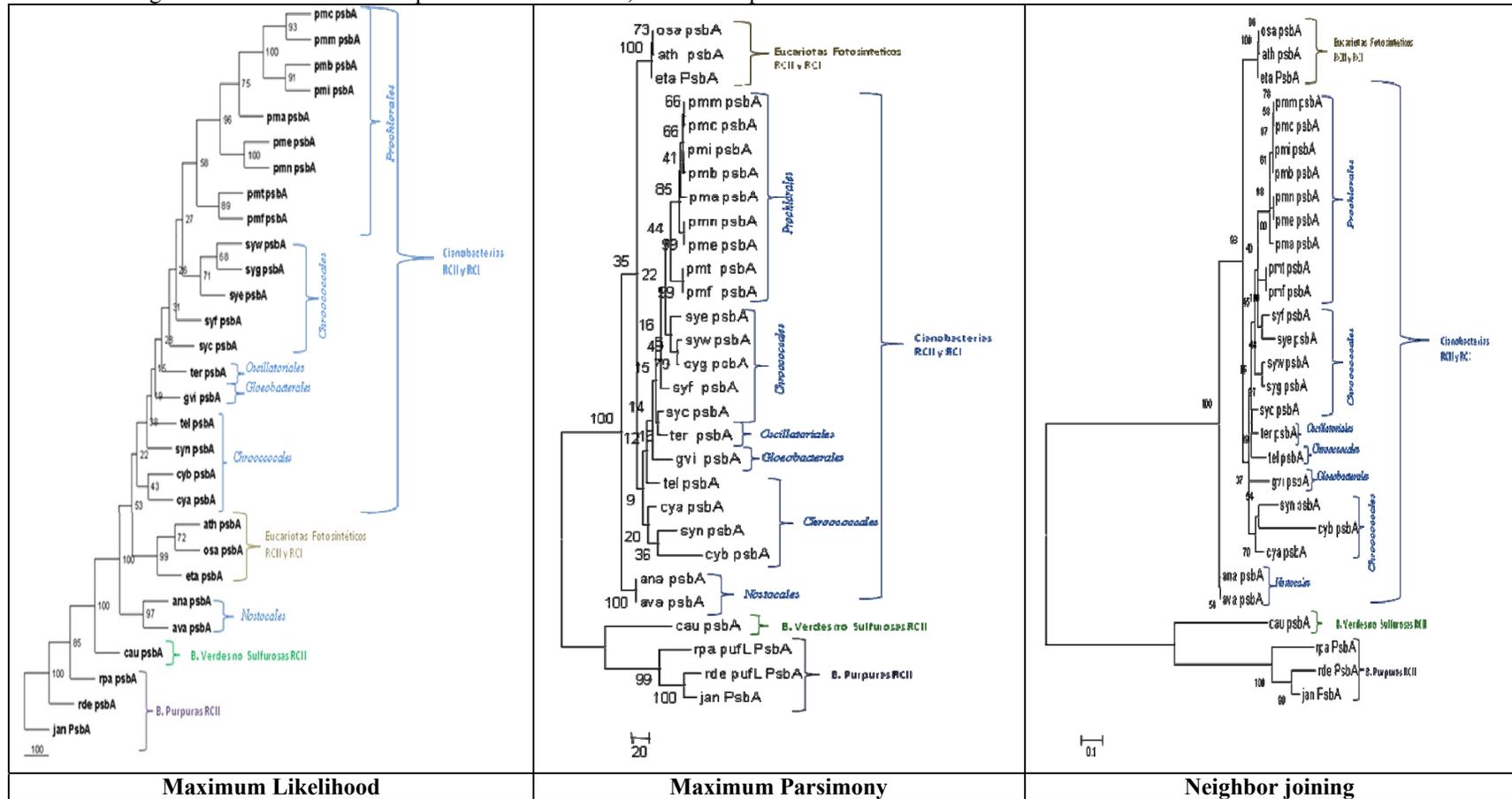
Tabla 5. Distribución de los genes comunes implicados en el fotosistema II, I, Citocromo, plastocianinas y ATP sintetasa

Producto de los genes		Plantas	Cianobacterias	B. Verdes no Sulfurosas	B. Verdes Sulfurosas	B. Purpuras	Heliobacterias
Proteínas del FSI							
Nucleo CR I p700	PsaA/PsaB	Todos	Todos		Si en cte		Si hml
Subunidades RC1	PsaC, PsaD, PsaE, PsaF, PsaL, PsaM	Todos	Todos				
Subunidades RC2	PsaI, PsaJ, PsaK	Todos	No gvi				
Proteínas del FSII							
Nucleo CR II p680	PsbA/PsbD	Todos	Todos	Si cau		Si rpa	
Subunidades RC2	PsbC, PsbE, PsbF, PsbH, PsbI, PsbJ, PsbK, PsbL, PsbM, PsbO, PsbP, PsbT, PsbW(Psb28), PsbX,PsbN,PsbZ (Ycf9), Psb27, PsbY (Ycf32)	Todos	Todos				
	PsbQ	Todos	No pmar, gvi				
Complejo de oxidación	PsbU, citocromo c550 PsbV	Todos	No pma, pmi, pme, pmn, pmm				
Complejo citocromo b6f							
Subunidades	PetB, PetC	Todos	Todos		Si cte	Si rpa	Si hml
	PetA, PetD, PetG, PetM, PetN	Todos	Todos				
	PetL	Todos	No gvi				
Transportadores de electrones hidrosolubles							
Plastocianina	PetE	Todos	No tel	Si cau			
Citocromo c6	PetJ	Todos	No pmm				
Ferredoxina	PetF	Todos	Todos				
Ferredoxin reductasa	PetH	*	*				

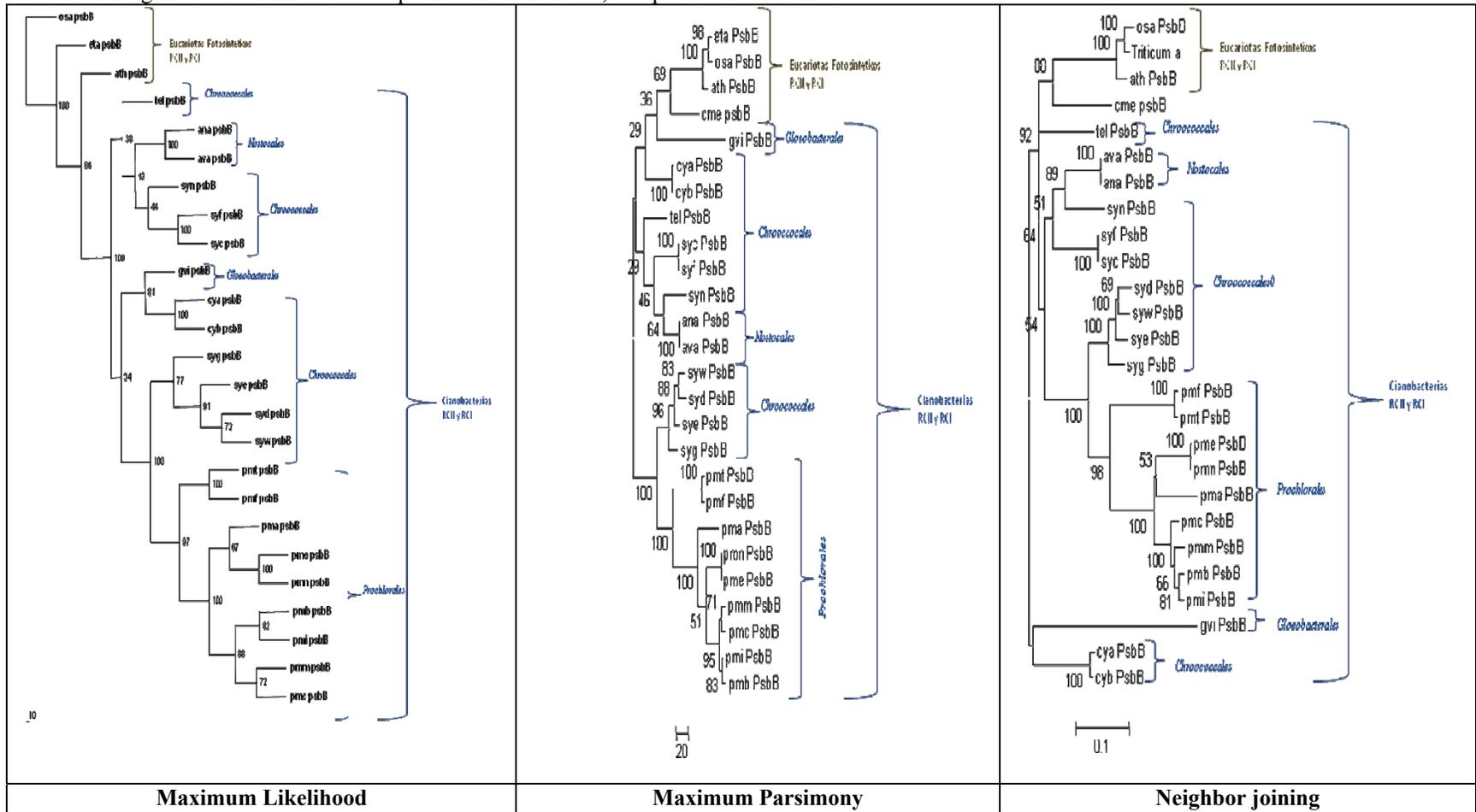
* Datos dudosos

Fotosistema II (Psb)

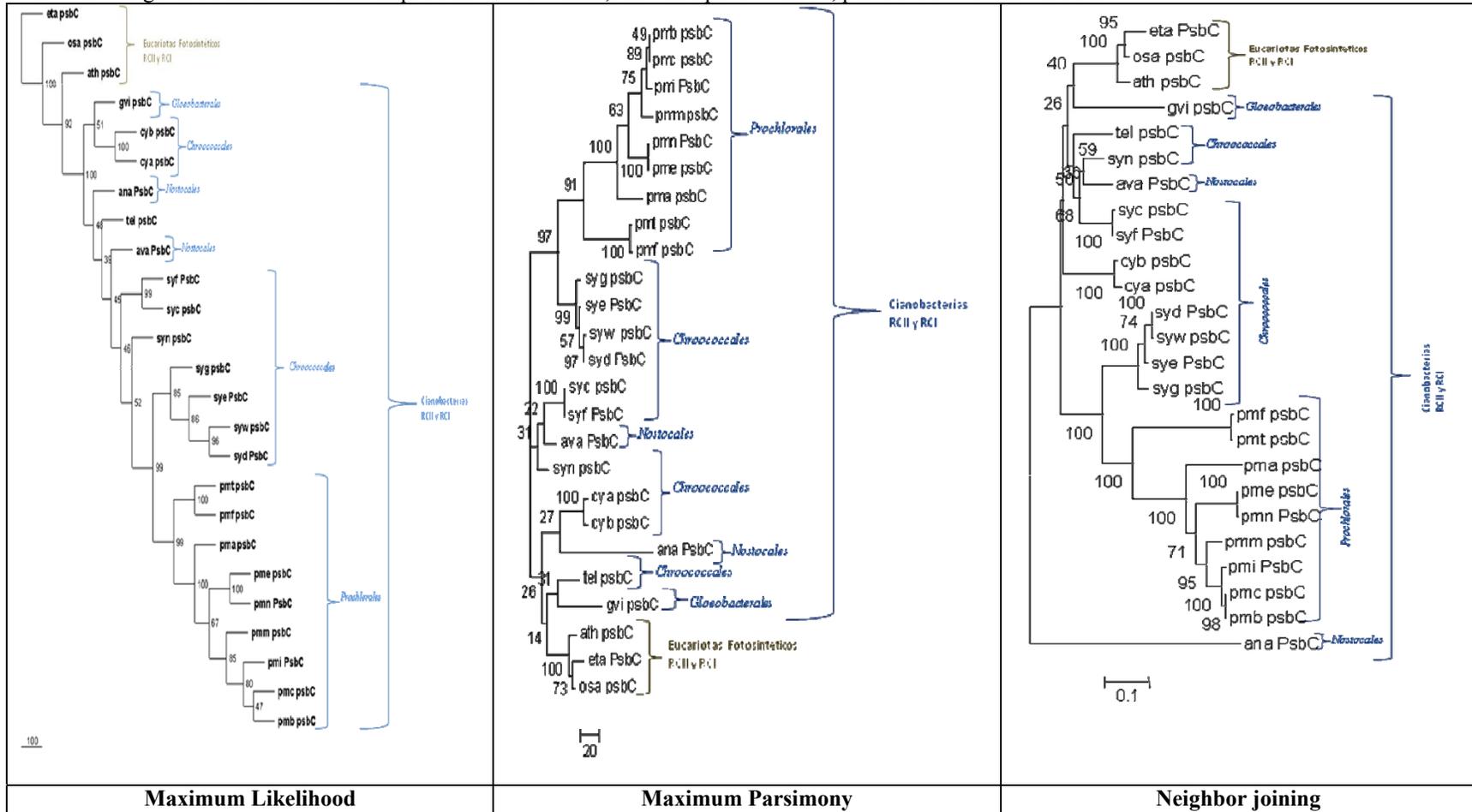
14. Árbol filogenético de aminoácidos de psbA de 29 individuos, Numero de posiciones informativas 243.



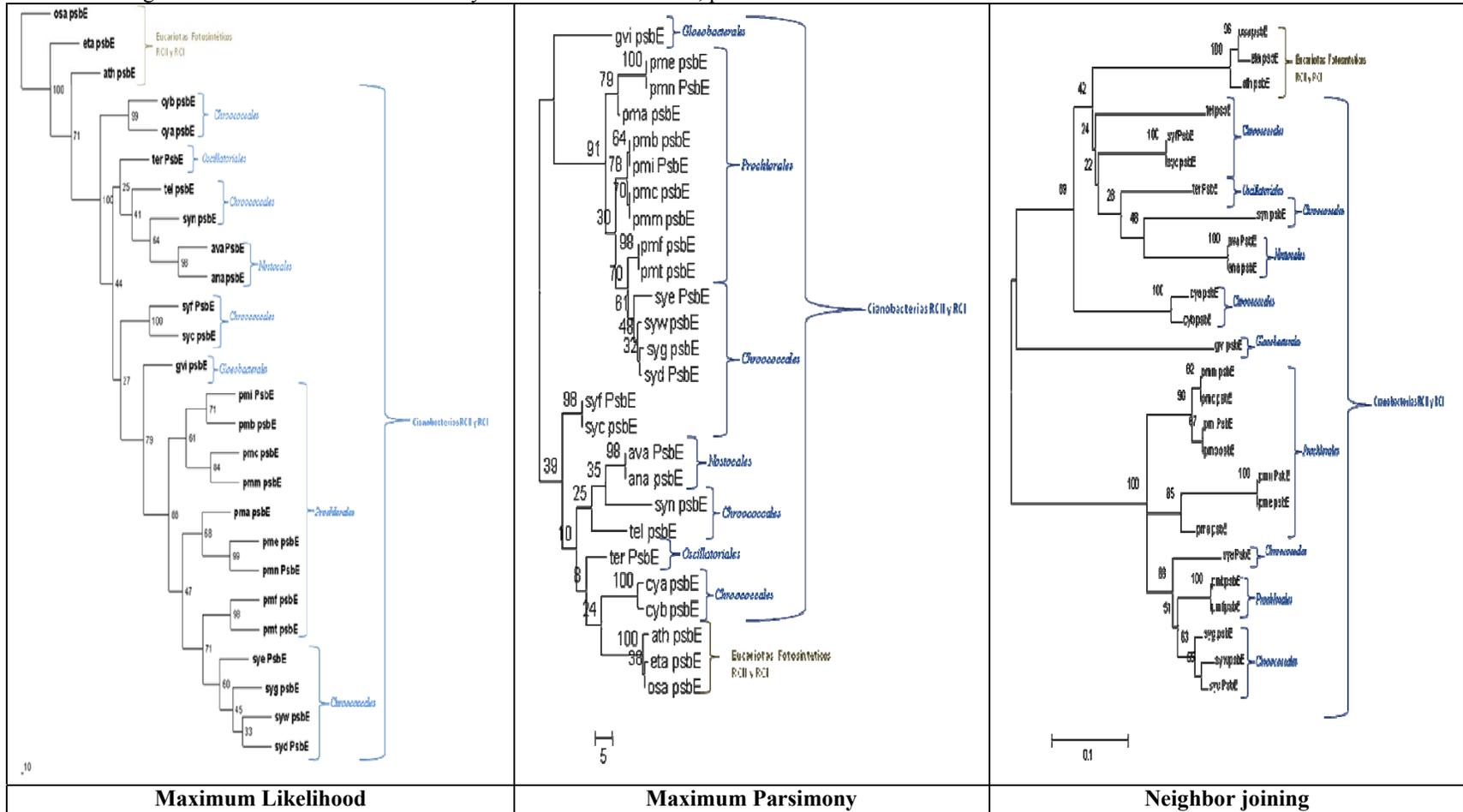
15. Árbol filogenético de aminoácidos de psbB de 26 individuos, 476 posiciones informativas.



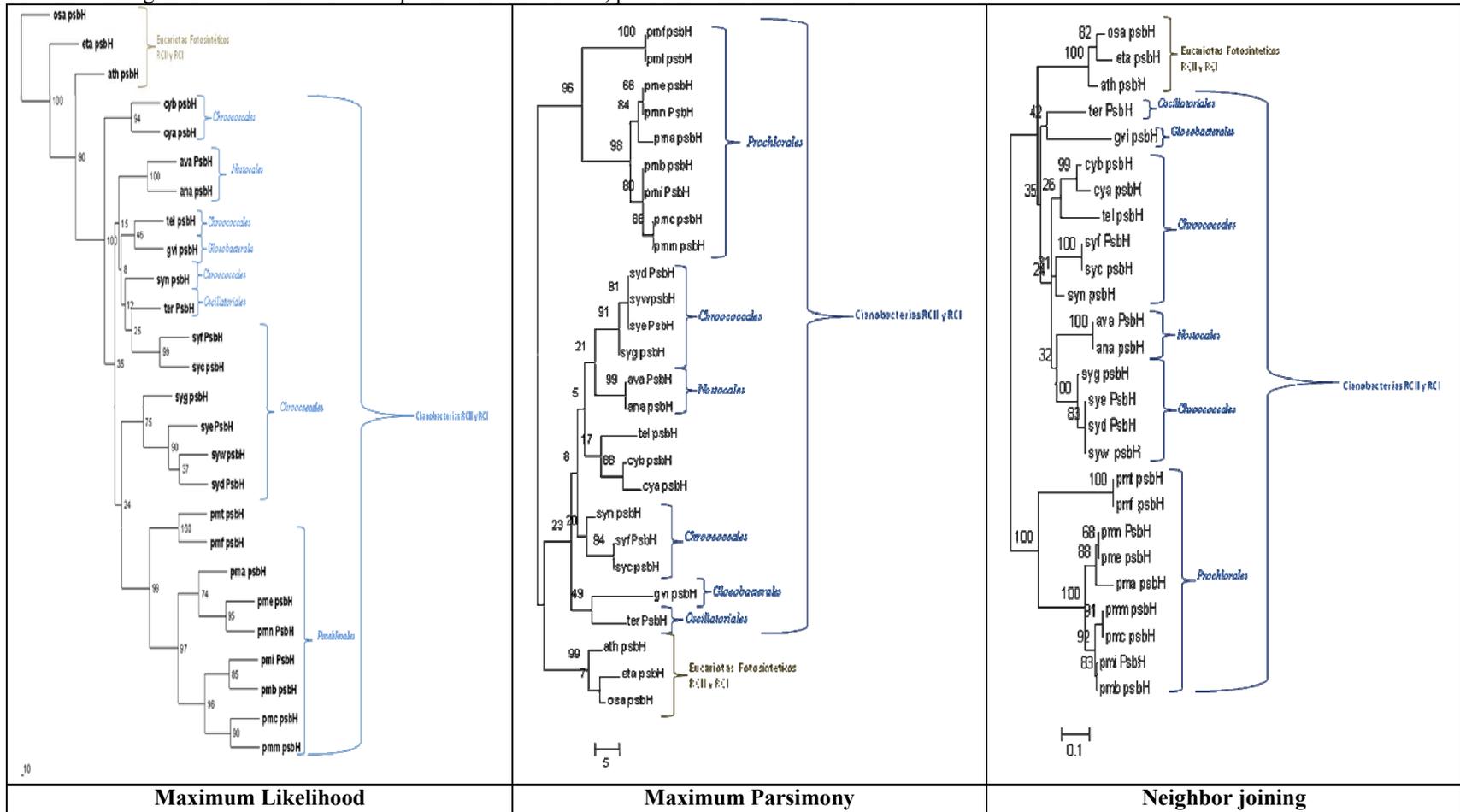
16. Árbol filogenético de aminoácidos de psbC de 25 individuos, realizado por el método, posiciones informativas 308.



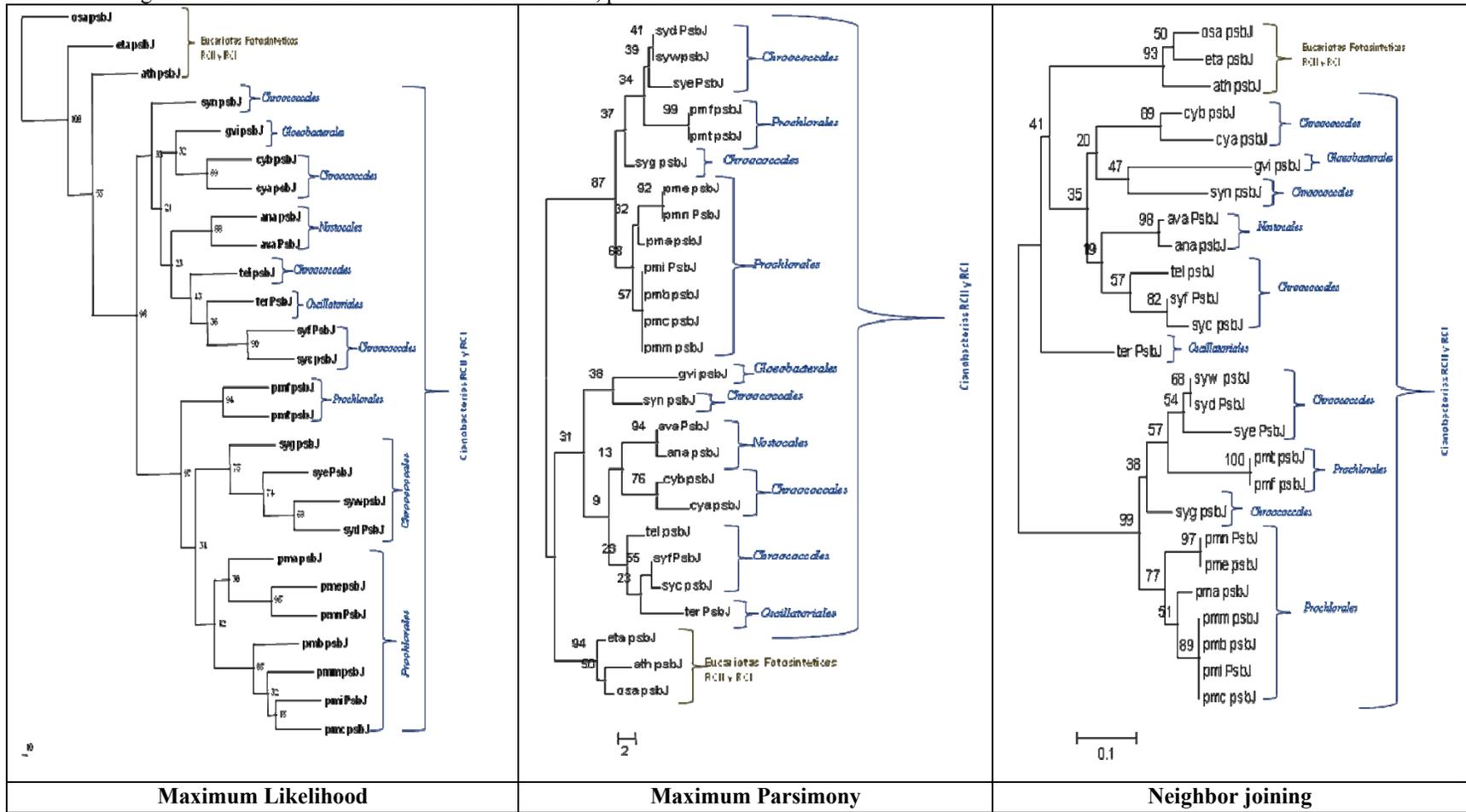
18. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbE- cyt b559 de 26 Individuos, posiciones informativas 80.



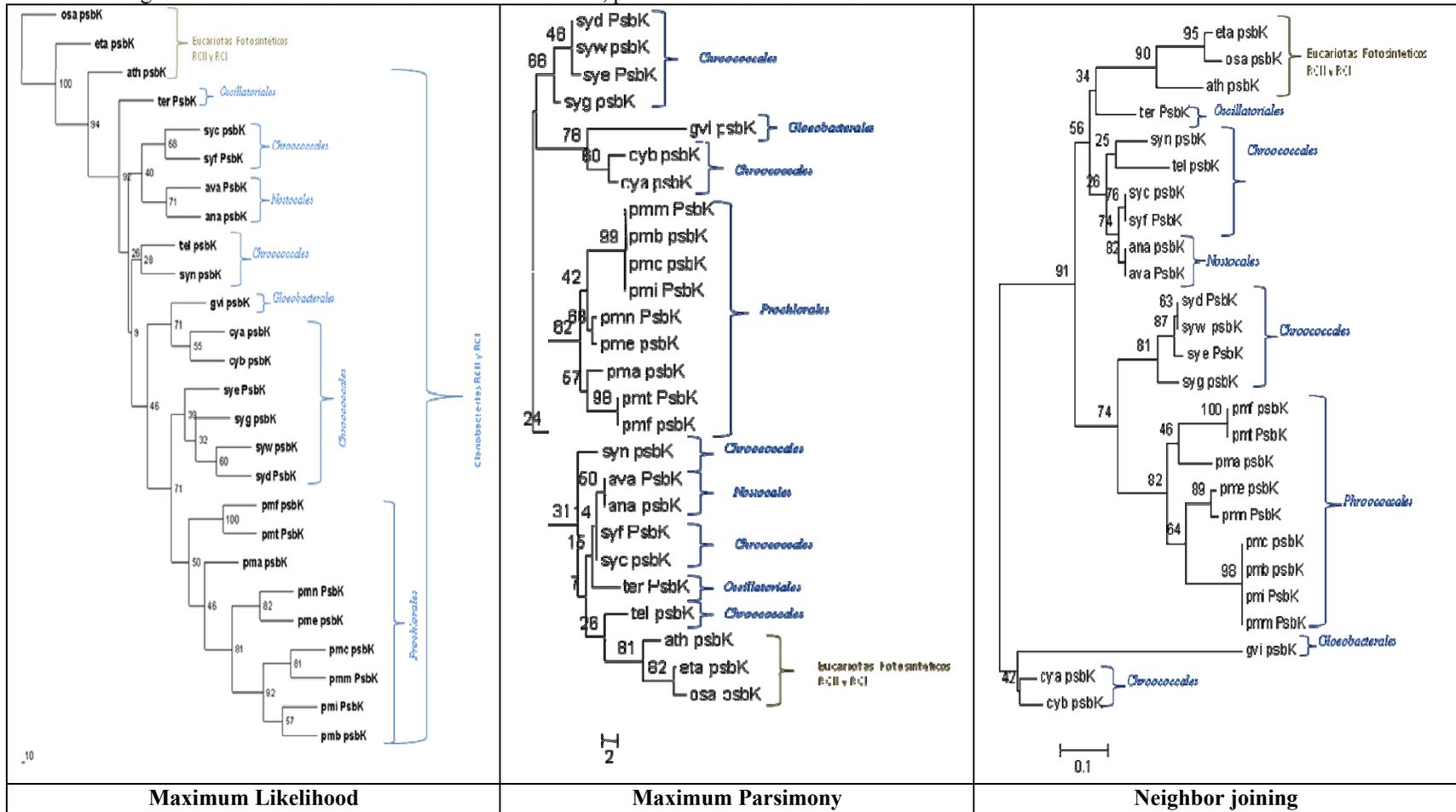
20. Árbol filogenético de aminoácidos de psbH de 26 individuos, posiciones informativas 61



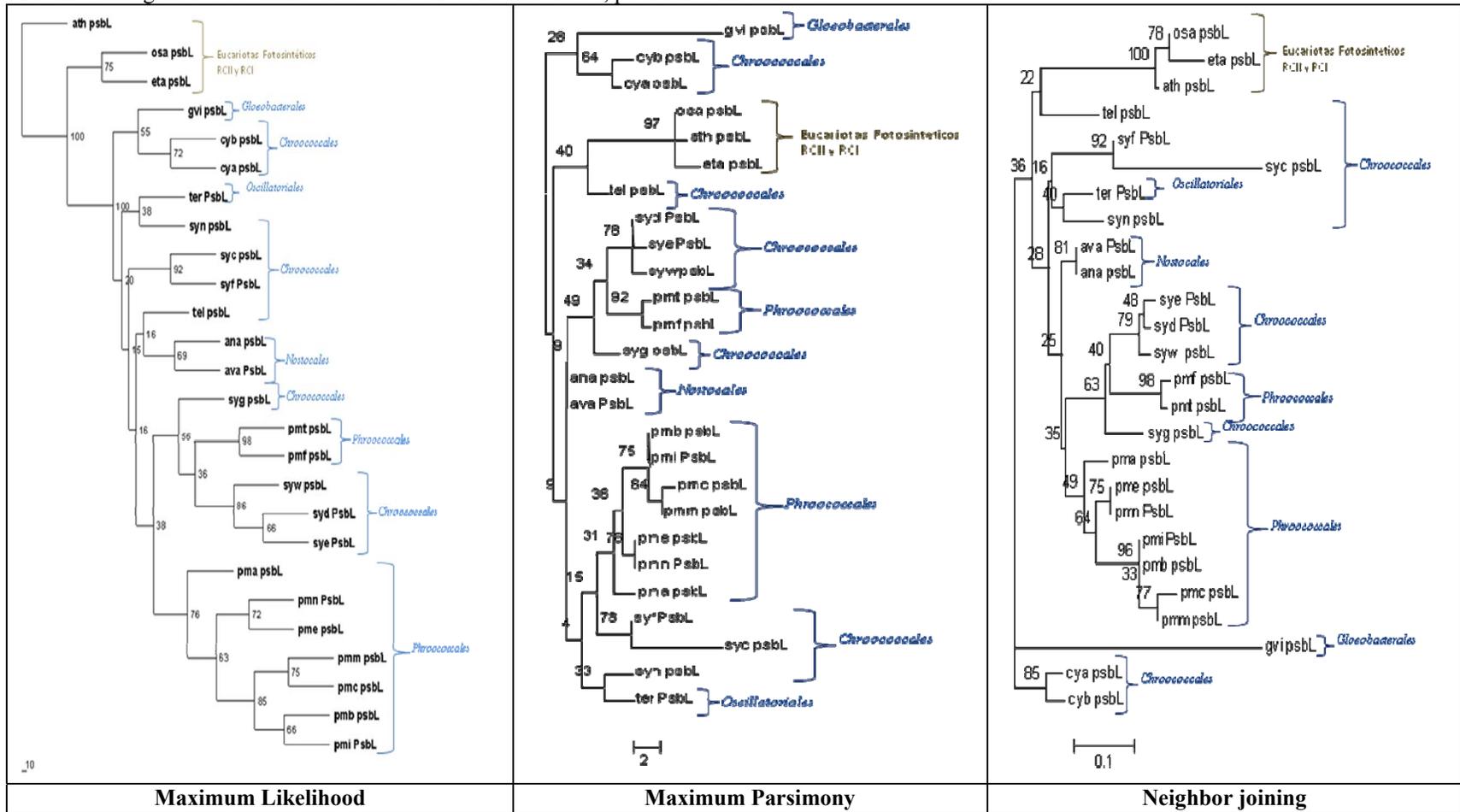
22. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbJ de 26 individuos, posiciones informativas 35.



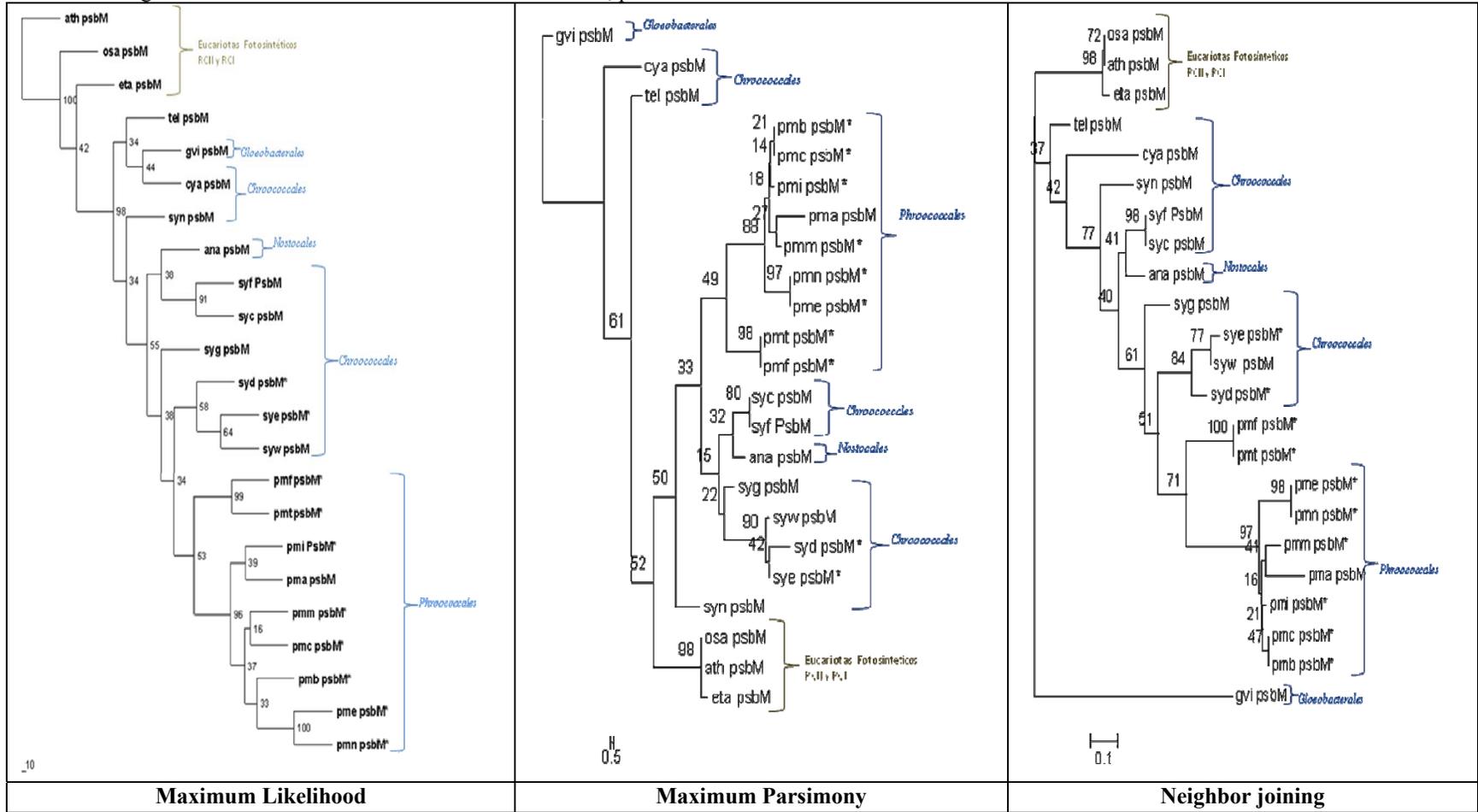
23. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbK de 26 individuos, posiciones informativas 42.



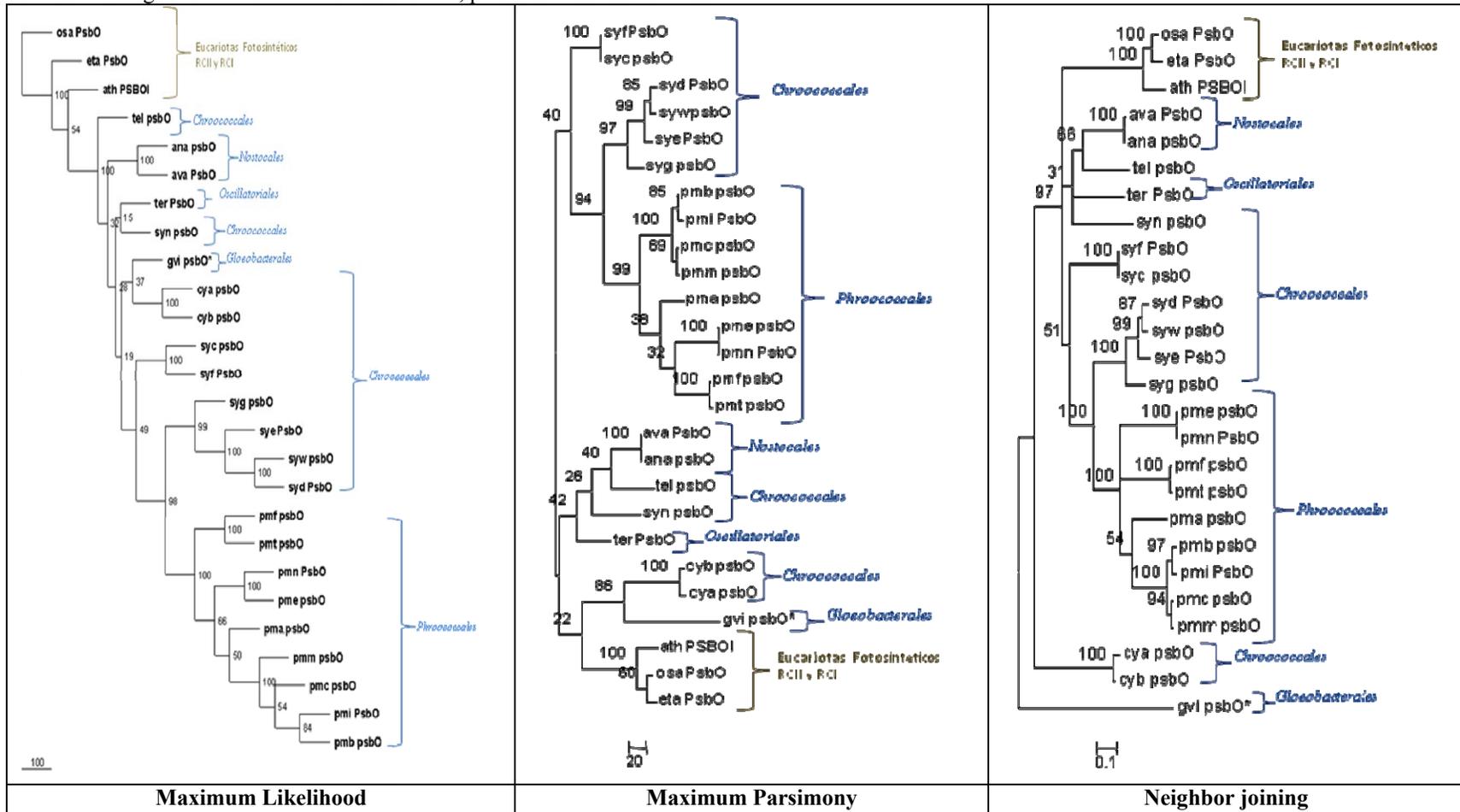
24. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbL de 26 individuos, posiciones informativas 37.



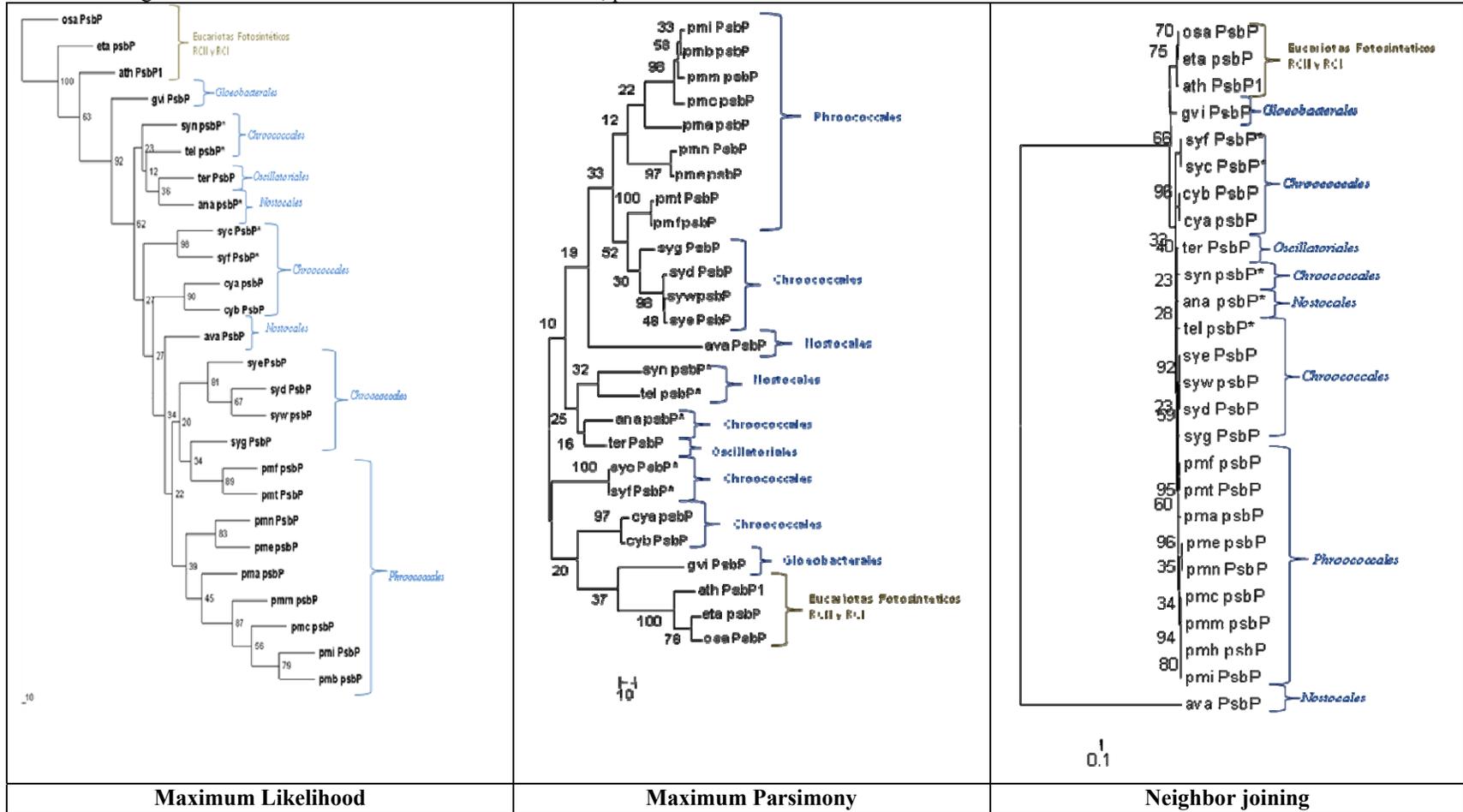
25. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbM de 23 individuos, posiciones informativas 29.



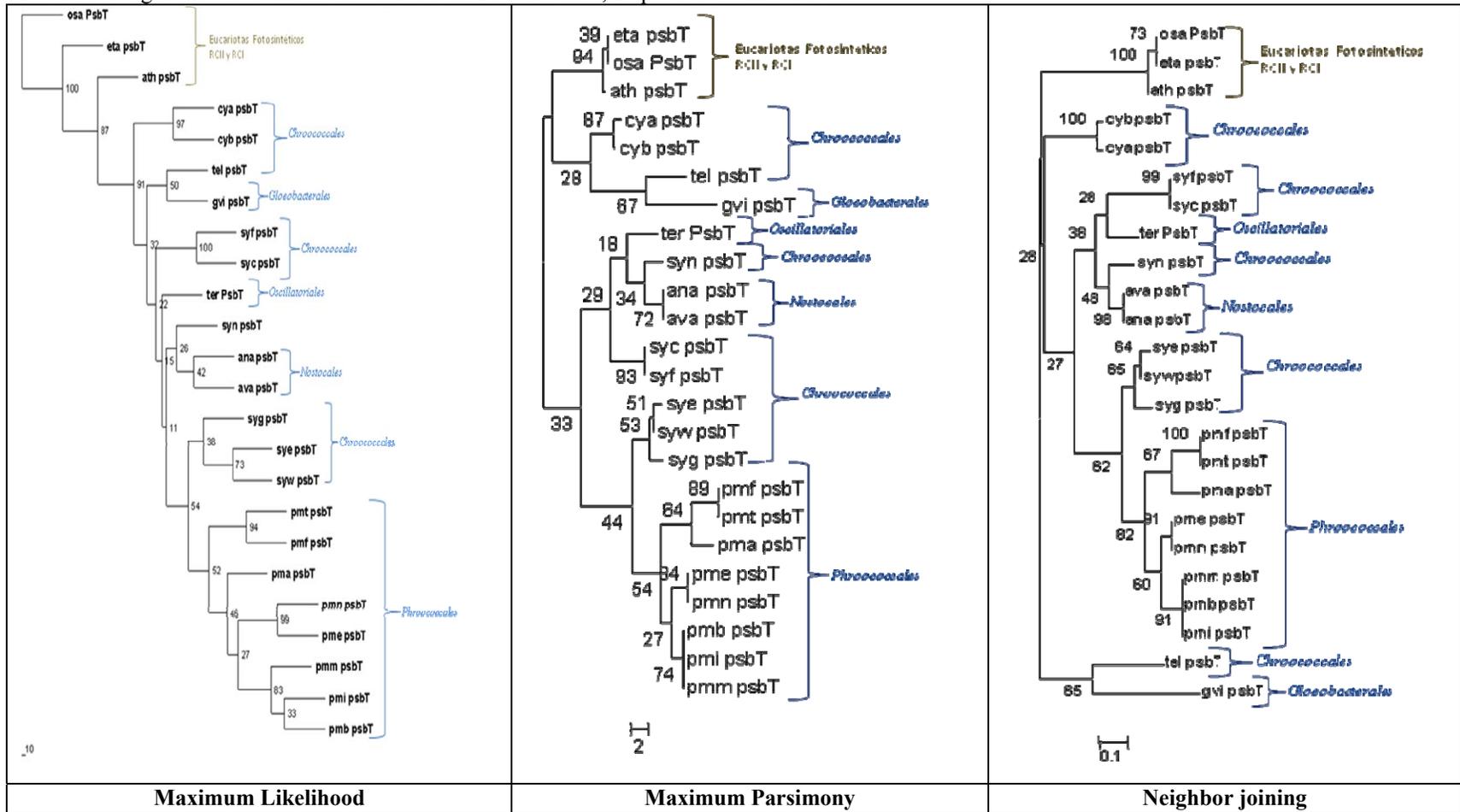
26. Árbol filogenético de PsbO de 26 individuos, posiciones informativas 215.



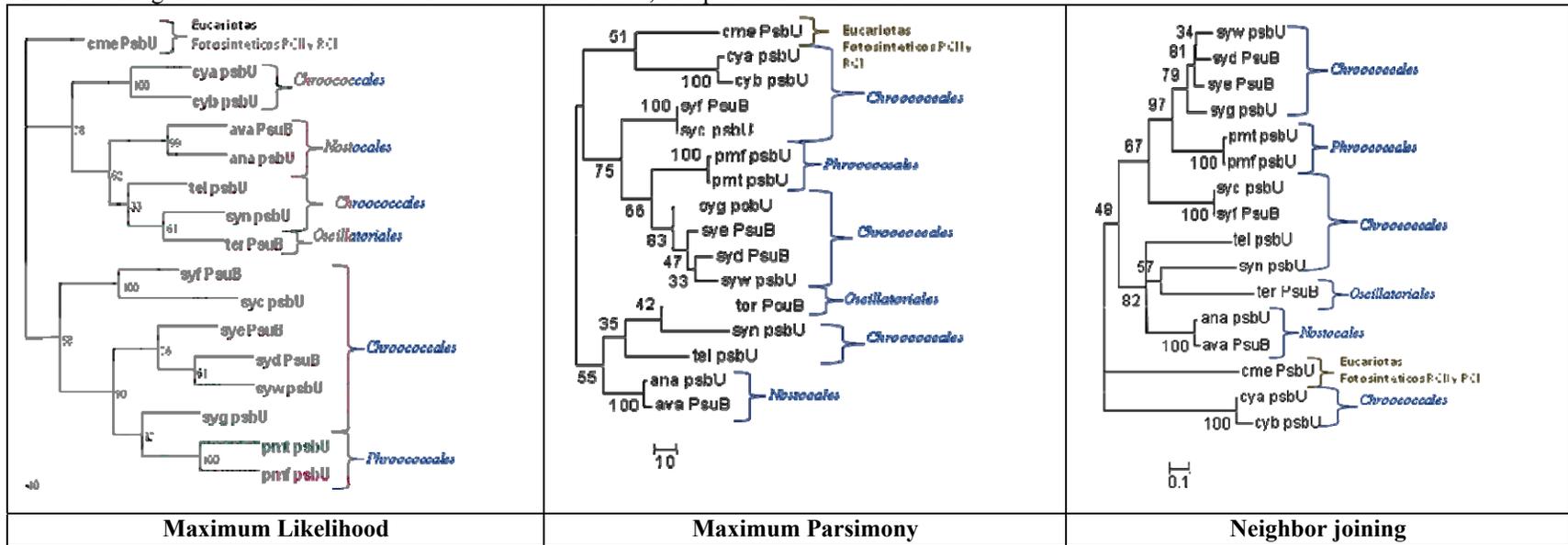
27. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbP de 26 individuos, posiciones informativas 91.



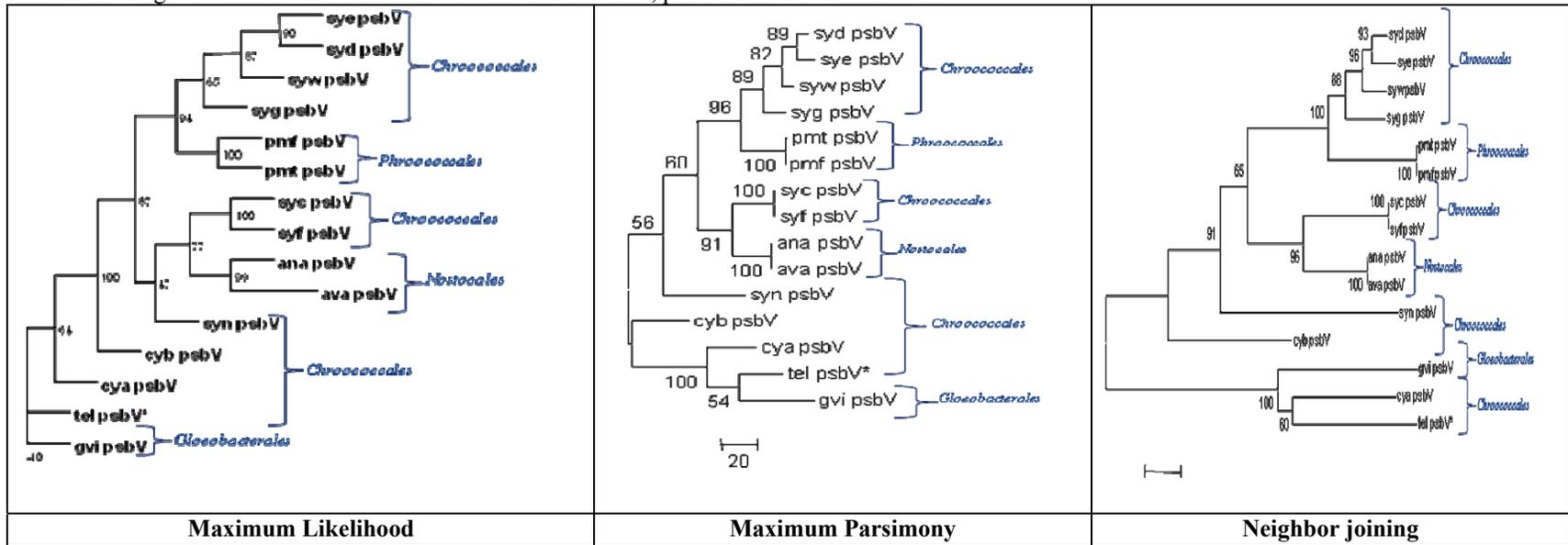
28. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbT de 24 individuos, 29 posiciones informativas.



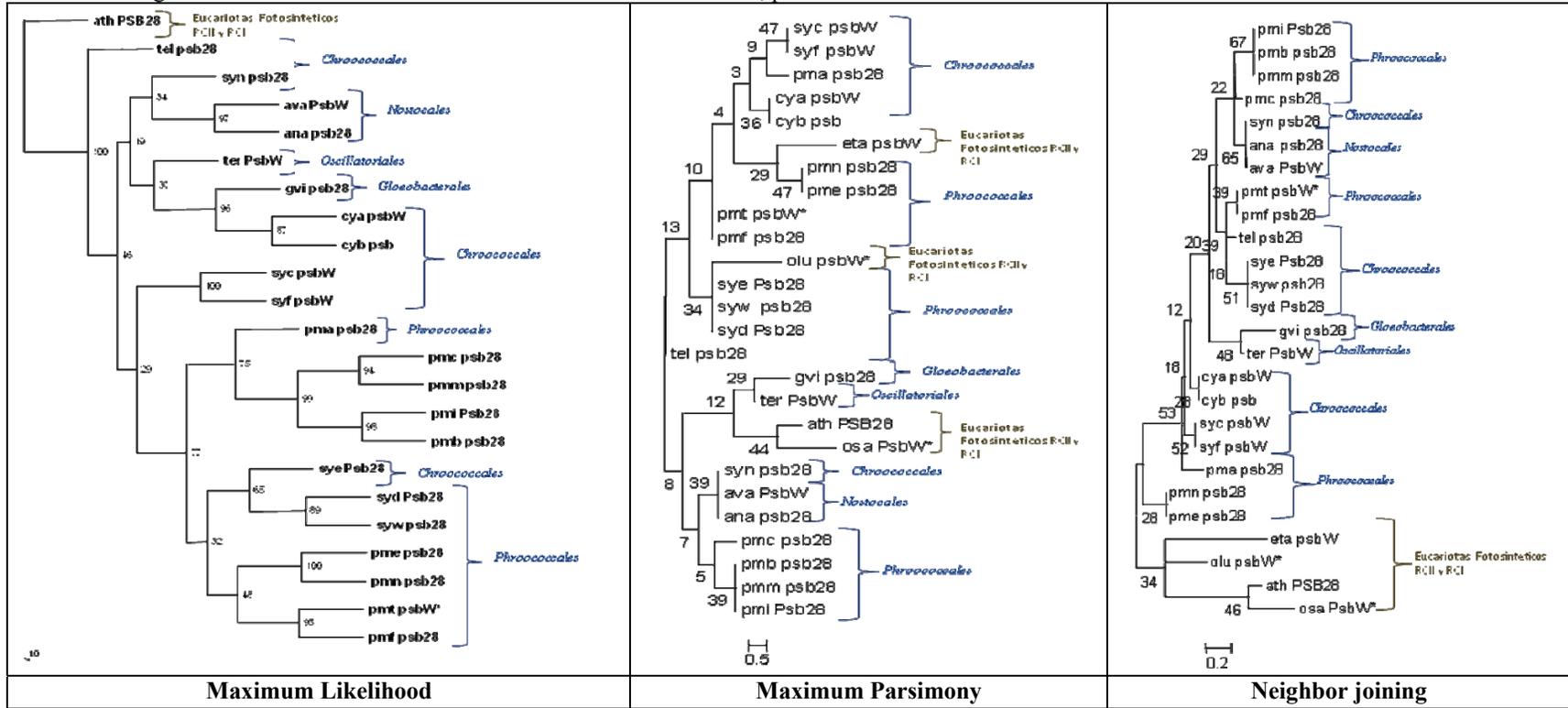
29. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbU de 16 individuos, 110 posiciones informativas.



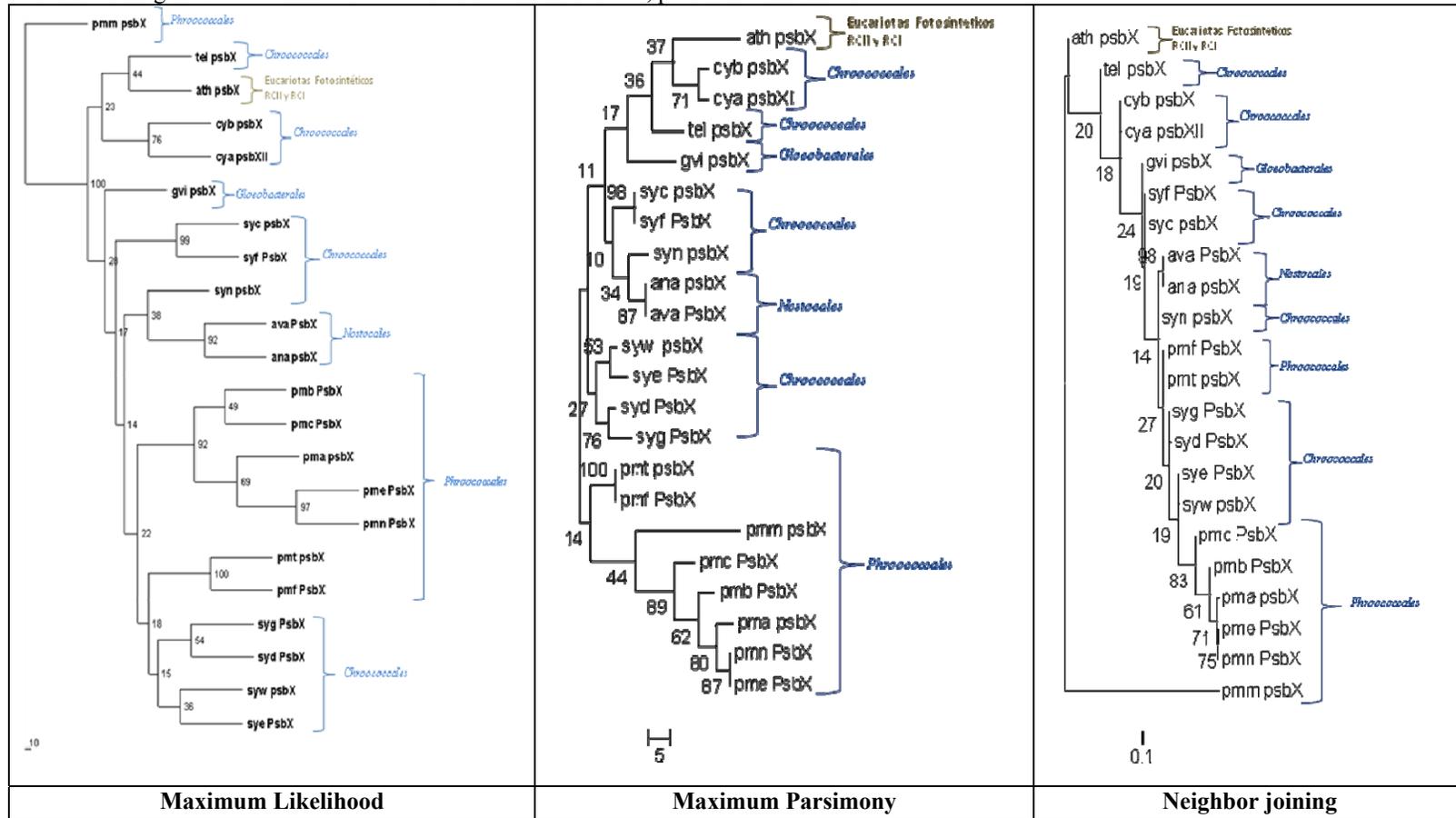
30. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbV de 15 individuos, posiciones informativas 136.



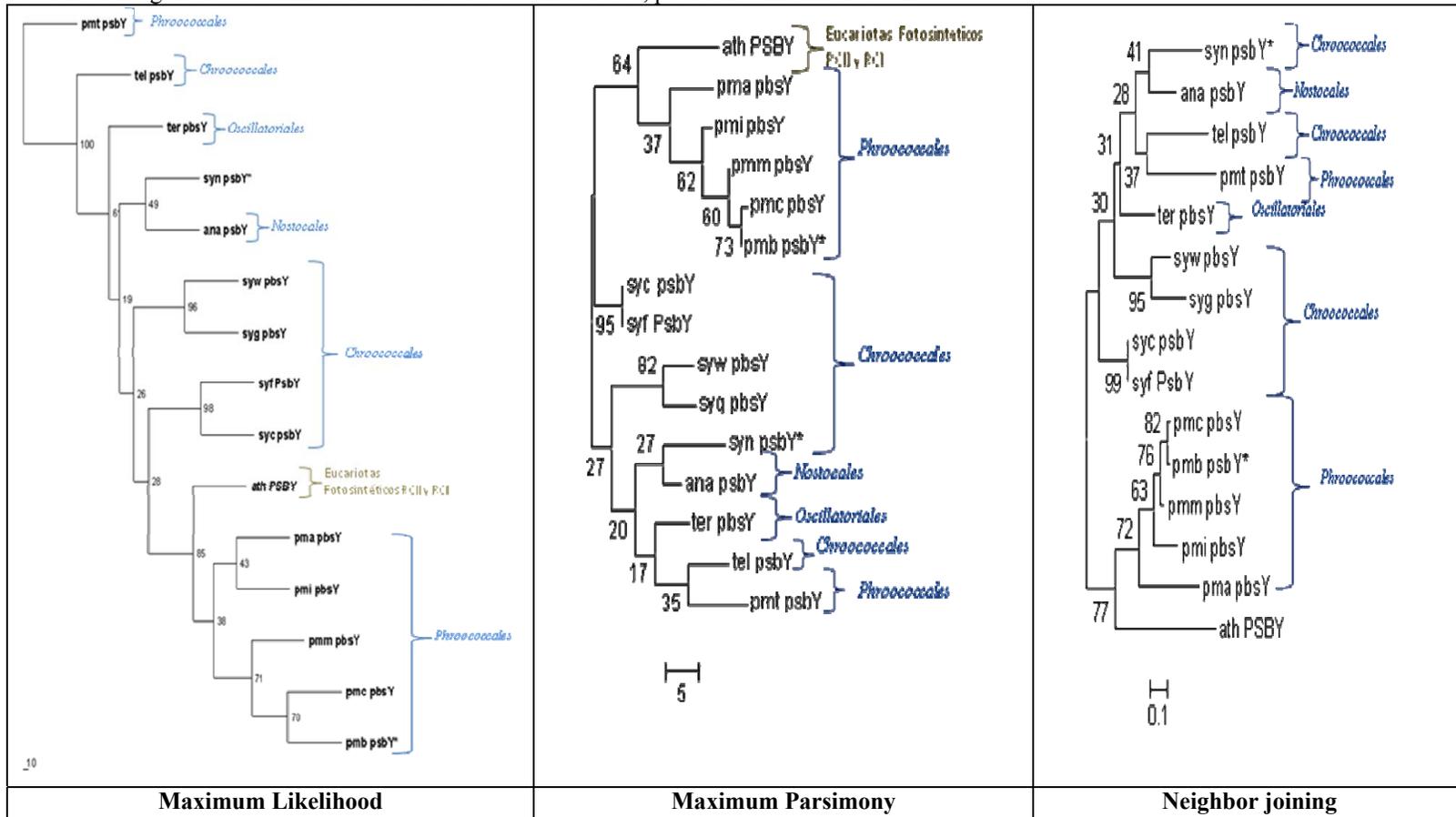
31. Árbol filogenético de aminoácidos de Psb28 – “PsbW” de 23 individuos, posiciones informativas 95.



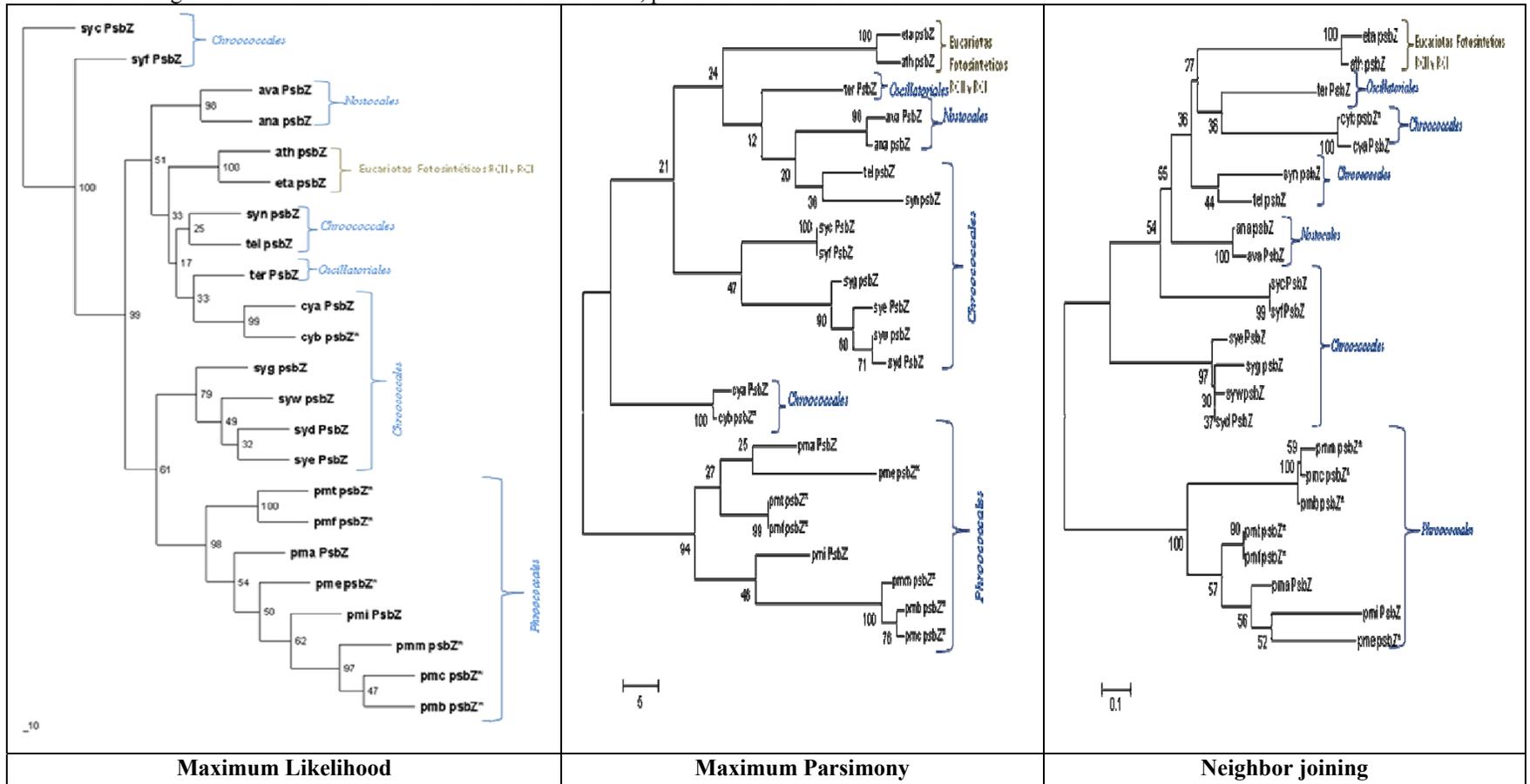
32. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbX de 22 individuos, posiciones informativas 36.



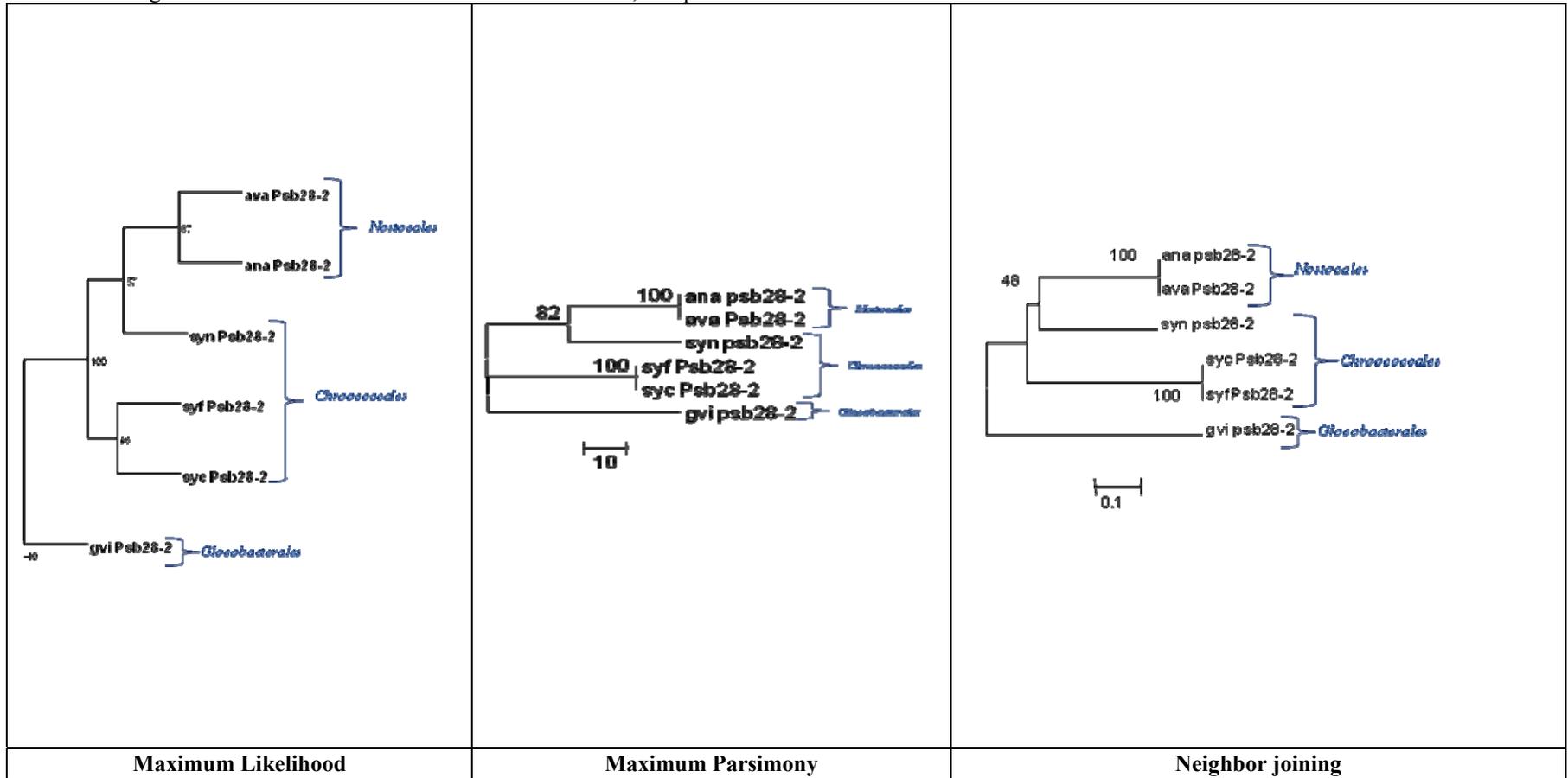
33. Árbol filogenético de aminoácidos de PsbY de 15 individuos, posiciones informativas 32.



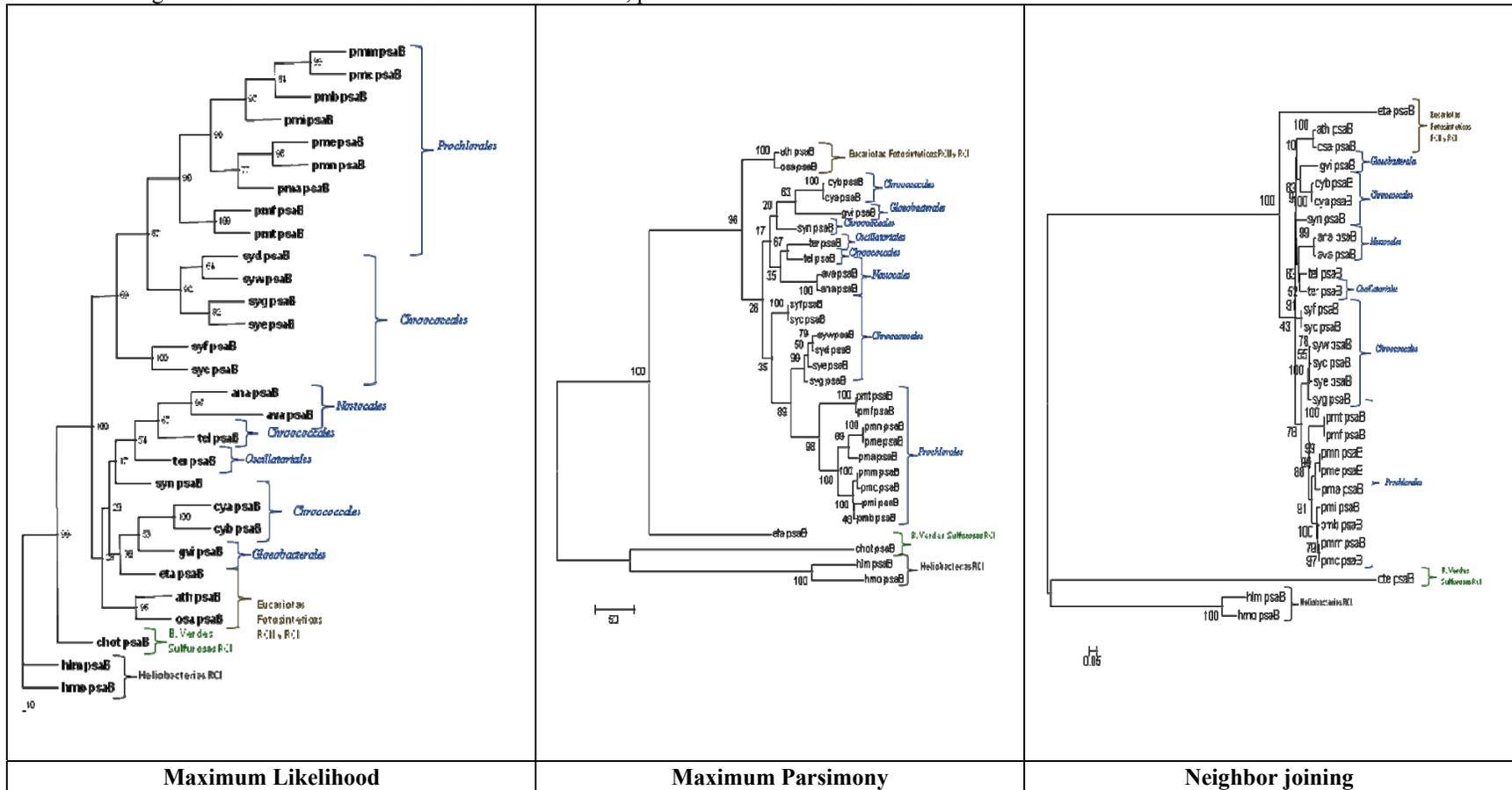
34. Árboles Filogenético de aminoácidos de PsbZ de 23 individuos, posiciones informativas 61.



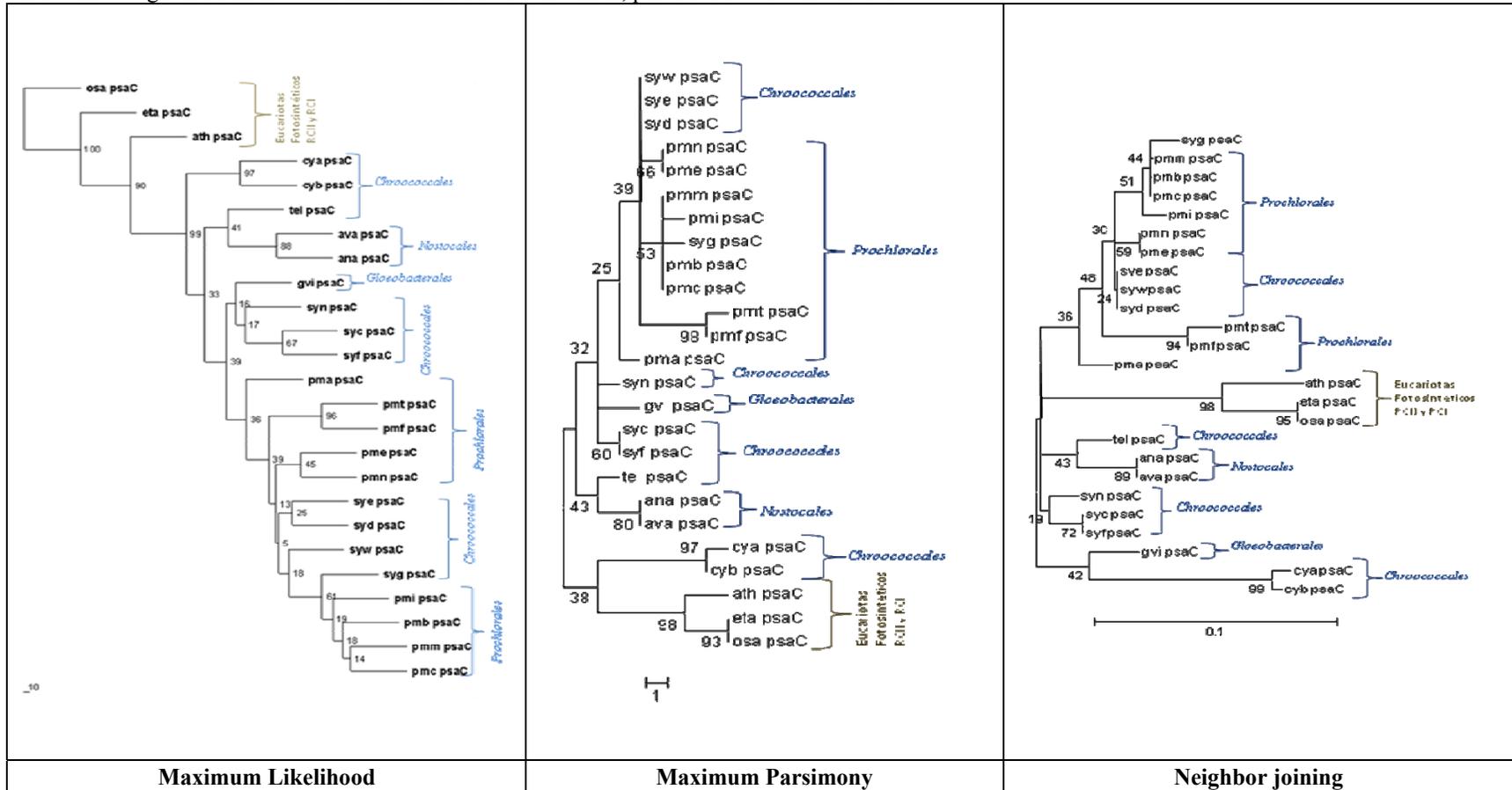
36. Árbol filogenético de aminoácidos de Psb28-2 de 6 individuos, 112 posiciones informativas.



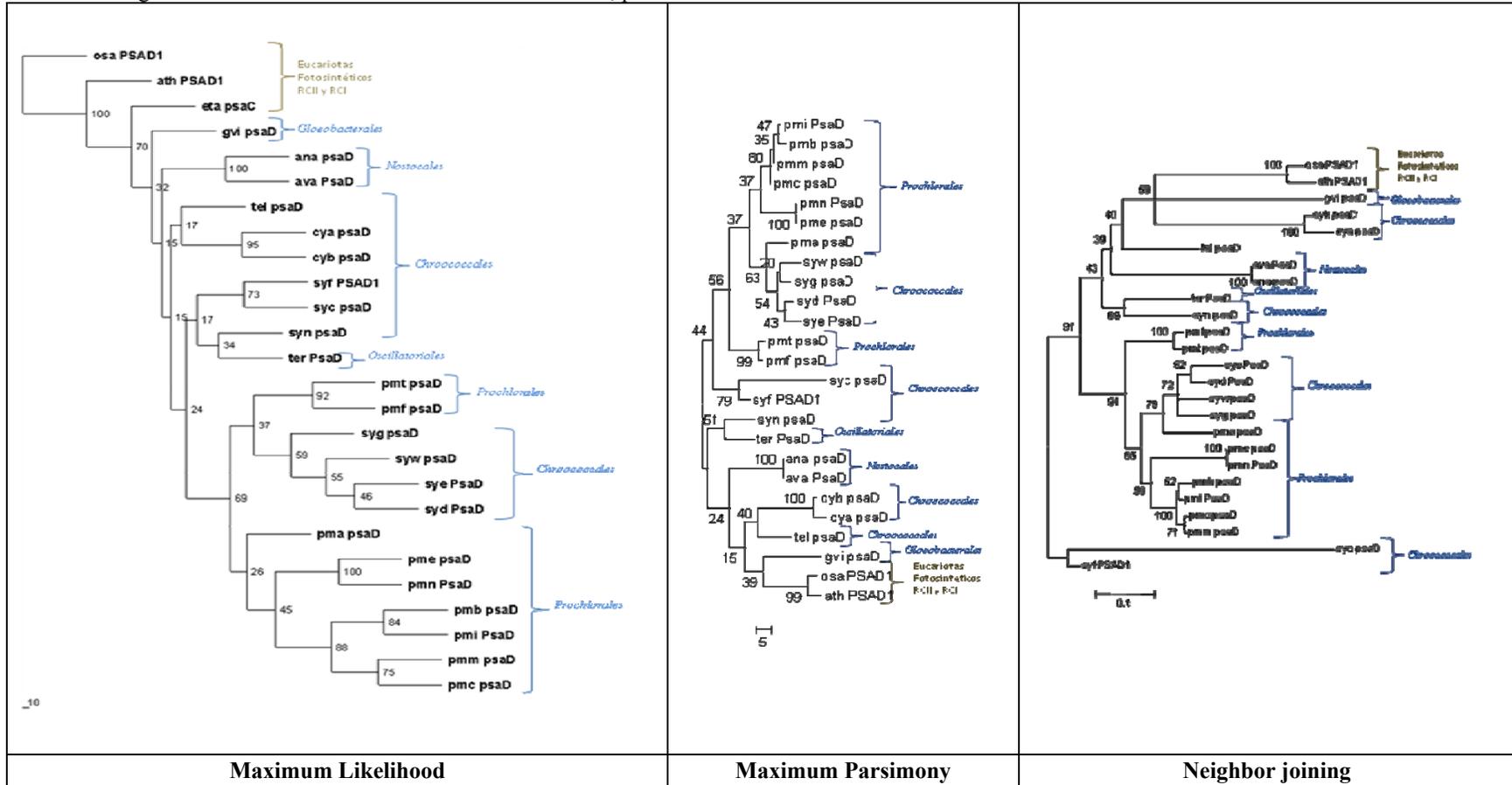
38. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaB de 29 individuos, posiciones informativas 552.



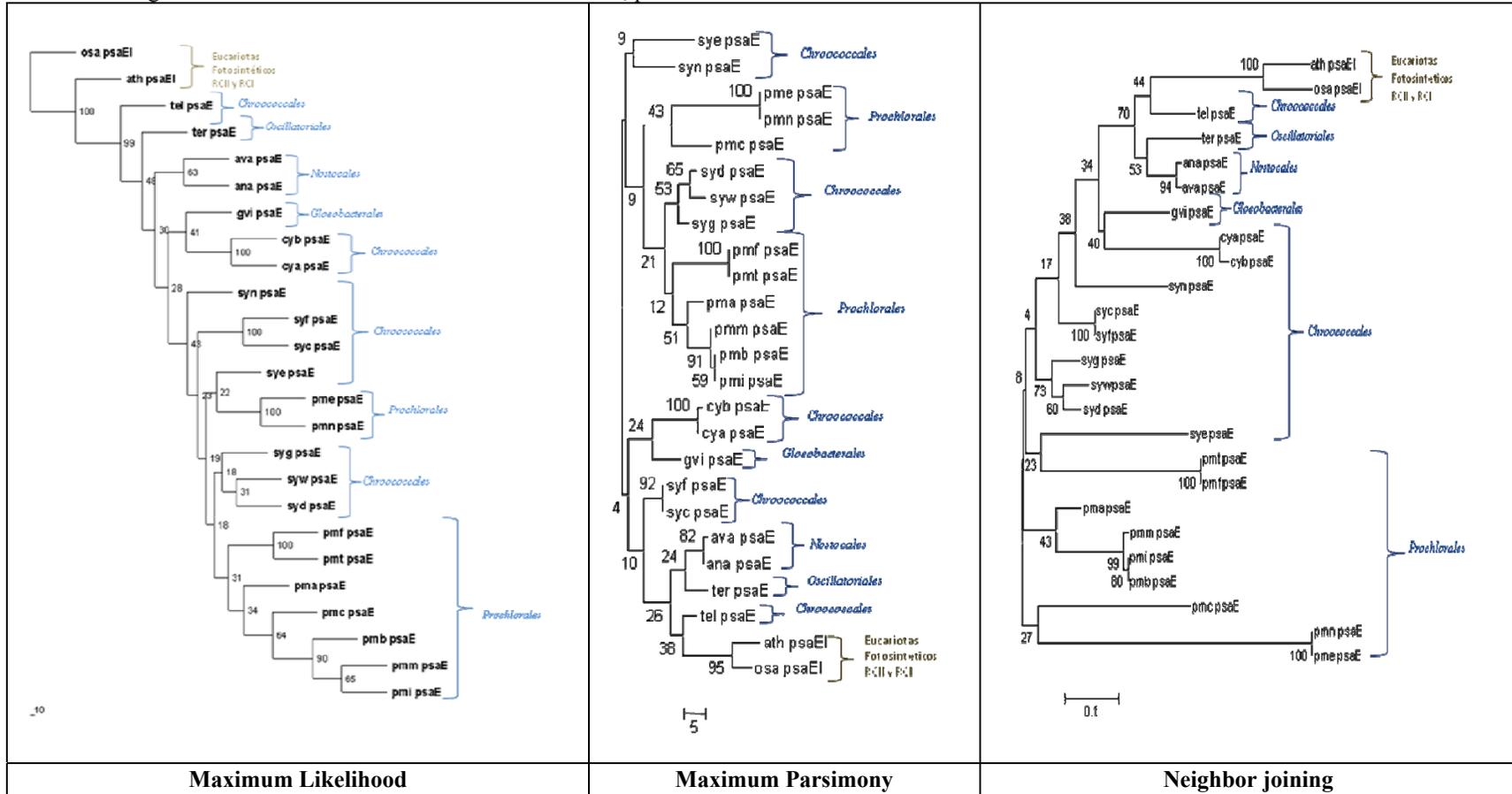
39. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaC de 25 individuos, posiciones informativas 81.



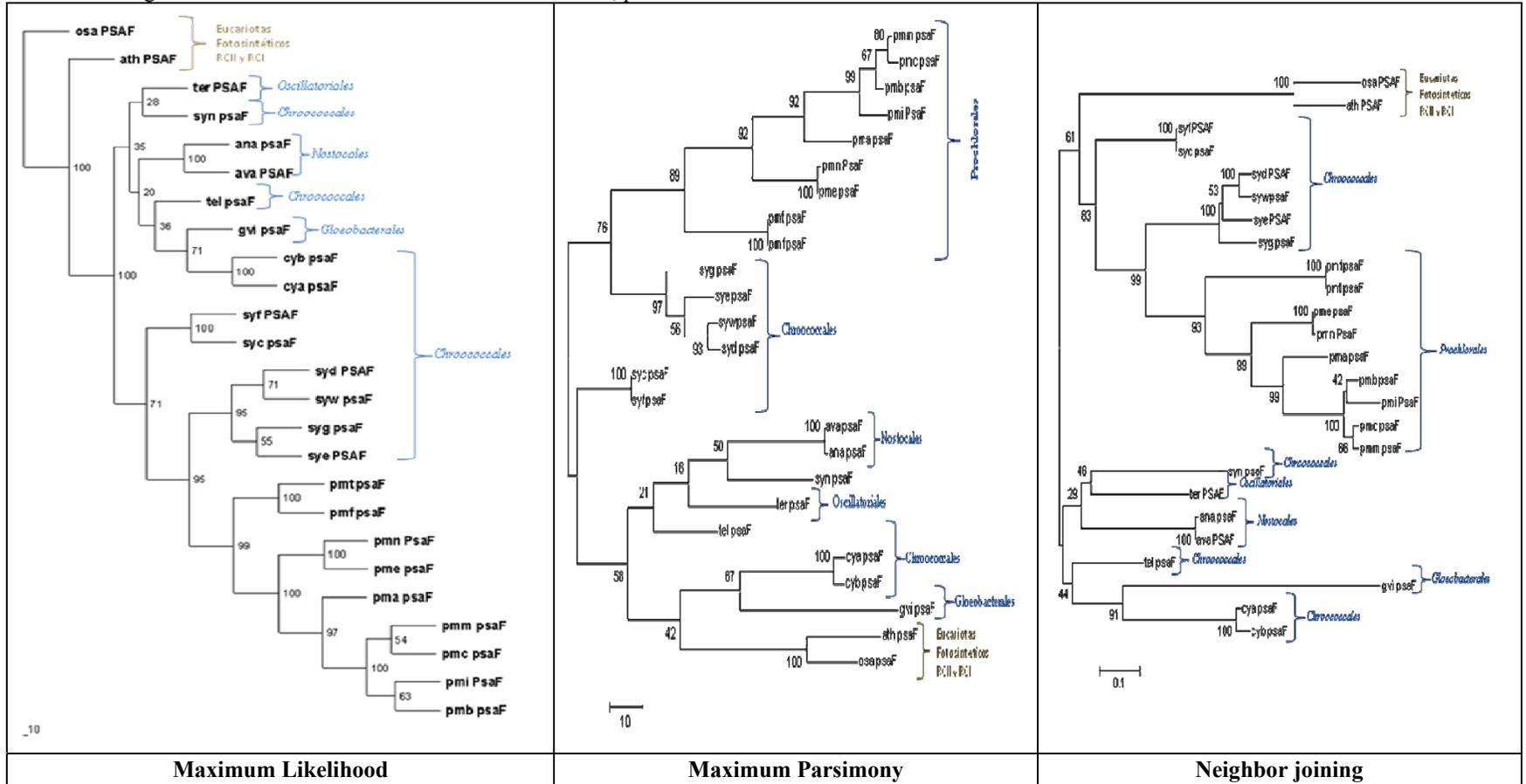
40.Árbol filogenético de aminoácidos de PsaD de 26 individuos, posiciones informativas 58.



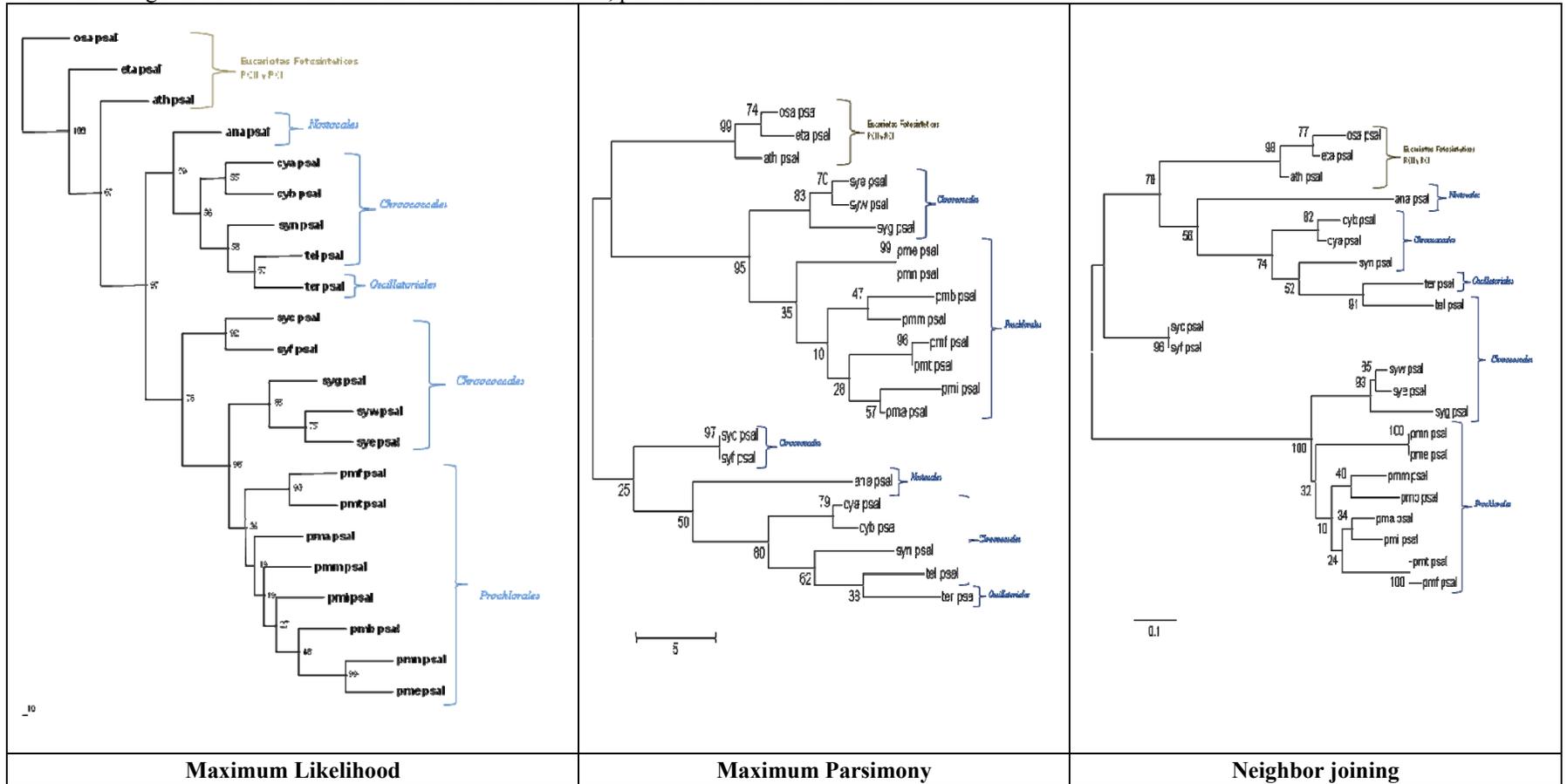
41. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaE de 25 individuos, posiciones informativas 58.



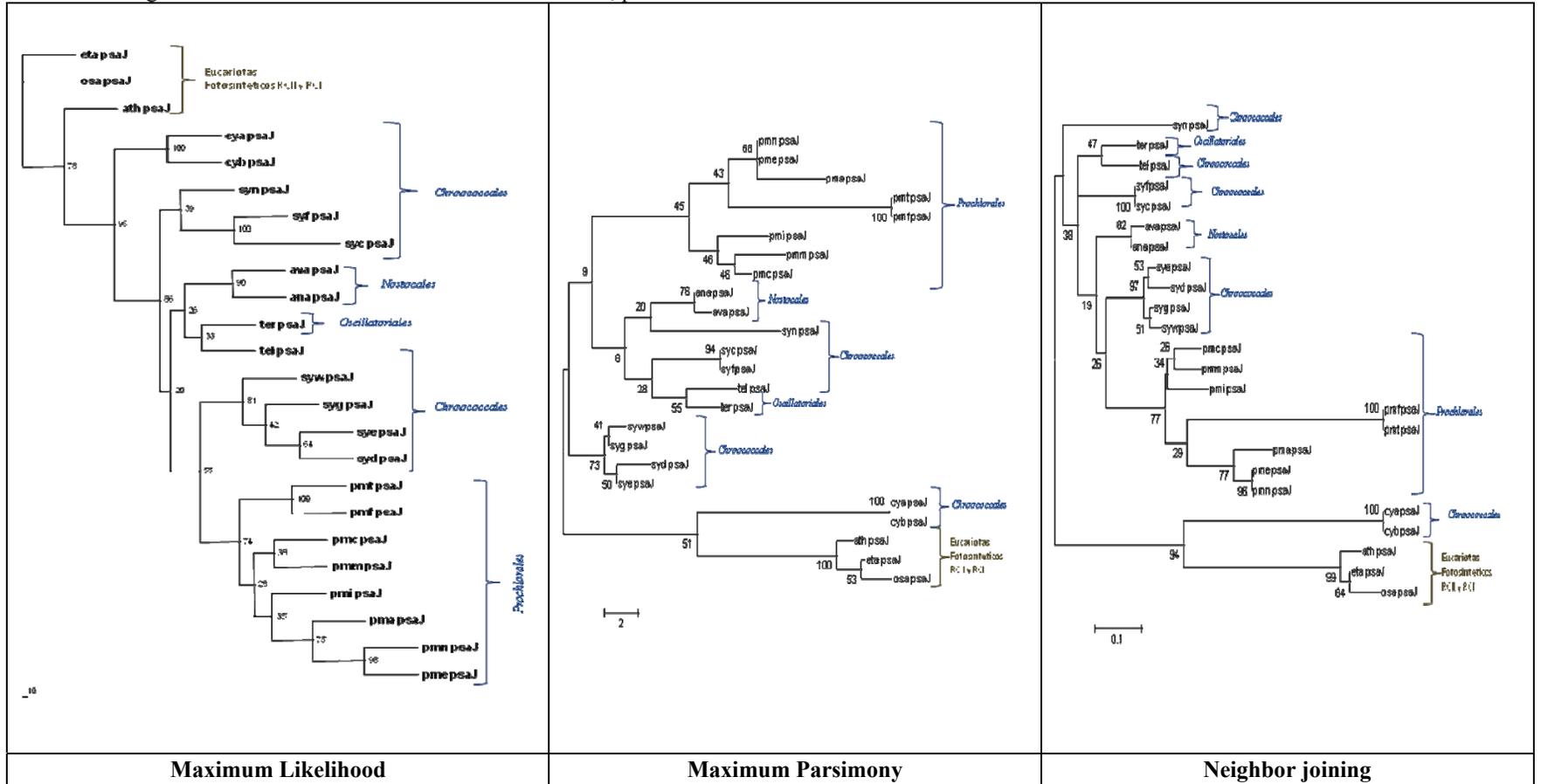
42. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaF de 25 individuos, posiciones informativas 142.



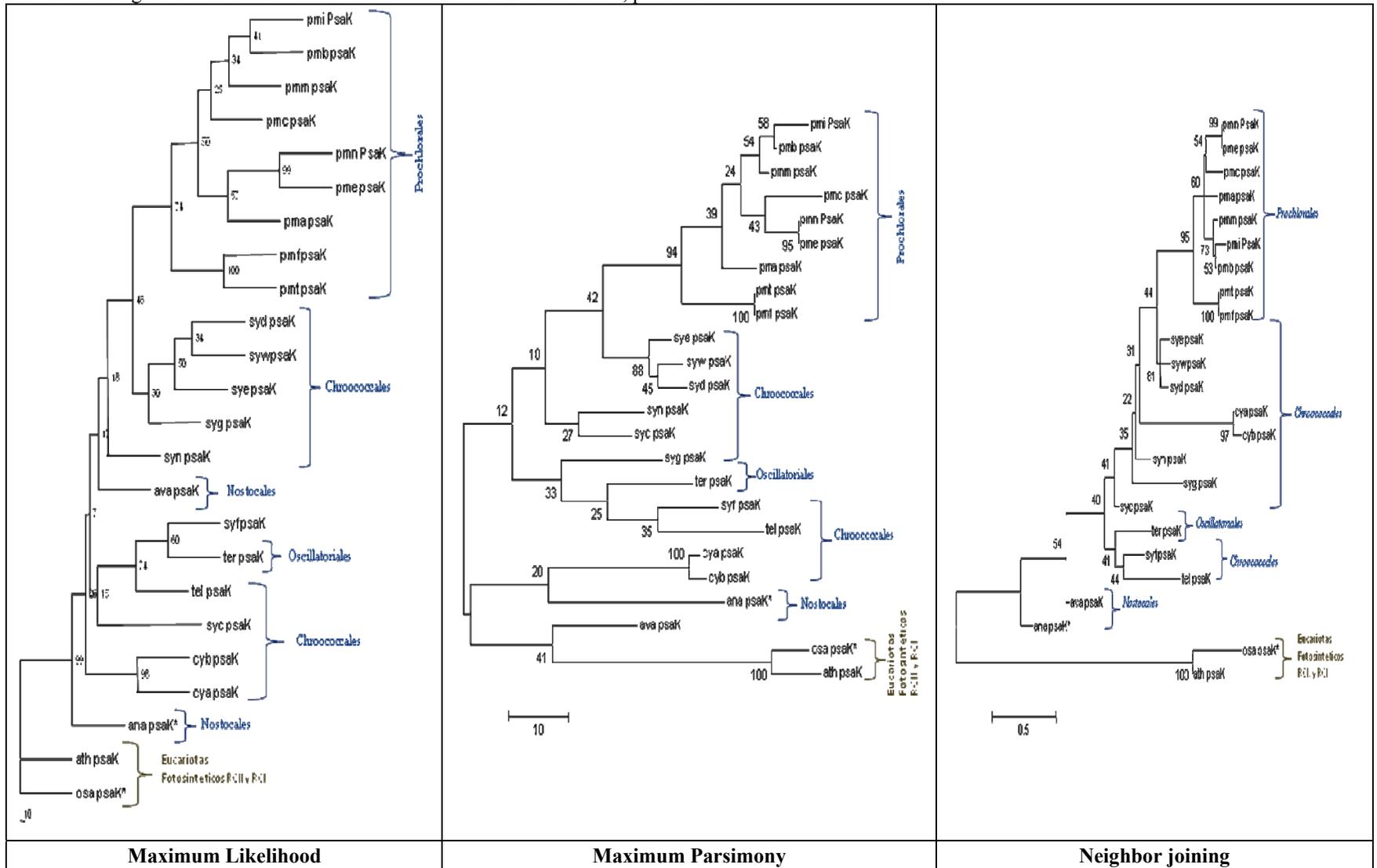
43. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaI de 25 individuos, posiciones informativas 67.



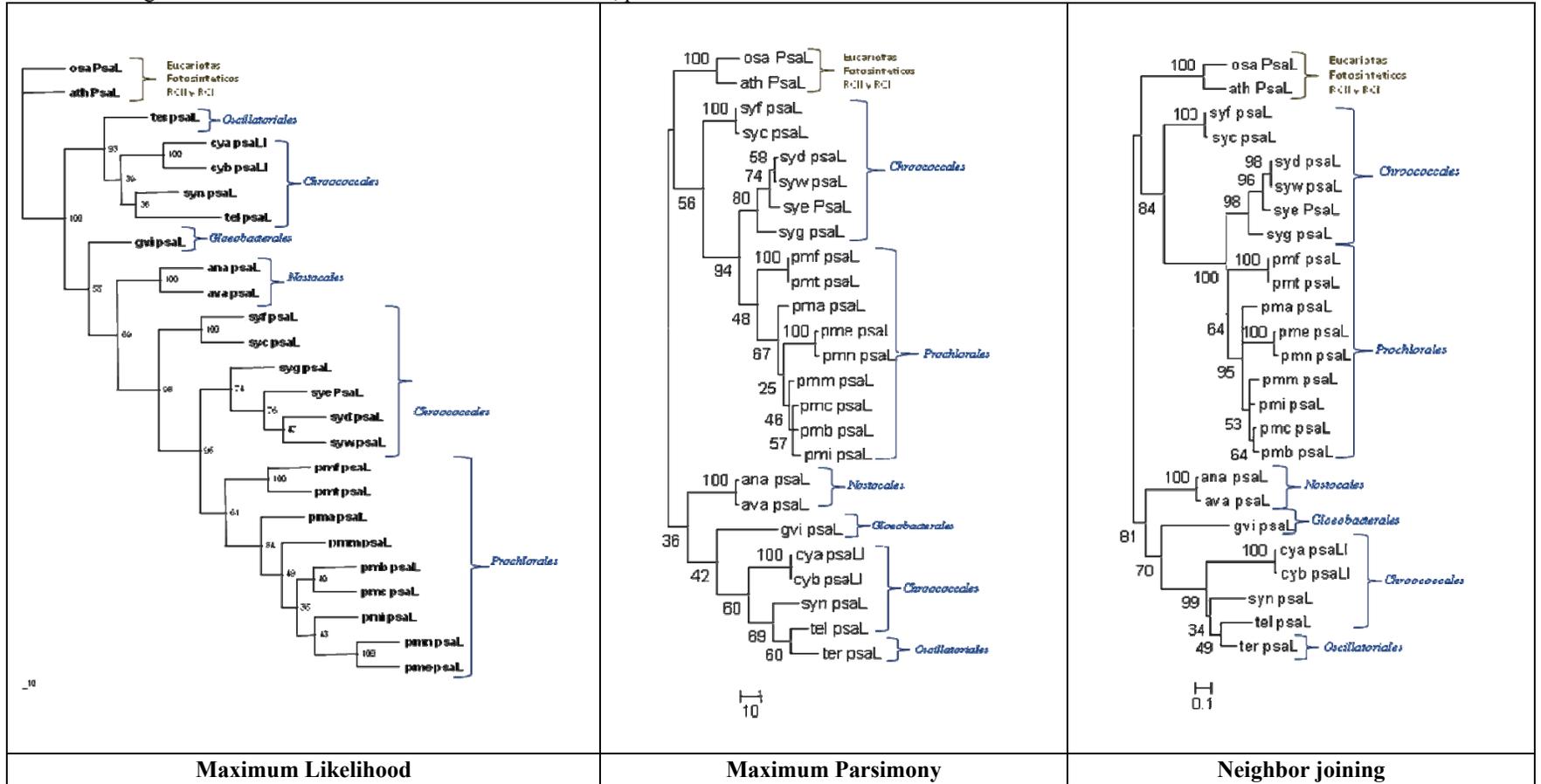
44. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaJ de 24 individuos, posiciones informativas 36.



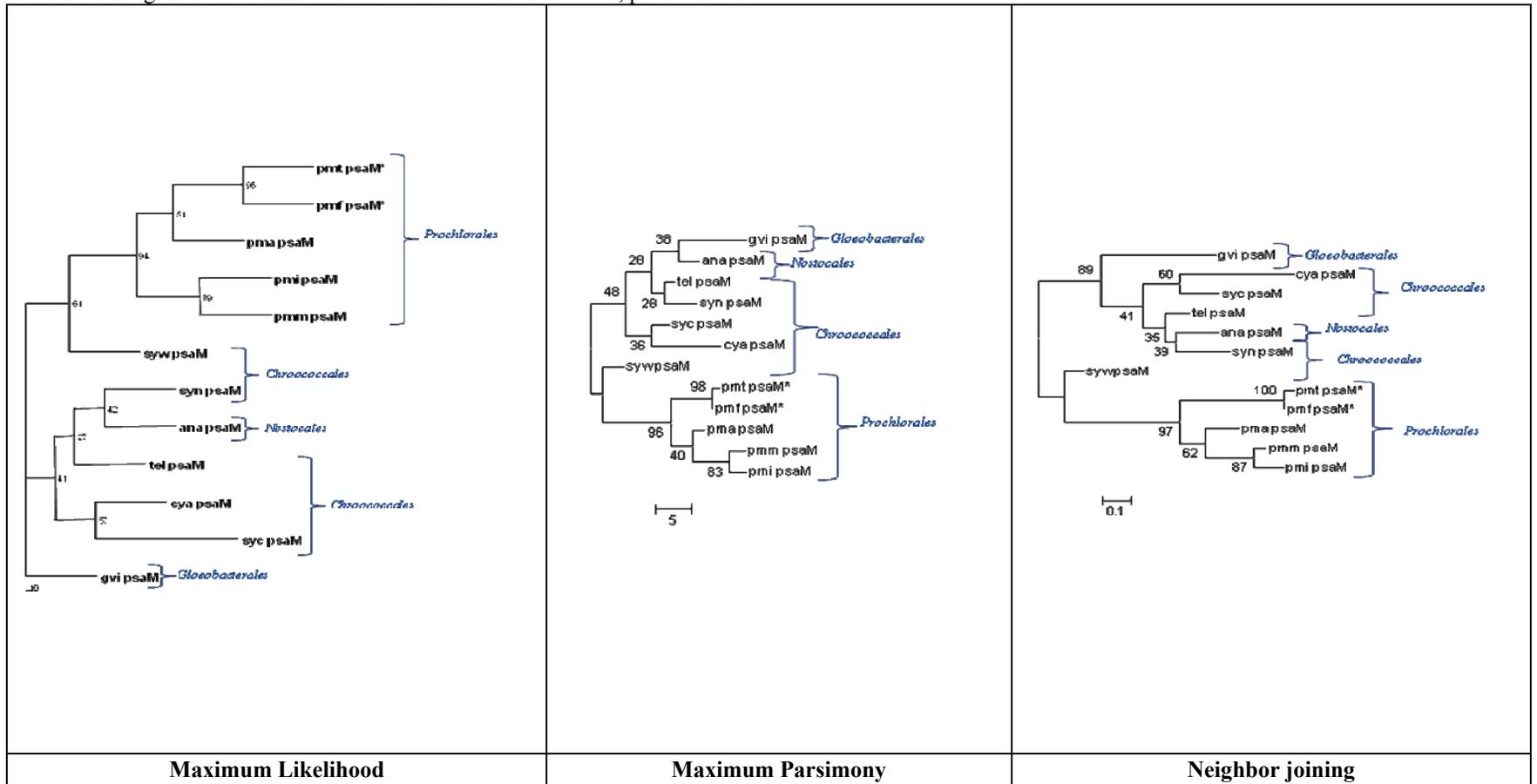
45. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaK método de 25 individuos, posiciones 67.



46. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaL de 25 individuos, posiciones 90.

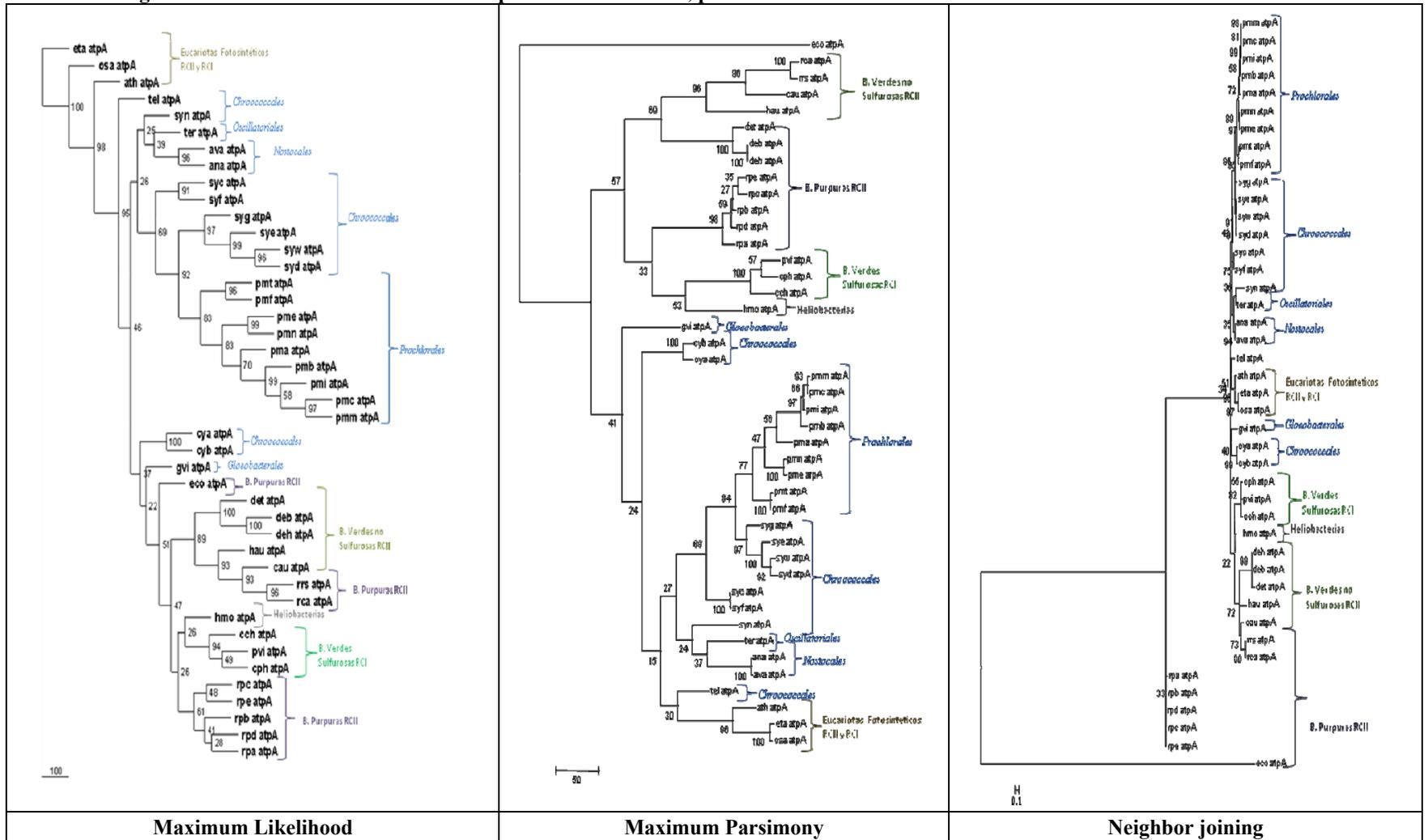


47. Árbol filogenético de aminoácidos de PsaM de 12 individuos, posiciones 29.

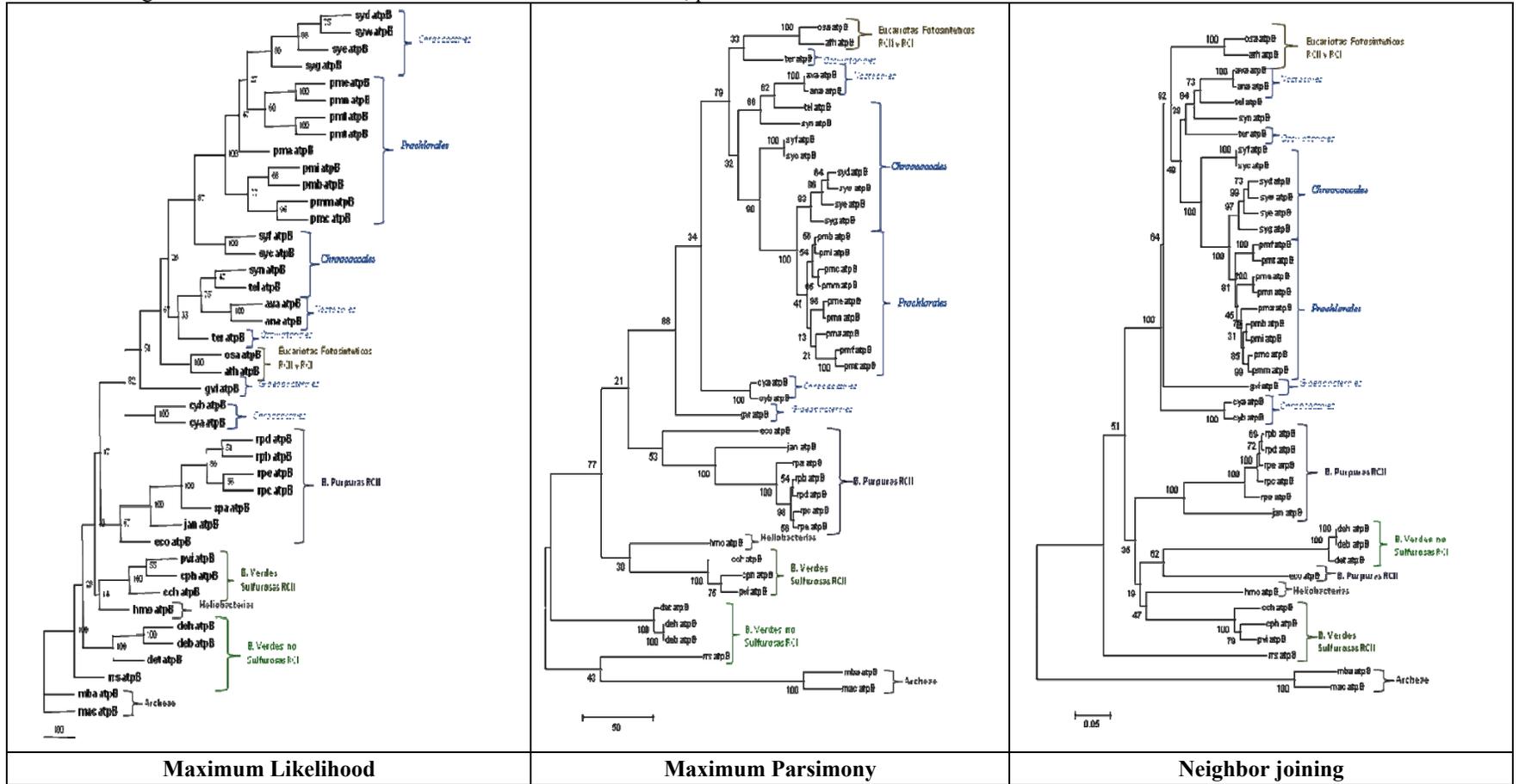


ATP asa

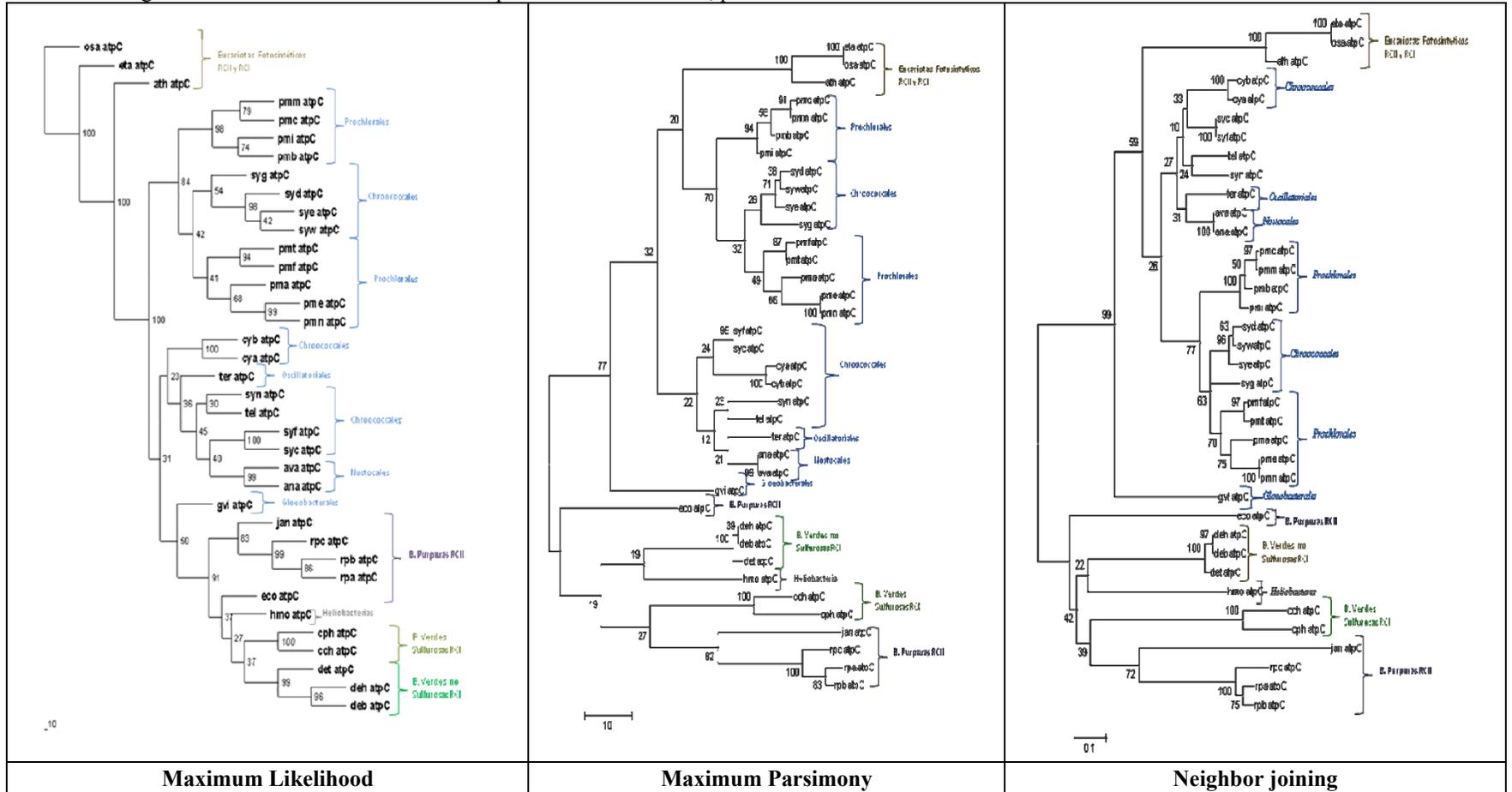
48. Árbol filogenético de aminoácidos de ATP asa Alpha de 45 individuos, posiciones 497.



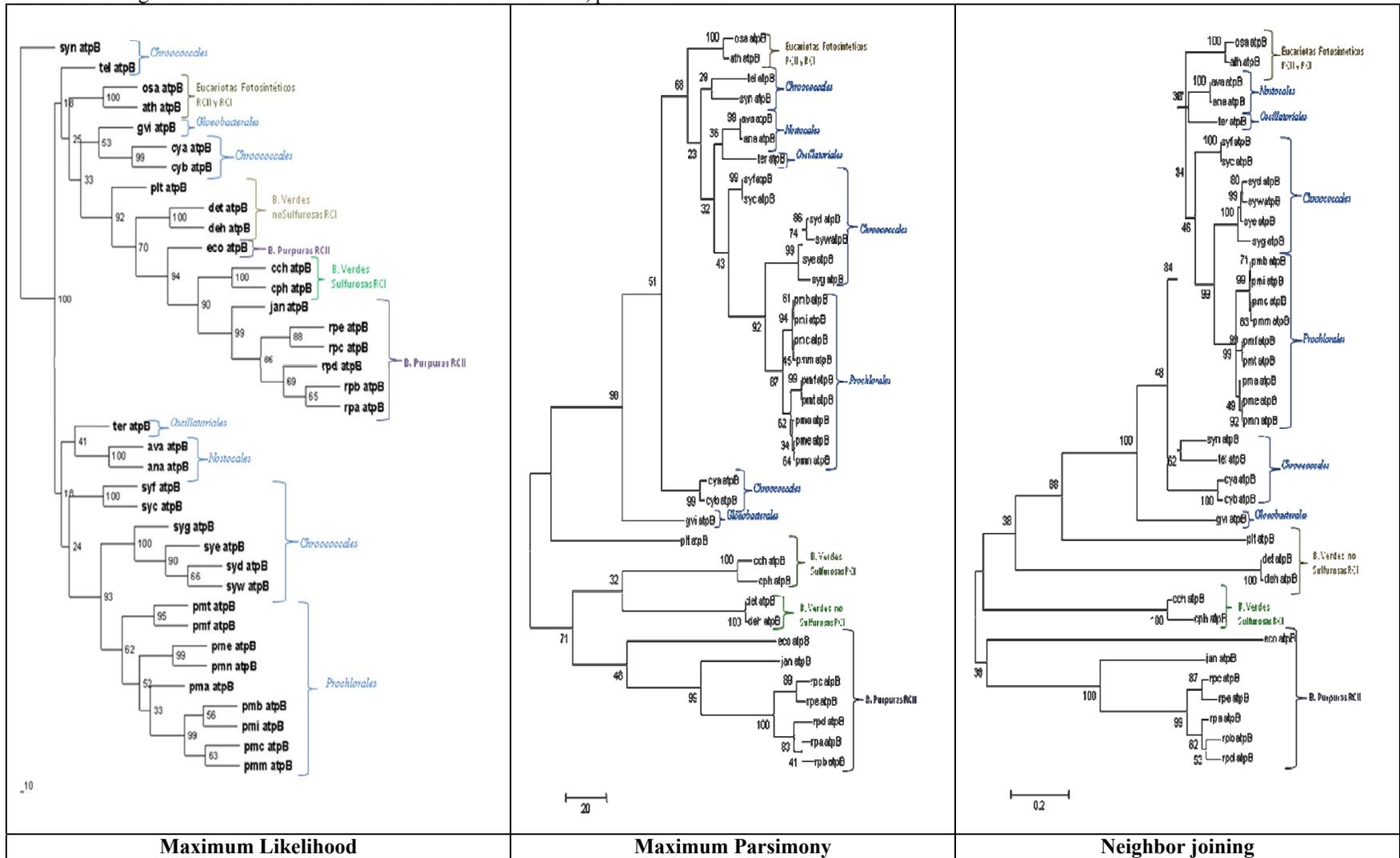
49. Árbol filogenético de aminoácidos de ATP asa Beta de 42 individuos, posiciones 454.



51. Árbol filogenético de aminoácidos de ATP asa Épsilon de 37 individuos, posiciones 76.

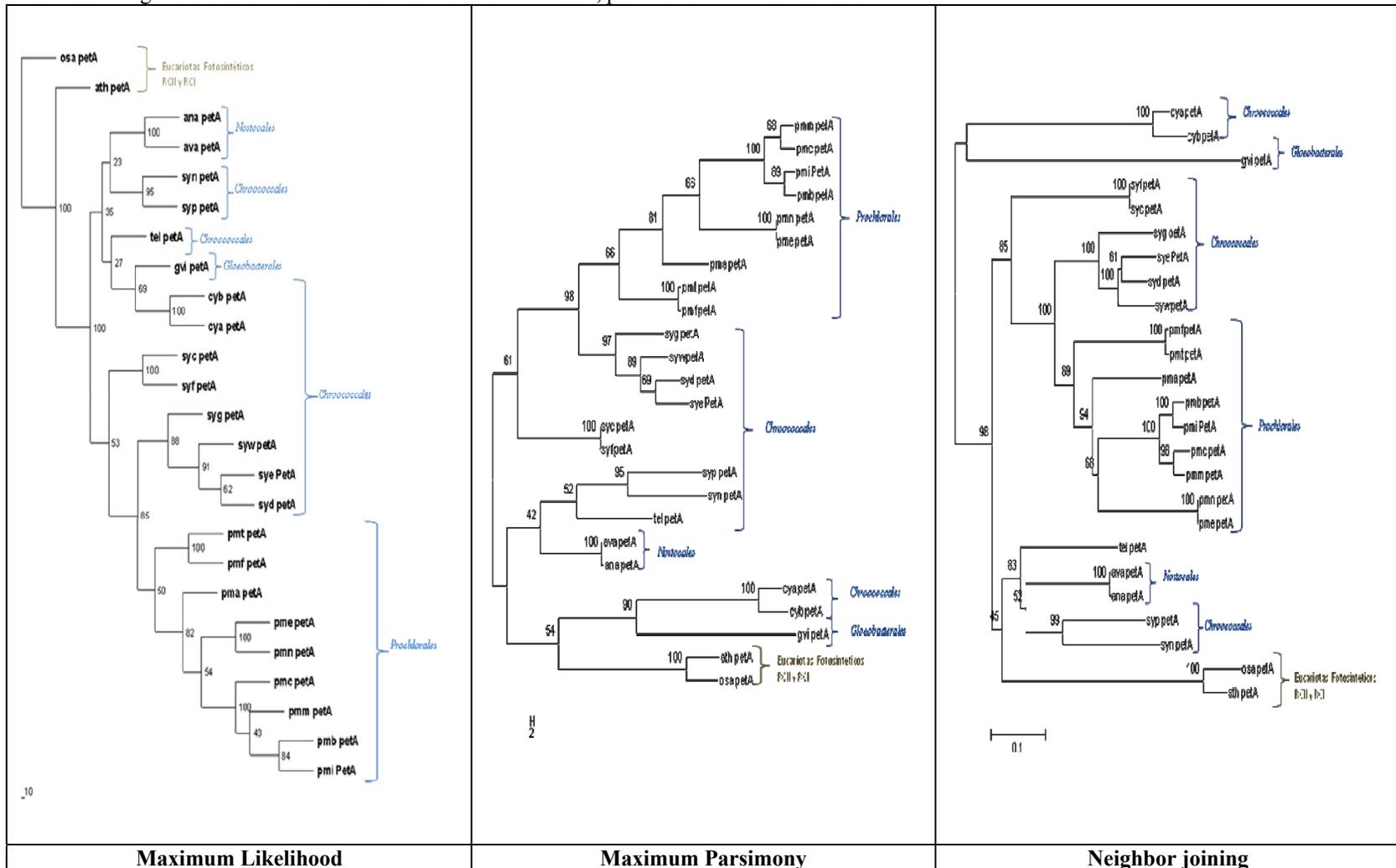


55. Árbol filogenético de aminoácidos de ATP B de 37 individuos, posiciones 164.

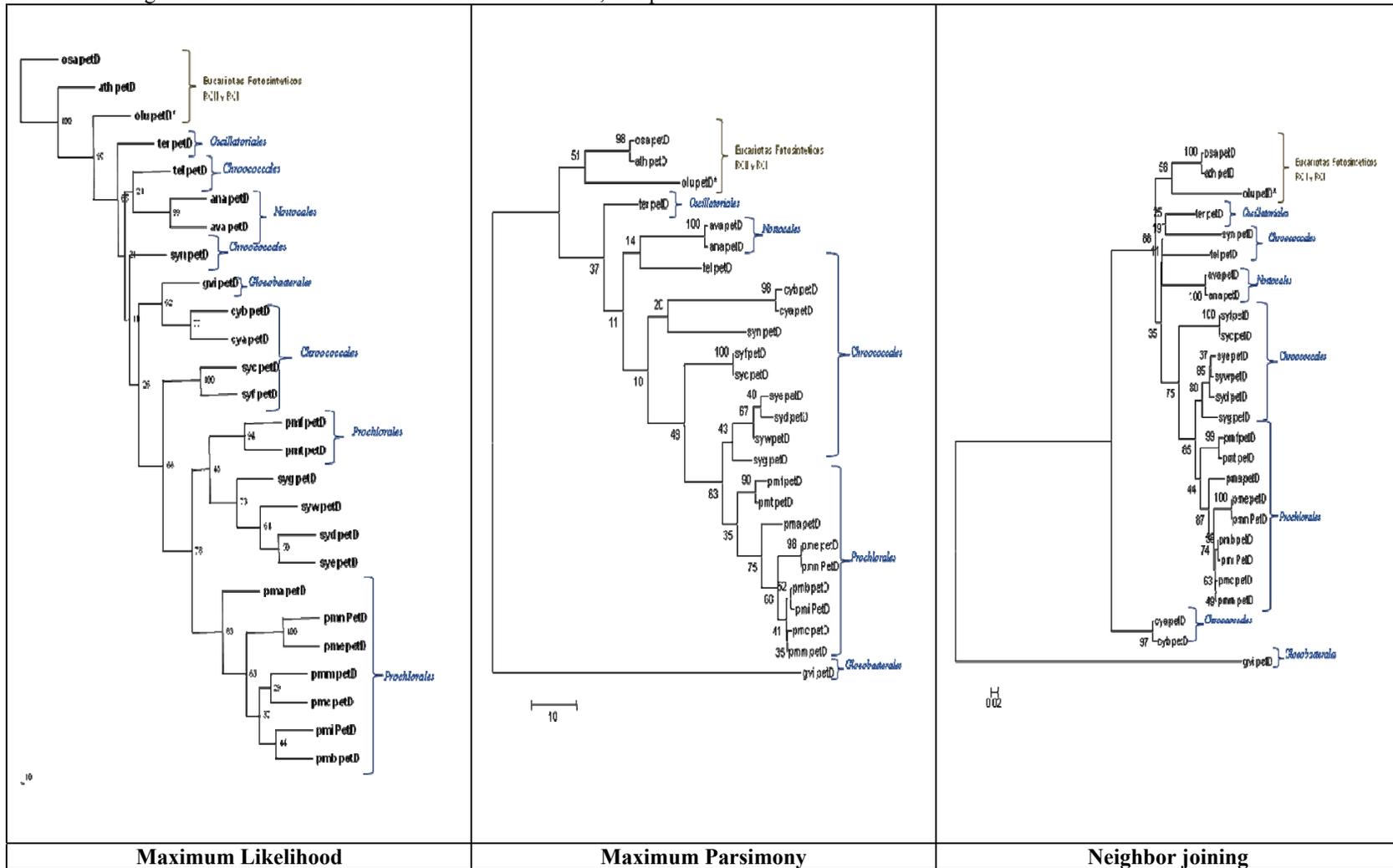


Citocromo

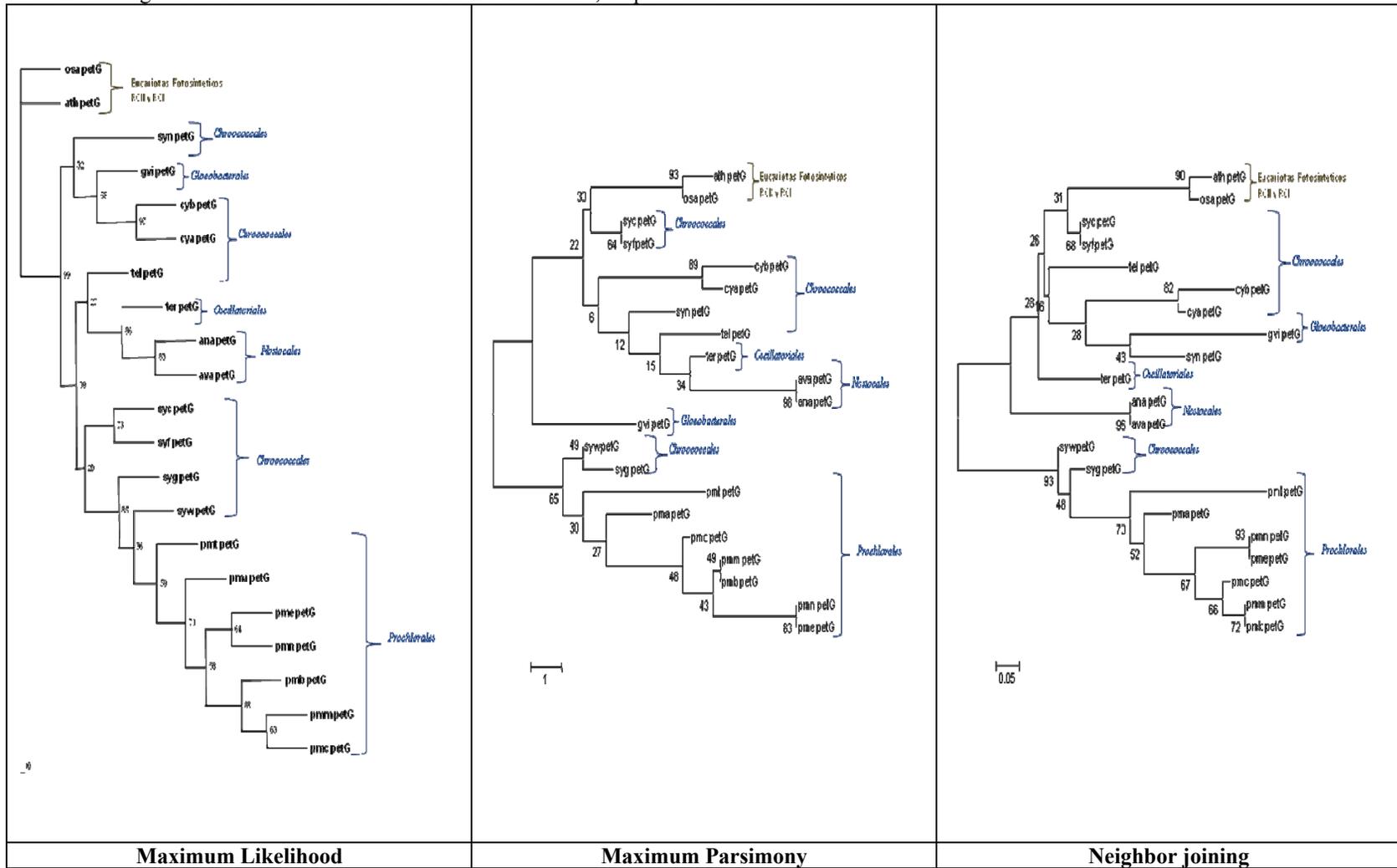
57. Árbol filogenético de aminoácidos de Pet A de 25 individuos, posiciones informativas 299.



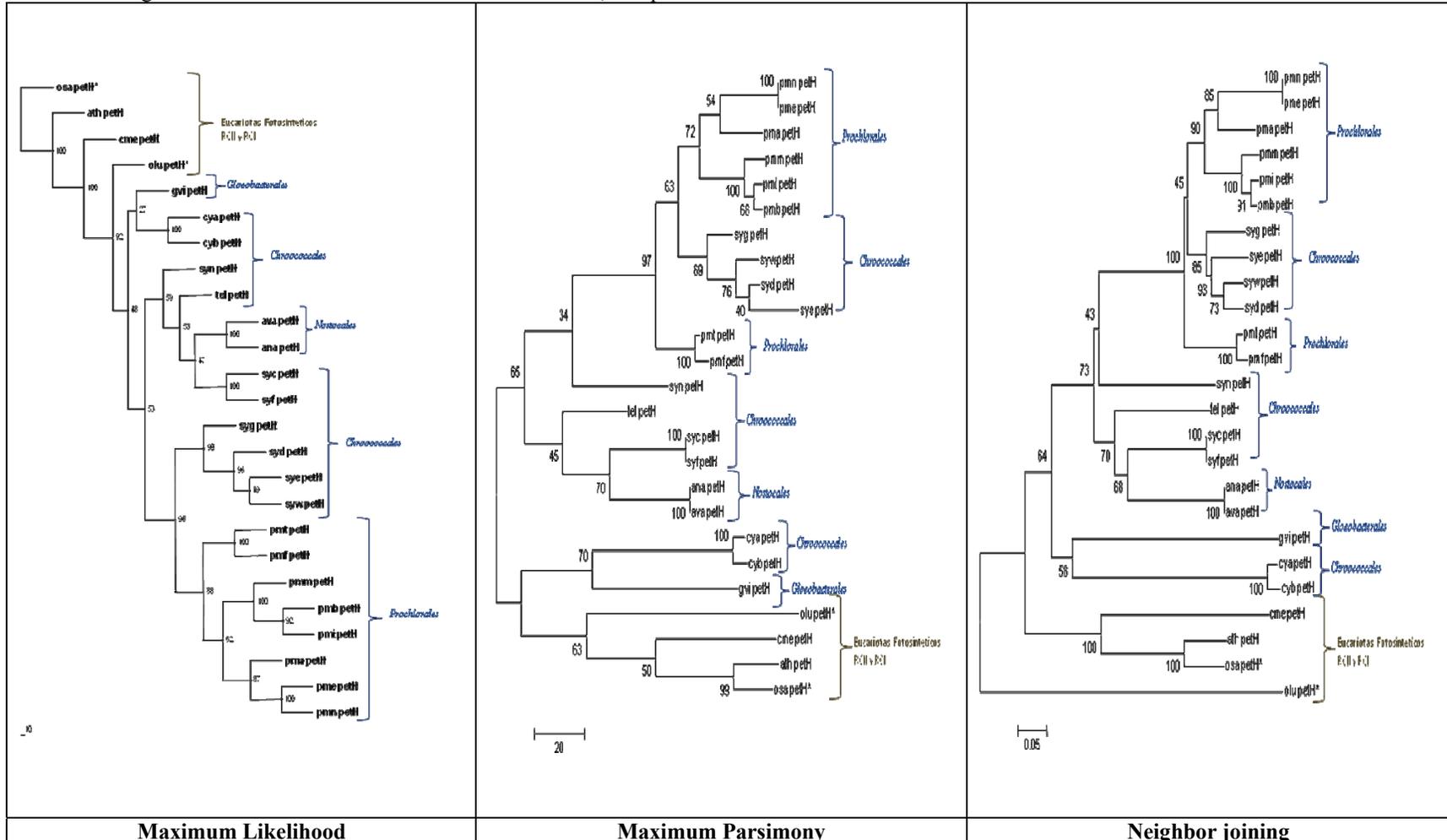
60. Árbol filogenético de aminoácidos de Pet D de 26 individuos, 134 posiciones informativas.



61. Árbol filogenético de aminoácidos de Pet G de 21 individuos, 15 posiciones informativas.



65. Árbol filogenético de aminoácidos de Pet H de 25 individuos, 238 posiciones informativas.



66. Árbol filogenético de aminoácidos de Pet J de 21 individuos, 52 posiciones informativas.

