

Caracterización de la diversidad bacteriana asociada a tapetes microbianos, evaporitas de yeso y microbianas carbonatadas en humedales talásicos: Tebenquiche y La Brava, Salar de Atacama, Chile

ME Farías-María Contreras·mc rasuk·
D. Kurth-Señor Flores·Director General Poiré·F. Novoa·
PT Visscher

Recibido: 13 de junio de 2013 / Aceptado: 5 de diciembre de 2013 / Publicado en línea: 18 de enero de 2014
- Springer Japón 2014

Resumen En este trabajo reportamos la presencia de ecosistemas microbianos sedimentarios en humedales del Salar de Atacama. Estos sistemas laminados, que unen, atrapan y precipitan minerales incluyen: mantos microbianos en Laguna Tebenquiche y Laguna La Brava, domos de yeso en Tebenquiche y microbiolitas carbonatadas en La Brava. Se determinó la diversidad microbiana y las características biogeoquímicas clave de ambos lagos (La Brava y Tebenquiche) y sus diversos ecosistemas microbianos (esteras no litificantes, microbiolitas planas y domales). La composición y abundancia de minerales varió desde halita atrapada y unida en capas no litificantes ricas en materia orgánica hasta microbiolitas planas litificadas dominadas por aragonito y yeso en

Estructuras domales litificadas. La pirosecuenciación de la región V4 del gen 16s rDNA mostró que las proteobacterias constituían un filo importante en todos los ecosistemas microbianos estudiados, con una marcada menor abundancia en las esteras no litificantes. Una mayor proporción de Bacteroidetes estuvo presente en los sedimentos de Tebenquiche en comparación con las muestras de La Brava. La concentración de pigmentos, particularmente la de clorofila.a, fue mayor en el Tebenquiche que en La Brava. Los pigmentos típicamente asociados con bacterias fototróficas anoxigénicas estaban presentes en cantidades más bajas. Las esteras microbianas no litificantes, ricas en materia orgánica, frecuentemente formaban estructuras bulbosas con forma de serpiente debido a la acumulación de gas debajo de la estera. Nuestra hipótesis es que las microbiolitas litificadas podrían haberse desarrollado a partir de estos tapetes microbianos en forma de serpiente después de la precipitación mineral en la capa superficial, produciendo domos con comunidades endoevaporíticas en Tebenquiche y plataformas carbonatadas en La Brava. Mientras que el papel potencial de los microbios en las plataformas de carbonato está bien establecido, la contribución de los microbios endoevaporíticos a la formación de cúpulas de yeso necesita más investigación.

Comunicado por A. Oren.

ME Farías (&) · MC Rasuk · D. Kurth · MR Flores Laboratorio de Investigaciones Microbiológicas de Lagunas Andinas (LIMLA), Planta Piloto de Procesos Industriales Microbiológicos (PROIMI), CCT, CONICET, Tucumán, Argentina

correo electrónico: mefarías2001@yahoo.com.ar ; mefarías@proimi.org.ar
URL: <http://www.limla.com.ar>

M. Contreras · F. Novoa
Centro de Ecología Aplicada (CEA), Suecia 3304,
Ñuñoa, 2-2741872 Santiago, Chile

Director General Poiré

Centro de Investigaciones Geológicas, Universidad Nacional de La Plata-Conicet, calle 1 no 644, 1900 La Plata, Argentina

PT Visscher
Center for Integrative, Geosciences University of Connecticut, 354
Mansfield Road, Storrs, CT 06269, EE. UU.

PT Visscher
Centro Australiano de Astrobiología, Universidad de Nueva Gales
del Sur, Sydney, NSW 2052, Australia

Palabras clave Lagunas hipersalinas · Tapetes microbianos
· Microbialitas · Atacama

Introducción

Durante las últimas décadas, el papel de los microorganismos en los procesos geológicos, particularmente en la precipitación mineral inducida por microbios (también conocida como organomineralización) ha ganado mucha atención en la literatura sedimentológica y geomicrobiológica (Reid et al. 2000; Dupraz et al. 2004, 2009; Dupraz y Visscher 2005; Glunk et al. 2011). Desde el Eoarchaeon (4–3.6 Gy bp), los microbios han jugado

un papel crucial en los procesos geoquímicos que forman el registro sedimentario de nuestro planeta (Knoll y Golubic 1992; gerdés 2007; Dupraz et al. 2009): en estructuras organosedimentarias laminadas o tapetes microbianos, estabilizan los sedimentos (Paterson 1994), median la precipitación o disolución de minerales (Visscher y Stolz 2005), microtela de impacto (Dupraz et al. 2009), influyen en la composición y morfología de los minerales (Braissant et al. 2004) y son capaces de dar forma a la macroestructura de las acumulaciones (Burne y Moore 1987; Reid et al. 2000). En el proceso de organomineralización, donde los microbios alteran la geoquímica de su microambiente inmediato a través de actividades metabólicas e inducen o influyen en la precipitación mineral (Dupraz et al. 2009), los tejidos minerales pueden ser alterados (Beveridge 1981; cody y cody 1989; Gerdes et al. 1994; Luis 2004; douglas 2005; Ali Bik et al. 2011). Además, los microorganismos suelen tener superficies de células aniónicas que actúan como agentes de nucleación efectivos para la precipitación de minerales mediante la eliminación de iones metálicos de su entorno (Beveridge 1981; douglas 2005; Dupraz y Visscher 2005). Sustancias exopoliméricas (EPS), producidas por una variedad de organismos mat (Decho 2000; Gallagher et al. 2010) consisten en una matriz orgánica con grupos funcionales aniónicos capaces de unir iones metálicos como Ca^{2+} (Braissant et al. 2007). Cuando los microbios degradan EPS, Ca^{2+} se libera y los minerales de carbonato precipitan (Dupraz y Visscher 2005; Glunk et al. 2011). Este proceso de organomineralización puede dar como resultado la litificación de los tapetes microbianos, formando así microbiolitos modernos (Dupraz et al. 2009). En contraste con los mantos no litificantes, ricos en materia orgánica, que consisten principalmente en biomasa con inclusiones de partículas atrapadas y unidas esporádicamente, los microbiolitos son depósitos organosedimentarios que se han acumulado como resultado de la captura microbiana bentónica y la unión de sedimentos y, además, también de minerales. precipitación (Burne y Moore 1987). Los microbiolitos en este estudio se están formando activamente en la superficie, experimentando una diagénesis temprana en el subsuelo y, por lo tanto, se denominan microbiolitos modernos (Dupraz et al. 2011). La evidencia de abundantes microbios fósiles en el registro de rocas sugiere que los microorganismos se han involucrado en la organomineralización durante la mayor parte de la historia de la Tierra (Riding 2011).

La mayoría de las investigaciones de organomineralización inducida por microbios se centran en carbonatos: calcita y/o aragonito (Arp et al. 1999a,b; Reid et al. 2000, 2003; Reitner et al. 2005; Jahnert y Collins 2013), calcita de magnesio incluyendo dolomita (Vasconcelos y McKenzie 1997; Glunk et al. 2011) y magnesita (Thompson y Ferris 1990; Sanz Montero y Rodríguez Aranda 2008). Los tapetes microbianos asociados con costras de halita y yeso se denominan comúnmente tapetes endoevaporíticos (Rothschild et al. 1994). Se forman a través de la precipitación mineral fisicoquímica debido a la evaporación que produce costras y estructuras domales "similares a estromatolitos" (Babel 2004; Svaletta et al. 2010).

Estas estructuras domales endolíticas microbianas laminadas a menudo se denominan endoevaporitas (Rothschild et al. 1994; Lanza et al. 2003; Canfield et al. 2004; Sahl et al. 2008). El papel exacto de los microbios en la formación de estos domos de yeso no está bien establecido. Algunas de las propiedades físicas del yeso, como la translucidez y la higroscopia, son favorables para el desarrollo de tapetes microbianos endoevaporíticos (Rothschild et al. 1994; Orén et al. 1995; Svaletta y Barbieri 2009). A pesar de la abundancia de ecosistemas existentes y extintos donde los microbios están asociados con el yeso (Babel 2004; Orén et al. 1995; Vogel et al. 2009), pocos estudios se han centrado en el papel de los microorganismos en CaSO_4 precipitación.

Una de las cuencas evaporíticas más grandes de la Tierra, el Salar de Atacama, ubicada en los Andes centrales de Chile, está compuesta por un gran número de cuencas cerradas en las que se forman lagos salinos (conocidos localmente como "lagunas") en cuyo borde se forman costras evaporíticas (Stoertz y Erickson 1974; Risacher et al. 2003).

En este estudio comparamos dos lagunas en el Salar de Atacama en el que se forman una variedad de tapetes microbianos no litificantes y microbiolitos, incluyendo plataformas de carbonato de calcio y domos de yeso endoevaporítico. Proporcionamos una descripción de estos ecosistemas, incluido el entorno, la composición de su fase mineral y la diversidad microbiana.

materiales y métodos

Descripción del lugar

La depresión del Salar de Atacama es una estructura geomorfológica distinta en el norte de Chile (Risacher et al. 2003) y es la cuenca evaporítica más grande y antigua de ese país. Es una cuenca intramontana tectónica llena de sedimentos clásticos y evaporíticos del Terciario al Cuaternario de origen continental. El entorno hidrogeológico del Salar es bastante complejo, recibiendo aportes de agua superficial y subterránea predominantemente del este (Bevacqua 1992). El principal aporte de agua es por lixiviación y aportes directos de material volcánico del Terciario y Cuaternario. En la región más baja de la cuenca de Atacama, las aguas subterráneas afloran formando una serie de lagunas: Laguna de Piedra, Laguna Tebenquiche, Chaxas, Burro Muerto y La Brava (Alonso y Risacher 1996). Las condiciones ambientales de estos lagos se caracterizan por (1) una alta radiación solar debido a una menor presión barométrica a gran altura y, en consecuencia, una menor absorción de la radiación solar (Cabrera y Pizarro 1994), (2) fluctuaciones extremas de temperatura diaria típicas de ambientes desérticos, (3) evaporación neta que produce agua hipersalina y (4) altas concentraciones de arsénico en el agua debido a eventos volcánicos (Lara

et al.2012). Todas estas condiciones contribuyen a un entorno que selecciona a los extremófilos microbianos.

Estudios microbiológicos previos en el Salar de Atacama se han enfocado en la diversidad (Dorador et al.2009) y resistencia al arsénico (Lara et al.2012) de agua y sedimentos en Laguna Tebenquiche, Burro Muerto y Chaxas. Hasta la fecha no se han publicado investigaciones geomicrobianas que incluyan estudios de diversidad de los domos de yeso endoevaporítico en La Brava y Tebenquiche.

El Salar de Atacama comprende dos unidades principales: un núcleo y una zona marginal. El núcleo (1.100 km² y 900 m de espesor) consiste en un halogenuro poroso (90 %) impregnado con una salmuera de cloruro de sodio rica en litio (Li), potasio (K), magnesio (Mg) y boro (B) ocupando los intersticios del halogenuro. La zona marginal del Salar está formada por finos sedimentos salinos ricos en sulfatos, especialmente yesos (Bevacqua1992; Alonso y Risacher1996). Existen dos tipos de salmueras en el Salar de Atacama: tipo Na–Ca–(Mg)–Cl (salmueras "cálcicas") y otros tipos de Na–(Mg)–SO₄–Cl (salmueras de "sulfato") (Alonso y Risacher 1996). Tebenquiche se ubica más cerca del núcleo y La Brava se encuentra en la zona marginal.

Sitio de muestra y colección de muestras

Durante dos campañas de campo en marzo y noviembre de 2012, se recolectaron una variedad de tapetes microbianos asociados con muestras de agua de los sitios respectivos durante dos campañas de campo en marzo y noviembre de 2012. -mats litificantes (BM) y microbianitos (BMI). En el momento del muestreo, las capas microbianas (TM, BM) se sumergieron en unos pocos cm de agua y se encontraron TD y BMI a una profundidad de 15 a 30 cm en el lago.

Se tomaron muestras por triplicado de cada sitio de muestreo: 2 cm² con una profundidad arbitraria de 3 cm, que incluía varias capas de mat y al menos las tres capas superiores (verde, púrpura y oscura) de los domos (TD) y microbianos (BMI). Las muestras por triplicado se homogeneizaron y se utilizaron alícuotas para análisis de ADN, fotopigmentos, contenido de materia orgánica y mineralogía. Para la determinación por microscopía electrónica de barrido (SEM), las muestras se fijaron durante la noche a 4 °C en un fijador de Karnovsky que comprende formaldehído (8 % v/v), glutaraldehído (16 % v/v) y tampón fosfato (pH 7).

Las muestras para SEM y mineralogía de los tapetes y los microbianitos, así como para la química del agua, se almacenaron en la oscuridad a 4 °C y se procesaron en 1 a 2 semanas. Las muestras para la extracción de ADN se congelaron en nitrógeno líquido, se almacenaron en la oscuridad y se procesaron en una semana. Los perfiles de microelectrodos se midieron in situ durante la campaña de noviembre (ver más abajo). Las muestras de agua fueron analizadas in situ para temperatura y pH, y en el

laboratorio de oxígeno disuelto, salinidad, conductividad, clorofila, P total, NO₃, NO₂, Si disuelto, Ca, Mg y iones principales (K, ASI QUE₂4y na?), según el método odología descrita por Eaton et al. (2005). NUEVA HAMPSHIRE⁴, ortolos fosfatos y el nitrógeno orgánico total (NOT) se analizaron utilizando un instrumento Merck Nova 60 Spectrocuant. Se utilizó el análisis de pérdida por ignición (LOI) para determinar el contenido de materia orgánica (% MO) de las muestras de sedimentos. Se determinó la diferencia de peso de 5 g de muestra antes y después de calentar durante 2 h a 450 °C para calcular la cantidad de MO. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

La radiación fotosintéticamente activa (PAR; 400–700 nm) se midió usando un medidor de luz LiCor LI 250A con un sensor cuántico LiCor LI190 (LiCor Biosciences, Lincoln, NE, EE. UU.) y las mediciones UV AB (280–400 nm) se realizaron con un Radiómetro Solar Light CO. PMA 2100 (Solar Light Company, Inc., Glenside, PA, EE. UU.).

Mediciones de microelectrodos

Las concentraciones de oxígeno y sulfuro en los tapetes y microbianitos se determinaron in situ en los sitios de La Brava (BM y BMI) y Laguna Tebenquiche (TM y TD). Las mediciones se tomaron durante la mitad del día (la intensidad de la luz de PAR fue de 1850 a 2550 μmol m⁻²s⁻¹). Se conectaron electrodos de aguja de sulfuro amperométrico y oxígeno tipo Clark, ambos con cátodo de protección incorporado y electrodos de referencia, a un picoamperímetro portátil (Unisense PA 2000, Arhus, Dinamarca). Los sensores se desplegaron en 200–250 μm incrementos de profundidad usando un micromanipulador manual (National Aperture, New Hampshire). Se midieron de tres a cinco perfiles duplicados que cubrían los 10 a 15 mm superiores de cada tapete y se construyeron los perfiles usando curvas de calibración determinadas antes y después de las mediciones. Los tapetes microbianos y los microbianitos muestran ligeras variaciones en las características sedimentarias (p. ej., grosor de la corteza mineral, profundidad y grosor de la capa de cianobacterias, etc.) y, por lo tanto, se eligieron perfiles representativos para su publicación. La profundidad media de O₂ se calculó la penetración y la desviación estándar de los perfiles replicados y, de manera similar, la concentración promedio en el O₂ también se determinó el máximo y su correspondiente desviación estándar. La concentración de oxígeno se corrigió por salinidad y temperatura (Sherwood et al. 1991) y valores determinados para una presión atmosférica de 1 bar.

Las correcciones de altitud se realizaron utilizando un altímetro de altitud: Parah = 2.300 m, que es la altitud aproximada del Salar de Atacama, utilizando una escala de altitud de la atmósfera terrestre de ca. 7.000 m, una presión atmosférica a nivel del mar de 1 bar, la presión del aire es de 0,719 bares. Las agujas pudieron penetrar las costras sumergidas de haluro y yeso de hasta 8-10 mm de espesor. Luz

se realizaron mediciones de PAR a lo largo de la duración de las mediciones como se describe anteriormente.

Análisis mineralógico mediante XRD y SEM-EDAX

La composición mineral de las esteras no litificantes, los domos de yeso y las microbiolitas se obtuvo mediante análisis de difracción de rayos X (XRD), que se llevaron a cabo en material de muestra finamente molido ($20\mu\text{m}$), medido con un PANalytical XoDiffractómetro Pert PRO, con lámpara de Cu (k α = 1,5403 Å) operado a 40 mA y 40 kV en el Centro de Investigaciones Geológicas (La Plata, Argentina).

Microscopía óptica y electrónica de barrido

Las observaciones a macro y microescala se realizaron utilizando un estereoscopio Olympus SZX12 y un microscopio Olympus BX60 con una cámara digital C-2000Z, respectivamente. Para microscopía electrónica de barrido (SEM), las muestras se fijaron durante la noche a 4 °C en un fijador de Karnovsky compuesto por formaldehído (8 % v/v), glutaraldehído (16 % v/v) y tampón fosfato (pH 7). Las muestras se lavaron tres veces con tampón fosfato y CaCl₂ durante 10 min y fijado con tetróxido de osmio al 2 % v/v durante la noche. Las muestras se lavaron dos veces con etanol al 30 % v/v durante 10 min, se secaron en el punto crítico y se pulverizaron con oro. Las muestras se observaron al vacío utilizando un microscopio electrónico de barrido Zeiss Supra 55VP (Carl Zeiss NTS GmbH, Alemania). Los análisis elementales se realizaron utilizando espectroscopía de rayos X de dispersión de energía (EDAX) utilizando un detector INCA Penta FET-X3 EDS (Oxford, Reino Unido) y los espectros se analizaron utilizando la interfaz de software INCA Energy.

Identificación de pigmentos por HPLC

El análisis de los pigmentos se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Borrego y Garcia-Gil 1994). Las muestras (1,5 g de mats, domos litificados o microbialitos) se congelaron en nitrógeno líquido, se molieron en un mortero y posteriormente se liofilizaron. Se mezclaron submuestras iguales (0,2 g) de estas muestras liofilizadas con 2 ml de metanol al 100 % y se incubaron en oscuridad durante la noche a -20°C. Los extractos de metanol se centrifugaron a 8.000g durante 10 min a 4 °C y los sobrenadantes se filtraron a través de 0,2- μm filtros de jeringa de diámetro de poro antes del análisis HPLC.

Se realizó un análisis HPLC para determinar el número y la abundancia de pigmentos únicos. El sistema de HPLC constaba de 2 bombas (Waters, modelo 510), un inyector de carga de jeringa (Rheodyne 7125) equipado con 200- μl loop (Rheodyne 7025), y una detección en línea por espectroscopía basada en matriz de diodos entre 250 y 800 nm (Waters 996) acoplada a una computadora equipada con Empower 2007

Software Chromatography Manager (Waters-Millipore), que permite la detección de espectros de pigmentos. La columna utilizada fue 1009Kinetex C-18 de 4,6 mm (3- μm tamaño de partícula de sílice) protegido por un filtro Ultra In-Line Krudkatcher (Phenomenex).

Los pigmentos se identificaron comparando los tiempos de retención máximos y los espectros de absorción correspondientes con los estándares disponibles en el laboratorio o, cuando no estaban disponibles, con los datos de la base de datos de LipidBank (<http://www.lipidbank.jp>). La abundancia de pigmento se cuantificó en función de las áreas de los picos en los cromatogramas medidos a una longitud de onda de absorción de 435 nm. La delimitación de picos y la integración de áreas fueron realizadas automáticamente por el software del instrumento. Debido a la falta de estándares para la mayoría de los pigmentos que se detectaron, sus áreas de pico se normalizaron al área más alta de los picos conocidos. Dado que todas las muestras se recolectaron y analizaron de la misma manera, las abundancias relativas de pigmentos se pueden comparar directamente en todas las muestras. Además, la clorofila a, El betacaroteno, el licopeno, la diatoxantina, la luteína, la cantaxantina y la astaxantina se identificaron y cuantificaron utilizando estándares de DHI, Dinamarca. Esto se hizo solo en las muestras de Tebenquiche ya que ninguno de estos pigmentos se detectó en las muestras de La Brava.

Extracción de ADN

El ADN genómico total se obtuvo a partir de submuestras tomadas como se describe anteriormente. Los intentos iniciales con 0,2 g de material tratado con el kit de aislamiento de ADN Power Biofilm (MO BIO Laboratories, inc.) no tuvieron éxito para las muestras de microbios (duras). Así, el método descrito por López-López et al. (2010) se utilizó para todas las muestras con modificaciones menores. En resumen, comenzamos con 10 g de material y las células se separaron de los minerales y la matriz orgánica exopolimérica mediante lavados repetidos en solución salina tamponada con fosfato (PBS) con agitación suave durante 2 h, se recuperaron por centrifugación y se almacenaron a -20 °C hasta extracción. Para la extracción de ADN, las células se resuspendieron en 2 ml de tampón de extracción [Tris-HCl 100 mM, pH 8, EDTA 20 mM, NaCl 1,4 M, CTAB al 2 % (bromuro de hexadeciltrimetilamonio al 99 %)] y se lisaron en dos pasos. En primer lugar, se realizaron tres ciclos de congelación-descongelación de 15 min. Luego, se utilizaron tratamientos con proteinasa K, lisozima y SDS al 10 % para asegurar la lisis completa. El ADN se purificó a partir de lisados con fenol:cloroformo:isoamilalcohol 25:24:1 y se precipitó con etanol.

PCR y pirosecuenciación

La región hipervariable V4 del gen rRNA bacteriano 16s se amplificó utilizando los cebadores universales sugeridos por el Ribosomal Database Project (RDP) (<http://pyro.cme.msu>).

[edu/piro/ayuda.jsp](#)) que contienen los adaptadores A y B de secuenciación Roche 454 y un "identificador múltiple" (MID) de 10 nucleótidos. Se realizaron cinco PCR independientes para reducir el sesgo. La mezcla PCR (volumen final 25 μ l) contenía 2,5 μ l Inicio rápido de alta fidelidad 109Tampón de reacción (Roche Applied Science, Mannheim, Alemania), 20 ng de ADN molde, 0,4 μ M de cada cebador y 1,25 U de mezcla de enzimas de alta fidelidad FastStart (Roche Applied Science) y dNTP 0,2 mM. Las condiciones de la PCR fueron 95 °C durante 5 min para la desnaturalización inicial, seguida de 95 °C durante 45 s, 57 °C durante 45 s, 72 °C durante 60 s en 30 ciclos y un paso de elongación final a 72 °C para 4 minutos. Se realizaron dos reacciones de control negativo que contenían todos los componentes excepto el molde. Los productos de las cinco reacciones se agruparon y purificaron utilizando perlas AMPure XP. La cuantificación del producto PCR purificado se realizó con el kit Quant-IT Pico Green dsDNA (Invitrogen Molecular Probes Inc, Oregón, EE. UU.).

El producto de PCR purificado se secuenció en un Genome Sequencer FLX (Roche Applied Science) usando Titanium Chemistry de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los análisis se realizaron en la instalación de secuenciación del genoma de INDEAR (Argentina). Se obtuvieron 11.139 secuencias filtradas con una longitud promedio de 248 pb de cuatro muestras utilizadas en este estudio. Los parámetros del filtro se configuraron para rechazar las lecturas que tenían un puntaje de calidad medio ≥ 25 , una corrida máxima de homopolímeros [6, número de desajustes de cebadores 0 y longitud de lectura ≥ 200 pb o [1,000 pb. Las secuencias se depositaron como FASTAQ en el archivo de lectura de secuencias (SRA) del NCBI con el siguiente número de acceso SRA061755.

Análisis de diversidad alfa y basado en taxonomía

La diversidad de la comunidad microbiana se evaluó analizando las secuencias de la región hipervariable V4 del ARNr bacteriano 16s utilizando el paquete de software QIIME v.1.5.0 (Caporaso et al.2010). Las secuencias se agruparon en OTU usando UCLUST al nivel de similitud del 97 % usando la secuencia más abundante como secuencia representativa para cada OTU. Se compiló una tabla del número de secuencias por OTU. Cada secuencia OTU representativa se caracterizó taxonómicamente con el clasificador RDP utilizando la base de datos Ribosomal Database Project (RDP) incluida en el software QIIME v1.5.0 utilizando una confianza de arranque del 50 %. Otros conjuntos de datos públicos, incluido el estromatolito de Socompa, SRP007748 (Farías et al. 2013), suelos hiperáridos de Atacama, SRA030747 (Neilson et al.2012), estromatolitos de Yellowstone (http://inside.mines.edu/*jspear/recursos.html) (Pepe-Ranney et al.2012), estromatolitos de Highborne Cay, Bahamas (números de acceso de GenBank FJ911975–FJ912833) (Baumgartner et al. 2009a), trombolitos de Highborne Cay, SRX030166

(Moberley et al.2012), y un tapete microbiano Guerrero Negro, (números de acceso de GenBank DQ329539–DQ331020 y DQ397339–DQ397511) (Ley et al.2006) se analizaron utilizando los mismos procedimientos para el análisis comparativo.

Las tablas OTU se submuestrearon usando 10 repeticiones para cada esfuerzo de muestreo a intervalos crecientes de 350 secuencias y los índices de diversidad alfa se calcularon en cada submuestra de la curva de rarefacción y en la tabla OTU completa (incluidas todas las secuencias) usando QIIME. Las métricas de diversidad alfa calculadas incluyeron especies observadas, CHAO1, Shannon, Simpson, índices de equidad y dominancia.

Las muestras de este trabajo se compararon con los conjuntos de datos de acceso público enumerados anteriormente. Para esta comparación, se construyó un árbol UPGMA en QIIME, basado en las distancias de Bray Curtis entre muestras medidas a partir de las abundancias relativas a nivel de filo.

Resultados

Características fisicoquímicas

La temperatura del agua en Tebenquiche alcanzó 21,5 °C en marzo y 31,0 °C en noviembre, y correspondientemente 24,6 y 30,1 °C en La Brava (Cuadro1). Con base en las mediciones de pH (7.4–8.6 y 7.8–8.2 para Tebenquiche y La Brava, respectivamente), ambos sistemas pueden clasificarse como moderadamente alcalinos (Hounslow1995). Se determinaron las condiciones salinas e hipersalinas (38–150 g/L de salmuera). La concentración relativa de iones fue similar en ambos sistemas cloruro [sodio [sulfato [potasio [magnesio [calcio]. La radiación UVA-B incidente medida en ambos entornos mostró que la radiación UV-AB máxima alcanzó los 57,9 W·m⁻²al mediodía en La Brava, mientras que en Tebenquiche la UV-AB máxima alcanzó 53,4 W·m⁻²al mediodía.

Distribución y macromorfología de tapetes, domos y microbios microbianos

Los lagos Tebenquiche y La Brava muestran un gradiente de salinidad característico que resulta del aporte y evaporación de agua subterránea y/o superficial (Risacher et al.2003). A lo largo de los gradientes de salinidad, se desarrollaron diferentes ecosistemas microbianos: se encontraron mantos microbianos no litificantes ricos en materia orgánica a lo largo de la costa a baja salinidad (62 g/L) en Tebenquiche y, con el aumento de la salinidad (116 g/L), la cantidad de la precipitación mineral y, por lo tanto, la litificación también aumentaron. En La Brava, se observó la situación opuesta: los mantos estaban presentes cerca de la costa con una mayor salinidad (119 g/L) y microbolitas (es decir, mantos duros intermedios y totalmente litificados; Fig.2) se encontraron sumergidos en el lago donde prevalecía una menor salinidad (72 g/L). los

tabla 1 Parámetros fisicoquímicos medidos en la columna de agua de Laguna Brava y Laguna Tebenquiche, Salar de Atacama

	Unidades	La Brava	Tebenquiche
La temperatura	- C	24.6	21.5
pH	-	7.9	8.6
Físico-químico			
Oxígeno disuelto	miligramos por litro	3.75	2.20
Salinidad	gramos por litro	70.8	102.0
Conductividad	ms/cm	107.3	138.7
Clorofila a	miligramos por litro	-	2.875
fósforo total	miligramos por litro	1.70	1.41
ortofosfato	miligramos por litro	2.49	0.74
Amonio	miligramos por litro	0.24	-
Nutrientes			
Nitrógeno orgánico total	miligramos por litro	0.92	0.513
Nitrato	miligramos por litro	-	2.6
Nitrito	miligramos por litro	-	0.0002
silíce disuelta	miligramos por litro	32	96
Calcio	miligramos por litro	812	1,164
Magnesio	miligramos por litro	2,568	2,705
Iones principales			
Potasio	miligramos por litro	6,072	5,121
Sulfato	miligramos por litro	565	20,388
Sodio	miligramos por litro	17,810	40,640
Cloruro	miligramos por litro	43,057	64,290
Dureza	miligramos por litro	12,603	14,042
Materia orgánica	%	-	7.5
Carbono organico total	miligramos por litro	-	44.5
Otros parámetros ambientales			
Azufre total	miligramos por litro	-	10.2
azufre disuelto	miligramos por litro	-	6,876
Arsénico	miligramos por litro	-	2.3

El aumento de la incorporación de minerales en las esteras fue confirmado por el aumento de la resistencia mecánica durante el despliegue de los microelectrodos. En la zona sumergida de alta salinidad, prosperan extensas áreas de cúpulas duras (Fig. 1 antes de Cristo). Los tapetes microbianos blandos tienen una variedad de morfologías macroscópicas que incluyen pequeñas cúpulas, y cerebroides, serpientes y globular morfologías (Fig. 2a–e) (comparar con Dupraz et al. 2009; Glunk et al. 2011; Jahnert y Collins 2011). En algunas áreas, los mantos bulbosos acumulan gas en el subsuelo, como se ve en la sección transversal de la Fig. 2b. Los tapetes no litificados sumergidos tienen una apariencia rosada típica (Fig. 2a, d), sin embargo, cuando se expone al aire, una costra evaporítica blanca cubre la superficie (Fig. 2b). En la salinidad más alta observada (117 g/L), se forma una estructura de domo duro (Fig. 1 b); esta área de mayor salinidad (conductividad) apoya la formación de estructuras domales (Figs. 1 antes de Cristo, 2g, h). En La Brava, los microbiolitos crecen hacia arriba hasta llegar al agua/

interfaz de aire cuando continúan extendiéndose lateralmente y forman plataformas (Figs. 1C, 2i). Estos microbiolitos muestran una secuencia típica de capas de color blanco, verde, morado y oscuro (de arriba hacia abajo).

Mineralogía XRD–EDAX–SEM y determinación de materia orgánica

Los análisis XRD revelaron que las capas microbianas de Tebenquiche estaban compuestas predominantemente por halita (42 %) con contribuciones menores de calcita (22 %), yeso (22 %) y aragonito (12 %), y los sistemas evaporíticos domales de Tebenquiche consistían completamente en yeso; (Higo. 3a, b). En La Brava, los análisis mineralógicos de los tapetes microbianos revelaron halita (82 %) como componente mayoritario y aragonito (13 %) y calcita (7 %) como componentes minoritarios (Fig. 3C). Las microbiolitas de La Brava consistieron exclusivamente en aragonito (CaCO₃) (Higo. 3d).

La microscopía electrónica de barrido reveló que tanto las esteras como las cúpulas contenían microbios asociados con minerales: cianobacterias, diatomeas y otros microorganismos formaban parte de las estructuras litificadas. SEM y EDAX confirmaron los resultados mineralógicos obtenidos por XRD (Ver arriba; Fig. 3): tanto los tapetes microbianos de La Brava como los de Tebenquiche contenían minerales de aragonito (Fig. 4b), las cúpulas de Tebenquiche compuestas únicamente de yeso (Fig. 4e) y las microbiolitas de La Brava contenían aragonito (Fig. 4gramo). Se encontraron morfologías de cianobacterias en esteras y cúpulas (Fig. 4a, d). También se observaron bacterias asociadas a minerales de aragonito o yeso (Fig. 4ser). Las diatomeas estaban presentes en todas las muestras (Fig. 4c, f).

XRD reveló que la composición elemental de las capas litificadas estaba dominada por Si y O en la parte orgánica litificada con contribuciones menores de Mg, Na y P (Fig. 4f, i) o S y Ca en cúpulas de yeso (Fig. 4j) y la sílice en frustulas de diatomeas (Fig. 4h).

El contenido de materia orgánica de los diferentes sistemas de tapetes mostró un mayor contenido en tapetes blandos (no litificantes) (34±8.7 y 32±11.3 % C para Brava y Tebenquiche, respectivamente) que en contrapartes litificadas (19±5 % C en evaporitas de yeso de Tebenquiche y 16±6,8 % C en microbiolitos aragoníticos en Brava).

Perfiles de oxígeno y sulfuro

Los perfiles de profundidad mostraron un subsuelo típico O₂ máxima en todos los tipos de tapetes que resultan de la fotosíntesis oxigénica (Fig. 5). Los perfiles replicados (no mostrados) mostraron patrones similares, con ligeras diferencias en la profundidad y la magnitud del pico de oxígeno (p. ej., en las esteras de Tebenquiche, la profundidad promedio del O₂ pico fue de 1,79 mm con una desviación estándar de 0,24, y un O correspondiente a concentración promedio de 149 μM con una desviación estándar de 20,7; En los angeles

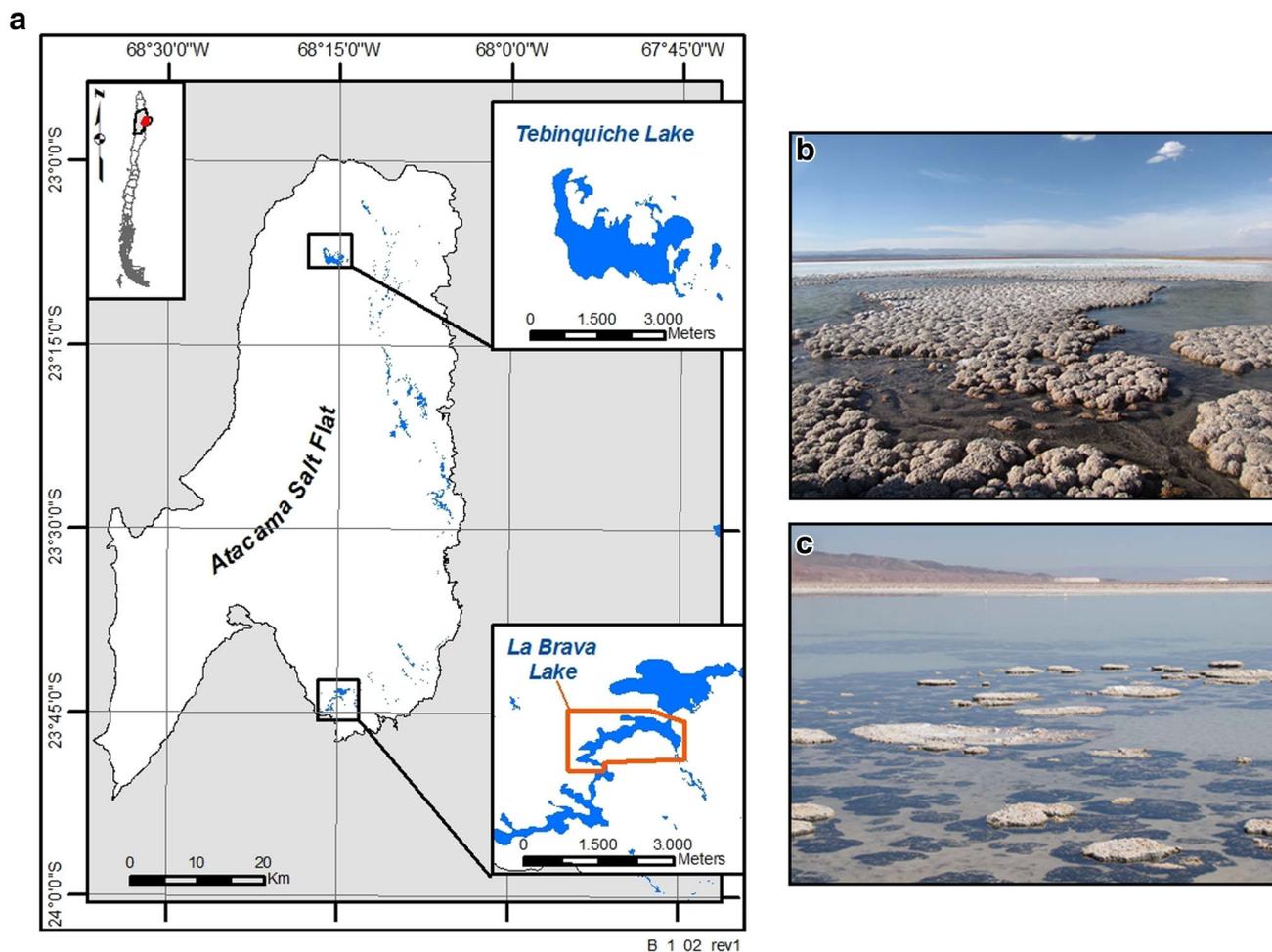


Figura 1a Ubicación del área de estudio, que consiste en un sistema de varios lagos. Los dos lagos de este estudio se describen en los dos insertos respectivos. b Panorámica de la Laguna Tebenquiche. c Panorámica de la Laguna La Brava

Microbiolitos Brava, profundidad media de la O_2 máximo fue de 2,72 mm, desviación estándar 0,33, con una concentración promedio correspondiente de 225 μ M, y desviación estándar de 24,7). Debido a las diferencias de salinidad y temperatura en La Brava y Tebenquiche (es decir, que dan como resultado diferentes cantidades de gas disuelto en la saturación en ambos sistemas), una comparación directa de O_2 concentraciones no es posible. Por lo tanto, usamos % de O_2 saturación por debajo al comparar el O_2 máximo concentraciones en los sistemas La Brava y Tebenquiche. Los valores máximos de saturación de oxígeno variaron desde un valor máximo de ca. 130–150 % O_2

en el tapete microbiano La Brava y el domo Tebenquiche (debajo de una costra de yeso de 5.5 mm de espesor) a [200 % en el tapete Tebenquiche (intermedio) y las microbiolitas La Brava (que tenían una costra carbonatada de 1–2 mm). Las alfombras con el O_2 más bajo (Tebenquiche hard, La Brava soft mats) tenían poco o nada de sulfuro libre en profundidad, mientras que las esteras con mayor O_2 picos (mats microbianos de Tebenquiche y microbianitos de La Brava)

mostró concentraciones de sulfuro [100 μ M en profundidad (Fig. 5).

Análisis de pigmentos

Aunque las muestras de Tebenquiche y La Brava tenían pigmentos en común, sus composiciones de pigmentos diferían marcadamente (Fig. 6; Mesa 2). La identidad de los pigmentos dominantes difirió entre los dos sitios (Tabla 2): Laguna Tebenquiche mostró una mayor cantidad de clorofila (Fig. 7c) y también mayor diversidad de pigmentos que Laguna Brava. Por ejemplo, licopeno, Chla, Bchlmi, La diadinoxantina [y dos pigmentos no identificados que eluyeron a los 20,73 y 23,37 min] fueron relativamente abundantes en Tebenquiche pero no se detectaron en La Brava. En contraste, las muestras de La Brava estuvieron dominadas por Echinenone, que fue muy minoritario en los tapetes de Tebenquiche y no se detectó en los domos de Tebenquiche. La diversidad de pigmentos en las esteras de Tebenquiche fue mucho mayor que en cualquiera de las de Tebenquiche

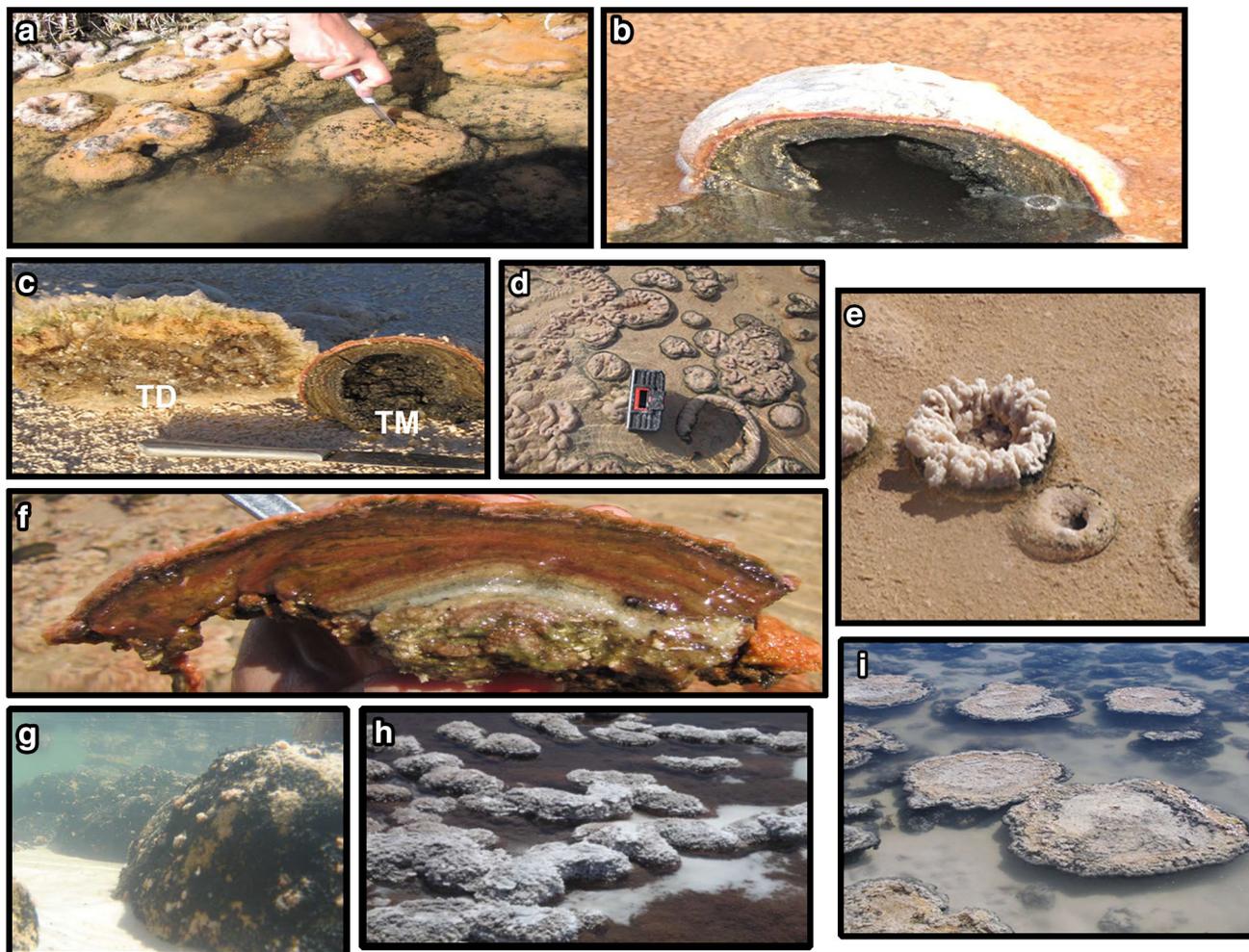


Figura 2 Imágenes macroscópicas de esteras y cúpulas de yeso: a Tapetes microbianos de la Laguna Tebenquiche. b Sección transversal de una estera bulbosa de la Laguna Tebenquiche. c Corte transversal de domo (TD) y tapete microbiano bulboso (TM) de la Laguna Tebenquiche. d Tapetes microbianos de La Brava, mostrando los típicos patrones de coliflor y serpiente.

mi Corteza mineral superpuesta a un manto microbiano emergido en La Brava. f Corte transversal de un tapete microbiano de La Brava. g Microbianitas sumergidas en forma de domo de La Brava. h Cúpulas aplanadas de la Laguna Tebenquiche. i Vista vertical de microbiolitos de La Brava

domos o en esteras y microbiolitos de La Brava (Fig. 7). Los derivados de licopeno y la fucoxantina fueron comunes en todas las muestras. Pigmentos como aloxantina, equinenona, bacterioclorofila-Cy algunos pigmentos no identificados eran comunes y relativamente abundantes en los tapetes de Tebenquiche y La Brava, pero no se detectaron en los domos de Tebenquiche y las microbiolitos de La Brava (Tabla 2).

Diversidad bacteriana

Las secuencias de piroetiquetas 16S bacterianas se clasificaron con un nivel de similitud de 0,97. En este nivel, las métricas de riqueza y diversidad fueron estadísticamente similares para la mayoría de las muestras con la excepción de TD (Tabla 3). En todas las muestras, las curvas de los colectores no alcanzaron una asíntota, lo que sugiere que se esperan más OTU con un esfuerzo de secuenciación más profundo (datos no mostrados). El Tebenquiche

Los domos de yeso (TD) formaron una notable excepción a la tendencia encontrada para todos los tapetes microbianos y muestras de microbios. En estas muestras, el número de OTU observados fue mucho menor y, en consecuencia, el estimador CHAO1 de TD también fue el más bajo del grupo. Los índices de diversidad Dominancia y Equidad muestran un patrón similar: el índice de Dominancia, que sugiere una mayor representación de un número limitado de OTU, es el más alto para TD y el índice de Equidad, que apunta a una distribución desigual entre los taxones, es el más alto. para la muestra TD. Todas las demás muestras mostraron índices similares de Dominancia baja y Equidad alta.

Esta diferencia de dominancia/equidad entre TD y el resto de las muestras también es clara cuando se comparan los fillos que están presentes en todas las muestras (Fig. 7). El domo de yeso parece menos diverso que las muestras de tapetes microbianos no litificados en este nivel, con un menor número de fillos.

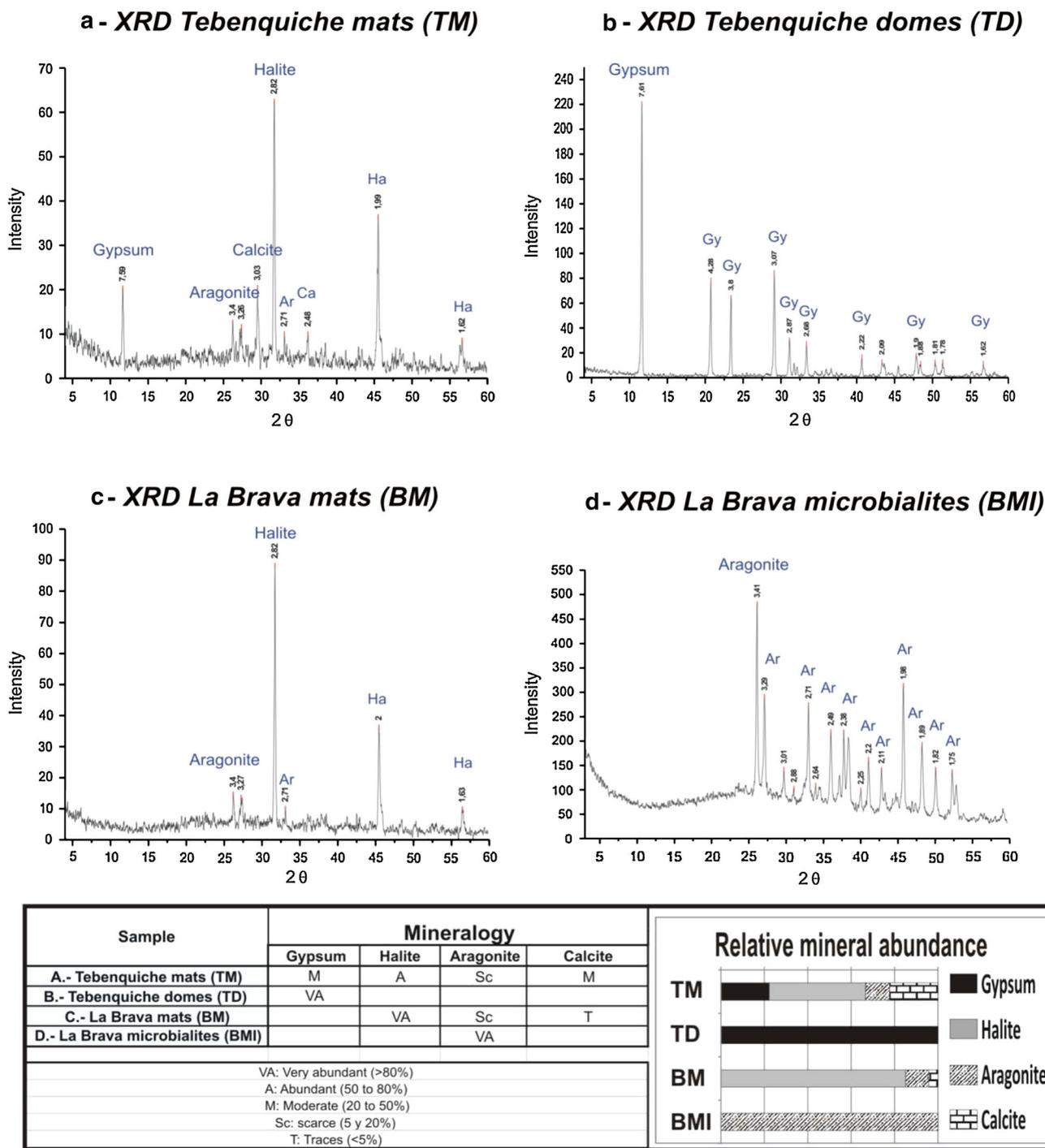


Fig. 3 Espectros XRD que muestran la composición mineral de las esteras y los microbios: a Mats microbianos de tebenquiche y b Cúpulas de tebenquiche. C Tapetes microbianos La Brava y d Microbialitos de La Brava. Abundancia de los principales minerales enumerados en la tabla debajo de los espectros

representando la mayoría de las secuencias. Tanto en TM como en TD, Bacteroidetes fue dominante, seguido de Proteobacteria. Estos dos grupos (phyla) representan más del 90 % de las secuencias en TD, lo que concuerda con los bajos valores de los estimadores de diversidad discutidos anteriormente. En comparación, estos dos filos solo representan el 60 % en TM.

La diversidad más baja de todas las muestras estudiadas se encontró en TD, que estuvo dominada por Bacteroidetes (49,1 %) y Proteobacteria (43,3 %) con la Alpha-Proteobacteria Rhodospirillales constituyendo la fracción mayoritaria (37,2 % del total de secuencias). Además, dentro de los dos filos más abundantes, las secuencias mostraron muy baja

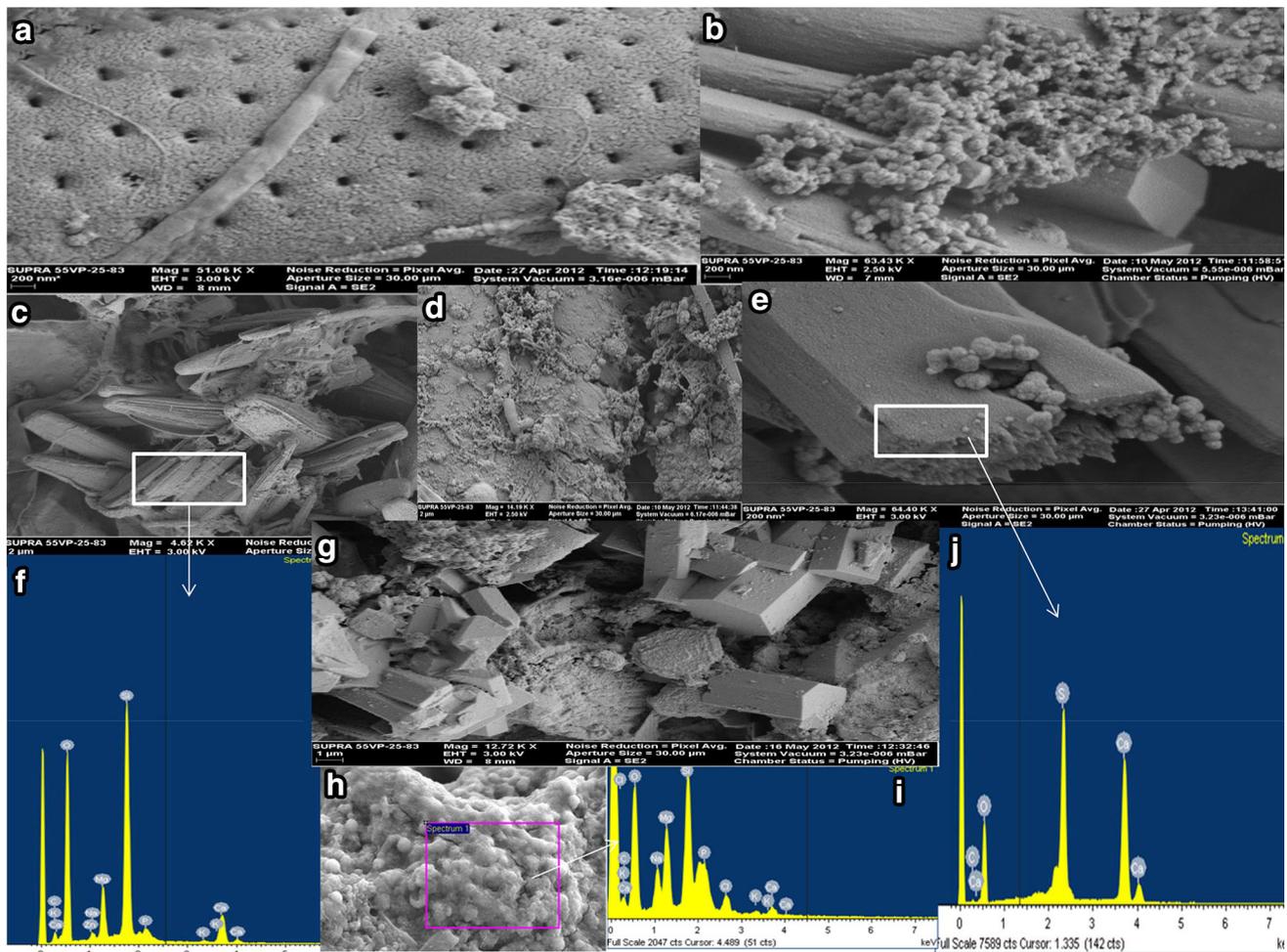


Figura 4 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM; a–e, g, h) imágenes y análisis de rayos X de energía dispersiva (EDAX; f, yo, j) de los ecosistemas microbianos estudiados: a) Cianobacterias superpuestas a frustulas de diatomeas en tapetes microbianos de Tebenquiche. b) Minerales de aragonito asociados con bacterias en tapetes microbianos de Tebenquiche. c) Diatomeas de un domo de Tebenquiche. d) cianobacterias (flecha) de una cúpula de Tebenquiche.

miBacterias sobre un cristal de yeso en una cúpula de Tebenquiche. F EDAX del área dominada por diatomeas (C) mostrando predominio de sílice. g Aragonito en estera de La Brava. h Cristal de fosfato que cubre las células microbianas. j EDAX del cristal de yeso (mi) mostrando abundancia de azufre y calcio

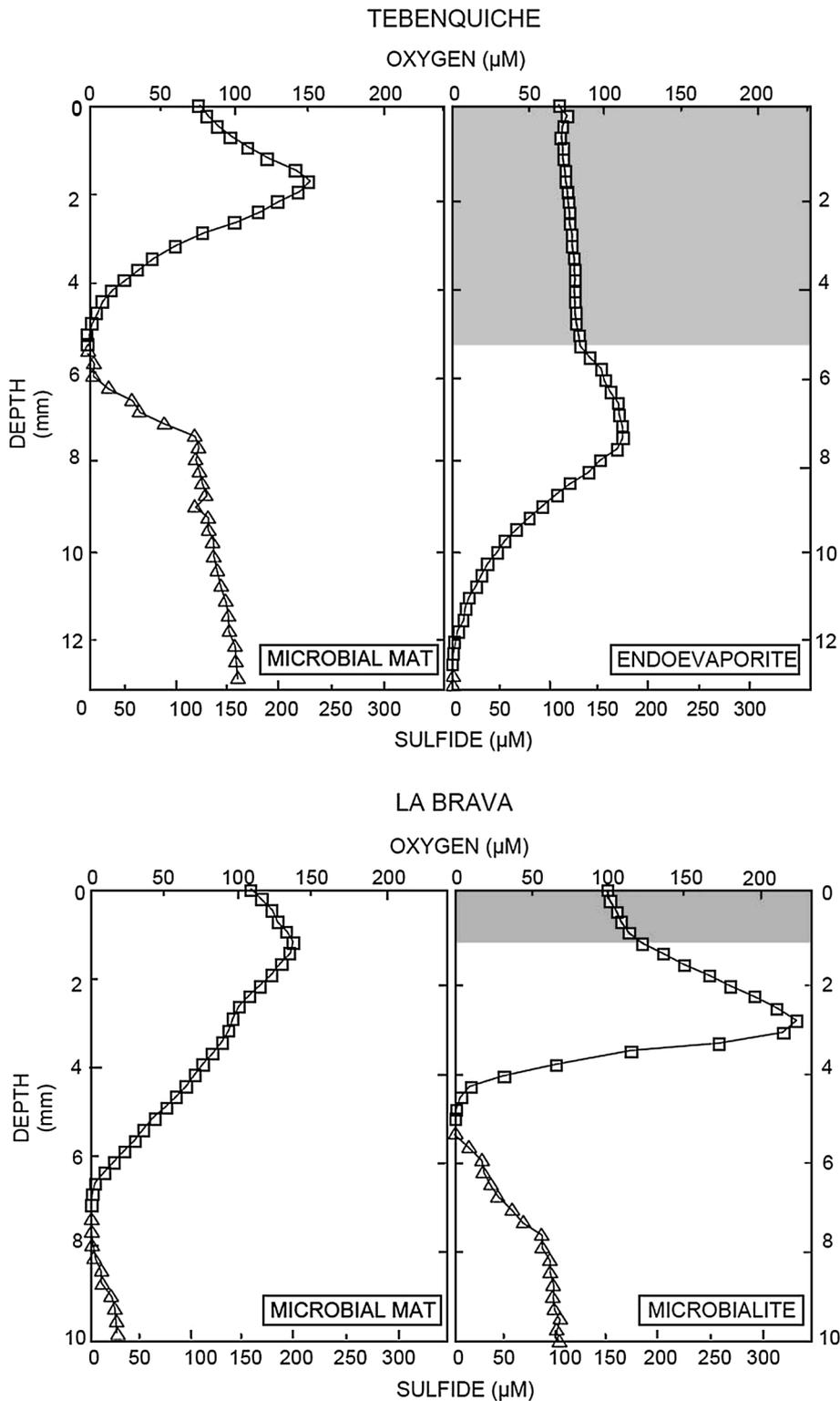
diversidad: el 99 % de las secuencias clasificadas como Bacteroidetes se afiliaron a la clase Sphingobacteria, orden Sphingobacteriales, familia Rhodothermaceae, y el 86 % de las secuencias proteobacterianas se afiliaron a la clase Alphaproteobacteria. TM también estuvo dominada por Bacteroidetes (38,9 %) y Proteobacteria (20,8 %), esta última con mayor aporte de las clases Alpha- y Deltaproteobacteria (5,7 y 7,5 % del total de secuencias, respectivamente). El filo Spirochaete (8,7 %) también estuvo bien representado en la muestra de TM.

El phylum dominante en BMI estuvo compuesto por Proteobacteria (41,8 %), con secuencias distribuidas entre las siguientes clases y órdenes: Alphaproteobacteria con Rhodospirillales (7,6 %), Gammaproteobacteria con Chromatiales (10,5 %) y Deltaproteobacteria con Syntrophobactery Desulfovibrionales (6 y 2.2 %,

respectivamente). Otros filos abundantes en BMI fueron Verrucomicrobia (11,8 %) y Bacterias no clasificadas (7,6 %). En BM Proteobacteria (22,3 %) fue el filo más abundante pero no tan abundante como en BMI. Dentro de la BM Proteobacteria, clases y órdenes, respectivamente, de Alphaproteobacteria con Rhodospirillales (7,5 %), y Deltaproteobacteria consintrofobacter (5,5 %) fue el que más contribuyó. Thermi con Deinococcales (11,8 %), Bacterias no clasificadas (12,1 %) y Spirochaetes (10,4 %) también fueron abundantes en MO. La comparación de las muestras de La Brava muestra que en BM ocho phyla tienen [5 % del total de secuencias, mientras que BMI solo tiene cuatro phyla con [5 % del total de secuencias.

Una característica destacable de todas las muestras analizadas es que un número significativo de secuencias están marcadas como no clasificadas, lo que acentúa la singularidad de estos entornos.

Figura 5 Perfiles de profundidad representativos de la concentración de O₂ (cuadrícula) y sulfuro (triángulos) medido in situ con microelectrodos durante el período de luz. El sombreado gris representa la corteza mineral en las esteras duras



Discusión

En este estudio es el primer informe de la presencia de ecosistemas microbianos sedimentarios (es decir, esteras microbianas,

domos de yeso y microbiolitas carbonatadas) en Laguna Tebenquiche y La Brava. El mineral dominante en los ecosistemas microbianos de La Brava fue el aragonito, mientras que en Tebenquiche fue el yeso. calcio de tebenquiche

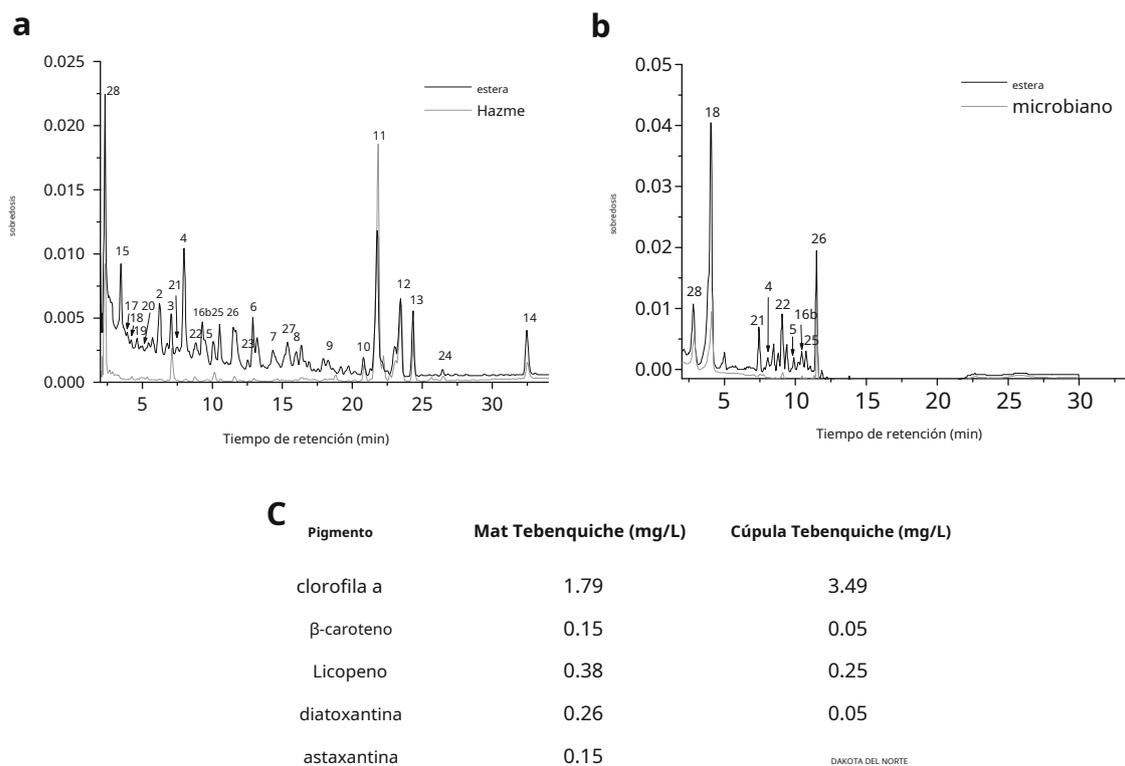


Figura 6 Cromatograma del extracto metanólico de tapetes microbianos, microbialitos y domos de yeso de la Laguna Tebenquiche (a) Laguna Brava (b) a 435 nm. Los cromatogramas de las muestras de mat son

representado por líneas negras y las de microbialitos y las muestras de los domos por líneas grises (c) Concentraciones de pigmentos en muestras de tapete y domo de la Laguna Tebenquiche (DAKOTA DEL NORTE no detectado)

Se espera que la salmuera de sulfato genere principalmente yeso de acuerdo con las salmueras andinas y húmedales como Atacama y Puquios (por ejemplo, Salar de Llamara y Laguna de Piedra; Demergasso et al. 2003; Svaletta et al. 2011). En contraste, la salmuera de carbonato de calcio de La Brava, típica de la zona marginal del Salar, posiblemente podría soportar la precipitación de carbonato, y la concentración elevada de Mg en esta salmuera favorecería la precipitación de aragonito sobre calcita (ver más abajo). La menor salinidad en La Brava en comparación con Tebenquiche podría explicar la precipitación de carbonatos. Más probablemente, la combinación de la composición química de la salmuera y la alta actividad microbiana en los sedimentos de La Brava (Fig. 5) apuntan a una posible organomineralización inducida por microbios, formando el CaCO_3 depósitos (debido a la unión específica de Ca a EPS; Dupraz et al. 2009). Este escenario es especulativo, ya que en este estudio no se evaluó el caudal anual ni la química del agua. Los estudios en curso ayudarán a aclarar los posibles mecanismos de mineralización.

En Tebenquiche, la transición de tapetes no litificantes (TM) a domos microbianos (TD) está acoplada a un aumento en la salinidad del agua específica del sitio. El escenario opuesto se encontró probablemente debido a la entrada de agua subterránea (Risacher et al. 2003) en La Brava, donde la salinidad del agua suprayacente disminuyó de BM a BMI. Con

Al aumentar la salinidad, los carbonatos precipitan primero, seguidos por los sulfatos y finalmente la halita (Usiglio 1849). A bajas concentraciones de Mg, se favorece la precipitación de calcita sobre la de aragonito (Flügel 2004). Como resultado, la precipitación mineral en el Salar de Atacama no está necesariamente correlacionada con la salinidad, sino con la composición química real del agua del sitio. Además, se ha demostrado que el EPS, que es un componente principal de las esteras, se une fuertemente a cationes como Ca^{2+} y en menor medida Mg^{2+} (Decho 2000; Dupraz y Visscher 2005; Braissant et al. 2007, 2009). La capacidad de unión específica del EPS puede diferir con diferentes comunidades de tapetes y varía con la profundidad debido a la actividad microbiana (Braissant et al. 2009), cuyos procesos cambian la química del agua intersticial de la estera. Por lo tanto, es concebible que si la capacidad de unión de Ca es alta, la precipitación de halita no está precedida por la precipitación de aragonito (o calcita) y/o yeso. Alternativamente, la eliminación de DIC (carbono inorgánico) por parte de autótrofos fijadores de carbono podría reducir la concentración de carbonato y, como resultado, disminuir el índice de saturación de carbonato de calcio. Este escenario se aplicaría a una alfombra joven (activa) que está sujeta a evaporación. Finalmente, un escenario alternativo y más plausible para la presencia de halita en la estera no litificante es la unión y captura de este mineral. La capacidad de atrapar y aglutinar las partículas de sedimento por los mantos ricos en materia orgánica, que

Tabla 2 Distribución de pigmentos en mat, domo y muestras de microbiota de Tebenquiche y La Brava

Tiempo de retención (min)	Cima	Pigmento relacionado	Tebenquiche		La Brava	
			Estera	Hazme	Estera	microbialita
2.85	28	390–(450)–(580)	–	–	0.204	0.142
3.47	17	330–410–550–610–670	0.365	–	–	–
3.55	15	Zeaxantina	0.090	–	–	–
3.89	18	397–(465)–(500)–660	0.090	–	–	–
4.21	19	Equinona	0.057	–	1.000	0.296
4.88	20	(400)–410–615	0.000	–	–	–
6.21	2	diatoxantina	0.142	–	–	–
7.03	3	Licopeno	0.073	0.048	–	–
7.78	21	325–(350)–410–615–660	0.057	–	0.012	–
7.90	4	435–465–(517)	0.170	–	0.057	–
8.83	22	Derivado de Licopeno	0.036	0.008	0.222	0.022
9.99	5	aloxantina	0.044	0.015	0.109	–
10.49	16b	bacterioclorofilaC	0.062	–	0.110	–
10.54	25	430–476	0.081	–	0.107	–
11.52	26	fucoxantina	0.056	0.007	0.350	0.124
12.52	23	435–675	0.015	–	–	–
12.84	6	astaxantina	0.081	–	–	–
14.48	7	420–470	0.030	–	–	–
15.36	27	(390)–415–655	0.074	–	–	–
16.30	8	310–380–430–685	0.028	–	–	–
18.58	9	bacterioclorofilad	0.021	–	–	–
20.73	10	407–650	0.031	0.029	–	–
21.68	11	Clorofilaa	0.264	0.516	–	–
23.37	12	410–650	0.264	0.208	–	–
24.26	13	bacterioclorofilami	0.106	0.090	–	–
26.45	24	diadinoxantina	0.009	0.008	–	–
32.43	14	b-caroteno	0.084	0.029	–	–

Las áreas de los picos se proporcionan como un indicador de las cantidades relativas de pigmentos; - indica que no se observó ningún pico

se caracterizan por grandes cantidades de EPS, ha sido bien establecido (por ejemplo, Dupraz y Visscher2005; Dupraz et al. 2011).

La precipitación de carbonato en las esteras involucra un "motor de alcalinidad" (metabolismo de la comunidad microbiana que genera alcalinidad de carbonato) y la presencia de sustancias exopoliméricas orgánicas (EPS), que no solo es importante como matriz de unión de Ca sino también como sitio de nucleación y crecimiento de minerales. Por ejemplo, la fotosíntesis oxigénica y anoxigénica y la reducción de sulfatos promueven la precipitación de carbonatos, y la respiración aeróbica y la oxidación de sulfuros favorecen la disolución (Visscher et al.1998; Dupraz y Visscher2005). CaCO₃Los cristales estaban presentes en las esteras microbianas (Figs.3b,5) probablemente muy cerca de la reducción activa de sulfato (p. ej., los órdenes Deltaproteobacterial: Desulfovibrionales y sintrofobacter), lo que podría explicar la precipitación de carbonatos.

Los ecosistemas microbianos encontrados en los dos lagos del desierto de Atacama se dividen en tres categorías: tapetes no litificantes encontrados en La Brava (BM) y Tebenquiche (TM),

plataformas litificantes o microbialitas en La Brava compuestas de aragonito (BMI) y sistemas endoevaporíticos litificantes en Tebenquiche que forman estructuras domales que consisten en yeso (TD). Esta clasificación permite realizar comparaciones con respecto a la diversidad de Eubacterias a dos niveles: entre lagos (La Brava vs Tebenquiche) y entre ecosistemas de tapetes tapetes no litificantes vs litificados (es decir, domos de yeso y microbialitas aragoníticas). Cabe señalar que este estudio no incluyó la diversidad Archaeal, y por lo tanto, los resultados y conclusiones presentan solo una visión parcial de los sistemas que se investigaron en este estudio.

Todas las métricas de diversidad (Tabla3) indicó que TM, BM y BMI mostraron mayor abundancia, diversidad y equidad que el TD. Los resultados previos de los tapetes microbianos en las salinas de Guerrero Negro, México, también mostraron una gran complejidad biológica de estos ecosistemas béticos, lo que sugiere que existen mecanismos de retroalimentación positiva entre la complejidad química y la diversidad biológica (Ley et al. 2006). De hecho, la diversidad en ambos ambientes de nuestro estudio difiere enormemente cuando se compara a nivel de phylum:

Figura 7 Abundancia a nivel de filo basada en la clasificación de secuencias de ARNr 16S. Barras verticales reflejan el porcentaje de secuencias de ARNr 16S asignadas a cada filo usando QIIME (Caporaso et al. 2010). Las proteobacterias representan uno de los grupos mayoritarios, particularmente en las muestras de La Brava.

Bacteroidetes son dominantes en las muestras de Tebenquiche. Las secuencias que no se pudieron asignar a ningún filo (con un umbral de confianza del 80 %) se etiquetan como "Sin clasificar". Aproximadamente 15 filos (dependiendo de la muestra) con contenidos $\leq 1\%$ se agrupan como "Filos menores"

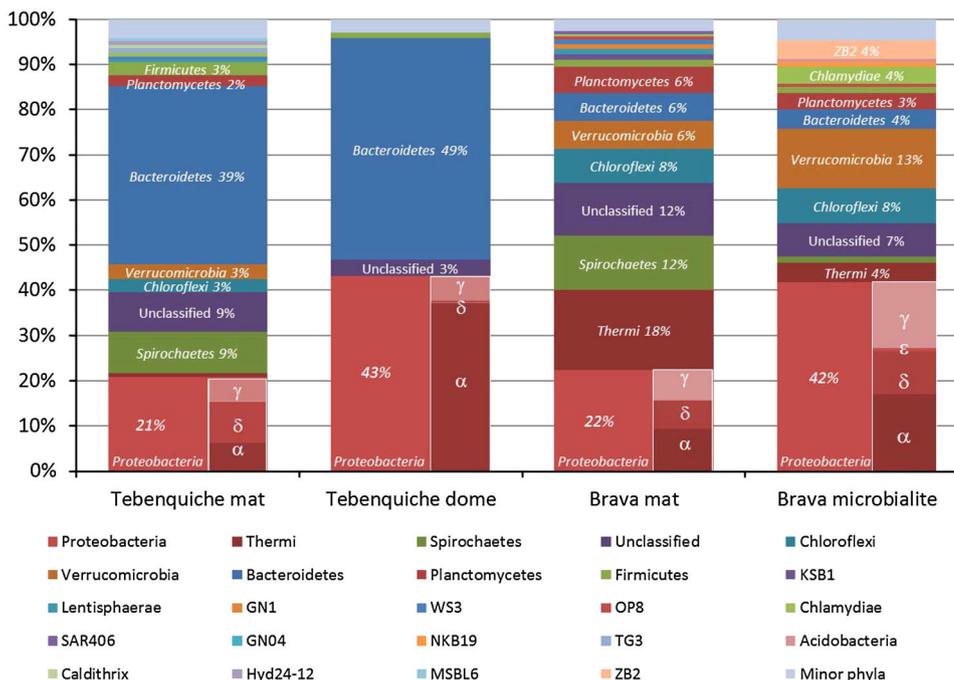


Tabla 3 Métricas de diversidad para los entornos muestreados, utilizando secuencias de la región V4 del rDNA 16S agrupadas en un nivel de similitud de 0,97 y normalizadas a 1500 secuencias por muestra

UTO del ecosistema	CHA01 al 97 % de similitud	Dominio	Equidad	Observación OTU	Shannon biodiversidad índice	Índice de Simpson
tapete de tebenquiche	592 (504/725)	0,037 (0,036/0,037)	0,795 (0,794/0,796)	335 (331/337)	6.668 (6.650/6.683)	0,963 (0,963/0,964)
cúpula tebenquiche	242 (186/350)	0,162 (0,149/0,175)	0,580 (0,566/0,592)	129 (119/139)	4.065 (3.960/4.176)	0,838 (0,825/0,851)
alfombra brava	527 (462/625)	0,031 (0,028/0,033)	0,815 (0,809/0,823)	337 (325/348)	6.841 (6.777/6.914)	0,969 (0,967/0,972)
Microbiano Brava	614 (520/754)	0,032 (0,030/0,034)	0,787 (0,780/0,794)	331 (321/343)	6.591 (6.510/6.673)	0,984 (0,975/0,977)
Socompa (a)	710 (592/885)	0,023 (0,021/0,025)	0,805 (0,793/0,814)	348 (328/368)	6.797 (6.685/6.922)	0,977 (0,975/0,977)

Los intervalos de confianza al 95 % se muestran entre paréntesis. Datos del estromatolito de Socompa (número de acceso SRA SRA061755, (Farías et al. 2013)) se muestran para comparar

Thermi (Deinococci), Verrucomicrobia (Spartobacteria) presentaron una abundancia relativamente alta en los sistemas carbonatados (ie, La Brava), pero estuvieron virtualmente ausentes en los domos de yeso (Tebenquiche). En contraste, Bacteroidetes fue dominante en las endoevaporitas de Tebenquiche y subrepresentado en los depósitos carbonatados de La Brava. Resultados similares se observaron en otros sistemas microbianos andinos: en los estromatolitos de Socompa, que se forman a través de la precipitación de aragonito microbiano, los Deinococci estuvieron relativamente bien representados (7 %), pero los Bacteroidetes casi no fueron detectados (1 %) (Farías et al. 2013).

Como se mencionó anteriormente, Deinococcus-Thermus fue mucho más abundante en La Brava que en Tebenquiche (BM 18 % y BMI 4 %, y $\leq 1\%$ en TM y TD). Una posible explicación para esta observación es que en las esteras (BM) y los microbialitos de aragonito (BMI), las comunidades bacterianas están más expuestas a los rayos UV que en los domos de yeso: los rayos UV son

apagada por la costra de yeso y minimizada la exposición a las comunidades endoevaporíticas. Los domos de yeso son un refugio para las comunidades endoevaporíticas al ofrecer protección contra la radiación excesiva y la desecación (Oren et al. 1995). Alta abundancia de Deinococcus también se informó en varios sistemas microbianos de gran altitud encontrados en los mantos silíceos de Obsidian Pool a 2400 m snm en el PN de Yellowstone, y en la capa superior rosada de estromatolitos de Socompa a 3600 m snm en los Andes argentinos (Farías et al. 2013). El carotenoide deinoxantina de Deinococcus daría a las microbialitas de Socompa y al BM su apariencia rosada. Este filo es generalmente un contribuyente menor a la diversidad de microbios de baja altitud (Baumgartner et al. 2009a,b; Mobberley et al. 2012). En base a estas observaciones, planteamos la hipótesis de que Deinococcus prolifera a gran altura, lo que proporciona una ventaja selectiva para superar a otros microorganismos en una alta UV

irradiancia, ambiente anóxico y rico en materia orgánica (es decir, la superficie de la alfombra), y que su pigmentación proporciona protección contra la luz ultravioleta para los otros miembros de la comunidad de la alfombra.

En contraste con el domo de yeso de Tebenquiche, el filo Bacteroidetes dominó los domos de yeso de Tebenquiche (49 % del total de secuencias) y los tapetes microbianos (39 % del total de secuencias), pero estuvo prácticamente ausente en los sistemas de La Brava (6 % en BM y 4 % en BMi). Este grupo filogenético se observa comúnmente en ambientes acuáticos y sedimentos, incluidas aguas dulces y marinas (Bowman et al.2000; Kirchman2002; Humayoun et al.2003). Los bacteroidetes son un filo dominante en los sistemas hipersalinos, incluidos los tapetes microbianos (Ley et al.2006; Verde et al.2008) y microbianos (Baumgartner et al.2009b; Vischer et al. 2010). De manera similar, Bacteroidetes fue un grupo dominante tanto en muestras de agua como de sedimentos de lagos hipersalinos de gran altitud de los Andes y la meseta tibetana.

(Demergasso et al.2004,2008,2010; Dorador2007; Jiang et al.2007). En un lago hipersalino poco profundo en Eleuthera, Bahamas, los mantos litificantes y no litificantes a lo largo de un transecto generalmente mostraron una contribución de 6 a 10 veces mayor de Bacteroidetes en los sistemas litificantes (Baumgartner et al. 2009b). Esta tendencia de mayor contribución a la diversidad total en los sistemas litificantes es similar a nuestra observación para las esteras y endoevaporitas de Tebenquiche. También se reportó un predominio de Bacteroidetes en domos de yeso (endo)evaporítico de la laguna Llamara en el Salar de Puquios (inédito). Parece que los Bacteroidetes aumentan su presencia con el aumento de la salinidad y posiblemente también estén asociados con (endo)evaporitas de yeso, pero no con microbianas de carbonato de calcio.

Las espartobacterias, un subfilo de Verrucomicrobia, estuvieron bien representadas principalmente en el IMC (13 %), pero también estuvieron presentes en las esteras (6 % BM–3 % TM). Este grupo bacteriano se encuentra típicamente en el suelo o asociado con nematodos.

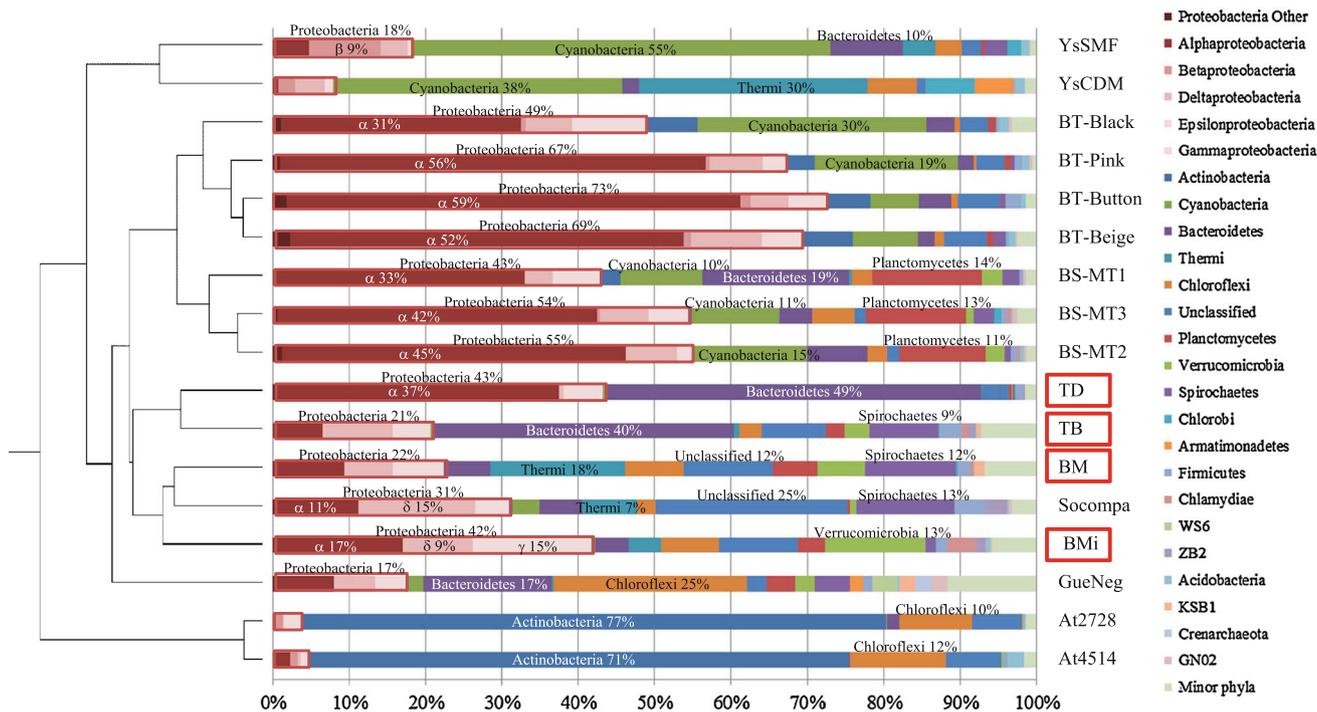


Figura 8 Abundancia a nivel de filo basada en la clasificación de secuencias de ARNr 16S utilizando QIIME (Caporaso et al.2010). Las secuencias que no se pudieron asignar a ningún filo (con un umbral de confianza del 80 %) se representan como "Sin clasificar". Aproximadamente 15 filos (dependiendo de la muestra) con contenidos $\geq 2\%$ se agrupan como "Filos menores". Diferentes tapetes y microbios de este estudio (Laguna Tebenquiche: TD, domo Tebenquiche; TM, tapete Tebenquiche) y Laguna Brava (IMCmicrobiolita brava, BM Estera Brava, SRA061755, este estudio) se compararon con otros sistemas de esteras microbianas y microbiolitos: estromatolitos de Socompa (Socompa. Número de acceso de SRA SRP007748; Farías et al.2013), suelos hiperáridos de Atacama (At2728 y At4514. SRA030747; Neilson et al.2012), estromatolitos de Yellowstone (YsCDMestromatolito expuesto, YsSMF estromatolito sumergido)

Pepe-Ranney et al.2012), estromatolitos de Highborne Cay, Bahamas (BS-MT1. BS-MT2. BS-MT3. Números de acceso de GenBank FJ911975–FJ912833; Baumgartner et al.2009a), trombolitos de Highborne Cay, Bahamas (BT-Black. BT-Pink. BT-Button. BT-Beige. SRX030166; Moberley et al.2012), y el tapete microbiano Guerrero Negro, México (GueNeg. Números de acceso de GenBank DQ329539 a DQ331020 y DQ397339 a DQ397511; Ley et al. 2006). Los análisis se realizaron en conjuntos de datos submuestreados que contenían 224 secuencias (correspondientes a muestras de estromatolitos de Bahamas, el conjunto de datos más pequeño). Las similitudes de las comunidades de esteras microbianas comparadas se derivaron de la métrica de Bray Curtis calculada a nivel de filo. Se obtuvieron resultados similares usando secuencias 980 y omitiendo muestras de estromatolitos de Bahamas del análisis.

que se encuentran comúnmente en esteras (Baumgartner et al. 2009a,b; Ley et al. 2006), pero también fueron abundantes alrededor de las fumarolas en Socompa, (Costello et al. 2009) un volcán activo (6051 m snm) cerca de nuestro sitio de campo y en tapetes microbianos mesófilos alcalinos en Rumania (Coman et al. 2013).

A pesar de algunas marcadas diferencias, las diversidades de Tebenquiche y La Brava son más similares entre sí que con otros tapetes microbianos y microbiolitos, incluidos los que se encuentran en ambientes marinos abiertos, hipersalinos e hidrotermales (Fig. 8), con la excepción de los estromatolitos cercanos de Socompa. No sorprende que las condiciones fisicoquímicas y geoquímicas extremas características de los ecosistemas andinos de gran altitud favorezcan el crecimiento de filamentos microbianos similares, que difieren de los filamentos que se encuentran en los estromatolitos y trombolitos a nivel del mar (Baumgartner et al. 2009a; Mobberley et al. 2012, Farías et al. 2013). Una comparación adicional muestra que las diversidades de microbiolitos de Tebenquiche y La Brava son más similares a las de los estromatolitos y trombolitos aragoníticos marinos abiertos de las Bahamas (Reid et al. 2000; Myshra et al. 2010) que a la de los tapetes siliciclásticos hipersalinos de Guerrero Negro, México (Ley et al. 2006). Esto sugiere que podría existir una correlación entre la composición mineral y la diversidad o, alternativamente, que la salinidad que controla qué mineral precipita determina la diversidad microbiana de un sistema dado.

Los domos de yeso se encuentran en asociación con (endo)evaporitas compuestas de diversas comunidades que incluyen diatomeas, cianobacterias y bacterias de azufre púrpura dispuestas a lo largo de gradientes opuestos de luz y sulfuro de hidrógeno. El EPS producido por varios microorganismos, en particular las cianobacterias, podría actuar como sitio para la nucleación de selenita (una variedad de yeso), formando el sitio de nucleación para la precipitación de yeso similar al observado para la precipitación de carbonato (Fig. 3e, g, h). Las SRB son capaces de disolver el yeso cuando se usa sulfato para la respiración (Ollivier et al. 1994) y los oxidantes de sulfuro (quimiolitotróficos y fototróficos) pueden precipitar el yeso (Kelly y Harrison 1989; Petrash et al. 2012). Petrash et al. 2012 propuso un mecanismo de formación de CaCO_3 de seis pasos- y CaSO_4 - que contienen trombolitos en Venezuela. Según su modelo, el yeso o el carbonato de calcio serán el producto mineral predominante, según la composición de la comunidad microbiana y la química del agua (p. ej., $[\text{Mg}^{2+}]$ concentración). Existen comunidades en capas (es decir, esteras microbianas) dentro de las costras de yeso en numerosos lugares: Francia (Caumette 1993; Caumette et al. 1994), Italia (Margheri et al. 1987), Egipto (Taher et al. 1995; Ali Bik et al. 2011), Israel (Oren et al. 2009), México (Spear et al. 2003; Vogel et al. 2010), Venezuela (Petrash et al. 2010) y en varios otros sitios hipersalinos (Rothschild et al. 1994; Aires y Keely 2003). Además, el yeso-

que contienen microbialites ocurren con frecuencia en el registro fósil (Peryt 1996; Peryt et al. 2004), y posiblemente existan en Marte (Gendrin et al. 2005; Vogel et al. 2009).

Expresiones de gratitud Este trabajo fue apoyado por Préstamo BID PICT 2010 No. 1788-Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y Loreal-CONICET-UNESCO por el premio Mujer en la Ciencia. Flores, Kurth, Rasuk y Maldonado son becarios del CONICET. También queremos agradecer a la Lic. Cecilia Genazzini y al Sr. Pablo García de CONICET por su asistencia en el laboratorio de DRX.

Referencias

- Airs RL, Keely BJ (2003) Un estudio de alta resolución de la clorofila y distribuciones de pigmentos de bacterioclorofila en una capa microbiana de calcita/yeso. *Geoquímica orgánica* 34: 539–551
- Ali-Bik MW, Metwally HI, Kamel MG, Wali AM (2011) Yeso y biomineralización de dolomita en nicho microbiano endoevaporítico, EMISAL, Fayium, Egipto. *Environ Earth Sci* 62:151–159
- Alonso H, Risacher F (1996) Geoquímica del Salar de Atacama, parte 1: origen de los componentes y balance salino. *Andina Geol* 23: 113–122
- Arp G, Thiel V, Reimer A, Michaelis W, Reitner J (1999a) Biopelícula los exopolímeros controlan la formación de microbios en los manantiales termales que descargan en el lago alcalino Pyramid, Nevada, EE. UU. *Sedimento Geol* 126: 159–176
- Arp G, Reimer A, Reitner J (1999b) Calcificación en cianobacterias biopelículas de lagos de sal alcalina. *Eur J Phycol* 34:393–403
- Babel M (2004) Modelos para evaporita, selenita y yeso micro-depósito de bialita en antiguas cuencas salinas. *Acta Geol Pol* 54:219–249
- Baumgartner LK, Spear JR, Buckley DH, Pace NR, Reid RP, Dupraz C, Visscher PT (2009a) Diversidad microbiana en estromatolitos marinos modernos, Highborne Cay, Bahamas. *Environ Microbiol* 11: 2710–2719
- Baumgartner LK, Dupraz C, Buckley DH, Spear JR, Pace NR, Visscher PT (2009b) Riqueza de especies microbianas y actividades metabólicas en tapetes microbianos hipersalinos: información sobre la formación de firmas biológicas a través de la litificación. *Astrobiology* 9:861–874
- Bevacqua P (1992) Geomorfología del salar de Atacama y estratigrafía de su núcleo y delta, Segunda Región de Antofagasta, Chile. Memoria de Título (Inédito), Universidad Católica del Norte, Facultad de Ingeniería y Ciencias Geológicas, 284 p. Antofagasta
- Beveridge TJ (1981) Ultraestructura, química y función del pared bacteriana. *Int Rev Cytol* 72: 229–317
- Borrego CM, Garcia-Gil LJ (1994) Separación de bacterioclorofila homólogos de bacterias fotosintéticas verdes por HPLC de fase inversa. *Fotosint Res* 41:157–163
- Bowman JP, Rea SM, McCammon SA, McMeekin TA (2000) Diversidad y estructura comunitaria dentro de sedimentos anóxicos de lagos meromíticos de salinidad marina y una cuenca marina meromítica costera, Vestfold Hills, Antártida oriental. *Microbioma ambiental* 2:227–237
- Braissant O, Cailleau G, Aragno M, Verrecchia EP (2004) Biología mineralización inducida icamente en el árbol *Milicia excelsa* (Moraceae): sus causas y consecuencias para el medio ambiente. *Geobiología* 2:59–66
- Braissant O, Decho AW, Dupraz C, Glunk C, Przekop KM, Visscher PT (2007) Sustancias exopoliméricas de bacterias sulfato-reductoras: interacciones con el calcio a pH alcalino e implicación para la formación de minerales de carbonato. *Geobiología* 5: 401–411

- Braissant O, Decho AW, Przekop KM, Gallagher KL, Glunk C, Dupraz C, Visscher PT (2009) Características y rotación de sustancias exopoliméricas en una alfombra microbiana hipersalina. *FEMS Microbiol Ecol* 67:293–307
- Burne RV, Moore LS (1987) Microbiolitas: organosedimentarias depósitos de comunidades microbianas bentónicas. *Palaios* 2:241–254
- Cabrera S, Pizarro G (1994) Cambios en la clorofilaconcentración, abundancia de copépodos y penetración de UV y PAR en la columna de agua durante el agotamiento del ozono en el lago antártico Kitesh. *Adv Limnol/Ergeb Limnol* 43:123–134
- Canfield DE, Sorensen KB, Oren A (2004) Biogeoquímica de un ecosistema microbiano con incrustaciones de yeso. *Geobiología* 2:133–150
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Gonzalez Peña A, Goodrich AK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters WA, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R (2010) QIIME permite el análisis de datos de secuenciación comunitaria de alto rendimiento. *Métodos nacionales* 7: 335–336
- Caumette P (1993) Ecología y fisiología de las bacterias fototróficas y bacterias reductoras de sulfato en salinas marinas. *Experiencia* 49:473–481
- Caumette P, Matheron R, Raymond N, Relexans J (1994) Microbiano esteras en los estanques hipersalinos de las salinas mediterráneas (Salinsde-Giraud, Francia). *FEMS Microbiol Ecol* 13:273–286
- Cody AM, Cody RD (1989) Evidencia de inducción microbiológica de [101] hermanamiento de montmartre de yeso (CaSO₄·2H₂O). *J Cryst Crecimiento* 98: 721–730
- Coman C, Drugă B, Hegedus A, Sicora C, Dragoș N (2013) Archaeal y diversidad bacteriana en dos esteras microbianas de aguas termales de una región geotérmica en Rumania. *Extremófilos* 17:523–534
- Costello EK, Halloy SR, Reed SC, Sowell P, Schmidt SK (2009) Islas de biodiversidad sustentadas por fumarolas dentro de un paisaje hiperárido de gran altitud en el volcán Socompa, Puna de Atacama, Andes. *Appl Environ Microbiol* 75:735–747
- Decho AW (2000) Microdominios de exopolímero como agente estructurante para la heterogeneidad dentro de las biopelículas microbianas. En: Riding RE, Awramik SM (eds) *Sedimentos microbianos*. Springer, Berlín, págs. 9–15
- Demergasso C, Chong G, Galleguillos P, Escudero L, Martinez-Alonso M, Steve I (2003) Tapetes microbianos del salar de Llamara, norte de Chile. *Rev Chil Hist Nat* 76:485–499
- Demergasso C, Chong G, Galleguillos P, Escudero L, Casamayor EO, Alió C (2004) Distribución de la diversidad genética procariótica en lagos atalashalinos del Desierto de Atacama, Norte de Chile. *FEMS Microbiol Ecol* 48: 57–69
- Demergasso C, Escudero L, Casamayor EO, Chong G, Balague V, Pedros-Alió C (2008) Novedad y heterogeneidad espacio-temporal en la diversidad bacteriana del lago hipersalino Tebenquiche (Salar de Atacama). *Extremófilos* 12: 491–504
- Demergasso C, Dorador C, Meneses D, Blamey J, Cabrol N, Escudero L, Chong G (2010) Patrón de diversidad procariótica en ecosistemas de altura del Altiplano chileno. *J Geophys Res* 115:G00D09
- Dorador C (2007) Comunidades microbianas en zonas altioplánicas de gran altitud Humedales del norte de Chile: fitogenia, diversidad y función. Tesis doctoral, Christian-Albrechts-Universität, Kiel, Alemania, p 166
- Dorador C, Meneses D, Urtuvia V, Demergasso C, Vila I, Witzel KP, Imhoff JF (2009) Diversidad de Bacteroidetes en cuencas evaporíticas salinas de altura en el norte de Chile. *J Geophys Res* 114: G00D05
- Douglas S (2005) Huellas mineralógicas de la vida microbiana. *soy j sci* 305:503–525
- Dupraz C, Reid RP, Visscher PT (2011) Modern microbialites. En: Reitner J, Thiel V (eds) *Enciclopedia de geobiología*. Springer, Berlín, págs. 617–634
- Dupraz C, Visscher PT (2005) Litificación microbiana en el medio marino estromatolitos y tapetes hipersalinos. *Tendencias Microbiol* 13:429–438
- Dupraz C, Visscher PT, Baumgartner LK, Reid RP (2004) Microbio-interacciones minerales: precipitación temprana de carbonato en un lago hipersalino (Isla Eleuthera, Bahamas). *Sedimentología* 51:745–765
- Dupraz C, Reid RP, Braissant O, Decho AW, Norman RS, Visscher PT (2009) Procesos de precipitación de carbonato en tapetes microbianos modernos. *Ciencia de la Tierra Rev* 96:141–162
- Eaton AD, Clesceri LS, Rice EW, Greenberg AE, Franson MAH (2005) Métodos estándar para el examen de agua y aguas residuales: edición del Centenario. Asociación Estadounidense de Salud Pública, Washington DC, pág. 1368
- Fariás ME, Rascovan N, Toneatti DM, Albarracín VH, Flores MR, Poiré DG, Collavino MM, Aguilar OM, Vázquez MP, Polerecky L (2013) El descubrimiento de estromatolitos desarrollándose a 3570 m sobre el nivel del mar en un lago volcánico de gran altura Socompa, Andes argentinos. *PLoS uno* 8:e53497
- Flügel E (2004) Microfacies de rocas carbonatadas. Springer, Berlin
- Gallagher KL, Braissant O, Kading TJ, Dupraz C, Visscher PT (2010) Artefactos relacionados con fosfato en experimentos de mineralización de carbonato. *J Sedimento Res* 83:37–49
- Gendrin A, Mangold N, Bibring JP, Langevin Y, Gondet B, Poulet F, Bonello G, Quantin C, Mustard J, Arvidson R, LeMouélic S (2005) Sulfatos en terrenos estratificados marcianos: la vista expresa de OMEGA/Mars. *Ciencia* 307: 1587–1591
- Gerdes G (2007) Estructuras que dejan los tapetes microbianos modernos en su albergar sedimentos. En: Schieber J, Bose PK, Eriksson PG, Banerjee S, Sarkar S, Altermann W, Catuneau O (eds) *Atlas de características de esteras microbianas conservadas dentro del registro de rocas clásticas*. Elsevier, Amsterdam, págs. 5–38
- Gerdes G, Dunajtschik-Piewak K, Riege H, Taher AG, Krumbein WE, Reineck HE (1994) Diversidad estructural de partículas de carbonato biogénico en esteras microbianas. *Sedimentología* 41:1273–1294
- Glunk C, Dupraz C, Braissant O, Gallagher KL, Verrecchia EP, Visscher PT (2011) Precipitación de carbonato mediada por microbios en un lago hipersalino, Big Pond (Eleuthera, Bahamas). *Sedimentología* 58:720–736
- Green SJ, Blackford C, Bucki P, Jahnke LL, Prufert-Bebout L (2008) Una manipulación de salinidad y sulfato de esteras microbianas hipersalinas revela estasis en la estructura de la comunidad de cianobacterias. *ISME J* 2:457–470
- Hounslow A (1995) Datos de calidad del agua: análisis e interpretación. CRC Press, Nueva York
- Humayoun SB, Bano N, Hollibaugh JT (2003) Distribución de profundidad de diversidad microbiana en Mono Lake, un lago de soda meromítico en California. *Aplicación Environ Microb* 69:1030–1042
- Jahnert RJ, Collins LB (2011) Importancia de microbios submareales depósitos en Shark Bay, Australia. *Mar Geol* 286:106–111
- Jahnert RJ, Collins LB (2013) Controles de actividad microbiana y marea evolución plana en Shark Bay, Australia Occidental. *Sedimentología* 60:1071–1099
- Jiang H, Dong H, Yu B, Liu X, Li Y, Ji S, Zhang CL (2007) Microbiano respuesta al cambio de salinidad en el lago Chaka, un lago hipersalino en la meseta tibetana. *Environ Microbiol* 9:2603–2621
- Kelly DP, Harrison AP (1989) Bacterias quimiolitotróficas aeróbicas y organismos asociados. En: Hensyl WR et al (ed) *Manual de bacteriología sistemática de Bergey*, Vol. 3. Williams y Wilkins, Baltimore, págs. 1842–1858
- Kirchman DL (2002) La ecología de Cytophaga–Flavobacteria en ambientes acuáticos. *FEMS Microbiol Ecol* 39:91–100

- Knoll AH, Golubic S (1992) Proterozoicas y cianobacterias vivas. En: Schidlowski M, Golubic S, Kimberley MM, McKirdy DM, Trudinger A (eds) *Evolución orgánica temprana*. Springer, Berlín, págs. 450–462
- Lara J, González LE, Ferrero M, Díaz GC, Pedrós-Alió C, Demergasso C (2012) Enriquecimiento de bacterias heterótrofas resistentes y transformadoras de arsénico a partir de sedimentos de dos salares en el norte de Chile. *Extremófilos* 16: 523–538
- Ley RE, Harris JK, Wilcox J, Spear JR, Miller SR, Bebout BM, Maresca JA, Bryant DA, Sogin ML, Pace NR (2006) Diversidad y complejidad inesperadas del tapete microbiano hipersalino de Guerrero Negro. *Appl Environ Microb* 72:3685–3695
- López A, Yarza P, Richter M, Suárez-Suárez A, Antón J, Niemann H, Rosselló-Móra R (2010) Comunidades microbianas extremadamente halófilas en sedimentos anaeróbicos de una salina solar. *Representante de Microbiol Ambiental* 2:258–271
- Ludwig R (2004) Ciclo de carbono y calcificación en hipersalina esteras microbianas. Tesis doctoral, Biología/Química, Universidad de Bremen, Alemania, p 157
- Margheri MC, Tredici MR, Barsanti L, Balloni W (1987) El comunidad fotosintética de las lagunas salinas de Trapani: una opción alternativa para la explotación de un ambiente extremo. *Ann Microbiol* 37:203–215
- Mobberley JM, Ortega MC, Foster JS (2012) Microbiano comparativo análisis de diversidad de tapetes trombolíticos marinos modernos mediante pirosecuenciación con código de barras. *Environ Microbiol* 14:82–100
- Myshral KL, Mobberley JM, Green SJ, Visscher PT, Havemann SA, Reid RP, Foster JS (2010) Ciclo biogeoquímico y diversidad microbiana en los microbios trombolíticos de Highborne Cay, Bahamas. *Geobiología* 8:337–354
- Neilson JW, Quade J, Ortiz M, Nelson WM, Legatzki A, Tian F, LaComb M, Betancourt JL, Wing RA, Soderlund CA, Maier RM (2012) La vida en el margen hiperárido: nueva diversidad bacteriana en suelos áridos del Desierto de Atacama, Chile. *Extremófilos* 16: 553–566
- Ollivier B, Caumette P, García JL, Mah RA (1994) Anaeróbico bacterias de ambientes hipersalinos. *Microbiol Rev* 58:27–38
- Oren A, Kuhl M, Karsten U (1995) Una alfombra microbiana endoevaporítica dentro de una costra de yeso: zonación de fotótrofos, fotopigmentos y penetración de la luz. *Mar Ecol Prog Ser* 128: 151–159
- Oren A, Sørensen KB, Canfield DE, Teske AP, Ionescu D, Lipski A, Karlheinz A (2009) Comunidades y procesos microbianos dentro de una costra de yeso hipersalino en un estanque de evaporación salina (Eilat, Israel). *Hidrobiología* 626: 15–26
- Paterson DM (1994) Mediación microbiológica de la estructura del sedimento y comportamiento En: Stal LJ, Caumette P (eds) *Microbial mats*. Springer, Berlín, págs. 97–109
- Pepe-Ranney C, Berelson WM, Corsetti FA, Treants M, Spear JR (2012) Construcción cianobacteriana de estromatolitos silíceos de aguas termales en el Parque Nacional de Yellowstone. *Environ Microbiol* 14: 1182–1197
- Peryt TM (1996) Sedimentología del Badeniano (Mioceno medio) yeso en el este de Galicia, Podolia y Bucovina (oeste de Ucrania). *Sedimentología* 43: 571–588
- Peryt TM, Peryt D, Jasionowski M, Poberezhskyy AV, Durakiewicz T (2004) Deposition restringida post-evaporítica en el Mioceno Medio Chokrakian-Karaganian de Crimea Oriental (Ucrania). *Sedimento Geol* 170:21–36
- Petrash DA, Lalonde SV, Pecoits E, Gingras MK, Konhauser KO (2010) Cementación catalizada por microbios de trombolitos modernos dominados por yeso. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74:a811
- Petrash DA, Gingras MK, Lalonde SV, Orange F, Pecoits E, Konhauser KO (2012) Controles dinámicos de acreción y litificación de trombolitos modernos dominados por yeso, Los Roques, Venezuela. *Sedimento Geol* 245–246: 29–47
- Reid RP, Visscher PT, Decho AW, Stolz JF, Bebout BM, Dupraz C, Macintyre IG, Paerl HW, Pinckney JL, Prufert-Bebout L, Steppe TF, DesMarais DJ (2000) El papel de los microbios en la acumulación, laminación y litificación temprana de los estromatolitos marinos modernos. *Naturaleza* 406:989–992
- Reid EA, Reid JS, Meier MM, Dunlap MR, Cliff SS, Broumas AA, Perry K, Maring H (2003) Caracterización del polvo africano transportado a puerto rico mediante análisis a granel segregado por tamaño y partículas individuales. *J Geophys Res* 108:16
- Reitner J, Peckmann J, Blumenberg M, Michaelis W, Reimer A, Thiel V (2005) Carbonatos de filtración de metano concrecional y comunidades microbianas asociadas en los sedimentos del Mar Negro. *Paleogeogr Palaeoclimatol* 227:18–30
- Riding R (2011) Microbialitos, estromatolitos y trombolitos. En: Reitner J, Thiel V (eds) *Enciclopedia de geología. Enciclopedia de la serie de ciencias de la tierra*. Springer, Heidelberg, pp 635–654
- Risacher F, Alonso H, Salazar C (2003) El origen de las salmueras y las sales en los salares chilenos: una revisión hidroquímica. *Ciencia de la Tierra* 63:249–293
- Rothschild LJ, Giver LJ, White MR, Mancinelli RL (1994) Metabólico actividad de los microorganismos en las evaporitas. *J Appl Phycol* 30: 431–438
- Sahl JW, Pace NR, Spear JR (2008) Análisis molecular comparativo de comunidades microbianas endoevaporíticas. *Aplicación Environ Microb* 74:6444–6446
- Sanz Montero ME, Rodríguez Aranda JP (2008) Participación microbiana en la formación de magnesita dentro de un ambiente lacustre evaporítico: Mioceno de la Cuenca de Madrid. *Macla* 9:231–232
- Sherwood JE, Stagnitti F, Kokkinn MJ, Williams WD (1991) Concentraciones de oxígeno disuelto en aguas hipersalinas. *Limnol Oceanogr* 36: 235–250
- Spear JR, Ley RE, Berger AB, Pace NR (2003) Complejidad en la naturaleza ecosistemas microbianos: la experiencia de Guerrero Negro. *Biol Bull* 204: 168–173
- Stivaletta N, Barbieri R (2009) Microorganismos endolíticos de Depósitos de evaporita en montículos de primavera (sur de Túnez). *J Ambiente árido* 73:33–39
- Stivaletta N, López-García P, Boihem L, Millie DF, Barbieri R (2010) Biomarcadores de comunidades endolíticas dentro de costras de yeso (sur de Túnez). *Geomicrobiol J* 27:101–110
- Stivaletta N, Barbieri R, Ceveninia F, López García P (2011) Condiciones fisicoquímicas y diversidad microbiana asociadas a los depósitos evaporíticos en la Laguna de la Piedra (Salar de Atacama, Chile). *Geomicrobiol J* 28:83–95
- Stoertz GE, Erickson GE (1974) Geología de salares en el norte de Chile. Documento profesional de US Geol Survey, vol 811, págs. 65
- Taher AG, Wahab SA, Philip G, Krumbein WE, Wali AM (1995) Sedimentación evaporativa y tapetes microbianos en un sistema salino (Port Fouad, Egipto). *Int J Salt Lake Res* 4:95–116
- Thompson JB, Ferris FG (1990) Precipitación cianobacteriana de yeso, calcita y magnesita del agua alcalina natural de un lago. *Geología* 18: 995–998
- Usiglio J (1849) Analyse de l'eau de la Méditerranée sur les côtes de France. *Ann Chemie* 27:172–191
- Vasconcelos C, McKenzie JA (1997) Microbial mediation of modern Precipitación y diagénesis de dolomita en condiciones anóxicas (Lagoa Vermelha, Río de Janeiro, Brasil). *J Sedimento Res* 67:378–390
- Visscher PT, Stolz J (2005) Esteras microbianas como: poblaciones, proceso y reactores de productos. *Paleogeogr Palaeoclimatol* 219:87–100
- Visscher PT, Reid RP, Bebout BM, Hoefft SE, Macintyre IG, Thompson JA (1998) Formación de láminas micríticas litificadas en

- estromatolitos marinos modernos (Bahamas): el papel del ciclo del azufre. *Am Mineral* 83:1482–1493
- Visscher PT, Dupraz C, Braissant O, Gallagher KL, Glunk C, Casillas L, Reed RE (2010) Biogeoquímica del ciclo del carbono en esteras hipersalinas: vinculando el presente con el pasado a través de firmas biológicas. En: Seckbach J, Oren A (eds) *Microbial mats*. Springer, Países Bajos, págs. 443–468
- Vogel MB, Des Marais DJ, Turk KA, Parenteau MN, Jahnke LL, Kubo MD (2009) El papel de las biopelículas en la sedimentología de formando activamente depósitos de yeso en Guerrero Negro, México. *Astrobiología* 9: 875–893
- Vogel MB, Des Marais DJ, Parenteau MN, Jahnke LL, Turk KA, Kubo MD (2010) Influencias biológicas en los sulfatos modernos: texturas y composición de los depósitos de yeso de Guerrero Negro, Baja California Sur, México. *Sedimento Geol* 223: 265–280