



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

PROYECTO

LAS ÓMICAS Y LA ECOLOGÍA DE LOS DOMOS MICROBIANOS DE CUATRO CIÉNEGAS

TESIS

POR ARTÍCULO CIENTÍFICO

**Metabolomic diversity in microbial mats under different environmental conditions: a
tool to test microbial ecosystem chemical change**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓLOGA JHOSELINNE TERESA BUENROSTRO MUÑOZ

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DOCTORA VALERIA FRANCISCA EUGENIA LEOPOLDINA DE
MARÍA DE GUADALUPE SOUZA SALDIVAR**

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DOCTOR MARIO FIGUEROA SALDÍVAR, UNAM

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

DOCTORA ARAXI URRUTIA ODABACHIAN, UNAM

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX., enero, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA
ECOLOGÍA

PROYECTO

LAS ÓMICAS Y LA ECOLOGÍA DE LOS DOMOS MICROBIANOS DE CUATRO CIÉNEGAS

TESIS

POR ARTÍCULO CIENTÍFICO

**Metabolomic diversity in microbial mats under different environmental conditions: a
tool to test microbial ecosystem chemical change**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓLOGA JHOSELINNE TERESA BUENROSTRO MUÑOZ

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DOCTORA VALERIA FRANCISCA EUGENIA LEOPOLDINA DE
MARÍA DE GUADALUPE SOUZA SALDIVAR**

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DOCTOR MARIO FIGUEROA SALDÍVAR, UNAM

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

DOCTORA ARAXI URRUTIA ODABACHIAN, UNAM

INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX., enero, 2024

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA
OFICIO: CGEP/CPCB/ IE /0933/2023
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM

Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **16 de octubre de 2023**, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Ecología** de la alumna **BUENOSTRO MUÑOZ JHOSELINNE TERESA** con número de cuenta: **313216815**, por la modalidad de graduación de **tesis por artículo científico** titulado: **"Metabolomic Diversity in Microbial Mats Under Different Environmental Conditions: A Tool to Test Microbial Ecosystem Chemical Change"**, que es producto del proyecto realizado en la maestría que lleva por título: **"LAS ÓMICAS Y LA ECOLOGÍA DE LOS DOMOS MICROBIANOS DE CUATRO CIÉNEGAS"**, ambos realizados bajo la dirección de la **DRA. VALERIA FRANCISCA EUGENIA LEOPOLDINA DE MARÍA DE GUADALUPE SOUZA SALDIVAR** quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. MARTHA LYDIA MACÍAS RUBALCAVA
Vocal: DRA. ROSALINDA TAPÍA LÓPEZ
Vocal: DRA. ERIA ALAIDE REBOLLAR CAUDILLO
Vocal: DRA. SILVIA PAJARES MORENO
Secretario: DR. MARIO ALBERTO FIGUEROA SALDIVAR

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 27 de noviembre de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno

AGNS/ERR/EARR/err



Agradecimientos institucionales

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México. Así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT) por la beca (n° 1037778) para realizar mis estudios de maestría.

Este trabajo fue apoyado por becas de UNAM-DGAPA PAPIIT IG200319 y PAPIIT IN204822 (a Valeria Souza), Danish National Research Foundation-DNRF137 (a Scott A. Jarmusch) y FQ-PAIP 5000-9145 (a Mario Figueroa).

Agradezco a mis tutores Doctora Valeria Souza Saldívar, Instituto de Ecología UNAM. Doctor Mario Figueroa Saldivar, Facultad de Química, UNAM y Doctora Araxi Urrutia Odabachian, Instituto de Ecología UNAM por sus lecciones, apoyo e inspiración.

Agradecimientos a título personal

Querida mamá Margarita,

Quiero expresarte mi más sincero agradecimiento, lleno de amor y gratitud. Tu presencia constante en mi vida ha sido el mayor regalo que jamás podría haber recibido. Gracias por siempre acompañarme en cada paso de mi camino, por estar a mi lado en los momentos más significativos y también en aquellos más difíciles. Tu apoyo incondicional y tu amor han sido el impulso que me ha permitido perseguir y alcanzar mis sueños. Tu capacidad para escucharme con paciencia y comprensión ha sido mi refugio en los momentos de confusión y duda. Gracias por ser mi confidente y por alentarme a seguir adelante incluso cuando las cosas se volvían difíciles. Hoy, al mirar hacia atrás y reflexionar sobre todo lo que he logrado, me doy cuenta de que, sin ti a mi lado, nada de esto sería posible. Estoy más que agradecida, estoy profundamente bendecida de tenerte como mi madre. Te quiero más de lo que las palabras pueden expresar. Gracias por ser mi luz, mi guía y mi mayor inspiración. Este viaje ha sido maravilloso gracias a ti.

Con todo mi amor, gracias.

Querida Dra. Valeria Souza,

Es difícil encontrar las palabras adecuadas para expresar la profunda gratitud que albergo en mi corazón. Su presencia en mi vida académica y personal ha sido como un faro, iluminando los senderos de mi crecimiento de maneras que van más allá de lo que las palabras pueden capturar. Su confianza en mí, incluso cuando dudaba de mis propias capacidades, ha sido como un bálsamo para mi ser. Cada clase suya fue un regalo, no solo de conocimiento, sino de pasión y dedicación genuina. Sus palabras, impregnadas de sabiduría y empatía, resonaron en lo más profundo de mi ser, dejando una marca imborrable. Agradezco sinceramente la calidez con la que compartió sus conocimientos, el aliento que brindó en los momentos de duda y el apoyo constante que me sostuvo durante los desafíos. Saber que tenía a alguien tan excepcional conmigo hizo que los obstáculos fueran más llevaderos y los triunfos más significativos. Me siento increíblemente afortunada de haber tenido el privilegio de aprender de una mente tan brillante y un corazón tan generoso como el suyo. Gracias por ser más que una profesora, por ser una inspiración, una guía y, sobre todo, un ser humano excepcional.

Con lágrimas de agradecimiento en mis ojos y un corazón rebosante de aprecio, gracias.

Estimado Dr. Mario Figueroa,

Gracias por la maravillosa travesía que hemos compartido juntos. Su paciencia infinita y los momentos tan encantadores que viví mientras trabajábamos han dejado una huella imborrable en mi corazón. El aprendizaje que he adquirido a su lado es un regalo que llevaré conmigo siempre, una luz que iluminará mi camino en el futuro. Agradezco profundamente el tiempo que ha dedicado a enseñarme y compartir sus vastos conocimientos, un gesto que ha enriquecido mi vida de manera inigualable. Su calidad humana ha hecho que este viaje sea aún más significativo. Gracias por ser una persona tan buena y comprensiva no solo en el ámbito académico, sino también en lo personal, ha sido un regalo inesperado y precioso. Gracias por apoyarme en la realización de este sueño; su respaldo ha sido un impulso invaluable. Le aprecio mucho, Dr. Mario, no solo como un profesor excepcional, sino como alguien que ha dejado una marca positiva y duradera en mi vida. Agradezco sinceramente la oportunidad que me brindó de aprender de usted, y siempre recordaré con cariño este capítulo tan especial de mi camino. Con todo mi respeto y gratitud.

Querida Doctora Rosalinda Tapia,

Mi más sincero agradecimiento por ser un apoyo constante en los momentos difíciles de mi vida. Tu disposición para escucharme, apoyarme y brindarme tu amistad sincera ha sido un regalo invaluable que atesoro profundamente. Aprecio enormemente tu adorable manera de ser conmigo, llena de calidez y sinceridad. Cada encuentro contigo ha sido una fuente de inspiración y aprendizaje. Tus sabios consejos han iluminado mi camino y me han permitido ver más allá de las dificultades. Gracias por compartir conmigo momentos memorables que guardaré siempre en lo más profundo de mi corazón. Tu presencia en mi vida ha sido un regalo, y estoy agradecida por cada instante que hemos compartido. En los momentos de dificultad, tu apoyo y sostén han sido un bálsamo reconfortante. Eres una persona extraordinaria, y quiero que sepas que siempre llevarás un lugar especial en mi corazón.

A las Doctoras Eria, Araxi, Martha y Silvia,

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento por su invaluable contribución a mi tesis. Su dedicación y generosidad al brindarme sugerencias y enriquecer mi trabajo han sido fundamentales. Me siento sumamente agradecida, pues sin su tiempo y sabiduría, este logro no sería igual. Muchas gracias, Doctoras.

Licenciada Erika Rodríguez

Gracias por su orientación constante, sus guías siempre acertadas y su disposición a ayudarme cada vez que lo necesitaba. Este logro no sería posible sin su valioso aporte. Su influencia positiva ha sido crucial en este camino, y aprecio profundamente su apoyo inquebrantable. Aprecio mucho su dedicación y calidez en cada interacción. Gracias por ser una presencia tan valiosa en mi viaje educativo y profesional.

A Pink Floyd y Oskar Schuster,

En las armonías de sus notas encontré refugio. En cada acorde, la fortaleza para persistir y superar las sombras. Su arte musical ha sido mi faro en la tormenta, una sinfonía que ha tejido paz en medio del caos. En los compases de su creatividad, hallé la calma en días tumultuosos, la serenidad en horas de aflicción y la dicha en momentos de melancolía. A través de sus melodías, tejieron hilos de esperanza que me sostuvieron, permitiéndome avanzar una y otra vez hasta alcanzar el triunfo. Agradezco, por el regalo de su música que ha sido mi confidente en la adversidad. Ustedes, con sus acordes, han sido luz en mis sombras, y su arte ha dejado una huella eterna en mi corazón.

Querido J.H.,

Gracias por acompañarme en este hermoso viaje llamado vida, por estar a mi lado en cada paso y compartir tus días conmigo. Tu presencia ha sido mi refugio, tu escucha mi consuelo y tu aliento mi fuerza. Aprecio el amor incondicional que me brindas día tras día. Te amo más allá de las palabras y quiero agradecerte desde lo más profundo de mi corazón por ser la maravillosa persona que eres. Gracias por caminar a mi lado y por ser mi apoyo constante.

ÍNDICE

Contenido

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Capítulo 1: El precámbrico y la evolución de la vida.....	4
1.1 La Tierra Precámbrica: eón Arqueano.....	4
1.2 La era Eoarqueana y los primeros ecosistemas: Tapetes Microbianos	5
Referencias.....	7
Capítulo 2: Estabilidad ecológica de los Tapetes Microbianos	9
2.1 Estructura ecosistémica de los Tapetes Microbianos	11
Referencias.....	16
Capítulo 3: Retroalimentación eco-evolutiva en Tapetes Microbianos.....	20
Referencias.....	23
Capítulo 4: Las técnicas Ómicas para conocer la Función Ecosistémica de los Tapetes Microbianos.....	26
3.1 Cuatro Ciénegas y los ecosistemas del Arqueano.....	26
3.2 Explorando los Tapetes Microbianos de Cuatro Ciénegas: Un enfoque integrado Metagenómico y Metabolómico para comprender la Diversidad y Funcionalidad Ecosistémica	26
Referencias.....	29
Hipótesis.....	31
Objetivos	31
Metabolomic Diversity in Microbial Mats Under Different Environmental Conditions: A Tool to Test Microbial Ecosystem Chemical Change.....	32
Metabolomic Diversity in Microbial Mats Under Different Environmental Conditions: A Tool to Test Microbial Ecosystem Chemical Change.....	49
I. Discusión general	54
I.I Dinámica temporal de Tapetes Microbianos	54
¿Cómo funcionan los Tapetes Microbianos de Domo del Arqueano?	54
I.II. Explorando la complejidad Metabolómica de los Tapetes Microbianos: Un análisis de la Comunidad Microbiana activa y la Diversidad de Metabolitos	56
Conclusiones	60
Referencias.....	61

INDICE DE FIGURAS

Figure 1. Metabolomics and metagenomics extraction methods in microbial mats from Cuatro Ciénegas.	3
Figura 2. MISS/MRS de domos formados por tapetes microbianos A) Moodies Sur África (3,200Ma) tomado de Homann et al, 2015 (23) B) Groenlandia (3,700Ma) tomado de Nutman et al, 2016 (19) C y D) Cuatro Ciénegas, Coahuila (2016, 2019).	6
Figura 3 Tapetes microbianos de diferentes partes del mundo que forman estructuras parecidas a “domos” A y B) Tapete de Salinas de Lanzarote, España. Tomado de Gerdes et al, 2000 (4) C y D) Tapete de Cuatro Ciénegas, México. E y F) Tapete de Región de Dhofar Wadi Muqshin, Omán Tomado de Jupp y Cookson, 2008 (5).....	10
Figura 4. Estructura ecosistémica de un tapete microbiano en Cuatro Ciénegas. Tomado y modificado de Prieto-Barajas et al, 2018 (42).	15
Figura 5. Modelo ecosistémico de dinámica temporal por las que pasan tapetes microbianos de la poza Domos del Arqueano, Cuatro Ciénegas, México. Se representan las bioestructuras que se pueden encontrar en cada uno de los procesos de la dinámica temporal en estos ecosistemas formadores de domos de gas.	55

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A	
agua (H ₂ O)	14
C	
Carbono, Hidrógeno, Oxígeno, Nitrógeno, Fósforo y Azufre (C-H-O-N-P-S)	5
cinturón supracrustal de Isua (ISB)	9
Cuatro Ciénegas (CC)	21
D	
dióxido de carbono (CO ₂)	11
E	
estructuras sedimentarias inducidas microbianamente (MISS)	5
G	
GSSP (Sección estratotipo y punto de límite global)	4
H	
hidrógeno molecular (H ₂)	11
I	
iones de hierro (Fe ²⁺)	12
iones de hierro (Fe ³⁺)	12
M	
millones de años (Ma)	4
MRS" (Estructuras Relacionadas con los Tapetes)	5

O

oxidativa con el evento de gran oxidación (GOE)
oxígeno molecular (O₂)

9
14

S

sulfato (SO₄²⁻)
sulfuro de hidrógeno (H₂S)

12
12

Resumen

Los tapetes microbianos son ecosistemas microbianos capaces de realizar los principales ciclos biogeoquímicos de la vida y se consideran la prueba más antigua de ecosistemas microbianos en la Tierra. Debido a su naturaleza singular, estos ecosistemas no se caracterizan por ser comunes ni generalizados; más bien, son únicos en su composición y características distintivas. A su vez, la limitación en el material de muestreo, derivada de la sensibilidad del ecosistema a las perturbaciones, agrega un nivel adicional de complejidad. Esta singularidad y la dificultad para obtener muestras hacen que el análisis del perfil metabolómico en diversas condiciones represente un desafío considerable. En este estudio, se recolectaron tapetes microbianos de la poza Domos del Arqueano en Cuatro Ciénegas Coahuila, México, durante una estación húmeda (T0) y una seca (T1B). Además, parte de las muestras de la estación húmeda se transfirieron a frascos de 250 mL y se mantuvieron en condiciones de luz-oscuridad 12/12 h durante cuatro meses a 22 °C. Estas muestras se denominaron "mesocosmos" (T1A). Tras este periodo, las muestras de mesocosmos se separaron en tapete y sedimentos y se mantuvieron congeladas hasta su análisis. Todas las muestras (20 tapetes y 10 mesocosmos) se analizaron para determinar la diversidad microbiana y la metabolómica. Los tapetes durante la estación húmeda son elásticos y se elevan después de fuertes lluvias formando estructuras de domos de gas conocidas como "domos arqueanos", por la desgasificación de bacterias metanogénicas, arqueas y bacterias del azufre. Los extractos de todos los tapetes y mesocosmos se sometieron a un análisis metabolómico y de redes moleculares no dirigido basado en la espectrometría de masas. Los perfiles metabolómicos dominantes en los tapetes microbianos en la estación seca (T1B) están relacionados principalmente con funciones como el crecimiento celular, la actividad catalítica y la producción de metabolitos antifúngicos o antibióticos, relacionados con el proceso de actividad metabólica y crecimiento del tapete. En los mesocosmos (T1A), así como en la estación húmeda (T0) los perfiles metabolómicos dominantes están relacionados principalmente con procesos de decaimiento y destrucción donde se identificaron metabolitos específicos de degradación de membrana, moléculas gaseosas y relacionados con la degradación celular. De manera interesante, cada tapete mostró una gran diversidad química que puede explicarse por los procesos dinámicos temporales en los que se tomaron las muestras.

Abstract

Microbial mats are microbial ecosystems capable of performing the fundamental biogeochemical cycles of life and are considered the oldest evidence of microbial ecosystems on Earth. Due to their unique nature, these ecosystems are not characterized as common or widespread; rather, they are distinctive and unique in their composition and characteristics. Additionally, the limitation in sample material, stemming from the ecosystem's sensitivity to disturbances, adds an extra layer of complexity. This singularity and the challenge of obtaining samples make the analysis of the metabolomic profile under different conditions a considerable undertaking. In this study, microbial mats were collected from the Domos del Arqueano pool in Cuatro Ciénegas, Coahuila, Mexico, during a wet season (T0) and a dry season (T1B). Furthermore, part of the samples from the wet season was transferred to 250 mL flasks and maintained under 12/12 h light-dark conditions for four months at 22 °C. These samples were referred to as "mesocosms" (T1A). After this period, mesocosm samples were separated into mats and sediments and kept frozen until analysis. All samples (20 mats and 10 mesocosms) were analyzed to determine microbial diversity and metabolomics. Mats during the wet season are elastic and rise after heavy rains, forming gas dome structures known as "Archean domes" due to the degassing of methanogenic bacteria, archaea, and sulfur bacteria. Extracts from all mats and mesocosms underwent untargeted metabolomic and molecular network analysis based on mass spectrometry (Figure 1). The dominant metabolomic profiles in microbial mats during the dry season (T1B) are primarily related to functions such as cell growth, catalytic activity, and the production of antifungal or antibiotic metabolites, associated with the metabolic activity and growth of the mat. In mesocosms (T1A) and the wet season (T0), the dominant metabolomic profiles are mainly related to decay and destruction processes, where specific membrane degradation, gaseous molecules and related to cell degradation. were identified. Interestingly, each mat showed a high chemical diversity that can be explained by the temporal dynamic processes during sample collection.

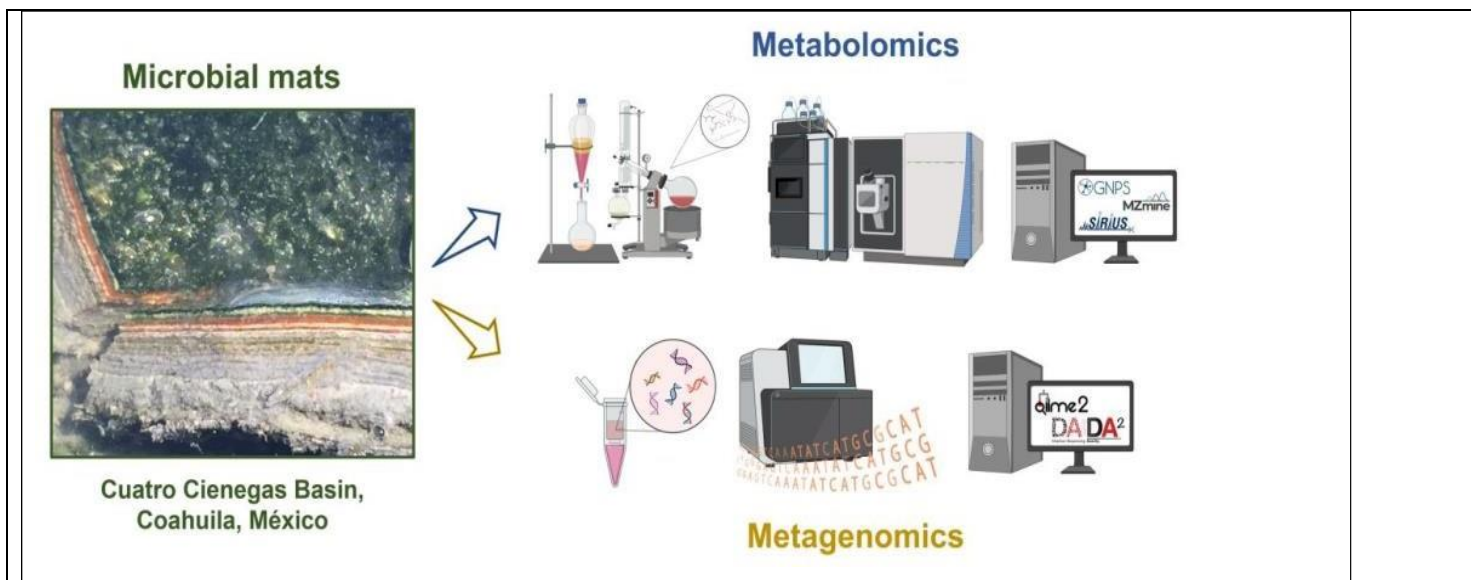


Figure 1. Metabolomics and metagenomics extraction methods in microbial mats from Cuatro Ciénegas.

Capítulo 1: El precámbrico y la evolución de la vida

1.1 La Tierra Precámbrica: eón Arqueano

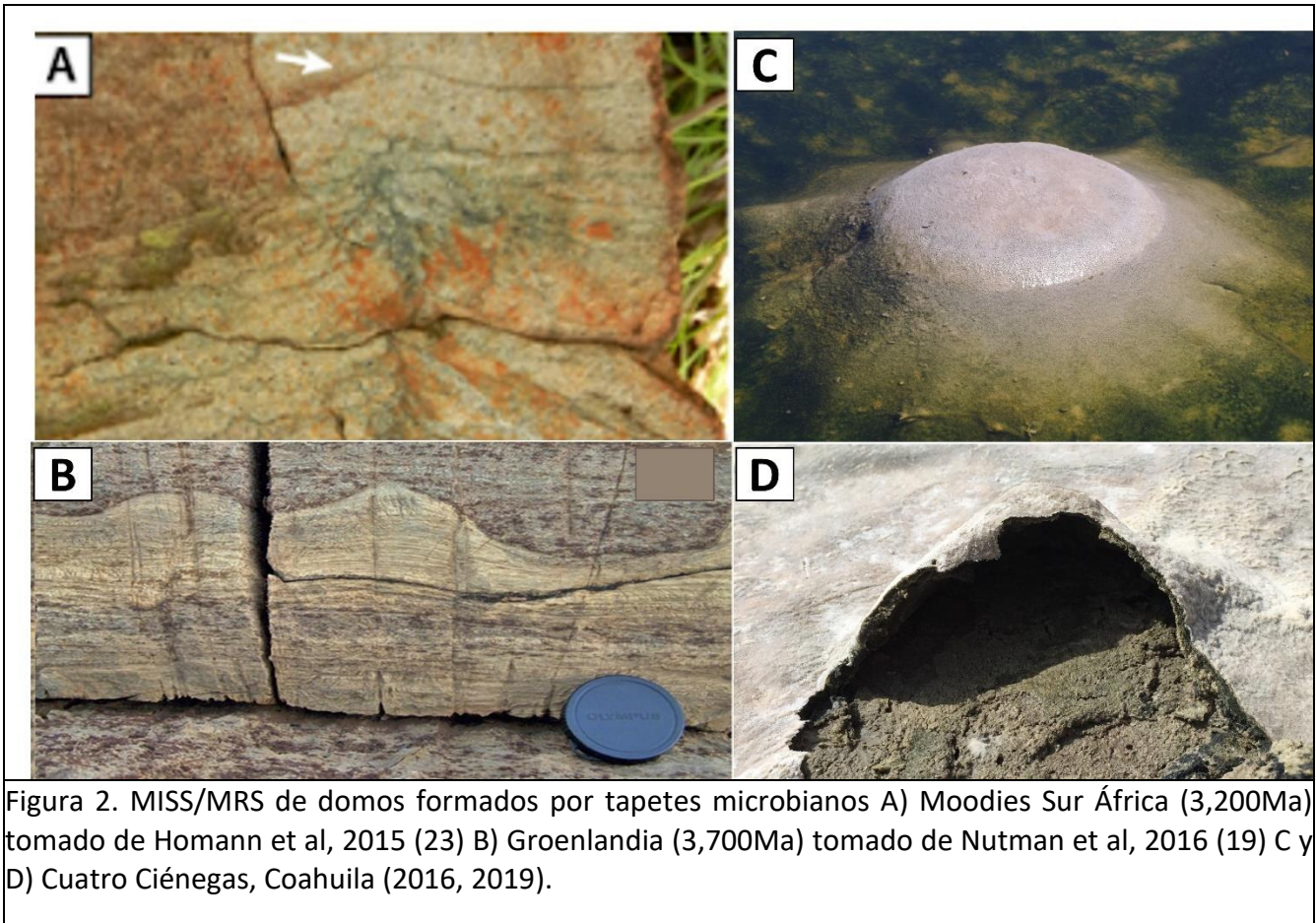
La historia de la Tierra comenzó aproximadamente hace 4,567-4,564 millones de años (Ma) con el eón Hadeano (1). Los trabajos isotópicos y petrográficos de los antiguos circones de Australia Occidental implican que el núcleo, el manto y la litosfera de la Tierra ya estaban diferenciados (2-5) y formados antes de los 4,400 Ma (6 y 7). Por lo que, al menos para 4,200 Ma, pero quizás 200 Ma antes, ya existían grandes masas de agua (8), que ocasionaron que las costras graníticas (continentales) y basálticas (oceánicas) crecieran, se restablecieran y se refundieran constantemente, interactuando con el agua en regímenes no uniformes que cambiaron drásticamente desde el Hadeano 4,567 Ma hasta la era final del Arqueano, la era Neoarqueana 2,500 Ma (9-13). No obstante, en las rocas de Jack Hills, Australia Occidental, se han descubierto indicios de la utilización de carbono por parte de organismos hace alrededor de 4,100 millones de años, sugiriendo que el origen de la vida podría haber ocurrido poco después de la aparición de evidencia de agua líquida en la superficie terrestre, antes del inicio del Eón Arqueano (14).

El Arqueano, comenzó hace 4,000 Ma, eón a partir del cual se tiene registro de rocas, siendo las más antiguas gneis (un tipo de roca que marca el inicio de un eón) que pertenecen al complejo Acasta, Canadá (15). El eón Arqueano está dividido en cuatro eras; Eoarqueano (4,000-3,600 Ma), Paleoarqueano (3,600-3,200 Ma), Mesoarqueano (3,200-2,800 Ma) y Neoarqueano (2800-2500 Ma) (15 y 16), con excepción del Eoarqueano las eras están marcadas por una GSSP (Sección estratotipo y punto de límite global) (17). El Eoarqueano es la era cuando ocurre un evento significativo en la biología del planeta Tierra: el origen y diversificación de la vida. Es posible que hace aproximadamente 3,700 millones de años, las tierras y los océanos primitivos fueran nichos abiertos para albergar procariontas pioneras con una evolución rápida. Para estas formas de vida, las perturbaciones ocasionales con potencial "esterilizante", como el bombardeo intenso tardío, podrían carecer de relevancia, ya que la biología opera en escalas de tiempo y con niveles de resistencia que difieren significativamente de los procesos geológicos (18).

1.2 La era Eoarqueana y los primeros ecosistemas: Tapetes Microbianos

Aproximadamente para los 3,700 Ma, los clados de las divisiones primarias de la vida; Archaea y Bacteria ya habían divergido y se diversificaron ya que existen evidencias fósiles y evidencias genéticas de dicha diversificación profunda (19). Las evidencias fósiles (19 y 23) permiten saber que para la era Paleoarqueana 3,200 Ma, las procariotas ya habían evolucionado y se asociaron en tapetes microbianos donde realizaban procesos metabólicos como reducción/dismutación de azufre y sulfato, metanogénesis y fotosíntesis anoxigénica (20-21).

Investigaciones anteriores indican que la diversidad de bacterias y arqueas se originó en tapetes microbianos, ecosistemas que les facilitaron llevar a cabo los principales ciclos biogeoquímicos de la vida, tales como los ciclos del Carbono, Hidrógeno, Oxígeno, Nitrógeno, Fósforo y Azufre (C-H-O-N-P-S). Esto les permitió realizar el reciclaje de energía de manera más eficiente (22). Los fósiles más antiguos de tapetes microbianos se han datado hace aproximadamente 3,700 Ma y están en Groenlandia (19), otros de hace 3,200 Ma, fueron encontrados en los Moodies de Sur África (Figura 2) (23). Dichos fósiles son estructuras sedimentarias inducidas microbianamente (MISS) (24). Las MISS no se parecen a los estromatolitos, sino que presentan una gran variedad de morfologías, dado que no todas las características asociadas a los tapetes están necesariamente influenciadas directamente por los microorganismos, y muchas de ellas se vinculan más con las fuerzas físicas que afectan las superficies de los sedimentos bioestabilizados, se podría considerar un acrónimo alternativo, como "MRS" (Estructuras Relacionadas con los Tapetes). Los MRS o MISS que se han identificado en distintas épocas geológicas conservan las evidencias de procesos temporales que parecen ser comunes en tapetes microbianos, ya sean fósiles o actuales. Un ejemplo de MISS son los domos de gas (Figura 2). En conclusión, las estructuras sedimentarias inducidas por microbios (MISS) proporcionan firmas biológicas que no son imitadas por los procesos físicos. Así, las estructuras sedimentarias microbianas (MISS) proporcionan indicios sobre la vida en la Tierra primitiva y ofrecen perspectivas sobre la evolución y la organización de la vida en los tapetes microbianos.



Referencias

1. Bowring, S. A., y Williams, I. S. (1999). Priscoan (4.00–4.03 Ga) orthogneisses from northwestern Canada. *Contributions to Mineralogy and Petrology*, 134(1), 3-16.
2. Mojzsis, S. J., Harrison, T. M., y Pidgeon, R. T. (2001). Oxygen-isotope evidence from ancient zircons for liquid water at the Earth's surface 4,300 Myr ago. *Nature*, 409(6817), 178-181.
3. Cavosie, A. J., Valley, J. W., y Wilde, S. A. (2007). The oldest terrestrial mineral record: a review of 4400 to 4000 Ma detrital zircons from Jack Hills, Western Australia. *Developments in Precambrian Geology*, 15, 91-111. Canup, Robin M., and Kevin Righter, eds. *Origin of the Earth and Moon*. University of Arizona Press, (2000). p 555.
4. Yu, G., y Jacobsen, S. B. (2011). Fast accretion of the Earth with a late Moon-forming giant impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(43), 17604-17609.
5. Nelson, D. R. (2004). Earth's formation and first billion years. *The Precambrian Earth: Tempos and Events*, 12(3), 255-278.
6. Boyet, M., y Carlson, R. W. (2005). ^{142}Nd evidence for early (> 4.53 Ga) global differentiation of the silicate Earth. *Science*, 309(5734), 576-581.
7. Nutman, A. P. (2006). Antiquity of the oceans and continents. *Elements*, 2(4), 223-227.
8. Komiya, T., Windley, B. F., Moorbath, S., y Kanao, M. (1999). Plate tectonics at 3.8–3.7 Ga: Field evidence from the Isua accretionary complex, southern West Greenland. *The Journal of Geology*, 107(5), 515-554.
9. Nutman, A. P., Friend, C. R., y Bennett, V. C. (2002). Evidence for 3650–3600 Ma assembly of the northern end of the Itsaq Gneiss Complex, Greenland: implication for early Archaean tectonics. *Tectonics*, 21(1), 5-1.
10. Myers, J. S. (2003). Isua enigmas: illusive tectonic, sedimentary, volcanic and organic features of the > 3.8-> 3.7 Ga Isua greenstone belt, south-west Greenland. *EGS-AGU-EUG Joint Assembly*, 129-141.
11. Rino, S., Yoneda, S., Motoyoshi, Y., y Iizuka, T. (2004). Major episodic increases of continental crustal growth determined from zircon ages of river sands; implications for mantle overturns in the Early Precambrian. *Physics of the Earth and Planetary Interiors*, 146(1-2), 369-394.
12. Van Kranendonk, M. J., Smithies, R. H., Hickman, A. H., Champion, D. C., y Compston, W. (2004). Critical tests of vertical vs. horizontal tectonic models for the Archaean East Pilbara granite–greenstone terrane, Pilbara craton, Western Australia. *Precambrian Research*, 131(3-4), 173-211.
13. Stern, R. A., y Bleeker, W. (1998). Age of the world's oldest rocks refined using Canada's SHRIMP: The Acasta Gneiss Complex, Northwest Territories, Canada. *Geoscience Canada*, 27-31.
14. Sojo, V., Herschy, B., Whicher, A., Camprubí, E., Lane, N., y Giri, C. (2016). The origin of life in alkaline hydrothermal vents. *Astrobiology*, 16(2), 181-197.
15. Plumb, K. A. (1991). New Precambrian time scale. *Episodes Journal of International Geoscience*, 14(2), 139-140.
16. Plumb, K. A., y James, H. L. (1986). Subdivision of Precambrian time: recommendations and suggestions by the Subcommittee on Precambrian Stratigraphy. *Precambrian Research*, 32(1), 65-92.
17. Coccioni, R., Basso, D., Brinkhuis, H., Crippa, G., Foreman, B., Galeotti, S. y Touchard, Y. (2022). Integrated stratigraphy of the Lutetian–Priabonian pelagic section at Bottaccione (Gubbio, central Italy): A proposal for defining and positioning the Global Stratotype Section and Point (GSSP) for the base of

the Bartonian Stage (Paleogene System, Eocene Series). In *From the Guajira Desert to the Apennines, and from Mediterranean Microplates to the Mexican Killer Asteroid: Honoring the Career of Walter Alvarez* (pp. 311-346). Geological Society of America. Bell, Elizabeth A., et al. "Potentially biogenic carbon preserved in a 4.1 billion-year-old zircon." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112.47 (2015): 14518-14521.

18. Beraldi-Campesi, H. (2013). Early life on land and the first terrestrial ecosystems. *Ecological Processes*, 2(1), 1-17.
19. Nutman, A. P., Bennett, V. C., Friend, C. R., Van Kranendonk, M. J., y Chivas, A. R. (2016). Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures. *Nature*, 537(7621), 535-538.
20. Lyons, T. W., Fike, D. A., y Zerkle, A. (2015). Emerging biogeochemical views of Earth's ancient microbial worlds. *Elements*, 11(6), 415-421.
21. Moore, E. K., Jelen, B. I., Giovannelli, D., Raanan, H., y Falkowski, P. G. (2017). Metal availability and the expanding network of microbial metabolisms in the Archaean eon. *Nature Geoscience*, 10(9), 629-636.
22. Prieto-Barajas, C. M., Valencia-Cantero, E., y Santoyo, G. (2018). Microbial mat ecosystems: Structure types, functional diversity, and biotechnological application. *Electronic Journal of Biotechnology*, 31, 48-56.
23. Homann, M., Van Kranendonk, M. J., Philippot, P., Lepot, K., Bodorkos, S., y Pirajno, F. (2015). Morphological adaptations of 3.22 Ga-old tufted microbial mats to Archean coastal habitats (Moodies group, Barberton Greenstone Belt, South Africa). *Precambrian Research*, 266, 47-64.
24. Noffke, N., Eriksson, P. G., Hazen, R. M., Simpson, E. L., y Brasier, M. D. (2001). Microbially induced sedimentary structures: a new category within the classification of primary sedimentary structures. *Journal of Sedimentary Research*, 71(5), 649-656.

Capítulo 2: Estabilidad ecológica de los Tapetes Microbianos

Los tapetes microbianos putativos más antiguos consisten en MISS de 3,700 Ma halladas en un entorno marino poco profundo del cinturón supracrustal de Isua (ISB), suroeste de Groenlandia, así como las areniscas de aguas poco profundas del Supergrupo Moodies de 3,200 Ma en Sudáfrica (1-2). Posiblemente la retroalimentación eco-evolutiva de los tapetes microbianos les permitió ser capaces de regular y estructurar los ecosistemas de manera diferencial desde hace más de 3,200 millones de años hasta la actualidad. Esta retroalimentación eco-evolutiva implica que los tapetes microbianos no solo han sido capaces de adaptarse y persistir en su entorno a lo largo de más de 3,200 millones de años, sino que también han tenido un impacto activo en la regulación y estructuración de los ecosistemas en los que se encuentran. Cabe mencionar que se ha propuesto el cambio de una atmósfera reductora a una atmósfera oxidativa con el evento de gran oxidación (GOE) como uno de los eventos más significativos sobre la regulación y estructuración de ecosistemas que generaron los tapetes microbianos (3).

Por lo tanto, se puede plantear la pregunta sobre ¿cómo los tapetes microbianos regulan la disponibilidad de la energía y los nutrimentos desde el inicio de los ecosistemas marinos en el planeta Tierra hasta la actualidad?. Parte de la respuesta a esta pregunta puede ser contestada con base a que los tapetes microbianos presentan una estructura ecosistémica que se organiza en cinco capas (4). Esta organización multicapa confiere a estos sistemas las tres características que los definen como ecosistemas. En primer lugar, actúan como productores primarios, predominantemente presentes desde la capa uno hasta la capa cuatro, donde también tienen lugar procesos de reciclaje. En segundo lugar, exhiben el componente de reciclaje, donde los desechos liberados en una capa proporcionan nutrientes o alimento para otros organismos, ya sea dentro de la misma capa o en capas adyacentes. Por último, la capa cinco completa el ciclo de estos ecosistemas y se sitúa en la parte superior del tapete. En esta capa, los eucariotas desempeñan principalmente el papel de consumidores. Actualmente tres sitios presentan tapetes microbianos que son sorprendentemente parecidos entre ellos en la forma en la que se generan MISS de domos de gas. Se encuentran en Salinas de Lanzarote, España; en el desierto de Wadi Omán; y en la poza Domos de Arqueano en Cuatro Ciénegas, México (*Figura 3*) (4-9).

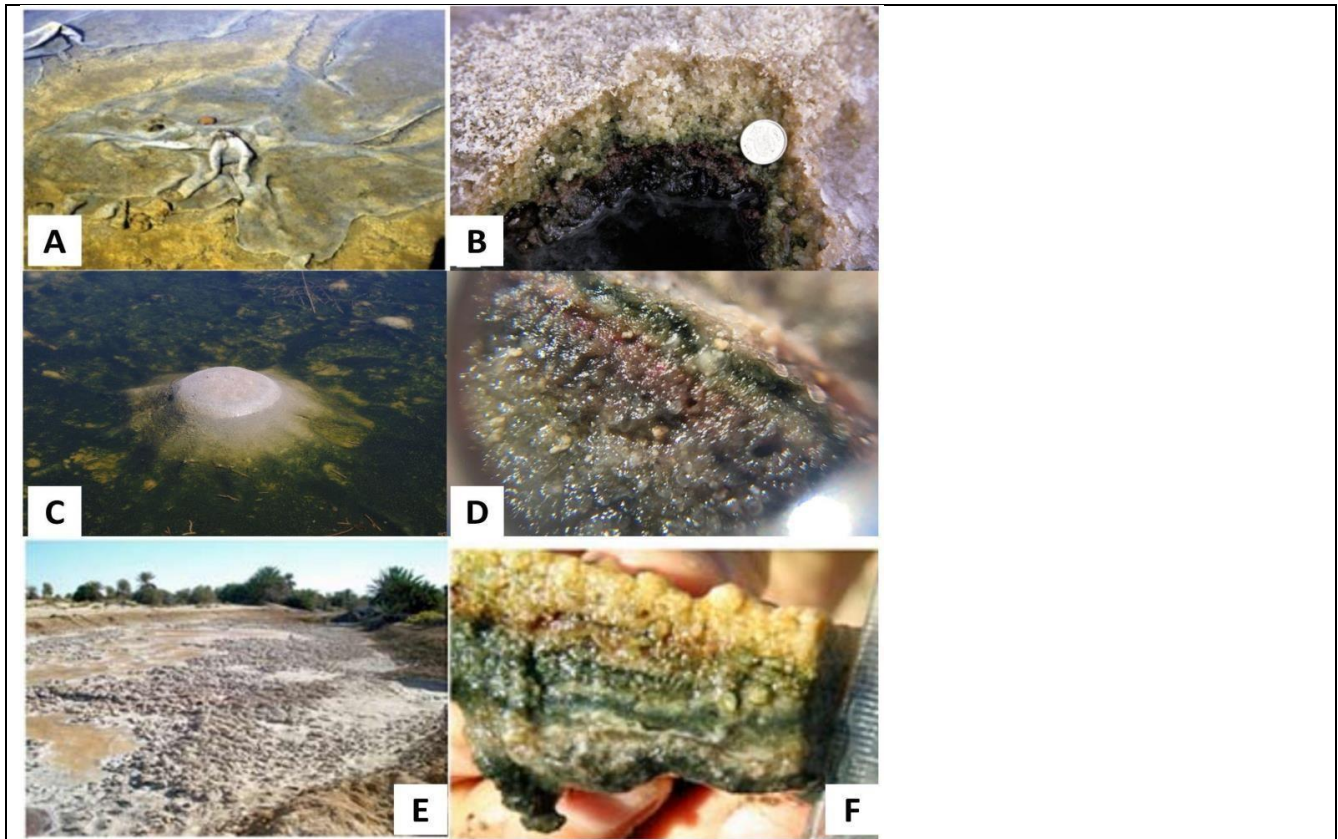


Figura 3 Tapetes microbianos de diferentes partes del mundo que forman estructuras parecidas a "domos" A y B) Tapete de Salinas de Lanzarote, España. Tomado de Gerdes et al, 2000 (4) C y D) Tapete de Cuatro Ciénegas, México. E y F) Tapete de Región de Dhofar Wadi Muqshin, Omán Tomado de Jupp y Cookson, 2008 (5).

2.1 Estructura ecosistémica de los Tapetes Microbianos

A continuación, se proporciona una perspectiva ecológica de la función y estructura de los tapetes microbianos de Salinas de Lanzarote, Wadi (4-5) y Domos de Arqueano. En la primera capa, situada en la base de la estructura, los microorganismos quimiolitótrofos, como arqueas metanógenas, son fundamentales en las cadenas tróficas sirviendo como cimiento para la vida que se desarrolla en capas superiores de los tapetes microbianos, convirtiendo compuestos químicos inorgánicos en materia orgánica que contribuye a la producción de biomasa en la base de la cadena trófica. Esta biomasa se convierte en alimento para organismos de capas superiores (Figura 4) (4-9). Las condiciones fisicoquímicas propicias para la metanogénesis incluyen ambientes anóxicos y diversas fuentes de carbono. Arqueas como *Methanococcus* utilizan hidrógeno molecular (H_2) y dióxido de carbono (CO_2) para la producción de metano (10), mientras que *Methanosarcina* puede generar metano a partir de sustratos orgánicos como acetato e (H_2) (11). Estas arqueas prosperan en entornos con pH ligeramente ácido a neutro y salinidades moderadas (12). La metanogénesis, está vinculada a la descomposición de la materia orgánica, y en muchos casos, como en el contexto de los tapetes microbianos, se integra en un proceso más amplio de descomposición anaeróbica, donde diversos grupos de microorganismos colaboran en la descomposición de sustratos orgánicos en etapas sucesivas (13).

En el entorno de los tapetes microbianos, la presencia de bacterias metanótrofas, como *Methylocystis* y *Methylocella*, está intrínsecamente ligada al proceso de metanogénesis. Estos tapetes, conocidos por su rica diversidad microbiana, albergan microorganismos que desempeñan un papel crucial al utilizar el metano (CH_4) como fuente de carbono y energía a través de la oxidación del metano (14). La distribución y abundancia de estas bacterias en los tapetes están influenciadas por factores ambientales como la ubicación y la disponibilidad de nutrientes (15). La presencia de bacterias metanótrofas destaca la complejidad de las interacciones microbianas en los tapetes microbianos y su contribución esencial al ciclo del carbono. Estas bacterias pueden consumir metano disuelto en el agua o presente en el suelo, y este proceso puede tener lugar tanto en entornos cálidos como templados. Un aspecto fundamental de su función radica en la colaboración con otros microorganismos en el ciclo del carbono, transformando el metano en (CO_2). Este producto final puede ser aprovechado por otros organismos autótrofos, sosteniendo así distintos niveles tróficos dentro del tapete microbiano (14-17).

Los nutrimentos generados a partir del reciclaje de los elementos CHONPS en los tapetes microbianos

permanecen disponibles gracias a la presencia de minerales de arcilla como material parental en las pozas de Salinas de Lanzarote (España), el desierto de Wadi (Omán) y Domos del Arqueano (México). Dado que los minerales de arcilla poseen una carga química negativa, exhiben una alta capacidad de retención y protección de los nutrimentos (18). Además, la interacción entre las arcillas y la actividad microbiana contribuyen al proceso de agregación, que a su vez moldea la estructura estratificada de los tapetes microbianos al crear poros capaces de retener agua y aire esenciales para diversos procesos metabólicos.

En la segunda capa se encuentran varios grupos de procariotas distribuidos a lo largo de un gradiente de potencial redox, influenciado por la estructura estratificada del tapete microbiano. Esta estratificación crea un gradiente de oxígeno, que varía desde condiciones oxigenadas hasta condiciones anóxicas, lo que permite la realización de diversos ciclos biogeoquímicos. Estos ciclos de nutrientes desempeñan un papel esencial en los procesos ecosistémicos de los tapetes microbianos, ya que obtienen energía a través de la descomposición de materia orgánica y contribuyen a la mineralización y almacenamiento de nutrientes como N, S y Fe (Figura 4).

En los tapetes microbianos de Salinas de Lanzarote, Wadi y Domos del Arqueano, se han identificado consistentemente géneros como *Desulfovermiculus*, bacterias sulfato-reductoras que realizan el metabolismo de reducción del sulfato, transformando el sulfato (SO_4^{2-}) en sulfuro de hidrógeno (H_2S) en ambientes anóxicos (19). Este proceso es fundamental para la conservación del azufre y afecta la química del entorno, especialmente en ambientes acuáticos y sedimentarios, como las pozas que albergan los tapetes microbianos previamente mencionados. El género *Desulfonatronovibrio* engloba diversas especies como *Desulfonatronovibrio hydrogenovorans* que exhiben la capacidad de reducir el (SO_4^{2-}) en (H_2S) en condiciones anóxicas (20). Estos géneros son los únicos que se han identificado de manera consistente en los tapetes de España, Omán y México en estudios previos (4-7 y 36).

En la misma capa, se han encontrado bacterias que realizan el metabolismo de Fe, H y N. Como ejemplo, *Geobacter* y *Shewanella*, que han sido previamente identificados en tapetes microbianos de Islandia y Hawái, respectivamente (21-22), son reconocidos por su capacidad para utilizar compuestos de hierro, desempeñando un papel crucial en la movilización y reciclaje del Fe en dichos tapetes. Por ejemplo, algunas especies de *Geobacter* tienen la capacidad de reducir (Fe^{3+}) a iones de hierro (Fe^{2+}), lo que contribuye a la movilización y reciclaje del hierro en el entorno (23-24). A pesar de estos hallazgos, es importante señalar que estos géneros no se han descrito en los tapetes de Salinas de Lanzarote, Wadi y Domos del Arqueano. No obstante, se mencionan aquí para proporcionar un marco de referencia al discutir los géneros que participan en el

metabolismo de Fe en tapetes microbianos.

Además, diferentes especies de *Desulfotomaculum* poseen la capacidad de utilizar (H_2) como fuente de energía y como donante de electrones en sus procesos metabólicos (25). También existen reportes de varias especies del género *Clostridium*, que son conocidas por su habilidad para fermentar sustratos orgánicos y generar (H_2) como un producto metabólico, por lo cual son esenciales para la producción de (H_2) en entornos anóxicos (26). En cuanto al metabolismo del nitrógeno, se han identificado géneros como *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*, que participan en la nitrificación, y *Azotobacter*, que fija nitrógeno atmosférico, contribuyendo a la transformación de diversas formas de nitrógeno en los tapetes microbianos (27-29). La energía generada en los ciclos biogeoquímicos del N, S, H y Fe en esta capa impulsa la transformación de la materia orgánica. La producción primaria resultante se acumula y estratifica, contribuyendo así a la formación de una estructura multicapa. Estos procesos son fundamentales para la regulación de nutrientes, la disponibilidad de energía y la formación de estructuras multicapa en los tapetes microbianos, influyendo de manera significativa en la productividad primaria y la diversidad de microorganismos en estos ecosistemas (30).

Dentro de los componentes abióticos, es relevante destacar el origen del agua en las pozas de Salinas de Lanzarote, que se deriva de la interacción directa con las corrientes marinas del océano Atlántico, mientras que en Wadi y Domos de Arqueano, se trata de aguas subterráneas "fósiles", en su mayoría derivadas del Pleistoceno (2,600 Ma) (4-5 y 31). En los tres sitios, las aguas que alimentan las pozas promueven la presencia de minerales de pirita. La composición de azufre y hierro en los minerales de pirita desempeña un papel fundamental al proporcionar a los organismos de la capa dos los compuestos iniciales para iniciar los ciclos de azufre y hierro. Estos compuestos incluyen el sulfato, que actúa como el principal donante de electrones en la reducción que realiza *Desulfonatronovibrio* para formar (H_2S) (19). Además, los minerales de pirita contienen iones de hierro en diferentes estados de oxidación, que son esenciales en los procesos de reducción y oxidación que caracterizan el ciclo del hierro realizado por organismos de los géneros *Geobacter* y *Shewanella* (21-24). Estos compuestos iniciales influyen en la disponibilidad de nutrientes y en la formación de estructuras multicapa en los tapetes microbianos (32-34).

En la tercera capa de los tapetes microbianos, se encuentran bacterias fotosintéticas anoxigénicas, como las "bacterias verdes y purpuras" (Figura 4). Estos microorganismos utilizan compuestos orgánicos y azufre obtenidos de la capa anterior para realizar su metabolismo. Esto conduce a la formación de minerales de pirita que contribuyen al crecimiento vertical de los tapetes. Por ejemplo, *Chromatium* y *Spirochaeta* realizan

fotosíntesis anoxigénica utilizando (H_2S) y otros compuestos reducidos en lugar de agua como fuente de electrones (4-5 y 36). Esto les permite convertir (CO_2) en compuestos orgánicos utilizando la energía solar. Estas bacterias son cruciales para el ciclo del azufre en su entorno (34-36). Estas bacterias también pueden participar en el reciclaje del fósforo, ya que pueden fijar fósforo inorgánico y convertirlo en formas orgánicas, liberar nutrientes orgánicos, incluido el fósforo, cuando descomponen materia orgánica y estar involucradas en la reducción de fósforo inorgánico para que sea asimilable por otros microorganismos. Estas actividades afectan la disponibilidad y el reciclaje del fósforo en los ecosistemas, como los tapetes microbianos (37).

Los tapetes microbianos presentes en Salinas de Lanzarote, Wadi y Domos de Arqueano comparten, en la cuarta capa, los géneros *Phormidium* y *Microcoleus* (Figura 4) (4-5 y 36). Estos son géneros de cianobacterias que realizan la fotosíntesis oxigénica mediante el cual utilizan la energía de la luz solar para convertir (CO_2) y agua (H_2O) en compuestos orgánicos, como carbohidratos, liberando oxígeno molecular (O_2) (Figura 4) (38). Estas cianobacterias contienen pigmentos fotosintéticos, como la clorofila, que les permiten capturar la energía de la luz y utilizarla en la conversión de (CO_2) en materia orgánica. La actividad ecológica de estas cianobacterias resulta en la generación de grandes cantidades de polisacáridos extracelulares (EPS), que conducen a la formación de biopelículas en las capas superiores de los tapetes microbianos. Estos organismos contribuyen a las demás capas microbianas al agregar EPS, que actúa como un "gel viscoso" que se expande con el agua, promoviendo así la extensión y migración vertical de los tapetes microbianos. Con el tiempo, este proceso mantiene los tapetes en la superficie y evita su enterramiento (36).

Los tapetes microbianos ejercen una influencia importante en la solubilidad del carbono, lo que resulta en la formación de minerales de carbonato en sus filamentos a medida que crecen. Además, contribuyen a la cementación y creación de agregados que determinan la textura del tapete. Esta textura, puede variar de compacta a suelta, influye en la retención de agua y nutrientes, así como en la disponibilidad de oxígeno y luz solar para los microorganismos. Los tapetes con textura más suelta facilitan la circulación de agua y nutrientes, mientras que los más compactos retienen estos recursos, especialmente en condiciones de escasez. Además, los tapetes almacenan nutrientes como N, P y S, ya sea atrapándolos en sus estructuras microbianas o adsorbiéndolos a partículas minerales. Este almacenamiento es fundamental para la disponibilidad de nutrientes en el ecosistema, ya que los tapetes liberan gradualmente estos nutrientes a medida que se descomponen o cuando las condiciones lo requieren. Las arcillas presentes en las pozas donde crecen estos tapetes son esenciales debido a su alta microporosidad, lo que previene la pérdida de nutrientes y permite su utilización por otros

organismos, mejorando así los ciclos biogeoquímicos en los tapetes y contribuyendo a la estabilidad del ecosistema (39-41).

Los tapetes microbianos presentes en Salinas de Lanzarote, Wadi Omán y Doms de Arqueano comparten en su capa 5 diversos taxa de algas, incluyendo géneros como *Nitzschia*, *Navicula* y *Mastogloia* (4-5 y 36) (Figura 4). Estos organismos desempeñan un papel clave en los procesos de producción primaria mediante la realización de fotosíntesis oxigénica. Además, otros taxa como hongos y diversos protozoarios cumplen una función ecosistémica como consumidores, de gran importancia en el funcionamiento general del ecosistema al acelerar las tasas de degradación de materia orgánica.

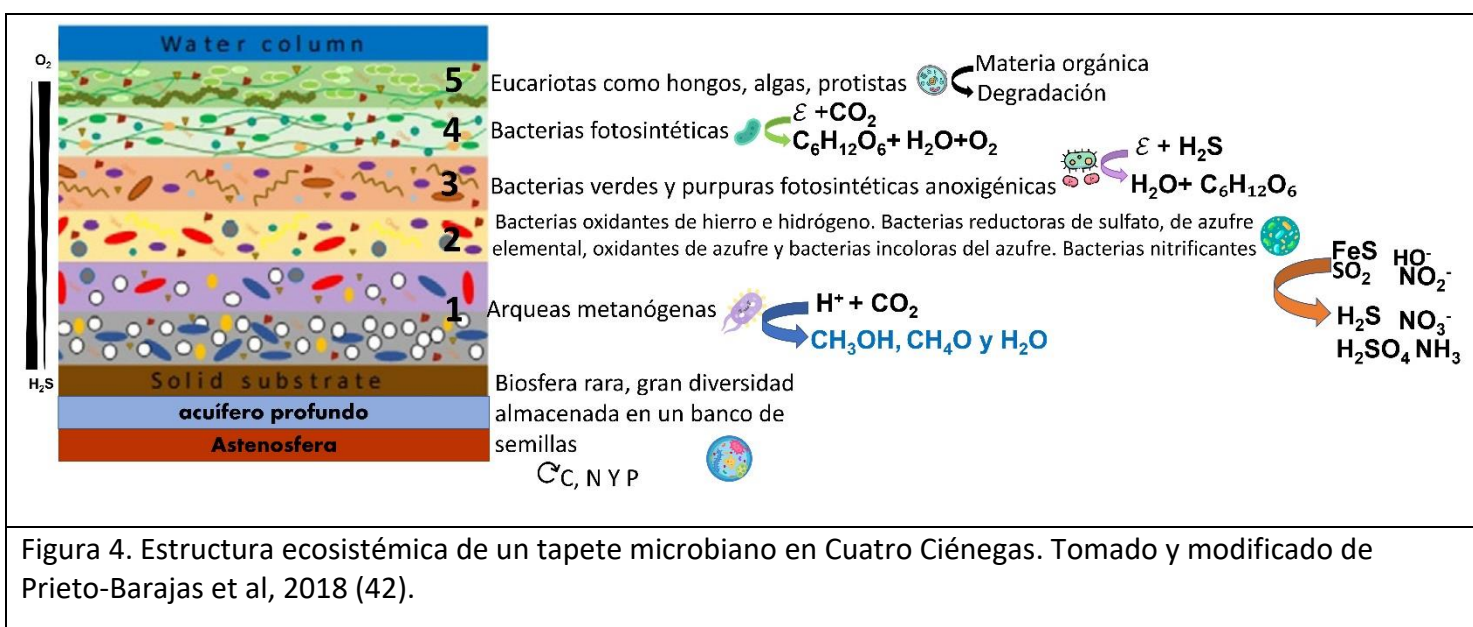


Figura 4. Estructura ecosistémica de un tapete microbiano en Cuatro Ciénegas. Tomado y modificado de Prieto-Barajas et al, 2018 (42).

Referencias

1. Nutman, A. P., Bennett, V. C., Friend, C. R., Van Kranendonk, M. J., y Chivas, A. R. (2016). Rapid emergence of life shown by discovery of 3,700-million-year-old microbial structures. *Nature*, 537(7621), 535-538.
2. Homann, M., Heubeck, C., Jahnke, L. L., Brocks, J. J., y Van Kranendonk, M. J. (2015). Morphological adaptations of 3.22 Ga-old tufted microbial mats to Archean coastal habitats (Moodies group, Barberton Greenstone Belt, South Africa). *Precambrian Research*, 266, 47-64.
3. Sverjensky, D. A., y Lee, N. (2010). The great oxidation event and mineral diversification. *Elements*, 6(1), 31-36.
4. Gerdes, G., Krumbein, W. E., y Noffke, N. (2000). Evaporite microbial sediments. En *Microbial Sediments* (pp. 196-208). Springer, Berlin, Heidelberg.
5. Jupp, B. P., Eichenberger, U., y Cookson, P. (2008). The microbial domes of Wadi Muqshin pools, Sultanate of Oman. *International Journal of Environmental Studies*, 65(5), 685-703.
6. Madrigal-Trejo, D., Sánchez-Pérez, J., Espinosa-Asuar, L., Valdivia-Anistro, J. A., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2023). A Metagenomic Time-Series Approach to Assess the Ecological Stability of Microbial Mats in a Seasonally Fluctuating Environment. *Microbial Ecology*, 1-19.
7. Espinosa-Asuar, L., Monroy-Guzmán, C., Madrigal-Trejo, D., Navarro-Miranda, M., Sánchez-Pérez, J., Buenrostro-Muñoz, J. B., y Souza, V. (2022). Diversity of an uncommon elastic hypersaline microbial mat along a small-scale transect. *PeerJ*, 10, 1-30.
8. Viladomat, M., Espinosa-Asuar, L., Valdivia-Anistro, J. A., Sánchez-Pérez, J., Madrigal-Trejo, D., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2022). "Metagenomic insight into taxonomic composition, environmental filtering, and functional redundancy for shaping worldwide modern microbial mats." bioRxiv. [<https://doi.org/10.1101/2022.08.09.503407>].
9. Imhoff, J. F., Petri, R., Süling, J., y Schlesner, H. (1979). The Wadi Natrun: chemical composition and microbial mass developments in alkaline brines of eutrophic desert lakes. *Geomicrobiology Journal*, 1(3), 219-234.
10. Whitman, W. B., Bowen, T. L., y Boone, D. R. (2006). The methanogenic bacteria. In *Prokaryotes 3* (Chapter 9, pp. 165-207).
11. Zhou, J., Whitman, W. B., Bowen, T. L., y Boone, D. R. (2021). Correlation of key physiological properties of *Methanosarcina* isolates with environment of origin. *Applied and Environmental Microbiology*,

87(13), e00731-21.

12. Karakashev, D., Batstone, D. J., y Angelidaki, I. (2005). Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactors. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), 331-338.
13. Cadena, S., Andréote, F. D., Dutilh, B. E., Cury, J. C., Camarinha-Silva, A., y Salles, J. F. (2018). Methanogenic and sulfate-reducing activities in a hypersaline microbial mat and associated microbial diversity. *Microbial Ecology*, 75, 930-940.
14. Hutchens, E., Radajewski, S., Dumont, M. G., McDonald, I. R., Murrell, J. C., y Eyice, Ö. (2004). Analysis of methanotrophic bacteria in Movile Cave by stable isotope probing. *Environmental Microbiology*, 6(2), 111-120.
15. Campbell, M. A., Grice, K., Visscher, P. T., Morris, T., Wong, H. L., White III, R. A., y Coolen, M. J. (2020). Functional gene expression in Shark Bay hypersaline microbial mats: adaptive responses. *Frontiers in Microbiology*, 11, 560336.
16. Tomczyk-Żak, K., Zielenkiewicz, U., Skłodowska, A., y Zielenkiewicz, P. (2013). Bacteria diversity and arsenic mobilization in rock biofilm from an ancient gold and arsenic mine. *Science of the Total Environment*, 461, 330-340.
17. Krüger, M., Meyerdierks, A., Glöckner, F. O., Amann, R., Widdel, F., Kube, M., Reinhardt, R., y Kahnt, J. (2008). A novel, multi-layered methanotrophic microbial mat system growing on the sediment of the Black Sea. *Environmental Microbiology*, 10(8), 1934-1947.
18. Basak, B. B., Pal, S., y Datta, S. C. (2012). Use of modified clays for retention and supply of water and nutrients. *Current Science*, 1272-1278.
19. Belyakova, E. V., Rozanova, E. P., Borzenkov, I. A., Kim, Y. V., y Panteleeva, A. N. (2006). The new facultatively chemolithoautotrophic, moderately halophilic, sulfate-reducing bacterium *Desulfovermiculus halophilus* gen. nov., sp. nov., isolated from an oil field. *Microbiology*, 75, 161-171.
20. Zhilina, T. N., Zavarzin, G. A., Rainey, F. A., Pikuta, E. N., Osipov, G. A., y Kostrikina, N. A. (1997). *Desulfonatronovibrio hydrogenovorans* gen. nov., sp. nov., an alkaliphilic, sulfate-reducing bacterium. *International journal of systematic bacteriology*, 47(1), 144-149.
21. Cockell, C. S., Kelly, L. C., Summers, S., y Marteinson, V. (2011). Following the kinetics: iron-oxidizing microbial mats in cold icelandic volcanic habitats and their rock-associated carbonaceous signature. *Astrobiology*, 11(7), 679-694.
22. Roh, Y., Gao, H., Vali, H., Kennedy, D. W., Yang, Z. K., Gao, W., y Zhou, J. (2006). Metal reduction and

- iron biomineralization by a psychrotolerant Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella* sp. strain PV-4. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5), 3236-3244.
23. Mahadevan, R., Bond, D. R., Butler, J. E., Esteve-Nunez, A., Coppi, M. V., Palsson, B. O., y Lovley, D. R. (2006). Characterization of metabolism in the Fe (III)-reducing organism *Geobacter sulfurreducens* by constraint-based modeling. *Applied and environmental microbiology*, 72(2), 1558-1568.
24. Roh, Y., Liu, S. V., Li, G., Huang, H., Phelps, T. J., y Zhou, J. (2006). Metal reduction and iron biomineralization by a psychrotolerant Fe (III)-reducing bacterium, *Shewanella* sp. strain PV-4. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5), 3236-3244.
25. Aüllo, T., Ranchou-Peyruse, A., Ollivier, B., y Magot, M. (2013). *Desulfotomaculum* spp. and related gram-positive sulfate-reducing bacteria in deep subsurface environments. *Frontiers in Microbiology*, 4, 362.
26. Hoffmann, D., Buck, B. H., Heilmayer, O., y Hassenrück, C. (2015). Hydrogen export from intertidal cyanobacterial mats: sources, fluxes and the influence of community composition. *Environmental Microbiology*, 17(10), 3738-3753.
27. Fan, H., Bolhuis, H., y Stal, L. J. (2015). Nitrification and nitrifying bacteria in a coastal microbial mat. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1367.
28. Wong, H. L., Ahmed-Cox, A., Burns, B. P., Thompson, A., y Qian, P. Y. (2015). Niche differentiation of bacterial communities at a millimeter scale in Shark Bay microbial mats. *Scientific Reports*, 5(1), 15607.
29. Chen, R., Borges, A. L., Chen, S., Smith, G. J., y Wong, H. L. (2020). Discovery of an abundance of biosynthetic gene clusters in Shark Bay microbial mats. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1950.
30. Souza, V., y Eguiarte, L. E. (2018). In the beginning, there was fire: Cuatro Ciénegas Basin (CCB) and the long history of life on earth. *Cuatro Ciénegas Ecology, Natural History and Microbiology*, 21-33.
31. Wolaver, B. D., Santos, I. R., Gonfiantini, R., y Herrera-Silveira, J. (2013). Identifying origins of and pathways for spring waters in a semiarid basin using He, Sr, and C isotopes: Cuatrociénegas Basin, Mexico. *Geosphere*, 9(1), 113-125.
32. Berner, R. A. (1984). Sedimentary pyrite formation: an update. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48(4), 605-615.
33. Oliveira, M. L. S., Pinto, F. N., Nunes, L. A. de O., Bernardez, L. A. M., Costa, A. C. S., Oliveira, F. J. S. y Costa, A. M. S. da. (2012). Chemical composition and minerals in pyrite ash of an abandoned sulphuric acid production plant. *Science of the Total Environment*, 430, 34-47.
34. Schieber, J. (1989). Pyrite mineralization in microbial mats from the mid-Proterozoic Newland

Formation, Belt Supergroup, Montana, USA. *Sedimentary Geology*, 64(1-3), 79-90.

35. Blankenship, R. E. (1985). Electron transport in green photosynthetic bacteria. *Photosynthesis Research*, 6, 317-333.
36. Gerdes, G. (2007). Structures left by modern microbial mats in their host sediments. *Atlas of microbial mat features preserved within the siliciclastic rock record*, 5.
37. Stal, L. J., Bolhuis, H., y Cretoiu, M. S. (2017). Phototrophic microbial mats. In *Modern topics in the phototrophic prokaryotes: Environmental and applied aspects* (pp. 295-318).
38. Guerrero, R., Piqueras, M., y Berlanga, M. (2002). Microbial mats and the search for minimal ecosystems. *International Microbiology*, 5, 177-188.
39. Abed, R. M. M., Al-Kharusi, S., Schramm, A., y Robinson, M. D. (2011). Cyanobacterial diversity and bioactivity of inland hypersaline microbial mats from a desert stream in the Sultanate of Oman. *Fottea*, 11(1), 215-224.
40. Chafetz, H. S., y Buczynski, C. (1992). Bacterially induced lithification of microbial mats. *Palaios*, 7, 277-293.
41. Chafetz, H. S. (1994). Bacterially induced precipitates of calcium carbonate and lithification of microbial mats. In *Biostabilization of sediments* (pp. 149-163).
42. Prieto-Barajas, C. M., Valencia-Cantero, E., y Santoyo, G. (2018). Microbial mat ecosystems: Structure types, functional diversity, and biotechnological application. *Electronic Journal of Biotechnology*, 31, 48-56.

Capítulo 3: Retroalimentación eco-evolutiva en Tapetes Microbianos

La teoría ecológica postula que el nicho es el espacio multidimensional en el que puede existir una especie, cuando este nicho modifica no sólo a las especies sino también a su entorno, se le llama “retroalimentación eco-evolutiva”. Para que esta retroalimentación exista, es necesario que los organismos transformen su ambiente al utilizar los recursos que los rodean. Estos cambios ambientales deben provocar una respuesta por parte de los organismos en relación con su entorno. Esta compleja dinámica evolutiva confiere a los organismos la capacidad de adaptarse al ambiente y, al mismo tiempo, modificarlo. (1-2). Los ciclos biogeoquímicos evolucionaron en los tapetes microbianos resultado de la diversificación biológica y metabólica que ocurrió en el Arqueano (3 y 4). Por lo tanto, la importancia de los tapetes microbianos puede atribuirse a su influencia en los ciclos biogeoquímicos de los principales elementos (por ejemplo, carbono, nitrógeno, azufre y metales) (5-8). De este modo comenzó la materia a circular por los ecosistemas, desde el ambiente a los seres vivos y de vuelta al ambiente.

Los ambientes en los tapetes del Arqueano y los modernos comparten analogías en algunos aspectos. En el Arqueano, los paleoambientes, así como los ambientes actuales asociados con las MISS/MRS incluyen mareas marinas poco profundas, entornos supramareales y lagunas hipersalinas. La diversidad de las MISS del Precámbrico sugiere variaciones temporales significativas, que pueden ser observadas en los tapetes microbianos actuales (8). Estas variaciones son cruciales para comprender las dinámicas temporales y la formación de MISS/MRS, ya que los tapetes microbianos modernos y precámbricos indican la influencia esencial de la retroalimentación eco-evolutiva en estos procesos.

En los tapetes de Domos del Arqueano, los virus parecen desempeñar un papel central en la dinámica evolutiva, siendo depredadores principales y extremadamente diversos (9-11). Esta observación sugiere que, en el pasado remoto, los virus también podrían haber tenido una importancia equivalente en la dinámica de retroalimentación eco-evolutiva. En este punto se pueden plantear las preguntas ¿Por qué en los tapetes de los Domos del Arqueano hay funciones análogas a las que se han reportado tenían los tapetes en el eón del Arqueano? (3-4), ¿Cuáles son los mecanismos que han permitido a los tapetes microbianos mantener la estabilidad en respuesta a las fluctuaciones ambientales durante al menos 3,700 Ma? La manera en que los tapetes microbianos han permanecido a través de tantos miles de millones de años puede ser explicada por la estabilidad y eficiencia

ecológica que tienen como ecosistemas para reciclar materia y energía. Dónde con base en la paradoja del circuito microbiano (12 y 13), la eficiencia de transferencia de materia y energía es explicada a través de que los nutrimentos se encuentran en un constante intercambio y transformación debido a los ciclos de movimiento y las micro interacciones dentro de los diferentes procesos en la dinámica temporal. Las moléculas de desecho de un organismo son aprovechadas por otro microorganismo para generar más biomasa, logrando así una eficiencia de transferencia energética del 45%. En comparación, en los macroecosistemas, donde la transferencia de energía se limita al 10% (12 y 13).

En el caso específico de los tapetes microbianos de Domos del Arqueano, la oligotrofia que aísla a el valle de Cuatro Ciénegas (CC) de organismos migrantes potenciales de otras comunidades fuera del valle, también las aísla de las comunidades vecinas, por lo tanto, se generan interacciones antagónicas contra todos los organismos que no son locales mediado por antibióticos, antifúngicos y otros compuestos producto del metabolismo secundario de procariontas y hongos, principalmente (14-18). Así, los tapetes de Domos del Arqueano parecen haber coevolucionado identificando a los organismos locales que cooperan y evitando “a los tramposos”, que pudieran entrar a la comunidad y usar bienes comunes sin aportar su parte. Investigaciones anteriores sobre tapetes microbianos en Cuatro Ciénegas, han señalado la existencia de fuertes interacciones nutricionales, indicando que no pueden desarrollarse de manera independiente (19 y 20). Este fenómeno sugiere un proceso coevolutivo denominado por Morris y su equipo en 2012 como "Reina Negra" (21). En este contexto, cada especie se especializa en realizar una función específica en condiciones limitantes, lo que conduce a una reducción del genoma y las funciones potenciales a través de la selección natural. Aunque esta especialización les permite crecer de manera más efectiva dentro de la comunidad, implica la incapacidad de sobrevivir en entornos diferentes.

En los Domos del Arqueano, el análisis de filogenias basadas en la reconstrucción de genomas ensamblados por metagenomas (MAGs) ha revelado una considerable diversidad de bacterias y Archaea, muchos de los cuales son muy antiguos, mientras que algunos muestran signos de diversificación más reciente. Surge la pregunta de por qué coexisten procesos de diversificación y conservación de linajes ancestrales (Rodríguez-Cruz, *en prensa*). En el caso de Cuatro Ciénegas (CC), la respuesta se encuentra en el aislamiento físico del acuífero profundo en la montaña de San Marcos y Pinos, en la relevancia geológica del sitio en la tectónica de placas y en el aislamiento debido al desbalance estequiométrico N:P (22). Esto ha proporcionado a los linajes de los tapetes microbianos de CC un tiempo considerable para diversificarse, manteniéndose aislados del resto del mundo. La alta oligotrofia del valle es un factor clave que explica la importancia y diversidad de la biosfera rara identificada en los análisis

ómicos (22-26).

Debido a los procesos de aislamiento y diversificación local en los tapetes microbianos, gran parte de su diversidad consiste en especies, géneros y a veces familias aún no identificadas ni estudiadas. La falta de crecimiento en medios axénicos ha limitado la comprensión de su metabolómica. Los procesos metabólicos generales, incluyendo el metabolismo secundario y el catabolismo, son en su mayoría desconocidos. Se postula que el acuífero profundo, al formar pozas, enriquece biológicamente los tapetes al contener una microbiota diversa que actúa como comunidad fundadora y "banco de semillas" de especies y funciones, haciendo del sistema un entorno resiliente y dinámico (22).

Referencias

1. Colwell, R. K., y Rangel, T. F. (2009). Hutchinson's duality: The once and future niche. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(supplement_2), 19651-19658.
2. Moreno-Fenoll, C., Ruxton, G. D., Brockhurst, M. A., Rozen, D. E., y Friman, V. P. (2017). Eco-evolutionary feedbacks can rescue cooperation in microbial populations. *Scientific Reports*, 7(1), 42561.
3. Lyons, T. W., Fike, D. A., y Zerkle, A. (2015). Emerging biogeochemical views of Earth's ancient microbial worlds. *Elements*, 11(6), 415-421.
4. Moore, E. K., Jelen, B. I., Giovannelli, D., Raanan, H., y Falkowski, P. G. (2017). Metal availability and the expanding network of microbial metabolisms in the Archaean eon. *Nature Geoscience*, 10(9), 629-636.
5. Canfield, D. E., y Des Marais, D. J. (1993). Biogeochemical cycles of carbon, sulfur, and free oxygen in a microbial mat. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 57(16), 3971-3984.
6. Paerl, H. W., y Pinckney, J. L. (1996). A mini-review of microbial consortia: their roles in aquatic production and biogeochemical cycling. *Microbial Ecology*, 31, 225-247.
7. Pagès, A., Birgel, D., Taubner, I., Högström, A. E. S., Peckmann, J., Bernasconi, S. M., y Hinrichs, K. U. (2014). Organic geochemical studies of modern microbial mats from Shark Bay: Part I: Influence of depth and salinity on lipid biomarkers and their isotopic signatures. *Geobiology*, 12(5), 469-487.
8. Gerdes, G. (2007). Structures left by modern microbial mats in their host sediments. *Atlas of microbial mat features preserved within the siliciclastic rock record*, 5.
9. Cisneros-Martínez, A. M., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2023). Metagenomic comparisons reveal a highly diverse and unique viral community in a seasonally fluctuating hypersaline microbial mat. *Microbial Genomics*, 9(7), 001063.
10. Desnues, C., Rodriguez-Brito, B., Rayhawk, S., Kelley, S., Tran, T., Haynes, M., y Rohwer, F. (2008). Biodiversity and biogeography of phages in modern stromatolites and thrombolites. *Nature*, 452(7185), 340-343.
11. Taboada, B., Sistro, M., Clark, K., Medina-Chávez, N. O., Caro-Quintero, A., Rodriguez-Martinez, S. J., y Souza, V. (2018). The geographic structure of viruses in the Cuatro Ciénegas Basin, a unique oasis in northern Mexico, reveals a highly diverse population on a small geographic scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(11), e00465-18.
12. Werner, G. D. A., Strassmann, J. E., Ivens, A. B. F., Engelmoer, D. J. P., Verbruggen, E., Queller, D. C., y Kiers, E. T. (2014). Evolution of microbial markets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(4), 1237-1244.

13. Kallus, Y., Miller, J. H., y Libby, E. (2017). Paradoxes in leaky microbial trade. *Nature Communications*, 8(1), 1361.
14. Pérez-Gutiérrez, R. A., López-Ramírez, V., Islas, Á., Alcaraz, L. D., Hernández-González, I., Olivera, B. C., y Souza, V. (2013). Antagonism influences assembly of a *Bacillus* guild in a local community and is depicted as a food-chain network. *The ISME Journal*, 7(3), 487-497.
15. Aguirre-von-Wobeser, E., Rocha-Estrada, J., Souza, V., y Travisano, M. (2014). Two-role model of an interaction network of free-living γ -proteobacteria from an oligotrophic environment. *Environmental Microbiology*, 16(5), 1366-1377.
16. Aguirre-Liguori, J. A., Tenaillon, M. I., Vázquez, A., García-Oliva, F., y Souza, V. (2017). Connecting genomic patterns of local adaptation and niche suitability in teosintes. *Molecular Ecology*, 26(16), 4226-4240.
17. Ponce-Soto, G. Y., Aguirre-von-Wobeser, E., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2015). Enrichment experiment changes microbial interactions in an ultra-oligotrophic environment. *Frontiers in Microbiology*, 6, 246.
18. Arocha-Garza, H. F., Canales-Del Castillo, R., Siqueiros-Valencia, A., y Souza, V. (2017). High diversity and suggested endemism of culturable Actinobacteria in an extremely oligotrophic desert oasis. *PeerJ*, 5, e3247.
19. Alcaraz, L. D., Olmedo, G., Bonilla, G., Cerritos, R., Hernández, G., Cruz, A., y Eguiarte, L. E. (2008). The genome of *Bacillus coahuilensis* reveals adaptations essential for survival in the relic of an ancient marine environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(15), 5803-5808.
20. Rodríguez-Torres, M. D., Labeda, D. P., Salazar, C., Solano, G., Trujillo, M. E., y González, V. (2017). Phenotypic microdiversity and phylogenetic signal analysis of traits related to social interaction in *Bacillus* spp. from sediment communities. *Frontiers in Microbiology*, 8, 29.
21. Morris, J. J., Lenski, R. E., y Zinser, E. R. (2012). The Black Queen Hypothesis: evolution of dependencies through adaptive gene loss. *mBio*, 3(2), 10-1128.
22. Souza, V., Espinosa-Asuar, L., Escalante, A. E., Eguiarte, L. E., y Farmer, J. (2018). The lost world of Cuatro Ciénegas Basin, a relictual bacterial niche in a desert oasis. *eLife*, 7, e38278.
23. Madrigal-Trejo, D., Aguirre-Liguori, J. A., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2023). A Metagenomic Time-Series Approach to Assess the Ecological Stability of Microbial Mats in a Seasonally Fluctuating Environment. *Microbial Ecology*, 1-19.
24. Espinosa-Asuar, L., Monroy-Guzmán, C., Madrigal-Trejo, D., Navarro-Miranda, M., Sánchez-Pérez, J., Buenrostro-Muñoz, J. B., y Souza, V. (2022). Diversity of an uncommon elastic hypersaline microbial mat along a small-scale transect. *PeerJ*, 10, 1-30.

25. Cisneros-Martínez, A. M., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2023). Metagenomic comparisons reveal a highly diverse and unique viral community in a seasonally fluctuating hypersaline microbial mat. *Microbial Genomics*, 9(7), 001063.
26. Medina-Chávez, N. O., Caro-Quintero, A., Canales-Del Castillo, R., Castañeda-Lucio, M., Cerritos, R., Rodríguez-Martínez, S. J., y Souza, V. (2019). Diversity of Archaea Domain in Cuatro Ciénegas Basin: Archaeal Domes. *bioRxiv*, 766709.
27. Lynch, M. D. J., y Neufeld, J. D. (2015). Ecology and exploration of the rare biosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 13(4), 217-229.

Capítulo 4: Las técnicas Ómicas para conocer la Función Ecosistémica de los Tapetes Microbianos

3.1 Cuatro Ciénegas y los ecosistemas del Arqueano

Cuatro Ciénegas (CC) se presenta como una "máquina del tiempo" donde las comunidades microbianas se estructuran en tapetes microbianos y estromatolitos. Estos albergan linajes endémicos que se separaron de sus parientes marinos hace mucho tiempo, pero aún mantienen similitudes funcionales con las comunidades del pasado (1-6). La particularidad del origen del agua en CC, con contribución significativa de un acuífero profundo con agua marina, crea condiciones químicas propicias para estromatolitos y tapetes microbianos (7). Este acuífero profundo no solo forma pozas, sino que también las enriquece biológicamente con biosfera rara, la cual actúa como una comunidad fundadora y un "banco de semillas", contribuyendo a la resiliencia y dinámica de estas comunidades microbianas (8).

En Cuatro Ciénegas (CC), el banco de semillas, posiblemente responsable de la dominancia de la "biosfera rara", es excepcionalmente diverso y constituye la mayor parte de los metagenomas en las comunidades microbianas de CC, incluyendo los tapetes microbianos en la poza Domos del Arqueano (6,12 y 15-17). Estudios moleculares indican que estos linajes han experimentado una diversificación a lo largo de cientos de millones de años (5). Estos linajes marinos y altamente diversos también se reflejan en las comunidades de virus en CC (13-15). En 2016, se descubrieron tapetes microbianos en CC que forman estructuras de domos de gas, visibles solo durante las lluvias y cambios en el pH. Estos "domos" recrean condiciones anóxicas dominadas por metano y volátiles de azufre, similares a las de la atmósfera en el Arqueano, hace aproximadamente 3,700 millones de años (6 y 12).

3.2 Explorando los Tapetes Microbianos de Cuatro Ciénegas: Un enfoque integrado Metagenómico y Metabolómico para comprender la Diversidad y Funcionalidad Ecosistémica

En los domos que forman los tapetes microbianos en Cuatro Ciénegas se han llevado a cabo investigaciones utilizando estrategias metagenómicas de metabarcoding y shotgun para inferir funciones metabólicas (6 y 16-17). Sin embargo, es conocido que basar inferencias metabólicas en estos datos puede llevar a una interpretación incorrecta de las funciones metabólicamente activas en la comunidad, ya que podrían no estar operando bajo ciertas condiciones ambientales o no estar siendo expresadas. Adicionalmente, cabe la

posibilidad de que los organismos presentes en el tapete muestreado se encuentren en un estado de latencia, y que el ADN extraído sea simplemente de esporas.

Por lo anterior, los análisis metabolómicos son los únicos datos que pueden decir con certeza qué metabolitos se están sintetizando y utilizando al momento del muestreo, y así conocer las moléculas implicadas en diferentes funciones metabólicas. Es decir, una vez caracterizados los metabolitos con bases de datos podemos saber quién los produce (18 y 19). Los metabolitos representan un grupo diverso de estructuras de bajo peso molecular que incluyen lípidos, ácidos orgánicos, vitaminas, tioles y carbohidratos (19). La metabolómica es la técnica ómica que se enfoca en la identificación y cuantificación sistemática de todos los metabolitos en una comunidad microbiana o muestra biológica, permite la determinación y comparación simultánea de miles de entidades químicas (20). Debido a la complejidad y a las diversas propiedades de los metabolitos, el análisis global del metaboloma es un reto difícil dada la complejidad de las interacciones comunitarias multi-específicas, ya que son una de las muchas razones por las que la mayoría de los microorganismos siguen sin cultivarse (21). Sin embargo, los análisis metabolómicos ofrecen una visión muy relevante de lo que están haciendo los organismos y de la variabilidad de su metaboloma. La anotación de los metabolitos altamente variables suele ser central para comprender los perfiles metabolómicos implicados en los cambios de la comunidad.

Los análisis metagenómicos realizados hasta ahora en los tapetes microbianos de la Poza Domos del Arqueano sugieren que el acuífero profundo de Cuatro Ciénegas no solo recrea las condiciones del mar ancestral, sino que posiblemente sirve como un "banco de semillas" de la "biosfera rara", compuesta por linajes bacterianos poco abundantes y altamente divergentes. Esto se atribuye a la notable diversidad presente en este entorno multiextremo (1-10; 12-17). En este contexto, una revisión integral que combine enfoques metagenómicos y metabolómicos emerge como la estrategia más apropiada para profundizar en la comprensión de estos ecosistemas microbianos.

Dado que los tapetes microbianos contemporáneos poseen la capacidad de reciclar nutrientes y elementos esenciales, estos se presentan como un modelo ecosistémico adecuado para la investigación de aspectos vinculados con la estabilidad ecológica (6). La utilización de modelos vivos permite examinar los perfiles metabolómicos de los linajes presentes en estos ecosistemas. Se especula que estos sistemas microbianos podrían constituir análogos modernos de antiguos tapetes microbianos, donde las funciones se han conservado a lo largo del tiempo. La poza Domos del Arqueano emerge como un potencial análogo prometedor para la Tierra primitiva (5, 6 y 7).

En este proyecto, se busca responder preguntas como ¿cuáles son los perfiles metabólicos en los tapetes microbianos de la poza Domos del Arqueano?, ¿cambian los perfiles metabólicos con el tiempo?, ¿son los domos de los tapetes microbianos una singularidad comparados con otras comunidades microbianas de nuestro planeta?, ¿qué perfiles metabólicos dominan en estos domos y cómo cambian en el tiempo? y ¿cómo funcionan los tapetes microbianos de Domos del Arqueano?

Referencias

1. Moreno-Letelier, A., Olmedo-Álvarez, G., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2012). Divergence and phylogeny of Firmicutes from the Cuatro Ciénegas Basin, Mexico: a window to an ancient ocean. *Astrobiology*, 12(7), 674-684.
2. Domínguez-Escobar, J., Chaves-Moreno, D., Wilmotte, A., López-García, P., Rodríguez-Valera, F., y Souza, V. (2011). Phylogenetic and molecular clock inferences of cyanobacterial strains within Rivulariaceae from distant environments. *FEMS microbiology letters*, 316(2), 90-99.
3. Moreno-Letelier, A., Olmedo-Alvarez, G., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2011). Parallel evolution and horizontal gene transfer of the *pst* operon in Firmicutes from oligotrophic environments. *International Journal of Evolutionary Biology*.
4. Souza, V., Espinosa-Asuar, L., Escalante, A. E., Eguiarte, L. E., y Farmer, J. (2006). An endangered oasis of aquatic microbial biodiversity in the Chihuahuan desert. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(17), 6565-6570.
5. Souza, V., Siefert, J. L., Escalante, A. E., Elser, J. J., Eguiarte, L. E., y Farmer, J. (2018). The lost world of Cuatro Cienegas Basin, a relictual bacterial niche in a desert oasis. *Elife*, 7, e38278.
6. Madrigal-Trejo, D., Aguirre-Liguori, J. A., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2023). A Metagenomic Time-Series Approach to Assess the Ecological Stability of Microbial Mats in a Seasonally Fluctuating Environment. *Microbial Ecology*, 1-19.
7. Wolaver, B. D., Myre, J. M., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2013). Identifying origins of and pathways for spring waters in a semiarid basin using He, Sr, and C isotopes: Cuatrociénegas Basin, Mexico. *Geosphere*, 9(1), 113-125.
8. Manuel García-Ulloa, I. I., Santillán, E., Carrillo-Berumen, C., Maldonado-Rodríguez, R., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2022). Recent Differentiation of Aquatic Bacterial Communities in a Hydrological System in the Cuatro Ciénegas Basin, After a Natural Perturbation. *Frontiers in Microbiology*, 13.
9. Peimbert, M., Alcaraz, L. D., y Hernández, I. (2012). Extreme Redfield Ratios, Metagenomic and Microbial Diversity Analyses of a Seasonal Shallow Red Pool in Cuatro Cienegas Coahuila, Mexico. *Astrobiology*, 12(7), 648-658.
10. Bonilla-Rosso, G., Peimbert, M., Alcaraz, L. D., Hernández, I., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2012). Comparative metagenomics of two microbial mats at Cuatro Ciénegas Basin II: Community structure and composition in oligotrophic environments. *Astrobiology*, 12(7), 659-673.
11. Lee, Z. M.-P., Corman, J. R., Brahamsha, B., Wingreen, N. S., y Komeili, A. (2017). Nutrient stoichiometry

- shapes microbial community structure in an evaporitic shallow pond. *Frontiers in Microbiology*, 8, 949.
12. Espinosa-Asuar, L., Monroy-Guzmán, C., Madrigal-Trejo, D., Navarro-Miranda, M., Sánchez-Pérez, J., Buenrostro-Muñoz, J. B., y Souza, V. (2022). Diversity of an uncommon elastic hypersaline microbial mat along a small-scale transect. *PeerJ*, 10, 1-30.
 13. Desnues, C., Rodriguez-Brito, B., Rayhawk, S., Kelley, S., Tran, T., Haynes, M., y Rohwer, F. (2008). Biodiversity and biogeography of phages in modern stromatolites and thrombolites. *Nature*, 452(7185), 340-343.
 14. Taboada, B., Sistro, M., Clark, K., Medina-Chávez, N. O., Caro-Quintero, A., Rodriguez-Martinez, S. J., y Souza, V. (2018). The geographic structure of viruses in the Cuatro Ciénegas Basin, a unique oasis in northern Mexico, reveals a highly diverse population on a small geographic scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(11), e00465-18.
 15. Cisneros-Martínez, A. M., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2023). Metagenomic comparisons reveal a highly diverse and unique viral community in a seasonally fluctuating hypersaline microbial mat. *Microbial Genomics*, 9(7), 001063.
 16. Medina-Chávez, N. O., Caro-Quintero, A., Canales-Del Castillo, R., Castañeda-Lucio, M., Cerritos, R., Rodriguez-Martinez, S. J., y Souza, V. (2019). Diversity of Archaea Domain in Cuatro Cienegas Basin: Archaeal Domes. *bioRxiv*, 766709.
 17. Viladomat, M., Espinosa-Asuar, L., Valdivia-Anistro, J. A., Sánchez-Pérez, J., Madrigal-Trejo, D., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2022). "Metagenomic insight into taxonomic composition, environmental filtering, and functional redundancy for shaping worldwide modern microbial mats." *bioRxiv*. [<https://doi.org/10.1101/2022.08.09.503407>].
 18. Idle, J. R., y Gonzalez, F. J. (2007). Metabolomics. *Cell Metabolism*, 6(5), 348-351.
 19. Aguiar-Pulido, V., Olivares-Romero, J., Dorrestein, P. C., Wang, M., y Gonzalez, D. J. (2016). Metagenomics, metatranscriptomics, and metabolomics approaches for microbiome analysis: supplementary issue: bioinformatics methods and applications for big metagenomics data. *Evolutionary Bioinformatics*, 12, EBO-S36436.
 20. Zhang, A., Sun, H., y Wang, X. (2012). Modern analytical techniques in metabolomics analysis. *Analyst*, 137(2), 293-300.
 21. Xian, W.-D., Lou, J., Wang, C., y Jiang, H.-C. (2020). Network-directed efficient isolation of previously uncultivated Chloroflexi and related bacteria in hot spring microbial mats. *npj Biofilms and Microbiomes*, 6(1), 20.

Hipótesis

Dado que los tapetes microbianos han demostrado ser ecosistemas sumamente diversos y que se ha postulado que esta diversidad cambia entre condiciones secas y húmedas en Domos del Arqueano CC, siendo más alta en condiciones húmedas (6, 12, 15-17 cap. 4); entonces, se espera que la diversidad de metabolitos en tapetes húmedos y en mesocosmos húmedos sea alta, reduciéndose en la temporada de secas. Por otra parte, si los tapetes húmedos están experimentando cambios significativos, como se ha observado en otros tapetes equivalentes que forman domos, entonces, la diversidad de metabolitos podría ser más alta en condiciones secas.

Objetivos

1. Caracterizar las comunidades naturales de tapetes microbianos en dos estaciones climáticas con condiciones de humedad contrastantes.
2. Establecer comunidades experimentales ex situ ("mesocosmos") mediante la utilización de muestras recolectadas durante la estación húmeda.
3. Analizar los perfiles metabolómicos de los organismos presentes en los domos microbianos y mesocosmos, para determinar cómo esta composición varía durante las distintas estaciones climáticas.
4. Identificar taxonómicamente a los organismos que forman parte de los tapetes microbianos y analizar cómo cambia la composición comunitaria en respuesta a las transformaciones diferenciales del ambiente a lo largo de las estaciones climáticas.
5. Describir los cambios en los perfiles metabolómicos de los tapetes microbianos como indicadores de las transformaciones en el ambiente durante las diferentes condiciones climáticas.

Metabolomic Diversity in Microbial Mats Under Different Environmental Conditions: A Tool to Test Microbial Ecosystem Chemical Change

Jhoselinne Buenrostro-Muñoz,^[a, b] Scott A. Jarmusch,^[c] Valeria Souza,^[a, d] Anahí Martínez-Cárdenas,^[e] Carlos A. Fajardo-Hernández,^[e] Itzel R. Yeveerino,^[e] Luis E. Eguiarte,^[a] and Mario Figueroa^{*[e]}

Microbial mats are microbial communities capable of recycling the essential elements of life and considered to be the oldest evidence of microbial communities on Earth. Due to their uniqueness and limited sampling material, analyzing their metabolomic profile in different seasons or conditions is challenging. In this study, microbial mats from a small pond in the Cuatro Ciénegas Basin in Coahuila, Mexico, were collected in wet and dry seasons. In addition to these samples, mesocosm experiments from the wet samples were set. These mats are

elastic and rise after heavy rainfall by forming gas domes structures known as “Archean domes”, by the outgassing of methanogenic bacteria, archaea, and sulfur bacteria. Extracts from all mats and mesocosms were subjected to untargeted mass spectrometry-based metabolomics and molecular networking analysis. Interestingly, each mat showed high chemical diversity that may be explained by the temporal dynamic processes in which they were sampled.

Introduction

The Cuatro Ciénegas Basin (CCB), in the state of Coahuila, in the North of Mexico was a shallow marine environment for most of Earth’s geologic time.^[1] It was not until 40 million years ago with the uplift of the eastern Sierra Madre that the CCB valley, along with its marine microbial diversity, became isolated from the Gulf of Mexico.^[2] It has been suggested that the isolated water and microbial diversity of CCB were stored in a deep aquifer, which continues to feed the more than 300 ponds that are distributed in the 840 km² of the valley.^[1] In 2013, Wolaver

et al. suggested that this isolated ecosystem is influenced by the asthenosphere, which makes the water in their ponds warm (32 °C), rich in sulfur, but deficient in oxygen and phosphorus.^[3] Previous work explained that these chemical conditions favor the permanence of ancestral microbial communities, such as stromatolites and microbial mats.^[4]

In 2016, a very particular pond was discovered in CCB, a site where microbial mats are flexible and grow to form gas domes under wet conditions when flooded (Figure 1). We named this small shallow pond (~1750 m²) “Archean Domes” due to the domes’ internal atmospheres mimicking the Archean Eon.^[5] The gas domes are heterogeneously formed in the pond but only in wet season, limited in circle like shapes that we called “Orange Circles”, and the flexible mat uplift, as the reducing gases are produced. In this site, we observed that while the Orange Circles are wet all year round and composed mostly of very small particles of clay and silt. However, the site where the Archean Domes form contains more sand and hence have more structure,^[5] suggesting a differential connection with the deep aquifer.

Microbial mats are present all year, even when the pond is mostly dry and covered by a thick layer of salts. Metagenomic studies have previously characterized these microbial communities in the wet and dry seasons for several years, uncovering an extraordinary diversity of Archaea.^[5–7] These investigations demonstrated that Archean Domes microbial mats can carry out all the main organic biogeochemical cycles of life (carbon, hydrogen, nitrogen, oxygen, phosphorus, and sulfur), due to the presence of the three main components of an ecosystem: primary producers, consumers, and recyclers.

Two sites with microbial mats strikingly similar in function and structure to the Archean Domes have been documented: microbial mats from Wadi in Oman,^[8–9] and Salinas de Lanzarote

[a] BSc. J. Buenrostro-Muñoz, Prof. V. Souza, Prof. L. E. Eguiarte
Departamento de Ecología Evolutiva, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04530, México

[b] BSc. J. Buenrostro-Muñoz
Posgrado de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04530, México

[c] Dr. S. A. Jarmusch
Department of Biotechnology and Biomedicine, Technical University of Denmark, Søtofts Plads 221, DK-2800 Kongens Lyngby, Denmark

[d] Prof. V. Souza
Centro de Estudios del Cuaternario de Fuego-Patagonia y Antártica (CEQUA), Punta Arenas, Chile (ANID R20F0009)

[e] Dr. A. Martínez-Cárdenas, Dr. C. A. Fajardo-Hernández, MSc. I. R. Yeveerino, Prof. M. Figueroa
Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, 04530, México
E-mail: mafiguer@unam.mx

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300829>

© 2023 The Authors. Chemistry & Biodiversity published by Wiley-VHCA AG. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

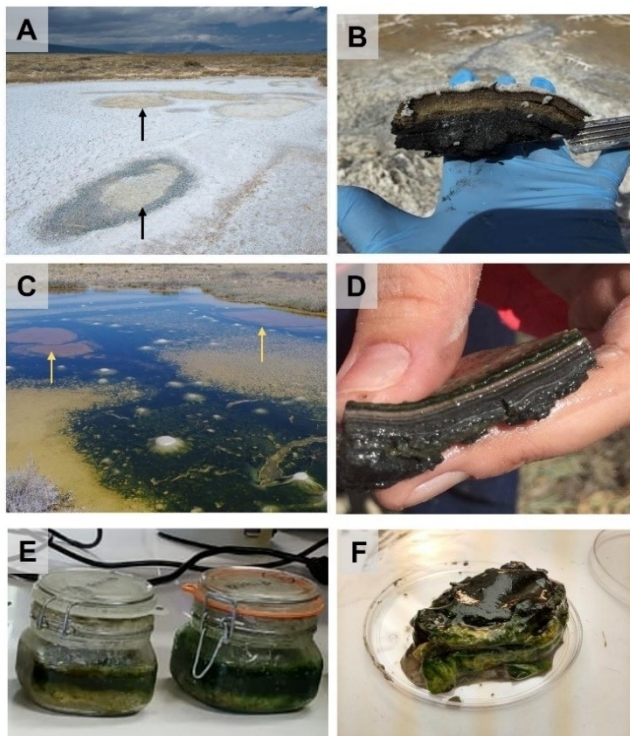


Figure 1. The Archaean Domes microbial system: **A:** pond and **B:** microbial mat in dry season (sampling of March 2019); **C:** pond and **D:** mat microbial in wet season (sampling of October 2018 by Espinosa-Asuar and collaborators⁹); and **E:** mesocosm experiment with **F:** microbial mat from mesocosm. Arrows shows the Orange Circles in the pond (see text).

in the Canary Islands.^[10] Studies on these microbial mats have been based on microscopically observed structures or geochemical analyses aimed at understanding how microbial mats

with these characteristics can form soils. However, there is no evidence that soil forming is occurring in Archaean Domes. In addition, domes formed by microbial mats have been observed in the Archean fossil record roughly 3.2 billion years ago.^[11–12]

Based on what was proposed by Schieber et al. in 2007,^[13] the different processes associated with the temporal dynamics in microbial mats from Archaean Domes are shown in Figure 2. The first process within the temporal dynamic is microbial mat growth (Figure 2a), where the morphology and biofilms behavior of the microbial mats form thin biofilms. Biofilms are stable sediment surfaces comprised of intermingled sand grains with filamentous cyanobacteria, fungi, algae, and protozoan. Then, four layers of different types of prokaryotes (photoautotroph cyanobacteria, photosynthetic bacteria, and chemoautotroph bacteria and archaea) form the microbial mat. The second process is where the microbial mat is metabolically active, and develops biological responses to physical disturbances, e.g., precipitation of carbonate minerals (sediment trapping and fixation) by photosynthetic cyanobacteria (Figure 2b). The last process is the mechanical deformation of the biologically stabilized sediment surfaces (gas dome formation) (Figure 2c). Once mat decay begins, gases disturb the sediment beneath the mats and disrupt the mats themselves, forming gas domes that later are broken (known as Astropolithon).^[13]

Despite metagenomic studies of the mats,^[5–7,14] there is a lack of knowledge of the general metabolic processes in microbial mats, including the secondary metabolism and catabolism, and Archaean Domes is particularly interesting, given its high diversity of Archaea as well as the fluctuating poly-extreme environment it persists. In our study, untargeted metabolomics, using liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS), was used to analyze microbial mat extracts collected during the wet and dry seasons from a small

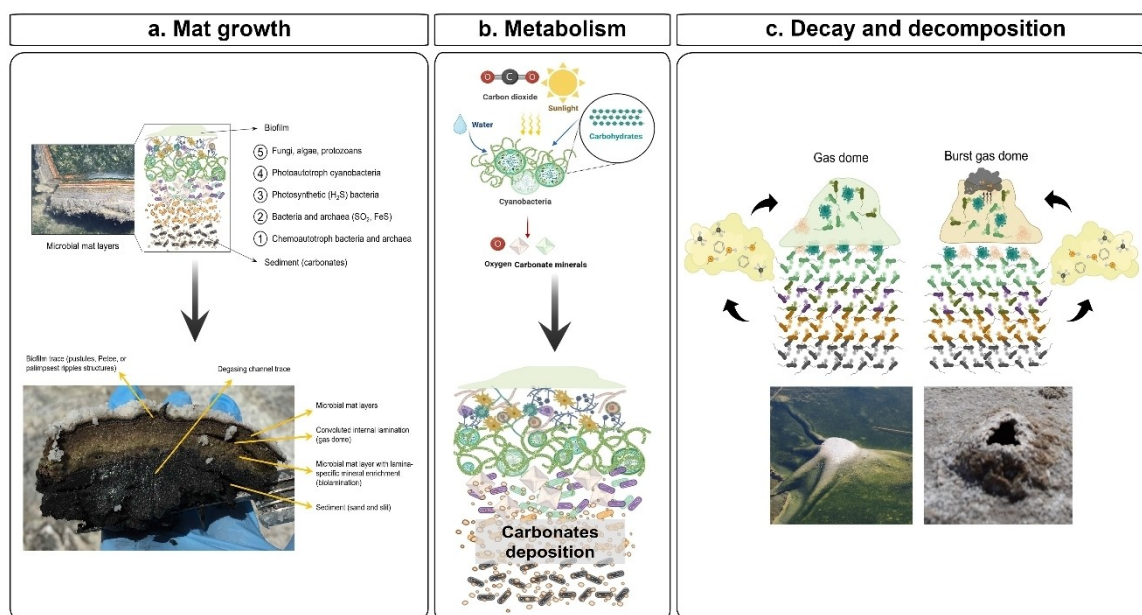


Figure 2. Ecosystem model of microbial mat in a dynamic temporal along the different stages in the Archaean Domes pond in CCB. Structures and characteristics in each process of the dynamic temporal of these microbial mats are represented.

pond in the CCB in Coahuila, Mexico. In addition, mesocosm experiments from the wet mats were also analyzed. Global Natural Products Social molecular networking (GNPS) analysis was used to improve data mining and dereplication. Although the identification of metabolites and other chemicals in microbial mat samples with extreme salt or mineral content by LC/MS based methods represent a major challenge, our results contribute to the understanding microbial mats and the diversity of chemicals found in these hypersaline ecosystems.

Results and Discussion

The change in the metabolomic profile of twenty unique sampled microbial mats, collected in two temporal dynamic processes (dry and wet seasons) and mesocosms, was assessed by UPLC-PDA-HR-ESI-MS-MS/MS, and subsequent molecular networking analysis and NPClass annotations through SIRIUS platform. Due to the complex nature of organic extracts, especially from environment samples, this workflow and a partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) was used to derive meaningful conclusions from the data. These analyses allowed to unveil aspects of the functional expressions of these ecosystems under different environmental conditions.

We were expecting different metabolomic profiles for each group of samples as the metagenomic and 16S tag data^[5] revealed that microbial mats are phylogenetically diverse and contain a very large proportion of microbes from the so called "rare biosphere".^[5] Thus, the putative role and function of the chemical compounds could provide a better understanding of the microbial mats metabolomic profiles in different stages of the temporal dynamics.

To determine the relationships of mat collection time and compare our laboratory grown mesocosms, we plotted the LC/MS data using PLS-DA (Figure 3a).^[15] The three components

explain 36.5% of the variance of the samples, where T0 and T1A samples (wet season and mesocosms, respectively) are more similar to each other. T1B samples (dry season) are very distant from the other samples. From an ecological point of view, the similitude of metabolomic profiles of T0 and T1A samples could be related to destruction and decay processes of the mats, while in T1B, metabolism-related processes are occurring. A heatmap of 16,605 molecular ions observed in the LC/MS data of all samples (Figure 3b) showed that during dry season (T1B), more ions are present and could correlate with the higher metabolic activity of the mats due to the process of growth. Interestingly, the dry season (T1B) samples contain a diversity of 1,390 amplicon sequence variants (ASVs) while the samples from wet stages contained 6,063 (T0),^[5] and 3,870 (T1A, mesocosms) ASVs. Then, the ASVs point to a greater diversity of microbes in the wet > mesocosm > dry samples, but the metabolism points to the dry > wet = mesocosm (Figure 4 and Table 1).

To reduce complexity and attempt to find chemically related structures in the microbial mat extracts, we generated a feature based molecular networking (FBMN) (positive ionization mode) containing 3986 molecular features with an annotation rate of 1.2% (Figure 5). A molecular networking using negative mode was also generated, but contained minimal clustering and therefore was ignored for the scope of this study (data not shown). Applying metadata pertaining to dome production we observed that, despite that ASVs diversity is double,^[5] only 37.7% of the organic features derive from microbial mat in wet season (T0) or mesocosm (T1A). Unexpectedly, a large portion of the chemical features are obtained from the dry season samples, where we thought that the community was under hypersalinity stress and therefore, diversity not only changes but reduces by half.

Many of the features linked to the dry season as well as to the wet season and to the mesocosms belong to large

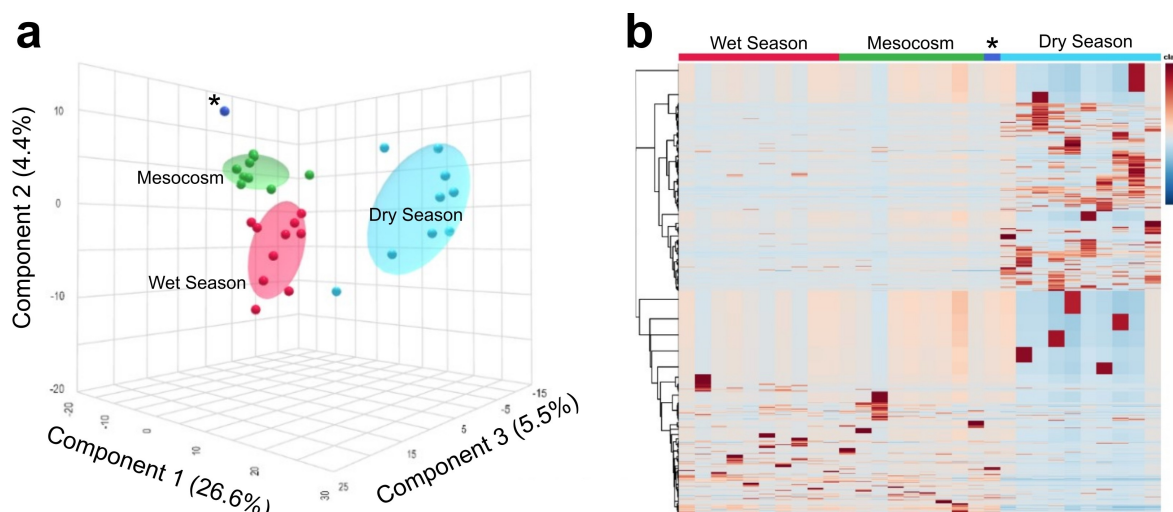


Figure 3. a: PLS-DA plot for microbial mats and mesocosms from Archaean Domes pond from CCB. Each dot refers to an independent sample of each set detailed in the key. Variance of each principal component is detailed on respective axes. b: Heatmap showing expression profiles of microbial mats from Archaean Domes pond based on molecular ions intensity: T0, wet season (red); T1A, mesocosm (green); and T1B, dry season (blue). * indicates a single mesocosm sample that formed a dome in the laboratory. Microbial mat samples are indicated by the colored squares. Ions and samples are clustered by Pearson correlation and average distance.

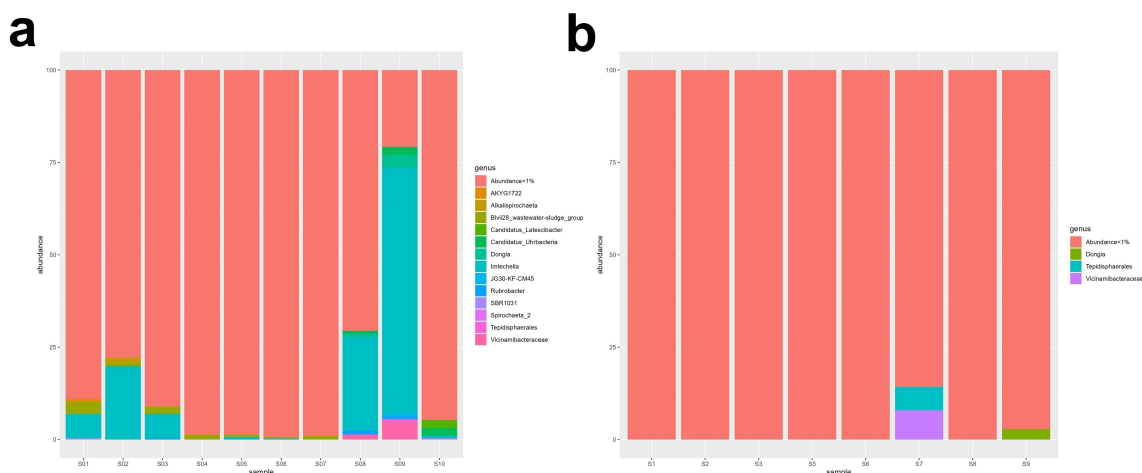


Figure 4. Graphic representation of shared ASVs within Archaean Domes sampling sites and mesocosms. 16S rDNA Archaea and Bacteria gene data of a: mesocosm (T1A) and b: dry season (T1B) samples (T0 data was described by Espinosa-Asuar and collaborators.^[5] Data showed genus with < 1% relative abundance. DNA of samples T1B S4 and S10 showed poor readings during sequencing.

Table 1. ASVs identified in T1A (mesocosms) and T1B samples (dry season) from the Archaean Domes pond, in CCB. ASVs for T0 samples are described by Espinosa-Asuar and collaborators.^[5] Bold indicated the sample with higher ASVs value.

Sample	Time	
	T1A	T1B
S01	1095	553
S02	400	350
S03	547	1390
S04*	3870	0
S05	2048	552
S06	2324	560
S07	1805	71
S08	3032	955
S09	678	392
S10*	566	0

* DNA showed poor readings during sequencing in T1B samples from dry season.

molecular families pertaining to microbial cell wall materials, like glycerophospholipids and other lipid compounds, product of the microbial communities (Table 2). ASVs numbers from the three sampling conditions point to the dry season containing the least microbial diversity and the observation of cell wall material might point to us to the heavy recycling of dead organic matter. Interestingly, there is some secondary metabolism in the molecular networking in all the conditions, but mainly in the wet season and the lab grown mesocosms, which matches more to our predictions (Table 2).

For example, the *N*-[3-[3-(dimethylamino)propyl]dodecanamide found in *Pseudomonas sp.* and in *Aeromonas sp.*, can be metabolized to ammonium, amines, or fatty acids, which are used to continue metabolic processes related to the nitrogen cycle by other microorganisms.^[16] The (13Z)-docosenamide identified in *Corynebacterium* and *Streptomyces*

species exhibits biosurfactant activity which could help to release the hydrocarbons absorbed in the organic matter in the soil, or the hydrophobic compounds from the water.^[17,18] The 9-octadecenamide found in *Acremonium sp.* has antimicrobial activity and plant growth promoting effects.^[19] The 8-hydroxy-8-(3-octyloxiran-2-yl) octanoic acid produced by fermenting organisms can be used by the microbes found in layer one of the microbial mats as carbon source.^[20] The GNPS library also identifies neomycin, a second-generation aminoglycoside produced by *Streptomyces spp.* and originally isolated in 1949.^[21] This compound was observed in all samples (Figure 5c) and the additional new analogs found in the molecular networking were also found in the varying environmental conditions, where one derivative was only produced in the wet season. Moreover, the antifungal compounds griseofulvin and dechlorogriseofulvin produced by *Penicillium* and *Didymella*, were also detected, only in the dry season,^[22,23] indicating there are very different microbial communities in the different sampling times. Genomic data pointed to a lack of actinobacteria in these microbial mats, yet the presence of neomycin points to their involvement in the microbial community. Since only amplicons of the gene coding for the minor subunit of the ribosome (16S) of prokaryotes were analyzed, ITS analysis for fungi was not performed, thus in this moment no data on them is available. Overall, it is not surprising that a more complex microbial community exists in these microbial mats, and further metagenomic sampling needs to be carried out in future studies.

Some non-microbial metabolites were also identified on the mat samples, for example, the (2*R*,6*R*)-2-methyl-6-undecylpiperidine is produced by ants of the genus *Solenopsis sp.*, which are commonly found in the CCB.^[24] Furthermore, some plant-derived secondary metabolites like LPC 18:2 are frequently found in vegetal material from several plant species.^[25] Finally, we anticipated these ecosystems would be fairly pristine and untouched by human activity, however and surprisingly, we detected a large molecular family of hexa(methoxymethyl)melamines (Figure 5a, GNPS library matches to *m/z* 377.2144,

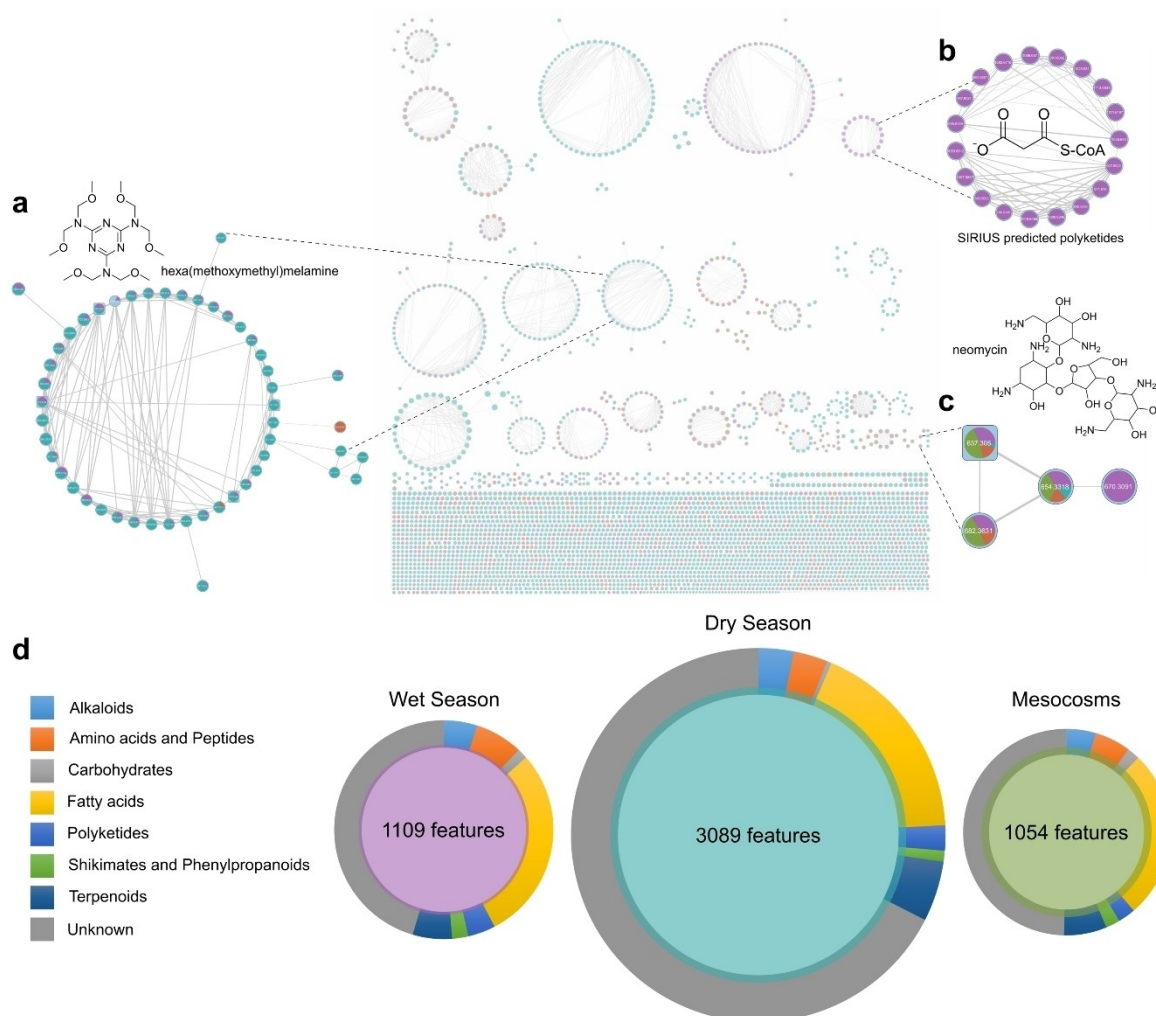


Figure 5. FBMN of microbial mats from Archaean Domes in CCB: wet season (purple), dry season (turquoise), mesocosms (green), and laboratory grown domed sample (orange). **a:** Molecular family containing hexa(methoxymethyl)melamines; **b:** molecular family containing putative polyketetides predicted by SIRIUS and CANOPUS; and **c:** molecular family containing neomycin. **d:** SIRIUS and CANOPUS predictions mapped onto each sampling condition. Numbers of each NPCpathway are located in Supplementary Table S1. Edge width indicates the chemical similarity between MS/MS spectra (wider the connection, the more similar). The total number of ions recorded in the network was 3986.

391.2297, 413.2116), which are used in coatings and plastics and have also been found in wastewater and seawater and the antihypertensive drug, [26,27] ajmalicine (m/z 353.1859). [28] Using these GNPS library annotations, we can assign confidence level 2 to these annotations. [29] Although reference material would increase the confidence level, data matching via the GNPS library increases the confidence of these annotations beyond MS1 information matching (e.g., accurate mass or molecular formula). Future studies will include reference material, when commercially available, for the annotations identified in this study to continue characterizing this ecological niche.

Due to the nature of environmental sampling and the low metabolic yields generated, the detection of any secondary metabolism is encouraging that these mats harbor an active microbial community, and we should anticipate more ions present in the FBMN may be a result of additional secondary metabolism yet to be characterized. Therefore, to increase

annotation space, we utilized in silico tools (SIRIUS and CANOPUS) to predict compound classes, adding context to the different samples (Figure 5d). From SIRIUS analysis, seven compounds' classes were observed in the mats and mesocosms. Interestingly, polyketetides (Figure 5c), terpenes, and alkaloids are well represented within all samples. Unknowns were the predominate class and yet, our data points to the trend we observed in the molecular networking data. Thus, the wet season has the greatest secondary metabolism potential in terms of known classes of compounds, followed by the mesocosm and finally the dry season (Supplementary Table S1).

It is well-known that specialized metabolites like antibiotics produced by microbes belongs to these classes of compounds, as well as other molecules with vital functions in the life cycle of bacteria, such as communication and colonization. [30,31] Chemical analysis showed that the experiments with microbial mat samples are chemically diverse, with detected characteristics grouped into 40 chemical superclasses (Supplementary

Table 2. Chemical annotation of metabolites in Archaean Domes mat samples from CCB.

Observed <i>m/z</i>	Adduct	Metabolite	Cosine Score	Shared Peaks (no. of spectra)	Mass error (ppm)	Class
MICROBIAL METABOLITES						
Wet season (T0)						
263.2368	[M + H] ⁺	(10 <i>E</i> ,12 <i>Z</i>)-Linoleic acid	0.82	5	3.0	Lineolic acids and derivatives
246.1702	[M + NH ₃ + H] ⁺	Isovalerylcarnitine	0.96	1	0.8	Wax monoesters
637.305	[M + H] ⁺	Neomycin	0.83	18	5.4	Glycerophospholipids
279.2319	[M + H] ⁺	9(10)-EpOME	0.74	3	0.3	Lipids and lipid-like molecules
300.2895	[M + H] ⁺	Palmitoyl ethanolamide	0.90	6	1.6	<i>N</i> -Acyl ethanolamines (endocannabinoids)
Mesocosm (T1A)						
246.1702	[M + NH ₃ + H] ⁺	Isovalerylcarnitine	0.96	1	0.8	Wax monoesters
637.3050	[M + H] ⁺	Neomycin	0.83	18	5.4	Glycerophospholipids
279.2319	[M + H] ⁺	9(10)-EpOME	0.74	3	0.3	Lipids and lipid-like molecules
263.2368	[M + H] ⁺	(10 <i>E</i> ,12 <i>Z</i>)-Linoleic acid	0.82	5	3.0	Lineolic acids and derivatives
300.2895	[M + H] ⁺	Palmitoyl ethanolamide	0.90	6	1.6	<i>N</i> -acyl ethanolamines (endocannabinoids)
Dry season (T1B)						
319.1174	[M + H] ⁺	Dechlorogriseofulvin	0.98	1	1.9	Griseofulvins
353.0784	[M + H] ⁺	Griseofulvin	0.96	1	1.7	Simple coumarins
285.2899	[M - 2H ₂ O + H] ⁺	<i>N</i> -[3-(Dimethylamino) propyl]dodecanamide	0.92	26	0.0	Polyamines
338.3415	[M + H] ⁺	(13 <i>Z</i>)-Docosenamide	0.82	9	1.5	lipid-soluble fatty acid derivatives
520.3398	[M + H] ⁺	LPC 18:2	0.88	2	2.3	Glycerophosphocholines
246.1702	[M + NH ₃ + H] ⁺	Isovalerylcarnitine	0.96	1	0.8	Wax monoesters
300.2895	[M + H] ⁺	Palmitoyl ethanolamide	0.90	6	1.6	<i>N</i> -Acyl ethanolamines (endocannabinoids)
256.2634	[M - 2H ₂ O + H] ⁺	Palmitamide	0.98	5	2.3	Polyamines
279.2317	[M + H] ⁺	8-Hydroxy-8-(3-octyloxiran-2-yl) octanoic acid	0.82	21	3.2	Unsaturated fatty acids
637.305	[M + H] ⁺	Neomycin	0.83	18	5.4	Glycerophospholipids
263.2368	[M + H] ⁺	(10 <i>E</i> ,12 <i>Z</i>)-Linoleic acid	0.82	5	3.0	Lineolic acids and derivatives
265.2523	[M - 2H ₂ O + H] ⁺	9 <i>Z</i> -Octadecenamide	0.72	6	1.0	Other octadecanoids
NON-MICROBIAL METABOLITES (ALL SAMPLES)						
254.2841	[M + H] ⁺	(2 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-2-Methyl-6-undecylpiperidine	0.88	21	0.4	Hydrocarbons
353.1859	[M + H] ⁺	Ajmalicine	0.93	2	3.1	Yohimbine-like alkaloids
251.2004	[M + H] ⁺	Sclareolide	0.72	2	0.7	Caryophyllane sesquiterpenoids
295.2264	[M + H] ⁺	13-Keto-9 <i>Z</i> ,11 <i>E</i> -octadecadienoic acid	0.83	1	1.9	Other octadecanoids
311.2942	[M + H] ⁺	14 <i>Z</i> -Eicosenoic acid	0.77	1	7.0	Lipids and lipid-like molecules
518.3214	[M + Na] ⁺	1-Hexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	0.92	3	0.8	Lipids and lipid-like molecules
482.3605	[M + H] ⁺	1-Hexadecyl-sn-glycero-3-phosphocholine	0.98	9	1.0	Glycerophosphocholines
313.1432	[M + H] ⁺	Benzyl butyl phthalate	0.94	17	0.5	Cinnamic acids and derivatives

Table 2. continued						
Observed <i>m/z</i>	Adduct	Metabolite	Cosine Score	Shared Peaks (no. of spectra)	Mass error (ppm)	Class
496.3395	[M + H] ⁺	Lyso-PC 16:0	0.95	11	1.0	Glycerophosphocholines
HUMAN ACTIVITY METABOLITES (ALL SAMPLES)						
413.2116	[M + Na] ⁺	Hexa-methoxymethyl-melamine	0.77	6	0.9	Polyamines
377.2142	[M + Na] ⁺	Hexa-methylol-melamine pentamethyl ether	0.91	9	3.1	Alkyl glycosides
391.2297	[M + Na] ⁺	2- <i>N</i> ,2- <i>N</i> ,4- <i>N</i> ,4- <i>N</i> ,6- <i>N</i> ,6- <i>N</i> -Hexakis(methoxymethyl)-1,3,5-triazine-2,4,6-triamine	0.96	8	0.7	Monoacylglycerols
202.1801	[M + H] ⁺	4-Hydroxy-1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidine	0.92	14	0.5	Piperidine alkaloids
274.2738	[M + H] ⁺	2-[Dodecyl(2-hydroxyethyl)amino]ethanol	0.81	3	0.6	Sphingoid bases
403.2326	[M + H] ⁺	Tributyl 2-acetyloxypropane-1,2,3-tricarboxylate	0.93	6	0.9	Wax monoesters
288.2530	[M + NH ₃ + H] ⁺	<i>N,N</i> -Bis(2-hydroxyethyl)dodecanamide	0.93	9	0.0	Eudesmane sesquiterpenoids
522.3554	[M + H] ⁺	1-(9Z-Octadecenoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine	0.96	5	0.8	Glycerophosphocholines
468.3082	[M + H] ⁺	1-Myristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	0.95	1	0.3	Glycerophosphocholines
311.1640	[M + H] ⁺	Avobenzene	0.75	1	0.0	Chalcones
391.2841	[M + H] ⁺	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	0.98	27	0.2	Simple phenolic acids
515.4126	[M + H] ⁺	3,3'-Thiobis-, didodecyl ester	0.76	21	2.7	Wax monoesters
531.4078	[M + H] ⁺	Didodecyl 3,3'-thiodipropionate oxide	0.96	22	0.4	Wax monoesters
413.2660	[M + Na] ⁺	Diocetyl phthalate	0.84	19	0.0	Simple phenolic acids
371.3155	[M + H] ⁺	Bis(2-ethylhexyl) ester	0.96	10	4.0	Wax monoesters
339.2892	[M + H] ⁺	Monoelaidin	0.76	7	0.6	Acetogenins
421.2326	[M + Na] ⁺	Tris(2-butoxyethyl) phosphate	0.94	6	1.2	Trachylobane diterpenoids

Figure S1 and Table S2). The most common chemical superclass was fatty acids, amino acids, and peptides, which is consistent with the fact that these molecules are commonly found in soils.^[32]

Conclusions

This first report of a metabolomics analysis of microbial mats from Archaean Domes and mesocosms from CCB. This work demonstrated that the microbial mats from CCB, composed by a high-microbial diversity, including bacteria, fungi, archaea, protozoa, some of them belonging to a rare biosphere, form a metabolically active community. The dominant metabolomic profiles in the microbial mats at the dry season (T1B) are mainly related to functions such as cell growth, catalytic activity, and the production of antifungal or antibiotic metabolites. In the mesocosms (T1A), the dominant metabolomic profiles were related mainly to specific membrane metabolites, or cellular degradation of lipids. In all samples, the most abundant metabolites identified are related to different developmental and microbial mats-forming processes.

It is important to mention that the change over time of the metabolomic profiles seem to be related to multifactorial aspects, such as the different phases of the microbial mat

temporal dynamics; it is noteworthy that the rare biosphere seems to contribute significantly to the changes in metabolomic profiles in the microbial mats.

Experimental Section

Sample Collection

Microbial mats were collected from the Archaean Domes (26°49'42.0"N, -102°01'23.4"W) in wet (October 2018, ten samples, samples code T0, reported by Espinosa Asuar and collaborators^[5]) and drought (March 2019, ten samples, samples code T1B) seasons. All samples were composed by the microbial mat, water, and sediment from the pond, and were kept frozen until analysis. Part of the samples at T0 were transferred to 250 mL bottles and maintained under conditions with light-darkness 12/12 h for four months at 22 ± 2 °C. These samples were called "mesocosms" samples (code T1A). After this period, mesocosm samples were separated in mat and sediments and kept frozen until analysis. All the samples (20 frozen samples and 10 mesocosms) were analyzed for microbial diversity and metabolomics, as described below.

Metabolite Extraction

Each sample of T1A and T1B was extracted using the same methodology for wet mats (T0) described by Espinosa Asuar and

collaborators.^[5] Briefly, 60 mL of 1:1 CH₃OH–CHCl₃ were added to the samples and shaken on an orbital shaker at 100 rpm for 12 h. Then, the samples were filtered and 60 mL of CHCl₃ and 120 mL of H₂O were added to the filtrates and mixed again. The organic layers were separated in a separatory funnel and dried under reduced pressure. The residues were dissolved in 60 mL of 1:1 CH₃CN–CH₃OH and defatted with the same volume of hexane. The CH₃CN–CH₃OH layers were dried under reduced pressure and kept at 4 °C until analysis.

UPLC-HR-ESI-MS-MS/MS Analysis

Mats extracts (2 mg/mL) were analyzed using an Acquity ultra-performance liquid chromatographic (UPLC) system (Waters Corp., Milford, MA, USA) coupled to a Q-Exactive Plus (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) mass spectrometer. The column used for the LC analysis was an Acquity BEH C18 (50 mm×2.1 mm, ID, 1.7 μm, 130 Å; Waters Corp.) at 40 °C, with a gradient system from 15:85 CH₃CN–0.1% aqueous formic acid to 100% of CH₃CN in 8 min, then held for 1.5 min with CH₃CN, and returned to the starting conditions. Flow rate was 0.3 mL/min, and the injection volume of 3.0 μL. High-resolution tandem MS data (HR-MS-MS/MS) data were obtained using an electrospray source (ESI) in positive and negative modes at a full scan range (*m/z* 150–2000), followed by a top 5 ions MS/MS fragmentation analysis during the full run, with the following settings: capillary voltage, 5 V; capillary temperature, 300 °C; tube lens offset, 35 V; spray voltage, 3.80 kV; sheath and auxiliary gas flow, 30 arbitrary units.^[33]

Data Processing and Molecular Networking Analysis

Raw data was converted to.mzML using MSConvert (ProteoWizard) and preprocessed using MZmine 3.^[34] PCA analysis was performed from the MS data (molecular features after blank removal), using R software (version 4.0.5) with the package MetaboAnalystR. The data was filtered by removing all MS/MS fragment ions within ±17 Da of the precursor *m/z*. MS/MS spectra were window filtered by choosing only the top 6 fragment ions in the ±50 Da window throughout the spectrum. The precursor ion mass tolerance was set to 0.005 Da and the MS/MS fragment ion tolerance to 0.025 Da.

A molecular network was created with the Feature-Based Molecular Networking (FBMN) workflow^[35] on GNPS (<https://gnps.ucsd.edu>)^[36], where edges were filtered to have a cosine score above 0.7 and more than 6 matched peaks. Further, edges between two nodes were kept in the network if and only if each of the nodes appeared in each other's respective top 10 most similar nodes. The maximum size of a molecular family was set to 100, and the lowest scoring edges were removed from molecular families until the molecular family size was below this threshold.

The spectra in the network were then searched against GNPS spectral libraries.^[36–38] The library spectra were filtered in the same manner as the input data. All matches kept between network spectra and library spectra were required to have a score above 0.7 and at least 6 matched peaks. The DEREPLICATOR was used to annotate MS/MS spectra.^[38] The molecular networks were visualized using Cytoscape software.^[39]

Formula predictions, compound class annotations and NPclass annotations were run through SIRIUS 5.5.7 and include: SIRIUS,^[40] ZODIAC,^[41] CSI:FingerID,^[42] and CANOPUS.^[43] All data run in this study can be found in GNPS MASSIVE. Visualization of the molecular networks was completed using Cytoscape 3.8.2.^[39] Finally, manual dereplication analysis was assessed using HR-MS-MS/MS data against Dictionary of Natural products and SciFinder databases. The annotation of compounds was at confidence level 2 and 3 according to the metabolomics standards initiative and exact mass accuracy < 5 ppm.^[29]

Total DNA Extraction and Amplicons Sequencing

DNA extraction and amplicons sequencing of mat and mesocosm samples was performed following the same methodology for wet mats (T0).^[5] Prior to DNA extraction, approximately 0.5 g of each mat sample was rinsed with sterile water to remove associated sediments. Then, total DNA extraction was performed following the protocol reported by De Anda et al. (2018).^[44] DNA was sequenced at the Laboratorio de Servicios Genómicos, LANGEBIO (<http://langebio.cinvestav.mx/labsergen/>) for the V3 region of the 16S rDNA gene (primers 357F, 5'-CTCCTACGGGAGGCAGCAG-3', and 519R 5'-GWATTACCGCGGCKGCTG-3').^[45] For each sample, 3 μg of genomic DNA (OD260/280, 1.8) was used; 16S amplicons were sequenced within Illumina Next-Seq 500 platform (2×150 PE, using forward reads and reverse reads).

Bioinformatics Analyses

The 16S rDNA amplicon reads were quality filtered and dereplicated using the QIIME 2 bioinformatics platform version 2019.7.^[46] Divisive Amplicon Denoising Algorithm 2 (DADA2) denoise-paired was used; sequences were demultiplexed and truncated at the 5th and 7th bp from the left, and the 295th and 240th bp from the right and left. ASVs were then taxonomically classified using the silva_132_99_v3v4_q2_2019-7 database (<https://www.arb-silva.de/>). In sum, the filtered 16S rDNA amplicon sequences included 303&71–3870&1390 high quality reads per sample, per time (T1A and T1B) with a total of ASVs (Figure 4).

Author Contributions

J. B.-M., S. A. J., V. S. and M. F.: writing-original draft preparation; J. B.-M., S. A. J., A. M. C., C. A. F.-H., I. R. Y.: methodology. J. B.-M., S. A. J., V. S., L. E. E., and M. F.: writing-review and editing. V. S. and M. F.: conceptualization. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Acknowledgements

This work was supported by grants from UNAM-DGAPA PAPIIT IN203923 (to M. F.) and IG200319 (to V. S. and L. E.), Danish National Research Foundation-DNRF137 (to S. A. J.) and FQ-PAIP 5000-9145 (to M. F.). J. B.-M. thanks to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología of Mexico (CONACyT) > for the fellowship (no. 1037778) to pursue her M.Sc. studies. A.M.-C. acknowledges the postdoctoral fellowship from DGAPA, UNAM. We thank Erika Rodríguez Reyes and Rosalinda Tapia López from the Instituto de Ecología, UNAM for their technical support, and PRONATURA Noreste for access to the Pozas Azules ranch. Collection permit SGPA/DGVS/03188/20 was issued by Subsecretaría de Gestión para la protección Ambiental, Dirección General de Vida Silvestre for this study. This article is part of the requirements to obtain an M.Sc. degree in the Posgrado en Ciencias Biológicas UNAM of J. B.-M.

Conflict of Interests

The authors declare no conflict of interest.

Data Availability Statement

Microbial mats DNA raw sequences are available at GeneBank BioProject no. PRJNA971342. Microbial mats GNPS data (positive and negative ionization mode LC/MS/MS) can be found at MassIVE Dataset Summary (ucsd.edu), project no. MSV000092042).

Keywords: Cuatro Ciénegas basin · mesocosms · metabolomics · microbial mats · multi-omics

- [1] V. Souza, L. Espinosa-Asuar, A. E. Escalante, L. E. Eguiarte, J. D. Farmer, L. J. Forney, L. Lloret, J. M. Rodríguez-Martínez, X. Soberón, R. Dirzo, J. J. Elser, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2006**, *103*, 6565–6570.
- [2] I. Ferrusquia-Villafranca, T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, J. Fa, Geología de México: una sinopsis, Instituto de Biología, UNAM, Ed. T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot, J. Fa, Instituto de Biología, Ciudad de México **1998**, pp. 3–108.
- [3] B. D. Wolaver, L. J. Crosse, K. E. Karlstrom, J. L. Banner, M. B. Cardenas, C. G. Ojeda, J. M. Sharp, *Geosphere* **2013**, *9*, 113–125.
- [4] V. Souza, A. Moreno-Letelier, M. Travisano, L. D. Alcaraz, G. Olmedo, L. E. Eguiarte, *eLife* **2018**, *7*, 1–17.
- [5] L. Espinosa-Asuar, C. Monroy-Guzmán, D. Madrigal-Trejo, M. Navarro-Miranda, J. Sánchez-Pérez, J. Buenrostro-Muñoz, J. Villar, J. F. C. Camargo, M. Kalambokidis, D. A. Esquivel-Hernández, M. V. Jasso, A. E. Escalante, P. Velez, M. Figueroa, A. Martínez-Cardenas, S. Ramírez-Barahona, J. Gasca-Pineda, L. E. Eguiarte, V. Souza, *PeerJ* **2022**, *10*, e13579.
- [6] N. Medina-Chávez, M. Viladomat-Jasso, G. Olmedo-Álvarez, L. E. Eguiarte, V. Souza, S. De la Torre-Zavala, *BioRxiv* **2019**, 766709. >
- [7] D. Madrigal-Trejo, J. Sánchez-Pérez, L. Espinosa-Asuar, V. Souza, *BioRxiv* **2021**, 11.18.469043.
- [8] B. P. Jupp, U. Eichenberger, P. Cookson, *Int. J. Environ. Stud.* **2008**, *65*, 685–703.
- [9] R. M. Abed, S. Dobrestov, S. Al-Kharusi, A. Schramm, B. Jupp, S. Golubic, *Fottea* **2011**, *11*, 215–224.
- [10] G. Gerdes, M. Claes, K. Dunajtschik-Piewak, H. Riege, W. E. Krumbein, H. Reineck, *Facies* **1993**, *29*, 61–74.
- [11] M. Homann, C. Heubeck, A. Airo, M. M. Tice, *Precambrian Res.* **2015**, *266*, 47–64.
- [12] M. Homann, *Earth-Sci. Rev.* **2019**, *196*, 102888.
- [13] J. Schieber, P. K. Bose, P. G. Eriksson, S. Banerjee, S. Sarkar, W. Altermann, O. Catuneanu, Atlas of Microbial Mat Features Preserved within the Siliciclastic Rock Record, in Atlases in geoscience, 2, Ed. J. Schieber, P. K. Bose, P. G. Eriksson, S. Banerjee, S. Sarkar, W. Altermann, O. Catuneanu, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, **2007**, pp. 39–52.
- [14] M. Viladomat, M. García-Ulloa, I. Zapata-Peñasco, L. E. Eguiarte, V. Souza, *BioRxiv* **2022**, 08.09.503407.
- [15] K. A. Stuart, K. Welsh, M. Clare Walker, R. Edrada-Ebel, *Expert Opin. Drug Discovery* **2020**, *15*, 499–522.
- [16] R. Geerts, P. Kuijter, C. G. Van Ginkel, C. M. Plugge, *Biodegradation* **2014**, *25*, 605–614.
- [17] A. Dwivedi, A. Kumar, J. L. Bhat, *J. Microbiol.* **2019**, *88*, 87–93.
- [18] D. Qi, L. Zou, D. Zhou, Y. Chen, Z. Gao, R. Feng, Z. Miaoyi, K. Li, J. Xie, W. Wang, *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 1390.
- [19] M. M. Khan, J. Gao, I. Munir, M. Zhang, Y. Liu, J. Xue, X. Zhang, *BioMed Res. Int.* **2021**, 9930210.
- [20] F. Wernig, E. Boles, M. Oreb, *Metab. Eng. Commun.* **2020**, *10*, e00111.
- [21] E. Swart, A. Hutchison, S. Waksman, *Arch. Biochem. Biophys.* **1949**, *24*, 92–103.
- [22] A. B. Petersen, M. H. Rønne, T. O. Larsen, M. H. Clausen, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 12088–12107.
- [23] H. Huang, D. Li, S. Jiang, R. Yang, Y. Yang, Z. Xia, X. Jiang, Y. Zhao, D. Wang, B. Song, Z. Chen, *Phytopathology* **2023**, *113*, 194–205.
- [24] M. Janda, M. Rosas-Mejía, P. Corcuera, M. J. Aguilar-Méndez, M. Vásquez-Bolaños, Y. Tafuya-Alvarado, Animal Diversity and Biogeography of the Cuatro Ciénegas Basin, in Cuatro Ciénegas Basin: an endangered hyperdiverse oasis, Ed. F. Álvarez, M. Ojeda, Springer International Publishing, Switzerland, **2019**, pp. 129–145.
- [25] H. Tsugawa, R. Nakabayashi, T. Mori, Y. Yamada, M. Takahashi, A. Rai, R. Sugiyama, H. Yamamoto, T. Nakaya, M. Yamazaki, R. Kooke, J. A. Bac-Molenaar, N. Oztolan-Erol, J. J. B. Keurentjes, M. Arita, K. Saito, *Nat. Methods* **2019**, *16*, 295–298.
- [26] R. Alhelou, B. Seiwert, T. Reemtsma, *Water Res.* **2019**, *165*, 114973.
- [27] D. Petras, J. J. Minich, L. Cancelada, R. R. Torres, E. Kunselman, M. Wang, M. E. White, E. Allen, K. A. Prather, L. I. Aluwihare, P. C. Dorrestein, *Chemosphere* **2021**, *271*, 129450.
- [28] A. G. Namdeo, S. Patil, D. P. Fulzele, *Biotechnol. Prog.* **2002**, *18*, 159–162.
- [29] E. L. Schymanski, J. Jeon, R. Gulde, K. Fenner, M. Ruff, H. P. Singer, J. Hollender, *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 2097–2098.
- [30] H. L. Roberts, E. M. Musiol-Kroll, *Drugs. J. Antibiot.* **2019**, *8*, 157.
- [31] D. H. Rodríguez-Hernández, W. G. P. Melo, C. Menegatti, V. B. Lourenzon, F. S. Nascimento, M. T. Pupo, *New J. Chem.* **2019**, *43*, 10109–10117.
- [32] M. J. Kelman, J. B. Renaud, K. A. Seifert, J. Mack, K. K. Yeung, M. W. Sumarah, *Metabolites* **2020**, *10*, 238.
- [33] T. El-Elmag, M. Figueroa, B. M. Ehrmann, N. B. Cech, C. J. Pearce, N. H. Oberlies, *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 1709–1716.
- [34] T. Pluskal, S. Castillo, A. Villar-Briones, M. Orešič, *BMC Bioinf.* **2010**, *11*, 395.
- [35] L. Nothias, D. Petras, R. M. Schmid, K. Dührkop, J. Rainer, A. Sarvepalli, I. Protsyuk, M. Ernst, H. Tsugawa, M. Fleischauer, F. Aicheler, A. A. Aksenov, O. Alka, P. Allard, A. Barsch, X. Cachet, A. M. Caraballo-Rodríguez, R. H. A. Da Silva, T. Dang, P. C. Dorrestein, *Nat. Methods* **2020**, *17*, 905–908.
- [36] M. Wang, J. J. Carver, V. V. Phelan, L. M. Sanchez, N. Garg, Y. Peng, D. D. Nguyen, J. Watrous, C. A. Kapono, T. Luzzatto-Knaan, C. Porto, A. Bouslimani, A. V. Melnik, M. J. Meehan, W.-T. Liu, M. Crüsemann, P. D. Boudreau, E. Esquenazi, M. Sandoval-Calderón, R. D. Kersten, N. Bandeira, *Nat. Biotechnol.* **2016**, *34*, 828–837.
- [37] H. Horai, M. Arita, S. Kanaya, Y. Nihei, T. Ikeda, K. Suwa, Y. Ojima, K. Tanaka, S. Tanaka, K. Aoshima, Y. Oda, Y. Kakazu, M. Kusano, T. Tohge, F. Matsuda, Y. Sawada, M. Y. Hirai, H. Nakanishi, K. Ikeda, T. Nishioka, *J. Mass Spectrom.* **2010**, *45*, 703–714.
- [38] H. Mohimani, A. Gurevich, A. Shlemov, A. Mikheenko, A. Korobeynikov, L. Cao, E. Shcherbin, L. Nothias, P. C. Dorrestein, P. A. Pevzner, *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 4035.
- [39] P. Shannon, A. Markiel, O. Ozier, N. S. Baliga, J. M. Wang, D. Ramage, N. Amin, B. Schwikowski, T. Ideker, *Genome Res.* **2003**, *13*, 2498–2504.
- [40] K. Dührkop, M. Fleischauer, M. Ludwig, A. A. Aksenov, A. V. Melnik, M. Meusel, P. C. Dorrestein, J. Rousu, S. Böcker, *Nat. Methods* **2019**, *16*, 299–302.
- [41] M. Ludwig, L. Nothias, K. Dührkop, I. Koester, M. Fleischauer, M. Hoffmann, D. Petras, F. R. Vargas, M. Morsy, L. I. Aluwihare, P. C. Dorrestein, S. Böcker, *Nat. Mach. Intell.* **2020**, *2*, 629–641.
- [42] K. Dührkop, H. Shen, M. Meusel, J. Rousu, S. Böcker, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2015**, *112*, 12580–12585.
- [43] K. Dührkop, L. F. Nothias, M. Fleischauer, M. Ludwig, M. A. Hoffmann, J. Rousu, S. Böcker, *BioRxiv* **2020**, 04.17.046672.
- [44] V. De Anda, I. Zapata-Peñasco, J. Blaz, A. C. Poot-Hernández, B. Contreras-Moreira, M. Gonzalez-Laffitte, V. Souza, *Front. Microbiol.* **2018**, *9*, 2606.
- [45] D. J. Lane, 16S/23S rRNA sequencing. Nucleic acid techniques in bacterial systematics, Ed. E. Stackebrandt, M. Goodfellow, Chichester: John Wiley & Sons, United Kingdom, **1991**, pp 115–175.
- [46] E. Bolyen, J. R. Rideout, M. Dillon, N. A. Bokulich, C. C. Abnet, G. A. Al-Ghalith, H. Alexander, E. J. Alm, M. Arumugam, F. Asnicar, Y. Bai, J. E. Bisanz, K. Bittinger, A. D. Brejnrod, C. J. Brislawn, C. M. Brown, B. J. Callahan, A. Caraballo-Rodríguez, M. Chase, W. Walters, *Nat. Biotechnol.* **2019**, *37*, 852–857.

Manuscript received: June 7, 2023

Accepted manuscript online: September 18, 2023

Version of record online: September 18, 2023

SUPPORTING INFORMATION



Figure S1. NPsuperclass predictions from SIRIUS on domed samples (innermost ring), no domes (central ring) and samples that showed small bacterial growth (outermost ring).

Table S1. SIRIUS predictions of NPClass pathway. All data has been adjusted as a percentage of the total number of features present in each condition.

NPClass pathway	Dry	Wet	Mesocosm
Alkaloids	3.03	4.93	4.56
Amino acids and Peptides	2.96	7.05	5.68
Carbohydrates	0.40	1.55	1.93
Fatty acids	17.76	28.79	26.57
Polyketides	2.19	4.06	2.74
Shikimates and Phenylpropanoids	0.94	2.42	2.23
Terpenoids	5.22	5.80	6.69
Unknown	67.49	45.41	49.59

Table S2. NPsuperclass predictions from SIRIUS matching Figure S1.

NPC#superclass	Dome	No Dome	Small bacterial growth
Aminosugars and aminoglycosides	1	0	2
Anthranilic acid alkaloids	0	0	2
Apocarotenoids	0	1	6
Aromatic polyketides	0	0	1
Carotenoids (C40)	1	0	4
Coumarins	1	0	0
Diterpenoids	0	0	11
Eicosanoids	0	0	1
Fatty Acids and Conjugates	1	3	45
Fatty acyl glycosides	0	0	14
Fatty acyls	0	6	9
Fatty amides	5	4	67
Fatty esters	1	6	5
Flavonoids	0	1	3
Glycerolipids	28	13	71
Glycerophospholipids	5	3	11
Guanidine alkaloids	1	0	2
Linear polyketides	3	1	16
Lysine alkaloids	1	0	2
Macrolides	2	1	15
Meroterpenoids	1	0	1
Monoterpenoids	0	1	10
Nicotinic acid alkaloids	0	0	3
Nucleosides	1	1	1
Octadecanoids	0	0	9
Oligopeptides	22	3	19
Ornithine alkaloids	1	2	2
Peptide alkaloids	0	0	1
Phenolic acids (C6-C1)	0	0	1
Phenylpropanoids (C6-C3)	0	0	1
Polyethers	3	4	8
Polyols	0	1	0
Pseudoalkaloids	2	3	3
Saccharides	0	3	3
Sesquiterpenoids	0	1	25
Small peptides	3	5	17
Sphingolipids	3	2	17
Steroids	1	1	14
Triterpenoids	1	5	18
Tryptophan alkaloids	1	0	2

I. Discusión general

I.1 Dinámica temporal de Tapetes Microbianos

¿Cómo funcionan los Tapetes Microbianos de Domos del Arqueano?

Las estructuras de los tapetes microbianos, como los de Domos del Arqueano son significativos desde el punto de vista paleobiológico, ya que los factores predominantes responsables de su morfología son abrumadoramente biológicos. Los tapetes microbianos que forman domos de gas en Cuatro Ciénegas, Wadi y Salinas de Lanzarote, junto a los fósiles reportados en los Moodies de Sudáfrica, son ejemplos de ello (1-6). Los tapetes microbianos de Domos del Arqueano se destacan como una singularidad en comparación con otros tapetes del mundo, ya que exhiben una comunidad microbiana única y compleja. Estudios previos (2-4) brindan bases sólidas para comprender que la retroalimentación eco-evolutiva juega un papel crucial en todos los procesos que conforman la dinámica temporal de estos tapetes. Para que estos ciclos de retroalimentación existan es necesario que los organismos transformen su ambiente al utilizar los recursos que los rodean y que en respuesta a los cambios ambientales exista una respuesta en relación con el ambiente; ejemplos de esto son la precipitación de minerales por fotosíntesis, la formación de domos de gas y el crecimiento del tapete (7).

Según lo propuesto por Schieber et al. en 2007 (8), en la Figura 5 se muestran los diferentes procesos asociados a la dinámica temporal en los tapetes microbianos de Domos del Arqueano. El primer proceso dentro de la dinámica temporal es el crecimiento del tapete microbiano (Figura 5a), donde la morfología y el comportamiento de los tapetes microbianos forman biopelículas. Las biopelículas son superficies sedimentarias estables compuestas por granos de arena entremezclados con cianobacterias filamentosas, hongos, algas y protozoos. A continuación, cuatro capas de diferentes tipos de procariotas (cianobacterias fotoautótrofas, bacterias fotosintéticas anóxicas, y bacterias y arqueas quimiolitioautótrofas, así como bacterias heterótrofas) forman el tapete microbiano. El segundo proceso es aquel en el que el tapete microbiano es metabólicamente activo y desarrolla respuestas biológicas a las perturbaciones físicas, por ejemplo, precipitación de minerales carbonatados (atrapamiento y fijación de sedimentos) por cianobacterias fotosintéticas (Figura 5b). La hipótesis de trabajo planteada sugería que la estructura del domo optimiza el nicho de todos los miembros de la comunidad. La evidencia actual indica que durante el

último proceso se produce la deformación mecánica de las superficies sedimentarias biológicamente estabilizadas, dando lugar a la formación de domos de gas (Figura 5c). Una vez que comienza la descomposición de los tapetes, los gases perturban el sedimento que hay debajo de los tapetes y alteran los propios tapetes, formando domos de gas que posteriormente se rompen (lo que se conoce como Astropolithon) (8).

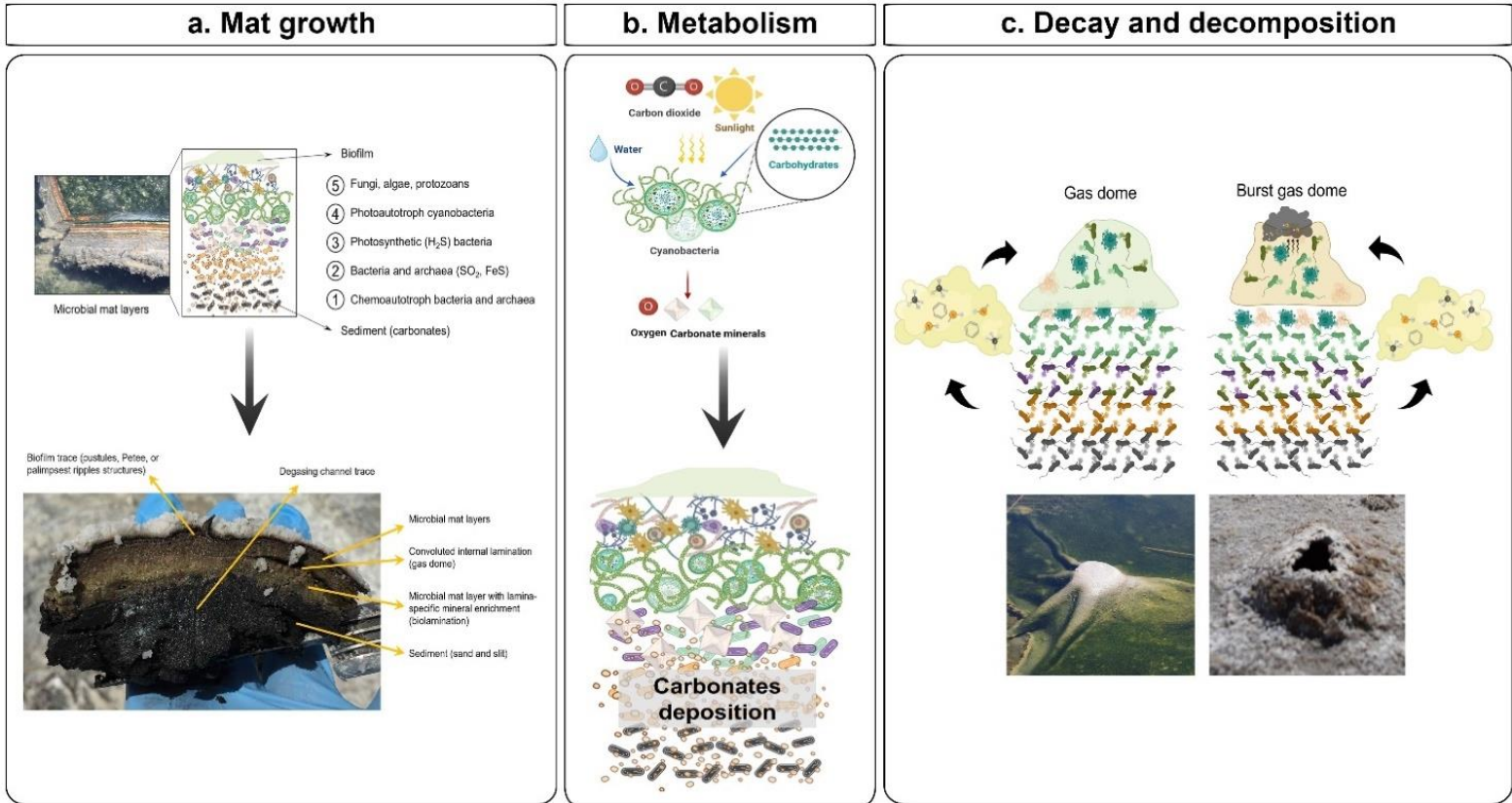


Figura 5. Modelo ecosistémico de dinámica temporal por las que pasan tapetes microbianos de la poza Domos del Arqueano, Cuatro Ciénegas, México. Se representan las bioestructuras que se pueden encontrar en cada uno de los procesos de la dinámica temporal en estos ecosistemas formadores de domos de gas.

I.II. Explorando la complejidad Metabólica de los Tapetes Microbianos: Un análisis de la Comunidad Microbiana activa y la Diversidad de Metabolitos

A pesar de los bajos rendimientos metabólicos y la naturaleza del muestreo ambiental, la detección de metabolismo secundario sugiere la presencia de una comunidad microbiana activa, anticipando que más metabolitos en las redes moleculares pueden ser el resultado de un metabolismo secundario adicional aún por caracterizar. Muchos de los perfiles metabólicos identificados en los tres tiempos pertenecen a grandes familias moleculares donde se encuentran materiales y productos de las comunidades microbianas, que podemos agrupar en 40 superclases químicas. Las clases químicas más comunes fueron ácidos grasos, aminoácidos y péptidos, lo que concuerda con el hecho de que estas moléculas se encuentran comúnmente en todos los ecosistemas (9-10). Con base en los resultados podemos decir que, los perfiles metabólicos varían a lo largo del tiempo, evidenciando una identificación exclusiva en los tapetes microbianos durante distintas estaciones. Estos cambios revelan conexiones significativas en la dinámica temporal, con una mayor actividad metabólica destacada durante la estación de sequía. Para obtener una descripción detallada de los perfiles en cada estación, consulte el apartado [\(I.II\)](#).

Los metabolitos presentes en los tapetes microbianos fueron categorizados como de origen microbiano, no microbiano y derivados de la actividad humana. Aunque inicialmente esperábamos que estos ecosistemas fueran bastante prístinos y no afectados por la actividad humana, de manera sorprendente, identificamos una extensa familia molecular de hexa(metoximetil)melaminas, compuestos utilizados en revestimientos y plásticos. Estos compuestos también han sido detectados previamente en aguas residuales y agua de mar. (11-12). Otro metabolito identificado de origen humano fue el fármaco antihipertensivo, ajmalicina (13). Mientras que en los metabolitos de origen no microbiano se identificaron moléculas producidas por plantas, hormigas y otros insectos. Por parte de los metabolitos microbianos, se identificaron moléculas de origen fúngico, como griseofulvina (21-23), de origen bacteriano, como *N*-[3-[3-(dimetilamino)propil]dodecanamida (14), y de algas, como lípidos de betaína (27). Con base en los perfiles metabólicos, se observa que los organismos de la biosfera rara desempeñan un papel significativo en la dinámica metabólica de los tapetes microbianos. Esta observación se basa en la incapacidad de identificar la mayoría de los metabolitos producidos por estos organismos, lo que sugiere que contribuyen de manera sustancial al paisaje químico de estos ecosistemas. Esta contribución metabólica única de la biosfera rara no sigue un patrón equivalente a

la diversidad de los taxa abundantes en el área estudiada, destacando así la importancia de explorar y comprender la función de estos organismos menos frecuentes en la comunidad microbiana de los tapetes. Este fenómeno resalta la complejidad y la diversidad funcional de los microorganismos presentes en estos ecosistemas, subrayando la necesidad de investigaciones más detalladas para desentrañar completamente su contribución al funcionamiento general de los tapetes microbianos.

En el contexto ecológico de la estación de sequía, la identificación exclusiva de perfiles metabolómicos en los tapetes microbianos revela conexiones significativas en la dinámica temporal cuando estos ecosistemas son metabólicamente activos. La molécula *N*-[3-[3-(dimetilamino)propil]dodecanamida, encontrada en *Pseudomonas sp.* y *Aeromonas sp.*, se metaboliza en amonio, aminas o ácidos grasos, desempeñando un papel clave en procesos metabólicos vinculados al ciclo del nitrógeno. Sus funciones potenciales en la señalización celular, comunicación intercelular y respuesta al estrés ambiental sugieren impactos en las dinámicas ecológicas (14). La (13-*Z*) docosenamida, presente en especies de *Corynebacterium* y *Streptomyces*, muestra actividad biosurfactante, facilitando la liberación de hidrocarburos en la materia orgánica del suelo. En el marco de la ecología química, podría actuar como una señal que influye en las interacciones entre organismos, contribuyendo así a la dinámica del ecosistema (15-16). En esta estación de sequía, también se identificó el metabolito LPC 18:2, un tipo específico de fosfatidilcolina, podría desempeñar un papel clave en las interacciones microbianas en los tapetes, sugiriendo funciones en la comunicación intercelular y la formación de estructuras comunitarias (17). De tal manera que, el metabolito 9*Z*-Octadecenamida (18) podría ser una señal importante que afecta las interacciones y la dinámica de la comunidad en el tapete. Su interacción con componentes como compuestos químicos, microorganismos o la matriz extracelular podría influir en la estructura y función general de los tapetes.

Aunque los análisis metagenómicos se centraron en procariotas, los metabolitos identificados, como 9-octadecenamida y 8-hidroxi-8-(3-octiloxiranamida) en *Acremonium sp.*, revelan funciones diversas de hongos, desde la regulación del crecimiento hasta la respuesta a condiciones ambientales (19-20). Metabolitos antifúngicos como griseofulvina y declorogriseofulvina, producidos por *Penicillium* y *Didymella* durante la estación seca, sugieren impactos en la diversidad y actividad microbiana en el suelo y en el tapete. La capacidad de *Penicillium griseofulvum* para producir griseofulvina confiere ventajas competitivas y afecta los ciclos biogeoquímicos al influir en la descomposición y liberación de nutrientes (21-23).

En el marco de la dinámica temporal, se observa la presencia de comunidades microbianas distintas en varias estaciones de muestreo, destacando un aumento significativo en la actividad metabólica durante la estación de sequía. Este descubrimiento coincide con la idea de que los tapetes microbianos experimentan procesos cíclicos a lo largo del tiempo, manifestando una mayor actividad metabólica durante la sequía, ya que están inmersos en el proceso de metabolismo en el contexto de la dinámica temporal.

En el contexto ecológico, la identificación de perfiles metabolómicos exclusivos en los tapetes microbianos durante el proceso de decaimiento y descomposición fueron observados en la estación húmeda y los mesocosmos (T0 y T1A), lo que revela conexiones significativas en la dinámica de estos ecosistemas. Por ejemplo, el aislamiento del (10E,12Z)-Ácido linoleico de *Propionibacterium acnes* sugiere una vinculación con la capacidad de los ácidos grasos para interferir en las membranas celulares bacterianas (24). Esta asociación adquiere sentido en el marco del proceso de descomposición, donde los organismos liberan compuestos al morir. La isovalerilcarnitina, derivada del ácido isovalérico, detectada en organismos como *Francisella tularensis* y *Bacillus anthracis* (25), podría contribuir a los gases liberados durante el proceso de descomposición y muerte de los organismos, siendo generada como producto de la fermentación bacteriana. La neomicina, extraída de *Streptomyces*, emerge como un componente relevante en los ciclos biogeoquímicos del tapete al participar en la descomposición de materia orgánica y la liberación de nutrientes. Su capacidad antibiótica tiene el potencial de influir en la dinámica de las comunidades microbianas en el ecosistema, afectando la transformación de nutrientes (26). Los lípidos de betaína y el metabolito Hexaetilenglicol, originados en diatomeas como *Nitzschia* y *Navicula*, respectivamente, están vinculados a la adhesión al sustrato y podrían desempeñar un papel en la generación de sustancias poliméricas extracelulares (EPS). Estos EPS son fundamentales en la conformación de los domos de gas durante los procesos de descomposición y decaimiento del tapete microbiano. (27-28). La investigación sobre 9(10)-EpOME se ha centrado en organismos multicelulares (29), pero se destaca la falta de información sobre su interacción con bacterias en los tapetes microbianos. Diversas bacterias en estos tapetes podrían desempeñar un papel en su degradación, dada su capacidad conocida para degradar compuestos orgánicos. Palmitoyl ethanolamide (PEA), aunque estudiada principalmente por su interacción con células humanas, podría impactar a microorganismos, incluyendo diversas procariontas, que participan en la descomposición de materia orgánica (30).

La intrincada comunidad microbiana presente en los tapetes microbianos a lo largo del tiempo subraya la imperiosa necesidad de investigaciones futuras, orientadas hacia la metagenómica y la metabolómica dirigida, a fin de lograr una comprensión integral de la diversidad y función de estos singulares ecosistemas. Asimismo, los análisis metabolómicos emergen como herramientas clave que proporcionan una perspectiva detallada para el estudio de los tapetes microbianos en su contexto ecológico.

Conclusiones

En conclusión, los perfiles metabolómicos predominantes en los tapetes microbianos de la estación seca (T1B) están asociados con funciones clave como el crecimiento celular, la actividad catalítica y la producción de compuestos antifúngicos o antibióticos, relacionados con el proceso de actividad metabólica. En los mesocosmos (T1A) y durante la estación de lluvias (T0), se observaron perfiles metabolómicos dominantes que incluyen metabolitos específicos de degradación, moléculas gaseosas y metabolitos relacionados con la degradación celular, por lo tanto, relacionados con el proceso de decaimiento y destrucción del tapete microbiano. Este hallazgo contrasta con las expectativas iniciales, ya que la diversidad de ASV en condiciones húmedas y de mesocosmos es el doble que en condiciones secas.

A lo largo del tiempo, se identificaron funciones metabólicas y perfiles metabolómicos que desempeñan un papel crucial en la regulación de diversos procesos de desarrollo, la formación de bioestructuras como el crecimiento del tapete, diferentes metabolismos para interacciones antagónicas y la formación de domos de gas en la dinámica temporal de los tapetes microbianos. Se observó un cambio en estos perfiles metabolómicos, influenciado por factores diversos, que incluyen las distintas fases de la dinámica temporal de los tapetes y procesos ambientales. Destaca la importancia del acuífero profundo en este contexto, donde la biosfera rara emerge como un actor crucial en las modificaciones de los perfiles en los tapetes microbianos de la poza Domos del Arqueano. Aunque no se llevaron a cabo análisis de metagenómica para eucariotas, los estudios metabolómicos ofrecen la capacidad de observar a todos los miembros de la comunidad, independientemente de su tipo celular. De esta manera, hemos logrado identificar metabolitos asociados con procariontas, hongos, algas, animales, plantas e incluso contaminantes de origen humano.

Este enfoque más holístico entre metabolómica y metagenómica amplía nuestra comprensión de la diversidad y las interacciones en estos tapetes microbianos, proporcionando una visión integral de su composición y función. Estos resultados subrayan la complejidad de estos ecosistemas y la importancia de comprender la dinámica temporal de los tapetes microbianos para abordar adecuadamente su función ecológica única.

Referencias

1. Jupp, B. P., Eichenberger, U., y Cookson, P. (2008). The microbial domes of Wadi Muqshin pools, Sultanate of Oman. *International Journal of Environmental Studies*, 65(5), 685-703.
2. Madrigal-Trejo, D., Sánchez-Pérez, J., Espinosa-Asuar, L., Valdivia-Anistro, J. A., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2023). A Metagenomic Time-Series Approach to Assess the Ecological Stability of Microbial Mats in a Seasonally Fluctuating Environment. *Microbial Ecology*, 1-19.
3. Espinosa-Asuar, L., Monroy-Guzmán, C., Madrigal-Trejo, D., Navarro-Miranda, M., Sánchez-Pérez, J., Buenrostro-Muñoz, J. B., y Souza, V. (2022). Diversity of an uncommon elastic hypersaline microbial mat along a small-scale transect. *PeerJ*, 10, 1-30.
4. Viladomat, M., Espinosa-Asuar, L., Valdivia-Anistro, J. A., Sánchez-Pérez, J., Madrigal-Trejo, D., Eguiarte, L. E., y Souza, V. (2022). "Metagenomic insight into taxonomic composition, environmental filtering, and functional redundancy for shaping worldwide modern microbial mats." *bioRxiv*. [<https://doi.org/10.1101/2022.08.09.503407>].
5. Gerdes, G., Krumbein, W. E., y Noffke, N. (2000). Evaporite microbial sediments. En *Microbial Sediments* (pp. 196-208). Springer, Berlin, Heidelberg.
6. Homann, M., Van Kranendonk, M. J., Philippot, P., Lepot, K., Bodorkos, S., y Pirajno, F. (2015). Morphological adaptations of 3.22 Ga-old tufted microbial mats to Archean coastal habitats (Moodies group, Barberton Greenstone Belt, South Africa). *Precambrian Research*, 266, 47-64.
7. Post, D. M., y Palkovacs, E. P. (2009). Eco-evolutionary feedbacks in community and ecosystem ecology: interactions between the ecological theatre and the evolutionary play. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1523), 1629-1640.
8. Schieber, J., Bose, P. K., Eriksson, P. G., Banerjee, S., Sarkar, S., Altermann, W., ... y Knoll, A. H. (Eds.). (2007). *Atlas of microbial mat features preserved within the siliciclastic rock record*. Elsevier.
9. Simpson, M. J., y Simpson, A. J. (2012). The chemical ecology of soil organic matter molecular constituents. *Journal of Chemical Ecology*, 38, 768-784.
10. Kelman, M. J., Renaud, J. B., Seifert, K. A., Mack, J., Yeung, K. K. C., y Sumarah, M. W. (2020). Chemotaxonomic profiling of Canadian *Alternaria* populations using high-resolution mass spectrometry. *Metabolites*, 10(6), 238.
11. Alhelou, R., Seiwert, B., y Reemtsma, T. (2019). Hexamethoxymethylmelamine—a precursor of

- persistent and mobile contaminants in municipal wastewater and the water cycle. *Water research*, 165, 114973.
12. Petras, D., Koester, I., Da Silva, R. R., Stephens, B. M., Haas, A. F., Nelson, C. E., y Dorrestein, P. C. (2021). Non-targeted tandem mass spectrometry enables the visualization of organic matter chemotype shifts in coastal seawater. *Chemosphere*, 271, 129450.
 13. Feng, M., Zhao, M., Wang, Y., Xu, S., Wang, M., y Zhao, C. (2014). ¹H-NMR metabonomics study of the therapeutic mechanism of total alkaloids and ajmalicine from *Rauvolfia verticillata* in spontaneously hypertensive rats. *Analytical Methods*, 6(16), 6473-6482.
 14. Geerts, R., Kuijjer, P., van Ginkel, C. G., y Plugge, C. M. (2014). Microorganisms hydrolyse amide bonds; knowledge enabling read-across of biodegradability of fatty acid amides. *Biodegradation*, 25, 605-614.
 15. Dwivedi, A., Kumar, A., y Bhat, J. L. (2019). Production and characterization of biosurfactant from *Corynebacterium* species and its effect on the growth of petroleum degrading bacteria. *Microbiology*, 88, 87-93.
 16. Qi, D., Zou, L., Zhou, D., Chen, Y., Gao, Z., Feng, R., y Wang, W. (2019). Taxonomy and broad-spectrum antifungal activity of *Streptomyces* sp. SCA3-4 isolated from rhizosphere soil of *Opuntia stricta*. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1390.
 17. Tsugawa, H., Nakabayashi, R., Mori, T., Yamada, Y., Takahashi, M., Rai, A., y Saito, K. (2019). A cheminformatics approach to characterize metabolomes in stable-isotope-labeled organisms. *Nature methods*, 16(4), 295-298.
 18. Hawas, U. W., Hussein, S., Abou El-Kassem, L. T., Taie, H. A., y El-Sherbiny, M. M. (2023). Biochemical assessment of some Red Sea brown algae with potential of antioxidant and antimicrobial agents.
 19. Khan, M. S., Gao, J., Munir, I., Zhang, M., Liu, Y., Xue, J., y Zhang, X. (2021). Characterization of endophytic fungi, *Acremonium* sp., from *Lilium davidii* and analysis of its antifungal and plant growth-promoting effects. *BioMed Research International*, 2021.
 20. Wernig, F., Boles, E., y Oreb, M. (2020). De novo biosynthesis of 8-hydroxyoctanoic acid via a medium-chain length specific fatty acid synthase and cytochrome P450 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering Communications*, 10, e00111.
 21. Dewick, P. M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach* (3rd ed.). Wiley.
 22. Petersen, A. B., Rønne, M. H., Larsen, T. O., y Clausen, M. H. (2014). The chemistry of

- griseofulvin. *Chemical reviews*, 114(24), 12088-12107.
23. Huang, H., Li, D., Jiang, S., Yang, R., Yang, Y., Xia, Z., y Chen, Z. (2023). Integrated Transcriptome and Proteome Analysis Reveals that the Antimicrobial Griseofulvin Targets Didymella segeticola Beta-Tubulin to Control Tea Leaf Spot. *Phytopathology*[®], 113(2), 194-205.
 24. Hornung, E., Krueger, C., Pernstich, C., Gipmans, M., Porzel, A., y Feussner, I. (2005). Production of (10E, 12Z)-conjugated linoleic acid in yeast and tobacco seeds. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1738(1-3), 105-114.
 25. Reese, K. L., Rasley, A., Avila, J. R., Jones, A. D., y Frank, M. (2020). Metabolic profiling of volatile organic compounds (VOCs) emitted by the pathogens *Francisella tularensis* and *Bacillus anthracis* in liquid culture. *Scientific reports*, 10(1), 9333.
 26. Meng, X., Wang, W., Xie, Z., Li, P., Li, Y., Guo, Z., y Chen, Y. (2017). Neomycin biosynthesis is regulated positively by AfsA-g and NeoR in *Streptomyces fradiae* CGMCC 4.7387. *Science China Life Sciences*, 60, 980-991.
 27. Kumari, P., Sharma, N., y Chaudhary, P. (2013). Algal lipids, fatty acids and sterols. In *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals* (pp. 87-134). Woodhead Publishing.
 28. Schilp, S., Nelles, G., Valtink, M., Krings, W., Grunze, M., y R uhe, J. (2007). Settlement and adhesion of algal cells to hexa(ethylene glycol)-containing self-assembled monolayers with systematically changed wetting properties. *Biointerphases*, 2(4), 143-150.
 29. Vatanparast, M., Ahmed, S., Lee, D. H., Hwang, S. H., Hammock, B., y Kim, Y. (2020). EpOMEs act as immune suppressors in a lepidopteran insect, *Spodoptera exigua*. *Scientific reports*, 10(1), 20183.
 30. Pirozzi, C., Coretti, L., Opallo, N., Bove, M., Annunziata, C., Comella, F., y Raso, G. M. (2023). Palmitoylethanolamide counteracts high-fat diet-induced gut dysfunction by reprogramming microbiota composition and affecting tryptophan metabolism. *Frontiers in Nutrition*, 10.