



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS DE LA TIERRA

**ESTROMATOLITOS Y COMUNIDADES MICROBIANAS EN
EL CRÁTER MAAR RINCÓN DE PARANGUEO Y SU RELACIÓN
CON LA GEOLOGÍA**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS DE LA TIERRA**

PRESENTA

JANET SÁNCHEZ SÁNCHEZ

TUTOR

**DR. LUIS MARIANO CERCA MARTÍNEZ
CENTRO DE GEOCIENCIAS**

COMITÉ EVALUADOR

DRA. ROCIO JETZABEL ALCÁNTARA HERNÁNDEZ - INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

DR. GILLES PIERRE RENE LEVRESSE - CENTRO DE GEOCIENCIAS, UNAM

DR. ALFREDO VARELA ECHAVARRÍA - INB, UNAM

M.C. CARLOS LOZANO FLORES - INB, UNAM

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO FEBRERO DEL 2018



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.

“Declaro conocer el código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o referencias a, la obra de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante los recursos editoriales convencionales.”

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profunda gratitud a mi asesor el Dr. Luis Mariano Cerca Martínez por todo su apoyo, conocimientos y tiempo prestado durante mi estancia en la maestría. Por haber confiado en mí para realizar este proyecto tan bonito que me dejó una gran enseñanza no solo académica sino también personal. Gracias por recibirme siempre con una sonrisa y entusiasmo. Gracias por acompañarme y compartirme sus conocimientos en las salidas de campo. Gracias por cada momento de ayuda que me brindó.

Esta tesis no hubiera sido posible sin el apoyo conjunto de varios proyectos del Centro de Geociencias y del Instituto de Neurobiología que resultaron en una colaboración exitosa entre ambas dependencias.

En el Centro de Geociencias, agradezco a la DGAPA UNAM a través del Proyecto PAPIIT IN114714, de Título Estudio de las propiedades mineralógicas y geomecánicas de materiales arcillosos, por el desarrollo de este trabajo. Al equipo de trabajo de la sede en Geociencias del Posgrado en Ciencias de la Tierra de la UNAM. Esta tesis también es un producto lateral del proyecto PAPIIT IN109410-3 sobre los mares de Valle de Santiago. Al Laboratorio de Mecánica de Geosistemas del Centro de Geociencias (LAMG) de la UNAM por el apoyo en el trabajo de laboratorio y campo. Al Sr. Ricardo J. Carrizosa Elizondo, laboratorista del LAMG, por su apoyo y gran disposición para el trabajo de campo y laboratorio.

En el Instituto de Neurobiología, al Dr. Alfredo Varela responsable del Laboratorio A-03, donde se llevaron a cabo algunos de los pasos de la secuenciación metagenómica, en particular agradezco el apoyo al M. en C. Carlos Lozano Flores del Instituto de Neurobiología por su apoyo técnico en el laboratorio.

Al Laboratorio Nacional de Visualización Científica por las facilidades prestadas para la realización de análisis bioinformáticos.

A CONACYT por el apoyo económico brindado durante mi estancia en la maestría.

A mis revisores y asesores de tesis Dr. Gilles Ievresse, Dr. Jorge Aranda Gómez, Dra. Rocío Jetzabel Alcántara, M.C. Carlos Lozano Flores y Dr. Alfredo Varela Echavarría. Gracias por sus valiosos comentarios en la revisión de mi tesis.

A mí querido esposo Daniel, gracias por todo tu amor, paciencia y apoyo los cuales me motivan a seguir en este camino.

A mis padres quienes me han apoyado toda la vida para cumplir cada uno de mis sueños y que me enseñaron que todo se puede lograr con esfuerzo y dedicación, pero sobre todo con amor por lo que se hace.

A mis muy valiosos amigos que encontré durante esta etapa de mi vida, con los cuales compartí muchos momentos no solo de estudio sino también de risas: Ángeles, Andrea, Carlitos, Chago, Paulina, Artemisa, Alexis, Raúl, Lupita y toda la banda LIPATA, mis amigos de CFATA Carlos, América y Lili.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	iii
INDICE GENERAL	v
INDICE DE TABLAS	vii
INDICE DE FIGURAS	vii
ABSTRACT	xiv
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
OBJETIVO GENERAL:	3
Objetivos específicos:	3
2. MARCO GEOLÓGICO	4
3. MARCO BIOLÓGICO	9
3.1 Antecedentes sobre el desarrollo de microbialitas	9
3.2 Morfologías a macro y micro escala	10
3.3 Procesos de formación de un estromatolito	11
3.4 Biodiversidad presente en los estromatolitos	12
4. METODOLOGÍA	16
4.1 Metodología para el análisis geológico	16
4.1.1 Cartografía de sedimentos y estructuras órgano-sedimentarias	17
4.1.2 Descripción de macro, meso y micro estructuras	17
4.1.3 Secciones litológicas	17
4.2. Metodología para el análisis biológico	19
4.2.1 Muestreo	20
4.2.2 Extracción de ADN	22
4.2.3 Cuantificación de ADN	24
4.2.4 Amplificación y secuenciación metagenómica	24
4.2.5 Análisis de datos	25
5. RESULTADOS	26
5.1. Aspectos físicos de los estromatolitos en el cráter maar Rincón de Parangueo	26
5.1.1. Cartografía de sedimentos y estructuras órgano-sedimentarias	26
5.1.2. Cartografía de estructuras órgano-sedimentarias: descripción de macro, meso y micro estructuras	29
5.1.3. Descripción de secciones litológicas	43
5.2. Aspectos biológicos de las comunidades microbianas en el cráter del maar Rincón de Parangueo Guanajuato, México	57
5.2.1 Cuantificación de ADN	57

5.2.2 Análisis de datos metagenómicos	58
6. DISCUSIÓN	79
6.1 Aspectos físicos de los estromatolitos del cráter maar Rincón de Parangueo.....	79
6.2 Comunidades microbianas presentes en el cráter y ambientes geológicos relacionados	81
7. CONCLUSIONES	84
7.1 Aspectos físicos de los estromatolitos del cráter maar Rincón de Parangueo.....	84
7.2 Comunidades microbianas presentes en el cráter y ambientes geológicos relacionados	84
7.3 Integración bio-geológica	85
8. BIBLIOGRAFÍA	86

INDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Macroestructuras y microestructuras en estromatolitos desarrollados dentro de cráter-lagos y zonas con hidrotermalismo alrededor del mundo	10
Tabla 3.2 Especies pertenecientes al filo Cyanobacteria identificadas en el cráter <i>maar</i> Rincón de Parangueo (Cortés, 2016)	15
Tabla 5.1 Valores fisicoquímicos de las muestras para sección litológica 1... ..	45
Tabla 5.2 Valores fisicoquímicos de las muestras para sección litológica 2	52
Tabla 5.3 Concentración y grado de pureza obtenidas para cada muestra	57
Tabla 5.4 Porcentaje de abundancia de especies indicadoras de nuestro ambiente de estudio	72
Tabla 5.5 Especies indicadoras de nuestra área de estudio y lugares de donde previamente se han aislado	77
Tabla 6.1 Número de especies índice en cada muestra	83

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Localización de estromatolitos modernos en diferentes zonas de México, el cráter <i>maar</i> Rincón de Parangueo ubicado en el estado de Guanajuato es señalado en rojo (Imágenes de satélite obtenidas de la plataforma NASA Earthstar)	7
Figura 2.2 Localización del Cráter lago Rincón de Parangueo, en la imagen se muestran otros cráteres que se encuentran cercanos a la zona de estudio pertenecientes al CVVS (Imágenes de satélite obtenidas de la plataforma NASA Earthstar)	8
Figura 3.1 Estratos biológicos en tapetes microbianos	13
Figura 4.1 Metodología de análisis geológico dentro del cráter <i>maar</i> Rincón de Parangueo	16
Figura 4.2 Metodología de análisis biológico dentro del cráter <i>maar</i> Rincón de Parangueo	20
Figura 4.3 Sitios de muestreo: (a) Recolección de estromatolitos, ubicados en la falla anular del	

cráter. (b) Pequeña poza ubicada dentro de la zona del remanente del lago. (c) Muestreo de sedimentos a una profundidad de 4-5 metros. (d) Se observan dos de las tres pozas formadas en el remanente del lago21

Figura 5.1.1 Cartografía de estructuras órgano-sedimentarias, fallas y sedimentos dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo, modificado de Aranda et al. (2017)28

Figura 5.1 Sitio 1: (a), (b) Biohermas ubicados en la falla anular de cráter, contienen mineral de aragonita. Sitio 2: (c) Oncolitos ubicados en la plataforma calcárea. (d) Existen además microbialitas que colonizaron rocas y raíces de árboles31

Figura 5.2 Sitio 3: (a) Biohermas bien definidos, con macroestructura domica. (b) se puede observar una mesoestructura laminar. Sitio 4: (c) Oncolitos de distintos tamaños, pueden variar de 2 cm hasta 8 cm de diámetro. Se encuentran en la zona de pavimento oncolítico. Sitio 5: (d) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter31

Figura 5.3 Sitio 6: (a) Microbialita: contiene tres zonas, en la parte superior se encuentran los biohermas (inciso b), en la parte media el biostromo y en la parte inferior se encuentran carbonatos masivos. Se pueden observar fracturas en la zona de carbonatos masivos. (c) Microbialita cortada por la falla anular del cráter, contiene zonas con precipitación de aragonita color marrón. El mineral contiene microorganismos (color verde inciso d)32

Figura 5.4 Sitio 7: (a), (b) Bioherma ubicado en la falla anular del cráter, se pueden observar zonas con mineral de color marrón. (c), (d) En la parte superior de los carbonatos masivos se desarrollaron microbialitas de menor tamaño, con estructuras semicirculares32

Figura 5.5 Sitio 8: (a) Microbialita con aragonita ubicada en la falla anular del cráter. (b) Muestra de mano. (c) Debajo de la microbialita se encuentra una zona de carbonato masivo. (d) Se observa el desarrollo de microorganismos en el mineral recolectado en la microbialita33

Figura 5.6 Sitio 9: (a) Plataforma oncolítica, zona de formación de microbialitas poco desarrolladas. (b) Muestra de mano de microbialita. (c) Existen zonas en la plataforma oncolítica donde los oncolitos se encuentran erosionados. Sitio 10: (d) Microbialitas erosionadas, se encuentran en la zona de falla anular del cráter, no se observa aragonita a simple vista33

Figura 5.7 Sitio 12: (a), (c) Se puede observar la altura del biostromo debido a una falla que lo corto. La altura del biostromo es de alrededor de 90 cm. (b), (d) En la parte superior del biostromo existen oncolitos con tamaños variados desde 2 cm hasta 8 cm de diámetro34

Figura 5.8 Sitio14: (a), (b) Bioherma bien desarrollado, el cual fue cortado por la falla anular del cráter, se pueden observar fisuras con aragonita en su interior. (c), (d) Se observa el desarrollo de microorganismos (color verde) en la aragonita presente en las microbialitas34

Figura 5.9 Sitio 17: (a), (b) Chimenea de escape presenta zonas con aragonita. (c), (d) Chimenea ubicada en la falla anular del cráter. Indicador muy importante de circulación de fluidos35

Figura 5.10 Sitio 19: (a), (b) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe. Se puede observar zonas con aragonita. (c), (d) Chimenea erosionada con aragonita en su interior, ubicada en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe35

Figura 5.11 Sitio 20: (a) (b) Bioherma ubicado en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe, se observan fisuras con aragonita dentro del bioherma. (c), (d) Chimenea de escape, se encontró tirada en la zona de falla anular del cráter, se puede observar aragonita en su interior. (e), (f) Microbialita con morfología característica, los microorganismos colonizaron raíces y troncos de árboles36

Figura 5.12 Sitio 21: (a) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe. (b), (c) Estos biohermas contienen aragonita de color marrón. (d) Raíces colonizadas por microorganismos36

Figura 5.13 Sitio 22: (a), (b) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe contienen zonas con aragonita de color marrón. (c), (d) Este mineral se presenta en forma de tubos. (e), (f) Muestra de mano37

Figura 5.14 Sitio 23: (a), (b), (c), (d) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe. Dentro del bioherma se observa mineral con forma globular. (e) Los microorganismos colonizaron una gran cantidad de raíces de árboles. (f) Muestra de mano37

Figura 5.15 Sitio 24: (a) Chimenea de escape con aragonita en su interior, ubicada en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe. (b), (c), Zonas con aragonita en la chimenea de escape. (d) Muestra de mano de mineral, se observan morfologías tubulares y globulares. (e) Biohermas con una estructura muy bien definida ubicados en la falla anular, no se observa aragonita a simple vista. (f) Raíces colonizadas por microorganismos38

Figura 5.16 Sitio 25 (a), (b) Bioherma ubicado en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe, el cual fue cortado por la falla, se pueden observar zonas con aragonita. (c), (d) Muestra de mano del mineral, se observan morfologías tubulares38

Figura 5.17 Sitio 26: (a), (c), Biohermas no cortados por una falla, no se observa aragonita a simple vista. (b) Muestra de mano de biohermas, se puede observar una mesoestructura laminar. Sitio 27: (d), (e), (f) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter, se observa aragonita de color marrón39

Figura 5.18 Sitio 28: (a), (b), (c) Bioherma cortado por la falla anular del cráter, se observa una estructura domica con cavidades dentro de los cuales hay aragonita con estructura tubular. (d) Muestra de mano39

Figura 5.19 Sitio 29 y 30: (a), (b) Biohermas no cortados por la falla anular del cráter, no se observa aragonita a simple vista. Sitio 31: (c) Bioherma no cortado por falla. (d) En su interior se observa aragonita con estructura globular40

Figura 5.20 Mesoestructura de biohermas. (a) Muestra de mano, dimensiones 13cm x 10 cm. (b) Muestra cortada y pulida. (c), (d) Acercamiento, se puede observar dos mesoestructuras. En la parte superior se observa una estructura laminar y en la inferior una estructura trombolítica. Dentro de la mesoestructura trombolítica se observan canales con aragonita. (e), (f) Pequeñas microbialitas colectadas en la parte superior de un bioherma. Dimensiones 4 cm de diámetro. Se observa una mesoestructura laminar y trombolítica40

Figura 5.21 Patrón de difracción: microbialitas fósiles ubicadas en la falla anular del cráter, la muestra contiene aragonita y calcita41

Figura 5.22 Patrón de difracción: zonas con mineral en microbialitas ubicadas en la falla anular del cráter, la muestra contiene en su totalidad aragonita41

Figura 5.23 Imágenes de microscopía electrónica de barrido. (a) Muestras de microbialitas fósiles, se observan estructuras fósiles de cianobacterias cocoidales. (b), (c) Tapetes microbianos formados en las microbialitas ubicadas en falla anular del cráter, se observan estructuras cristalinas de aragonita y aglomerados de células microbianas. (d), (e), (f) Micrografías de mineral formado en las microbialitas, se observan estructuras cristalinas de aragonita y estructuras globulares42

Figura 5.24 Sitios de muestreo primer sección litológica. (a) Trinchera uno, 40 cm de profundidad. Unidad de suelo orgánico. (b) Trinchera dos, 38 cm de profundidad. Corresponde a la unidad oncolítica. (c) Tercer sitio de muestreo profundidad 38 cm. Muestra 3A corresponde a la unidad oncolítica, muestra 3B y 3C corresponden a la unidad de sedimento volcanoclástico. (d) Bioherma de alrededor de 15 cm de espesor. (e) Quinto sitio de muestreo, unidad de sedimento laminado volcanoclástico se pueden observar estructuras columnares desarrolladas en esta unidad. (f) Muestra 6A espesor 38 cm, sedimentos finos laminados colectados en el centro del cráter	46
Figura 5.25 Secuencias estratigráficas ubicadas en las zonas de trinchera de la sección litológica 1	47
Figura 5.26 Reconstrucción de sección litológica 1 (en la actualidad) basado en las secuencias estratigráficas	48
Figura 5.27 Reconstrucción de sección litológica 1 (antes de 1980) basado en secuencias estratigráficas	49
Figura 5.28 Sitios de muestreo segunda sección litológica. (a) Primer trinchera profundidad 30 cm. Unidad de suelo orgánico. (b) Segunda trinchera. profundidad 42 cm. (c) Tercer trinchera, falla geológica, de aproximadamente 1 metro de altura. (d) Cuarta trinchera, falla geológica de aproximadamente 4.5 metros. (e) Quinta trinchera falla anular del cráter. (f), (g) Quinta trinchera, la secuencia de biostromo (muestra 5b) presenta mineralización y presencia de microorganismos	53
Figura 5.29 Secuencias estratigráficas ubicadas en las zonas de trinchera de la sección litológica 2	54
Figura 5.30 Reconstrucción de sección litológica 2 (en la actualidad) en base a secuencias estratigráficas	55
Figura 5.31 Reconstrucción de sección litológica 2 (antes de 1980) en base a secuencias estratigráficas	56
Figura 5.32 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS01, el más representado en la muestra es Proteobacteria, en menor proporción de todos se encuentra Chloroflexi	59

Figura 5.33 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS02, se observa en mayor proporción Cyanobacteria y en menor Nitrospirae	59
Figura 5.34 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS03, se encontró una mayor proporción para Cyanobacteria y en menor Spirochaetes.....	60
Figura 5.35 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS13, en mayor abundancia se encontró Proteobacteria, en menor Nitrospirae	60
Figura 5.36 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS14, el más representado es Proteobacteria, y el menos Spirochaetes	61
Figura 5.37 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS04, el más abundante fue Cyanobacteria y en menor proporción de todos se encontró Verrucomicrobia	62
Figura 5.38 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS05, se observó en mayor abundancia Cyanobacteria y en menor Verrucomicrobia	63
Figura 5.39 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS06, se identificó como el más abundante Cyanobacteria y el menos abundante Verrucomicrobia	63
Figura 5.40 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS07, en mayor proporción se identificó Cyanobacteria y en menor Planctomycetes	65
Figura 5.41 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS08, en mayor cantidad se identificó Proteobacteria, Verrucomicrobia es el filo menos representado	65
Figura 5.42 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS09, Cyanobacteria se identificó como el más abundante, en menor abundancia Deinococcus-Thermus	66
Figura 5.43 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS10, en mayor abundancia se encontró Cyanobacteria, por el contrario Firmicutes se identificó como el menos abundante	67
Figura 5.44 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS11, Cyanobacteria fue identificado como el más abundante, Deinococcus-Thermus por el contrario fue el menos representado	67
Figura 5.45 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS12, Proteobacteria fue identificado como el más abundante, Spirochaetes se encontró en menor proporción de todos	68

Figura 5.46 Gráfica de listones, comparación de abundancia a nivel filo. El color indica diferentes fila, el ancho del listón indica el porcentaje de abundancia en las muestras. JSS01, JSS02, JSS03, JSS13 y JSS14 corresponden a microbialita. JSS04, JSS05 y JSS06 pertenecen a tapete microbiano. JSS07, JSS08 y JSS09 representan sedimentos con una profundidad entre 5-6 metros. JSS10, JSS11 y JSS12 pertenecen a agua del lago69

Figura 5.47 Gráfica de abundancias relativas a nivel género y familia de todas las muestras. Cada color indica un género o familia distintos, el ancho del color indica la abundancia de dicho grupo taxonómico. En la leyenda se muestran los géneros o familias más representados en las muestras71

Figura 5.48 Gráfica de listones, comparación entre muestras de especies índice. Cada color indica una especie diferente, el ancho del listón indica el porcentaje de abundancia en las muestras. Las especies más abundantes fueron *Rhodobaca barguzinensis* y *Roseinatronobacter monicus*, ambas alcalifilas estrictas pertenecientes al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria78

Figura 6.1 Distribución de la emanación de gases cráter *maar* Rincón de Parangueo medidos en densidad de flujo por día. (a) Los puntos en negro muestran los sitios de muestreo de gases. (b) Distribución de CO₂, se puede apreciar que la mayor densidad de flujo se encuentra en la zona de falla anular del cráter (puntos rojos y verdes). (c) Distribución de flujo de CH₄, se observa una mayor densidad cerca de los remanentes de agua del lago (puntos rojos, verdes y amarillo). Esto puede ser debido al gas metano que se produce por la descomposición de la materia orgánica de los sedimentos del lago. (d) Distribución de flujo H₂S, la mayor densidad de flujo ocurre en las áreas de remanente del lago, esto puede ser debido a la descomposición de materia orgánica por microorganismos en condiciones anaeróbicas (puntos rojo, verde y amarillo)80

ABSTRACT

The relationship between microbial communities that form microbialites and the geological environment in which they develop is a topic of interest for both biology and geology. The development of laminated organ-sedimentary structures produced by the activity of bacterial communities in lacustrine environments within a volcanic crater is not very common in the world. Rincón de Parangueo is an exceptional place where these communities can be studied. Classified as an extreme environment for the development of life, it has conditions such as high conductivity (165000 $\mu\text{s}/\text{cm}$) and an alkaline pH of 10, high concentration of carbonates and sodium bicarbonates, as well as possible volcanic activity; what has resulted in a biodiversity specialized in this system. A relevant feature of the organo-sedimentary structures in the Maar Rincón de Parangueo crater is its distribution, since the most developed microbialites are found in the crater's annular fault zone. This fault is a structure of collapse of the central part of the crater that has been active due to the process of subsidence during the last years, and to the desiccation of the lake that until a few years ago was permanently. It is believed that there is a relationship between the faults on which the microbialites are located and their microbial diversity, because faults emanate gases which could be serving as a source of energy for the microbiological communities that comprise them. Consequently, the distribution of the structures within the crater is propitious to study their morphology at different scales, their microdiversity; as well as the physicochemical properties of the surrounding sediments and the minerals that compose them.

In the present thesis the description at macro, meso and micro scale of the organo-sedimentary structures based on a combination of descriptions of different authors was made. A detailed cartography of the microbialites was carried out by describing 31 sites. The physicochemical properties (pH, conductivity, fine texture, gravimetric water, particle size, real density, bulk density and mineralogical composition) of the sediments in different areas of the crater were determined, describing lithological sections. Finally, the microbiological diversity of the microbialites, sediments and water column was determined by a metagenomic analysis. This consisted in the extraction of metagenomic DNA and massive sequencing of fragments of the 16S RNA ribosomal (rRNA) gene from bacteria present in different samples for their subsequent phylogenetic interpretation.

RESUMEN

La relación entre las comunidades microbianas que forman microbialitas y el ambiente geológico en el que se desarrollan, es un tema de interés tanto para la biología como para la geología. El desarrollo de estructuras órgano-sedimentarias laminadas producidas por la actividad de comunidades bacterianas en ambientes lacustres dentro de un cráter volcánico, no es algo muy común en el mundo. Rincón de Parangueo es un lugar excepcional en el que dichas comunidades pueden ser estudiadas. Clasificado como un ambiente extremo para el desarrollo de la vida, cuenta con condiciones como alta conductividad (165000 $\mu\text{s}/\text{cm}$) y un pH alcalino de 10, alta concentración de carbonatos y bicarbonatos de sodio, así como una posible actividad volcánica; lo que ha resultado en una biodiversidad especializada en este sistema. Una característica relevante de las estructuras órgano-sedimentarias en el cráter *maar* Rincón de Parangueo es su distribución, ya que las microbialitas con mayor desarrollo se encuentran en la zona de falla anular del cráter. Esta falla es una estructura de colapso de la parte central del cráter que ha estado activa debido al proceso de subsidencia durante los últimos años, y a la desecación del lago que hasta hace pocos años se encontraba de forma permanente. Se cree que existe una relación entre las fallas sobre las cuales están ubicadas las microbialitas y su diversidad microbiana, debido a que las fallas emanan gases los cuales podrían estar sirviendo como fuente de energía para las comunidades microbiológicas que las conforman. Consecuentemente, la distribución de las estructuras dentro del cráter es propicia para estudiar su morfología a diferentes escalas, su microdiversidad; así como las propiedades fisicoquímicas de los sedimentos aledaños y los minerales que los componen.

En la presente tesis se realizó la descripción a escala macro, meso y micro de las estructuras órgano-sedimentarias basada en una combinación de descripciones de diferentes autores. Se llevó a cabo una cartografía detallada de las microbialitas mediante la descripción de 31 sitios. Se determinaron las propiedades fisicoquímicas (pH, conductividad, textura de finos, agua gravimétrica, tamaño de partícula, densidad real, densidad aparente y composición mineralógica) de los sedimentos en distintas zonas del cráter, describiendo secciones litológicas. Por último, se determinó la diversidad microbiológica de las microbialitas, sedimentos y columna de agua mediante un análisis metagenómico. El cual consistió en la extracción de ADN metagenómico y secuenciación masiva de fragmentos del gen 16S ARN ribosomal (ARNr) de bacterias presentes en distintas muestras para su posterior interpretación filogenética.

1. Introducción

El desarrollo de estructuras órgano-sedimentarias laminadas producto de la actividad microbiana en ambientes lacustres de un cráter volcánico, no es algo muy común. El lago cráter *maar* Rincón de Parangueo es un sitio excepcional para el estudio de estas estructuras y las comunidades que las conforman. El crecimiento de las microbialitas (estromatolitos, oncolitos, trombolitos y biostromos) se ha vinculado a diversos factores como el tirante de agua, la salinidad, el pH, la disponibilidad de nutrientes, la topografía y el tipo de microorganismos formadores de las mismas. Hoy en día, las microbialitas se desarrollan en pocos lugares alrededor del planeta, incluyendo lagos (hiper)salinos y de agua dulce, ambientes marinos y cráteres volcánicos (Couradeau et al., 2011). Debido a que las comunidades microbiológicas que se desarrollan en ambientes volcánicos forman diferentes tipos de microbialitas, se han realizado estudios que dan cuenta de la diversidad de morfologías en el registro fósil de estas comunidades. Aunque generalmente cada cráter contiene una comunidad específica (endémica), algunas de las características generales del registro geológico se mantienen; por ejemplo, su distribución, morfología (a diferentes escalas) y la composición mineralógica de los sedimentos.

En el caso del cráter *maar* Rincón de Parangueo, la distribución de las estructuras órgano-sedimentarias muestra una distribución anular en el cráter (Aranda-Gómez et al., 2017). Otra característica relevante de su distribución es la presencia de microbialitas con un mayor desarrollo en la zona de falla anular del cráter. Esta falla es una estructura de colapso en la parte central del cráter que ha estado activa debido al proceso de subsidencia durante los últimos años, y a la desecación del lago, que hasta hace pocos años se encontraba de forma permanente dentro del cráter.

En ambientes volcánicos las fallas pueden transportar fluidos, aunque la actividad volcánica principal hubiese cesado. En efecto, un análisis reciente en el cráter *maar* Rincón de Parangueo sugiere que existe transporte de CO₂ a través de las fallas del cráter (datos no publicados, Levresse G). Se cree entonces que existe una relación entre las fallas sobre las cuales están ubicadas estas estructuras y la diversidad microbiana de las mismas. Pues de ellas emanan gases que pudieran estar sirviendo a los microorganismos como sustratos para la obtención de energía y el desarrollo de comunidades microbiológicas.

La importancia del cráter *maar* Rincón de Parangueo radica en que estas estructuras órgano-sedimentarias pueden ser observadas detalladamente debido al proceso de subsidencia, el cual ha provocado el descenso del nivel de agua del lago, y por lo tanto las ha dejado expuestas.

El estudio y comprensión de la relación que existe entre la geología y el desarrollo de comunidades microbianas dentro del cráter aportará un mayor conocimiento de este tipo de micro ecosistemas. Los cuales son relevantes en la comprensión del origen de la vida.

La mayoría de las microbialitas que han sido descritas en ambientes lacustres se han reportado haciendo énfasis en la relación que existe en los niveles del lago y el desarrollo de las mismas (Casanova, 1986). El presente trabajo está basado en la relación que existe entre estas estructuras y las fallas existentes dentro del cráter.

Se plantea como hipótesis que las estructuras órgano-sedimentarias y las comunidades microbianas dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo se distribuyen de acuerdo con las características geológicas locales del cráter. Las fallas presentes dentro del cráter, pero principalmente la falla anular, pueden actuar como conducto de fluidos y contribuir al desarrollo de las comunidades microbiológicas, en particular de los biohermas. Por lo tanto, la distribución de las estructuras órgano-sedimentarias fósiles, su estado de desarrollo, y las características de las comunidades microbianas actuales presentes en distintas zonas del cráter estarían condicionadas por su contexto geológico-ambiental.

La hipótesis planteada será confirmada o refutada mediante el uso integrado de metodologías biológicas y geológicas las cuales servirán como guía para una mejor comprensión de la evolución de los procesos implicados en el desarrollo de las estructuras órgano-sedimentarias dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo.

Objetivo general:

Entender la relación que existe entre el contexto geológico, en particular las fallas y el desarrollo de las estructuras órgano-sedimentarias dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo.

Objetivos específicos:

- Realizar una cartografía de estructuras órgano-sedimentarias dentro del cráter.
- Relacionar la estratigrafía del lago con el desarrollo de las estructuras órgano-sedimentarias.
- Adaptar un protocolo óptimo para la extracción de ADN en muestras de biohermas, tapetes microbianos, agua del remanente del lago y sedimentos lacustres a cinco metros de profundidad.
- Realizar un análisis metagenómico para conocer la diversidad microbiológica en distintas zonas dentro del cráter.
- Integrar y relacionar los resultados biológicos y geológicos.

2. Marco geológico

Existen pocos ejemplos de microbialitas que se desarrollaron en ambientes lacustres dentro de cráteres volcánicos alrededor del mundo. Se ha reportado el desarrollo de estromatolitos modernos en islas cráter (e.g. el cráter de Niuafou'ou en Tonga; Kaźmierczak & Kempe, 2006), Satonda en Indonesia (Kempe et al., 1996) y en calderas (e.g., Yellowstone; Berelson et al., 2011). Este tipo de estructuras sedimentarias y comunidades microbianas que los forman son importantes por las características únicas del ambiente en el cual se desarrollan. Debido a que crecen en lugares con una alta salinidad del agua, un pH generalmente alcalino elevado (8-11), un tirante de agua delgado, alta concentración de carbonatos y en algunos casos, actividad volcánica.

En México, pocos lugares presentan desarrollo de estromatolitos (Figura 2.1), por ejemplo en Cuatro Ciénegas, Coahuila (Souza et al., 2012); Laguna de Bacalar, Quintana Roo (Castro-Contreras et al., 2013; Centeno et al., 2012); Bahía Concepción, Baja California Sur (Canet et al., 2005); San Quintín, Baja California (Horodyski y Vonder Haar 1975); Alchichica en Puebla (Kaźmierczak et al., 2011); Rincón de Parangueo y La Joya de Yuriria, Guanajuato (Aranda-Gómez et al., 2013). De los cuales, solo los últimos tres se desarrollan dentro de cráteres: el cráter de Alchichica, en la Provincia Oriental del Cinturón Volcánico Mexicano; y los cráter *maar* Rincón de Parangueo y La Joya de Yuriria, en el Campo Volcánico de Valle de Santiago (CVVS), en el Campo Volcánico de Michoacán–Guanajuato (Figura 2.2).

En el caso de Alchichica, éste se trata de un cráter con un lago permanente de alto pH (8.8), con estromatolitos que se elevan a 2 metros sobre el nivel del agua pero que tienen su base aproximadamente 15 metros de profundidad (Couradeau et al., 2011). Se clasifican macroscópicamente como montículos irregulares y estructuras domicas con canales centrales, lo cual hace parecer a estas estructuras “chimeneas”. Mineralógicamente, están compuestos principalmente de hidromagnesita y aragonita con un pequeño porcentaje de calcita y huntita (Kaźmierczak et al., 2011).

En el caso particular del cráter lago Rincón de Parangueo, el descenso del nivel de agua regional en la zona del CVVS (acuífero Valle de Santiago-Salamanca) ha provocado una desecación gradual a partir de la década de 1980 del lago permanente que se encontraba dentro del cráter (Aranda-Gómez et al., 2013; Rocha Treviño, 2015). La desecación ha causado la subsidencia de la parte central del lago y como consecuencia, la exposición de los estratos de las estructuras órgano-sedimentarias que se formaron dentro del lago cráter a lo largo de cientos de años. Además, la morfología del lago se ha visto afectada por una serie de fallas normales semicirculares con desplazamientos pequeños y fracturas que han aparecido en los últimos años

(1980-2017). Existen fallas activas y fracturas que se encuentran en la base de la pared del cráter cerca de los depósitos de talud y en la zona de plataforma calcárea. La estructura principal es una falla semicircular que presenta un desplazamiento mayor y un escarpe (15 metros de acuerdo con Rocha-Treviño, 2015). El mayor desarrollo de microbialitas se encuentra asociado a la presencia de esta falla anular.

Existen pocos estudios sobre las microbialitas del cráter *maar* Rincón de Parangueo. Aranda-Gómez et al. (2017) presentaron la cartografía de las zonas lacustres que quedaron expuestas después de la desecación del lago, diferenciándolas en 4 zonas de forma semicircular alrededor del centro del cráter. En todas las zonas se reporta la presencia de una secuencia de sedimentos de color blanco con alto contenido de carbonatos.

Zona 1, depósitos de talud y suelo: formados por lavas pre-*maar* y materiales piroclásticos. Es la unidad más antigua dentro del cráter, y está cubierta por suelos desarrollados y vegetación característica del lugar. Está caracterizada por una litofacia masiva de grava con clastos y sedimentos carbonatados. En algunas zonas, los clastos contienen una corteza laminada de carbonatos igual a la cobertura de las microbialitas que se encuentran en la plataforma calcárea (Aranda-Gómez et al., 2017).

Zona 2, pavimento oncolítico: formada por oncolitos esféricos de 3-8 cm de diámetro. Estos oncolitos se desarrollaron sobre fragmentos de ramas y clastos de andesita, en algunas zonas el pavimento oncolítico puede contener una matriz de grano fino (Aranda-Gómez et al., 2017).

Zona 3, biohermas: se caracteriza por la presencia de microbialitas localizadas en el borde de la falla anular del cráter. Estas estructuras órgano-sedimentarias se encuentran a menudo cortadas por fallas normales; por lo cual, gran parte de la estructura se ha desprendido hacia el depocentro del cráter. En esta zona también se encuentran crecimientos de microbialitas sobre raíces de árboles muertos y rocas (Aranda-Gómez et al., 2017).

Zona 4, lodo laminado: formada por sedimentos laminados de distintos colores (beige, marrón y negro) depositados horizontalmente. Los estratos color beige están compuestos de lodo micrítico carbonatado, alternado con laminación de color marrón (compuesto de arcilla y limo con detritos orgánicos). Además, existen estratos color negro de limo y arena fina (Kienel et al., 2009).

Otro estudio realizado en la zona reportó morfológicamente a las estructuras órgano-sedimentarias como de forma coliflor y oncoides, e identificó mineralógicamente sus componentes en aragonita e hidromagnesita (Cortés, 2016). Por último, basados en análisis isotópicos, Levresse et al. (2014) reportaron que el crecimiento de las microbialitas es de aproximadamente 0.4 milímetros por año.

El lago remanente dentro del cráter Rincón de Paranguo está clasificado como un lago sódico debido a su composición iónica, presenta una conductividad alta de 165000 $\mu\text{s}/\text{cm}$, un pH de 10 (Aranda-Gómez et al., 2013), así como una alta salinidad (12 %) y alta concentración de carbonatos y bicarbonatos de sodio (Escolero & Alcocer, 1996). La salinidad del lago ha ido aumentando con el paso de los años debido a las altas tasas de evaporación entre los meses de marzo-mayo las cuales pueden llegar a ser mayores a 200 mm (Kienel et al., 2009), provocando la formación de evaporitas (halita y trona) en las zonas secas del lago (Aranda-Gómez et al., 2017; Rocha Treviño, 2015). Esta composición química tan distintiva lo convierte en un ambiente extremo, llegando a favorecer el desarrollo de organismos especializados capaces de sobrevivir en este tipo de ambientes.

El vulcanismo del CVVS es predominantemente basáltico andesítico. El CVVS se desarrolló en dos etapas principales. La primera ocurrió en el Plioceno-Mioceno en la cual se formaron pequeños volcanes de composición basáltica andesítica; y posteriormente un periodo que ocurrió en el Cuaternario en el cual se formaron estructuras de tipo maar y conos cineríticos con edades de 1.175 Ma (Cano-Cruz & Carrasco-Núñez, 2008). Datos de Potasio-Argón indican que el cráter *maar* Rincón de Paranguo tiene una edad de 400 kyr BP (Kienel et al., 2009). Se piensa que el origen de las estructuras volcánicas del CVVS se debe a una zona de debilidad cortical pues existe un alineamiento de cráteres con una orientación NNW-SSE (Cano-Cruz & Carrasco-Núñez, 2008).

Es incierto si el vulcanismo y el fallamiento en la zona son activos. Datos recientes no publicados (Levresse, comunicación personal) sobre la composición de los gases que se producen en el cráter indican una posible actividad volcánica. Es posible que estos gases producidos por la actividad volcánica que están siendo transportados por las fallas del cráter, tengan relación con el estado de desarrollo en el que se encuentran las microbialitas cortadas por estas fallas.

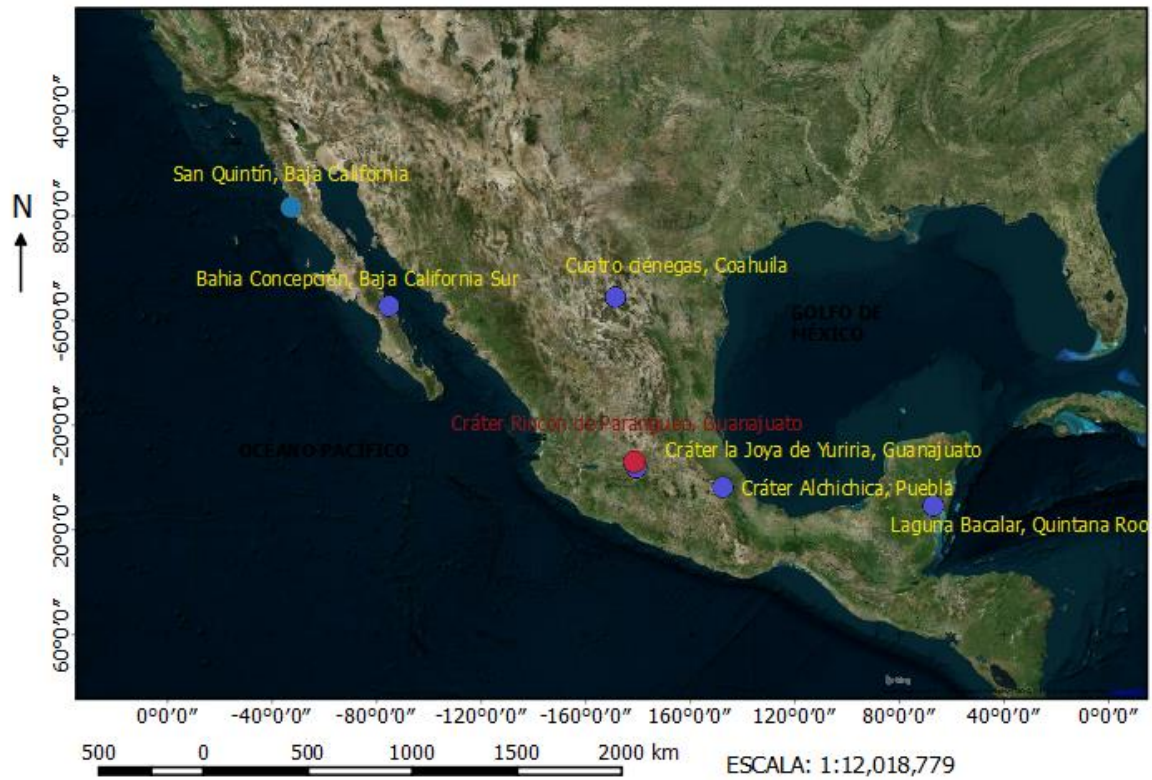


Figura 2.1 Localización de estromatolitos modernos en diferentes zonas de México, el cráter *maar* Rincón de Parangueo ubicado en el estado de Guanajuato es señalado en rojo (Imágenes de satélite obtenidas de la plataforma NASA Earthstar).

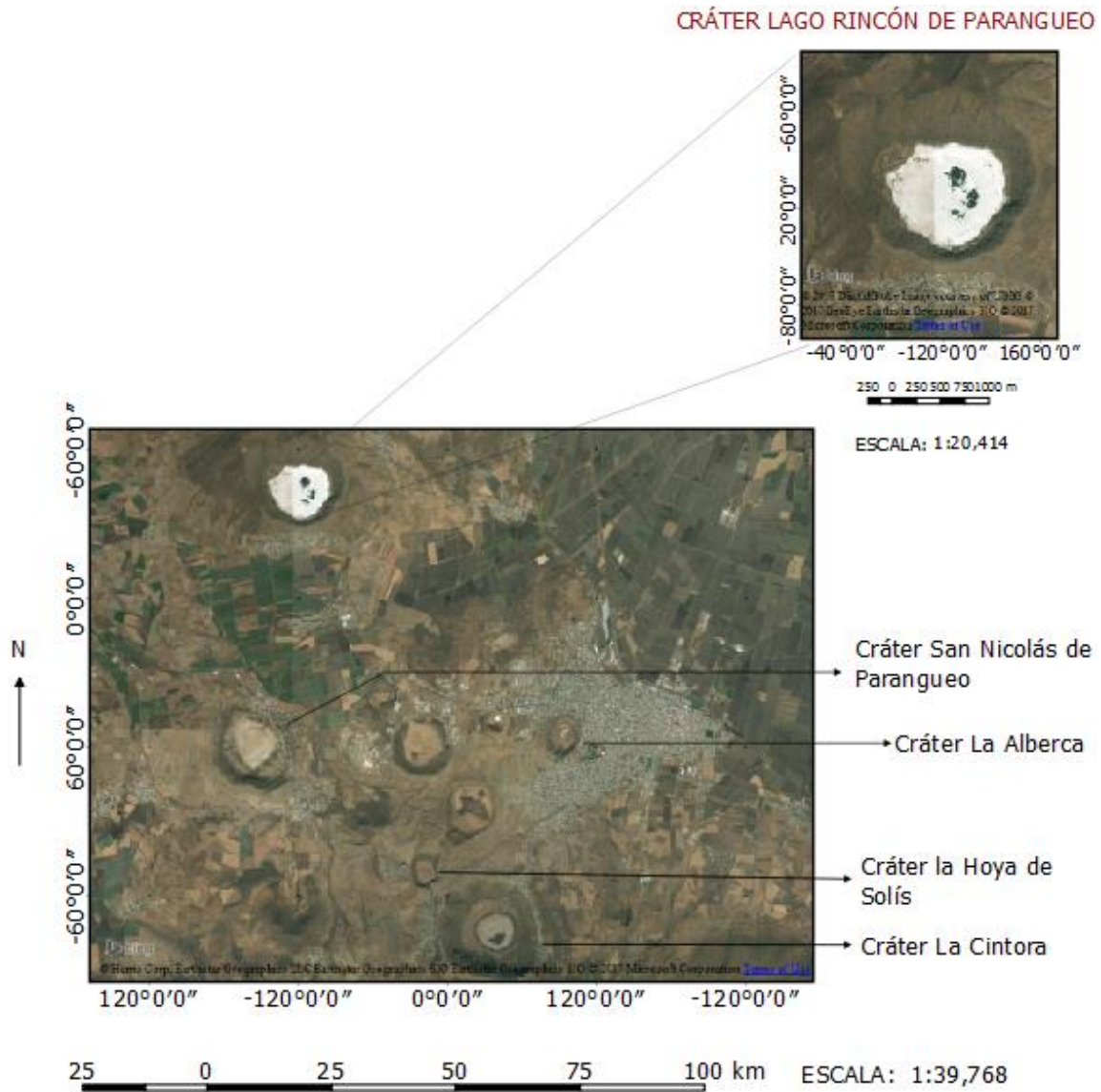


Figura 2.2 Localización del Cráter lago Rincón de Parangueo, en la imagen se muestran otros cráteres pertenecientes al CVVS que se encuentran cercanos a la zona de estudio (Imágenes de satélite obtenidas de la plataforma NASA Earthstar).

3. Marco biológico

3.1 Antecedentes sobre el desarrollo de microbialitas

Las microbialitas son estructuras órgano-sedimentarias calcáreas formadas mediante el atrapamiento y/o unión de partículas. Existen distintos tipos de microbialitas entre ellas se encuentran los estromatolitos (estructuras laminadas), trombolitos (estructuras no laminadas), oncolitos (estructuras concéntricamente laminadas) y dendrolitas (estructuras verticales en forma de árbol) (Wade & Garcia-Pichel, 2003).

Los estromatolitos son hasta el momento los fósiles más antiguos que se conocen. Estas estructuras órgano-sedimentarias se encuentran en el 85% del registro fósil de la tierra (Awramik, 1998; Dupraz & Visscher, 2005). Con una antigüedad de hasta 3500 millones de años (Casaburi et al., 2016), dominaron el precámbrico hasta su disminución en el Fanerozoico (Grotzinger, 1990).

Los estromatolitos son estructuras laminadas que se forman gracias a la acción directa de comunidades microbianas, estas comunidades contribuyen al atrapamiento de sedimentos y/o precipitación de carbonatos (Altermann, 2008). Pueden ser reconocidos fácilmente debido a sus morfologías características, entre ellas montículos hemisferoidales, estructuras ramificadas y columnares (Andres & Reid, 2006). Se han reportado estromatolitos fósiles que tienen una edad de más de 3000 millones de años en distintos lugares del planeta. Estas estructuras se encuentran principalmente en el oeste de Australia y el sur de África (Farías et al., 2011). Hoy en día existen estromatolitos que se encuentran en desarrollo, estos estromatolitos modernos (definidos como los estromatolitos fósiles y vivos del Holoceno al presente; Riding, 1991) se encuentran en ambientes muy diversos. Por ejemplo, ambientes marinos como Shark Bay en Australia (Papineau et al., 2005) y en islas de las Bahamas (Reid et al., 1995; Andres & Reid, 2006). Aguas continentales como Cuatro Ciénegas, México (Souza et al., 2012). En ambientes asociados con actividad hidrotermal como el Rift de Kenya (Renaut et al., 2002) y Yellowstone (Berelson et al., 2011). En cráteres lago como Rincón de Paranguero (Aranda-Gómez et al., 2013), Tonga (Kazmierczak & Kempe, 2006), Alchichica en Puebla (Kazmierczak et al., 2011) y Satonda en Indonesia (Kempe et al., 1996; Kempe & Kazmierczak, 1990). Los estromatolitos modernos son de gran importancia pues pueden ayudarnos a comprender los procesos químicos, físicos y biológicos que formaron los estromatolitos del precámbrico.

3.2 Morfologías a macro y micro escala

Los estromatolitos desarrollados en cráter-lago y ambientes con actividad hidrotermal presentan morfologías a macro escala muy variadas (Tabla 3.1), las cuales pueden ser en forma de coliflor, estructuras domicas, estructuras de hongo y montículos irregulares (Każmierczak et al., 2011; Berelson et al., 2011; Renaut et al., 2002). En cuanto a su morfología microscópica, se ha observado una relación directa con las comunidades microbianas que los forman (Burns et al., 2004). Pudiendo desarrollarse microestructuras laminares, vermiformes, tussock-like y frutexites-like (Każmierczak & Kempe, 2006). Estas morfologías a macro escala y micro escala pueden variar dependiendo del ambiente físico y químico del lugar de desarrollo (Riding, 1991).

Tabla 3.1 Macroestructuras y microestructuras en estromatolitos desarrollados dentro de cráter-lago y zonas con hidrotermalismo alrededor del mundo, se observan macroestructuras y microestructuras muy variadas.

MORFOLOGÍAS DE MICROBIALITAS EN CRÁTER-LAGO Y ZONAS CON HIDROTERMALISMO		
Cráter lago Satonda Indonesia	Macroestructura en forma de coliflor microestructura laminar y trombolítica	
Lagunas Andinas Argentina	Macroestructura domica microestructura laminar y vermiforme	
Niufo'ou Island Tonga	Microlaminación, tussock-like, Arborescente	
Yellowstone EU	Estructuras de hongo con microlaminación	
Alchichica Puebla	Macroestructura domica, forma de coliflor y montículos irregulares. Microlaminación Estructuras irregulares en forma de chimeneas.	
Lago Baringo Rift Kenya	Microlaminación, Oncolitos con laminación micrítica.	

3.3 Procesos de formación de un estromatolito

El desarrollo de un estromatolito comienza con una biopelícula, la cual es una película compuesta por microorganismos y sustancias poliméricas extracelulares secretadas por ellos. Las biopelículas se consolidan y vuelven más diversas microbiológica y metabólicamente hablando, formando a su vez tapetes microbianos (Reid et al., 2011). Los cuales son sistemas dinámicos que están formados por una serie de estratos o capas que conducen a la formación de estromatolitos cuando comienzan los procesos de litificación.

Existen tres etapas principales para los procesos de litificación de los estromatolitos: (1) atrapamiento y unión de partículas, (2) biomineralización y (3) mineralización (Riding, 1991).

- 1. Atrapamiento y unión de partículas:** proceso por el cual las partículas disponibles en el medio se adhieren a la superficie del tapete microbiano. El atrapamiento de las partículas depende en gran medida de la superficie topográfica del tapete microbiano (una superficie irregular atraparé más partículas). Otro factor importante es el tamaño de partícula, ya que partículas pequeñas (e.g. micrita) son las más propensas a ser atrapadas. Un componente esencial en este proceso son las sustancias poliméricas extracelulares (EPS). Compuestas principalmente de carbohidratos y glicoproteínas, y otros componentes minoritarios como ácidos nucleicos (Gérard et al., 2013). Éstas son producidas por los microorganismos que se encuentran en el tapete y permiten la adhesión de las partículas, proporcionando protección física y química a los microorganismos, y favoreciendo así su desarrollo. Los componentes orgánicos de los EPS contienen grupos funcionales cargados negativamente (fosfato, carboxilo, hidroxilo, amino) los cuales atrapan los cationes Ca^{2+} del medio, poco después el enlace EPS-Ca^{2+} se hidroliza liberando Ca^{2+} promoviendo la precipitación de CaCO_3 (Sugihara et al., 2016). Entre los microorganismos que secretan EPS se encuentran las bacterias, cianobacterias y diatomeas (Riding, 2000).
- 2. Biomineralización:** proceso biológicamente inducido en el cual se agregan cristales de distintos tamaños a la estructura de los microorganismos presentes en el tapete microbiano. La biomineralización ayuda al proceso de atrapamiento de partículas, debido a que microorganismos como las cianobacterias producen estructuras tubulares y dendríticas lo cual lleva al aumento de la superficie topográfica del tapete mejorando la tasa de acreción (Riding, 1991).
- 3. Mineralización:** proceso en el cual se forman minerales en la superficie de los microorganismos independientemente de que éstos estén biomineralizados o no. En ambientes no marinos este proceso es más notorio en zonas con salida de CO_2 como chimeneas y en lugares con alta tasa de evaporación (Riding, 1991).

Se ha observado que en estromatolitos modernos marinos el proceso más importante para su formación es el atrapamiento y unión de partículas, mientras que en ambientes como cráteres lago la precipitación inducida por microorganismos es la más importante (Saghai et al., 2015).

3.4 Biodiversidad presente en los estromatolitos

La variedad de especies dentro de un tapete microbiano, y por lo tanto formadoras de estromatolitos, está determinada por las características físicas y químicas existentes en el medio donde se desarrollan, incluyendo luz, temperatura, pH alcalinidad, salinidad y concentración de oxígeno (Riding & Awramik, 2000). En los tapetes microbianos pueden vivir un sinnúmero de microorganismos que representan los tres dominios de la vida (Arquea, Bacteria, Eukarya). Es importante mencionar que no todos los tapetes microbianos llegan a formar estromatolitos, pues este proceso depende en gran medida de las condiciones geoquímicas del medio y de la comunidad microbiológica que los compone, así como los metabolismos dominantes dentro de ella (Foster & Green, 2011; Casaburi et al., 2016).

Un tapete microbiano puede tener distintos estratos biológicos (Figura 3.1):

- (1) Estrato superior del tapete, se encuentran los microorganismos expuestos directamente a la luz. En esta capa los productores principales (cianobacterias y algas), realizan la fotosíntesis oxigénica para producir la materia orgánica que utilizarán los microorganismos no autótrofos.
- (2) Se encuentran los microorganismos autótrofos fototróficos anoxigénicos.
- (3) Microorganismos consumidores (e.g. protozoos).
- (4) Microorganismos aeróbicos (e.g. actinobacterias) encargados de la descomposición de materia orgánica.
- (5) Microorganismos anaeróbicos (bacterias sulfato-reductoras y metanogénicas).

Los microorganismos procariotas, en particular las cianobacterias, tienden a predominar (Rodríguez-Aranda & Sanz-Montero, 2015). Esto se debe a que ciertas especies tienen una gran capacidad de adaptación, soportando altas temperaturas (hasta 74°C) y alta salinidad (Chancón et al., 2010).

Algunos de los microorganismos en el tapete microbiano tienen un papel muy importante. Por ejemplo, las bacterias filamentosas atrapan y unen los sedimentos, las bacterias heterotróficas precipitan aragonita microcristalina, y las cianobacterias cocoidales forman el grano cementado en las capas del estromatolito (Andres & Reid, 2006). Dentro de un tapete microbiano, ciertas especies pueden estar confinadas a uno de los distintos estratos y otras pueden participar libremente en cada estrato del tapete (Riding & Awramik, 2000).

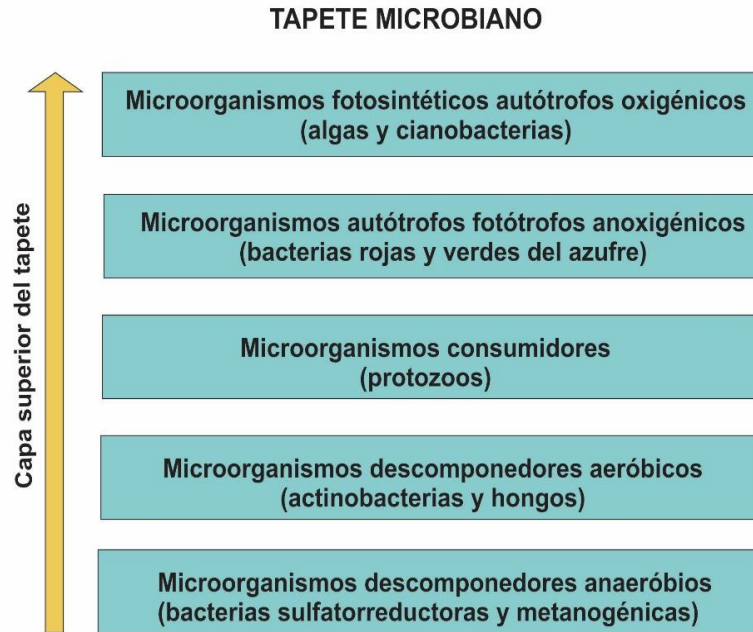


Figura 3.1 Estratos biológicos en tapetes microbianos.

Es muy importante conocer la diversidad microbiológica presente en un tapete microbiano formador de estromatolitos, de esta forma se pueden reconocer ciertas actividades metabólicas que favorecen su crecimiento. Por ejemplo, ciertos metabolismos como la fotosíntesis y la sulfato-reducción favorecen la precipitación de los carbonatos mediante el incremento del pH en el medio (Gérard et al., 2013; Saghai et al., 2015; Casaburi et al., 2016). Por el contrario, la sulfuro oxidación y la fermentación, promueven la acidificación del medio y por lo tanto la disolución de carbonatos (Saghai et al., 2015; Casaburi et al., 2016).

Hoy en día se utilizan técnicas moleculares como la metagenómica para la identificación de las comunidades microbianas presentes en los estromatolitos. Esta técnica de la biología molecular consiste en la extracción directa y total del ADN de los microorganismos presentes en una muestra ambiental para su posterior secuenciación e interpretación filogenética (Felczykowska et al., 2015). El ADN total aislado de una muestra ambiental representa el metagenoma (Vieites et al., 2010). La importancia de la metagenómica radica en que se puede caracterizar todo el microbioma de una comunidad microbiológica y por lo tanto identificarla. Esta identificación no podría ser posible con métodos microbiológicos tradicionales, debido a que el 99% de los microorganismos presentes en una muestra ambiental no pueden ser cultivados en el laboratorio (Felczykowska et al., 2015).

Los estudios metagenómicos se pueden llevar a cabo mediante la secuenciación del gen ribosomal 16S, el cual codifica un ARN ribosómico (ARNr) 16S. Esta molécula es ampliamente

utilizada en estudios filogenéticos bacterianos pues presenta regiones conservadas que son comunes a todos los microorganismos, pero también contiene regiones variables específicas para cada microorganismo (Rodicio & Mendoza, 2004). El ARNr 16S contiene nueve regiones hipervariables (V1-V9), estas secuencias variables específicas son denominadas nucleótidos firma y pueden ser utilizadas para determinar distintos grupos filogenéticos (Rodicio & Mendoza, 2004). El ARNr 16S es utilizado como marcador molecular en estudios taxonómicos debido a que contiene una variabilidad y divergencia genética significativa, posee regiones conservadas lo que permite el diseño de iniciadores universales útiles en la amplificación por PCR y tiene una longitud de 1500 nucleótidos lo que permite su secuenciación de forma reproducible y precisa (Valenzuela-González et al., 2015).

Estudios moleculares de distintas comunidades formadoras de estromatolitos alrededor del mundo, han identificado que existe una gran diversidad del dominio Bacteria. De las cuales destaca el filo Cyanobacteria como el más abundante; mientras que, los dominios Arquea y Eukarya presentan una menor diversidad de especies (Saghai et al., 2015).

Dentro del dominio Bacteria se han encontrado los filo Proteobacteria (clases Alphaproteobacteria y Grammaproteobacteria), Cyanobacteria, Bacteroidetes y Planctomycetes como los más diversos y abundantes en estromatolitos (Saghai et al., 2015). Ejemplo de esta composición microbiana, son los porcentajes de abundancias encontradas en estromatolitos desarrollados en Shark Bay con Alphaproteobacteria (20%), Actinobacteria (16%), Cyanobacteria (15%), Planctomycetes (11%), Gammaproteobacteria (10%) y Firmicutes (9%) (Foster & Green, 2011). Los estromatolitos ubicados en Highborne Cay Bahamas, son los únicos en el mundo desarrollados en condiciones de salinidad normal del mar, y albergan filo como Alphaproteobacteria (20%), Cyanobacteria (18%), Bacteroidetes (9%), Planctomycetes (9%), Deltaproteobacteria (8%), Gammaproteobacteria (7%) (Foster & Green, 2011). Los estromatolitos desarrollados en zonas lacustres de agua dulce en Ruidera pools, España, cuentan con microorganismos pertenecientes a los filo Cyanobacteria (54%), Firmicutes (19%) y Alphaproteobacteria (7%). En cuanto a la biodiversidad encontrada dentro de un cráter lago, el análisis metagenómico en Alchichica Puebla muestra el dominio de filo como Proteobacteria (clases Alphaproteobacteria y Grammaproteobacteria), Cyanobacteria y Bacteroidetes, seguidos de Planctomycetes, Deltaproteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Firmicutes y Chloroflexi (Centeno et al. 2012).

En el caso particular Rincón de Parangueo, éste es el primer análisis metagenómico que se realiza. Trabajos previos en la zona han reportado la diversidad de cianobacterias en los tapetes microbianos presentes en el remanente del lago, las cuales fueron formadoras de las estructuras órgano-sedimentarias que hoy se observan en la costa del antiguo lago (Chacón et al., 2010;

Cortés, 2016). La tabla 3.2 muestra las especies de cianobacterias encontradas.

Tabla 3.2 Especies pertenecientes al filo Cyanobacteria identificadas en el cráter *maar* Rincón de Parangueo (Cortés, 2016).

Orden	Familia	Especie
Chroococcales	Chroococcaceae	<i>Cyanosarcina</i> sp.
		<i>Gloeocapsopsis cyanea</i>
		<i>Gloeocapsopsis</i> sp.
	Hyllaceae	<i>Pleurocapsa fusca</i>
		<i>Pleurocapsa hansgirgiana</i>
		<i>Pleurocapsa minor</i>
		<i>Radaisia</i> sp.
	Merismopediaceae	<i>Aphanocapsa salina</i>
		<i>Aphanocapsa</i> sp.
	Microcystaceae	<i>Chondrocystis schauinslandii</i>
		<i>Chondrocystis dermochroa</i>
	Synechococcaceae	<i>Aphanothece castagnei</i>
		<i>Aphanothece</i> cf. <i>Saxicola</i>
	Xenococcaceae	<i>Chroococciopsis Kashaii</i>
<i>Chroococciopsis fissurarum</i>		
<i>Chroococcidium gelatinosum</i>		
Nostocales	Nostocaceae	<i>Nostoc</i> sp.
Oscillatoriales	Phormidiaceae	<i>Phormidium papyraceum</i>
	Pseudanabaenaceae	<i>Leptolyngbya</i> sp.
	Schizotrichaceae	<i>Schizothrix arenaria</i>
	<i>Schizothrix</i> sp.	

4. Metodología

Uno de los aspectos más importantes de este trabajo es el desarrollo metodológico para el estudio de las estructuras órgano-sedimentarias que se encuentran presentes en el cráter *maar* de Rincón de Parangueo. Se dividió la metodología en dos secciones, por un lado, se realizó un análisis geológico tradicional para la descripción de los sedimentos carbonatados del cráter y el registro fósil de microbialitas. Paralelamente se realizó un análisis biológico para determinar las comunidades microbianas que habitan en distintas zonas del cráter.

4.1 Metodología para el análisis geológico

La metodología para el análisis geológico fue la siguiente: cartografía de las estructuras órgano-sedimentarias mediante su descripción con la ayuda de descripciones de varios autores. Análisis de difracción de rayos X y microscopía electrónica de barrido a dichas estructuras. Análisis de dos secciones litológicas, de los cuales se tomaron muestras para la determinación de sus características fisicoquímicas (Figura 4.1).

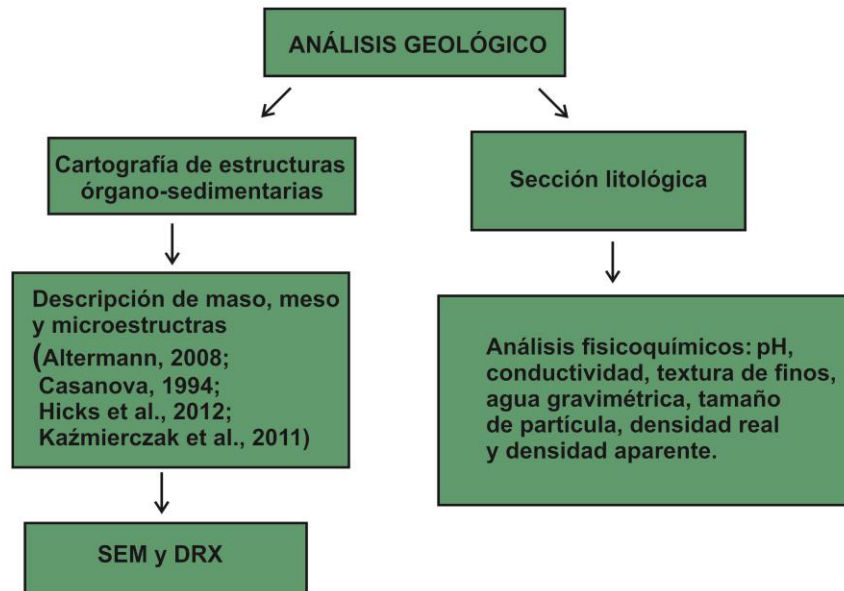


Figura 4.1 Metodología de análisis geológico dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo.

4.1.1 Cartografía de sedimentos y estructuras órgano-sedimentarias

Se llevó a cabo una cartografía detallada de las microbialitas presentes en el cráter. Para realizar esta cartografía se tomó como base el mapa geológico de Aranda-Gómez et al. (2017). Se interpretaron imágenes aéreas tomadas con una resolución adecuada (Carrera-Hernández et al., 2016), y se realizó el reconocimiento en campo de las microbialitas en 31 sitios específicos. Además, se proyectaron en el mapa las fallas y fracturas reportadas por Aranda-Gómez et al. (2017). Con estos datos se llevó a cabo una correlación espacial entre la distribución de las secuencias carbonatadas y la presencia de fallas anulares en el cráter.

4.1.2 Descripción de macro, meso y micro estructuras

La descripción morfológica de las estructuras órgano-sedimentarias en macro escala se llevó a cabo mediante una combinación de descripciones de diferentes autores (Altermann, 2008; Kaźmierczak et al., 2011; Casanova, 1994; Hicks et al., 2012). Esta descripción se hizo mediante verificaciones en campo y colección de fotografías tomadas en todo el cráter.

La descripción morfológica a meso escala se realizó por medio de la clasificación de Hicks et al. (2012), y muestras de biohermas recolectadas con alrededor de 15 cm de espesor. Éstas fueron cortadas transversalmente en el taller de molienda del Centro de Geociencias, UNAM.

La descripción a micro escala se realizó mediante muestras de microbialitas ubicadas en la zona de falla anular del cráter. Se analizaron muestras tomadas en microbialitas fósiles, tapetes microbianos vivos y zonas que contienen aragonita formada en las microbialitas. Se utilizó el equipo TM 1000 Tabletop Microscope.

4.1.3 Secciones litológicas

Se realizaron dos secciones litológicas con la finalidad de analizar las propiedades fisicoquímicas de los sedimentos y la descripción de perfiles litológicos. Cada sección fue dividida en varios puntos de muestreo. Se llevó a cabo el análisis de pH, conductividad, textura de finos, agua gravimétrica, tamaño de partícula, densidad real, densidad aparente y composición mineralógica. La metodología estándar para el análisis de las muestras fue la propuesta en la NOM-021-SEMARNAT-2000, la cual establece las especificaciones de fertilidad, salinidad, clasificación, estudios, muestreo y análisis de suelos. Las texturas, características fisicoquímicas y mineralogía fueron identificadas en el laboratorio de Mecánica Multiescalar de Geosistemas, el laboratorio de Edafología y el laboratorio de Microscopía electrónica del Centro de Geociencias, UNAM Campus Juriquilla.

La metodología seguida para el análisis fisicoquímico de las muestras fue la siguiente:

Contenido de humedad del suelo por gravimetría: Este método mide la cantidad de agua que contiene la muestra de suelo/sedimento, mediante la diferencia de peso entre la muestra húmeda y seca (peso constante). Este parámetro se determinó mediante el método AS-05 NOM-021-SEMARNAT-2000. La muestra y el vidrio de reloj fueron pesados y se introdujeron al horno de precisión por 24 horas a una temperatura de 100-105 °C, transcurrido el tiempo se pesaron nuevamente.

Densidad aparente: Esta técnica está basada en la medición de dos parámetros: el volumen de los sólidos en la muestra y el volumen ocupado por el espacio poroso. Se realizó mediante el método AS-03 NOM-021-SEMARNAT-2000. Se pesaron los vidrios de reloj y cilindros, los cilindros fueron saturados con muestra y pesados de nuevo.

Granulometría: la muestra fue molida y pesada, se introdujo en tamices de distintos tamaños (no. 4, 10, 18, 40, 80, 200, 400), fue colocada en el Rotap. Por último, se pesó la cantidad de muestra que pasó por cada tamiz.

pH: Este método está basado en el potencial eléctrico producido por los iones H⁺ en la solución, estos iones son detectados por un electrodo de hidrógeno y son comparados con el potencial constante que produce un electrodo patrón (Fassbender & Bornemisza, 1987). La medición del pH se realizó mediante el método AS-02 NOM-021-SEMARNAT-2000. Se tamizaron 10 gramos de muestra en malla no. 10, posteriormente se adicionaron 25 ml de agua destilada y se agitaron por 1 hora a 200 rpm, transcurrido el tiempo se midió el pH con el potenciómetro.

Conductividad: La conductividad eléctrica es la medida de la capacidad que tiene un material para conducir la electricidad, ésta depende de la concentración total de iones presentes en la solución electrolítica, la movilidad y valencia de estos iones, así como la temperatura a la cual se realiza la medición. Para lo cual dos electrodos son introducidos en la muestra, se aplica un voltaje y se mide la corriente que fluye entre ellos. La medición se realizó mediante el método AS-18 NOM-021-SEMARNAT-2000. Se tamizaron 10 gramos de muestra en malla no. 10, posteriormente se adicionaron 50 ml de agua destilada, se agitaron por 1 hora a 200 rpm y se dejaron reposar por 24 horas, transcurrido el tiempo se obtuvo la medición.

Densidad Real: Su valor está basado en la medición de la masa y el volumen de la muestra. El volumen de la muestra es determinado indirectamente mediante la medición de la masa y la

densidad del agua desplazada por la muestra. Se determinó mediante el método AS-04 NOM-021-SEMARNAT-2000. Se agregaron 5 gramos de muestra a los picnómetros y se pesaron, se agregó agua destilada y se colocaron al vacío para eliminar el aire. Por último, fueron saturados con agua destilada y pesados de nuevo.

Determinación de la textura del suelo mediante el procedimiento de Bouyoucos: En esta metodología se determina el tamaño de distintos grupos de partículas. Para el caso de las partículas mayores a 0.002 mm (limo y arena), el tiempo de lectura es de 2 horas. En cambio, para las partículas mayores a 0.05 mm el tiempo de lectura es de 40 segundos. Se determinó mediante el método AS-09 NOM-021-SEMARNAT-2000. 50 gramos de muestra libre de materia orgánica fueron colocados en una mezcladora con 20 ml de hexametáfosfato de sodio (calgón) y 100 ml de agua destilada, se mezcló por 15 minutos y se transfirió a una probeta de 1000 ml, la probeta se aforó con agua destilada y se agitó por un minuto. Las lecturas fueron tomadas con el hidrómetro de bouyoucos a diferentes tiempos.

Para eliminar la materia orgánica de las muestras, se pesaron 75 g de muestra, se agregaron 100 ml de agua destilada y 20 ml de H₂O₂ 30% w/w, Se dejó reposar en baño María a temperatura ambiente hasta que terminó la efervescencia, se agregaron 5 ml más de H₂O₂ para comprobar la eliminación total de materia orgánica.

Difracción de Rayos X: se analizaron muestras de microbialitas con zonas que contenían mineral de aragonita y microbialitas donde no se observó el mineral, ambas recolectadas en la falla anular del cráter. Se utilizó el equipo Rigal Miniflex, los parámetros especificados fueron: voltaje 30 KV, corriente 15 Ma, ángulo de comienzo 5° y ángulo de finalización 80°, el software utilizado fue Standart Measurement.

4.2. Metodología para el análisis biológico

Para caracterizar los microorganismos del dominio Bacteria presentes en el cráter *maar* Rincón de Parangueo se llevó a cabo un análisis metagenómico (Figura 4.2), el cual consta de varias etapas: (1) Muestreo, (2) Extracción de ADN, (3) Cuantificación de ADN, (4) Amplificación y secuenciación de ADN y (5) Análisis de resultados.

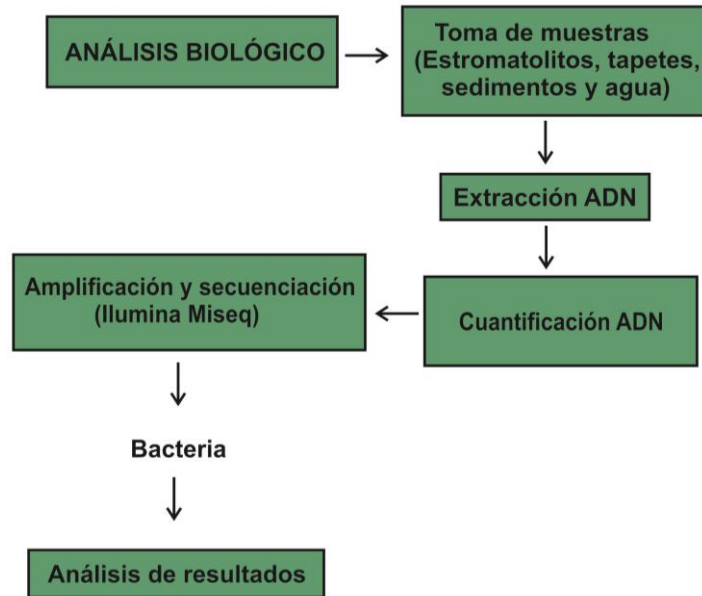


Figura 4.2 Metodología de análisis biológico dentro del cráter *maar* Rincón de Paranguo.

4.2.1 Muestreo

Esta es una etapa crucial en el análisis metagenómico (Felczykowska et al., 2015). Distintas muestras fueron tomadas (agua, estromatolitos, sedimentos y tapetes microbianos) para realizar una comparación de la microdiversidad entre ellas. Las muestras se recolectaron entre los meses septiembre y noviembre del 2016. Cada una de ellas fue tomada con guantes y pinzas estériles para minimizar el riesgo de contaminación, introducida en tubos Falcón estériles de 50 ml, mantenida en hielo durante su transporte y almacenada a -20 °C hasta su procesamiento.

Estromatolitos: cinco muestras se colectaron en la zona de falla anular del cráter, el muestreo fue realizado en la zona donde se observó el mayor desarrollo de microorganismos con la finalidad de obtener la comunidad activa y de esta forma facilitar la extracción del ADN. Las coordenadas son las siguientes:

JSS01: 20.427601, -101.246794.

JSS02: 20.427464, -101.246341.

JSS03: 20.427960, -101.246255.

Tapetes microbianos: se desarrollan dentro del remanente del lago, al momento de muestreo existían tres pequeñas pozas de distintos tamaños, en cada una de ellas se tomó una muestra. Las coordenadas son las siguientes:

JSS04: 20.430370, -101.247300.

JSS05: 20.429740, -101.246975.

JSS06: 20.429332, -101.247166.

Sedimentos: tres muestras fueron colectadas, todas a una profundidad de 4-5 metros en sitios dentro de la zona de sedimentos del antiguo lago. Se utilizó un perforador mecánico de aproximadamente 6 metros de longitud para su extracción. Las coordenadas son las siguientes:

JSS07: 20.430146, -101.248621.

JSS08: 20.430142, -101.248565.

JSS09: 20.430269, -101.248373.

Agua: se tomó una muestra en cada una de las tres pequeñas pozas. Las coordenadas son las siguientes:

JSS10: 20.430370, -101.247300.

JSS11: 20.429740, -101.246975.

JSS12: 20.429332, -101.247166.

En la figura 4.3 se pueden observar los sitios de recolección de cada tipo de muestras dentro del cráter.

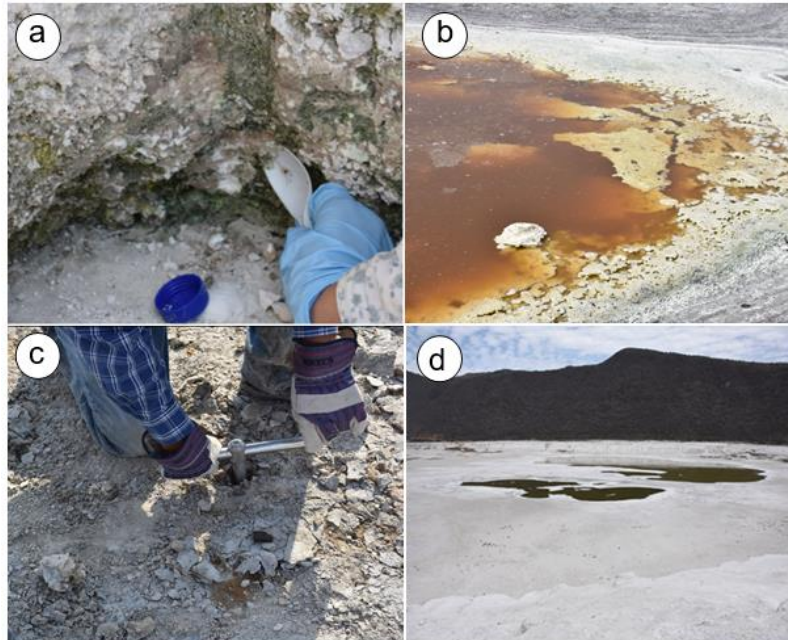


Figura 4.3 Sitios de muestreo

(a) Recolección de estromatolitos, ubicados en la falla anular del cráter, se observa el desarrollo de microorganismos en color verde y marrón. (b) Pequeña poza ubicada dentro de la zona del remanente del lago, se tomaron muestras de tapetes microbianos y agua. (c) Muestreo de sedimentos a una profundidad de 4-5 metros, se observa el perforador mecánico introducido para la obtención de las muestras. (d) Se observan dos de las tres pozas formadas en el remanente del lago.

4.2.2 Extracción de ADN

La extracción de ADN en las muestras se llevó a cabo mediante dos protocolos. En el protocolo 1, doce muestras (JSS01-JSS12) fueron procesadas de manera independiente mediante una modificación de la metodología sugerida por (Bey et al., 2010) y la utilización del kit comercial de extracción PowerSoil® DNA Isolation, MoBio. En el protocolo 2, dos muestras (JSS13 y JSS14) fueron procesadas por medio de varias repeticiones de dilución y centrifugación con agua libre de DNAsas y la utilización del kit PowerSoil® DNA Isolation, MoBio.

PROTOCOLO 1:

(1) Preparación de la muestra: Las muestras fueron procesadas de la siguiente manera:

- Se pesaron 30 g de estromatolito, sedimento o tapete microbiano dependiendo el caso.
- Se agregaron 100 ml de NaCl 1M.
- Se agitó a velocidad media y enfrió a -20°C por intervalos de 1 minuto.
- El volumen fue ajustado a 250 ml de NaCl 1M dividiéndolo en tubos de 50 ml.
- Los tubos se agitaron a 150 rpm por media hora a temperatura ambiente.
- Posteriormente se centrifugaron a 1000 rpm por 1 minuto, el sobrenadante fue transferido a nuevos tubos.
- El volumen fue centrifugado a 25000 x g por 15 minutos, el sobrenadante fue retirado, el pellet se resuspendió en 5 ml de Tris-EDTA (50 mM EDTA).
- El pellet resuspendido se centrifugó de nuevo a 25000 x g por 15 minutos. Se descartó el sobrenadante y el pellet fue suspendido en 15 ml de TE (10 mM EDTA).
- El volumen obtenido (15 ml) fue centrifugado, se tomaron 0.25 g del pellet para ser procesados con el kit de extracción.

(2) Extracción de ADN: se utilizó el kit comercial PowerSoil® DNA Isolation siguiendo las especificaciones del fabricante (MoBio). Las soluciones del kit de extracción no vienen

especificadas, pero realizan las funciones de lisis celular, eliminación de proteínas, remoción de lípidos, precipitación y elución del ADN. La extracción fue realizada como se muestra a continuación:

- Los 0.25 g obtenidos en la etapa de preparación de la muestra fueron introducidos en un tubo con microesferas, se agregaron 60 μl de la solución C1 y mezclaron en el vortex por 10 minutos.
- Se centrifugó a 10,000 $\times g$ por 30 segundos, el sobrenadante fue colocado en un tubo limpio.
- Se agregaron 250 μl de la solución C2 y mezclaron en el vortex por 5 segundos, posteriormente se centrifugó a 10,000 $\times g$ por 1 minuto.
- 600 μl de sobrenadante fueron transferidos (evitando el pellet) a un tubo limpio y se adicionaron 200 μl de solución C3, se agitaron brevemente e incubaron a 4°C por 5 minutos.
- El tubo se centrifugó a 10,000 $\times g$ por 1 minuto, se trasladaron 750 μl de sobrenadante a un tubo limpio. Se agregaron 1200 μl de solución y agitaron en el vortex por 5 segundos.
- 675 μl fueron colocados en un tubo filtrador, posteriormente se centrifugó a 10,000 $\times g$ por 1 minuto. El líquido bajo la columna fue desechado, lo anterior fue repetido hasta agotar el líquido inicial (ca. 2 ml).
- Se lavó la columna, añadiendo 500 μl de solución C5 y se centrifugó a 10,000 $\times g$ por 30 segundos, el líquido fue desechado. Se centrifugó de nuevo el tubo por 1 minuto a 10,000 $\times g$.
- El filtro fue colocado en un tubo limpio, se agregaron 50 μl de agua libre de DNAsas, en lugar de la solución C6, dejando reposar por 5 minutos y se centrifugó por 3 minutos a 13,000 $\times g$.
- Por último, se retiró el filtro del tubo, y se mantuvo el ADN resuspendido (ca. 45 μl).

Cabe mencionar que las muestras de agua no fueron tratadas con NaCl 1M, por lo tanto, éstas solo se centrifugaron a 25000 $\times g$ para precipitar las células y después fueron lavadas con Tris-EDTA (50 mM EDTA) y TE (10 mM EDTA). Los pasos siguientes (extracción con el kit) se realizaron de igual forma que las otras muestras.

PROTOCOLO 2:

(1) Preparación de la muestra: consistió en lavados con agua libre de DNAsas, mediante varias repeticiones de dilución y centrifugación. Las muestras se procesaron de la siguiente manera:

- Se pesaron 30 g de muestra.
- La suspensión de la muestra fue realizada en tubos falcón de 50 ml agregando 10 ml de agua libre de DNAsas por cada 3 g de muestra.
- Los tubos fueron agitados en el vortex por 10 minutos a una velocidad media.

- Se dejaron reposar por un período suficiente hasta que los sólidos precipitaran.
- El sobrenadante fue recuperado en un tubo nuevo y centrifugado a 3500 rpm por 20 minutos.
- El pellet obtenido se diluyó en 15 ml de agua, se agitó en el vortex por 10 minutos y fue centrifugado de nuevo a 3500 rpm por 10 minutos.
- El sobrenadante (15 ml) fue recuperado y centrifugado, se tomaron 0.25 g del pellet para ser procesados con el kit de extracción.

(2) **Extracción de ADN:** se siguieron los pasos de forma idéntica a la anteriormente mencionada (protocolo 1).

4.2.3 Cuantificación de ADN

En un análisis metagenómico es importante obtener ADN con buena calidad y alta pureza. Para lo cual es necesario realizar una cuantificación del mismo y además evaluar su grado de integridad. La cuantificación se llevó a cabo mediante fluorometría con el kit Accuclear Ultra High Sensitivity dsDNA Quantitation, en el equipo Varioscan Flash Thermo Scientific en la Unidad de Proteogenómica del Instituto de Neurobiología, UNAM.

El grado de pureza se verificó mediante el uso de un espectrofotómetro basados en la propiedad que tienen las purinas y pirimidinas presentes en los ácidos nucleicos de absorber luz ultravioleta con una longitud de 260 nm y 280 nm. Se utilizó la relación 260/280 la cual indica la cantidad de proteínas presentes en el ADN extraído y por lo tanto el grado de pureza de la muestra. Una relación 260/280 entre 1.8-2 indica un alto grado de pureza, un valor inferior a 1.8 indica contaminación por proteínas (Roca et al., 2003).

4.2.4 Amplificación y secuenciación metagenómica

Las muestras fueron enviadas para su secuenciación a la empresa RTL genomics Lubbock, Texas EE.UU. Se realizó una secuenciación metagenómica usando el gen 16S ARN ribosomal (ARNr) en la plataforma Illumina. Illumina MiSeq es un secuenciador de nueva generación (NGS) basado en amplificación por puente y síntesis química, dicha plataforma puede generar hasta 10 millones de moléculas por centímetro cuadrado (Pettersson et al., 2009). En el secuenciador Illumina MiSeq la amplificación, secuenciación y análisis de secuencias son realizados dentro del mismo equipo en una serie de pasos mostrados a continuación:

1.- Amplificación: El ADN extraído de las muestras es utilizado como molde para su amplificación por lo cual la molécula de ADN es fragmentada y etiquetada con adaptadores en cada uno de sus extremos. El fragmento de ADN es colocado en una microplaca con oligonucleótidos complementarios a los nucleótidos presentes en los adaptadores. En la microplaca la cadena simple de ADN se une por un extremo a un oligonucleótido ubicado en la placa y por otro extremo a un oligonucleótido complementario creando de esta forma un puente. La polimerasa comienza con el proceso de replicación de ADN produciendo la cadena complementaria del fragmento, posteriormente la doble cadena de la molécula sintetizada es desnaturalizada creando más cadenas simples que serán utilizadas para repetir el mismo proceso de amplificación miles de veces. Para el análisis se eligieron como blanco las regiones variables V1 y V2 del gen 16S ARN ribosomal (ARNr) utilizando los adaptadores GAGTTTGATCNTGGCTCAG y GTNTTACNGCGGCKGCTG.

2.- Secuenciación: Es llevada a cabo de manera automatizada. En la plataforma Illumina la secuenciación está basada en la incorporación y detección de nucleótidos marcados con fluorescencia. Cada uno de los cuatro nucleótidos incorporados está marcado por diferentes colores generando señales características que el equipo detecta para determinar que nucleótido se ha incorporado descifrando de esta forma la secuencia (Thomas et al., 2015).

3.- Análisis de secuencias: consiste en dos etapas la primera es la eliminación de ruido y detección de quimeras y la segunda el análisis de diversidad microbiana. Durante la etapa de eliminación de ruido son utilizadas varias técnicas para eliminar secuencias cortas, secuencias simples y lecturas ruidosas. Una vez eliminadas las malas lecturas, se realiza la detección de quimeras para eliminar secuencias quiméricas. Durante la etapa de análisis de diversidad, las secuencias son agrupadas en base al OTU (ARNr 16S) usando el algoritmo UPARSE, después son comparadas con una base de datos de secuencias de alta calidad derivada de la base de datos NCBI. Por último, las secuencias son analizadas mediante el programa PYTHON para asignar la información taxonómica.

4.2.5 Análisis de datos

Una vez obtenida la base de datos proporcionada por la empresa RTL genomics se realizaron una serie de gráficos mediante el uso del software QIIME utilizando el comando *make_otu_table.py* y la página web <https://dzone.com/articles/circle-through-your-google>.

5. Resultados

5.1. Aspectos físicos de los estromatolitos en el cráter maar Rincón de Parangueo

5.1.1. Cartografía de sedimentos y estructuras órgano-sedimentarias

La cartografía del cráter maar, desarrollada a partir del mapa base de Aranda et al. (2017) muestra 4 zonas mayores de desarrollo calcáreo. Una descripción detallada de la geología del cráter se presenta en el trabajo referido. Aquí sólo se describen las características importantes para la descripción de los depósitos carbonatados.

1.- Depósitos de talud y suelo: Fue definido por Aranda et al. (2017) como la zona entre la falla anular del cráter y el bloque hundido de la diatrema. En la zona más externa de talud y suelos se pueden observar depósitos de rocas y suelos orgánicos con una granulometría arena-limosa. Los depósitos de talud se componen de rocas volcánicas con una matriz gruesa y contactos entre los bloques. En algunos de estos bloques se observó crecimiento de estromatolitos que colonizaron la zona litoral somera del antiguo lago. Esta zona forma parte de la unidad de suelo orgánico.

2.- Pavimento oncolítico: es una plataforma calcárea con una gran cantidad de oncolitos de distintos tamaños que van desde 2 cm hasta 8 cm de diámetro. Se observaron además crecimientos calcáreos en fragmentos de raíces, troncos y rocas. Las estructuras oncolíticas se encuentran dentro de una matriz generalmente arena-limosa calcárea. Esta zona forma parte de la unidad oncolítica.

3.- Microbialitas: el mayor desarrollo de microbialitas coincide con las fallas y fracturas que se formaron por la subsidencia del cráter en los últimos años. Estas estructuras órgano-sedimentarias presentan dimensiones que alcanzan el metro de altura y forman parte de la unidad oncolítica del cráter. Fueron cortadas por la falla anular del cráter ocasionando que parte de su estructura se derrumbara dejando al descubierto zonas que contienen fracturas y aragonita. Se puede observar además la presencia de colonias de microorganismos ubicadas en los sitios donde existe aragonita.

4.- Plataforma talud: ubicada desde la zona de biohermas hasta el depocentro del cráter, forma parte de la unidad oncolítica. Consta de carbonatos masivos precipitados por acción fisicoquímica y biológica.

5.- Lodo laminado: ubicado en la zona de depocentro del cráter. Está representado por sedimentos laminados de diferentes colores (beige, marrón oscuro y negro). La sedimentación laminar se puede encontrar hasta una profundidad de 120 cm, subyacente a ésta existe lodo color negro con alto contenido de agua.

En la figura 5.1.1 se observa la cartografía de estructuras órgano-sedimentarias, fallas y sedimentos dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo. Además, los 31 puntos descritos, las zonas de muestreo de ADN y los puntos de muestreo para las secciones litológicas.

CARTOGRAFÍA DE ESTRUCTURAS ÓRGANO-SEDIMENTARIAS, FALLAS SEDIMENTOS DEL CRÁTER MAAR RINCÓN DE PARANGUEO

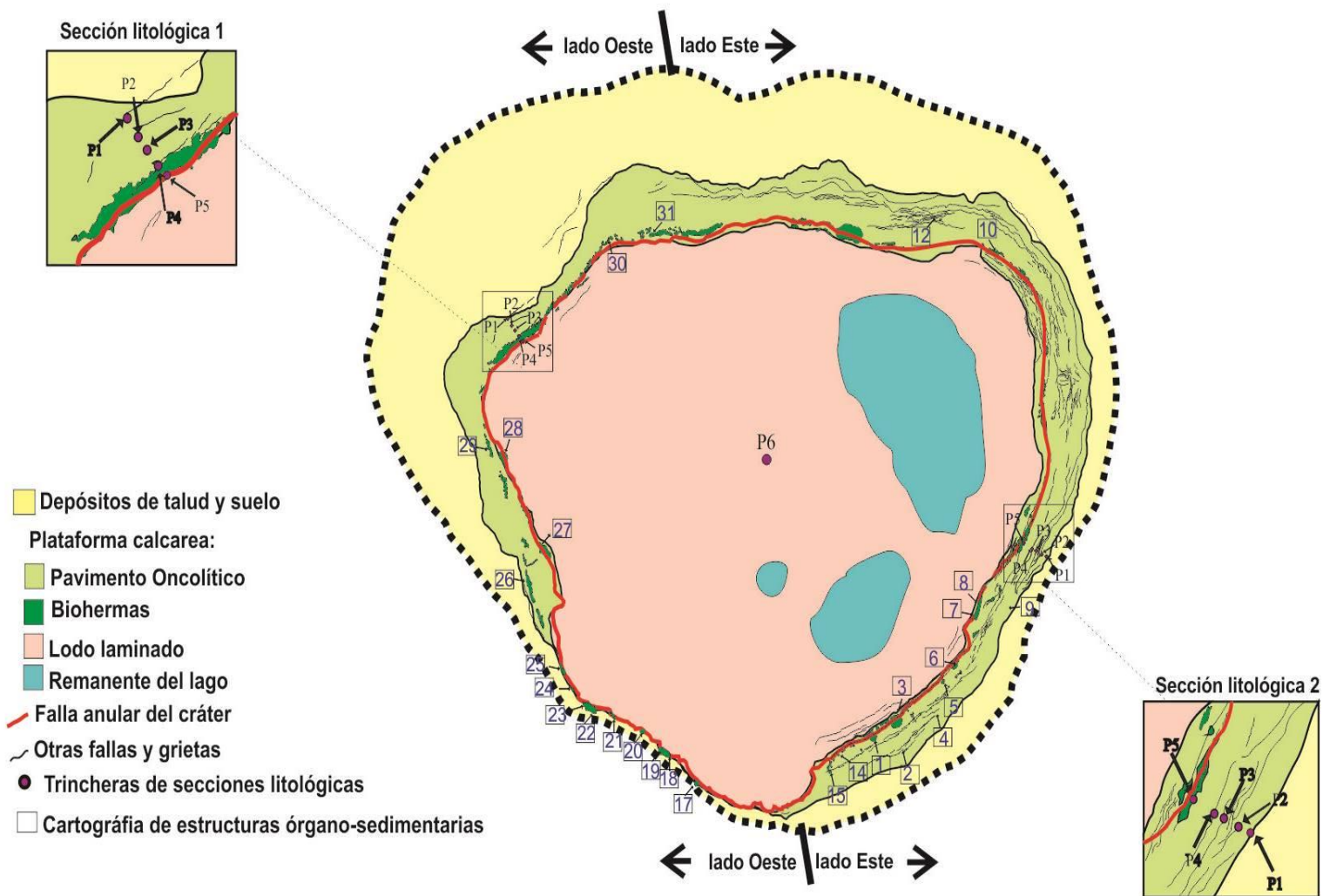


Figura 5.1.1 Cartografía de estructuras órgano-sedimentarias, fallas y sedimentos dentro del cráter maar Rincón de Parangueo, modificado de Aranda et al. (2017).

5.1.2. Cartografía de estructuras órgano-sedimentarias: descripción de macro, meso y micro estructuras

Se ha reportado que las macroestructuras, mesoestructuras y microestructuras de los estromatolitos pueden variar bastante dependiendo de las características físicas y químicas del ambiente en el cual se desarrollan (Casanova, 1994).

Dentro del cráter lago Rincón de Paranguero se pueden observar distintas morfologías a diferente escala. Es importante mencionar que en este estudio todas las microbialitas cartografiadas en el cráter son llamadas indistintamente estromatolitos, debido a la laminación que éstas presentan en su parte más externa y además a la falta de una clasificación precisa para su determinación (Altermann, 2008; Riding, 1991).

A macro escala se observaron cinco morfologías (chimeneas, oncolitos, biohermas, biostromos y otras morfologías características). Para el caso de meso escala se distinguieron dos tipos de estructura (trombolítica y laminar). Por último, a micro escala se pudieron identificar estructuras fósiles de cyanobacterias cocoidales, aglomerados de células microbianas, así como estructuras cristalinas y globulares. A continuación, se detalla cada una de las diferentes morfologías.

Macroestructuras:

1.- Chimeneas de escape: son construcciones erguidas que funcionan como conductos de escape para fluidos (Casanova, 1994). En el cráter *maar* Rincón de Paranguero se encontraron en la zona de la falla anular. Estas estructuras contienen canales los cuales pudieron haber favorecido la salida de fluidos. Fueron observadas en tres sitios ver figura 5.1.1 (sitios 17, 20 y 24). Todas ellas presentan estructura concéntrica con aragonita en su interior.

2.- Oncolitos: son estructuras que presentan una laminación concéntrica a partir de un núcleo dendrítico (Wade & Garcia-Pichel, 2003). En el cráter estas microbialitas se encuentran en la plataforma calcárea en distintos lugares figura 5.1.1 (sitio 2, 4, 9 y 12), sus tamaños pueden variar de 2 cm hasta 8 cm de diámetro.

3.- Biohermas: son estructuras domicas (Hicks et al., 2012) con mayor desarrollo que otras microbialitas dentro del cráter, están distribuidas justo encima de la falla anular. Presentan distintas medidas las cuales van de 15-40 cm de altura, se encuentran en una gran cantidad de lugares como se puede observar en la figura 5.1.1 (sitio 1, 3, 5, 6,7, 8, 10,12, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 y 31) la mayoría de estos biohermas contienen aragonita dentro de su

estructura.

4.- Biostromos: son construcciones que se caracterizan por formar estructuras horizontales laminadas (Altermann, 2008), forman parte de la plataforma calcárea y tienen alrededor de 1 metro de altura. Se pudieron observar en los sitios 6 y 12, ver figura 5.1.1.

5.- Otras morfologías: se originaron debido al crecimiento de comunidades microbianas alrededor de raíces, ramas, troncos y rocas (Hicks et al., 2012). Pueden contener espacios vacíos debido a la descomposición del sustrato orgánico que las constituía, preservándose sólo la estructura exterior. Se encuentran en la plataforma calcárea figura 5.1.1, en los sitios (2, 20, 21, 23, 24 y 25).

Mesoestructura:

Los biohermas encontrados en la zona de falla principal del cráter presentan dos tipos de mesoestructura (Figura 5.20).

1.- Laminar: fue observada en la parte más externa de los biohermas.

2.-Trombolítica: subyacente a la mesoestructura laminar, se encuentra la mesoestructura trombolítica. Dentro de ésta existen canales con aragonita.

Microestructura:

En las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido para las muestras de microbialitas fósiles se observaron estructuras de Cianobacterias cocoidales. Las imágenes de muestras de tapetes microbianos vivos mostraron estructuras cristalinas de aragonita. Ésta se presenta en forma de cristales alargados y se forma *in situ* por la acción de los microorganismos, se observaron también aglomerados de comunidades microbianas. En las micrografías de muestras colectadas en las microbialitas que contienen zonas con mineral se observaron estructuras iguales a las encontradas en los tapetes microbianos (estructuras cristalinas de aragonita), y además estructuras globulares las cuales pueden corresponder a calcita (Figura 5.23).

Difracción de Rayos X: las muestras colectadas en microbialitas fósiles estuvieron constituidas de aragonita y calcita. Por otro lado, las muestras de microbialita que contienen zonas con mineral estuvieron constituidas de aragonita en su totalidad (Figura 5.21 y 5.22).

Las siguientes imágenes 5.1- 5.19 muestran las distintas morfologías tanto a macro escala y meso escala observadas dentro del cráter.

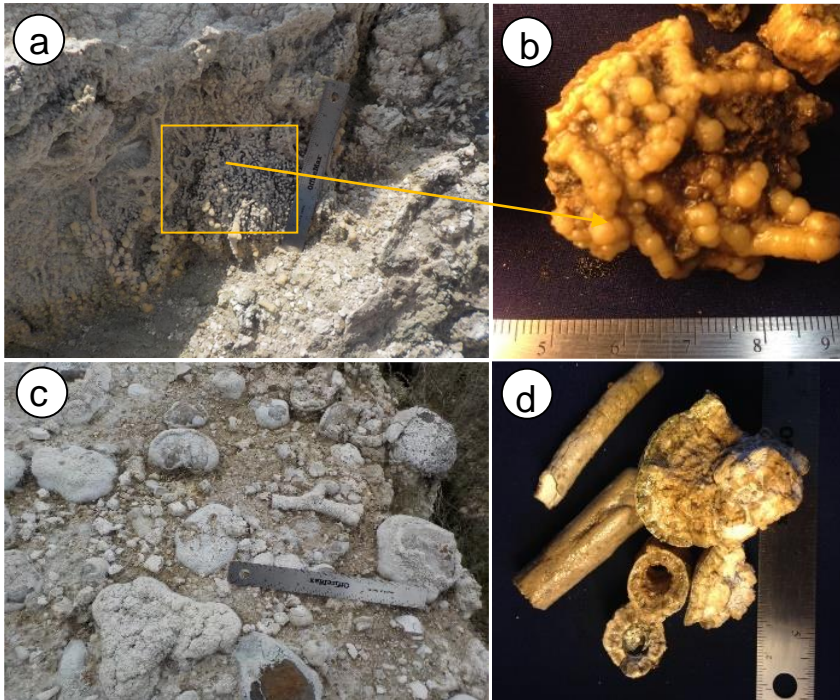


Figura 5.1

Sitio 1:

(a), (b) Biohermas ubicados en la falla anular de cráter, contienen mineral de aragonita.

Sitio 2:

(c) Oncolitos ubicados en la plataforma calcárea.

(d) Existen además microbialitas que colonizaron rocas y raíces de árboles.

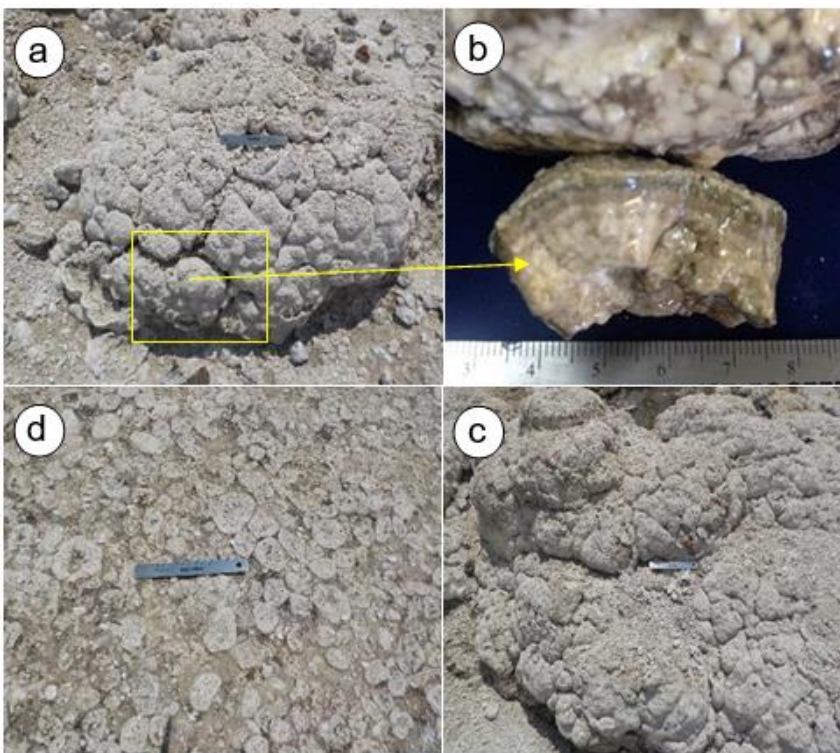


Figura 5.2

Sitio 3:

(a) Biohermas bien definidos, con macroestructura domica.

(b) se puede observar una mesoestructura laminar.

Sitio 4:

(c) Oncolitos de distintos tamaños, pueden variar de 2 cm hasta 8 cm de diámetro. Se encuentran en la zona de pavimento oncolítico.

Sitio 5:

(d) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter.

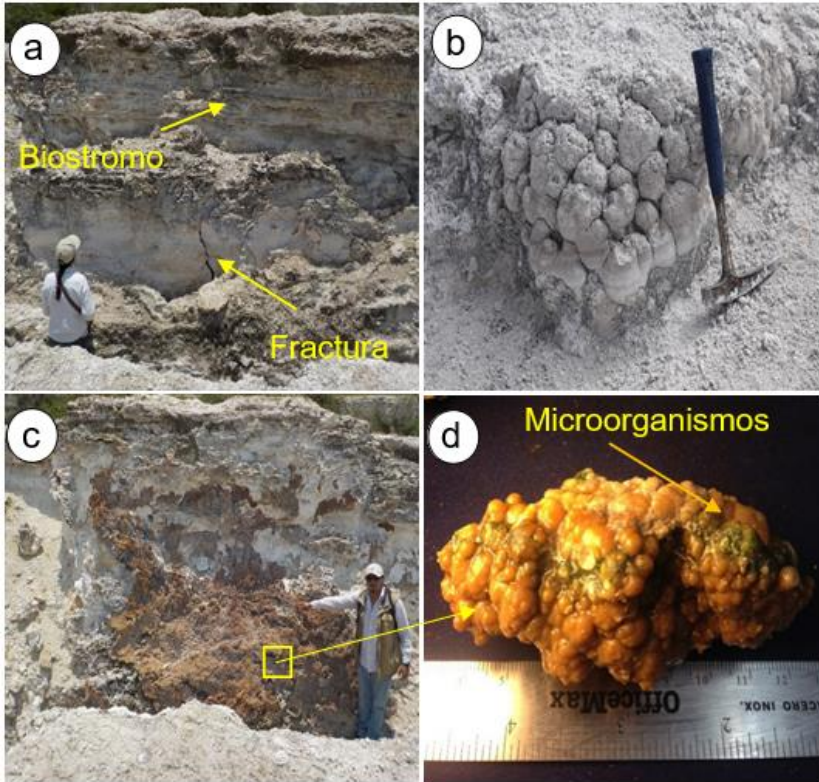


Figura 5.3

Sitio 6:

(a) Microbialita: contiene tres zonas, en la parte superior se encuentran los biohermas (inciso b), en la parte media el biosfoma y en la parte inferior se encuentran carbonatos masivos.

Se pueden observar fracturas en la zona de carbonatos masivos.

(c) Microbialita cortada por la falla anular del cráter, contiene zonas con precipitación de aragonita color marrón.

El mineral contiene microorganismos (color verde inciso d).



Figura 5.4

Sitio 7:

(a), (b) Bioherma ubicado en la falla anular del cráter, se pueden observar zonas con mineral de color marrón.

(c), (d) En la parte superior de los carbonatos masivos se desarrollaron microbialitas de menor tamaño, con estructuras semicirculares.

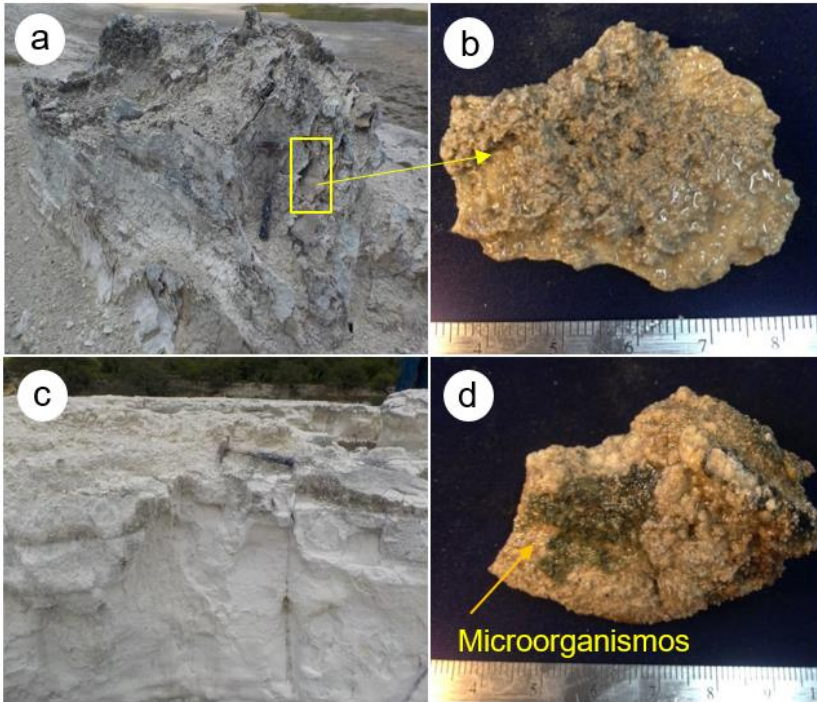


Figura 5.5

Sitio 8:

- (a) Microbialita con aragonita ubicada en la falla anular del cráter.
- (b) Muestra de mano.
- (c) Debajo de la microbialita se encuentra una zona de carbonato masivo.
- (d) Se observa el desarrollo de microorganismos en el mineral recolectado en la microbialita.

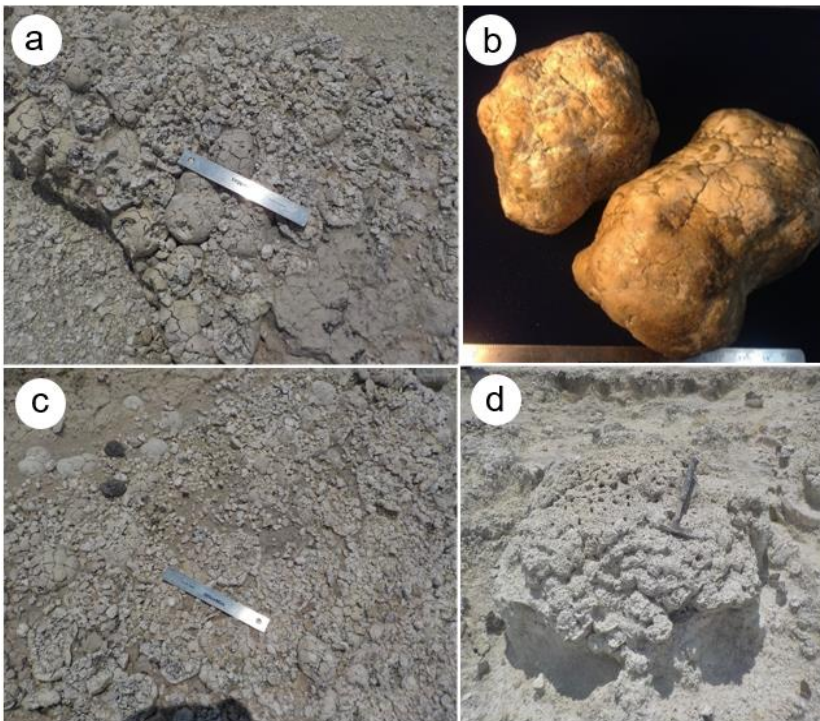


Figura 5. 6

Sitio 9:

- (a) Plataforma oncolítica, zona de formación de microbialitas poco desarrolladas.
- (b) Muestra de mano de microbialita.
- (c) Existen zonas en la plataforma oncolítica donde los oncolitos se encuentran erosionados.

Sitio 10:

- (d) Microbialitas erosionadas, se encuentran en la zona de falla anular del cráter, no se observa aragonita a simple vista.

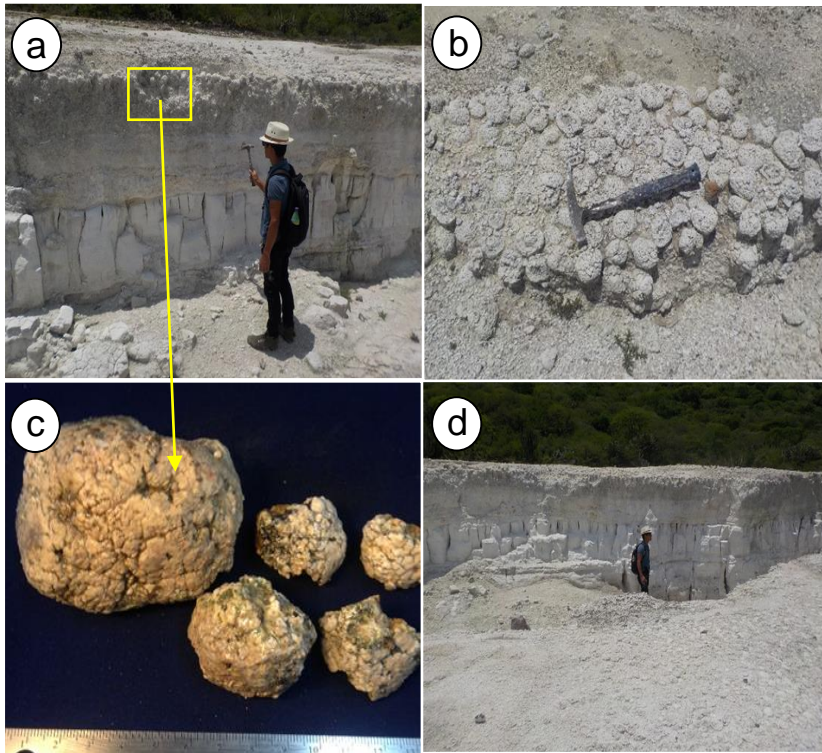


Figura 5.7

Sitio 12:

(a), (c) Se puede observar la altura del biostromo debido a una falla que lo corto. La altura del biostromo es de alrededor de 90 cm.

(b), (d) En la parte superior del biostromo existen oncolitos con tamaños variados desde 2 cm hasta 8 cm de diámetro.

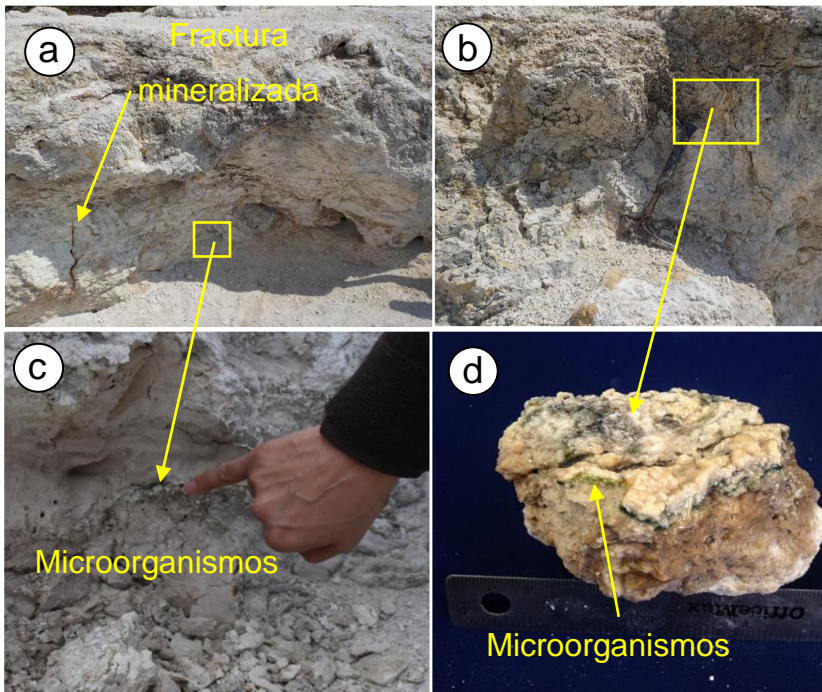


Figura 5.8

Sitio14:

(a), (b) Bioherma bien desarrollado, el cual fue cortado por la falla anular del cráter, se pueden observar fisuras con aragonita en su interior.

(c), (d) Se observa el desarrollo de microorganismos (color verde) en la aragonita presente en las microbialitas.

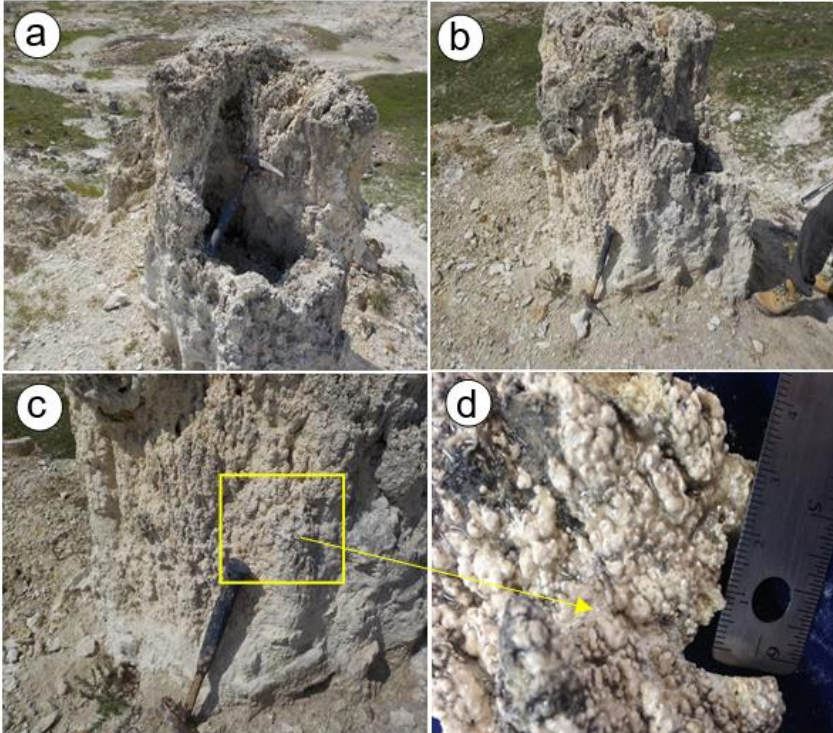


Figura 5.9

Sitio 17:

(a), (b) Chimenea de escape presenta zonas con aragonita.

(c), (d) Chimenea ubicada en la falla anular del cráter. Indicador muy importante de circulación de fluidos.

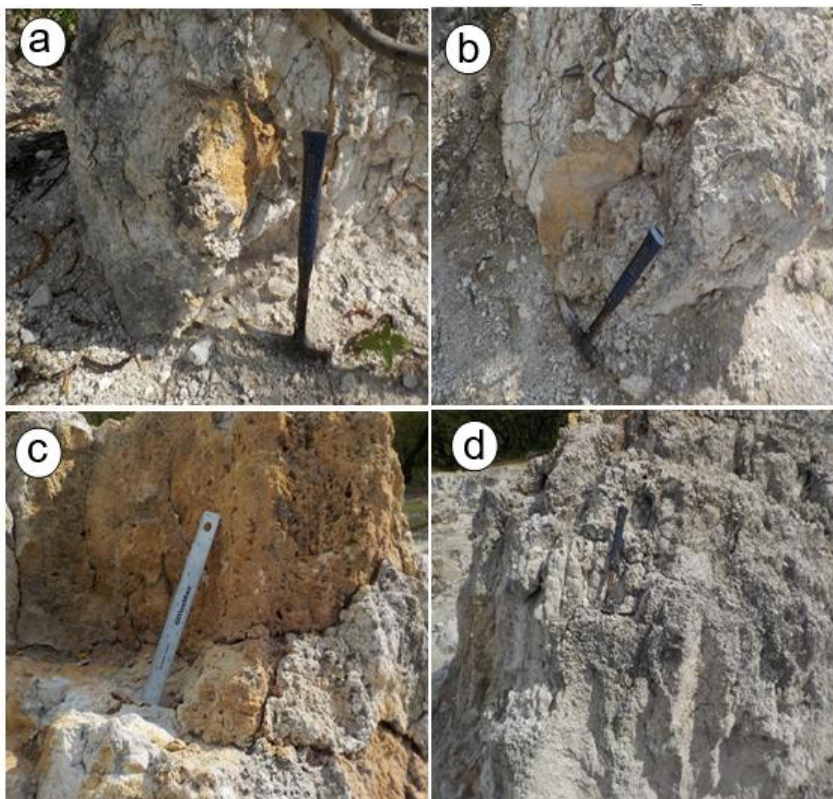


Figura 5.10

Sitio 19:

(a), (b) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe. Se puede observar zonas con aragonita.

(c), (d) Chimenea erosionada con aragonita en su interior, ubicada en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe.

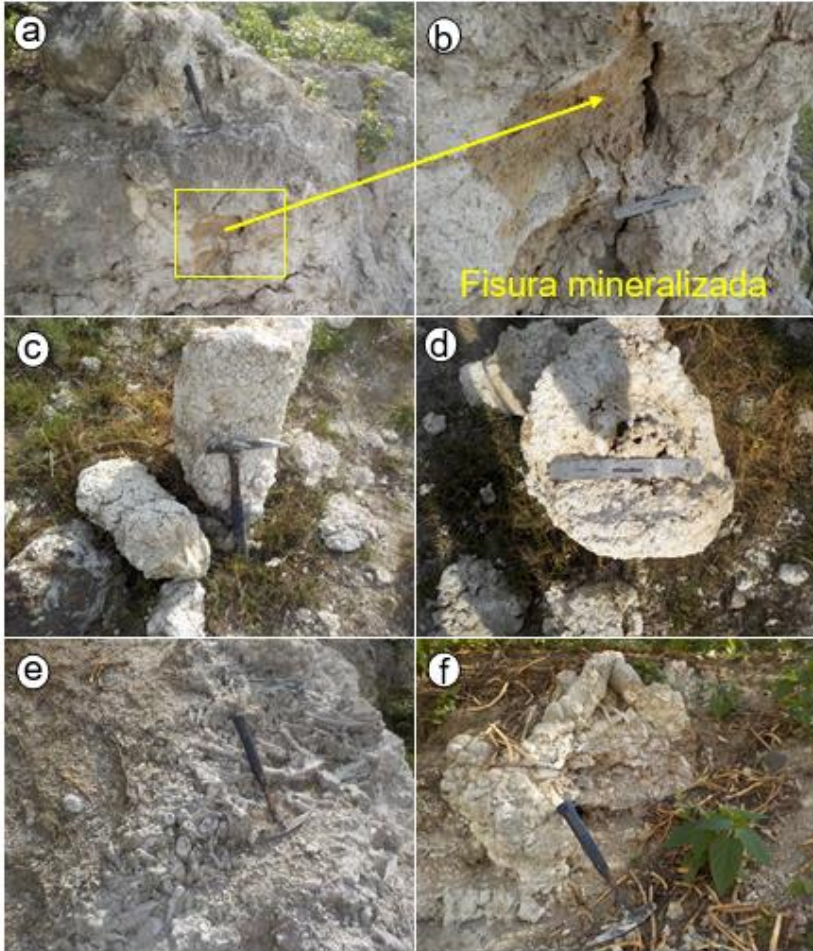


Figura 5.11

Sitio 20:

(a) (b) Bioherma ubicado en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe, se observan fisuras con aragonita dentro del bioherma.

(c), (d) Chimenea de escape, se encontró tirada en la zona de falla anular del cráter, se puede observar que tiene aragonita en su interior.

(e), (f) Microbialita con morfología característica, los microorganismos colonizaron raíces y troncos de árboles.

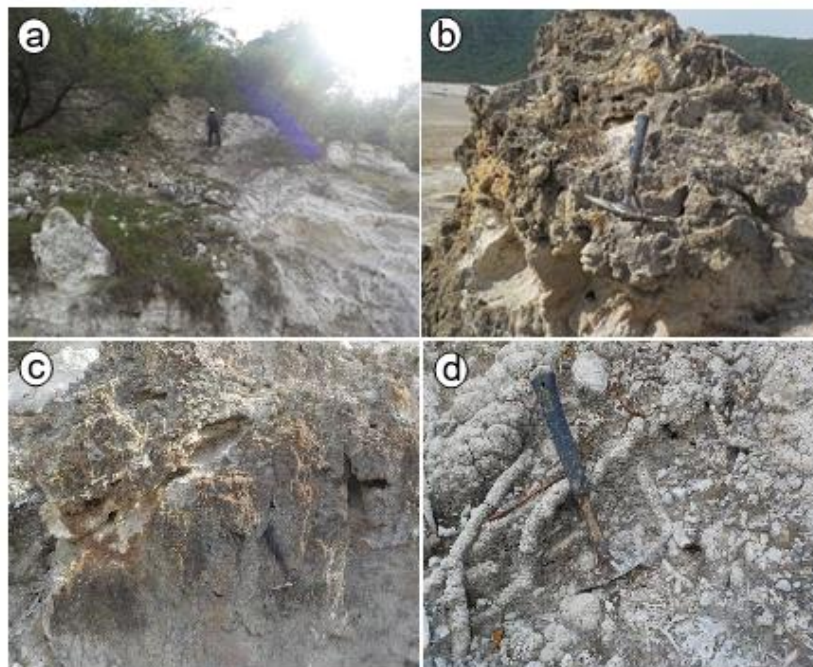


Figura 5.12

Sitio 21:

(a) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe.

(b), (c) Estos biohermas contienen aragonita de color marrón.

(d) Raíces colonizadas por microorganismos.

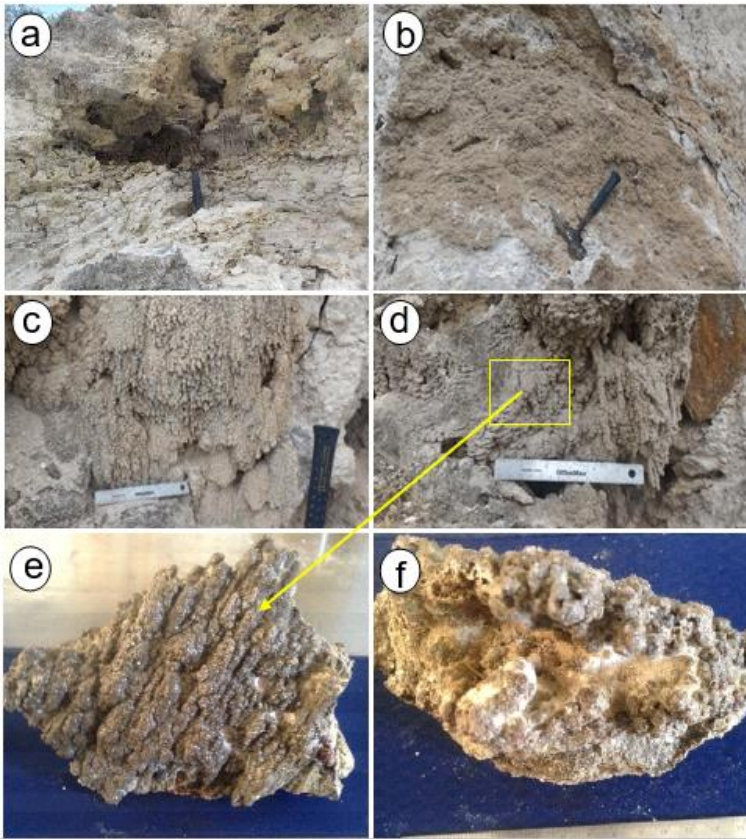


Figura 5.13

Sitio 22:

(a), (b) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe contienen zonas con aragonita de color marrón.

(c), (d) Este mineral se presenta en forma de tubos.

(e), (f) Muestra de mano.

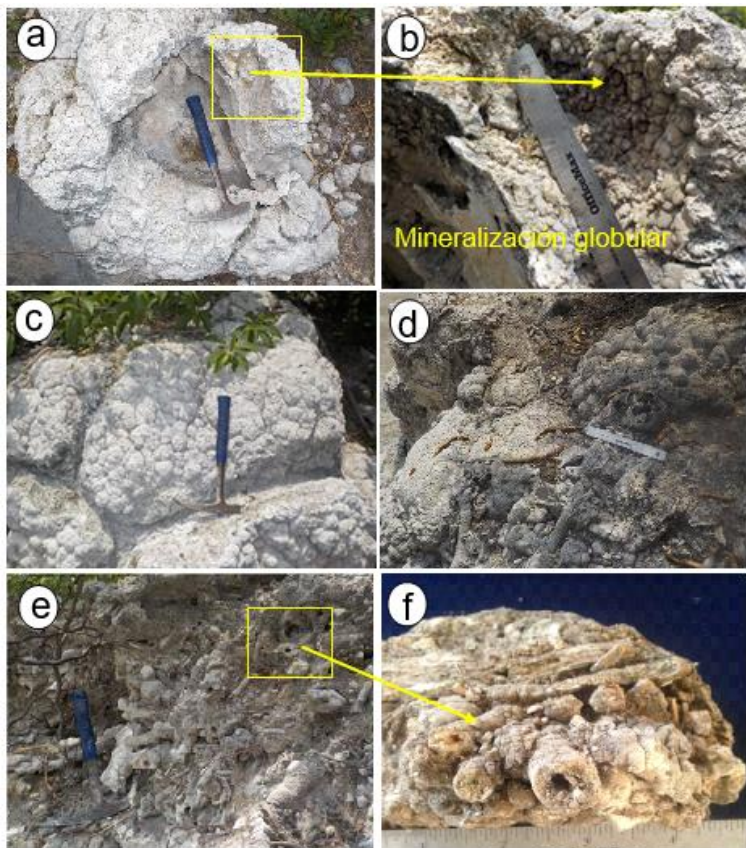


Figura 5.14

Sitio 23:

(a), (b), (c), (d) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe. Dentro del bioherma se observa mineral con forma globular.

(e) Los microorganismos colonizaron una gran cantidad de raíces de árboles.

(f) Muestra de mano.

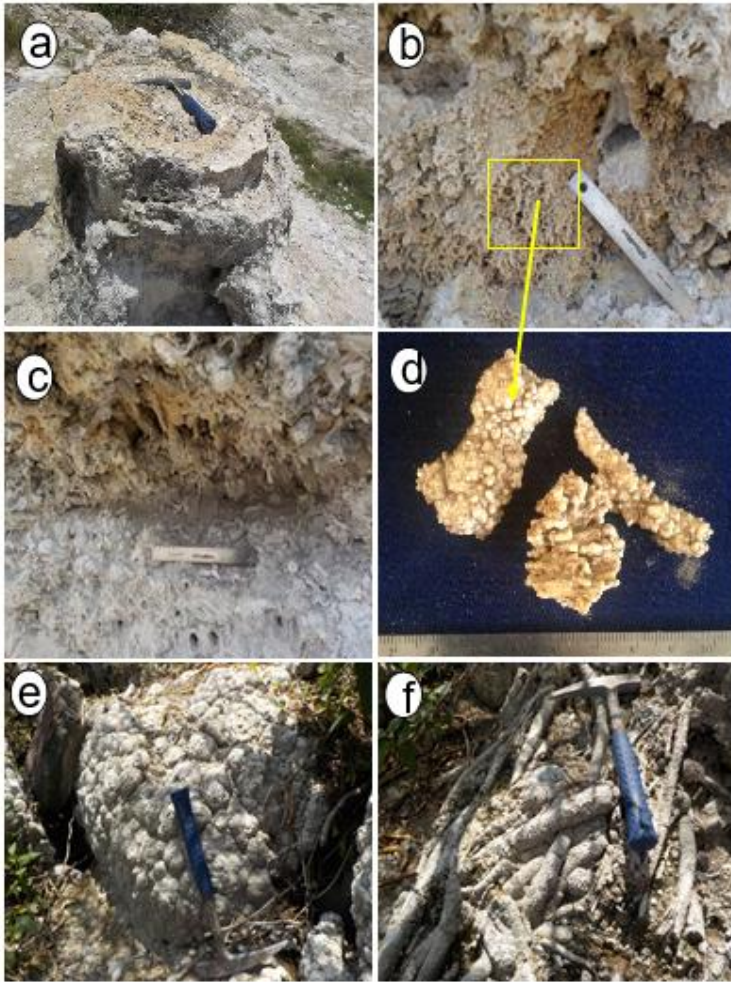


Figura 5.15

Sitio 24:

(a) Chimenea de escape con aragonita en su interior, ubicada en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe.

(b), (c), Zonas con aragonita en la chimenea de escape.

(d) Muestra de mano de mineral, se observan morfologías tubulares y globulares.

(e) Biohermas con una estructura muy bien definida ubicados en la falla anular, no se observa aragonita a simple vista.

(f) Raíces colonizadas por microorganismos.

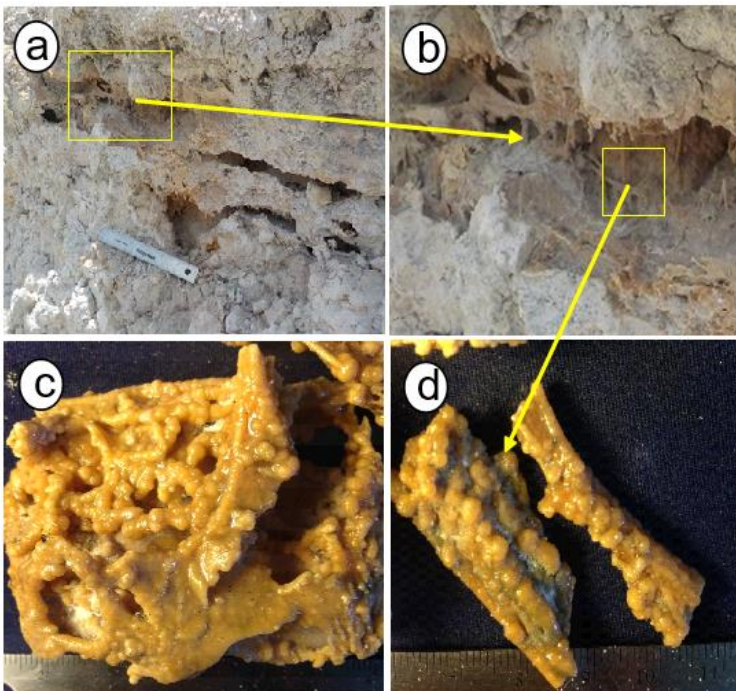


Figura 5.16

Sitio 25

(a), (b) Bioherma ubicado en la falla anular del cráter en la zona de derrumbe, el cual fue cortado por la falla, se pueden observar zonas con aragonita.

(c), (d) Muestra de mano del mineral, se observan morfologías tubulares.

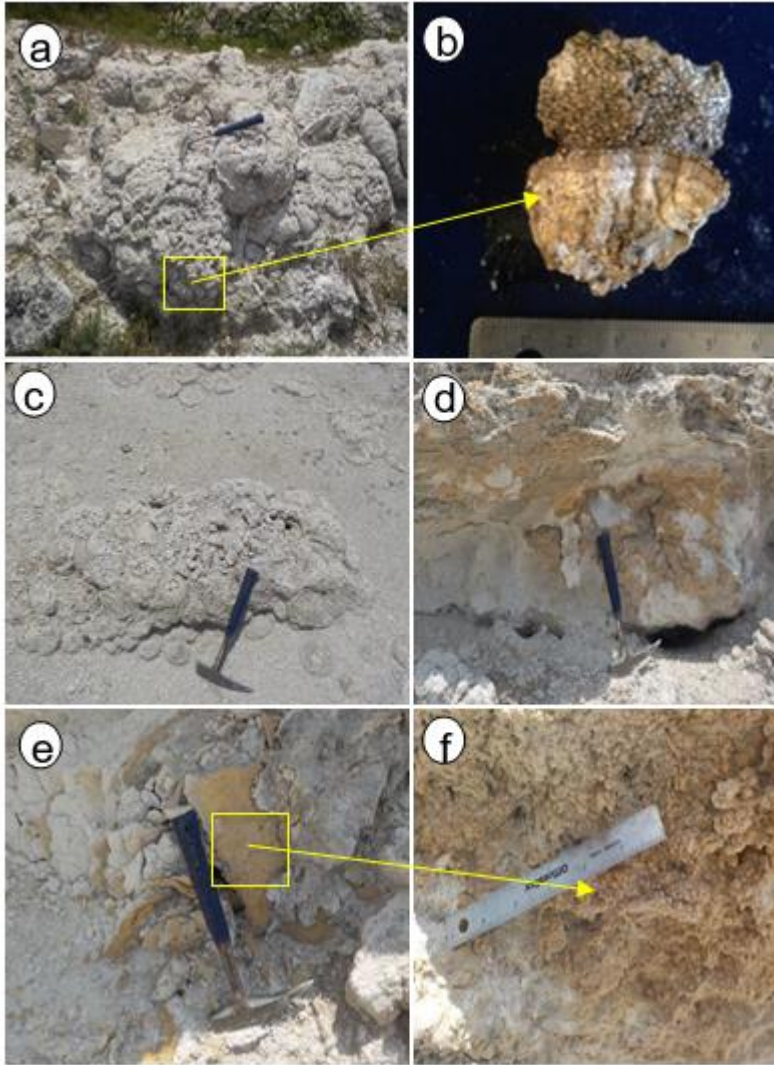


Figura 5.17

Sitio 26:

(a), (c), Biohermas no cortados por una falla, no se observa aragonita a simple vista.

(b) Muestra de mano de biohermas, se puede observar una mesoestructura laminar.

Sitio 27:

(d), (e), (f) Biohermas ubicados en la falla anular del cráter, se observa aragonita de color marrón.

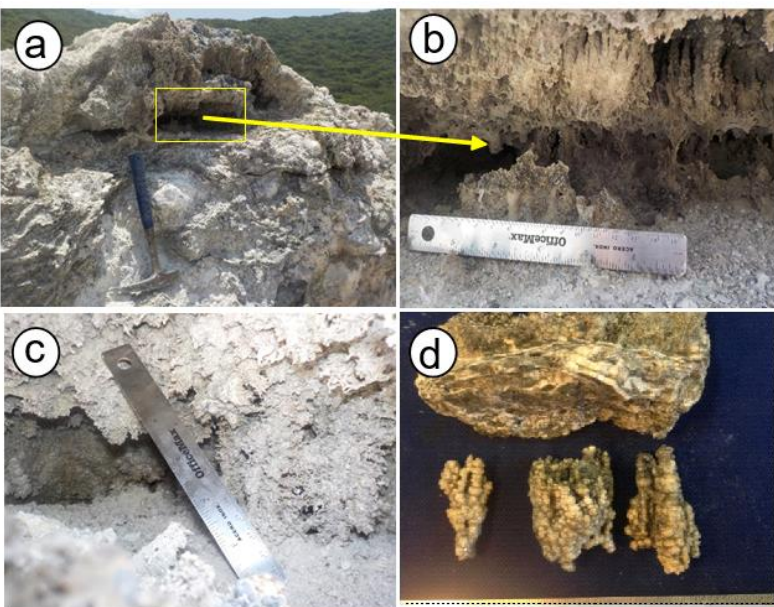


Figura 5.18

Sitio 28:

(a), (b), (c) Bioherma cortado por la falla anular del cráter, se observa una estructura domica con cavidades dentro de las cuales hay aragonita con estructura tubular.

(d) Muestra de mano.

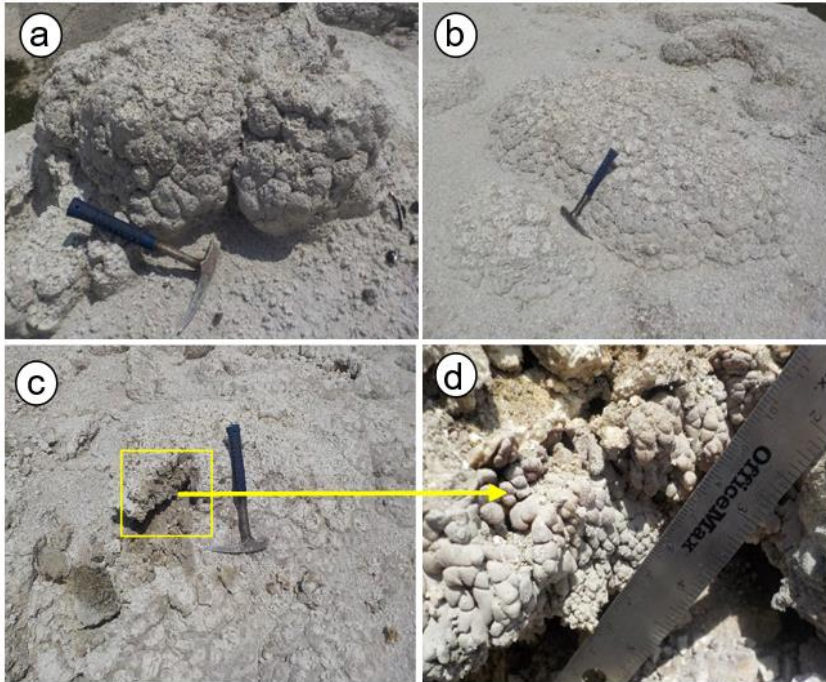


Figura 5.19

Sitio 29 y 30:

(a), (b) Biohermas no cortados por la falla anular del cráter, no se observa aragonita a simple vista.

Sitio 31:

(c) Bioherma no cortado por falla.
 (d) En su interior se observa aragonita con estructura globular.

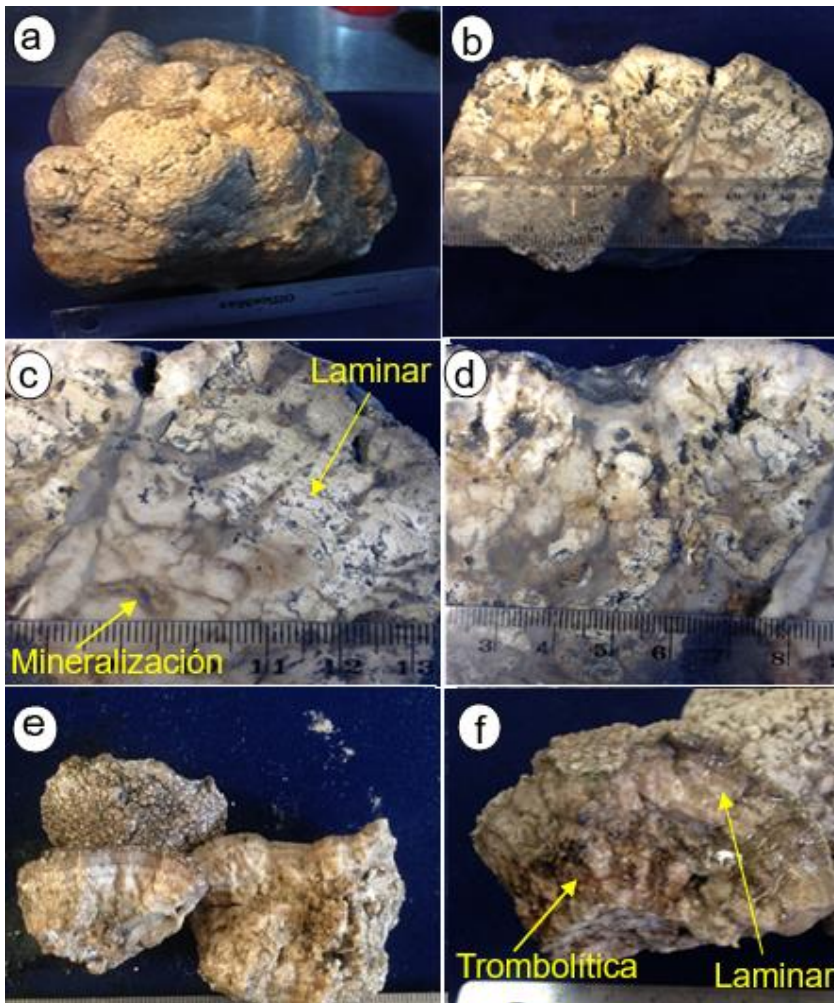


Figura 5.20

Mesoestructura de biohermas.

(a) Muestra de mano, dimensiones 13 cm x 10 cm.

(b) Muestra cortada y pulida.

(c), (d) Acercamiento, se puede observar dos mesoestructuras. En la parte superior se observa una estructura laminar y en la inferior una estructura trombolítica. Dentro de la mesoestructura trombolítica se observan canales con aragonita.

(e), (f) Pequeñas microbialitas colectadas en la parte superior de un bioherma. Dimensiones 4 cm de diámetro. Se observa una mesoestructura laminar y trombolítica.

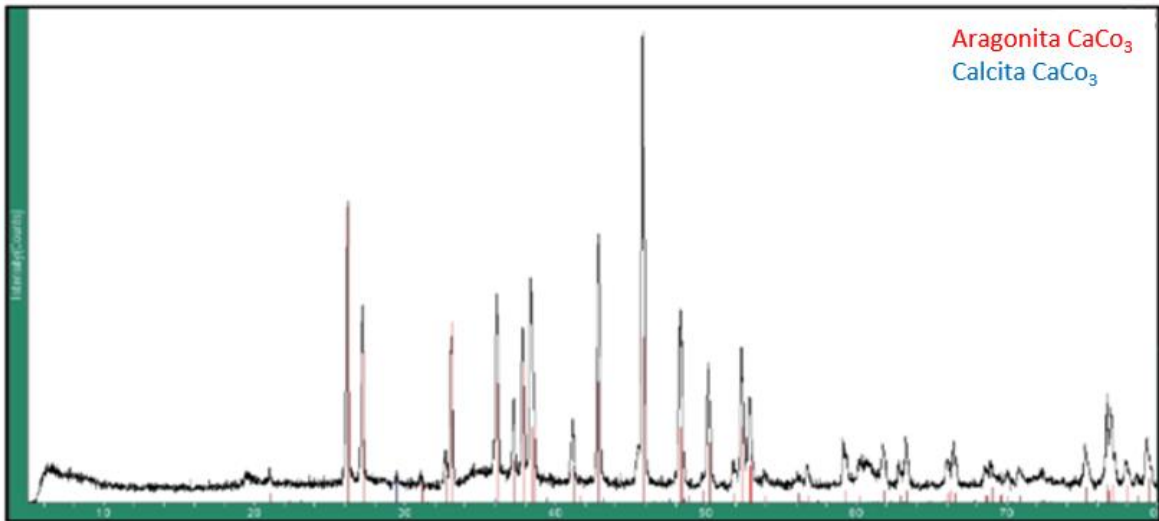


Figura 5.21 Patrón de difracción: microbialitas fósiles ubicadas en la falla anular del cráter, la muestra contiene aragonita y calcita.

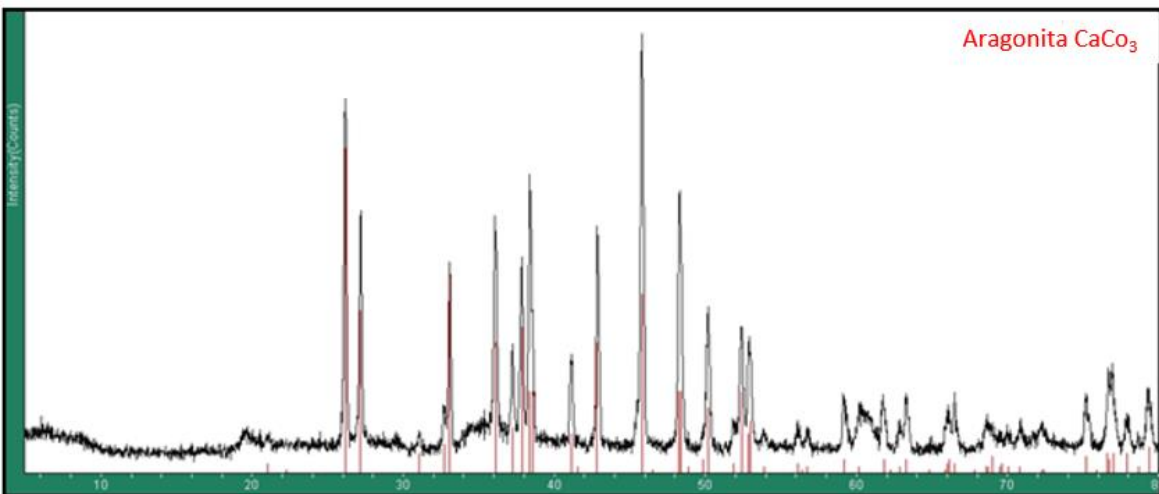


Figura 5.22 Patrón de difracción: zonas con mineral en microbialitas ubicadas en la falla anular del cráter, la muestra contiene en su totalidad aragonita.

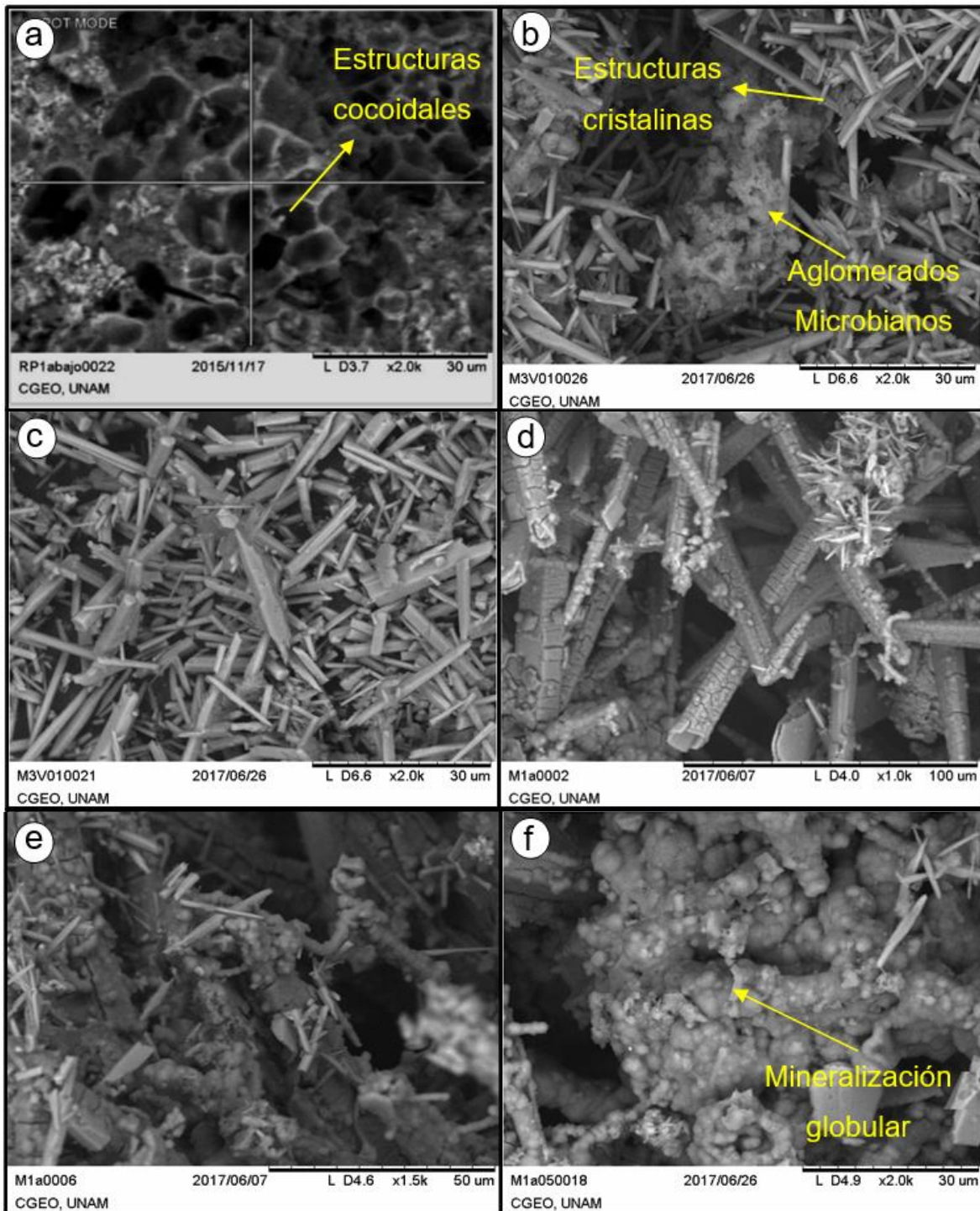


Figura 5.23 Imágenes de microscopía electrónica de barrido. (a) Muestras de microbialitas fósiles, se observan estructuras fósiles de cianobacterias cocoidales. (b), (c) Tapetes microbianos formados en las microbialitas ubicadas en falla anular del cráter, se observan estructuras cristalinas de aragonita y aglomerados de células microbianas. (d), (e), (f) Micrografías de mineral formado en las microbialitas, se observan estructuras cristalinas de aragonita y estructuras globulares.

5.1.3. Descripción de secuencias estratigráficas

A continuación, se describen las características observadas en campo, así como las propiedades fisicoquímicas obtenidas en el laboratorio para cada una de las muestras tomadas en dos secciones litológicas.

Sección litológica 1: se colectaron muestras en seis trincheras. La ubicación de las trincheras (P1, P2, P3, P4, P5 y P6) se presenta en las figuras 5.25 y 5.26.

Trinchera 1: Profundidad alrededor de 40 cm. En este sitio se encuentra la unidad de suelo orgánico la cual se distribuye en el borde del antiguo lago. Presenta una gran cantidad de raíces y algunos fragmentos de roca. Las características fisicoquímicas de la unidad de suelo orgánico pueden ser consultadas en la sección litológica 2, muestra 1A.

Trinchera 2: profundidad aproximadamente 38 cm. Se colectaron dos muestras (2A y 2B) pertenecientes a la unidad oncolítica y otra (2C) de la unidad volcánica subyacente. En este sitio la unidad oncolítica puede dividirse en dos, de acuerdo con su color y la cantidad de oncolitos. La parte superior (2A) de color marrón tiene un espesor de 11 cm con una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.83 g/cm³, densidad real 2.13 g/cm³, contenido de agua 39.25 %, pH 10 y conductividad 738 µs/cm. La parte inferior (2B) tiene un espesor de 19 cm de color marrón oscuro con una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.70 g/cm³, densidad real 2.11 g/cm³, contenido de agua 80.81%, pH 9.8 y conductividad 688.5 µs/cm. En esta trinchera se observó una secuencia de sedimentos laminados de color gris oscuro y claro, con predominancia de clastos volcánicos (muestra 2C) que forma la base de la secuencia oncolítica. Esta unidad tiene una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 1.08 g/cm³, densidad real 2.11 g/cm³, contenido de agua 79.90 %, pH 9.5 y conductividad 547 µs/cm.

Trinchera 3: aproximadamente 38 cm de profundidad. Tres muestras fueron colectadas, una correspondiente a la unidad oncolítica (3A) y dos a la unidad de sedimento laminado volcanoclástico (3B y 3C). La unidad oncolítica (muestra 3A) está representada por una secuencia de 16 cm de espesor color marrón con una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.76 g/cm³, densidad real 1.99 g/cm³, contenido de agua 49.50 %, pH 9.8 y conductividad 463.5 µs/cm. La muestra 3B colectada de una secuencia de 12 cm de espesor color negro con intercalación de color gris, presenta una granulometría limo-arenosa, densidad aparente de 1.23 g/cm³, densidad real 2.18 g/cm³, contenido de agua 63.85 %, pH 9.8 y conductividad 550.5 µs/cm. La secuencia inferior (muestra 3C) con 10 cm de espesor, color gris oscuro presenta una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 1.22 g/cm³, densidad real 2.18 g/cm³, contenido de agua 39.45 %, pH 9.8 y conductividad 462 µs/cm.

Trinchera 4: En este sitio se recolectó un bioherma de alrededor de 15 cm de espesor. Dicha muestra se utilizó para la descripción de mesoestructuras. Las propiedades fisicoquímicas no fueron medidas debido a la naturaleza de la muestra.

Trinchera 5: ubicada en el escarpe de falla anular del cráter. En esta zona se observa el mayor desarrollo de estructuras órgano-sedimentarias dentro del cráter. Se colectaron dos muestras correspondientes a la unidad oncolítica (5A y 5B) y otra a la unidad de sedimento laminado volcanoclástico (5C). La unidad oncolítica puede dividirse en dos de acuerdo con su color, así como la presencia o ausencia de biohermas. La secuencia superior de aproximadamente 102 cm de espesor color beige (muestra 5A) presenta desarrollo de biohermas, dicha secuencia tiene una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.95 g/cm³, densidad real 2.09 g/cm³, contenido de agua 19.65 %, pH 10.1 y conductividad 722.5 µs/cm. La secuencia subyacente (muestra 5B) de color beige con aproximadamente 110 cm de espesor, presenta una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.97 g/cm³, densidad real 2.15 g/cm³, contenido de agua 16.38 %, pH 10.8 y conductividad 464.5 µs/cm. La unidad de sedimento laminado volcanoclástico (muestra 5C) de 70 cm color gris oscuro presenta granulometría areno-limosa, densidad aparente de 1.03 g/cm³, densidad real 2.18 g/cm³, contenido de agua 14.11 %, pH 10.4 y conductividad 1008 µs/cm. En esta unidad se observó el desarrollo de biohermas con una estructura columnar los cuales no son representativos de la sección litológica.

Trinchera 6: aproximadamente 5 metros de profundidad. Ubicada en el centro del cráter donde se encuentran los sedimentos del antiguo lago. Dos muestras fueron colectadas. La muestra 6A corresponde a una secuencia de 120 cm de profundidad representada por sedimentos finos laminares de carbonatos de color beige y marrón intercalados con materia orgánica color negro. Presenta una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.63 g/cm³, densidad real 2.32 g/cm³, contenido de agua 167.12 %, pH 10.29 y conductividad 2933 µs/cm. La muestra 6B con una profundidad aproximadamente de 120 cm hasta 500 cm, contiene materia orgánica color negro con alto contenido de agua 175.95 %, granulometría areno-limosa, densidad real 2.34 g/cm³, pH 10.33 y conductividad 2759 µs/cm.

Tabla 5.1 Valores fisicoquímicos de las muestras para sección litológica 1.

Muestra	Granulometría	Densidad Aparente (g/cm ³)	Densidad real (g/cm ³)	Agua gravimétrica (%)	pH	Conductividad (μ s/cm)
Unidad oncolítica						
2A	Arena-limosa	0.83	2.14	39.25	10.0	738.0
2B	Arena-limosa	0.70	2.12	80.82	9.8	688.5
3A	Arena-limosa	0.77	2.00	49.50	9.8	463.5
5A	Arena-limosa	0.96	2.10	19.65	10.1	722.5
5B	Arena-limosa	0.98	2.16	16.38	10.8	464.5
Unidad sedimento laminado volcanoclástico						
2C	Arena-limosa	1.09	2.11	79.90	9.5	547.0
3B	Limo-arenosa	1.24	2.18	63.85	9.8	550.5
3C	Arena-limosa	1.22	2.19	39.46	9.8	462.0
5C	Arena-limosa	1.03	2.19	14.11	10.4	1008.0
Unidad de sedimento fino laminar						
6A	Arena-limosa	0.63	2.32	167.12	10.29	2933
Unidad de lodo orgánico						
6B	Arena-limosa	N.M	2.34	175.95	10.33	2759

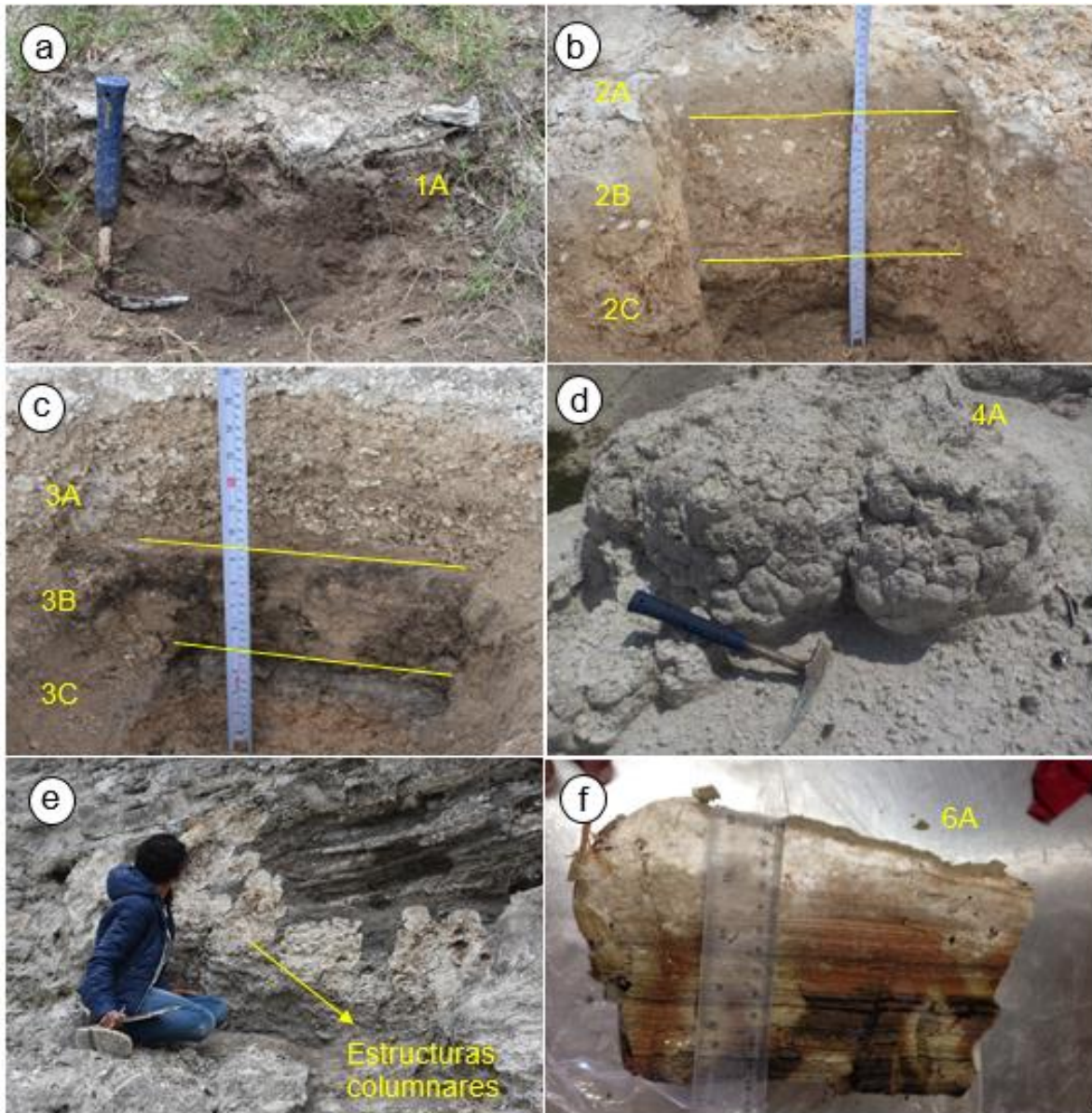


Figura 5.24 Sitios de muestreo primer sección litológica.

(a) Trinchera uno, 40 cm de profundidad. Unidad de suelo orgánico. (b) Trinchera dos, 38 cm de profundidad. Corresponde a la unidad oncolítica. (c) Tercer sitio de muestreo profundidad 38 cm. Muestra 3A corresponde a la unidad oncolítica, muestra 3B y 3C corresponden a la unidad de sedimento volcanoclástico. (d) Bioherma de alrededor de 15 cm de espesor. (e) Quinto sitio de muestreo, unidad de sedimento laminado volcanoclástico se pueden observar estructuras columnares desarrolladas en esta unidad. (f) Muestra 6A espesor 38 cm, sedimentos finos laminados colectados en el centro del cráter.

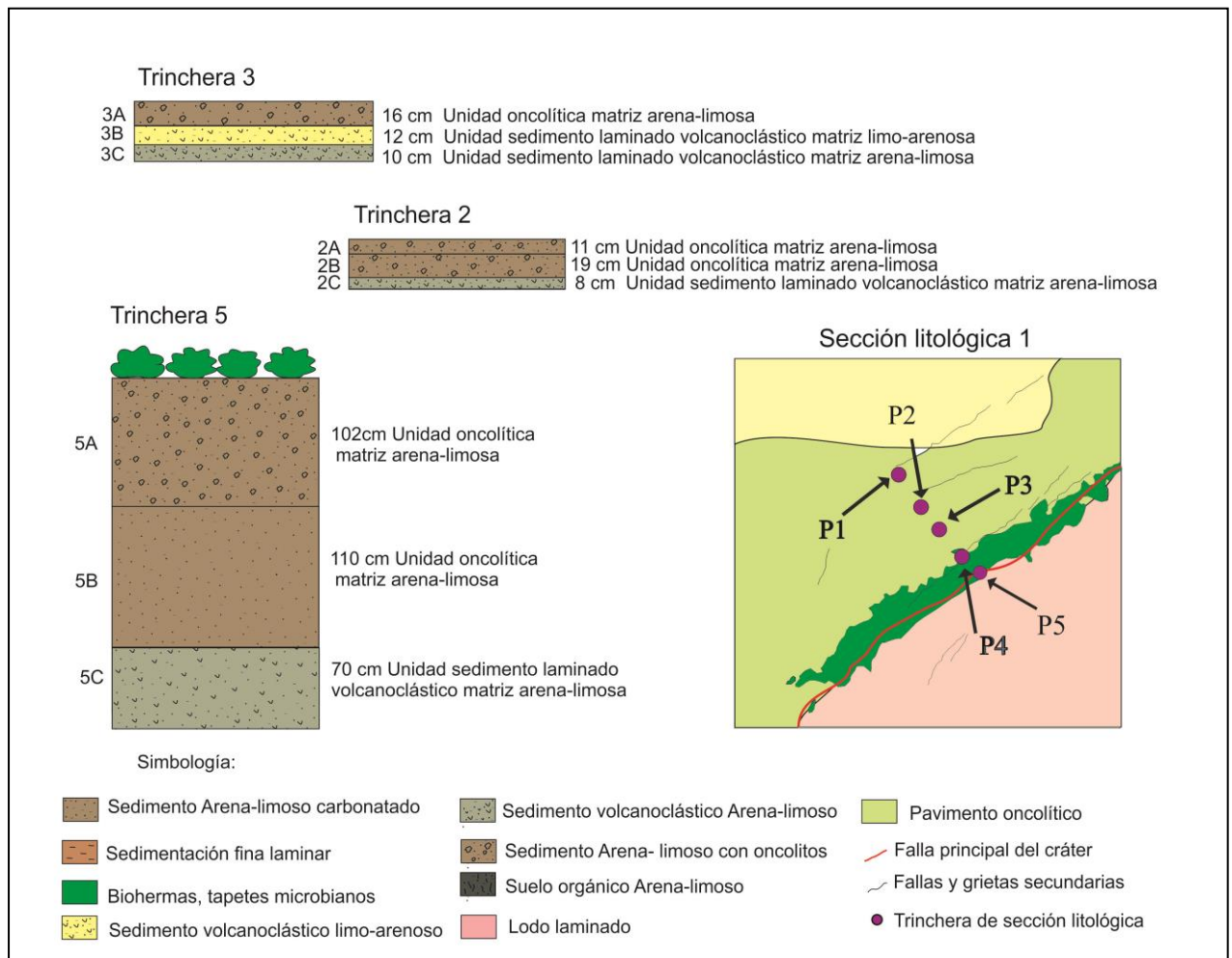


Figura 5.25 Secuencias estratigráficas ubicadas en las zonas de trinchera de la sección litológica 1.

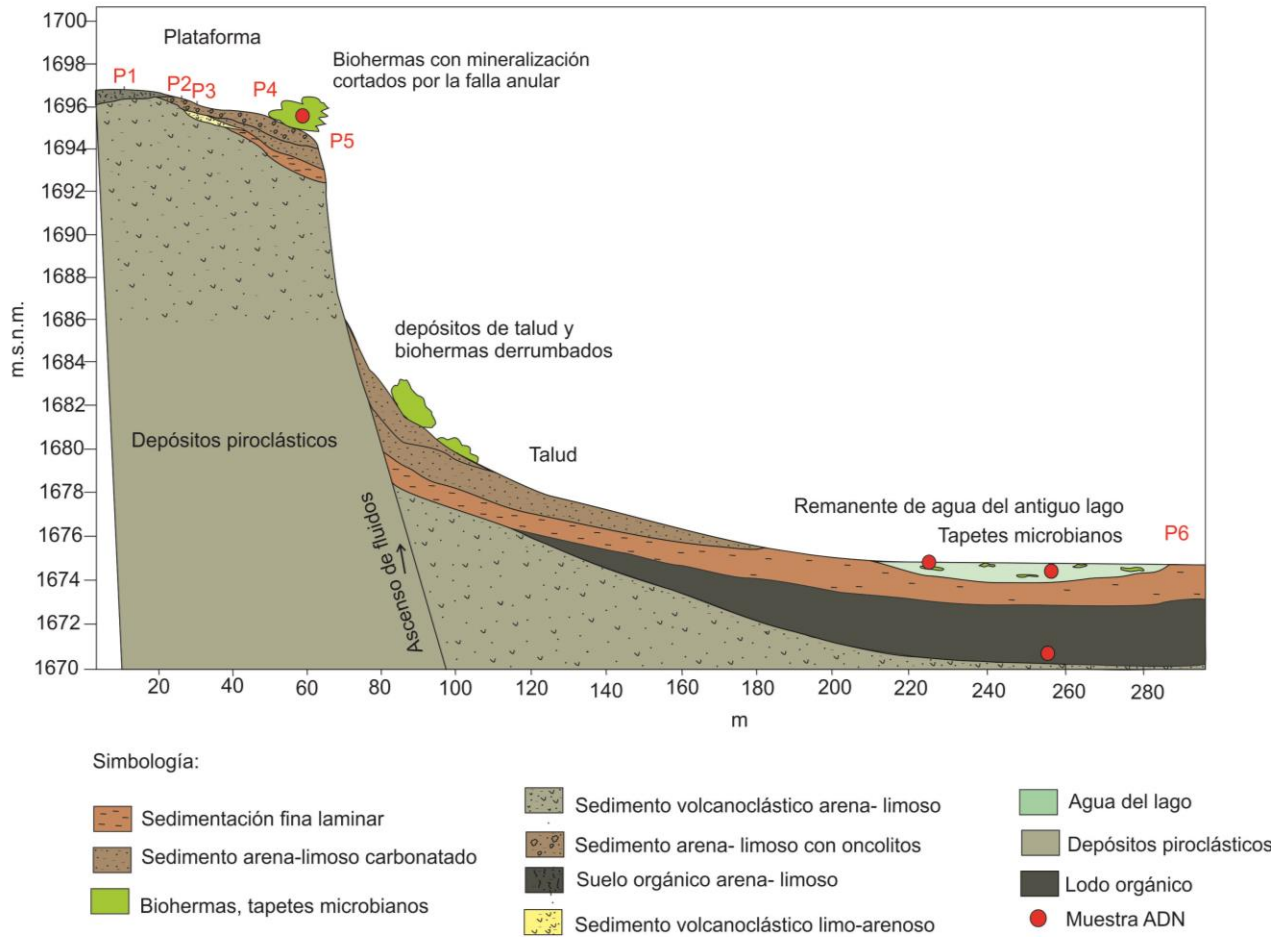
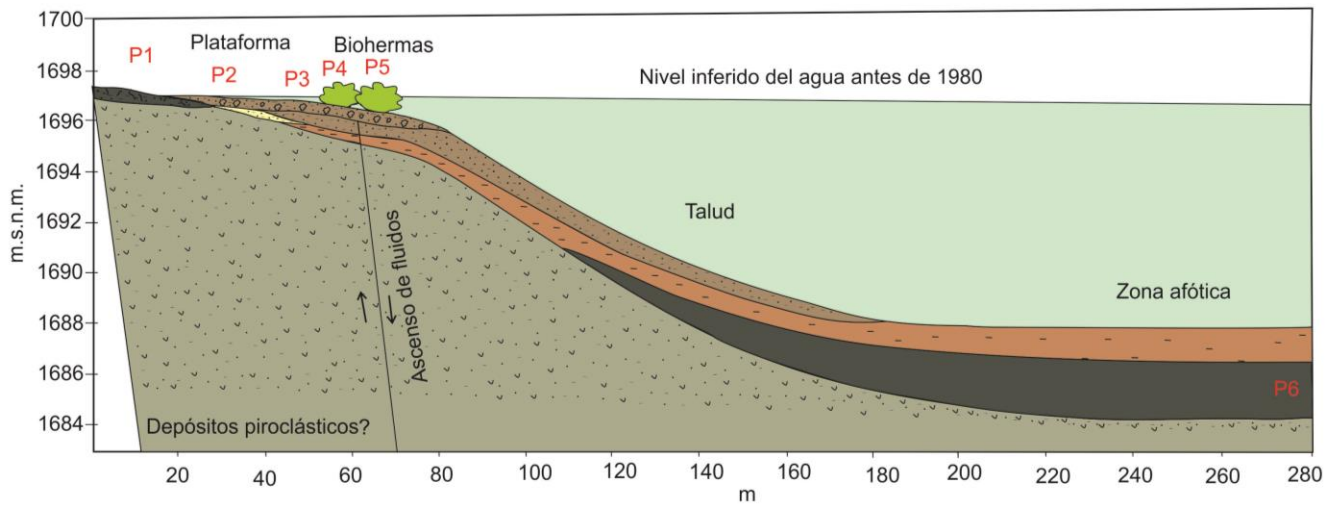


Figura 5.26 Reconstrucción de sección litológica 1 (en la actualidad) basado en las secuencias estratigráficas.



Simbología:

- | | |
|--|--|
|  Depósitos piroclásticos |  Agua del lago |
|  Sedimento Arena-limoso carbonatado |  Sedimento volcanoclástico Arena-limoso |
|  Sedimentación fina laminar |  Sedimento Arena- limoso con oncolitos |
|  Biohermas, tapetes microbianos |  Suelo orgánico Arena- limoso |
|  Lodo orgánico |  Sedimento volcanoclástico limo-arenoso |

Figura 5.27 Reconstrucción de sección litológica 1 (antes de 1980) basado en secuencias estratigráficas.

Sección litológica 2: se colectaron muestras en cinco trincheras. La ubicación de las trincheras (P1, P2, P3, P4 y P5) se presenta en la figura 5.29 y 5.30.

Trinchera 1: profundidad aproximada 30 cm. Se colectó una muestra de suelo orgánico (1A) color negro con una gran cantidad de raíces y fragmentos de roca, presenta una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 1.10 g/cm³, densidad real 2.63 g/cm³, contenido de agua 14.10%, pH 9 y conductividad 279 µs/cm.

Trinchera 2: profundidad aproximada 42 cm. Se colectaron dos muestras, una correspondiente a la unidad de suelo orgánico (2A) y otra a la unidad oncolítica (2B). La muestra 2A correspondiente a la unidad de suelo orgánico (espesor de 12 cm) presenta una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.86 g/cm³, densidad real 2.29 g/cm³, contenido de agua 31.01%, pH 9.4 y conductividad 548 µs/cm. La unidad oncolítica representada por una secuencia de 20 cm de espesor color marrón, tiene una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.87 g/cm³, densidad real 2.28 g/cm³, contenido de agua 46.69%, pH 9.4 y conductividad 529 µs/cm.

Trinchera 3: En este sitio se encuentra una falla geológica, de aproximadamente 1m de altura, lo cual permitió la toma de muestras y la descripción de las secuencias. Cinco muestras fueron colectadas, cuatro corresponden a la unidad oncolítica (3A, 3B, 3C y 3D) y una a la unidad de sedimento laminado volcanoclástico (3E). La secuencia superior en la unidad oncolítica (muestra 3A) con 14 cm de espesor, color marrón, presenta una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.88 g/cm³, densidad real 2.40 g/cm³, contenido de agua 37.42%, pH 9.4 y conductividad 485 µs/cm. La secuencia subyacente de color beige con aproximadamente 13 cm de espesor (muestra 3B) tiene una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.64 g/cm³, densidad real 2.34 g/cm³, contenido de agua 51.68%, pH 9.2 y conductividad 354.5 µs/cm. La siguiente secuencia (muestra 3C) de aproximadamente 21 cm de espesor, color beige y zonas gris, presenta una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.80 g/cm³, densidad real 2.42 g/cm³, contenido de agua 40.14%, pH 9.7 y conductividad 629 µs/cm. La secuencia inferior de la unidad oncolítica (muestra 3D) con un espesor de 15 cm color marrón y negro tiene una granulometría limo-arenosa, densidad aparente de 0.62 g/cm³, densidad real 2.09 g/cm³, contenido de agua 51.03%, pH 9.1 y conductividad 1644 µs/cm. La secuencia que corresponde a la unidad de sedimento laminado volcanoclástico (muestra 3E) con un espesor de 45 cm color gris oscuro tiene una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.83 g/cm³, densidad real 2.29 g/cm³, contenido de agua 49.78%, pH 9.3 y conductividad 886 µs/cm.

Trinchera 4: en este sitio se encuentra una falla geológica de aproximadamente 4.5 metros. Lo que facilitó la toma de muestras y descripción de las secuencias estratigráficas. Se colectaron cuatro muestras, tres correspondientes a la unidad oncolítica (4A, 4B y 4C) y una a la unidad de sedimento laminado volcanoclástico (4D). La unidad oncolítica se puede dividir en tres. La secuencia superior (muestra 4A) con aproximadamente 70 cm de espesor color marrón, presenta una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.57 g/cm³, densidad real 2.40 g/cm³, contenido de agua 85.25%, pH 9.8 y conductividad 1096.5 µs/cm. La secuencia media (muestra 3B) color beige, con un espesor de 160 cm tiene una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.90 g/cm³, densidad real 2.44 g/cm³, contenido de agua 108.71%, pH 9.6 y conductividad 1581.5 µs/cm. La secuencia inferior en la unidad oncolítica (muestra 4C) con 30 cm de color marrón tiene una granulometría limo-arenosa, densidad aparente de 0.68 g/cm³, densidad real 2.52 g/cm³, contenido de agua 51.46%, pH 9.4 y conductividad 2213.5 µs/cm. La secuencia correspondiente a la unidad de sedimento laminado volcanoclástico (muestra 4D) con 120 cm de espesor, color gris oscuro tiene una granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.94 g/cm³, densidad real 2.52 g/cm³, contenido de agua 35.55%, pH 9.0 y conductividad 2815 µs/cm.

Trinchera 5: ubicada en la falla anular del cráter, en esta zona se encuentran las estructuras órgano-sedimentarias con mayor desarrollo dentro del cráter. Se colectaron tres muestras correspondientes a la unidad oncolítica (5A, 5B y 5C) y una a la unidad de sedimento laminado volcanoclástico (muestra 5D). En esta zona la unidad oncolítica se convierte en una secuencia de desarrollo de biohermas en la parte superior y biostromos en la secuencia subyacente, finalizando con secuencias de carbonatos. La secuencia de biohermas (muestra 5A) con un espesor de alrededor de 30 cm color beige, presenta granulometría areno-limosa, densidad aparente de 0.69 g/cm³, densidad real 2.52 g/cm³, contenido de agua 60.44%, pH 9.5 y conductividad 322 µs/cm. La secuencia de biostromo (muestra 5B) color marrón oscuro con alrededor de 40 cm de espesor, presenta zonas de mineralización, se puede observar a simple vista la presencia de colonias de microorganismos. Su granulometría es areno-limosa, densidad aparente de 0.83 g/cm³, densidad real 2.62 g/cm³, contenido de agua 44.94%, pH 10.1 y conductividad 556 µs/cm. La secuencia subyacente (muestra 5C) de 70 cm de espesor color beige presenta una granulometría arena-limosa, densidad aparente de 0.78 g/cm³, densidad real 2.58 g/cm³, contenido de agua 41.66%, pH 9.9 y conductividad 385 µs/cm. Por último, la unidad oncolítica está representada por una secuencia marrón oscuro de 70 cm de espesor (muestra 5D), presenta una granulometría limo-arenosa, densidad aparente de 0.74 g/cm³, densidad real 2.33 g/cm³, contenido de agua 112.02%, pH 8.9 y conductividad 2230.5 µs/cm.

Tabla 5.2 Valores fisicoquímicos de las muestras para sección litológica 2.

Muestra	Granulometría	Densidad Aparente (g/cm ³)	Densidad real (g/cm ³)	Agua gravimétrica (%)	pH	Conductividad (μ s/cm)
Unidad de suelo orgánico						
1A	Arena-limosa	1.11	2.63	14.11	9	279
2A	Arena-limosa	0.86	2.30	31.01	9.4	548
Unidad Oncolítica						
2B	Arena-limosa	0.87	2.29	46.69	9.45	529
3A	Arena-limosa	0.88	2.41	37.43	9.4	485
3B	Arena-limosa	0.65	2.34	51.68	9.2	354.5
3C	Arena-limosa	0.80	2.42	40.14	9.7	629
3D	Limo-arenosa	0.62	2.10	51.03	9.15	1644
4A	Arena-limosa	0.58	2.40	85.25	9.8	1096.5
4B	Arena-limosa	0.90	2.44	108.72	9.6	1581.5
4C	Limo-arenosa	0.69	2.52	51.47	9.45	2213.5
5A	Arena-limosa	0.69	2.53	60.44	9.5	322
5B	Arena-limosa	0.83	2.62	44.95	10.15	556
5C	Arena-limosa	0.78	2.59	41.67	9.9	385
5D	Limo-arenosa	0.74	2.34	112.03	8.9	2230.5
Unidad sedimento laminado volcanoclástico						
3E	Arena-limosa	0.84	2.29	49.78	9.3	886
4D	Arena-limosa	0.95	2.53	35.55	9.05	2815

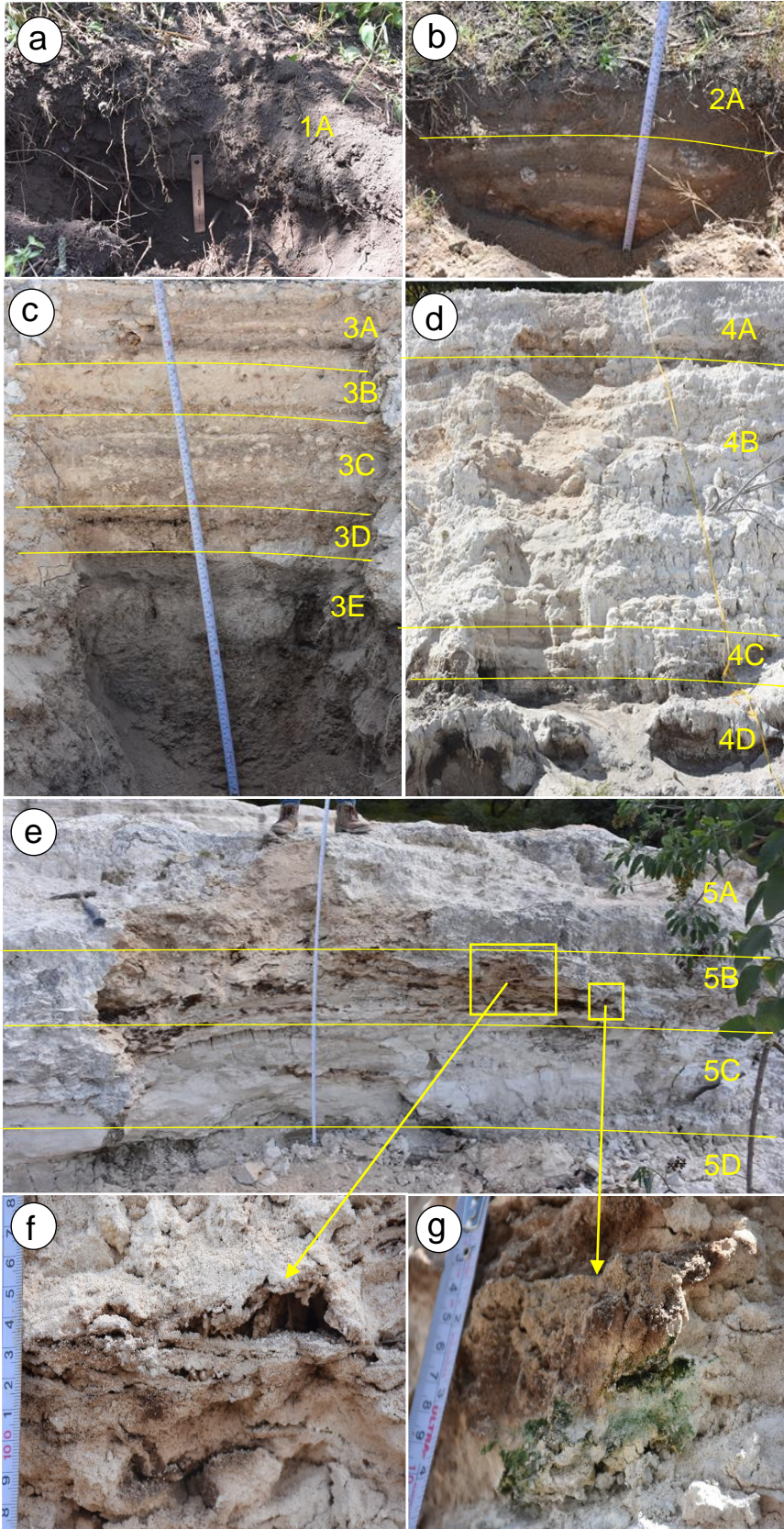


Figura 5.28

Sitios de muestreo segunda sección litológica.

(a) Primer trinchera profundidad 30 cm. Unidad de suelo orgánico.

(b) Segunda trinchera. profundidad 42 cm.

(c) Tercera trinchera, falla geológica, de aproximadamente 1 metro de altura.

(d) Cuarta trinchera, falla geológica de aproximadamente 4.5 metros.

(e) Quinta trinchera falla anular del cráter.

(f), (g) Quinta trinchera, la secuencia de biostromo (muestra 5b) presenta mineralización y presencia de microorganismos.

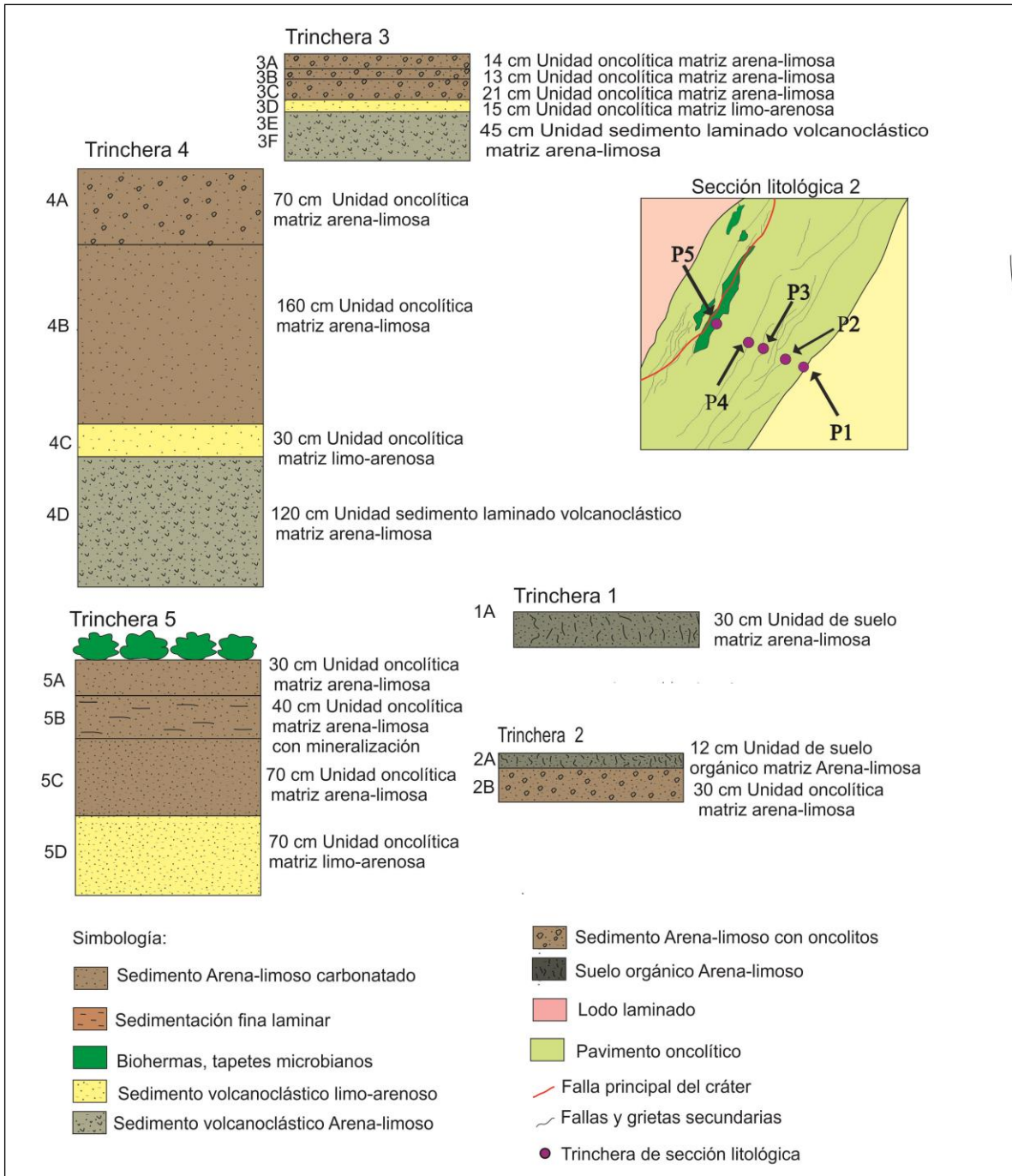
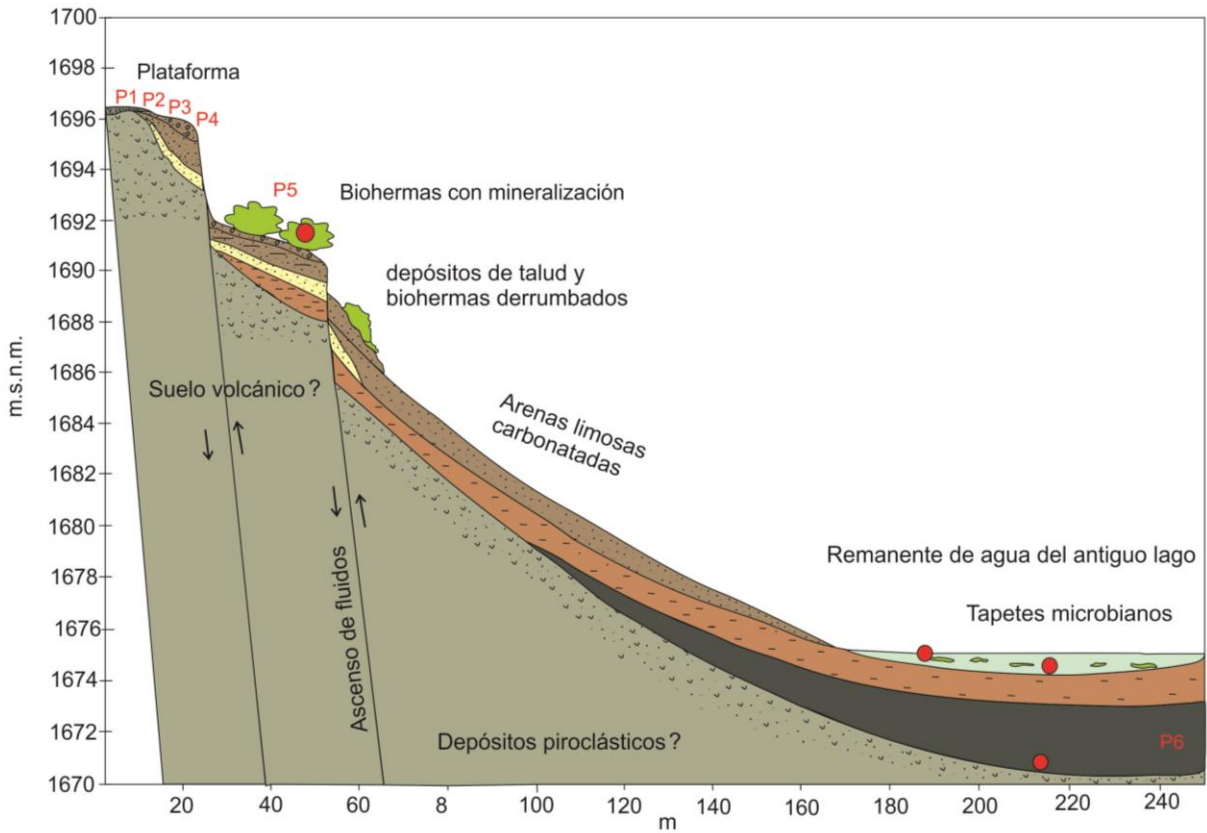


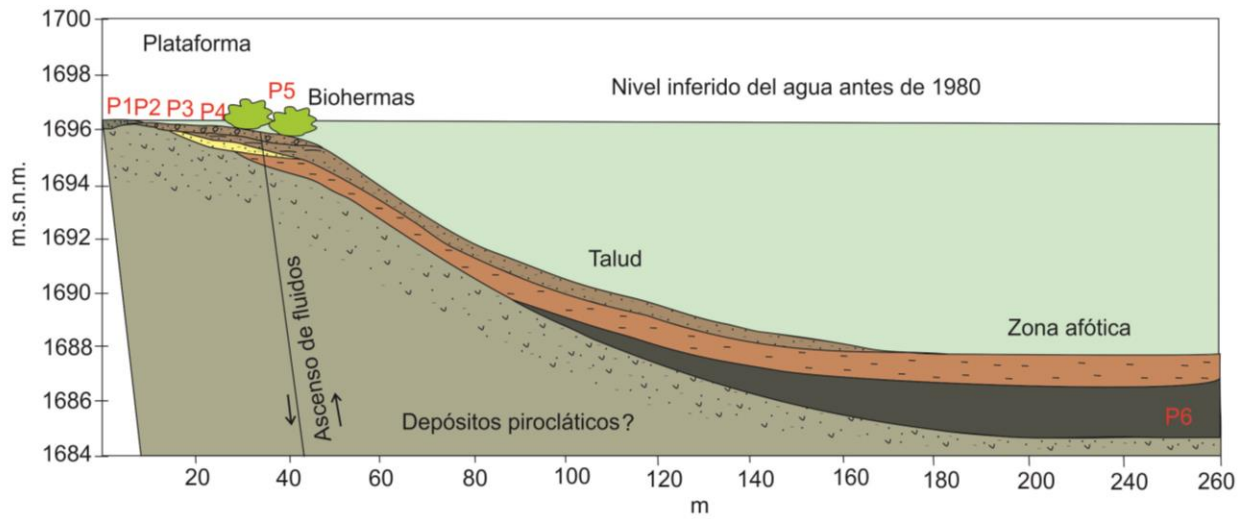
Figura 5.29 Secuencias estratigráficas ubicadas en las zonas de trinchera de la sección litológica 2.



Simbología:

	Sedimento arena-limoso carbonatado		Sedimento arena-limoso con oncolitos		Agua del lago
	Sedimentación fina laminar		Suelo orgánico arena-limoso		Depósitos piroclásticos
	Sedimento volcanoclástico arena-limoso		Sedimento limo-arenoso		Sedimentación fina laminar
	Sedimento arena-limoso con mineralización		Biohermas, tapetes microbianos		Muestra ADN

Figura 5.30 Reconstrucción de sección litológica 2 (en la actualidad) en base a secuencias estratigráficas.



Simbología:

- | | | | | | |
|--|---|--|---------------------------------------|--|--------------------------------|
| | Sedimento arena-limoso carbonatado | | Sedimento arena- limoso con oncolitos | | Biohermas, tapetes microbianos |
| | Sedimentación fina laminar | | Suelo orgánico arena-limoso | | Agua del lago |
| | Sedimento volcanoclástico arena-limoso | | Sedimento limo-arenoso | | Depósitos piroclásticos |
| | Sedimento arena-limoso con mineralización | | Lodo orgánico | | |

Figura 5.31 Reconstrucción de sección litológica 2 (antes de 1980) en base a secuencias estratigráficas.

5.2. Aspectos biológicos de las comunidades microbianas en el cráter del *maar* Rincón de Parangueo Guanajuato, México.

5.2.1 Cuantificación de ADN

En la tabla 5.3 se muestran las concentraciones obtenidas para cada muestra, así como su relación 260/280. El mayor rendimiento se observó para JSS01 de la cual se obtuvieron 100 ng de ADN por gramo de muestra procesado, el menor rendimiento se obtuvo para JSS09 con 0.55 ng de ADN por gramo.

Tabla 5.3 Concentración y grado de pureza obtenidas para cada muestra.

CUANTIFICACIÓN ADN			
MUESTRA	Concentración (ng/ μ l)	ADN total (ng)	Relación 260/280
JSS01 (Microbialita)	61.62	3005.22	1.82
JSS02 (Microbialita)	55.21	2650.25	1.79
JSS03 (Microbialita)	16.29	781.88	1.73
JSS04 (Tapete microbiano)	51.01	2448.41	1.88
JSS05 (Tapete microbiano)	30.43	1460.68	1.88
JSS06 (Tapete microbiano)	47.24	2267.73	1.87
JSS07 (Sedimentos)	0.80	22.33	1.67
JSS08 (Sedimentos)	1.16	32.41	1.75
JSS09 (Sedimentos)	0.60	16.67	1.65
JSS10 (Agua)	11.85	568.85	1.80
JSS11 (Agua)	17.19	824.88	1.87
JSS12 (Agua)	14.65	703.14	1.94
JSS13 (Microbialita)	16.66	749.70	1.72
JSS14 (Microbialita)	37.79	1700.55	1.79

5.2.2 Análisis de datos metagenómicos

La secuenciación arrojó distintas gráficas a diferentes niveles taxonómicos. En las siguientes gráficas se observa la abundancia a nivel fila en cada una de las muestras.

5.2.2.1 Muestras de estromatolito:

JSS01: El 95% de las secuencias totales (9764) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 5% restante no pudo ser identificado en la base de datos. El filo más abundante es Proteobacteria (43%), seguido de Cyanobacteria (34%). Se encontraron además Actinobacteria (3%), Bacteroidetes (3%), Planctomycetes (1%), Firmicutes (0.6%), Deinococcus-Thermus (0.1%), Verrucomicrobia (0.08%) y Chloroflexi (0.02%) figura 5.32. El 13% de las secuencias pertenecientes a Bacteria corresponden a fila no clasificados.

JSS02: El 95% de las secuencias totales (22483) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 5% restante no pudo ser identificado en la base de datos. El filo más abundante es Cyanobacteria (47%), seguido de Proteobacteria (40%). En menores proporciones se encontraron Bacteroidetes (2%), Chloroflexi (2%), Actinobacteria (0.5%), Planctomycetes (0.2%), Deinococcus-Thermus (0.2%), Verrucomicrobia (0.02%) Firmicutes (0.1%) y Nitrospirae (0.009%) figura 5.33. El 5% de las secuencias perteneciente a Bacteria no pudieron ser clasificadas.

JSS03: El 94% de las secuencias totales (27916) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 6% restante no pudo ser identificado en la base de datos. El filo más abundante no fue clasificado (47%). En menores proporciones fueron identificados Cyanobacteria (24%), Proteobacteria (22%), Actinobacteria (2%), Bacteroidetes (1%), Planctomycetes (1%), Firmicutes (0.3%), Deinococcus-Thermus (0.09%), Verrucomicrobia (0.05%), Chloroflexi (0.01%), Acidobacteria (0.01%) y Spirochaetes (0.007%) figura 5.34.

JSS13: El 92% de las secuencias totales (14449) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 8% restante no pudo ser identificado en la base de datos. Se identificaron fila como Proteobacteria (53%), Cyanobacteria (27%), Bacteroidetes (5%), Actinobacteria (4%), Planctomycetes (0.6%), Firmicutes (0.3%), Verrucomicrobia (0.2%), Chloroflexi (0.2%), Spirochaetes (0.2%) y Nitrospirae (0.03%) figura 5.35. Dentro de las secuencias pertenecientes a Bacteria el 6% no pudo ser clasificado.

JSS14: El 90% de las secuencias totales (8909) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 10% restante de las secuencias no pudo ser identificado en la base de datos. El filo más abundante fue Proteobacteria (38%), seguido de Cyanobacteria (16%), Actinobacteria (13%),

Bacteroidetes (9%), Planctomycetes (2%), Firmicutes (0.1%), Acidobacteria (0.9%), Verrucomicrobia (0.5%), Chloroflexi (0.4%), Nitrospirae (0.3%), Deinococcus-Thermus (0.3%) y Spirochaetes (0.2%) figura 5.36. Dentro de las secuencias pertenecientes a Bacteria el 6% no pudo ser clasificado.

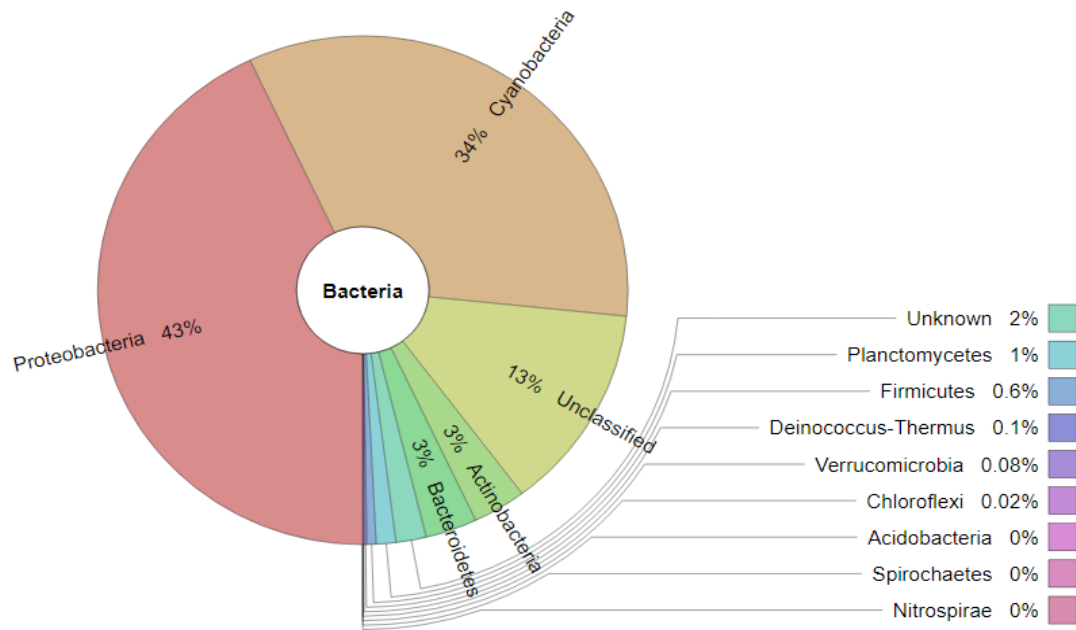


Figura 5.32 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS01, el más representado en la muestra es Proteobacteria, en menor proporción de todos se encuentra Chloroflexi.

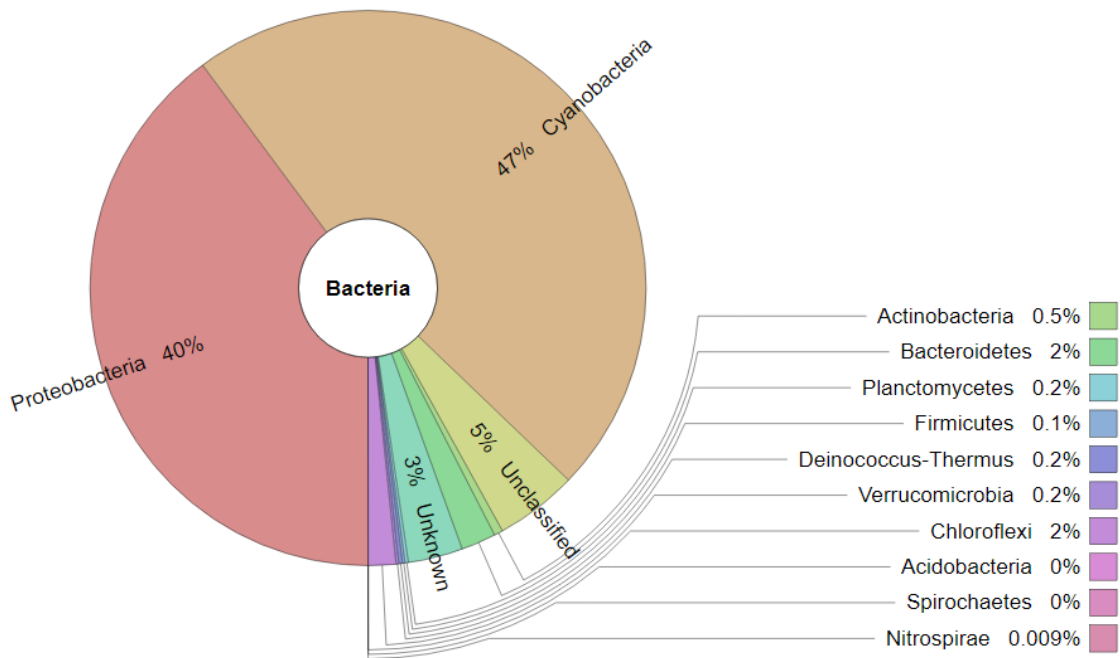


Figura 5.33 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS02, se observa en mayor proporción Cyanobacteria y en menor Nitrospirae.

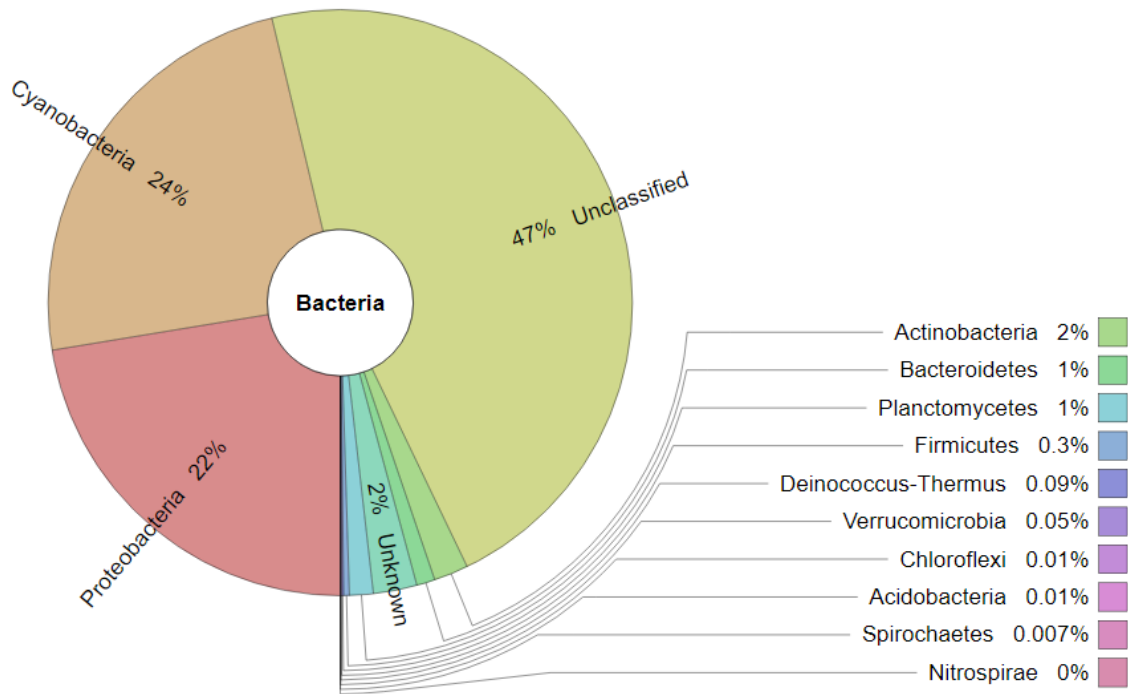


Figura 5.34 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS03, se encontró una mayor proporción para Cyanobacteria y en menor Spirochaetes.

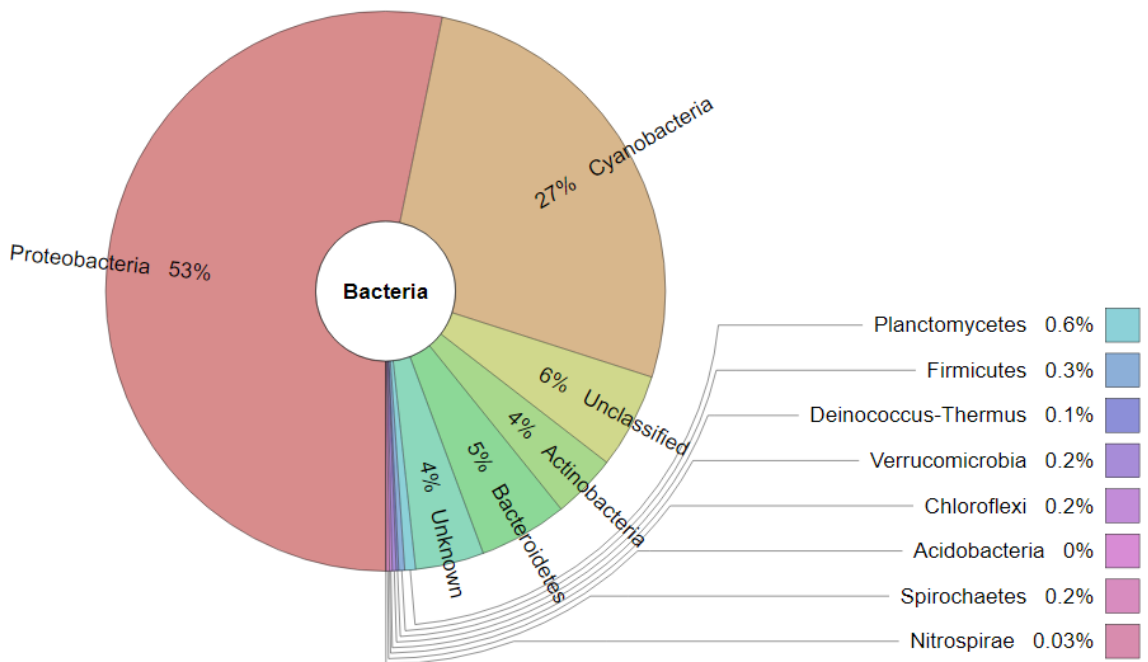


Figura 5.35 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS13, en mayor abundancia se encontró Proteobacteria, en menor Nitrospirae.

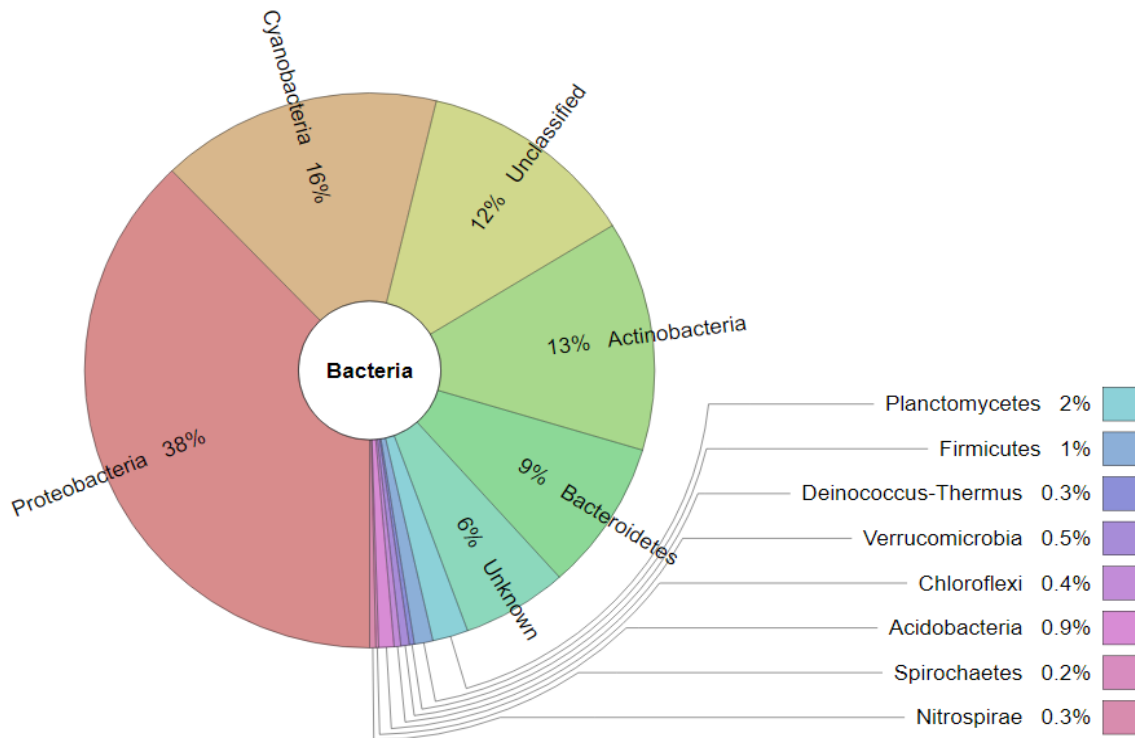


Figura 5.36 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS14, el más representado es Proteobacteria, y el menos Spirochaetes.

5.2.2.2 Muestras de Tapete microbiano:

JSS04: El 97% de las secuencias totales (7047) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 3% restante no pudo ser identificado en la base de datos. Dentro de los fila clasificados se encontró en mayor proporción Cyanobacteria (68%) y Proteobacteria (16%), y en menor Planctomycetes (2%), Bacteroidetes (1%), Chloroflexi (0.2%), Spirochaetes (0.09%), Deinococcus-Thermus (0.07%) y Verrucomicrobia (0.03%) figura 5.37. Dentro de las secuencias pertenecientes al dominio Bacteria el 3% no pudo ser clasificado.

JSS05: El 96% de las secuencias totales (12123) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 4% restante de las secuencias no pudo ser identificado en la base de datos. Se identificó como el filo más abundante a Cyanobacteria (60%) seguido de Proteobacteria (24%). En menores proporciones Bacteroidetes (2%), Planctomycetes (0.8%), Chloroflexi (0.4%), Firmicutes (0.3%), Spirochaetes (0.1%), Actinobacteria (0.06%), Deinococcus-Thermus (0.06%) y Verrucomicrobia (0.02%) figura 5.38. El 2% de las secuencias pertenecientes a Bacteria no pudo ser clasificado.

JSS06: El 97% de las secuencias totales (9268) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 3% restante de las secuencias no pudo ser identificado en la base de datos. Se identificaron los fila Cyanobacteria (58%) en mayor abundancia, seguido de Proteobacteria (27%). En menores proporciones Bacteroidetes (1%), Planctomycetes (1%), Chloroflexi (0.3%), Spirochaetes (0.09%), Deinococcus-Thermus (0.08%) y Verrucomicrobia (0.06%) figura 5.39. El 2% de las secuencias pertenecientes al dominio Bacteria no pudieron ser clasificadas dentro de un filo.

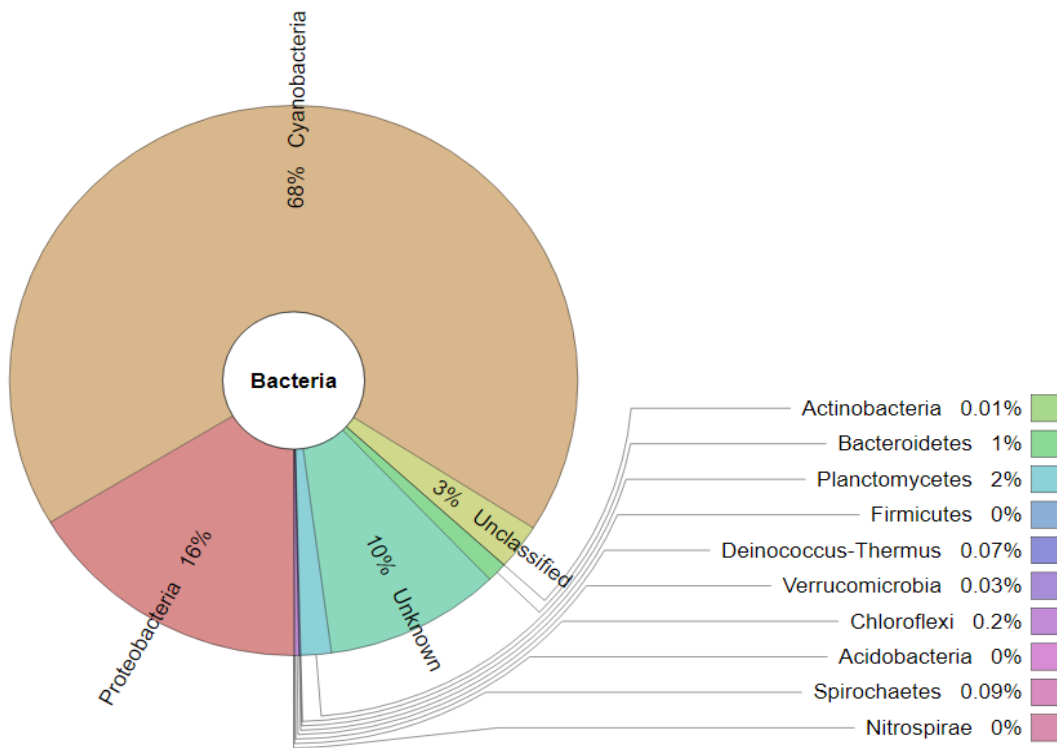


Figura 5.37 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS04, el más abundante fue Cyanobacteria y en menor proporción de todos se encontró Verrucomicrobia.

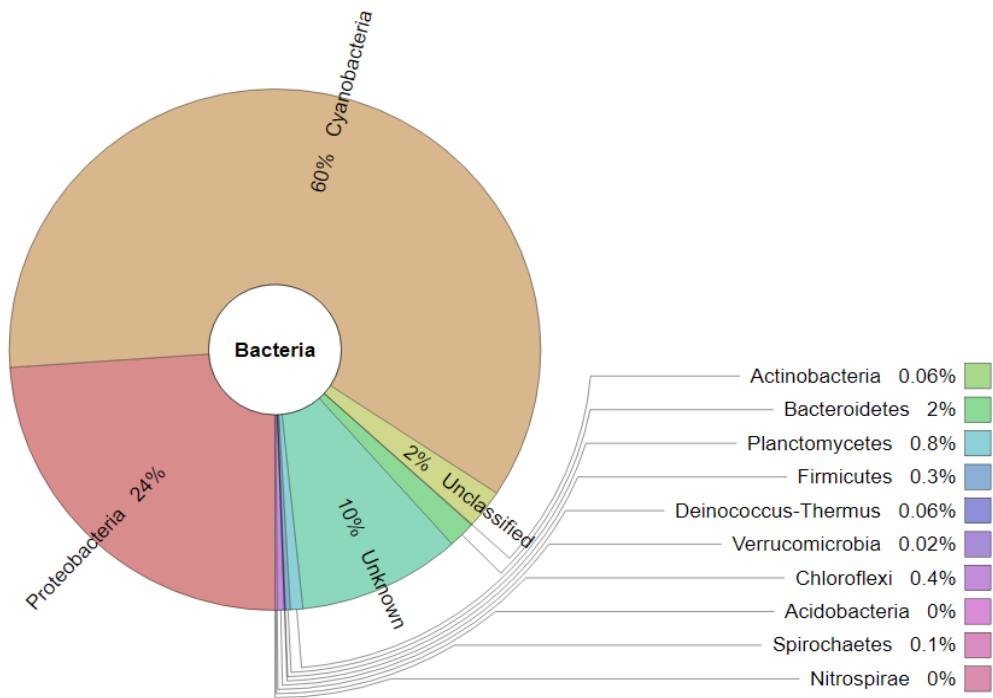


Figura 5.38 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS05, se observó en mayor abundancia Cyanobacteria y en menor Verrucomicrobia.

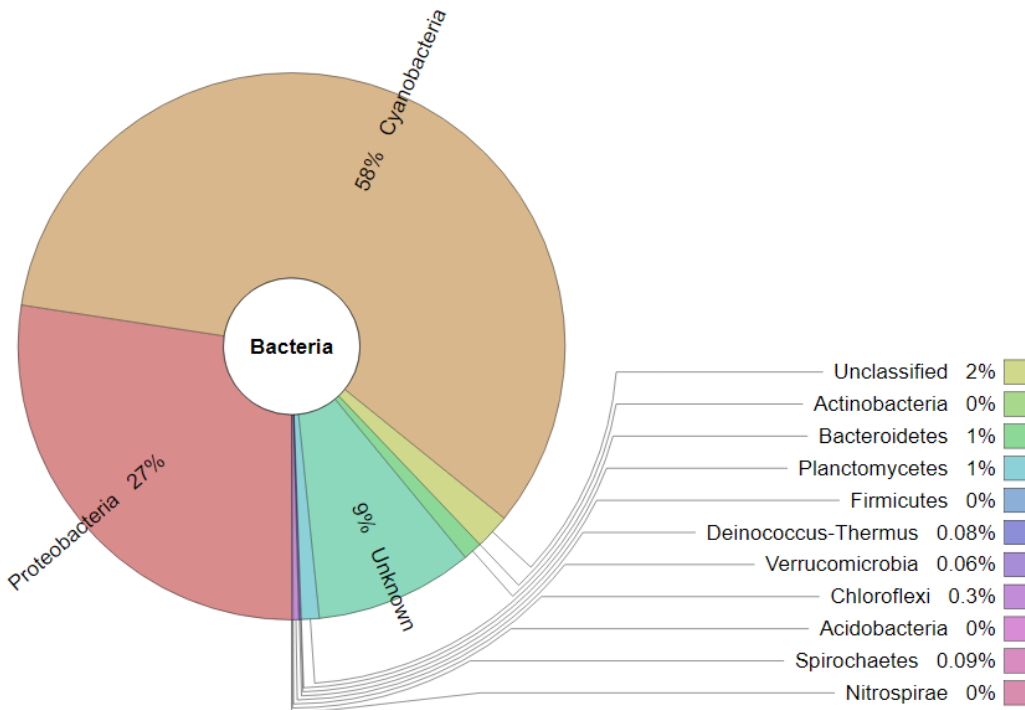


Figura 5.39 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS06, se identificó como el más abundante Cyanobacteria y el menos abundante Verrucomicrobia.

5.2.2.3 Muestras de Sedimentos de lago:

JSS07: El 93% de las secuencias totales (16816) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 7% restante no pudo ser identificado en la base de datos. Los fila más abundantes fueron Cyanobacteria (54%), Proteobacteria (17%) y Actinobacteria (15%). En menor proporción Firmicutes (2%), Chloroflexi (0.8%), Bacteroidetes (0.7%), Verrucomicrobia (0.3%), Nitrospirae (0.3%) y Planctomycetes (0.2%) figura 5.40. El 6% de las secuencias dentro del dominio Bacteria no fueron identificadas dentro de un filo.

JSS08: El 91% de las secuencias totales (6838) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 9% restante de las secuencias no pudo ser identificado en la base de datos. Los fila más abundantes en la muestra fueron Proteobacteria (21%) y Cyanobacteria (18%). En menor abundancia Actinobacteria (3%), Firmicutes (3%), Bacteroidetes (0.1%), Chloroflexi (0.1%), Planctomycetes (0.04%) y Verrucomicrobia (0.01%) figura 5.41. El 32 % de las secuencias dentro del dominio Bacteria no fueron reconocidas dentro de un filo.

JSS09: El 93% de las secuencias totales (8192) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 7% restante no pudo ser identificado en la base de datos. Los fila Cyanobacteria (40%), Firmicutes (25%) y Proteobacteria (12%) se identificaron como los más abundantes. Actinobacteria (2%), Chloroflexi (0.6%), Bacteroidetes (0.4%), Planctomycetes (0.3%) y Deinococcus-Thermus (0.04%) se encontraron en menor abundancia figura 5.42. El 15 % de las secuencias dentro del dominio Bacteria no fueron reconocidas dentro de un filo.

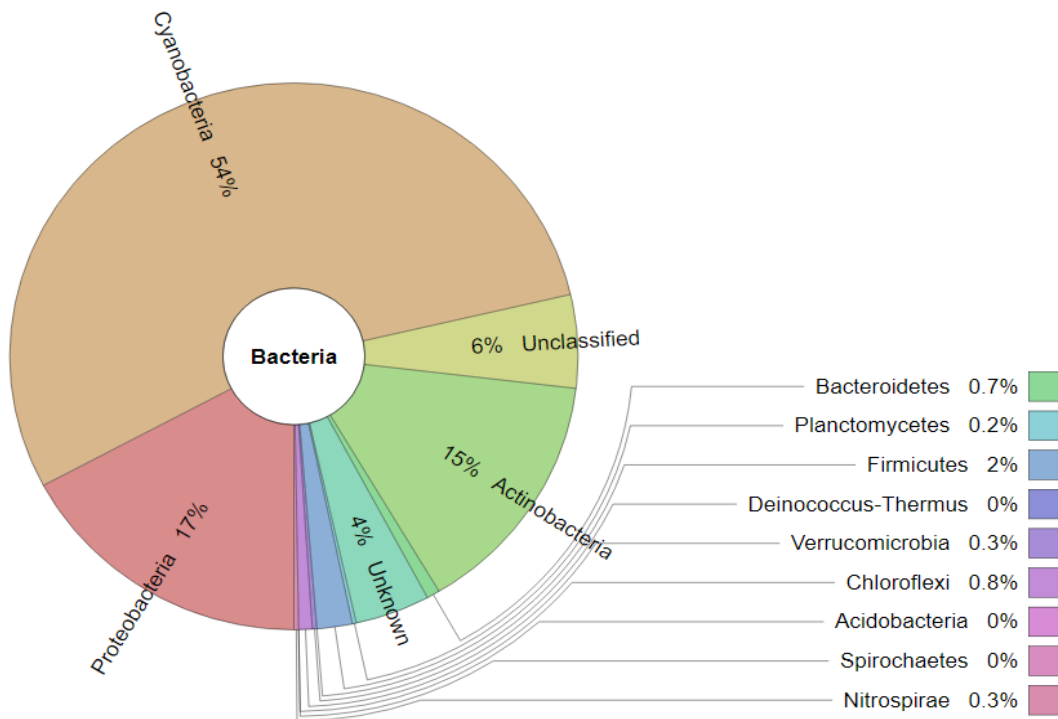


Figura 5.40 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS07, en mayor proporción se identificó Cyanobacteria y en menor Planctomycetes.

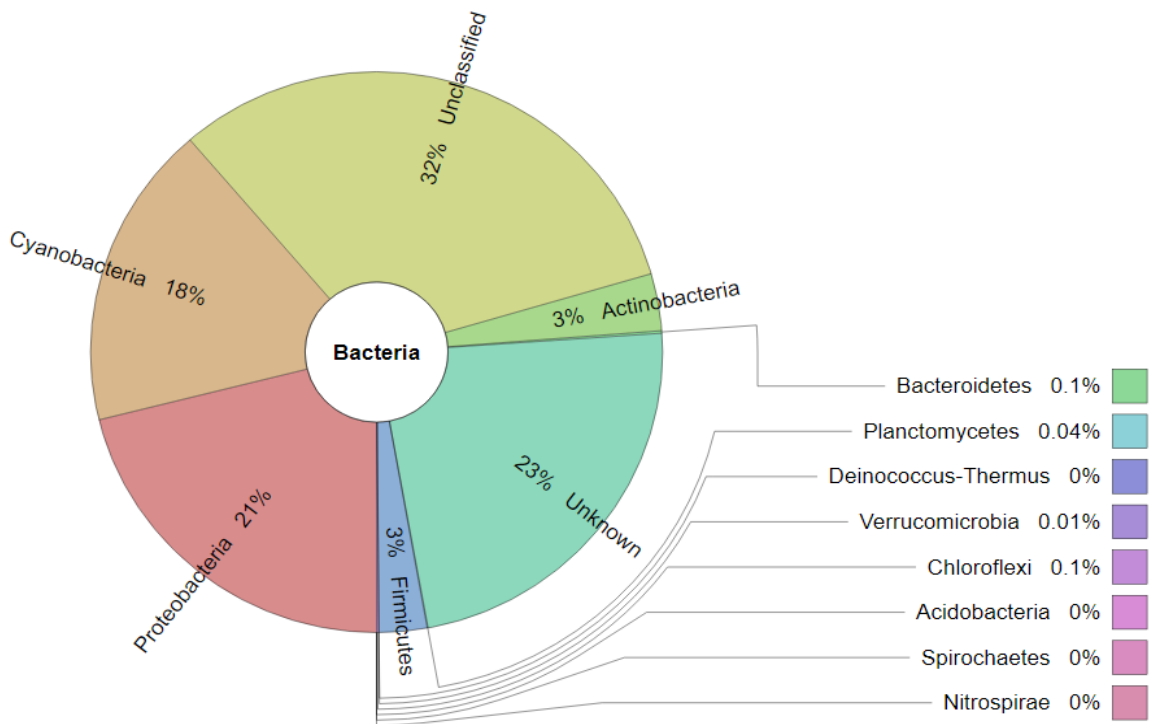


Figura 5.41 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS08, en mayor cantidad se identificó Proteobacteria, Verrucomicrobia es el filo menos representado.

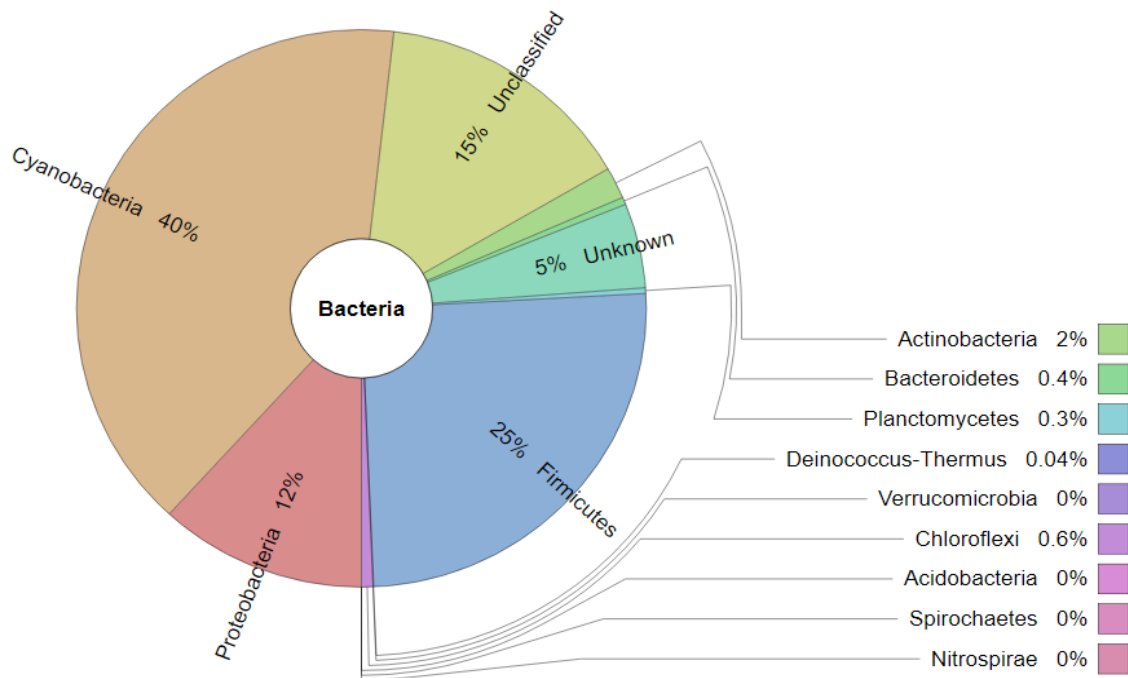


Figura 5.42 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS09, Cyanobacteria se identificó como el más abundante, en menor abundancia Deinococcus-Thermus.

5.2.2.4 Muestras de Agua:

JSS10: El 69% de las secuencias totales (5923) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 31% restante de las secuencias no pudo ser identificado en la base de datos. Los fila más abundantes fueron Cyanobacteria (32%) y Proteobacteria (27%). En menor proporción se identificaron Bacteroidetes (4%), Actinobacteria (2%), Spirochaetes (0.2%), Chloroflexi (0.1%), Deinococcus-Thermus (0.1%) y Firmicutes (0.02%) figura 5.43.

JSS11: El 77% de las secuencias totales (4673) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 23% restante no pudo ser identificado en la base de datos. Dentro de la muestra se encontró en mayor abundancia Cyanobacteria (39%) y Proteobacteria (38%). En menor abundancia Bacteroidetes (3%), Spirochaetes (2%), Actinobacteria (1%), Chloroflexi (0.8%), Planctomycetes (0.09%), Firmicutes (0.06%) y Deinococcus-Thermus (0.04%) figura 5.44.

JSS12: El 85% de las secuencias totales (17967) para el gen ARNr 16S pertenece al dominio Bacteria, el 15% restante de las secuencias no pudo ser identificado en la base de datos. El filo más abundante fue Proteobacteria (95%), en menor proporción Bacteroidetes (0.3%) y Spirochaetes (0.07%) figura 5.45.

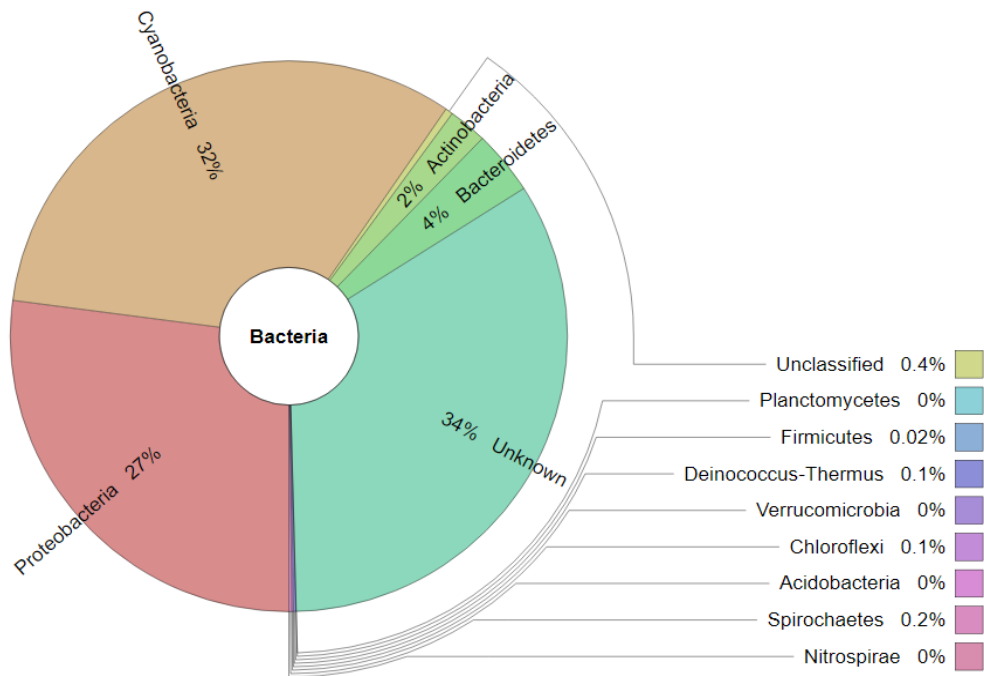


Figura 5.43 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS10, en mayor abundancia se encontró Cyanobacteria, por el contrario Firmicutes se identificó como el menos abundante.

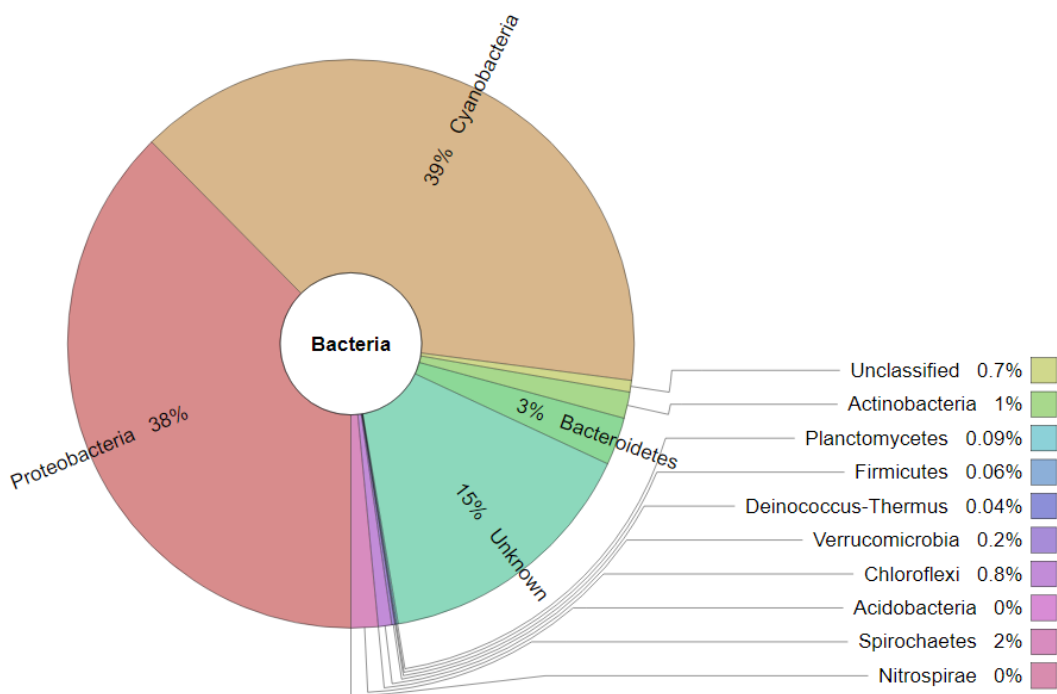


Figura 5.44 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS11, Cyanobacteria fue identificado como el más abundante, Deinococcus-Thermus por el contrario fue el menos representado.

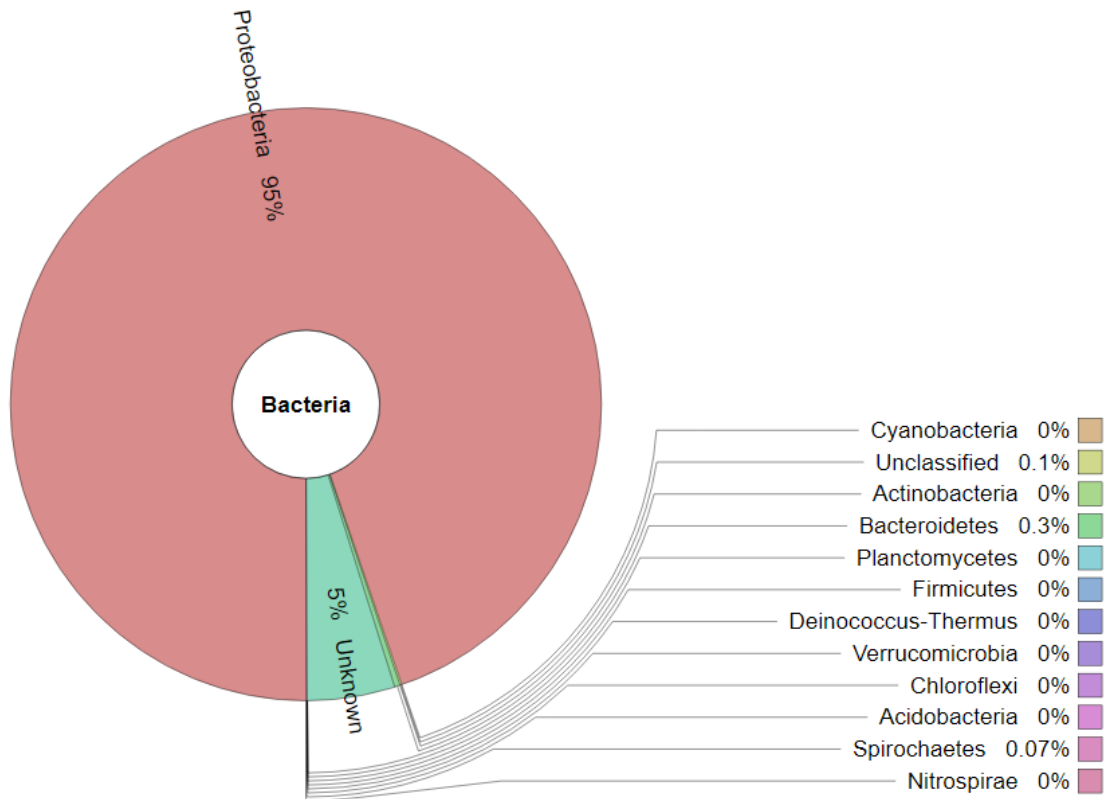


Figura 5.45 Gráfica de abundancias a nivel filo en JSS12, Proteobacteria fue identificado como el más abundante, Spirochaetes se encontró en menor proporción de todos.

La mayoría de las muestras coinciden con altas abundancias de Cyanobacteria y Proteobacteria como se indica en las figuras anteriores.

En la siguiente gráfica de listones (figura 5.46) se puede observar una comparación a nivel filo para todas las muestras. El ancho del listón indica el porcentaje de abundancia. Por ejemplo, Proteobacteria (color azul) es el más abundante en la muestra JSS12, en cambio para la muestra JSS02 Cyanobacteria (color amarillo) es el más abundante. También se puede observar que la muestra JSS03 tiene el más alto porcentaje (~ 50%) de secuencias sin identificar.

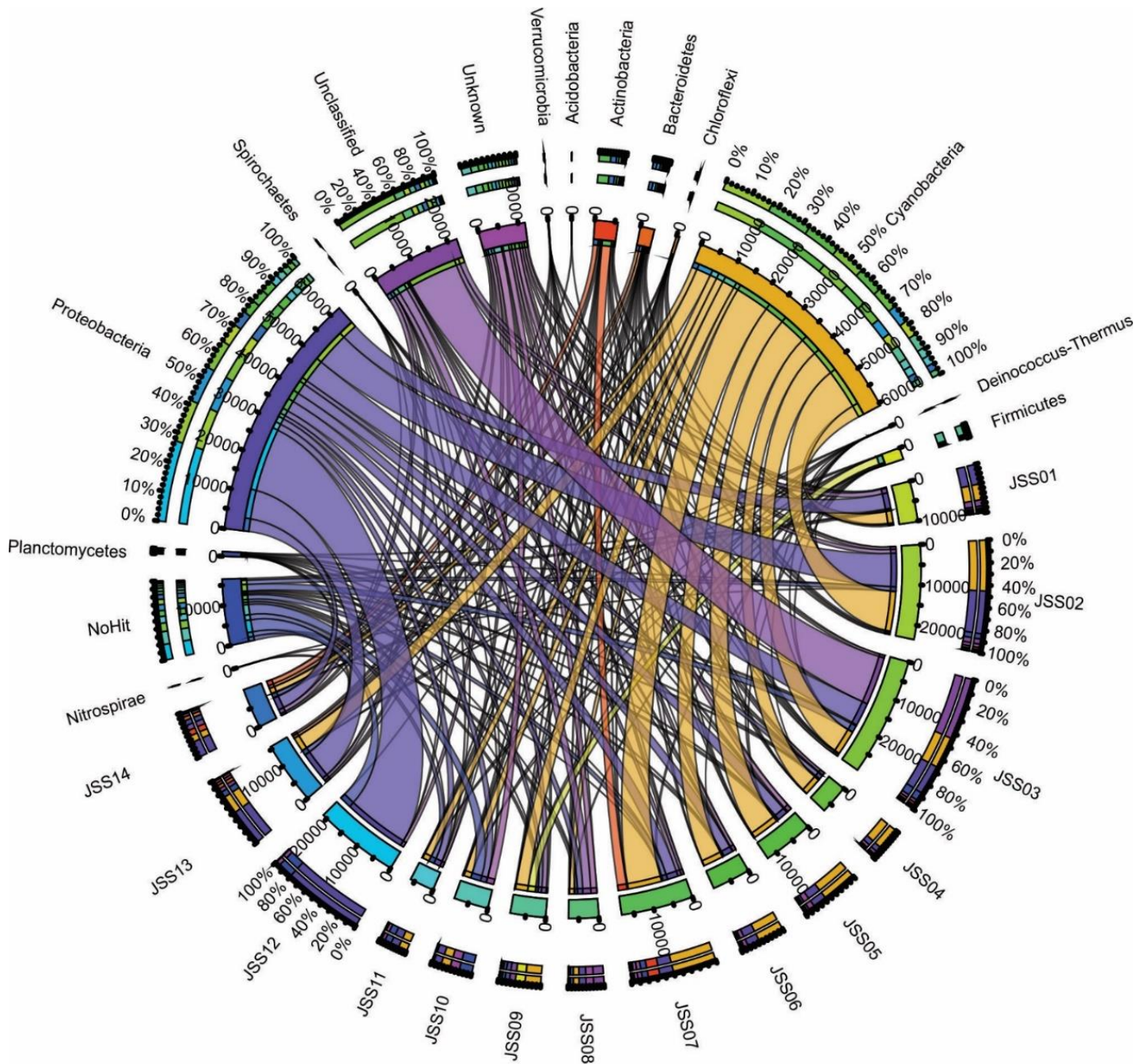


Figura 5.46 Gráfica de listones, comparación de abundancia a nivel filo. El color indica diferentes filo, el ancho del listón indica el porcentaje de abundancia en las muestras. JSS01, JSS02, JSS03, JSS13 y JSS14 corresponden a microbialita. JSS04, JSS05 y JSS06 pertenecen a tapete microbiano. JSS07, JSS08 y JSS09 representan sedimentos con una profundidad entre 5-6 metros. JSS10, JSS11 y JSS12 pertenecen a agua del lago.

Al momento de comparar las muestras a un nivel taxonómico más bajo las abundancias relativas de diferentes familias, géneros y especies no corresponden a abundancias similares en cada muestra. En la figura 5.47 se pueden apreciar dichas diferencias. Por ejemplo, las tres muestras de microbialita coinciden en altos porcentajes del género *Rhodobaca* y la familia Xenococcaceae. Las tres muestras de tapetes microbianos coinciden con altas abundancias de la familia Pseudanabaenaceae y el género *Rhodobaca*, género identificado en altos porcentajes en las muestras de microbialita como se mencionó anteriormente. A diferencia de lo anterior, cada una de las muestras de sedimentos difiere bastante en su composición microbiana. Por ejemplo, en JSS07 el género *Synechococcus* es el más representado, JSS08 presenta una mayor abundancia de la familia Nitriliruptoraceae y JSS09 tiene un alto porcentaje del género *Bacillus*. Por último, las muestras de agua (JSS10, JSS11) coinciden en altos porcentajes de los géneros *Nodularia* y *Rhodobaca*, en cambio JSS12 presenta altas abundancias del género *Halorhodospira*.

BIODIVERSIDAD A NIVEL GÉNERO Y FAMILIA

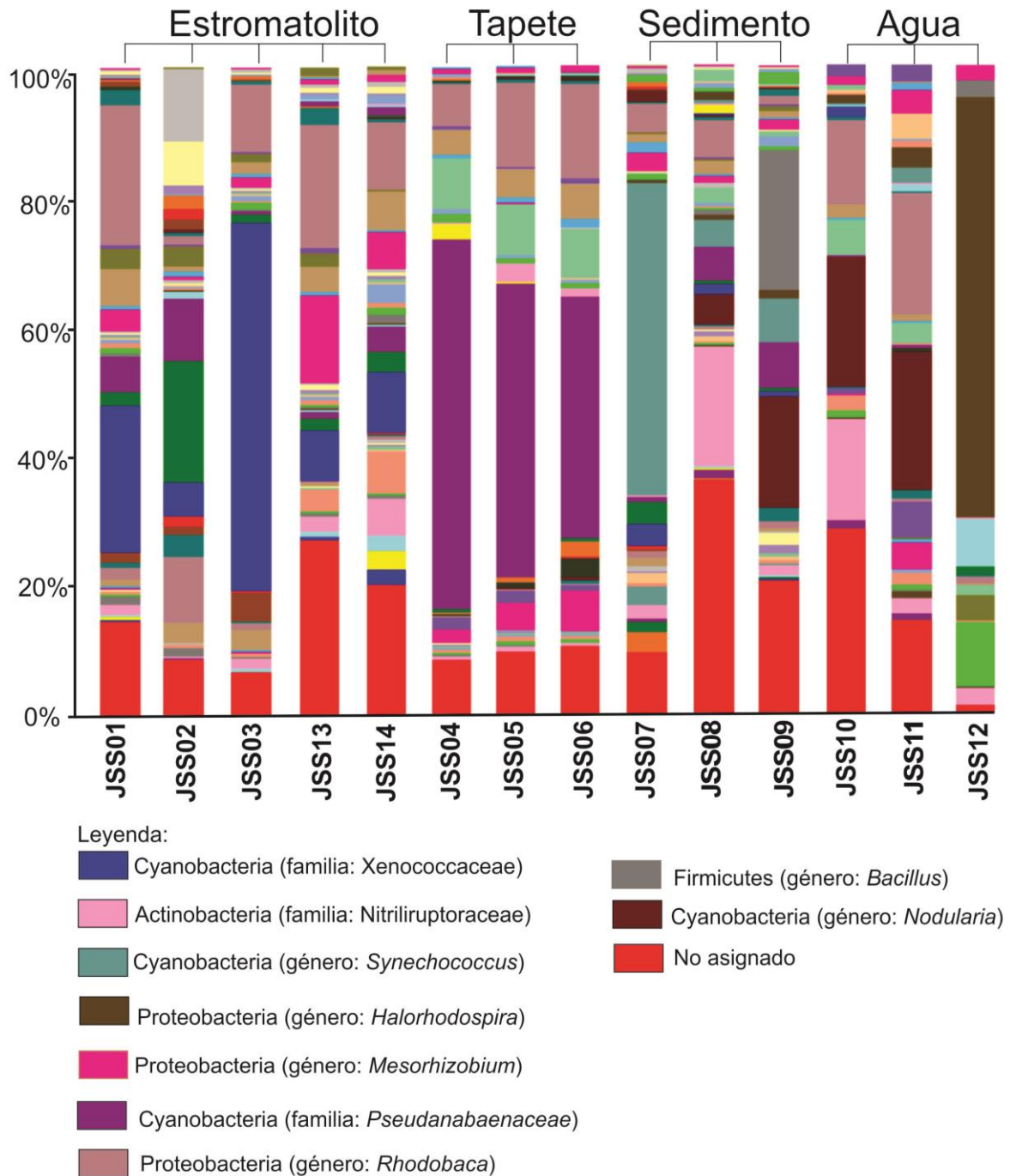


Figura 5.47 Gráfica de abundancias relativas a nivel género y familia de todas las muestras. Cada color indica un género o familia distintos, el ancho del color indica la abundancia de dicho grupo taxonómico. En la leyenda se muestran los géneros o familias más representados en las muestras.

En el estudio filogenético de las muestras se encontraron ciertas especies que han sido reportadas en sitios con características similares a nuestra zona de estudio. Dichas especies se caracterizan por corresponder a zonas con alta alcalinidad, hidrotermalismo y suelos salinos. En el caso de microorganismos alcalifilos, los análisis metagenómicos identificaron seis especies las cuales han sido reportadas en distintos lagos del mundo con condiciones alcalinas. De igual manera nueve especies que han sido reportadas en distintas zonas del mundo con actividad hidrotermal se pudieron identificar en las muestras. Por último, cuatro especies reportadas en sitios con suelos de alta salinidad fueron identificadas. En conjunto todas ellas indican las características fisicoquímicas de nuestra área de estudio. La tabla 5.4 indica los porcentajes de abundancia de las especies índice en cada muestra.

Tabla 5.4 Porcentaje de abundancia de especies indicadoras de nuestro ambiente de estudio.
N.D (no detectado)

MICROORGANISMO	MUESTRAS													
	Ambientes Alcalinos													
	JSS01	JSS02	JSS03	JSS04	JSS05	JSS06	JSS07	JSS08	JSS09	JSS10	JSS11	JSS12	JSS13	JSS14
<i>Roseinatronobacter monicus</i>	17%	1%	6%	0.5%	1%	0.6%	3%	3%	0.8%	1%	1%	0.4%	11%	7%
<i>Rhodobaca barguzinensis</i>	4%	0.06%	5%	5%	10%	11%	1%	2%	0.4%	9%	15%	0.8%	7%	4%
<i>Nitriliruptor alkaliphilus</i>	1%	0.2%	1%	N.D	N.D	N.D	0.6%	0.5%	0.4%	N.D	N.D	N.D	2%	3%
<i>Mongoliibacter ruber</i>	0.2%	0.008%	0.05%	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.04%	0.2%
<i>Psychroflexus salis</i>	N.D	N.D	N.D	N.D	0.03%	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.04%	N.D	N.D
<i>Cecembia lonarensis</i>	N.D	N.D	N.D	0.3%	0.3%	0.2%	N.D	N.D	N.D	0.03%	0.08%	N.D	N.D	N.D
Chimeneas hidrotermales														
<i>Rhodobaca bogoriensis</i>	0.01%	N.D	N.D	0.04%	0.2%	0.2%	N.D	0.03%	N.D	0.2%	0.5%	N.D	0.006%	0.01%
<i>Defluviimonas indica</i>	1%	0.09%	0.1%	N.D	N.D	N.D	N.D	0.2%	0.1%	N.D	N.D	N.D	0.4%	0.5%
<i>Tepidamorphus gemmatus</i>	0.1%	N.D	0.007%	0.2%	0.2%	0.3%	N.D	0.1%	1%	N.D	N.D	N.D	0.02%	0.2%
<i>Porphyrobacter tepidarius</i>	0.8%	1%	0.2%	0.05%	0.04%	0.03%	0.1%	N.D	0.03%	N.D	0.02%	N.D	0.02%	N.D
<i>Microvirga subterranea</i>	N.D	0.09%	N.D	N.D	N.D	N.D	0.07%	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
<i>Elioraea tepidiphila</i>	N.D	0.04%	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.02%	0.1%
<i>Rubrobacter radiotolerans</i>	N.D	0.008%	0.003%	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.02%
<i>Belliella pelovolcani</i>	N.D	N.D	0.02%	N.D	0.05%	N.D	N.D	N.D	N.D	0.06%	0.08%	N.D	0.5%	0.3%
Suelos salinos														
<i>Salinarimonas ramus</i>	N.D	0.1%	0.06%	N.D	N.D	N.D	0.4%	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.006%	0.1%
<i>Egicoccus halophilus</i>	N.D	N.D	0.03%	N.D	N.D	N.D	0.1%	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.03%	0.04%
<i>Nocardiopsis valliformis</i>	N.D	N.D	0.007%	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	0.08%	0.2%
<i>Anditalea andensis</i>	0.6%	1%	0.08%	N.D	0.02%	N.D	N.D	N.D	0.09%	N.D	N.D	N.D	0.2%	0.3%

A continuación, se describen las principales características recopiladas de diferentes autores para cada especie índice reportada. Cabe mencionar que las condiciones de crecimiento (pH, temperatura y fuentes de carbono) fueron medidas en medios de cultivo puros y con condiciones controladas en laboratorio.

1.- *Roseinatronobacter monicus*: Especie alcalifila estricta, el pH óptimo para su crecimiento es 9.1-9.5, no obstante puede crecer en un rango de pH de 8.5-10. Su metabolismo es estrictamente aerobio y heterotrófico. Concentración óptima de crecimiento 40 g/l NaCl. Utiliza como fuente de energía compuestos de carbono como ácidos orgánicos, acetato, glicerol, lactato, piruvato, maltosa y sucrosa. La especie pertenece al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria. Ha sido aislado en un lago hipersalino (90 g/l de NaCl y pH 9.6) ubicado en California Estados Unidos (Boldareva et al., 2007).

2.- *Rhodobaca bogoriensis*: Especie alcalifila. Crece a pH entre 7.5-10, pH óptimo 9. Temperatura óptima de crecimiento 39 °C. Puede crecer en condiciones anóxicas fotoheterotróficas y quimitróficas. No requiere NaCl para su crecimiento. Como fuente de carbono utiliza malato, succinato, piruvato, fumarato, glucosa, fructosa y sucrosa. Como fuente de nitrógeno utiliza amonio, aspartato, glutamato y glutamina. La especie pertenece al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria. Ha sido aislado de agua y sedimentos del lago Bogoria, Kenya en el Rift de África (Milford et al. 2000).

3.- *Rhodobaca barguzinensis*: Especie alcalifila estricta. Crece en un rango de pH de 7.5-9, óptimo de 8.2. Halófilo moderado, crece a concentraciones de 20-30 g/l de NaCl. Temperatura óptima entre 25-35°C. Realiza fotosíntesis anoxigénica bajo condiciones oxigénicas. Utiliza como fuente de carbono el succinato, fumarato, lactato, piruvato, fructosa y sucrosa. Utiliza urea, glutamato y serina como fuente de nitrógeno. La especie pertenece al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria. Ha sido aislado de un lago con un pH de 9.6 en el valle Barguzin al este de Siberia (Boldareva et al. 2008).

4.- *Nitiliruptor alkaliphilus*: Microorganismo aerobio estricto. Alcalífilo estricto con un pH óptimo de crecimiento de 9.0- 9.5. Mesófilo con una temperatura óptima de crecimiento de 32°C. Crecimiento a 0.2-0.3 M Na⁺. Utiliza como fuente de carbono acetato, piruvato, glucosa, maltosa, fructosa, glicerol y fumarato. Ha sido aislado de los sedimentos del lago sódico Kolunda Steppe en Rusia (Sorokin et al., 2009).

5.- *Mongoliibacter ruber*: Microorganismo aerobio. Crecimiento óptimo a un pH de 8.0-11.0. Temperatura óptima de crecimiento de 25-28°C. Requiere 0.5-2% w/v de NaCl. Como fuente de carbono utiliza sucrosa, glucosa, galactosa, glutamina y fructosa. Especie perteneciente al género *Mongoliibacter*, familia Cyclobacteriaceae. Aislado de agua colectada en un lago halo-alcálico localizado en el desierto Hunsandake Mongolia, China (Wang et al., 2016).

6.- *Salinarimonas ramus*: Microorganismo anaerobio estricto. Su crecimiento óptimo ocurre a 28°C y pH 7. Requiere 4% w/v de NaCl. Como fuente de carbono utiliza xilosa, fructosa, succinato, galactosa y trehalosa. Aislado de suelo salino en Shengli Oilfield, China Oriental (Cai et al., 2011).

7.- *Egicoccus halophilus*: Especie aeróbica y quimioorganótrofa. Moderadamente alcalífila. El crecimiento óptimo ocurre a 30°C aunque puede crecer en un rango de 20°C a 40°C. El pH óptimo de crecimiento es de 8.0-9.0. Requiere 3-5% w/v de NaCl. Utiliza fructosa, galactosa, glucosa, glicerol, maltosa, lactosa, manosa, sorbitol y sucrosa como fuente de carbono. Aislado de suelo salino-alcálico en la provincia Xinjiang en el noroeste de China (Zhang et al., 2016).

8.- *Nocardiopsis valliformis*: Microorganismo aerobio. Crece a temperatura de 28°C y pH de 9.5-13.0. No requiere NaCl para su crecimiento. Como fuente de carbono utiliza arabinosa, xilosa, lactosa y glicerol. No produce H₂S. Aislado de muestras de suelo colectadas en un lago alcálico ubicado en Xinjiang, China (Yang et al., 2008).

9.- *Psychroflexus salis*: Especie moderadamente halófila. Estrictamente aerobio y heterótrofo. Produce H₂S. Temperatura de crecimiento óptimo a 20-25°C y pH 7.0-7.5. Requiere 3 % w/v de NaCl. Utiliza galactosa, glucosa, maltosa y sucrosa como fuente de carbono. Aislado de un lago salino en la provincia Qinghai, China (Zhong et al., 2016).

10.- *Defluviimonas indica*: Microorganismo quimioheterótrofo estrictamente aerobio. No fotótrofo, moderadamente halófilo. La temperatura óptima de crecimiento es 25-28°C no crece por debajo de los 20°C ni por encima de los 37°C. Crecimiento óptimo a pH 7.0. Requiere 1.5- 2 % w/v de NaCl. Como fuente de carbono utiliza glucosa, arabinosa, manosa y maltosa. La especie pertenece al género *Defluviimonas*, familia Rhodobacteraceae. Aislado de una chimenea hidrotermal de sulfuro a 2783 m de profundidad en el mar del suroeste de India (Jiang et al. 2014).

11.- *Tepidamorphus gemmatus*: Microorganismo estrictamente aerobio, quimioorganótrofo, no fotótrofo. Moderadamente termófilo. Temperatura óptima de crecimiento entre 45-50°C, no crece a 25°C o 55°C. pH óptimo entre 7.1-8.5. Pertenece al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria, género *Tepidamorphus*. Ha sido aislado de una fuente termal conocida como Caldeira da Barreira,

en la isla de Sao Miguel, Azores. Dicha fuente termal mantiene temperaturas de 40 °C y pH de 8.5 (Albuquerque et al. 2010).

12.- *Porphyrobacter tepidarius*: Microorganismo moderadamente termófilo, aerobio, fotosintético, quimioorganótrofo. Temperatura óptima de crecimiento entre 40-48°C, puede crecer por encima de 50°C pero no a temperaturas mayores a 53°C. Crece a un pH óptimo de 6.5-8.5, no crece a pH debajo de 5.5 o arriba de 9.5. Requiere 1.3% de NaCl. Como fuente de carbono utiliza glucosa, acetato, glutamato y butirato. Especie perteneciente al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria, género *Porphyrobacter*. Aislado de tapetes microbianos de fuentes termales salobres en Shidzuoka, Japón, con una temperatura de 42.7°C y pH 5.8 (Hanada et al., 1997).

13. - *Microvirga subterranea*: Microorganismo estrictamente aerobio. Bacteria no fotosintética. Temperatura óptima de crecimiento 41°C, puede crecer entre 25-45°C pero no a 50°C. El pH óptimo es 7.0, puede crecer a pH entre 6.0-9.0. La especie pertenece al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria, género *Microvirga*. Ha sido aislado de agua del subsuelo con una temperatura de 41°C, en el acuífero geotermal en la Gran Cuenca Artesanal, Australia (Kanso & Patel, 2003).

14.- *Elioraea tepidiphila*: Microorganismo estrictamente aerobio y quimiolitótrofo facultativo. Ligeramente termófilo. Temperatura óptima de crecimiento entre 45-50°C, no crece a 25°C o 55°C. El pH óptimo es 8.0-8.5 no puede crecer a pH de 5.5 o 10.0. Requiere 1.5% de NaCl. Utiliza compuestos orgánicos como fuente de carbono. Pertenece al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria, género *Elioraea*. Aislado de una fuente termal con temperatura de 70°C y pH 7.5, en la isla de Sao Miguel, Azores (Albuquerque et al. 2008).

15.- *Rubrobacter radiotolerans*: Microorganismo moderadamente termófilo. Aerobio. Crece a temperaturas entre 30-55°C, crecimiento óptimo a 45°C. Requiere 6 % w/v de NaCl. Como fuente de carbono utiliza compuestos orgánicos. Es resistente a la radiación gamma y UV, se cree que su resistencia a la radiación está relacionada con la resistencia a la desecación que tiene esta especie. Pertenece al phylum Actinobacteria, clase Actinobacteria, género *Rubrobacter*. Ha sido aislado de una fuente termal con una temperatura de 50°C y pH 8.9, en Sao Pedro do Sul, Portugal (Egas et al., 2014).

16.- *Belliella pelovolcani*: Microorganismo aerobio. Temperatura óptima de crecimiento 37°C. Crece a pH óptimo de 8.0, sin embargo puede crecer a pH de 6.0-9.0 pero no a 5.0 o 10.0. Requiere 3 % w/v de NaCl. Como fuente de carbono utiliza compuestos orgánicos. Ha sido aislado de lodo volcánico en Wandan, Taiwan, a una temperatura de 38°C y pH 8.2 (Arun et al., 2009).

17.- *Cecembia lonarensis*: Microorganismo estrictamente aerobio. Temperatura de crecimiento entre 10- 40°C, con una temperatura óptima de crecimiento de 30-37°C. Puede crecer a un pH entre 7.5-10.0, óptimo de 8.0. Crece mejor a 3 % w/v de NaCl. Asimila compuestos orgánicos como fuente de carbono entre ellos lactosa, xilosa, maltosa, fructosa, arabinosa, sucrosa y manosa. La especie pertenece a la familia Cyclobacteriaceae, género *Cecembia*. Ha sido aislado de muestras de agua colectada a 4.5 m de profundidad de un lago haloalcalino con un pH de 10 en Maharashtra, India (Anil Kumar et al., 2012) .

18.- *Anditalea andensis*: Microorganismo aerobio estricto, halotolerante y alcalófilo. Crece a temperaturas de 10-37°C, no puede crecer a temperaturas debajo de 5°C o por encima de 40°C. Su pH óptimo de crecimiento ocurre a entre 7.5 y 9.2, no puede crecer a pH de 7.0 0 10.0. Crece mejor a 0.5- 4% w/v de NaCl. Utiliza compuestos orgánicos como fuente de carbono entre ellos glucosa, arabinosa, manosa y maltosa. La especie pertenece a la familia Cyclobacteriaceae, filo Bacteroidetes, género *Anditalea*. Ha sido aislado de suelo salino-alcalino en la ciudad de Anda en el noreste de China (Shi et al., 2012).

Tabla 5.5 Especies indicadoras de nuestra área de estudio y lugares de donde previamente se han aislado.

MICROORGANISMO	HABITAT
<i>Roseinatronobacter monicus</i>	Lago hipersalino
<i>Rhodobaca bogoriensis</i>	Lago salino, alcalino y con actividad hidrotermal
<i>Rhodobaca barguzinensis</i>	Lago alcalino
<i>Nitriliruptor alkaliphilus</i>	Lago sódico
<i>Mongoliibacter ruber</i>	Lago alcalino
<i>Egicoccus halophilus</i>	Suelo salino-alcalino
<i>Nocardiopsis valliformis</i>	Suelo de un lago alcalino
<i>Psychroflexus salis</i>	Lago salino
<i>Defluviimonas indica</i>	Chimenea hidrotermal de sulfuro
<i>Tepidamorphus gemmatus</i>	Fuente termal
<i>Porphyrobacter tepidarius</i>	Fuentes termales
<i>Microvirga subterránea</i>	Acuífero geotermal
<i>Elioraea tepidiphila</i>	Fuente termal
<i>Rubrobacter radiotolerans</i>	Fuente termal
<i>Belliella pelovolcani</i>	Volcán
<i>Cecembia lonarensis</i>	Lago alcalino
<i>Anditalea andensis</i>	Suelo salino- alcalino
<i>Salinarimonas ramus</i>	Suelo salino

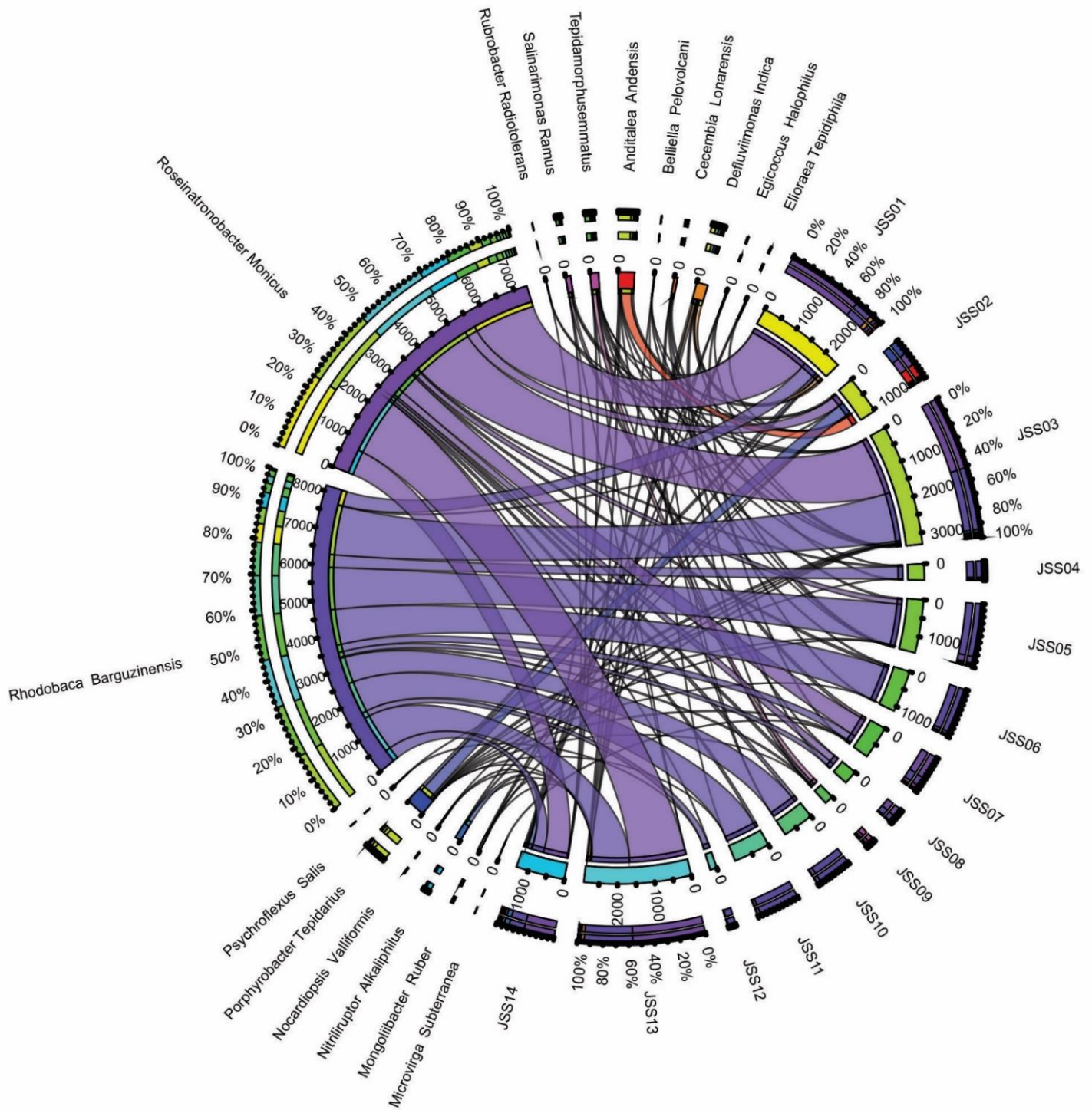


Figura 5.48 Gráfica de listones, comparación entre muestras de especies índice. Cada color indica una especie diferente, el ancho del listón indica el porcentaje de abundancia en las muestras. Las especies más abundantes fueron *Rhodobaca barguzinensis* y *Roseinatronobacter monicus*, ambas alcalifilas estrictas pertenecientes al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria.

6. Discusión

6.1 Aspectos físicos de los estromatolitos del cráter maar Rincón de Parangueo

Un punto importante es la descripción de las estructuras órgano-sedimentarias que se preservaron en el cráter en tiempos geológicos recientes (los últimos 10,000 años). La duración de un episodio lacustre es importante en la estructura final de una microbialita. Por ejemplo, si un lago presenta un tirante de agua el cual se conserva por periodos pequeños las microbialitas desarrollan una corteza muy delgada y poco desarrollada (Casanova, 1994). En cambio, episodios de gran estabilidad del tirante de agua proveerá un nicho estable para el crecimiento de los microorganismos lo cual provocará estructuras bien desarrolladas como biohermas (Casanova, 1994). La formación de estructuras órgano-sedimentarias con mayor desarrollo en el cráter *maar* Rincón de Parangueo, debió haber estado influenciada por una cierta estabilidad en el tirante de agua en la zona de desarrollo de biohermas, lo que permitió un mayor crecimiento de estas estructuras en comparación con otras microbialitas dentro del cráter.

Aunado a lo anterior su ubicación justo en la falla anular del cráter indica una relación con esta estructura geológica, esto se comprueba con la cartografía realizada en todo el cráter donde se observa un mayor desarrollo de estas estructuras justo por encima de esta falla geológica. Esto puede estar relacionado con un cierto aporte de nutrientes en este caso gases que pueden estar circulando por esta falla y por lo tanto generan un sustrato adecuado para el crecimiento de las comunidades que han formado los biohermas a lo largo de los años. Existen además otras estructuras muy importantes cartografiadas dentro del cráter ubicadas de igual forma en la falla anular llamadas chimeneas de escape, éstas representan un conducto para la salida de fluidos (Casanova, 1994).

Indicio de lo anterior es un estudio en curso dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo sobre la distribución de la emanación de gases, éste muestra claramente la importancia de la falla anular como vector de transporte de la desgasificación. Las áreas con densidad de gases más altas se superponen a las áreas con los biohermas más desarrollados a lo largo de la falla anular y cerca de los remanentes de agua del lago (Levresse. Com. pers). La composición de los gases recolectados es dominada por CO₂ con trazas de H₂S y CH₄, lo que sugiere la existencia de un componente volcánico en la fuente de los gases. La siguiente figura muestra las áreas con mayor densidad de gases identificadas en dicho estudio.

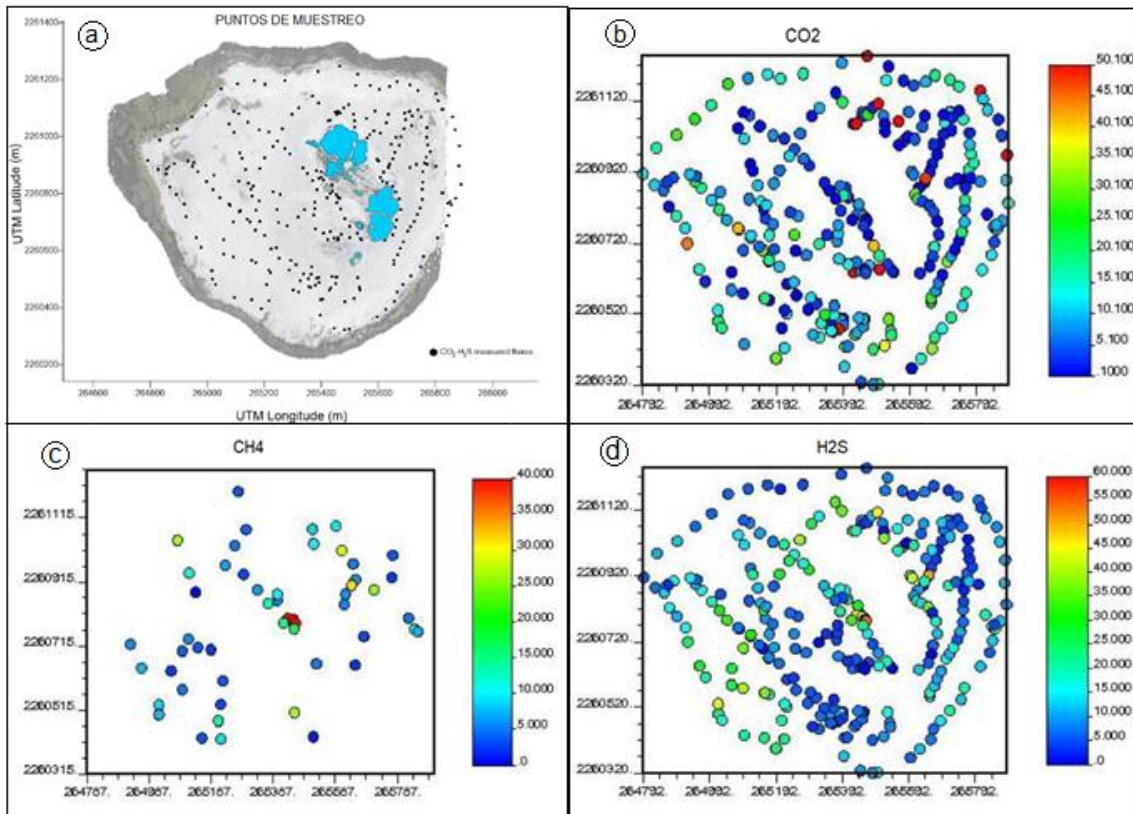


Figura 6.1 Distribución de la emanación de gases cráter *maar* Rincón de Parangueo medidos en densidad de flujo por día ($\text{mg m}^{-2} \text{d}^{-1}$). (a) Los puntos en negro muestran los sitios de muestreo de gases. (b) Distribución de CO_2 , se puede apreciar que la mayor densidad de flujo se encuentra en la zona de falla anular del cráter (puntos rojos y verdes). (c) Distribución de flujo de CH_4 , se observa una mayor densidad cerca de los remanentes de agua del lago (puntos rojos, verdes y amarillo). Esto puede es debido al gas metano que se produce por la descomposición de la materia orgánica de los sedimentos del lago. (d) Distribución de flujo H_2S , la mayor densidad de flujo ocurre en las áreas de remanente del lago, esto puede ser debido a la descomposición de materia orgánica por microorganismos en condiciones anaeróbicas (puntos rojo, verde y amarillo).

Otra característica importante es la presencia de aragonita en las estructuras con mayor desarrollo, este mineral fue observado en campo en la mayoría de los biohermas cortados por la falla anular e identificado en el laboratorio mediante difracción de rayos X. Dicho mineral ha sido reportado en distintos sitios alrededor del mundo donde existe la presencia de fluidos provenientes de sistemas volcánicos (Kempe et al., 1996; Kaźmierczak & Kempe, 2006; Kaźmierczak et al., 2011; Renaut et al., 2002).

Además, las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de barrido en estas zonas mostraron estructuras similares a las que se han observado en distintos lugares (Sugihara et al., 2016; Fouke, 2011) donde estos fluidos y los microorganismos controlan la mineralogía del carbonato propiciando el crecimiento de cristales de aragonita. Es posible que estas zonas mineralizadas en las microbialitas se desarrollaran debido al aporte de gases provenientes de las fallas y la acción de los microorganismos.

6.2 Comunidades microbianas presentes en el cráter y ambientes geológicos relacionados

En este trabajo se implementaron dos protocolos de extracción de ADN, los cuales surgieron a partir de una serie de metodologías probadas con la intención de obtener los mejores resultados. Ha sido reportado que los estromatolitos y tapetes microbianos representan una gran problemática al momento de la extracción de ADN, debido a la presencia de altos niveles de sales y sustancias poliméricas extracelulares (Bey et al., 2010). A pesar de ello los protocolos implementados para la extracción de ADN tuvieron buenos resultados. Esto gracias a la adición de NaCl 1M en una de las etapas de la extracción. Al agregar una sal con una concentración similar a la que los microorganismos se encontraban, se lograron mantener las células en un medio estable para realizar lavados y poder ser aisladas de la muestra suspendiéndolas en un medio acuoso para su posterior extracción de ADN. Esta metodología tiene sus ventajas pues al aislar las células de la muestra y no utilizar la muestra directamente se puede realizar una extracción de ADN más eficiente. Pero también puede tener desventajas debido a que es posible que algunas células de microorganismos con poca abundancia dentro de la muestra pueden no ser aisladas quedándose en la muestra y por lo tanto no es posible extraer su ADN.

En cuanto a la secuenciación metagenómica, las regiones hipervariables utilizadas V1-V2 arrojaron los datos reportados en la sección de resultados, es importante aclarar que dependiendo de la región hipervariable utilizada los resultados obtenidos pueden variar. La base de datos contra la cual fueron comparadas las secuencias fue National Center for Biotechnology Information (NCBI), una base de datos confiable para análisis filogenéticos.

En la secuenciación se identificaron microorganismos pertenecientes al dominio bacteria, entre ellos la mayoría corresponde a los fila Cyanobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Actinobacteria, Planctomycetes, Verrucomicrobia, Firmicutes, Nitrospirae y Spirochaetes. Los fila más abundantes en todas las muestras fueron Cyanobacteria y Proteobacteria. Lo anterior coincide con lo reportado en otras zonas de desarrollo de estromatolitos en ambientes marinos y de agua dulce alrededor del mundo, en estos sitios se han identificado

Cyanobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes y Planctomycetes como los filo más abundantes (Saghai et al., 2015).

Los resultados metagenómicos identificaron además los órdenes Chroococcales, Nostocales y Oscillatoriales dentro del filo Cyanobacteria, reportados previamente por Cortés (2016). La gran abundancia de cianobacterias dentro de las muestras habla del papel que éstas desempeñan en la formación de la microbialita debido a la fotosíntesis oxigénica que realizan propiciando la precipitación de carbonatos (Chacón et al., 2010). Aunado a lo anterior, estudios en diferentes comunidades microbianas formadoras de estromatolitos han reportado microorganismos pertenecientes a Chloroflexi, Alphaproteobacteria, Grammaproteobacteria, que también fueron identificados en las muestras y llevan a cabo la fotosíntesis anoxigénica; y por lo tanto, son también importantes en la formación de las microbialitas (Saghai et al., 2015). Consecuentemente, haber identificado estos grupos en las muestras indica que además de la fotosíntesis oxigénica, la fotosíntesis anoxigénica juega un papel muy importante en la precipitación de carbonatos dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo.

En el análisis de datos a nivel especie se identificaron 18 especies que resultaron de interés para este estudio, debido a que representan las condiciones físicas, químicas y geológicas del cráter *maar* Rincón de Parangueo. En la revisión bibliográfica de dichas especies se encontró que éstas han sido aisladas en varios sitios alrededor del mundo con actividad volcánica, altas concentraciones de sal y altos valores de pH. Esto es bastante interesante ya que haberlas identificado en nuestra zona de estudio nos indica que algunas de estas especies además de altas concentraciones de sal y pH alcalinos, requieren cierta actividad volcánica.

La distribución de estas especies índice dentro del cráter varía dependiendo de la zona. Por ejemplo, en las muestras de estromatolito (JSS01, JSS02, JSS03, JSS13 y JSS14) se encontraron el mayor número de especies índice y además, en mayores porcentajes (ver tabla 5.4 sección Análisis de datos metagenómicos). En cambio, para las muestras de agua, tapetes microbianos y sedimentos del lago, existe una menor cantidad de especies índice identificadas (Tabla 6.1) y en menor porcentaje (Tabla 5.4).

Tabla 6.1 Número de especies índice en cada muestra.

TIPO DE MUESTRA	MUESTRA	NO. DE ESPECIES INDICE
Estromatolito	JSS01	9
	JSS02	11
	JSS03	13
	JSS13	14
	JSS14	14
Tapete Microbiano	JSS04	6
	JSS05	9
	JSS06	6
Sedimentos	JSS07	7
	JSS08	6
	JSS09	7
Agua	JSS10	5
	JSS11	6
	JSS12	3

Las especies índice más abundantes encontradas en las muestras fueron *Rhodobaca barguzinensis* la cual ha sido aislada en un lago con un pH de 9.6 y *Roseinatronobacter monicus* aislada en un lago hipersalino (90 g/l de NaCl y pH 9.6) ambas son alcalifilas estrictas pertenecientes al filo Proteobacteria, clase Alphaproteobacteria.

Otra coincidencia bastante interesante, es que los fila identificados en las muestras coinciden con lo reportado en análisis metagenómicos llevados a cabo en el cráter lago Alchichica en Puebla, México, un lugar situado en una zona volcánica. En este sitio se identificaron microorganismos del dominio bacteria como: Proteobacteria (clases Alphaproteobacteria y Grammaproteobacteria), Cyanobacteria y Bacteroidetes en mayor abundancia, seguidos de Planctomycetes, Deltaproteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Firmicutes y Chloroflexi (Saghaï et al., 2015).

Es importante aclarar que las comunidades caracterizadas en el análisis metagenómico son representativas del día en que fue tomada la muestra, pues el cráter *maar* Rincón de Parangueo tiene condiciones cambiantes a lo largo de los días y las estaciones del año, cambiando por lo tanto la abundancia relativa de los microorganismos.

7. Conclusiones

7.1 Aspectos físicos de los estromatolitos del cráter maar Rincón de Parangueo

- Las texturas a escala micro, meso y macro muestran el desarrollo de estructuras órgano-sedimentarias con características que son similares a las reportadas en zonas con actividad volcánica y condiciones fisicoquímicas similares al cráter *maar* Rincón de Parangueo.
- La correlación espacial que existe entre la distribución de la falla anular del cráter, los biohermas y chimeneas de escape muestran una alta coincidencia, lo cual sugiere que el desarrollo de las comunidades microbiológicas y por lo tanto, el crecimiento de microbialitas de mayor tamaño, estuvo asociado al transporte de fluidos a lo largo de fallas y fracturas.
- La composición mineralógica y las imágenes de microscopía electrónica de barrido en las microbialitas muestran características similares reportadas en zonas con actividad volcánica en el mundo.

7.2 Comunidades microbianas presentes en el cráter y ambientes geológicos relacionados

- Los protocolos adaptados para la extracción de ADN resultaron adecuados, prueba de ello son la gran cantidad de datos obtenidos mediante la secuenciación metagenómica, los cuales coinciden con análisis metagenómicos llevados a cabo en estromatolitos desarrollados en lugares con características similares a nuestra zona de estudio.
- Los análisis metagenómicos arrojaron 18 especies indicadoras del ambiente físico, químico y geológico de nuestra zona de estudio. Dichas especies las cuales son microorganismos muy especializados han sido reportadas en distintos sitios del mundo con características similares al cráter *maar* Rincón de Parangueo. Lo anterior indica que estas especies no se podrían desarrollar sin las condiciones adecuadas entre ellas una alta alcalinidad, alta salinidad y en ciertas especies actividad volcánica. Existe además una coincidencia en los fila más abundantes identificados en las muestras, los cuales también han sido reportados en el cráter lago Alchichica el cual presenta condiciones fisicoquímicas similares al cráter *maar* Rincón de Parangueo y además se encuentra en una zona volcánica.

7.3 Integración bio-geológica

La subsidencia del cráter y la desecación del lago han provocado la fragmentación ambiental y la especialización de las comunidades microbiológicas que forman las microbialitas en el cráter *maar* Rincón de Parangueo. Existe una relación geológica basada en la abundancia de especies índice identificadas. Dentro del cráter se pueden encontrar tres ambientes geológicos con pequeños cambios pero que pueden influenciar la abundancia relativa de las especies.

En este trabajo se describen 3 ambientes:

- (1) Fallas con migración de fluidos: falla anular del cráter y fracturas en las cuales los sedimentos contienen poco porcentaje de agua, existe un aporte de radiación solar, precipitación de carbonatos y un alto pH.
- (2) Salmuera lacustre: ubicada en la zona de remanente del lago donde existe un alto contenido de agua, radiación solar, pH alcalino y la presencia de gases provenientes de la descomposición de sedimentos lacustres.
- (3) Sedimentos lacustres: a 4-5 m de profundidad en los cuales no hay un aporte de energía proveniente del sol, existe un alto contenido de agua, no hay precipitación de carbonatos y existe la presencia de gases provenientes de la descomposición de los sedimentos del lago.

Factores como la falta y exceso de agua, ausencia o presencia de luz solar y fuentes de energía han provocado que los microorganismos en el cráter *maar* de Parangueo sean muy especializados.

Las comunidades microbianas encontradas dentro del cráter *maar* Rincón de Parangueo concuerdan con las características fisicoquímicas del lugar, entre las cuales se encuentran pH alcalinos (10), alta salinidad (12 %), y alta concentración de carbonatos y bicarbonatos de sodio. Y además, con las características geológicas pues los biohermas con mayor desarrollo coinciden con la falla anular, ésta puede actuar como conducto de fluidos y contribuir al desarrollo de las comunidades, las cuales a su vez propician el desarrollo de estructuras como los biohermas.

8. Bibliografía

- Albuquerque, L., Rainey, F. A., Nobre, M. F., & da Costa, M. S. (2008). *Elioraea tepidiphila* gen. nov., sp. nov., a slightly thermophilic member of the Alphaproteobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(4), 773–778. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65294-0>
- Albuquerque, L., Rainey, F. A., Pena, A., Tiago, I., Veríssimo, A., Fernanda Nobre, M., & da Costa, M. S. (2010). *Tepidamorphus gemmatus* gen. nov., sp. nov., a slightly thermophilic member of the Alphaproteobacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 33(2), 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.01.002>
- Altermann, W. (2008). Accretion, trapping and binding of sediment in Archean stromatolites - Morphological expression of the antiquity of life. *Space Science Reviews*, 135(1–4), 55–79. <https://doi.org/10.1007/s11214-007-9292-1>
- Andres, M. S., & Reid, R. P. (2006). Growth morphologies of modern marine stromatolites: A case study from Highborne Cay, Bahamas. *Sedimentary Geology*, 185 (3–4 SPEC. ISS.), 319–328. <https://doi.org/10.1016/j.sedgeo.2005.12.020>
- Anil Kumar, P., Srinivas, T. N. R., Madhu, S., Sravan, R., Singh, S., Naqvi, S. W. A., ... Shivaji, S. (2012). *Cecembia lonarensis* gen. nov., sp. nov., a haloalkalitolerant bacterium of the family cyclobacteriaceae, isolated from a haloalkaline lake and emended descriptions of the genera indibacter, Nitritalea and Belliella. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62(9), 2252–2258. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.038604-0>
- Aranda-Gómez, J., Cerca, M., Rocha-treviño, L., Levresse, G., Yutsis, V., Arzate-flores, J. A., Beraldi-campesi, H. (2017). Structural evidence of enhanced active subsidence at the bottom of a maar: Rincón de Parangueo, México. *The Geological Society of London*, 446. <https://doi.org/http://doi.org/10.1144/SP446.1>
- Aranda-Gómez, J. J., Levresse, G., Martínez, J. P., Ramos-Leal, J. A., Carrasco-Núñez, G., Chacón-Baca, E., ... Noyola-Medrano, C. (2013). Active sinking at the bottom of the Rincón de Parangueo Maar (Guanajuato, México) and its probable relation with Subsidence faults at Salamanca and Celaya. *Boletín de La Sociedad Geológica Mexicana*, 65(1), 169–188.
- Arun, A. B., Young, C., Chen, W., Hung, M., Lai, W., Chou, J., Su, S. P. (2009). *Belliella pelovolcani* sp. nov., isolated from a mud- volcano in Taiwan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, (59), 2534–2537. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.009753-0>
- Awramik, S. (1992). The History and Significance of Stromatolites. In *Early Organic Evolution: Implications for Mineral and Energy Resources* (pp. 435–449).
- Berelson, W. M., Corsetti, F. A., Pepe-Ranne, C., Hammond, D. E., Beaumont, W., & Spear, J. R.

- (2011). Hot spring siliceous stromatolites from Yellowstone National Park: Assessing growth rate and laminae formation. *Geobiology*, 9(5), 411–424. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2011.00288.x>
- Bey, B. S., Fichot, E. B., Dayama, G., Decho, A. W., & Norman, R. S. (2010). Extraction of high molecular weight DNA from microbial mats. *BioTechniques*, 49(3), 631–640. <https://doi.org/10.2144/000113486>
- Boldareva, E. N., Akimov, V. N., Boychenko, V. A., Stadnichuk, I. N., Moskalenko, A. A., Makhneva, Z. K., & Gorlenko, V. M. (2008). *Rhodobaca barguzinensis* sp. nov., a New Alkaliphilic Purple Nonsulfur Bacterium Isolated from a Soda Lake of the Barguzin Valley (Buryat Republic, Eastern Siberia). *Microbiology*, 77(2), 241–254. <https://doi.org/10.1134/S0026261708020148>
- Boldareva, E. N., Bryantseva, I. A., Tsapin, A., Nelson, K., Sorokin, D. Y., Tourova, T. P., Gorlenko, V. M. (2007). The new alkaliphilic bacteriochlorophyll a-containing bacterium *Roseinatronobacter monicus* sp. nov. from the hypersaline soda Mono Lake (California, United States). *Microbiology*, 76(1), 82–92. <https://doi.org/10.1134/s0026261707010122>
- Burns, B. P., Goh, F., Allen, M., & Neilan, B. A. (2004). Microbial diversity of extant stromatolites in the hypersaline marine environment of Shark Bay, Australia. *Environmental Microbiology*, 6(10), 1096–1101. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00651.x>
- Cai, M., Wang, L., Cai, H., Li, Y., Wang, Y. N., Tang, Y. Q., & Wu, X. L. (2011). *Salinarimonas ramus* sp. nov. and *Tessaracoccus oleiagri* sp. nov., isolated from a crude oil-contaminated saline soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(8), 1767–1775. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.025932-0>
- Canet, C., Prol-Ledesma, R. M., Torres-Alvarado, I., Gilg, H. A., Villanueva, R. E., & Cruz, R. L. S. (2005). Silica-carbonate stromatolites related to coastal hydrothermal venting in Bahía Concepción, Baja California Sur, Mexico. *Sedimentary Geology*, 174(1–2), 97–113. <https://doi.org/10.1016/j.sedgeo.2004.12.001>
- Cano-Cruz, M., & Carrasco-Núñez, G. (2008). Evolución de un cráter de explosión (maar) riolítico: Hoya de Estrada, campo volcánico Valle de Santiago, Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 25(3), 549–564.
- Carrera-Hernández, J. J., Levresse, G., Lacan, P., & Aranda-Gómez, J. J. (2016). A low cost technique for development of ultra-high resolution topography: application to a dry maar's bottom. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 33(1), 122–133.
- Casaburi, G., Duscher, A. A., Reid, R. P., & Foster, J. S. (2016). Characterization of the stromatolite microbiome from Little Darby Island, The Bahamas using predictive and whole shotgun

- metagenomic analysis. *Environmental Microbiology*, 18(5), 1452–1469. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13094>
- Casanova, J. (1986). East African Rift stromatolites. *Geological Society, London, Special Publications*, (25). <https://doi.org/>, <https://doi.org/10.1144/GSL.SP.1986.025.01.17>
- Casanova, J. (1994). Stromatolites from the east african rift: a synopsis. In J. Bertrand-Sarfati & C. Monty (Eds.), *Phanerozoic Stromatolites II* (pp. 193–226).
- Castro-Contreras, I., Gingras, M. K., Pecoits, E., Aubet, R., Petrash, D., Castro-contreras, S. M., Konhauser, K. O. (2013). Textural and Geochemical Features of Freshwater Microbialites From Laguna Baxalar, Quintana Roo, Mexico. *Society for Sedimentary Geology*, 29(5), 192–209. Recuperado de <http://www.bioone.org/doi/full/10.2110/palo.2013.063>
- Centeno, C. M., Legendre, P., Beltrán, Y., Alcántara-Hernández, R. J., Lidström, U. E., Ashby, M. N., & Falcón, L. I. (2012). Microbialite genetic diversity and composition relate to environmental variables. *FEMS Microbiology Ecology*, 82(3), 724–735. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2012.01447.x>
- Chacón, E., Berrendero Gómez, E., Montejano, G., Malda Barrera, J., & Sánchez-Ramos, M. (2010). Are cyanobacterial mats precursors of stromatolites? En *stromatolites: interaction of microbes with sediments* (pp. 317–341).
- Cortés, E. (2016). *Cianoprocariontes de microbialitas de lagos de cráter de Guanajuato, México*. Tesis maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Couradeau, E., Benzerara, K., Moreira, D., Gérard, E., Kaźmierczak, J., Tavera, R., & López-García, P. (2011). Prokaryotic and eukaryotic community structure in field and cultured microbialites from the alkaline Lake Alchichica (Mexico). *PLoS ONE*, 6(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028767>
- Dupraz, C., & Visscher, P. T. (2005). Microbial lithification in marine stromatolites and hypersaline mats. *Trends in Microbiology*, 13(9), 429–438. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.07.008>
- Egas, C., Barroso, C., Froufe, H. J. C., Pacheco, J., Albuquerque, L., & Costa, M. S. (2014). Complete genome sequence of the Radiation-Resistant bacterium *Rubrobacter radiotolerans* RSPS-4, 1062–1075. <https://doi.org/10.4056/sigs.5661021>
- Escolero, Ó. A., & Alcocer, J. (1996). Deseccación de los lagos cráter del Valle de Santiago, Guanajuato.
- Falcón, L., & Valera, A. (2007). Extracción de Ácidos Nucleicos. En L. Eguiarte, V. Souza, & A. Xitlali (Eds.), *Ecología Molecular* (pp. 499–530).
- Farías, M., Poire, D. G., Arrouy, M. J., & Albarracín, V. H. (2011). Modern stromatolite ecosystems

- at alkaline and hypersaline high-altitude lakes in the Argentinean Puna. En *Stromatolites: Interaction of microbes with sediments* (pp. 431–441).
- Fassbender, H & Bornemisza, E. (1987). *Química de los suelos con énfasis en suelos de América Latina*. San José, Costa Rica: IICA, 167-168
- Felczykowska, A., Krajewska, A., Zielińska, S., & Łos, J. M. (2015). Sampling, metadata and DNA extraction - Important steps in metagenomic studies. *Acta Biochimica Polonica*, 62(1), 151–160. <https://doi.org/10.18388/abp.2014>
- Foster, J., & Green, S. (2011). Microbial diversity in modern stromatolites. En *Stromatolites: Interaction of microbes with sediments* 18: 383–405). <https://doi.org/10.1007/978-94-007-0397-1>
- Fouke, B. W. (2011). Hot-spring Systems Geobiology: Abiotic and biotic influences on travertine formation at Mammoth Hot Springs, Yellowstone National Park, USA. *Sedimentology*, 58(1), 170–219. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3091.2010.01209.x>
- Gérard, E., Ménez, B., Couradeau, E., Moreira, D., Benzerara, K., Tavera, R., & López-García, P. (2013). Specific carbonate-microbe interactions in the modern microbialites of Lake Alchichica (Mexico). *The ISME Journal*, 7(10), 1997–2009. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.81>
- Grotzinger, J. P. (1990). Geochemical model for Proterozoic stromatolite decline. *American Journal of Science*, 290 A, 80–103.
- Hanada, S., Kawase, Y., Hiraishi, a, Takaichi, S., Matsuura, K., Shimada, K., & Nagashima, K. V. (1997). *Porphyrobacter tepidarius* sp. nov., a moderately thermophilic aerobic photosynthetic bacterium isolated from a hot spring. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47(2), 408–413. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-408>
- Hicks, M., Hargrave, J., & Scholz, C. (2012). *Microbialites from around Lake Turkana : Macro- , Meso- , and Microstructures* (Vol. 50662).
- Horodyski, R. J., & Vonder Haar, S. P. (1975). Recent Calcareous Stromatolites from laguna Mormona (Baja California) Mexico. *Journal of Sedimentary Petrology*, 45(4), 894–906. <https://doi.org/10.1306/212F6E7E-2B24-11D7-8648000102C1865D>
- Jiang, L., Xu, H., Shao, Z., & Long, M. (2014). *Defluviimonas indica* sp. nov., a marine bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent environment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64(6), 2084–2088. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.061614-0>
- Jones, B., & Renaut, R. W. (1996). Morphology and growth of aragonite crystals in hot-spring travertines at Lake Bogoria, kenia Rift Valley. *Sedimentology*, 43, 323–340.

- Kanso, S., & Patel, B. K. C. (2003). Microvirga subterranea gen. nov., sp. nov., a moderate thermophile from a deep subsurface Australian thermal aquifer. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(2), 401–406. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02348-0>
- Kazmierczak, J., & Kempe, S. (2006). Genuine modern analogues of Precambrian stromatolites from caldera lakes of Niuafu'ou Island, Tonga. *Naturwissenschaften*, 93(3), 119–126. <https://doi.org/10.1007/s00114-005-0066-x>
- Kaźmierczak, J., Kempe, S., Kremer, B., López-García, P., Moreira, D., & Tavera, R. (2011). Hydrochemistry and microbialites of the alkaline crater lake Alchichica, México. *Facies*, 57(4), 543–570. <https://doi.org/10.1007/s10347-010-0255-8>
- Kempe, S., & Kazmierczak, J. (1990). Chemistry and stromatolites of the sea-linked Satonda Crater Lake, Indonesia" A recent model for the Precambrian sea?. *Chemical Geology*, 81, 299–310.
- Kempe, S., Kazmierczak, J., Reimer, A., Landmann, G., & Reitner, J. (1996). Microbialites and hydrochemistry of the Crater Lake of Satonda - a status report. *Global and Regional Controls on Biogenic Sedimentation*. 59-63.
- Kienel, U., Bowen, S. W., Byrne, R., Park, J., Böhnelt, H., Dulski, P., Negendank, J. F. W. (2009). First lacustrine varve chronologies from Mexico: Impact of droughts, ENSO and human activity since AD 1840 as recorded in maar sediments from Valle de Santiago. *Journal of Paleolimnology*, 42(4), 587–609. <https://doi.org/10.1007/s10933-009-9307-x>
- Levré, G., Aranda-Gómez, J. J., Bard Rollion, C., Cerca-Martínez, M., Rocha-Treviño, L., Pacheco-Martínez, J., Arzate-Flores, J. (2014). C-O-B isotopic evolution of lacustrine microbialites of Rincón de Parangueo maar, México. In *Abstracts Volume 5th International Maar conference*. 132–133.
- Milford, A. D., Achenbach, L. a, Jung, D. O., & Madigan, M. T. (2000). Rhodobaca bogoriensis gen. nov. and sp. nov., an alkaliphilic purple nonsulfur bacterium from African Rift Valley soda lakes. *Archives of Microbiology*, 18–27.
- Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Publicada en el Diario Oficial de la Federación.
- Papineau, D., Walker, J. J., Mojzsis, S. J., & Pace, N. R. (2005). Composition and Structure of Microbial Communities from Stromatolites of Hamelin Pool in Shark Bay , Western Australia Composition and Structure of Microbial Communities from Stromatolites of Hamelin Pool in Shark Bay , Western Australia. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), 4822–4832. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.8.4822>

- Pettersson, E., Lundeberg, J., & Ahmadian, A. (2009). Generations of sequencing technologies. *Genomics*, 93(2), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2008.10.003>
- Reid, R. P., Macintyre, I. G., Browne, K. M., Steneck, R. S., & Miller, T. (1995). Modern marine stromatolites in the Exuma Cays, Bahamas: Uncommonly common. *Facies*, 33(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/BF02537442>
- Reid, P., López Gaspar, P., Bowlin E., Custals L., Andres, M., (2011) Microbialites and sediments: a 2-year record of burial and exposure of stromatolites and thrombolites at Highborne Cay Bahamas. Tewari and J. Seckbach (eds.), *En Stromatolites: Interaction of Microbes with Sediments, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology* 18, 407–425.
- Renaut, R. W., Jones, B., Tiercelin, J., & Tarits, C. (2002). Sublacustrine precipitation of hydrothermal silica in rift lakes : evidence from Lake Baringo , central Kenya Rift Valley, 148, 235–257.
- Riding, R. (Ed.). (1991). *Calcareous Algae and Stromatolites*. Springer- Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-52335-9>
- Riding, R. (2000). Microbial carbonates : the geological record of calcified bacterial-algal mats and biofilms. *Sedimentology*, 47, 179–214.
- Riding, R., & Awramik, S. (Eds.). (2000). *Microbial Sediments*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-04036-2>
- Roca, P., Oliver, J., & Rodríguez, A.M. (2003) *Bioquímica. Técnicas y Métodos*. Editorial Hélice. 296-297.
- Rocha Salavarieta, P. J. (2002). Teoría y práctica para la extracción y purificación del ADN de palma de aceite. *Revista Palmas*, 23(3), 9–17. Recuperado de: <http://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/921>
- Rocha Treviño, L. (2015). Análisis de la deformación y hundimiento activo causado por la desecación del lago del mar Rincón de Parangueo (Guanajuato, México) mediante modelos análogos y perfiles de Radar de Penetración Terrestre (RPT). Tesis maestría. UNAM. Centro de Geociencias.
- Rodicio, M. D. R., & Mendoza, M. D. C. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 22(4), 238–245. <https://doi.org/10.1157/13059055>
- Rodríguez-Aranda, P., & Sanz-Montero, E. (2015). Tapices microbianos: los organismos que fabrican estromatolitos. *Enseñanza de Ciencias de La Tierra*, 23(2), 208–219.

- Saghaï, A., Zivanovic, Y., Zeyen, N., Moreira, D., Benzerara, K., Deschamps, P., López-García, P. (2015). Metagenome-based diversity analyses suggest a significant contribution of non-cyanobacterial lineages to carbonate precipitation in modern microbialites. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00797>
- Shi, W., Takano, T., & Liu, S. (2012). *Anditalea andensis* gen. nov., sp. nov., an alkaliphilic, halotolerant bacterium isolated from extreme alkali-saline soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 102(4), 703–710. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9770-7>
- Sorokin, D. Y., van Pelt, S., Tourova, T. P., & Evtushenko, L. I. (2009). *Nitriliruptor alkaliphilus* gen. nov., sp. nov., a deeplineage haloalkaliphilic actinobacterium from soda lakes capable of growth on aliphatic nitriles, and proposal of Nitriliruptoraceae fam. nov. and Nitriliruptorales ord. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(2), 248–253. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.002204-0>
- Souza, V., Siefert, J. L., Escalante, A. E., Elser, J. J., & Eguiarte, L. E. (2012). The Cuatro Ciénegas Basin in Coahuila, Mexico: An Astrobiological Precambrian Park, 12(7), 641-647. <https://doi.org/10.1089/ast.2011.0675>
- Sugihara, C., Yanagawa, K., Okumura, T., Takashima, C., Harijoko, A., & Kano, A. (2016). Transition of microbiological and sedimentological features associated with the geochemical gradient in a travertine mound in northern Sumatra, Indonesia. *Sedimentary Geology*, 343, 85–98. <https://doi.org/10.1016/j.sedgeo.2016.07.012>
- Thomas, Torsten, Jack Gilbert, and Folker Meyer. 2015. "A 123 of Metagenomics." In *Encyclopedia of Metagenomics: Genes, Genomes and Metagenomes: Basics, Methods, Databases and Tools*, ed. Karen E Nelson. Boston, MA: Springer US, 1–9. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7478-5_728.
- Valenzuela-González, F., Casillas-Hernández, R., Villalpando, E., Vargas-Albores, F. 2015. "The 16S rRNA Gene in the Study of Marine Microbial Communities." *Ciencias Marinas* 41(4): 297–313.
- Vieites, José M et al. 2010. "Molecular Methods to Study Complex Microbial Communities." In *Metagenomics: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* , 1–37. https://doi.org/10.1007/978-1-60761-823-2_22
- Wade, B., & Garcia-Pichel, F. (2003). Evaluation of DNA Extraction Methods for Molecular Analyses of Microbial Communities in Modern Calcareous Microbialites. *Geomicrobiology Journal*, 20(6), 549–561. <https://doi.org/10.1080/01490450390249460>
- Wang, Y.-X., Liu, Y.-P., Cui, X.-L., Huo, Q.-Q., Li, Y.-P., Xiao, W., Lai, Y.-H. (2016). *Mongoliibacter ruber* gen. nov., sp. nov., a haloalkalitolerant bacterium of the family Cyclobacteriaceae

- isolated from a haloalkaline lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(2), 1088–1094. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000836>
- Woese, C. R., O. Kandler, and M. L. Wheelis. 1990. "Towards a Natural System of Organisms: Proposal for the Domains Archaea, Bacteria, and Eucarya." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87(12): 4576–79. <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.87.12.4576>.
- Yang, R., Zhang, L. P., Guo, L. G., Shi, N., Lu, Z., & Zhang, X. (2008). *Nocardiopsis valliformis* sp. nov., an alkaliphilic actinomycete isolated from alkali lake soil in China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58(7), 1542–1546. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65090-0>
- Zhong, Z. P., Liu, Y., Wang, F., Zhou, Y. G., Liu, H. C., & Liu, Z. P. (2016). *Psychroflexus salis* nov., sp. nov. and *psychroflexus planctonicus* nov., sp. nov., isolated from a salt lake. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66(1), 125–131. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000687>