



**Bacterias endolíticas cultivables en minerales
(Cuarzo, Feldespato y Calcita) provenientes de
muestreos geológicos en áreas de Villa de Leyva,
Boyacá y Pescadero, Santander (Colombia)**

Julián Andreas Corzo Acosta

Estudiante de Maestría en Ciencias - Geología

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Geociencias
Bogotá, Colombia
2018

Bacterias endolíticas cultivables en minerales (Cuarzo, Feldespato y Calcita) provenientes de muestreos geológicos en áreas de Villa de Leyva, Boyacá y Pescadero, Santander (Colombia)

Julián Andreas Corzo Acosta

Estudiante de Maestría en Ciencias- Geología
jacorzoa@unal.edu.co

Tesis de investigación de maestría presentada como requisito parcial para optar al título de:
Máster en Ciencias – Geología

Directora: **Nadejda Tchegliakova**

Profesora asociada, MSc; PhD Estratigrafía y Micropaleontología
Departamento de Geociencias, Facultad de Ciencias

Codirectora: **Jimena Sánchez Nieves**

Profesora asociada, Bacterióloga, MSc microbiología, candidata a PhD Ciencias Agropecuarias
Departamento de Biología. Facultad de Ciencias

*Jimena Sánchez N.
cc: 52.023568 Bogotá*

Línea de investigación:
Geomicrobiología

Grupo de investigación: GCPA (Grupo de Ciencias Planetarias y Astrobiología)

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Geociencias
Bogotá, Colombia
2018

Cuando tenía 7 años mientras veíamos un capítulo de Cosmos, mi abuela se dirigió a mí con la siguiente oración: “Yo quiero que mijito se convierta en un gran científico, como Carl Sagan”

A mi abuela, María Inés de Acosta

Por desear para mí, el camino de la curiosidad y fascinación por la naturaleza.

*Volaré,
volaré al jardín del cielo,
en un pájaro violento,
en un corredor del viento,
en un caballo de fuego.*

*Volaré,
quiero ser de noche el dueño
de los ojos de la altura
y he de fundir la montura
para galopar mi sueño.
Silvio Rodríguez - En el jardín de la noche*

El cosmos es todo lo que es, todo lo que fue, todo lo que será.

Nuestras contemplaciones más tibias del Cosmos nos conmueven, un escalofrío recorre nuestro espinazo, la voz se nos quiebra. Hay una vaga sensación, como un recuerdo lejano de desplome desde una gran altura.

Sabemos que nos estamos acercando al mayor de los misterios.

Alguna parte de nuestro ser nos dice, que esta es nuestra cuna. Deseamos regresar porque el cosmos está en nosotros.

Estamos hechos de estrellas, somos el medio de que el cosmos se conozca a sí mismo.

Carl Sagan – Cosmos, la Orilla del Océano Cósmico

Agradecimientos

A la universidad Nacional de Colombia por brindarme no solo la educación necesaria para realizar esta investigación, sino también por proveer espacios culturales y deportivos que me permitieron desarrollarme como persona y como ser humano íntegro.

Al Departamento de Geociencias de la Universidad Nacional de Colombia por brindarme apoyo económico a través de la Beca Auxiliar Docente y por proveer los laboratorios necesarios (Petrografía, FRX y MEB) para desarrollar la investigación.

Al Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia por facilitar el espacio de trabajo en el laboratorio de Microbiología del Suelo, el cual fue fundamental para cumplir a cabalidad la presente investigación.

A mis directoras Nadejda Tchegliakova y Jimena Sánchez por su guía, dedicación y empeño en transferirme sus conocimientos y experiencias.

A los miembros de los grupos Ecología Microbiana y GCPA de la Universidad Nacional de Colombia que brindaron su ayuda y apoyo en desarrollo de algunas tareas de laboratorio.

A Jimmy Corzo, profesor Titular del Departamento de Estadística, Universidad Nacional de Colombia, por sus grandes aportes en el tratamiento estadístico de los datos.

A Gloria Gutiérrez, profesora pensionada del Departamento de Biología, por sus aportes en la interpretación de las imágenes de MEB

A Elkin Ruíz, quien fue un mentor para mí en las técnicas básicas en microbiología.

A Sandra Carolina Londoño (PhD, Geological Sciences, Arizona State University), Natalia Román (MSc, Ciencias de la Atmósfera), David Tovar (Msc, Planetary Sciences, University of Minnesota) a Yael Natalia Méndez (Microbióloga. Universidad de los Andes) por sus correcciones y sugerencias en Microbiología, Meteorología, Ciencias Planetarias y Geomicrobiología respectivamente.

A los geólogos Fabian Saavedra y Manuel Eduardo Gómez por acompañarme y ayudarme en la salida de campo.

Al estudiante de Geografía Pedro Pablo Acosta Morales por su ayuda en la digitalización de los mapas.

Al geólogo Jorge Gálvis por su apoyo en el desarrollo de tareas del laboratorio de microbiología, sin su colaboración este proceso habría sido mucho más demorado.

Al geólogo Ángel Verbel por sus sugerencias y aportes en el momento de hacer la petrografía.

Al geólogo Javier Eduardo Suarez por sus sugerencias en la temática planetaria y astrobiológica.

A la bióloga Juanita Herrera por su apoyo y colaboración en labores del laboratorio de microbiología.

Al ingeniero civil Nicolás Duque por sus aportes y sugerencias en el área de meteorología.

Finalmente, a mi madre María del Pilar Acosta, pues sin sus cuidados, apoyo y cariño no habría podido llegar hasta donde estoy ahora.

Resumen

Este trabajo es pionero en la investigación geomicrobiológica en Colombia y abre camino a futuras investigaciones en las que se puedan abordar fenómenos geológicos y microbiológicos desde una visión integral utilizando múltiples ramas de conocimiento. Las comunidades microbianas endolíticas han sido reportadas en zonas áridas e hiperáridas alrededor del mundo y han sido encontradas en diversas litologías que aprovechan como microhábitat y cuyos elementos químicos posiblemente actúan como fuente nutricional. Esta tesis reúne información geológica y microbiológica para detectar la relación entre comunidades microbianas endolíticas nativas y tres minerales formadores de roca (calcita, feldespato alcalino y cuarzo) en Colombia en dos zonas de estudio: Villa de Leyva, Boyacá y Pescadero, Aratoca (Santander). Para este propósito se realizaron ensayos que ayudaron a determinar las características geoquímicas de los minerales (Fluorescencia de Rayos X, Microscopía Electrónica de Barrido, Petrografía) y procedimientos microbiológicos (Aislamiento en Medios de Cultivo, Descripción Macro y Microscópica, Tinción de Gram y Perfil Físicoquímico) para caracterizar los morfotipos de microorganismos endolíticos nativos. También se compiló información climatológica en las áreas de estudio. Finalmente, por medio de un Análisis de Correspondencias Múltiples se analizó la información recopilada. Dentro de los hallazgos recogidos en este estudio se encontró no solamente la presencia de bacterias y levaduras dentro de tres mineralogías sino también que dichas comunidades microbianas endolíticas cultivables utilizan Ca, C, Si, Al y K como macronutrientes y pequeñas trazas de otros elementos para su crecimiento. La información y metodología aquí reunidas sirven para proponer biomarcadores en Astrobiología y para plantear enfoques en Geomicrobiología, donde se estudie cómo, los factores climáticos determinan la aparición de los microorganismos endolíticos.

Palabras clave: Astrobiología, Comunidades microbianas endolíticas, Ecología Microbiana, Geomicrobiología, Minerales formadores de rocas.

Abstract

This is a pioneer work in geomicrobiological research in Colombia and open new paths to future investigations where some geological and microbiological phenomena could be studied with a very new integral vision using multiple branches of knowledge. Endolithic microbial communities have been reported in arid and hyperarid zones around the world. Also, different lithologies have been found to be used by bacteria as a microhabitat whose chemical elements may act as nutritional source. This paper gathers geological and microbiological information to determine the affinity between native endolithic microbial communities and three rock- forming minerals (calcite, K feldespar and quartz) in two zones of study located in Colombia: Villa de Leyva Boyacá and Pescadero, Aratoca (Santander). For this purpose, X Ray Fluorescence; Scan Electronic Microscopy and Petrography were carried out to determine the geochemical characteristics of the minerals. Also, microbiological procedures (Culture techniques, Gram stain and Physicochemical Profile) were performed to characterize the morphotypes of native endolithic microorganisms. Next to that, climatological data were also collected for the zones under study. Finally, for statistical analysis the method of Multiple Correspondence Analysis was used to analyze the collected information. Within the findings collected in this study we found not only the presence of bacteria and yeast within the three mineralogies but also that mentioned endolithic culturable microbial communities harness Ca, C, Si, Al y K as macronutrients and small traces of other elements for their growth. The data and methodology collected here is useful for suggesting biosignatures in Astrobiology and set out approaches to Geomicrobiology, where studies about how climate factors determine microbial endolithic colonization were made.

keywords: Astrobiology, Endolithic microbial communities, Microbial ecology, Geomicrobiology, Rock- forming minerals, biosignatures.

Tabla de Contenido

Agradecimientos	4
1 Introducción	14
1.1 Pregunta de investigación	17
1.2 Justificación	17
1.3 Objetivo general	21
1.4 Objetivos específicos	21
2 Marco teórico	22
2.1 Condiciones climáticas de Villa de Leyva y Pescadero.....	22
Villa de Leyva, Boyacá:	24
Sector Pescadero, Aratoca (Santander):	26
2.2 Marco Geológico de Villa de Leyva y Pescadero	30
Villa de Leyva, Boyacá:	30
Características del Travertino (Qt)	32
Sector Pescadero, Aratoca (Santander):	35
2.3 Marco geomicrobiológico	41
3 Metodología	53
3.1 Salida de campo	53
3.2 Análisis geológicos.....	55
3.3 Cultivo de microorganismos en laboratorio y pruebas fisicoquímicas.....	57
3.4 Análisis estadísticos.....	61
4 Resultados.....	64
4.1 Resultados geológicos.....	64
4.2 Resultados microbiológicos	75
4.3 Resultados estadísticos:	90
5 Discusión	98
6 Conclusiones	119
Referencias	122

Lista de figuras

Figura 1-1. Izquierda, esquema de Colombia con zonas de muestreo donde se recolectaron las muestras de minerales, escala 1:8.000.000. Derecha superior, departamento de Santander y zona de muestreo de feldespato alcalino y cuarzo, escala 1:4.000.000. Derecha inferior, departamento de Boyacá y zona de muestreo del travertino, escala 1:4.000.000.	20
Figura 2-1. Gráfica con la precipitación mensual multianual en Villa de Leyva.	25
Figura 2-2. Marcha anual de la precipitación (promedio multianual 1974-1997) de Capitanejo (6° 32'N-72° 41'W), departamento de Santander. Tomado de: (Albesiano, 2003).	28
Figura 2-3. Precipitación mensual multianual en Cepitá.	29
Figura 2-4. Mapa geológico generalizado de Villa de Leyva y zona de muestreo de la calcita, coordenadas: 5,6067; -73,525366. Escala 1:50000.	34
Figura 2-5. Mapa geológico generalizado y zona de muestreo de feldespato alcalino y cuarzo, coordenadas: 6,816839; -73,00564. Escala 1:50000.	37
Figura 2-6. Clasificación de los nichos litobióticos. Recuperado de: Wierzchos (2012)	42
Figura 3-1. Izquierda, afloramiento de mina de travertino en Villa de Leva. Derecha, Muestra de mano de calcita previa a proceso de embalaje.	54
Figura 3-2. Izquierda, afloramiento a 1,4 km al sur del puente de Pescadero. Derecha superior, muestras cuarzo y feldespato alcalino previas a proceso de embalaje. Derecha inferior, fragmento pegmatítico de feldespato alcalino, cuarzo y moscovita	54
Figura 3-3. Calcita en medios cruzados y salinos.	63
Figura 4-1. Sección delgada de Cal 1, aumento 4X. Izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos	64
Figura 4-2 . Sección delgada de Cal 2, aumento 4X. Izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos.	65
Figura 4-3. Figura de interferencia uniáxica negativa de Cal 1.	65
Figura 4-4. Sección delgada de microclina 2, aumento 60X. Izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos.	66
Figura 4-5. Sección delgada de microclina 2, aumento 4X. Moscovita centrada, izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos.	67
Figura 4-6. Sección delgada de microclina 1, aumento 60X. Sericita centrada, izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos.	67
Figura 4-7. Sección delgada de Q2, aumento 4X. Izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos.	68
Figura 4-8. Sección delgada de Q1. Sericita centrada, aumento 60 X, izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos	69
Figura 4-9. Izquierda, foto panorámica de MEB en calcita, aumento 100X. Derecha, foto panorámica de MEB en calcita, aumento 600X.	71
Figura 4-10. Posible bacilo adherido a una fisura en el interior de la muestra de calcita. Aumento 36015X	72
Figura 4-11. Izquierda, foto panorámica de MEB en feldespato alcalino, aumento 100X.	73
Figura 4-12. Izquierda, foto panorámica de MEB en cuarzo, aumento 100X. Derecha, foto panorámica de MEB en cuarzo, aumento 500X.	74

Figura 4-13. Poro dentro de muestra de cuarzo. Aumento 15000X.....	74
Figura 4-14. Porcentaje de aislamientos con características microscópicas diferentes empleando tinción de Gram.	81
Figura 4-15. Diplococos Gram positivos, C12. Aumento 100X	82
Figura 4-16. Izquierda, bacilos Gram positivos, morfotipo FK13 (aumento 100X). Derecha, bacilos Gram positivos, Q7 (aumento 100X).	83
Figura 4-17. Hongo levaduriforme, morfotipo Q8 (aumento 100X).	83
Figura 4-18. Plano ACM calcita	93
Figura 4-19. Tabla ACM feldespato alcalino	95
Figura 4-20. Tabla ACM de cuarzo	97
Figura 5-1. La radiación solar incidiendo sobre la superficie terrestre. La insolación $I_i = S \sin \alpha$ depende del ángulo de incidencia, es máxima cuando $\alpha = 90^\circ$ y mínima cuando $\alpha = 0$. Recuperado de (Zuñiga Lopez, 2015).	99
Figura 5-2. Altura solar a mediodía sobre los paralelos notables. Los trópicos delimitan la zona en la que en algún día del año la altura máxima del Sol es de 90° , y los círculos polares que delimitan las zonas en las que hay una noche de 24 horas y un día sin puesta de sol. Recuperado de (Zuñiga Lopez, 2015). ...	100
Figura 5-3. El espesor de atmósfera que la radiación encuentra en su camino a la superficie terrestre depende de la inclinación de los rayos solares. Recuperado de (Zuñiga Lopez, 2015)	101
Figura 5-4. Mapa de irradiación global horizontal diaria en Colombia. Recuperado de (IDEAM, 2014-2015).	102
Figura 5-5. Mapa de irradiación global horizontal diaria en el desierto de Atacama, Chile. Recuperado de (Limited, 2005).	103

Lista de Tablas

Tabla 2-1. Equivalencia de elevación con temperatura. Recuperado de: IDEAM como se citó en (Angel, 2015).....	27
Tabla 3-1. Reactivos y procedimiento para la tinción del Gram.....	59
Tabla 3-2. Morfotipos cultivados a partir de calcita y su crecimiento en medio enriquecido con feldespato alcalino y cuarzo y en las diferentes concentraciones de sal.	62
Tabla 4-1. Fluorescencia de rayos X, porcentaje en peso de elementos mayores para calcita, cuarzo y feldespato alcalino.....	70
Tabla 4-2. Número de morfotipos aislados en los diferentes minerales.....	76
Tabla 4-3. Descripción morfológica de los morfotipos obtenidos de calcita.....	77
Tabla 4-4. Descripción morfológica de los morfotipos obtenidos de alcalino.....	78
Tabla 4-5. Descripción morfológica de los morfotipos obtenidos de cuarzo	79
Tabla 4-6. Número de morfotipos con características microscópicas diferentes empleando tinción de Gram	80
Tabla 4-7. Aislamientos que crecieron en medio enriquecido con el mineral de origen.	84
Tabla 4-8. Morfotipos obtenidos a partir de calcita y su crecimiento según efecto de diversos factores fisicoquímicos	85
Tabla 4-9. . Morfotipos obtenidos a partir de feldespato alcalino y su crecimiento según efecto de diversos factores fisicoquímicos	86
Tabla 4-10. Morfotipos obtenidos a partir de cuarzo y su crecimiento según efecto de diversos factores fisicoquímicos	87
Tabla 4-11. Crecimiento y coincidencia de microorganismos cultivadas a partir de calcita sembradas en	88
Tabla 4-12. Crecimiento y coincidencia de bacterias cultivadas a partir de feldespato alcalino sembradas en medios enriquecidos con los otros minerales.	89
Tabla 4-13. Crecimiento y coincidencia de bacterias cultivadas a partir de cuarzo sembradas en medios enriquecidos con los otros minerales.	89
Tabla 5-1. Características climatológicas de la zona con más irradiación en el desierto de Atacama, Villa de Leyva y Pescadero. Tabla construida con datos de (IDEAM, 2014-2015 y Rondanelli, 2014).....	107
Tabla 5-2. Tabla comparativa con el conteo de morfotipos epilíticos extradós de la superficie de tres rocas (Corzo, 2015) y conteo de morfotipos endolíticos extraídos del interior de tres minerales formadores de rocas.....	109
Tabla 5-3. Tabla comparativa con el porcentaje en peso de elementos mayores en las muestras de roca analizadas en Corzo (2015) y los minerales analizados en este estudio.	110

1 Introducción

La Geología y la Biología son dos ciencias naturales que, si bien poseen principios y estructuras claramente independientes, en su desarrollo histórico y aplicación han generado robustas y productivas ramas mixtas de conocimiento, entre las que se encuentran la Paleontología, la Bioestratigrafía, la Geomicrobiología y la Astrobiología (Ehrlich, 1998; Hurst, 2016; Gargaud, Martin & Claeys, 2007 y Noffke, 2010). El desafío que se presenta para los científicos al abordar estos campos de conocimiento requiere competencias en ambas ciencias, por lo tanto, sus avances, especialmente los recientes, están cada vez más ligados a visiones integrales donde el trabajo científico grupal es un denominador común (Ehrlich, 1998; Gargaud, 2007 y Noffke, 2010).

Los campos de estudio que abordan conocimientos geobiológicos como Bioestratigrafía, Geología Histórica, Geomicrobiología y Paleontología revelan evidencia sólida de que el origen y evolución de la vida y su dinámica en la Tierra ha estado estrechamente ligada a la evolución geológica (Hurst, 2016; Dietrich, Tice, & Newman, 2006 y Russell, Hall, & Martin, 2010). Bajo esta visión, el estudio de la dinámica entre la biósfera y la litósfera adquiere un valor preponderante en el trabajo interdisciplinar entre biólogos y geólogos. Comprender el rol de la gran biomasa de microorganismos en la historia geológica de la Tierra y en los procesos actuales de la biósfera y litósfera, ha permitido estudiar fenómenos geológicos que tradicionalmente han sido considerados exclusivamente como resultado de condiciones abióticas. Este es el caso de espeleotemas en las cavernas cársticas (Blyth & Frisia, 2008), los travertinos comúnmente asociados a fuentes hídricas (Pentecost, Bayari, & Yesertener, 1997), la erosión de las rocas (Brehm, Gorbushina, & Mottershead, 2005; Rogers & Bennett, 2004), la precipitación de minerales por parte de las

comunidades bacterianas epilíticas (Konhauser *et al.*, 1993), láminas de materia orgánica en rocas sedimentarias (Osorio & Sánchez, 2017) e incluso los estromatolitos (Grotzinger & Rothman, 1996).

Por lo anterior, es de gran importancia identificar los patrones de distribución de bacterias en determinados tipos de rocas o minerales. De forma adicional, las relaciones fundamentales que podrían dirigir la emergencia de ciertos tipos de poblaciones microbiológicas en particulares grupos de minerales, contribuyen al entendimiento de los procesos básicos de la adaptación de poblaciones microbianas a microhábitats influenciados por el substrato mineral (Carson, Campbell, Rooney, Clipson, & Gleeson, 2009; Gleeson *et al.*, 2005; Konhauser *et al.*, 1993 y Omelon, 2016).

El presente trabajo retoma el estudio realizado por Corzo (2015), en el cual mediante técnicas de cultivo tradicionales en microbiología se obtuvieron aislamientos bacterianos epilíticos de tres rocas (biomicrita, cuarzoarenita y limolita) de la Formación Churuvita en Villa de Leyva, Boyacá (Colombia). En dicho trabajo se llevaron a cabo ensayos geológicos (fluorescencia de rayos X y petrografía) en las tres litologías para conocer los elementos químicos que posiblemente actúan como fuente nutricional para las bacterias. Sin embargo, como resultado de la fluorescencia de rayos X, se encontró una gran abundancia de potenciales nutrientes para las comunidades bacterianas tales como Na_2O , MgO , Al_2O_3 , SiO_2 , P_2O_5 , S, K_2O , CaCO_3 , TiO_2 , MnO , Fe_2O_3 , Zn y Sr. Estos elementos químicos están presentes en las tres litologías en distintas proporciones, lo que no permitió establecer una relación clara entre los elementos químicos y los morfotipos obtenidos

a partir de la superficie de las rocas. En el presente estudio se evaluó la presencia de microorganismos cultivables endolíticos en tres muestras de minerales formadores de roca que les sirve como fuente nutricional. Cabe anotar que existe la posibilidad de que los minerales al tener menor variedad de elementos químicos dentro de su estructura cristalina puedan limitar los nutrientes necesarios para el desarrollo microbiano en dichas muestras.

Por su parte, los microorganismos asociados a un sustrato lítico son comúnmente conocidos como litobióticos¹, los cuales se definen como aquellos organismos capaces de adquirir los recursos necesarios para su crecimiento únicamente dentro o bajo las superficies rocosas (Omelon, 2016). Estos microorganismos se dividen en epilíticos (“Epi” =sobre; “lítico” =roca) y endolíticos (“Endo” =dentro; “lítico” =roca) (Goublic , Friedmann, & Schneider , 1981). En particular el presente estudio está enfocado en los microorganismos endolíticos, los cuales se subdividen de acuerdo con el espacio vacío que ocupan dentro de la roca o mineral. Así, los microorganismos endolíticos pueden agruparse en los intersticios de grietas y fisuras (chasmoendolíticos) o en los espacios porosos entre los granos minerales (criptoendolíticos). Otros hábitats litobióticos incluyen las superficies ventrales de rocas translúcidas u opacas (hipolíticos), dentro de la parte inferior de rocas translúcidas (hipoendolíticos), o dentro de la porosidad en rocas creadas por medio de perforación activa por microorganismos dentro del sustrato (euendolíticos) (Omelon, 2016).

El hecho de comprometer comunidades microbianas endolíticas a una roca o mineral puede ayudar a proponer dichas sustancias inorgánicas como microhábitat y como biomarcador en

¹ El termino litobiótico es utilizado de acuerdo con Golubic *et al.* (1981) como una denominación general para microorganismos que viven sobre o dentro de las rocas y que ocupan nichos variados.

una superficie planetaria extraterrestre. Con el fin de profundizar en el conocimiento relacionado con el papel que juegan los minerales en cuanto a su potencial de hospedar y proveer fuentes nutricionales a las comunidades microbianas y en particular bacterianas endolíticas, este trabajo aporta evidencias que sugieren una estrecha relación entre los minerales y comunidades microbianas endolíticas nativas en términos de microhábitat y fuente nutricional. Finalmente, su impacto en el ámbito planetario para futuros estudios puede enmarcarse en la importancia que dicha información genera en el ámbito de biomarcadores que ayuden a identificar trazas de vida en el pasado o presente de cuerpos rocosos de nuestro sistema solar.

1.1 Pregunta de investigación

Teniendo en cuenta los reportes de comunidades endolíticas en diversos biomas y diversos tipos de litologías y minerales (Bell , Athey , & Sommerfeld , 1986; Casamatta , Verb , Beaver , & Vis, 2002; Ferris & Lowson , 1997), en el presente estudio se plantea resolver como pregunta: ¿Qué relaciones existen entre los tipos de minerales que sirven de microhábitat y fuente nutricional a las comunidades bacterianas endolíticas cultivables?

1.2 Justificación

Los estudios en Microbiología aplicados a Geociencias en Colombia se han orientado principalmente en el desarrollo de biotecnologías con énfasis en procesos ambientales como biorremediación en las industrias del petróleo (Mariño, 2009) y la minería (Reyes, Vergara, Torres, Díaz, & González, 2016). Sin embargo, la investigación en Geomicrobiología, y más aún en el campo de las Ciencias Planetarias y la Astrobiología, es poca, con lo cual se identifica un alto potencial para futuros proyectos de investigación en nuestro país (Corzo, 2015).

Puntualmente, en el caso de los nichos litobióticos, es necesaria una caracterización precisa de los componentes biológicos y minerales del microhábitat para poder comprender la complejidad biológica de microecosistemas tanto epilíticos como endolíticos (Ascaso C. , 2002). La Ecología Microbiana de los sustratos líticos tiene importantes campos de aplicación en disciplinas tan diferentes como la Astrobiología (Cockell *et al.*, 2009^a; Cockell *et al.*, 2010; Cockell & Stokes , 2004) o en el estudio del biodeterioro del Patrimonio Histórico Monumental (Acaso, 2002; McNamara, Perry, Bearce, Hernandez - Duque, & Mitchell, 2005; Perry, Bearce, Hernandez - Duque, & Mitchell, 2005).

Dentro del campo de la Astrobiología están comprendidos los estudios dirigidos a la búsqueda de vida en Marte y otros cuerpos rocosos del sistema solar. Los objetos de estudio disponibles son meteoritos recolectados en diferentes lugares de la Tierra, cuya proveniencia está asociada a cuerpos parentales tales como asteroides, cometas, lunas y planetas rocosos (Ascaso C. , 2002).

Existe la posibilidad de que alguna vez haya existido vida microbiana fuera de la Tierra, por ello, es importante recordar que las futuras misiones espaciales en la segunda parte del siglo XXI posiblemente se enfoquen en un viaje con retorno desde Marte que proporcione el material necesario para investigar si alguna vez el planeta rojo albergó o alberga vida (Ascaso C. , 2002). Este tipo de misiones facilitarían un ambiente de trabajo en donde sea posible aplicar toda la metodología que se haya estandarizado y toda la experiencia que se haya adquirido en Ecología Microbiana de sustratos líticos terrestres (Ascaso C. , 2002), puesto que la formación y preservación de fósiles microbianos y de biomarcadores tiene un destacado interés en la actualidad en el contexto de estudios en Astrobiología y en la búsqueda de evidencia de vida en otros planetas

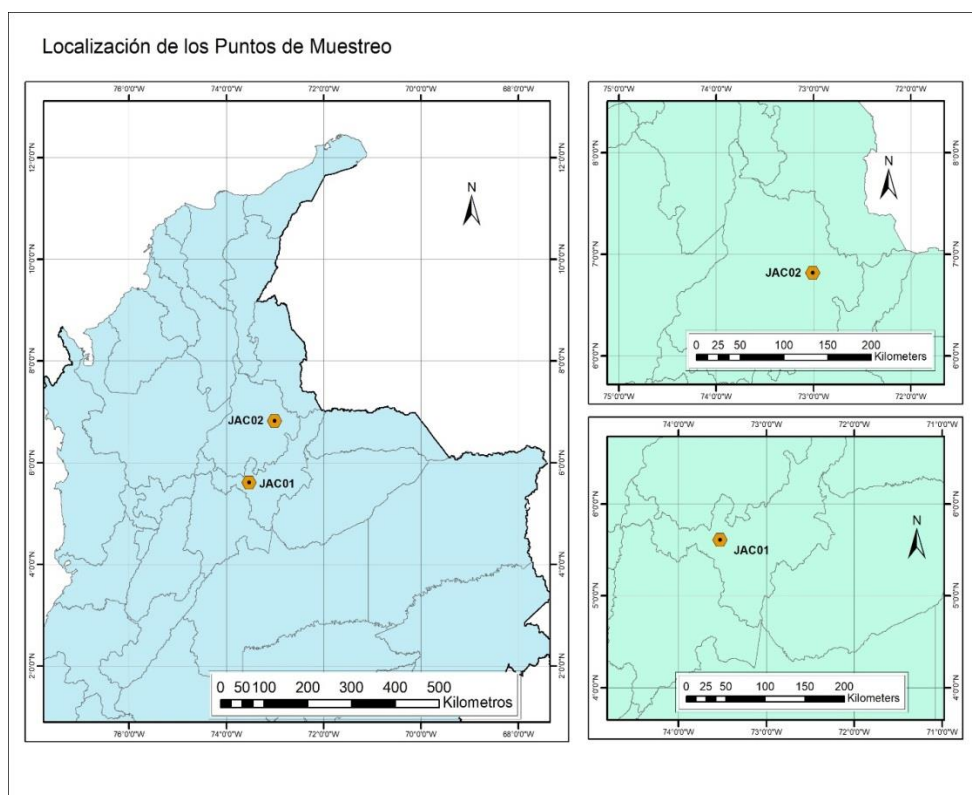
(Noffke, 2010). En ese sentido es importante avanzar en este campo de investigación en el país, de manera que exista la posibilidad de realizar proyectos en el futuro enfocados en Astrobiología.

Por otra parte, muchos fenómenos geológicos que han moldeado y modelan actualmente la litosfera se han considerado tradicionalmente producto exclusivo de procesos abióticos. A pesar de ello, una investigación más exhaustiva de la literatura en temas relacionados con Geomicrobiología, revela que algunos de estos procesos geológicos deberían ser evaluados con una visión más integral para identificar con mayor rigor su origen y el verdadero aporte de la actividad asociada con los microorganismos (Blyth, 2008; Brehm, 2005; Grotzinger 1996; Konhauser, 1993; Omelon , Pollard , & Ferris , 2006^a; Osorio, 2017; Pentecost, 1997). Este es el caso de espeleotemas en las cavernas cársticas (Blyth, 2008), los travertinos comúnmente asociados a fuentes hídricas (Pentecost,1997), la erosión de las rocas (Brehm, 2005), la precipitación de minerales por parte de las comunidades bacterianas epilíticas (Konhauser, 1993), láminas de materia orgánica en rocas sedimentarias (Osorio, 2017) e incluso los estromatolitos (Grotzinger, 1996). Trabajos como el de Omelon (2016) dan nuevas perspectivas sobre este tópico. Por ejemplo, la actividad metabólica de los microorganismos endolíticos y litobióticos puede alterar el ambiente geoquímico local por medio de interacciones microorganismo-mineral, las cuales pueden ser destructivas o constructivas dependiendo de la naturaleza de un particular mecanismo o sustrato (Omelson, 2016). Mientras los mecanismos destructivos, tales como lixiviación y la solubilización mineral, pueden conducir a una meteorización acelerada del hábitat endolítico, los procesos constructivos de costras o biopelículas pueden proveer mayor protección del estrés (Omelson, 2016). Por lo tanto, es menester reconsiderar muchos fenómenos no solo como

algo netamente abiótico sino también incluir el papel que tienen los microorganismos y entender cómo su bioquímica afecta la formación, erosión y transformación de los cuerpos rocosos.

La presente investigación aporta conocimiento a la Geomicrobiología, particularmente a la identificación de las correlaciones básicas que tienen las rocas, en este caso algunos tipos de minerales recolectados en los municipios de Villa de Leyva y Aratoca en cercanías a Pescadero, Colombia (Figura 1-1), y las posibilidades que ofrecen de ser anfitriones para el desarrollo de asociaciones de microorganismos endolíticos cultivables.

Figura 1-1. Izquierda, esquema de Colombia con zonas de muestreo donde se recolectaron las muestras de minerales, escala 1:8.000.000. Derecha superior, departamento de Santander y zona de muestreo de feldespato alcalino y cuarzo, escala 1:4.000.000. Derecha inferior, departamento de Boyacá y zona de muestreo del travertino, escala 1:4.000.000.



Este trabajo es pionero en la investigación geomicrobiológica en Colombia, ya que ésta es una rama diferente en la que se ha ahondado poco, o nada en el país, pues está enfocado en el entendimiento de la diversidad de bacterias endolíticas asociadas con minerales formadores de rocas. Además, tiene un potencial enorme de aplicaciones tanto en los procesos geológicos mencionados anteriormente como en biorremediación en la industria de hidrocarburos, agricultura y, no menos importante, con una futura aplicación al campo de la Astrobiología.

1.3 Objetivo general

- Detectar presencia o ausencia de microorganismos cultivables (endolíticos) en términos de diversidad en tres minerales formadores de rocas que posiblemente actúan como microhábitat y fuente nutricional.

1.4 Objetivos específicos

- Determinar las potenciales asociaciones directas o indirectas entre los grupos de tres minerales (cuarzo, feldespato, calcita) y la presencia de bacterias endolíticas cultivables.
- Asociar los hallazgos de las comunidades bacterianas endolíticas con algunos parámetros ambientales (temperatura y pluviosidad) originales de los lugares donde se recolectaron las muestras de minerales.
- Profundizar en el conocimiento geomicrobiológico de las bacterias endolíticas y su potencial para otros dominios de conocimiento, entre ellos la Astrobiología.

2 Marco teórico

2.1 Condiciones climáticas de Villa de Leyva y Pescadero.

Esta investigación tuvo en cuenta las condiciones de temperatura y pluviosidad de las zonas de recolección, puesto que son factores clave para el crecimiento de los microorganismos en general y en particular de las bacterias endolíticas. Así, la recopilación de la información climatológica puede ayudar al entendimiento de la presencia de las bacterias endolíticas en los biomas estudiados.

El municipio de Villa de Leyva y corregimiento de Pescadero (Figura 1-1), se encuentran en la cordillera oriental en los Andes colombianos, ambas zonas fueron seleccionadas por el hecho de que son semi-desérticas y en el caso de Villa de Leyva con cambios extremos de temperatura. Las dos áreas cuentan con un régimen bajo de pluviosidad anual, lo que resulta también en el desarrollo de una mínima cobertura vegetal que a su vez limita la formación de suelos (Albesiano, Rangel, & Cadena, 2003; Fischer & Lüdders, 2002). Es importante resaltar que la cobertura vegetal y su nexo con el suelo podrían limitar o condicionar la aparición de comunidades microbianas endolíticas (Carson, 2009; Omelon, 2016). Por otra parte, de acuerdo con Bell (1986); Casamatta (2002); Ferris (1997) y Wierzchos, De los Ríos, & Ascaso, (2012); la radiación y la luminosidad son factores importantes que limitan la colonización de comunidades microbianas epilíticas y, en su lugar aparecen comunidades microbianas endolíticas que utilizan el sustrato lítico o, en este caso mineral para protegerse de la radiación solar. Teniendo en cuenta lo anterior, fue de carácter

óptimo haber seleccionado estos municipios puesto que además de tener baja cobertura vegetal, mínima formación de suelo y baja nubosidad, están cercanos al ecuador, donde la radiación solar por unidad de área es de las más intensas del planeta, lo que resulta en un nivel de estrés mayor para las comunidades endolíticas que allí puedan desarrollarse. En adición, a medida que aumenta la altitud, también aumenta la radiación solar, según Vareschi (1980) de los 300 msnm a los 3000 msnm la radiación solar aumenta en un 20%, y, a su vez, la temperatura disminuye. El aumento en la radiación UV en los sitios altos se debe al espacio más corto de atmósfera que esta debe atravesar (Vareschi, 1980). Esto contrasta con otros lugares desérticos estudiados anteriormente en el área de la Geomicrobiología donde las condiciones de aridez y radiación solar son extremadamente altos (Vítek, Ascaso, Artieda, & Wierzechos, 2016). Por lo tanto, este trabajo aporta nueva información a los reportes sobre bacterias endolíticas en regiones climáticas previamente no exploradas, ya que, a pesar de no ser zonas extremadamente áridas, sí poseen baja humedad, elevada radiación solar y mayor precipitación y régimen de lluvias, en contraste con los desiertos donde se han reportado previamente las comunidades endolíticas.

Los autores Bell (1986); Casamatta (2002) y Ferris (1997) mencionan que ha habido reportes de microorganismos endolíticos en regiones estacionarias donde los extremos climáticos limitan la colonización de bacterias epilíticas. Sin embargo, los microorganismos endolíticos y otros microorganismos litobióticos son más comunes en los vastos y áridos climas desérticos que forman parte de los más grandes biomas² terrestres en el planeta. Estas regiones son identificadas por sus bajas tasas de precipitación en relación con una potencial evaporación (normalmente < 1),

² Bioma: Grupo de ecosistemas con clima y comunidades similares (Nützel, 2017).

lo que implica que la precipitación no es suficiente para suplir la tasa de evaporación. Los organismos litobióticos han sido estudiados en desiertos calientes incluyendo los desiertos de Monjave y Sonora (E.U.), Atacama (Chile), Gobi (China, Mongolia), Negev (Israel), Namib (Namibia Angola), la cuenca de Al-Jafr (Jordania) y la Depresión Turpan (China), así como desiertos polares en los valles secos del Ártico y el Antártico (Bell, 1993; Bungartz , Garvie , & Nash , 2004; Cockell & Stokes , 2004; Cowan , Khan , Pointing , & Cary , 2010; Dong , Rech , Jiang , Sun , & Buck , 2007; Friedman , 1980; Friedmann , McKay , & Nienow , 1987; Hughes & Lawley , 2003; Lacap , Warren-Rhodes , McKay , & Pointing , 2011; McKay *et al.*, 2003; Omelon, 2006^a; Schlesinger *et al.*, 2003; Smith, Bowman , Scott , & Line, 2000; Stomeo *et al.*, 2013; Warren-Rhodes *et al.* 2007a). También han sido documentados en grandes altitudes en regiones montañosas del mundo, incluyendo Europa y Asia (Hoppert , Flies , Pohl , Günzel , & Schneider , 2004; Sigler , Bachofen , & Zeyer , 2003; Walker & Pace , 2007^a; Wong *et al.*, 2010b)

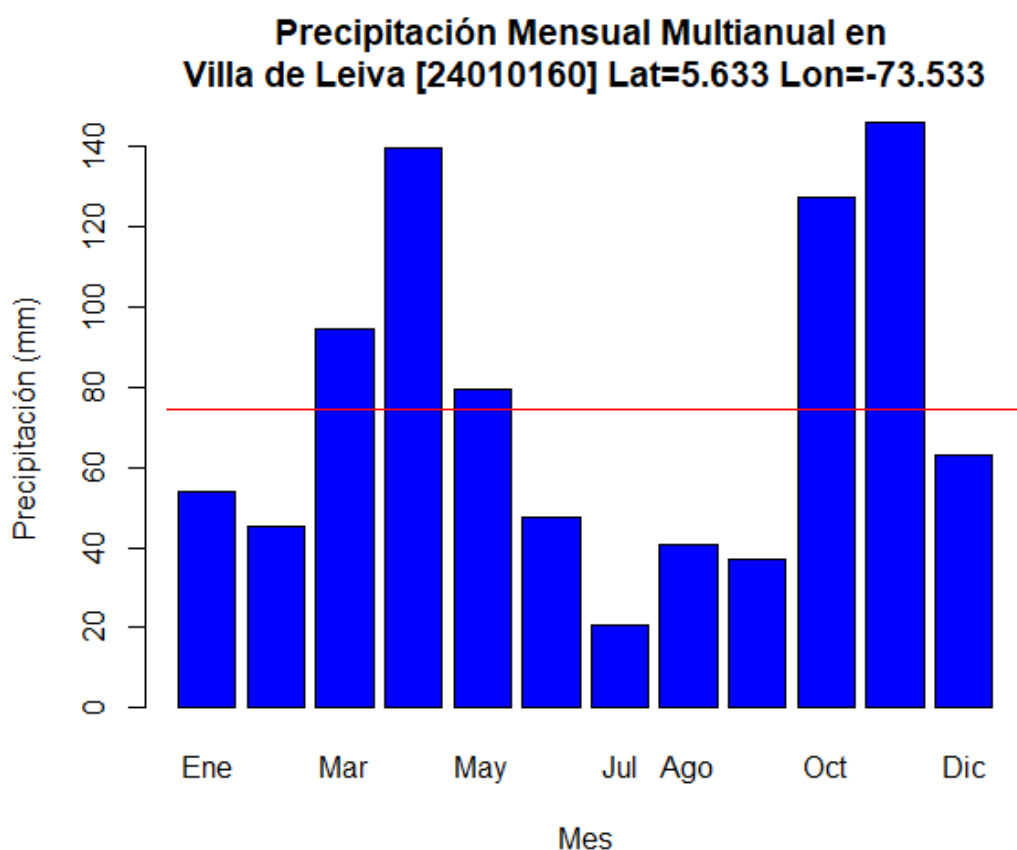
Villa de Leyva, Boyacá:

El municipio de Villa de Leyva se encuentra a alturas entre 2150msnm y 2300 msnm, la temperatura promedio es de 17.4 °C, la precipitación anual es de 837 mm, la humedad relativa de 66.6%, presión atmosférica de 776 mb y radiación UV de 1294 mW/m² (Fischer & Lüdders, 2002).

El clima en Villa de Leyva es árido y seco, la temperatura varía mucho entre los días rondando los 17.9°C, llegando a alcanzar 30°C (Öcal, Cramer, & Siegesmund, 2007). Durante el invierno puede descender a temperaturas mínimas inferiores a - 5°C, y en verano superiores a 40°C (Öcal, 2007).

En cuanto a pluviosidad Öcal (2007) realiza una descripción detallada: “La variabilidad de precipitaciones es muy grande, con un promedio anual de 700 mm-1000 mm, aunque globalmente el clima pueda calificarse de semiárido. Las lluvias se concentran principalmente en primavera y en otoño, con valores mínimos en verano. Los días de escarcha tienen su máximo en enero”. (p.3)

Figura 2-1. Gráfica con la precipitación mensual multianual en Villa de Leyva.



La gráfica en la Figura 2-1 se realizó con datos tomados de la estación pluviométrica de Villa de Leyva [24010160] y tratados con (R Core Team, 2017). De acuerdo con esta gráfica la

precipitación mensual multianual en Villa de Leyva varía entre un mínimo de 20 mm en julio y un máximo de 140 mm en noviembre. El promedio anual de precipitaciones es de 885 mm, lo cual concuerda con los datos proporcionados por (Fischer, 2002 y Öcal, 2007).

Sector Pescadero, Aratoca (Santander):

El cañón del Chicamocha se encuentra a una altura entre 500 msnm y 1170 msnm, la temperatura promedio anual es de 25.4 °C, el monto anual de lluvias es 730.7mm, el sustrato rocoso tiene una inclinación mayor a 20° lo que resulta en una baja retención de agua (Albesiano, 2003). La evapotranspiración varía entre 16.4mm/mes-22.2mm/mes (Angel & Ramirez, 2015). La ladera en donde se recolectaron las muestras de cuarzo y feldespatos alcalinos tiene las típicas pendientes empinadas que hay en el cañón, por lo tanto, con suelos poco evolucionados, bajo contenido de materia orgánica, tasa de erosión igual o mayor a la formación de suelo y donde son frecuentes los procesos de lixiviación (Albesiano, 2003).

En un trabajo de grado realizado por Angel (2015) se describe con mucha precisión todos los parámetros del clima en el cañón del Chicamocha:

El clima es tipo tropical condicionado por aspectos geográficos y atmosféricos que incluyen: precipitaciones, intensidad de radiación solar, temperatura, sistemas de vientos, altitud y humedad atmosférica, en concordancia presenta una temperatura uniforme la mayor parte del año; y se presentan dos periodos de lluvia, intercalados debido a su ubicación en la zona de confluencia intertropical; la precipitación y la temperatura local se ven influenciadas por los vientos cálidos y húmedos procedentes del valle del Magdalena medio. De acuerdo con el atlas climatológico de Colombia del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales – IDEAM, la clasificación climática de Holdridge del área en estudio corresponde de templado muy seco a cálido seco (p.25).

Tabla 2-1. Equivalencia de elevación con temperatura. Recuperado de: IDEAM como se citó en (Angel, 2015)

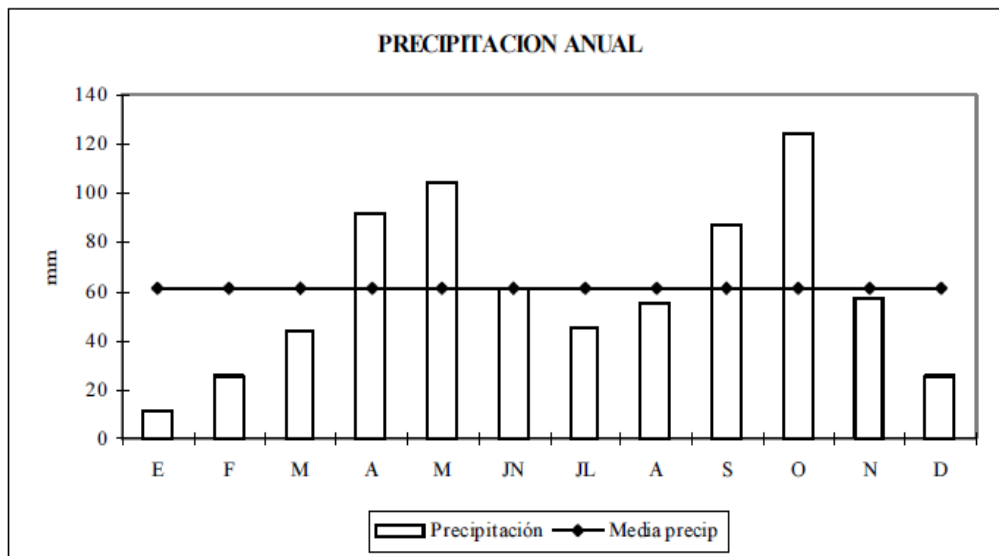
Elevación (msnm)	Temperatura (Grados centígrados)
0-800	mayor de 24
800-1800	18 a 24
1800-2800	12 a 18
2800-3700	6 a 12
3700-4200	3 a 6
4200-4500	1.5 a 3
Mayor a 4500	menor a 1.5

De acuerdo con la Tabla 2-1 “La temperatura de Pescadero obedece a las condiciones de altura, las cuales fluctúan de 600 a 1800 metros, por consiguiente, de la Tabla 2-1 se deduce que oscila en un intervalo de 18 a 26 Grados Centígrados” (Angel, 2015, p.25).

En cuanto a temperatura Albesiano (2003) incluye una descripción con lujo de detalles de las variaciones de temperatura en el Cañón del Chicamocha:

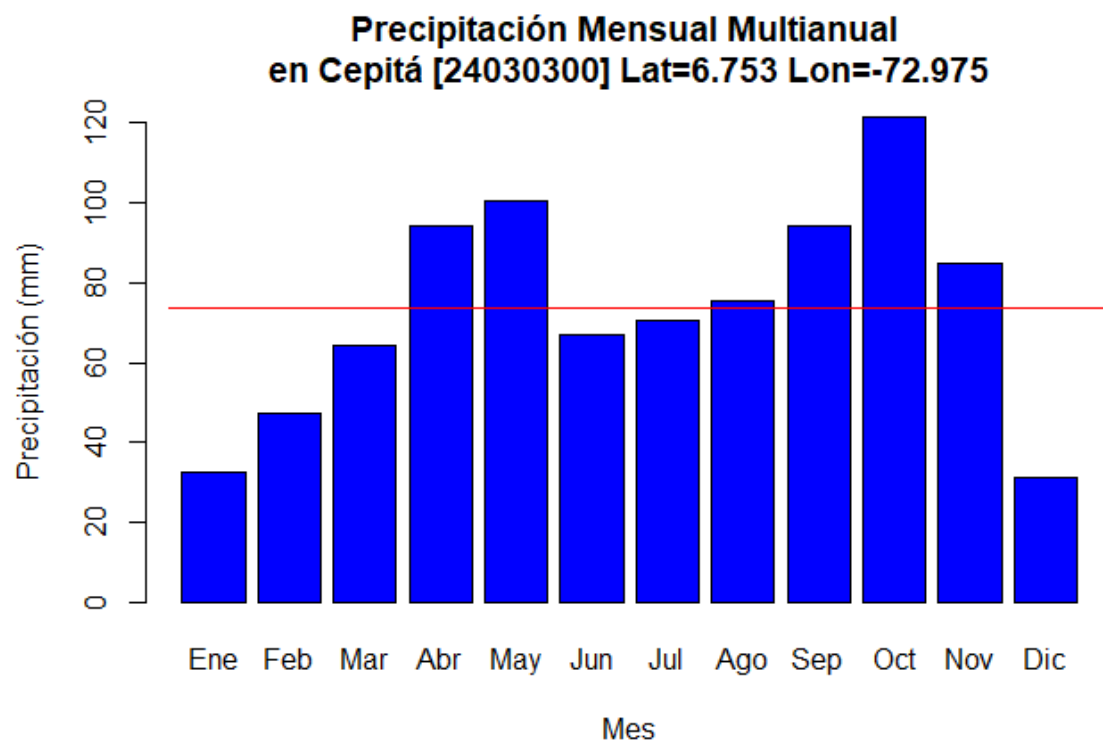
La temperatura media anual es 25.4°C, oscila entre 26.3°C (temperatura media máxima de marzo) y 24.4°C (temperatura media mínima de octubre). La media máxima es 35.7°C, con los mayores valores en enero-febrero-marzo y septiembre y los mínimos en octubre, noviembre y diciembre. La media anual mínima es 15.8°C con sus valores máximos en abril y mayo y los mínimos en enero y diciembre. El clima según la clasificación de Thornthwaite es semiárido, con poca ganancia de agua. Entre las posibles causas de la aridez para la zona, se han mencionado el efecto de sombra de lluvia y la topografía (el encajonamiento), que se reflejan en los valores de igualdad en los montos de la precipitación y la evapotranspiración real anual (p. 75).

Figura 2-2. Marcha anual de la precipitación (promedio multianual 1974-1997) de Capitanejo ($6^{\circ} 32'N-72^{\circ} 41'W$), departamento de Santander. Tomado de: (Albesiano, 2003).



De acuerdo con la Figura 2-2 la precipitación promedio mensual en Pescadero, Santander es variada, con mínimos en enero de 20 mm y máximos en octubre superiores a 120 mm.

Figura 2-3. Precipitación mensual multianual en Cepitá



La gráfica en la Figura 2-3 se realizó con datos tomados de la estación pluviométrica de Cepitá [24030300] debido a su cercanía con el pueblo y a que no hay estación pluviométrica en Pescadero. Los datos fueron tratados con R Core Team (2017). De acuerdo con esta gráfica la precipitación mensual multianual en Cepitá varía entre un mínimo de 35 mm en diciembre y un máximo de 120 mm en octubre. El promedio anual de precipitaciones es de 895 mm.

2.2 Marco Geológico de Villa de Leyva y Pescadero

Villa de Leyva, Boyacá:

La primera región de estudio está localizada en el departamento de Boyacá, en los alrededores de los municipios Villa de Leyva, hacia el centro y norte del departamento, Figura 2-4. Regionalmente la zona se encuentra dominada por pliegues anticlinales y sinclinales como el anticlinal de Arcabuco y el anticlinal de Cucaita, que involucran las formaciones del Cretácico Rosablanca, Ritoque, Paja, Churuvita, San Gil y Conejo, entre otras.

En la zona estudiada afloran rocas desde el Jurásico superior (?) hasta el Cretácico Superior de las cuales se utiliza la nomenclatura del Valle Medio del Magdalena para rocas sedimentarias Cretácicas.

Etayo (Etayo-Serna, 1968a;b) llevó a cabo varios estudios estratigráficos y bioestratigráficos para las sucesiones litológicas aflorantes entre puente Samacá y Sáchica en el departamento de Boyacá, estableciendo las relaciones faunísticas entre Colombia y las asociaciones de amonitas europeas y suramericanas durante gran parte del Cretácico. Sus resultados han sido útiles como referencias para gran parte de los estudios posteriores asociados a la Gran Cuenca Marina del Cretácico en la parte central de Colombia.

En la zona de Villa de Leyva se presentan los siguientes tipos de depósitos cuaternarios:

a) Coluviales: con este término se incluyen los depósitos de talud y derrubios; están constituidos por acumulaciones de materiales de composición heterogénea y de tamaño variable, predominantemente bloques angulares. Una gran parte de ellos afloran en los piedemontes de las montañas de diversas alturas y en márgenes abruptas de cañadas y quebradas con altas a medianas pendientes.

b) Aluviales: se ubican hacia las márgenes de los drenajes principales y consisten en bloques redondeados a subredondeados principalmente de arenitas en una matriz areno-arcillosa, presentando una morfología semi-plana a plana.

c) Depósito de travertinos (Qt), se encuentra representado por dos bloques dispuestos asimétricamente en los costados de la Quebrada Tabacal. La observación general es que este depósito, a modo de mesetas, descansa subhorizontalmente sobre las rocas de la Formación Paja, observándose un claro contraste entre material calcáreo y las lodolitas infrayacentes (Patarroyo & Moreno, 1997).

Como principal elemento estructural en la región de estudio se encuentra el Anticlinal de Arcabuco el cual se manifiesta al este de Arcabuco y de Villa de Leyva. Básicamente se trata de un pliegue asimétrico con cabeceo hacia el suroeste (17°) y con un plano de charnela vergiendo hacia el sureste. El flanco occidental posee inclinaciones entre 22° y 45° NW, mientras que el oriental posee inclinaciones entre 44° y 52° SE.

Características del Travertino (Qt)

Los afloramientos de travertino al sur del municipio de Villa de Leyva (Figura 2-4) se encuentran representado por dos bloques dispuestos en los costados de la Quebrada Tabacal. Estos cuerpos descansan discordantemente sobre la Formación La Paja observándose claramente el contraste entre las dos unidades. Una gran parte del yacimiento ha sido minado para uso en la industria de los materiales de construcción (ornamental) y tiene amplia exposición en minas de carácter privado.

Los depósitos de travertino de Villa de Leyva fueron depositados durante el Pleistoceno en un ambiente continental (Ingeominas, 1976). Este mismo autor plantea que los depósitos de travertino en Colombia se encuentran asociados a fuentes calcáreas, frías o calientes, donde estos tienden a formarse alrededor de manantiales. Al parecer su génesis suele estar asociada a la actividad volcánica cercana sugiriendo una estrecha relación entre la actividad hidrotermal y los depósitos de travertino (Vargas, 2014). Por su localización y distribución es posible pensar que estos cuerpos de travertinos estén asociados a fuentes termales, relacionadas con la actividad volcánica en el Neógeno y/o Cuaternario comparables a los hallazgos de rocas carbonatadas en cercanías del Municipio de Pesca (Vargas, 2014). La petrografía valida que se trata de un material principalmente calcáreo (>90% de CaCO_3) correspondiente a calizas, cuya fuente de carbonato estaría asociada a los niveles calcáreos de las formaciones Ritoque y/o Rosablanca.

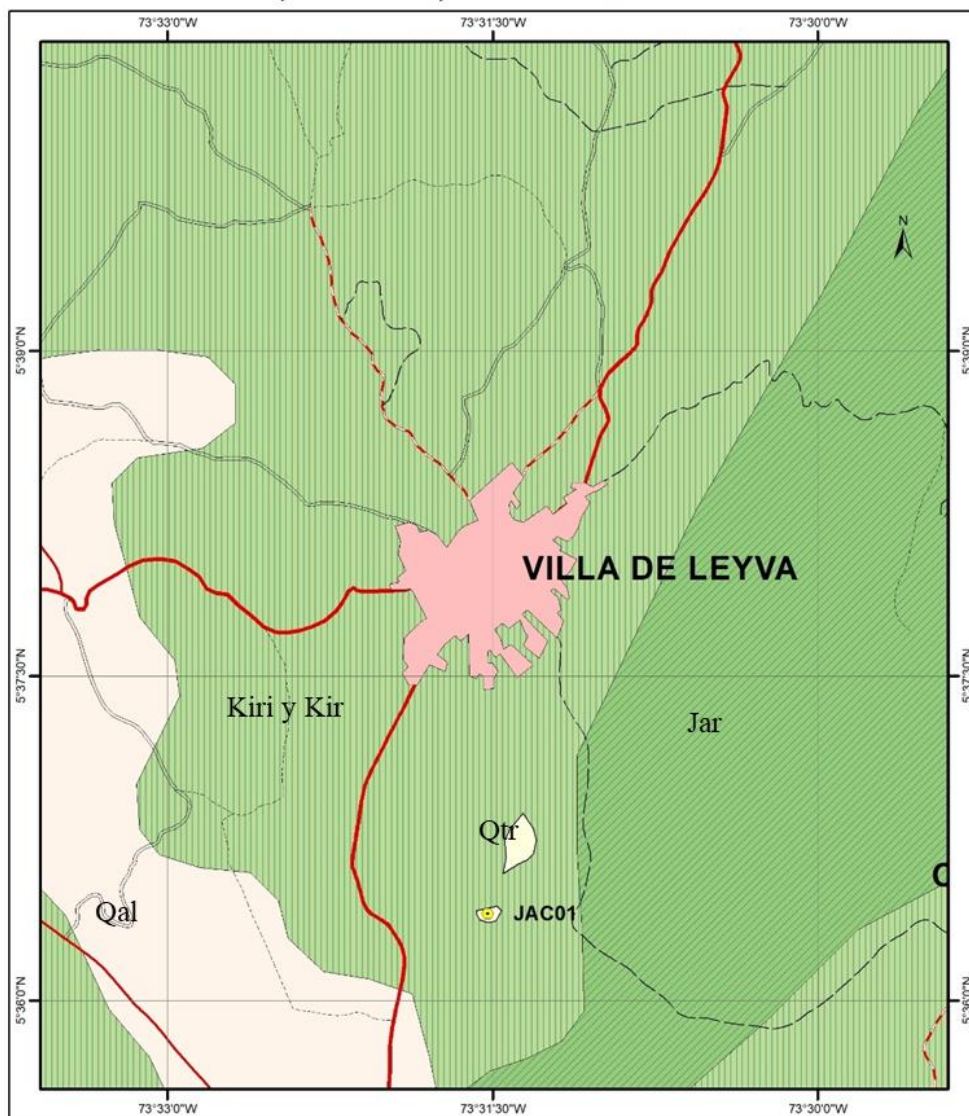
El yacimiento de travertino de Villa de Leyva fue seleccionado por la disponibilidad de fragmentos de calcita de gran tamaño, necesarios para garantizar que los microorganismos tuvieran únicamente disponibilidad de un mineral y sus componentes químicos como fuente nutricional.

La calcita es un mineral de origen sedimentario del grupo de la calcita, su fórmula química es CaCO_3 . Posee un lustre vítreo, raya blanca y dureza 3. Puede ser transparente u opaca, con una gama de colores que varía entre incoloro, grisáceo, amarillo, marrón, rojo, verde, azul y negro dependiendo de las impurezas presentes. La composición química general de la calcita es C: 12,00%, Ca: 40,04%, O: 47,96% (Menéndez Valderrey, Fernández Martínez, Ruíz, & Rubio Domínguez., 2004-2018). Ópticamente posee una figura de interferencia uniáxica negativa y alta birrefringencia (Universidad Nacional de Educación a Distancia, Universidad Politécnica de Madrid, 2000).

Puede formarse químicamente mediante evaporación de soluciones muy ricas en bicarbonato cálcico (caliza química,), o bien por la actividad de los organismos marinos que forman sus conchas de carbonato cálcico y al morir éstas se sedimentan dando lugar a las llamadas calizas organogénicas. También puede tener un origen metamórfico (mármoles, esquistos calcáreos); en algunas raras ocasiones forman rocas ígneas (carbonatitas) (Menéndez Valderrey, 2004-2018).

Figura 2-4. Mapa geológico generalizado de Villa de Leyva y zona de muestreo de la calcita, coordenadas: 5,6067; -73,525366.
Escala 1:50000

PUNTO DE MUESTREO, MINA DE TRAVERTINO VILLA DE LEYVA, BOYACÁ, COLOMBIA.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Autor: Julián Andreas Corzo Acosta 1:50.000

1 0,5 0 1 2 3

Kilómetros



Leyenda

Centro Urbano

- Via Tipo 1
- Via Tipo 2
- Via Tipo 3
- Via Tipo 4
- Via Tipo 5
- Via Tipo 6
- Drenaje Doble

Símbolo UC

- Q-al
- Travertino
- Formación Arcabuco
- Formación Ritoque y
- Formación Rosablanca
- Estación - JAC01

Metadatos
MAGNA_Colombia_Bogota
WKID: 3116 Authority: EPSG
Projection: Transverse_Mercator
False_Easting: 1000000,0
False_Northing: 1000000,0
Central_Meridian: -74,07750791666666
Scale_Factor: 1,0
Latitude_Of_Origin: 4,596200416666666
Linear Unit: Meter (1,0)

El travertino es un carbonato que se forma como resultado de precipitación química alrededor de ríos, arroyos, manantiales y ocasionalmente lagos. Su composición es de calcita o aragonito, con baja a media porosidad intercrystalina. La precipitación es resultado de la transferencia de dióxido de carbono desde o hacia una fuente de agua subterránea que conduce a la sobresaturación de carbonato de calcio, con nucleación/crecimiento de cristales que ocurre en una superficie sumergida (Vargas, 2014).

Sector Pescadero, Aratoca (Santander):

La segunda región de estudio se encuentra dentro del Macizo de Santander (Figura 2-5), el cual está constituido de rocas predominantemente metamórficas (con protolitos tanto sedimentarios como ígneos), las cuales son intruidas por diversos cuerpos ígneos de composición mayoritariamente ácida a intermedia. Sobre los bordes del Macizo de Santander y a lo largo de “fosas” tectónicas internas, descansan espesas secuencias sedimentarias con edades Paleozoicas, Mesozoicas, Terciarias y Cuaternarias (Evans, 1977; Mendoza *et al.* , 1979; Royero & Clavijo, 2001; Ward, Goldsmith, Cruz, & Jaramillo, 1973).

Las rocas más antiguas del Macizo de Santander están representadas por las formaciones metamórficas:

a) Neis de Bucaramanga, de edad Precámbrico, (Cordani, Cardona, Jimenez, Liu & Nutman, 2005; Restrepo, 1995), la cual alcanzó condiciones metamórficas de la facies anfíbolita durante la orogenia Grenvilliana.

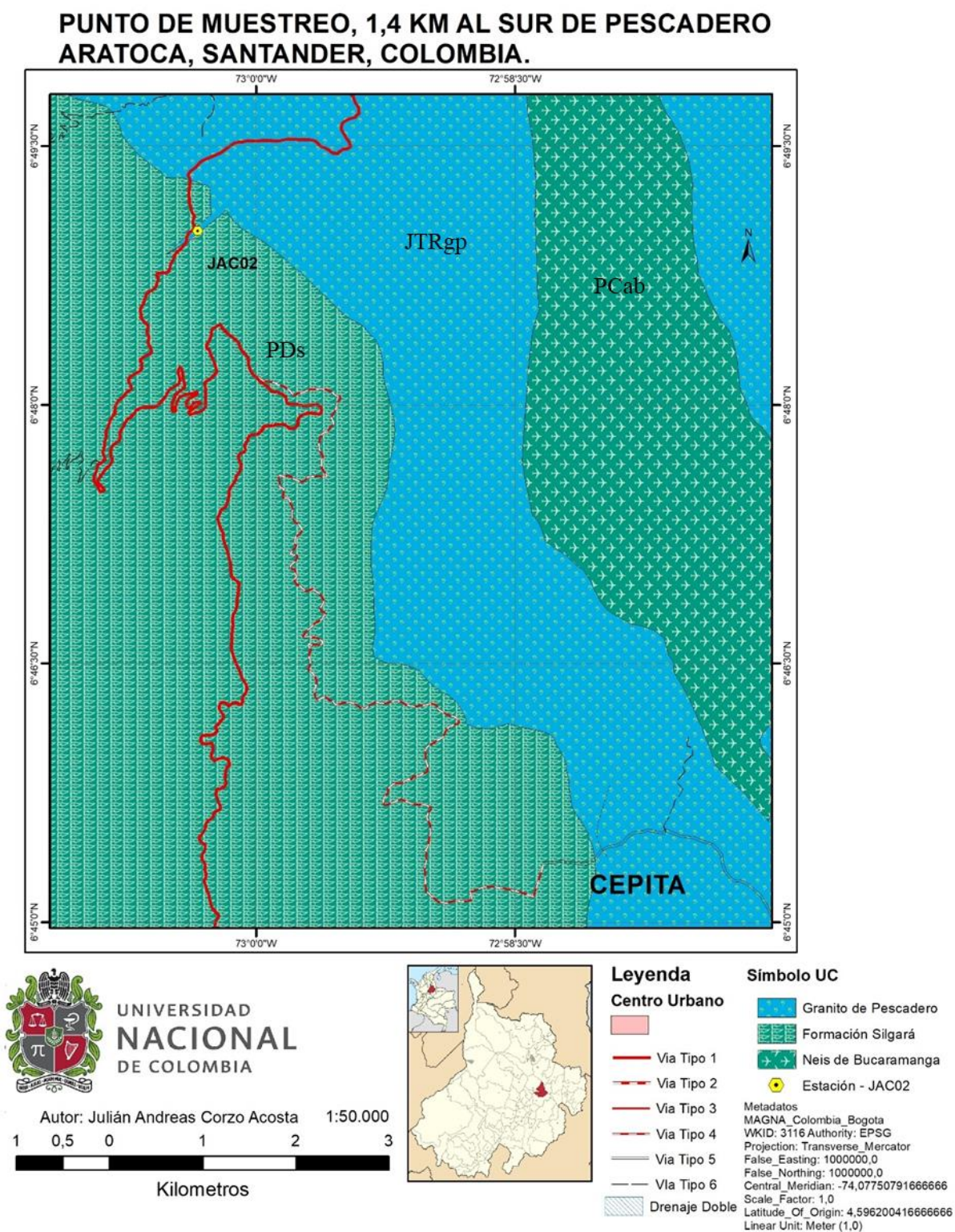
b) Esquistos del Silgara, de edad Precámbrica en cuanto a su protolito, pero de edad Ordovícica en cuanto al metamorfismo, la cual presenta facies esquistos verdes y anfibolita baja (Castellanos , Ríos , & Takasu, 2004; García & Ríos, 1999; Ward *et al.*, 1973).

c) Ortoneis, considerado de edad Devónico Inferior a Ordovícico, el cual intruye a la Formación Silgará y tiene una composición granítica a tonalita y diorita (Restrepo, 1995; Royero y Clavijo, 2001).

Estos cuerpos metamórficos, son cubiertos parcialmente por secuencias sedimentarias de edad Paleozoico Superior: Formación Floresta y el Grupo Surata (Formaciones Diamante, Tiburón y Bocas). Otras secuencias de rocas sedimentarias aflorantes en sectores específicos del Macizo de Santander corresponden a las formaciones Jordán y Girón de edad Jurásica, y potentes secuencias marinas de edad Cretácicas juntos con unidades de edad Terciaria-Cuaternaria, culminan el registro sedimentario. (Clavijo y Royero, 2001; Ward *et al.*, 1973).

Las rocas ígneas relacionadas concretamente con el área de estudio (sector Pescadero), corresponden a un granito de color rosado de grano fino a muy fino, equigranular a ligeramente porfirítico, con fenocristales de feldespatos potásicos, ligeramente más grandes que el grano medio de la roca. Localmente este cuerpo está cortado por diques de pegmatitas, aplitas, riolitas, y riolacitas.

Figura 2-5. Mapa geológico generalizado y zona de muestreo de feldespato alcalino y cuarzo, coordenadas: 6,816839; -73,00564. Escala 1:50000



Características del Granito de Pescadero

Ingeominas (1973) describe el Granito de Pescadero de la siguiente manera:

Es un granito leucocrático rosado a naranja de grano fino, constituye un plutón alargado de forma algo irregular, al oeste de la falla de Bucaramanga. Al oeste el granito intruye metasedimentos de la Formación Silgará. Está cubierto inconformablemente por la Formación Jordán del Jurásico, cuyo conglomerado basal contiene fragmentos de roca tipo Pescadero (p.35).

A lo largo de la carretera Bucaramanga-Bogotá aflora una zona de contacto en la cual numerosos diques de pegmatita y aplita penetran la formación Silgará (Figura 2-5). Dichos diques están muy bien expuestos 1,4 km al sur del puente sobre el río Chicamocha en Pescadero (Ingeominas, 1973).

Los diques están compuestos principalmente de feldespatos alcalinos y cuarzo. El feldespato alcalino pertenece al grupo de los feldespatos, también denominados feldespatos potásico-sódicos, porque suelen llevar un porcentaje significativo de sodio en su composición. La sanidina, ortoclasa y microclina son los más comunes de este grupo (Universidad Nacional de Educación a Distancia, 2000).

En estos diques se encontraron las mejores características por tamaño y limpieza de los cristales de feldespato alcalino y cuarzo para el desarrollo del presente trabajo.

La sanidina es estable en las condiciones de temperaturas mayores a 900 °C, su fórmula química es $(K,Na)AlSi_3O_8$ y se caracteriza por su distribución regular de átomos de Al por los tetraedros de Si de cuatro tipos distintos. Es propia de rocas volcánicas de enfriamiento muy rápido, tales como traquitas, riolitas y fonolitas. En muestra de mano es comúnmente incolora o transparente, la raya es blanca, tiene un lustre reluciente y su dureza está entre 6 y 6.5 en la escala de Mohs. Ópticamente se reconoce por tener índices de refracción bajos, inferiores a los del Bálsamo de Canadá y maclas de Carlsbad. Su figura de interferencia es biáxica negativa y tiene baja birrefringencia. (Universidad Nacional de Educación a Distancia, 2000). En el afloramiento no se encontraron muestras de sanidina.

La ortoclasa es estable a temperaturas inferiores a 900 °C, su fórmula química es $KAlSi_3O_8$ y ocupa un lugar intermedio entre la sanidina y la microclina en lo referente a la distribución del Al. Es un componente principal de las rocas ígneas ácidas. En muestra de mano su color varía entre incoloro, blanco, gris, rosa carne y raras veces amarillo o verde; la raya es blanca, el lustre es vítreo y su dureza está entre 6 y 6.5 en la escala de Mohs. Ópticamente se ve como masas espáticas muy exfoliables o en cristales monoclinicos aislados muy frecuentemente maclados con tres tipos de maclas: Carlsbad, Baveno y Manebach. Su composición química está distribuida así: 6.93% de K_2O , 18.35% de Al_2O_3 y 64.73% de SiO_2 (Universidad Nacional de Educación a Distancia, 2000). En el afloramiento no se encontraron muestras de ortoclasa.

La microclina debe su nombre a dos palabras griegas que significan "pequeño" e "inclinado", en referencia a que su ángulo de exfoliación difiere algo de los 90°. Su fórmula

química es KAlSi_3O_8 . En muestra de mano su color varía de blanco a amarillo pálido, rara vez verde gris azulado (Amazonita) o rojo; la raya es blanca, tiene lustre vítreo y su dureza está entre 6 y 6.5 en la escala de Mohs. Ópticamente presenta en nicols cruzados la macla tipo Manebach más que las de Baveno y Carlsbad. La microclina se caracteriza por una simetría más baja que la de la sanidina y la ortoclasa, debido a los cambios en su estructura cristalina, provocados por la disposición de todo el Al en una única posición estructural. Este tipo de disposición atómica es posible en el caso de un lento enfriamiento del magma, por lo tanto, es propia de rocas intrusivas abisales (formadas a gran profundidad). Es típico encontrar la microclina en las pegmatitas graníticas, granitos, sienitas, aplitas y pizarras cristalinas. Su composición química está distribuida así: 16.93% de K_2O , 18.35% de Al_2O_3 y 64.73% de SiO_2 (Universidad Nacional de Educación a Distancia, 2000).

Las variedades de sanidina, ortoclasa y microclina ricas en sodio se denominan natrosanidina, natronortoclasa y anortoclasa respectivamente (Universidad Nacional de Educación a Distancia, 2000).

El cuarzo pertenece al grupo de la sílice su fórmula química es SiO_2 , posee un amplio rango de colores que dependen de las impurezas en el mineral y que tienen diferentes denominaciones. Dentro de las variedades macrocristalinas se encuentran: Cristal de roca transparente; Cuarzo lechoso blanco opaco; Amatista transparente o violeta; Cuarzo rosado rosa, rojo o rosáceo; Citrino o Falso topacio amarillo o transparente; Cuarzo ahumado gris o negro; Cuarzo falso zafiro azul; Jacinto de Compostela rojo opaco. Dentro de las variedades

criptocristalinas o calcedonias están: Ágata con bandas paralelas a los bordes de colores vistosos; Ónice con las bandas alternantes de colores claros y oscuros; Jaspe opaco de colores vistosos. Sílex opaco de colores claros y oscuros. Xilópalo, madera silicificada; Heliotropo verde con manchas amarillas, también llamado Jaspe sanguíneo (Universidad Nacional de Educación a Distancia, 2000).

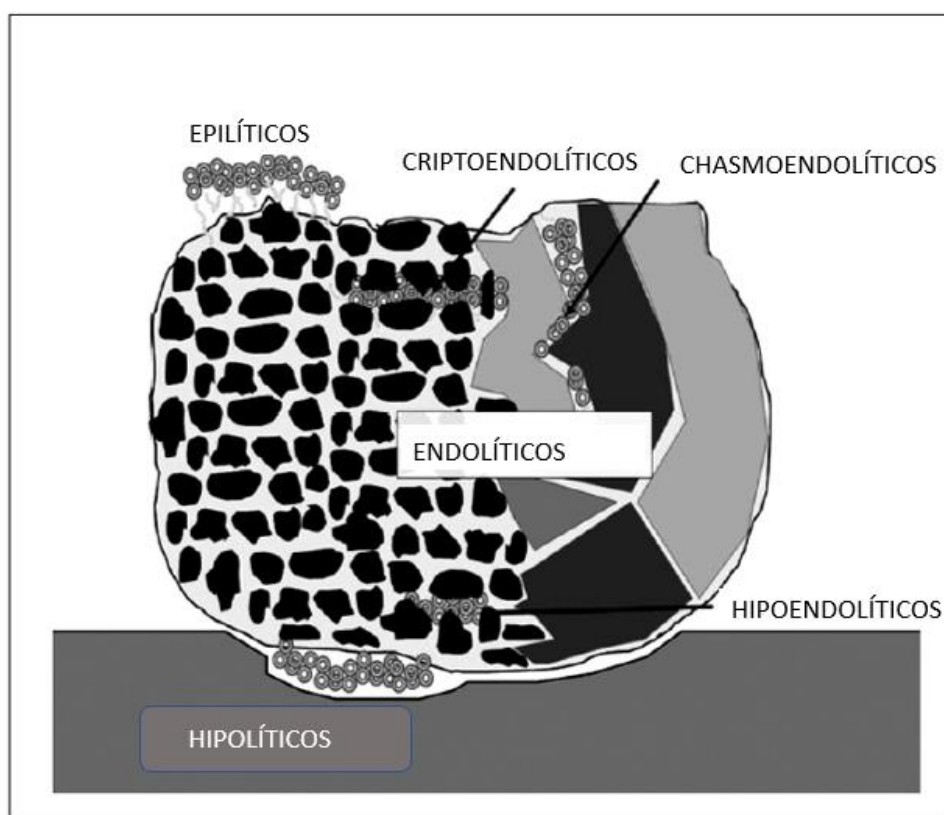
La raya del cuarzo es transparente, su lustre es vítreo intenso y su dureza es 7. Ópticamente posee una débil birrefringencia, una polarización rotatoria y su figura de interferencia es uniáxica positiva. El cuarzo es el componente fundamental de muchos tipos de rocas, especialmente de las rocas ígneas ácidas, de ahí que sea tan frecuente y abundante, pero también en rocas sedimentarias y metamórficas por ser al mismo tiempo muy resistente.

2.3 Marco geomicrobiológico

Un amplio espectro de microorganismos tiene una clara y decisiva función como agentes geoquímicos en la superficie de la litósfera (Ehrlich, 1998). La investigación moderna ha demostrado ampliamente un estrecho vínculo entre los microorganismos con los procesos de meteorización del suelo a partir de roca fresca, la formación de minerales nuevos y su influencia en la composición de la atmósfera, entre otros. La Geomicrobiología ha dado importantes pasos para descifrar la dinámica y correlaciones entre los ciclos geoquímicos y la distribución espacial de esta gran biomasa de microorganismos (Ehrlich, 1998).

En ese sentido, la diferenciación en la abundancia y diversidad de microorganismos en la litósfera refleja su grado de especialización para recolectar energía de diversos sustratos y su adaptación para desarrollarse en un amplio rango de condiciones ambientales (Omelon, 2016). Un ejemplo de este grado de especialización se encuentra en los microhábitats litobióticos (Figura 2-6).

Figura 2-6. Clasificación de los nichos litobióticos. Recuperado de: Wierchos (2012)



La literatura científica (Cockell *et al.*, 2009; Cockell, Olsson-Francis, Herrera, & Meunier, 2009; Omelon, 2016) ha revelado la importancia de las propiedades físicas y químicas del sustrato rocoso, entre las que se cuentan la mineralogía, porosidad y permeabilidad, capacidad de absorber y retener humedad, pH, acceso a nutrientes y protección de los extremos climáticos,

para el establecimiento de comunidades bacterianas en estos hábitats endolíticos. En la mayoría de los casos, el microhábitat litobiótico provee un ambiente que protege a los microorganismos mientras permite pasar suficiente penetración de luz solar para apoyar la producción primaria por la fotosíntesis. En contraste con los hábitats hipolíticos, los microorganismos están provistos con protección adicional a la meteorización como la abrasión por el viento debido a la red rígida de la matriz de la roca, lo que contrasta con los organismos que viven en la interfase suelo-roca (Omelon, 2016).

Los microorganismos endolíticos están dispersos en biomas desérticos, donde las condiciones ambientales hostiles limitan la mayoría de la vida a los hábitats rocosos. En estos hábitats, los microorganismos reciben luz para la fotosíntesis, temperaturas moderadas y cálidas, protección de la radiación ultravioleta y una exposición prolongada a agua líquida (Omelon, 2016). En general, las comunidades microbianas que allí se asientan están compuestas por microorganismos fotótrofos, así como hongos y bacterias heterotróficas, estas comunidades endolíticas difieren de las comunidades en los suelos, sugiriendo que estos hábitats seleccionan organismos cuya adaptación se especializa con mayor éxito a estos ambientes. Los hábitats endolíticos no tienen una fuente limitada de nutrientes, lo que explica por qué estas comunidades bacterianas colonizan un amplio rango de sustratos líticos con diferentes mineralogías; sin embargo, cuando hay mayores presiones ambientales, estas seleccionan aquellas comunidades microbianas capaces de tolerar condiciones cada vez más hostiles (Omelon, 2016).

En contraste con los microorganismos que habitan la subsuperficie profunda donde la actividad está controlada por metabolismos quimiolitotróficos³ tales como la reducción del sulfato, reducción de hierro o metanogénesis, las comunidades endolíticas en la superficie de la Tierra, constan de productores fotoautótrofos primarios tales como algas, cianobacterias y líquenes, también como consumidores y descomponedores incluyendo hongos y bacterias heterotróficas. Otros organismos como las arqueas han sido también documentados en hábitats endolíticos alrededor del mundo (Omelon, 2016).

El reporte más común de asociaciones microbiológicas está relacionado con rocas sedimentarias porosas tales como arenitas ricas en cuarzo, sin embargo, también se han reportado en calizas y dolomitas meteorizadas (Friedman , 1980). Los organismos líticos también se encuentran en otros tipos de rocas, incluyendo evaporitas tales como yeso y halita (Cockell *et al.*, 2010), granitos meteorizados (Ascaso & Wierzchos , 2003; Wierzchos , Ascaso , Sancho, & Green , 2003) y mármoles. También existen reportes que demuestran que la porosidad en rocas volcánicas incluyendo ignimbritas riolíticas facilita el hospedaje y desarrollo de comunidades microbianas del mismo modo que lo hacen los depósitos alterados por impactos de meteoritos en la Tierra (Parnell, Lee , Cockell , & Osinski , 2004). Aunque normalmente se han encontrado microorganismos euendolíticos en zonas intermareales, estos también se han encontrado en micritas terrestres (Hoppert , Flies , Pohl , Günzel , & Schneider , 2004). En la mayoría de estos reportes se ha insistido en las potenciales y reales relaciones entre los tipos de asociaciones microbiológicas y el tipo de mineral que hospeda esta comunidad.

³ Quimiolitotrófico se refiere a aquellos organismos capaces de obtener energía a partir de compuestos químicos inorgánicos (Noffke, 2010).

Los hábitats endolíticos están compuestos por rocas que varían en solubilidad, pero generalmente no son considerados como una fuente de nutrientes para los microorganismos. Algunos estudios de condiciones nutricionales dentro de los hábitats endolíticos de los Valles Secos (Antártida) muestran que las regiones colonizadas por microorganismos endolíticos, tienen los suplementos adecuados de nitrógeno inorgánico como nitratos y amonios (Friedmann & Kibler, 1980; Greenfield, 1988), y además señalan que la fuente del nitrógeno inorgánico ocurre por fijación abiótica al producirse las descargas eléctricas y posteriormente transmitidas a las rocas por precipitación atmosférica (Friedmann & Kibler, 1980) . Además, el crecimiento microbiano no es facilitado cuando algunos nutrientes como el fosfato o manganeso son agregados al sistema, esto sugiere que no son necesarios (Johnston & Vestal , 1986). Aunque en algunos casos es posible que los nutrientes requeridos para el crecimiento microbiano sean obtenidos por meteorización insitu de la roca hospedante (Siebert *et al.*, 1996), no parece haber una preferencia general por parte de los microorganismos endolíticos hacia un tipo específico de mineralogía (ej: cuarzo, calcita o granito). Esto sugiere que los nutrientes requeridos para la energía y crecimiento son probablemente derivados de sedimentos alóctonos tales como el polvo (Omelon , 2016). Otra razón por la cual las comunidades microbianas parecen no sufrir de falta de nutrientes se debe al hecho de que están activas solo por cortos periodos de tiempo, ya sea debido a heladas temperaturas (Friedmann & Kibler, 1980) o por desecación (Wierzchos *et al.*, 2013).

En contraste con lo mencionado anteriormente, Gleeson *et al.* (2005) demostraron mediante ensayos de laboratorio que la estructura de las comunidades bacterianas estuvo controlada por la composición química de una moscovita, feldespato alcalino, plagioclasa y cuarzo

extraídos de un granito pegmatítico, indicando una presión selectiva por los elementos químicos individuales en poblaciones insitu de bacterias. Mediante microscopía electrónica de barrido encontraron una gran diversidad de estructuras microbianas, con cocos y bacilos claramente visibles en las superficies de todos los minerales analizados. Realizaron también un análisis de correspondencias canónicas se reveló que el Al, Si y Ca tienen un impacto significativo en cuanto a la estructura de las comunidades bacterianas (cocos o bacilos) dentro del sistema. Las poblaciones de bacterias asociadas a diferentes minerales resultaron también ser diferentes entre sí, mediante un análisis espaciador intergénico ribosomal encontraron que miembros de cada uno de los tipos de poblaciones fueron encontrados casi exclusivamente en un solo tipo de mineral (Gleeson *et al.*, 2005). Este trabajo tiene una fuerte evidencia de que la estructura de las comunidades bacterianas estuvo promovida por la composición química de los sustratos minerales (Gleeson *et al.*, 2005).

Otro estudio realizado por Carson *et al.* (2009) demostró que en el suelo diferentes minerales seleccionaron comunidades bacterianas con distintas estructuras dentro de sus microhábitats. En este estudio, Carson (2009) recogió muestras de suelo en un pastizal en Australia occidental cuyo material parental era arena de mar silíceo, erosionada por el viento. Con dicho suelo prepararon microcosmos, agregando Moscovita, Basalto y Fosforita a muestras de suelo independientes. Cada uno de estos microcosmos contenía 8 g de mineral de 1-2 mm de tamaño de partícula en 80 g de suelo cuyo tamaño de partícula era menor a 1 mm. En adición, sembraron dos distintos tipos de pastos (*L. rigidum* cv. *Concord*) y (*Trifolium subterraneum* cv. *Trikkala*) y uno de los tratamientos fue probado sin ningún tipo de césped, esto debido a que la actividad microbiana y la disolución mineral en suelos con rizosfera es mayor que en suelos sin rizosfera.

El efecto de este tratamiento con césped tuvo un efecto mínimo en comparación con el tratamiento mineral. Los microhábitats resultantes no solo fueron diferentes entre sí, sino que también difirieron significativamente del suelo circundante. El suelo circundante al suelo enriquecido con cada uno de estos minerales fue colonizado por comunidades bacterianas con estructuras diferentes entre sí, esto implica que la moscovita, el basalto y la fosforita pudieron haber seleccionado las comunidades bacterianas con distintas estructuras en sus microhábitats debido a las diferencias en sus elementos y en la concentración de nutrientes (Carson, 2009). Cada uno de los minerales y rocas utilizados en este estudio contenía elementos y nutrientes que estaban ausentes o a bajas concentraciones en los otros minerales o rocas y en el suelo: moscovita K, Mg y Al; Basalto Mg, Na, Al y Fe; y fosforita Ca y P. Con un análisis estadístico se demostró que las concentraciones de P, K, Ca, Mg, Al, Si, Fe, Na y S en los minerales y en el suelo mostraron un porcentaje significativo en la varianza de las comunidades bacterianas. En particular las concentraciones de P, K, Mg y Na en los minerales y en suelo mostraron un 33% y 44% de la varianza en comunidades bacterianas, por lo tanto, la moscovita, el basalto y la fosforita pudieron haber seleccionado distintas comunidades bacterianas ya que ellas contenían estos elementos y los liberaron en el microhábitat tan pronto se disolvieron.

De acuerdo con Omelon (2016) los primeros trabajos que se realizaron para caracterizar diversidad microbiana de hábitats litobióticos se concentraron en técnicas de cultivo, por lo cual algunos microorganismos incluyendo cianobacterias y algas, así como hongos y bacterias heterotróficas fueron identificados por su morfología. Los trabajos más recientes se han desarrollado a partir de metodologías diferentes a técnicas de cultivo y se han centrado en técnicas moleculares. Estos nuevos trabajos han conducido a un entendimiento más completo de la

diversidad de microorganismos en estos hábitats, que a menudo incluyen además de Cianobacterias un amplio rango de otros microorganismos de los géneros *Acidobacterias*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Firmicutes*, y otros (Omelson, 2016). Varios estudios han demostrado que típicamente las bacterias endolíticas son diferentes de las comunidades de suelo, a pesar del hecho notable de que las comunidades microbianas hipolíticas están en contacto directo con los suelos (Pointing , Warren-Rhodes , Lacap , Rhodes , & McKay , 2007)

Por su parte, (McNamara, 2005), realizó una comparación entre bacterias epilíticas y endolíticas en un sitio arqueológico Maya, sus hallazgos reportan que las primeras estaban relacionadas con el filo *Proteobacteria* (Gram negativas) y las segundas estaban relacionadas con el filo *Actinobacteria* (Gram positivas).

Los trabajos realizados con microorganismos que habitan condiciones extremas para la vida son investigaciones consideradas dentro del campo de la Astrobiología. Las comunidades microbianas criptoendolíticas de las rocas antárticas son un ejemplo de supervivencia en un ambiente extremadamente frío y seco. Contar con la experiencia y metodologías de investigación adecuadas es esencial para tratar de descubrir si en dichas rocas existen microorganismos vivos, fosilizados o, como mínimo presencia de biomarcadores (Ascaso C. , 2002).

De otro lado Friedman & Ocampo (1976) anunciaron por primera vez que el interior de las rocas areniscas está colonizado por la cianobacteria del género *Gloeocapsa*. Este fue uno de

los primeros estudios en Ecología Microbiana en los Valles secos del desierto de Gross, Antártida (Friedman & Ocampo , 1976). La región denominada Valles Secos consta en la parte sur de amplias áreas libres de nieve y hielo, tiene una extensión de 4800 km² y es conocida por ser uno de los desiertos más extremos en el mundo, siendo más frío y seco que otros lugares de la Antártida. Las condiciones climáticas están representadas por la temperatura promedio anual de -20°C y por precipitaciones de 6 cm en forma de nieve durante el invierno austral (Ascaso C. , 2002). En 1976 un prototipo de la nave Viking que iba a ser enviado a Marte con el objetivo de buscar vida en ese planeta, fue probado en esa zona de la Antártida. Sorprendentemente este y otros prototipos de las naves Viking no fueron capaces de encontrar vida dentro de las rocas (comunicado personal de E.I. Friedmann, 1980). Numerosos debates han hablado de este asunto, varios investigadores hicieron hincapié en la incapacidad de prototipos semejantes a la Viking para encontrar vida microbiana en zonas de la Antártida donde realmente hay muchos microorganismos. Quizás por el fracaso de la Viking en encontrar vida microbiana en la Antártida y en Marte es que se empezaron a considerar los estudios sobre los valles Secos de la Antártida como un lugar idóneo para todo tipo de estudios referentes a Ecología Microbiana de ambientes extremos (Ascaso C. , 2002).

Desde 1976 han sido caracterizados muchos microorganismos tras ser extraídos y separados del microhábitat epilítico o endolítico en las rocas Antárticas. Allí han sido reportados microorganismos tales como: bacterias y cianobacterias, algas, hongos y microorganismos simbiotes de protolíquenes y líquenes. Friedman (1980) además de extraer y caracterizar algunos de los microorganismos realizó estudios del contenido de agua en areniscas colonizadas por microorganismos endolíticos y observó que el agua forma un 0.1 – 0.2% del peso de las rocas. Parece probable que esta mínima cantidad es suficiente para mantener una atmósfera bastante

saturada en el sistema de poros microscópicos de las rocas de los desiertos fríos. Asimismo, el grado de humedad parece afectar el pH de la roca, a la formación de manchas primarias de hierro y a la distribución de las comunidades microbianas. Los requerimientos metabólicos de los microorganismos varían mucho dependiendo de su naturaleza, tanto así que los líquenes evitan la continua presencia de agua líquida y además son capaces de utilizar el vapor de agua atmosférico. Por otra parte, las cianobacterias, incluso aquellas que habitan en los desiertos, requieren, aunque sea de forma esporádica, una atmósfera saturada de agua líquida (Ascaso C. , 2002). Dentro de la biósfera Antártica el hábitat criptoendolítico es un sistema altamente inestable ya que está sometido a continuos procesos de congelaciones y descongelaciones e hidrataciones y deshidrataciones. Todos estos cambios en el sistema conllevan a un coste metabólico muy alto para la biomasa que allí se asienta, lo que se refleja en que el más mínimo y sutil cambio desfavorable en este equilibrio, trae como consecuencia la extinción de la vida en su totalidad (Friedmann & Weed, Microbial trace fossil formation, biogenous and abiotic weathering in the Antarctic cold desert, 1987). Sin embargo, tras la extinción, se pueden buscar biomarcadores y fósiles, que pueden dar pistas de la vida y biodiversidad preexistentes (Ascaso C. , 2002). Por esa razón, estos estudios también contribuyen a la investigación del cambio climático, debido a la influencia del clima en los microecosistemas.

El hecho de que se haya tenido en cuenta el ecosistema microbiano criptoendolítico de la Antártida y sus características, ha convergido en sugerir este ecosistema como el mejor modelo terrestre para los últimos estadios de la vida en la historia de Marte, cuando la superficie de este planeta se enfrió mucho y la atmósfera y el agua líquida desaparecieron (Mckay, Friedman, Wharton, & Davis, 1992).

Así, como se ha indicado anteriormente, los estudios de Ecología Microbiana de los ambientes extremos Antárticos pueden aplicarse a problemas aparentemente muy lejanos como lo es la cuestión de si existió o existe vida en Marte. Por otra parte, si un día se llegan a encontrar restos de microorganismos fosilizados en Marte o con biomarcadores, la comparación de los resultados con fósiles de microorganismos terrestres puede soportar teorías alternativas sobre el origen de la vida en la Tierra y sobre la naturaleza de esta vida extraterrestre (Ascaso C. , 2002). Es importante destacar que en los últimos años se ha demostrado un creciente interés en las investigaciones astrobiológicas (búsqueda de huellas de vida en el Sistema Solar) por parte de las agencias espaciales europeas (ESA – proyecto “Mars Express”) y estadounidenses (NASA – varias expediciones robotizadas a Marte). Una de estas misiones programada para el año 2011 tuvo como objetivo recolectar muestras de regolito marciano y traerlas a la Tierra (Ascaso C. , 2002).

Es de trascendental importancia para la comunidad científica poder observar y comprender el funcionamiento de los hábitats endolíticos, ya que de acuerdo con Conrad y Nelson (2001), cuando seamos capaces de reconocer la vida y nunca equivocarnos con la identificación de huellas de la actividad microbiana en nuestro ambiente terrestre, podremos estar preparados para movernos hacia el exterior de nuestro Planeta, en busca de biomarcadores.

Una forma de dirigir el estudio de los microorganismos litobióticos en el ámbito de los biomarcadores es estudiar las microcavidades tubulares creadas por los microorganismos endolíticos por la disolución de los sustratos rocosos (McCloughlin, Staudigel, Furnes, Eickmann,

& Ivarsson, 2010). No obstante, estos microtúneles pueden posiblemente ser formados también por procesos abióticos (Mcloughlin, 2010) y, saber distinguir su origen puede ser clave para distinguir un sustrato lítico como biomarcador de una sustancia mineral inorgánica (Cousins, Cockell & The Geobiology in Space Exploration Topical Team, 2016).

La creciente investigación en Geomicrobiología sustenta y valida cada vez más la idea de las estrechas interrelaciones que dominan las características geoquímicas de la roca hospedante y los tipos de asociaciones microbiológicas que se desarrollan allí (Acaso, 2002; Carson, 2009; Gleeson, 2005; Omelon, 2016).

3 Metodología

La metodología utilizada en este trabajo fue fundamentada en estudios previos realizados en este campo. En Corzo (2015) se estudiaron bacterias epilíticas de una biomicrita, cuarzoarenita y limolita. De otro lado en Gleeson (2005) se aislaron físicamente granos de moscovita, plagioclasa, feldespato alcalino y cuarzo a los cuales se les realizó ensayos de microscopía electrónica de barrido (MEB), análisis espaciador intergénico y análisis de correspondencia canónica.

3.1 Salida de campo

El trabajo de campo consistió en buscar tres muestras no menores a 15 cm de ancho, 15 cm de largo y 5 cm de espesor de tres minerales formadores de rocas para, posteriormente efectuar un raspado del interior de los minerales y hacer un cultivo de microorganismos endolíticos. El tamaño de las muestras fue considerado de esta manera para garantizar que las bacterias se alimentaran solamente del mineral y para minimizar el grado de intervención y contaminación del exterior. Uno de los minerales fue recolectado en la mina de travertino del municipio de Villa de Leyva, Boyacá (Figura 3-1) y los minerales restantes fueron recolectados en el Granito de Pescadero en el corregimiento de Pescadero, Santander (Figura 3-2).

Figura 3-1. Izquierda, afloramiento de mina de travertino en Villa de Leva. Derecha, Muestra de mano de calcita previa a proceso de embalaje.



Figura 3-2. Izquierda, afloramiento a 1,4 km al sur del puente de Pescadero. Derecha superior, muestras cuarzo y feldespato alcalino previas a proceso de embalaje. Derecha inferior, fragmento pegmatítico de feldespato alcalino, cuarzo y moscovita



En el proceso de empaque y rotulación se tomaron en cuenta las medidas necesarias para evitar contaminantes sobre los minerales, para lo cual se utilizaron guantes de nitrilo previamente esterilizados, tapabocas y alcohol antiséptico para desinfectar el martillo en el momento de obtener las muestras, las cuales fueron depositadas en bolsas ziploc independientes en una nevera de icopor, cuya temperatura aproximada fue de 4°C para su procesamiento en el laboratorio de Microbiología del Suelo del Departamento de Biología de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá.

3.2 Análisis geológicos

Una parte del mineral que no fue utilizado para el análisis geomicrobiológico fue utilizado para los análisis de petrografía, fluorescencia de rayos X y microscopía electrónica de barrido.

Petrografía

Con el objetivo de identificar las propiedades ópticas de los minerales al microscopio y tomar fotografías se realizaron dos secciones delgadas de los tres minerales, seis en total.

Para realizar las secciones delgadas cada una de las rocas pasó por el siguiente proceso: Se efectuaron cortes hasta dejar una pieza de unos cinco cm de largo, dos cm de ancho y un cm de grosor, se pulió hasta dejar planas las muestras, se removieron los rayones que resultaron del adelgazamiento en la pulidora con carburo de 600 y luego carburo de 1000, posteriormente se colocó una resina de ámbar, y un vidrio petrográfico y se procedió a dejarlas del tamaño de 30 µm para que la luz pase a través de la placa con el microscopio petrográfico.

Fluorescencia de rayos X para elementos mayores:

Con la finalidad de identificar los elementos mayores de los tres minerales se realizó una prueba de fluorescencia de rayos X, se seleccionaron partes de las tres muestras de 10 cm de largo, se lavaron con agua y jabón y posteriormente se secaron al sol para eliminar la presencia de agua, debido a que esto puede alterar los resultados obtenidos.

Las tres muestras de roca fueron trituradas para convertirlas en polvo. La muestra de polvo fue secada a 105°C por un período de 12 horas. Posteriormente fue mezclada con cera espectrométrica de la casa Merck en relación Muestra: Cera de 10:1; homogenizada por agitación, llevada a una prensa hidráulica a 120 kN por un minuto generando una pastilla prensada de 37mm de diámetro que fue medida en la aplicación SEMIQ-2007.

El análisis semicuantitativo se realizó con el software IQ, haciendo 11 barridos, con el fin de detectar todos los elementos presentes en la muestra, excluyendo H, C, Li, Be, B, N, O y los elementos transuránicos.

Se utilizó un espectrómetro de fluorescencia de rayos X, MAgixPro PW-2440 Philips equipado con un tubo de Rodio, con una potencia máxima de 4KW. Este equipo tiene una sensibilidad de 200ppm (0.02%) en la detección de elementos pesados metálicos.

La estabilidad del equipo es controlada diariamente mediante la medición de una muestra patrón.

Microscopía electrónica de barrido:

Este ensayo consistió en tomar imágenes de alta resolución para poder visualizar posiblemente los microorganismos presentes en los minerales (Gleeson, 2005), las muestras estuvieron intactas y en nevera antes de usar la MEB. Las muestras de los tres minerales estudiados (calcita, feldespato alcalino y cuarzo) fueron partidas por la mitad y una de sus superficies fue colocada en un metalizador marca Quorum modelo Q550R ES, en donde se le puso un recubrimiento con Au-Pd para que las muestras sean conductoras y el barrido tenga mejor resolución. Posteriormente, fueron observadas en el MEB a 30kv. Para realizar una observación correcta las muestras debían estar en alto vacío a 10^{-4} pascales, de otra manera el aire podría interferir con el escaneo que envía un haz de electrones hacia la muestra. Este procedimiento se llevó a cabo en el microscopio electrónico de barrido de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, cuya marca es FEI y es modelo Quanta 200.

3.3 Cultivo de microorganismos en laboratorio y pruebas fisicoquímicas

Una vez en el laboratorio se inició el proceso de extracción de partes pulverizadas del interior del mineral para poder obtener microorganismos endolíticos. Para ello con el martillo previamente desinfectado con alcohol se partió la muestra de cada mineral en dos partes y del interior de una de las mitades se hizo un cuidadoso raspado y posterior pulverización con martillo y cincel. A partir de este proceso se obtuvieron 10 g de mineral representativo de la masa total en condiciones de esterilidad (mecheros, desinfección con alcohol para el martillo, guantes de nitrilo y tapabocas). Se almacenaron tres muestras distintas de la pulverización de los minerales en frascos estériles para tener tres réplicas de cada muestra y posteriormente se realizaron series de dilución y siembra en placa (Valencia, 2004), con el fin de detectar presencia/ausencia de crecimiento microbiano, con posterior purificación y diferenciados de los morfotipos bacterianos obtenidos.

Durante este proceso se diluyeron 10 gramos de cada mineral pulverizado en 90 mL de solución salina al 0.9% estéril y se agitaron durante tres días para obtener una dilución de 10⁻¹. Se llenaron 10 tubos de ensayo con 9 mL de solución salina y partiendo de la dilución de 10⁻¹ se transfirió 1 mL de un tubo de ensayo a otro hasta lograr una dilución de 10⁻¹¹ para posterior siembra en placa en agar nutritivo marca Merck de 0,1 mL de cada una de las diluciones con el fin de aislar los microorganismos endolíticos presentes, incubando las cajas a 25°C durante tres días, este procedimiento se realizó por triplicado.

Las colonias microbianas obtenidas fueron diferenciadas por morfotipos y se procedió a hacer repiques de cada aislamiento con el objetivo de obtener colonias puras. Posteriormente se efectuó descripción de las características macroscópicas de las colonias y mediante tinción de Gram (Tabla 3-1), se realizó descripción microscópica (Madigan, Martinko, & Parker, 2004; Valencia, 2004).

Con un asa bacteriológica redonda se sustrajo una porción de la colonia bacteriana de la caja de Petri para luego fijarla en una lámina portaobjetos, posteriormente la lámina fue flameada con ayuda de un mechero para fijar el microorganismo. Y se procedió a realizar la tinción de Gram (Tabla 3-1).

Tabla 3-1. Reactivos y procedimiento para la tinción del Gram

Compuestos Tinción de Gram	Tiempo
Cristal Violeta	1' 30"
Lugol	1' 30"
Alcohol-Acetona	30"
Fucsina	1'30"

Con el fin de evaluar si las bacterias utilizaban los componentes del mineral del cual originalmente fueron extraídas, se realizó siembra en placa en un medio de cultivo mínimo que únicamente contenía el mineral pulverizado a diferentes concentraciones (Madigan, 2004).

Para preparar el medio de cultivo se utilizaron 20 g de agar noble marca Merk en 1 litro de agua desionizada y concentraciones de 10g/L, 5g/L, 2.5g/L y 1.25g/L de mineral en la solución.

Con la intención de conocer el efecto de factores fisicoquímicos sobre el crecimiento de las colonias cultivadas, se estudió la respuesta de crecimiento de los microorganismos frente a dichos factores tales como temperatura, pH y presión osmótica (salinidad, concentración de azúcar) (Valencia, 2004). Este ensayo consistió en preparar caldo nutritivo marca Merck y en diferentes tubos de ensayo variar la concentración de azúcar, salinidad, pH y temperatura para inocular los morfotipos de los microorganismos obtenidos (un total de 33 de los cuales 29 morfotipos correspondieron a bacterias y 4 a levaduras). Se prepararon soluciones de caldo nutritivo con adición de 10 g, 20 g, y 30 g de glucosa en tres soluciones, cada una de 100 mL de

caldo nutritivo para obtener concentraciones de azúcar de 10%, 20% y 30%, respectivamente. De otro lado, se prepararon soluciones de caldo nutritivo adicionaron 1 g, 6,5 g y 15 g de cloruro de sodio en otras tres soluciones cada una de 100 mL de caldo nutritivo para obtener concentraciones de 1%, 6,5 % y 15%, respectivamente. Dos soluciones, una ácida y otra básica fueron preparadas adicionando ácido clorhídrico al 0.1 normal al caldo nutritivo hasta llevar el pH de la solución a 4 y agregando la cantidad necesaria de hidróxido de sodio al 0.1 normal en otra solución de caldo nutritivo hasta llevar el pH de la solución a 9. De manera adicional se preparó otro litro de caldo nutritivo, el cual también fue transferido a tubos de ensayo con el objetivo de someter los microorganismos a diferentes temperaturas de incubación.

Se procedió a sembrar en los tubos con distintas concentraciones de azúcar, sal y pH empleando un asa redonda, procedimiento que se realizó por triplicado para cada uno de los 33 morfotipos.

Someter los microorganismos a estrés con calor puede ofrecer pistas sobre su condición extremófila, para ello, tres tubos de cada uno de los aislamientos fueron puestos en un baño María en un vaso de precipitado a 60°C y otros tres a 100°C durante 10 minutos. Posteriormente, fueron incubados a 25°C durante tres días, con excepción de tres tubos de cada aislamiento que fueron colocados en una incubadora a 37°C, otros tres tubos fueron colocados en una nevera a 4°C y tres tubos restantes se incubaron a temperatura ambiente (14°C) todos durante tres días (Valencia, 2004).

Finalmente, en la lectura de resultados se tomó la turbidez nula como resultado negativo, es decir que el tubo estaba transparente. Un resultado positivo se registró cuando el medio estaba turbio y dependiendo del grado de turbidez se definió una escala de la siguiente manera: (+: crecimiento bajo; ++: crecimiento moderado; +++: crecimiento elevado) (Valencia, 2004).

Para evaluar si los microorganismos podían crecer en medios con concentraciones diferentes a la de los minerales de los cuales se extrajeron, se realizó una siembra en medios selectivos cruzados, esto consistió en repetir el método de siembra en placa en un medio de cultivo enriquecido con el mineral pulverizado, pero la siembra se realizó de la siguiente manera: Los microorganismos cultivados originalmente del cuarzo se sembraron en medio con feldespato alcalino y calcita; los que se cultivaron originalmente de feldespato alcalino se sembraron en medio con calcita y cuarzo, y los microorganismos cultivados originalmente de calcita se sembraron en medio con cuarzo y feldespato alcalino.

3.4 Análisis estadísticos

El análisis estadístico se realizó con la técnica de Análisis de Correspondencias Múltiples (ACM), que es una metodología de representación de tablas de contingencia de doble entrada en cuyas celdas se encuentran las frecuencias de ocurrencia simultánea de modalidades de respuesta de dos variables nominales u ordinales (Lebart, 1995) ⁴ multivariadas (tablas de Burt), según la cual, las frecuencias se representan en un plano formado por unos ejes factoriales que contienen

⁴ Una tabla de contingencias es una tabla de doble entrada en cuyas celdas se encuentran las frecuencias de ocurrencia simultánea de modalidades de respuesta de dos variables nominales u ordinales (Lebart, 1995).

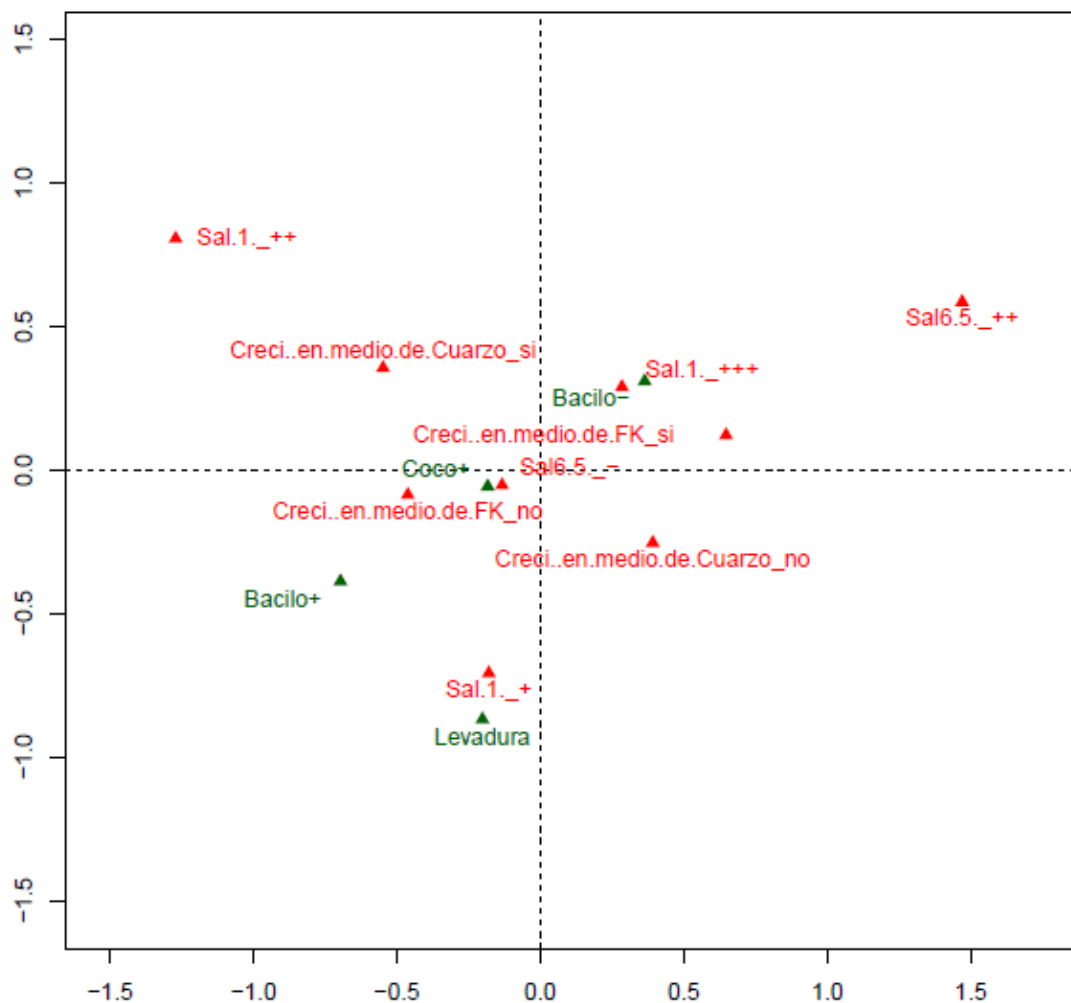
información sobre la asociación entre las modalidades de respuesta de las variables utilizadas (Lebart, Morineau, & Piron, 1995). Para el análisis de las colonias obtenidas a partir de la calcita se construyó la siguiente tabla:

Tabla 3-2. Morfotipos cultivados a partir de calcita y su crecimiento en medio enriquecido con feldespato alcalino y cuarzo y en las diferentes concentraciones de sal.

Colonia	Crecimiento en medio de FK	Crecimiento en medio de Cuarzo	Sal 1%	Sal6.5%
1B-	si	no	+++	-
2B-	no	no	+++	-
3B-	no	si	+++	-
4B+	no	si	+	-
5B-	si	si	+++	-
6C+	si	no	+++	-
7L	no	no	+	-
8C+	si	no	+	-
9C+	no	si	++	-
10B-	si	no	+++	++
11C+	no	si	+++	-
12C+	no	no	+	-

La Tabla 3-2 contiene el estado de crecimiento de los morfotipos de calcita en medios enriquecidos con feldespato y cuarzo y un indicador del grado de turbidez obtenido en dos concentraciones diferentes de sal en caldo nutritivo. En la representación de la Figura 3-3 producida por el ACM de la Tabla 3-2 se observa que el crecimiento de las comunidades bacterianas extraídas de la calcita se ve favorecido tanto por concentración 1% de sal en caldo nutritivo como por medios enriquecidos con feldespato alcalino y cuarzo.

Figura 3-3. Calcita en medios cruzados y salinos.



Se reprodujo la misma metodología en las demás tablas y gráficos producidos por ACM.

4 Resultados

4.1 Resultados geológicos

Petrografía

La nomenclatura de las secciones delgadas fue tomada con la inicial del mineral (Cal, calcita); (Q, cuarzo); (FK, feldespato alcalino) y el número 1 y 2 debido a que se realizaron dos de cada mineral.

Calcita: Una de las secciones de calcita Cal 1 (ver Figura 4-1), fue realizada con un corte paralelo al eje mayor de los cristales y la sección Cal 2 fue realizada con un corte perpendicular al eje mayor de los cristales. Los cristales de la muestra de calcita son anhedrales, con muy buena exfoliación en la sección Cal 2 (ver Figura 4-2), debido a que la calcita tiene un relieve ondulante se pudo diferenciar de la dolomita al sincronizar la diagonal mayor del cristal con el máximo relieve. La figura de interferencia es uniáxica negativa y la macla es polisintética romboédrica (Figura 4-3).

Figura 4-1. Sección delgada de Cal 1, aumento 4X. Izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos

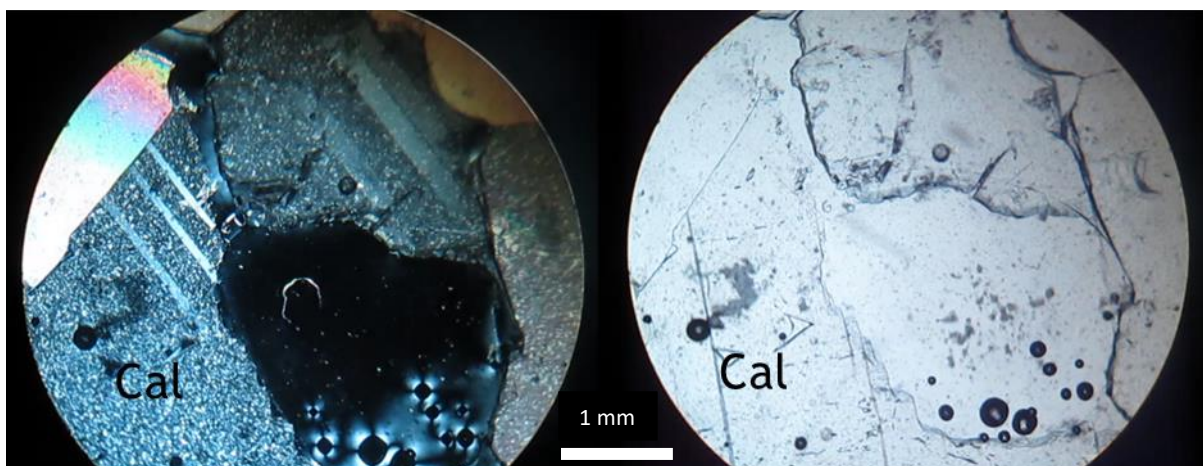


Figura 4-2 . Sección delgada de Cal 2, aumento 4X. Izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos.

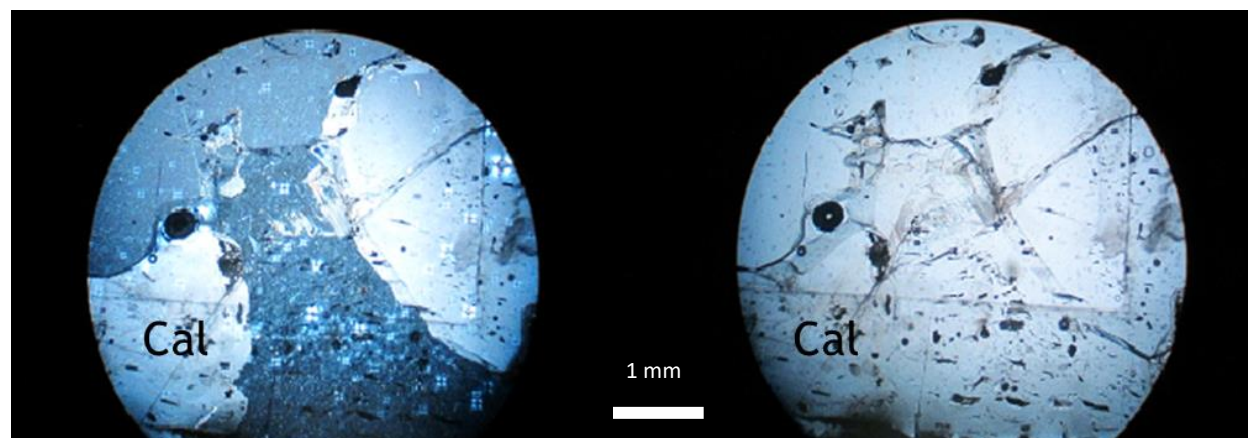
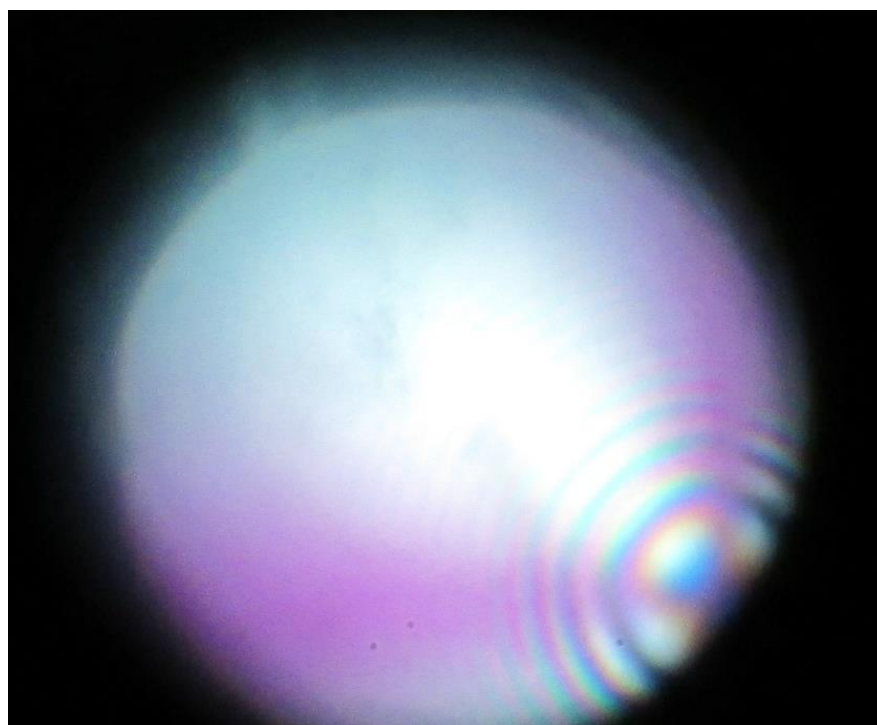


Figura 4-3. Figura de interferencia uniáxica negativa de Cal 1.



Feldespatos alcalinos: Debido a su macla característica se identificó el feldespato alcalino como microclina lo cual coincide con el ambiente donde fue encontrada asociada pegmatitas graníticas, y sienitas. Es una microclina pertitizada con exsoluciones de plagioclasa dentro del feldespato, posee algunos cristales de cuarzo anhedrales al igual que la microclina; las plagioclasas de la exsolución poseen macla polisintética y macla periclina. Esta levemente alterada a sericita (Figura 4-4 y Figura 4-5) en pocas secciones de la placa y tiene algunas moscovitas (Figura 4-6) su figura de interferencia es biáxica negativa.

Figura 4-4. Sección delgada de microclina 2, aumento 60X. Izquierda nicols cruzados, derecha nicols paralelos.

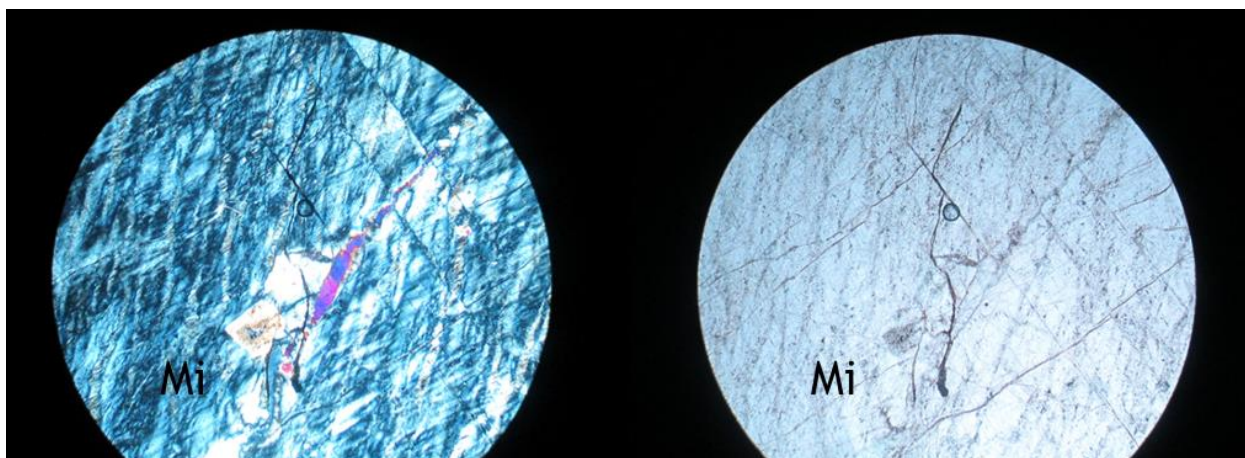


Figura 4-5. Sección delgada de microclina 2, aumento 4X. Moscovita centrada, izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos.

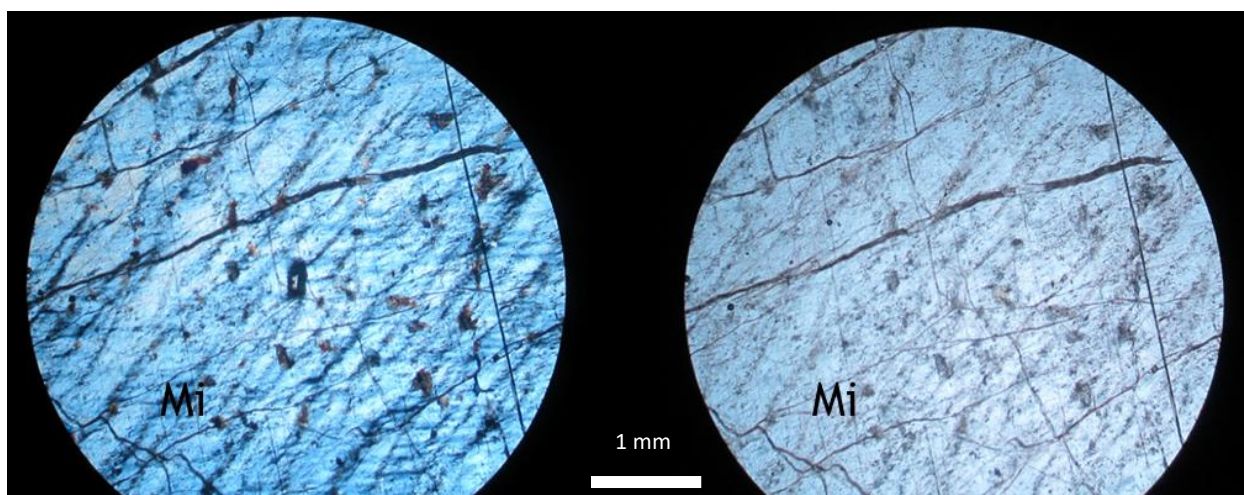
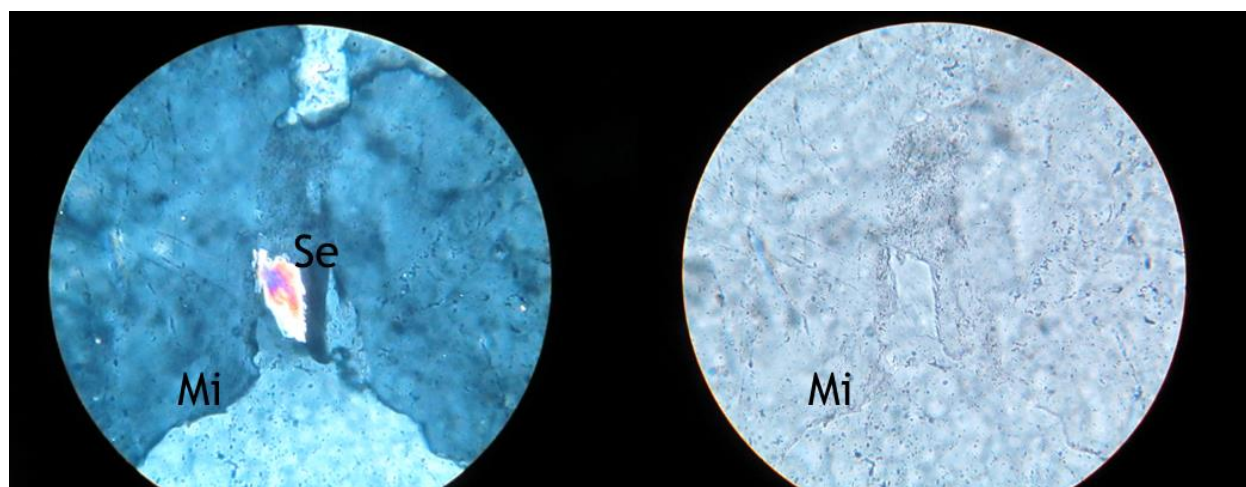


Figura 4-6. Sección delgada de microclina 1, aumento 60X. Sericita centrada, izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos.



Cuarzo: Con la sección delgada se pudo constatar que las vetas de cuarzo del Granito de Pescadero tienen un grado bajo de metamorfismo evidenciado por la deformación de los bordes entre los cristales, tienen cierta trituración y son anhedrales (Figura 4-8).

La figura de interferencia es uniáxica positiva, hay unos pocos cristales con figura biáxica negativa y corresponden a feldespato. Tiene poca presencia de sericita y de moscovita en algunas secciones de la placa, además tiene goethita (Figura 4-8).

Figura 4-7. Sección delgada de Q2, aumento 4X. Izquierda nicols cruzados, derecha nicols paralelos

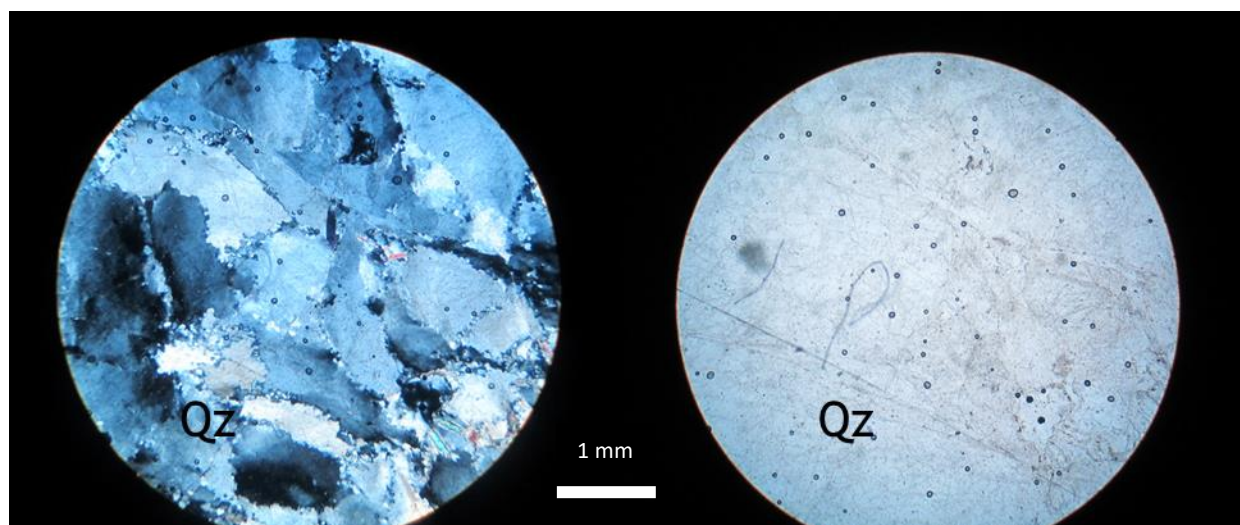
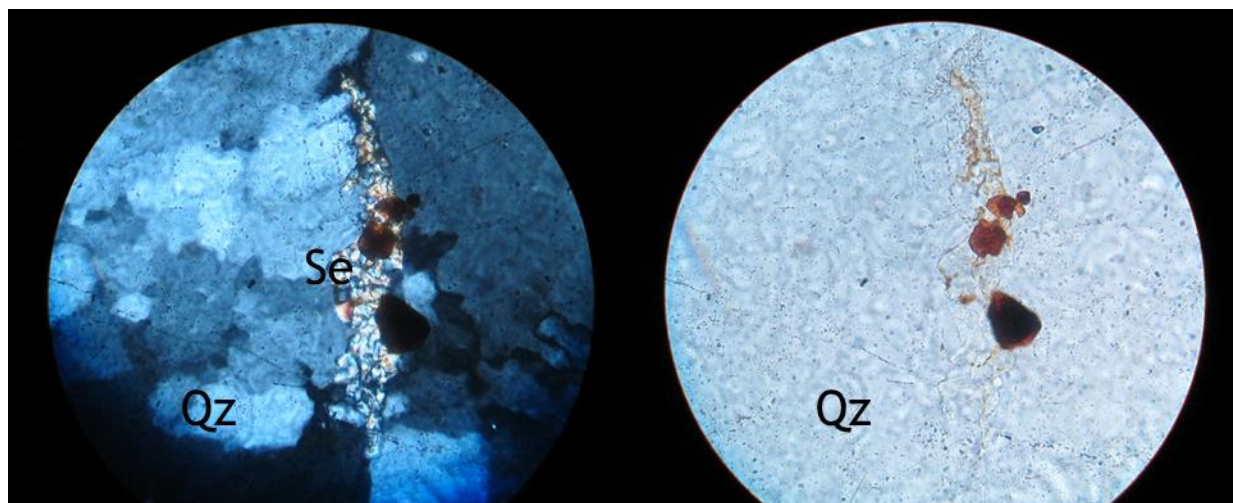


Figura 4-8. Sección delgada de Q1. Sericita centrada, aumento 60 X, izquierda nicoles cruzados, derecha nicoles paralelos



Fluorescencia de rayos X

Además de comprobar la identidad de los minerales por medio de las propiedades ópticas, se comprobó por comparación de la composición resultado de la fluorescencia de rayos X con la composición química teórica. La composición química teórica de una calcita es C: 12,00%, Ca: 40,04%, O: 47,96%, CO₃: 59,94% y la composición obtenida por fluorescencia de rayos X fue 99,49% de CaCO₃; 0,43% SiO₂; 0,06% de Al₂O₃ y 0,03% de MgO (Tabla 4-1). Por lo tanto, la muestra es una calcita pura y está muy alejada del espectro de las dolomitas ya que tiene una proporción muy baja de MgO, que en las dolomitas es 21.86%.

Con respecto a la microclina la composición teórica es 16.93% de K₂O, 18.35% de Al₂O₃ y 64.73% de SiO₂ y los elementos mayores que arrojó la fluorescencia de rayos X se distribuyen así 13,60% de K₂O; 18,29% de Al₂O₃ y 62,56% de SiO₂ (Tabla 4-1). Las composiciones son similares y encajan dentro del rango de distribución de elementos de la microclina.

El cuarzo es SiO_2 pura con 46.7% de Si y 53.3% de O. De acuerdo con la Tabla 4-1 la muestra de cuarzo tiene 99,28% de SiO_2 con proporciones menores de CaO, Al_2O_3 y Cl que pueden deberse a la presencia de sericita, moscovita y goethita.

Estos resultados ayudan a definir qué elementos químicos están presentes en las muestras de minerales como potenciales macro y micronutrientes en el hábitat endolítico.

Tabla 4-1. Fluorescencia de rayos X, porcentaje en peso de elementos mayores para calcita, cuarzo y feldespato alcalino.

Elemento y/o Compuesto	XRF-6117 M-1 Calcita -Tchegliakova- (% en peso)
CaCO_3	99,49%
SiO_2	0,34%
Al_2O_3	0,06%
Fe_2O_3	0,05%
MgO	0,03%
P_2O_5	0,02%
Cl	59 ppm

Elemento y/o Compuesto	XRF-6118 M-2 Cuarzo -Tchegliakova- (% en peso)
SiO_2	99,28%
CaO	0,47%
Al_2O_3	0,09%
Cl	0,04%
Na_2O	0,03%
MgO	0,03%
Fe_2O_3	0,03%
K_2O	0,02%
P_2O_5	94 ppm
MnO	85 ppm
SO_3	44 ppm

Elemento y/o Compuesto	XRF-6119 M-3 Feldespato -Tchegliakova- (% en peso)
SiO_2	62,56%
Al_2O_3	18,29%
K_2O	13,60%
Na_2O	2,63%
CaO	2,41%
Ba	0,20%
Fe_2O_3	0,08%
Cl	0,06%
P_2O_5	0,04%
Rb	0,04%
Pb	0,03%
MnO	0,02%
Sr	0,02%
SO_3	0,01%
Y	13 ppm

Microscopía electrónica de barrido

En el estudio realizado por Gleeson *et al.*, (2005), se reportan bacilos adheridos a la superficie de moscovita, plagioclasa, feldespato alcalino y cuarzo por medio de fotografías tomadas con microscopía electrónica de barrido (MEB). El tamaño medio de las bacterias fotografiadas en dicho estudio con MEB es alrededor de una micra ($1\mu\text{m}$). Debido a que las muestras no son totalmente conductoras fue difícil obtener una buena resolución del tamaño requerido, lo ideal al revisar muestras en MEB es que la muestra sea muy plana y la zona que se quiere estudiar tenga un relieve elevado.

Figura 4-9. Izquierda, foto panorámica de MEB en calcita, aumento 100X. Derecha, foto panorámica de MEB en calcita, aumento 600X.

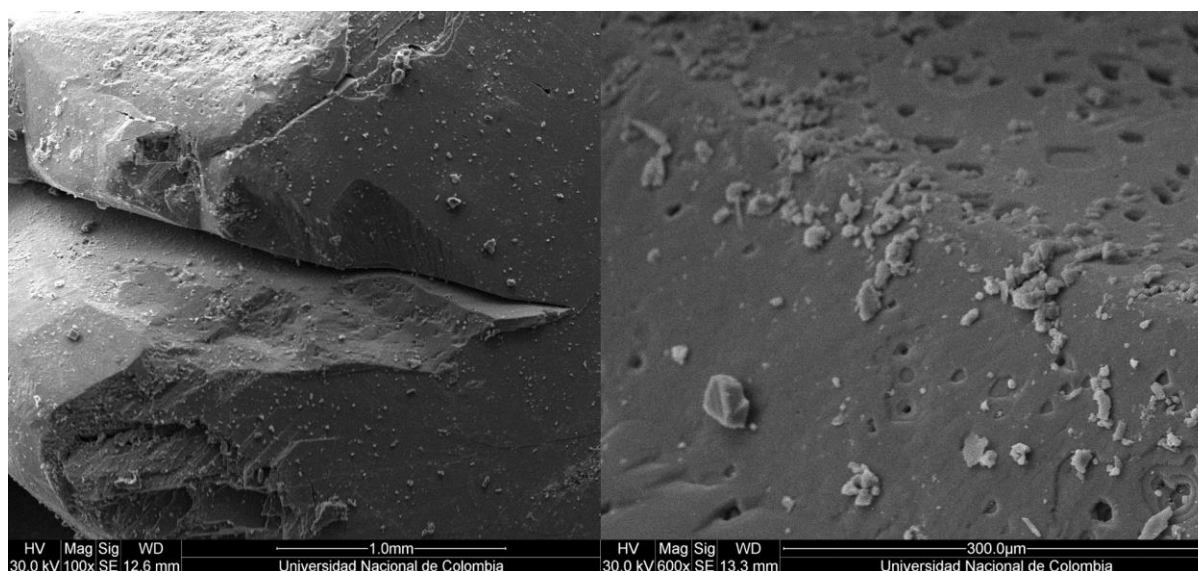
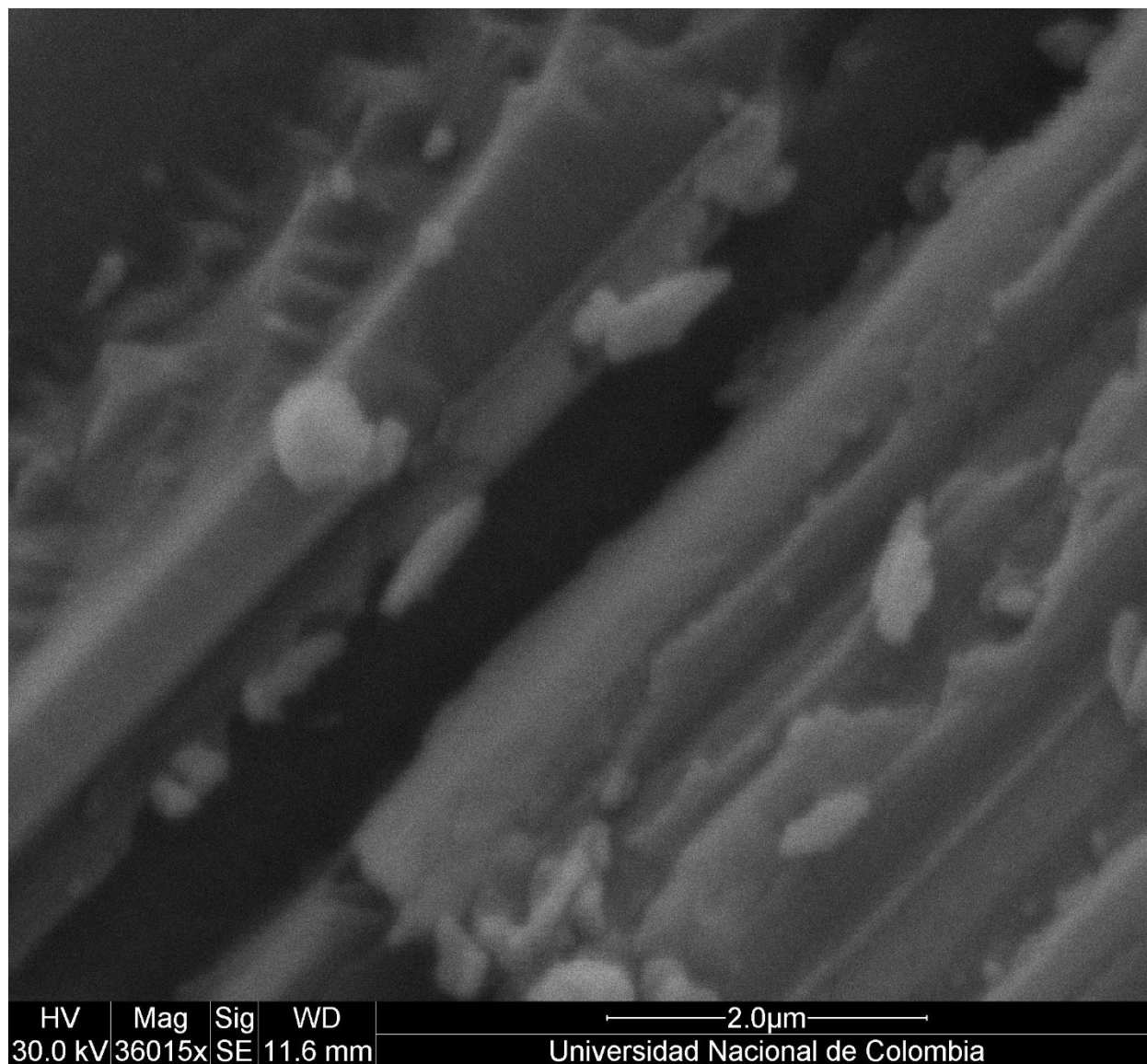


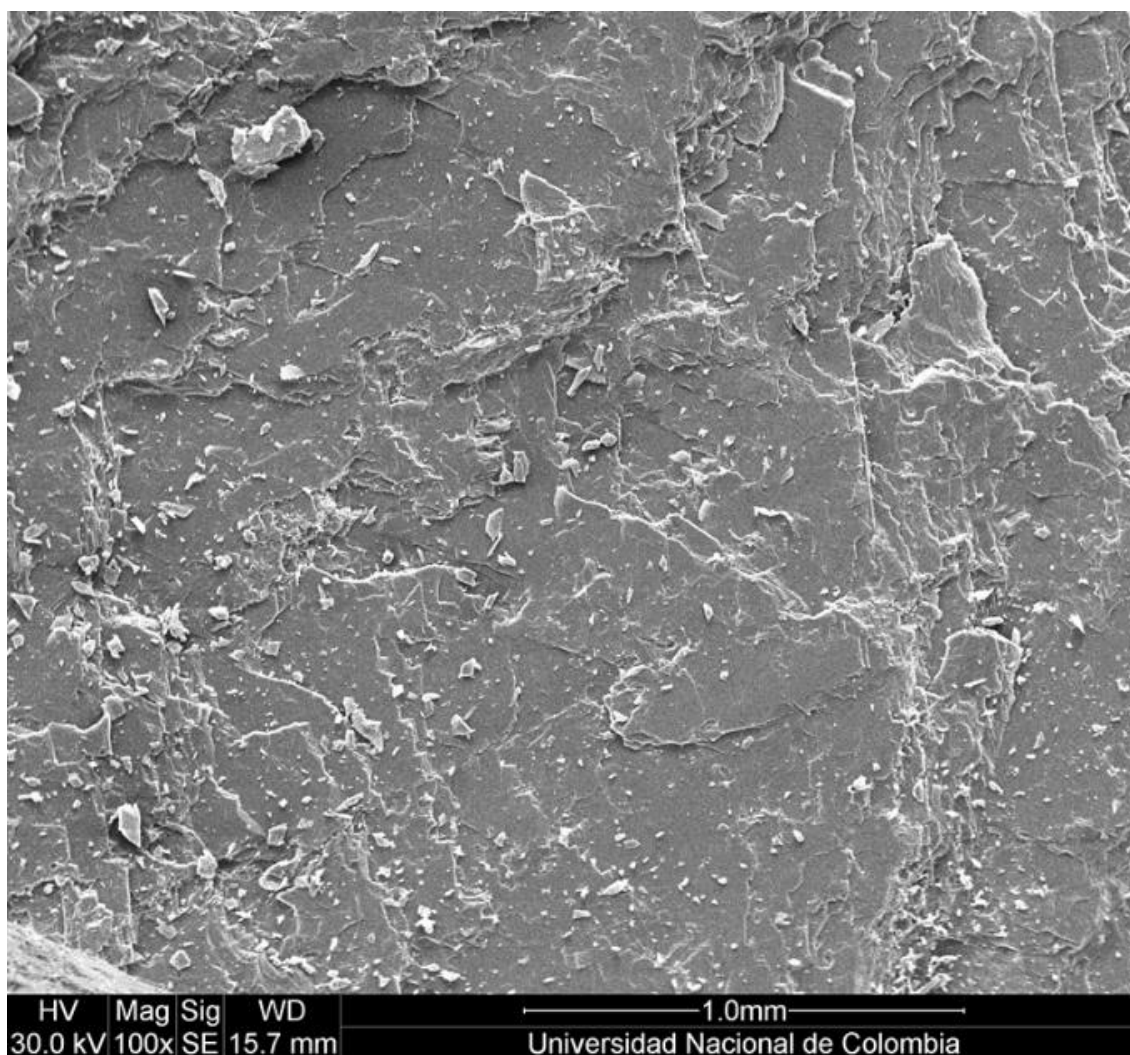
Figura 4-10. Posible bacilo adherido a una fisura en el interior de la muestra de calcita. Aumento 36015X



La Figura 4-9 muestra la superficie interna de la calcita con aumento de 100 X y 600X. Allí se puede apreciar que este mineral posee tanto fisuras como porosidad, ofreciendo las cavidades necesarias para hospedar comunidades bacterianas chasmoendolíticas o

criptoendolíticas. En la Figura 4-10 se puede observar la superficie interna del mineral de calcita con mayor resolución.

Figura 4-11. Izquierda, foto panorámica de MEB en feldespato alcalino, aumento 100X.



La Figura 4-11 muestra la fotografía panorámica tomada con MEB en una de las superficies internas del feldespato alcalino. Aparentemente con ese aumento el feldespato alcalino no tiene fisuras o fracturas.

Figura 4-12. Izquierda, foto panorámica de MEB en cuarzo, aumento 100X. Derecha, foto panorámica de MEB en cuarzo, aumento 500X.

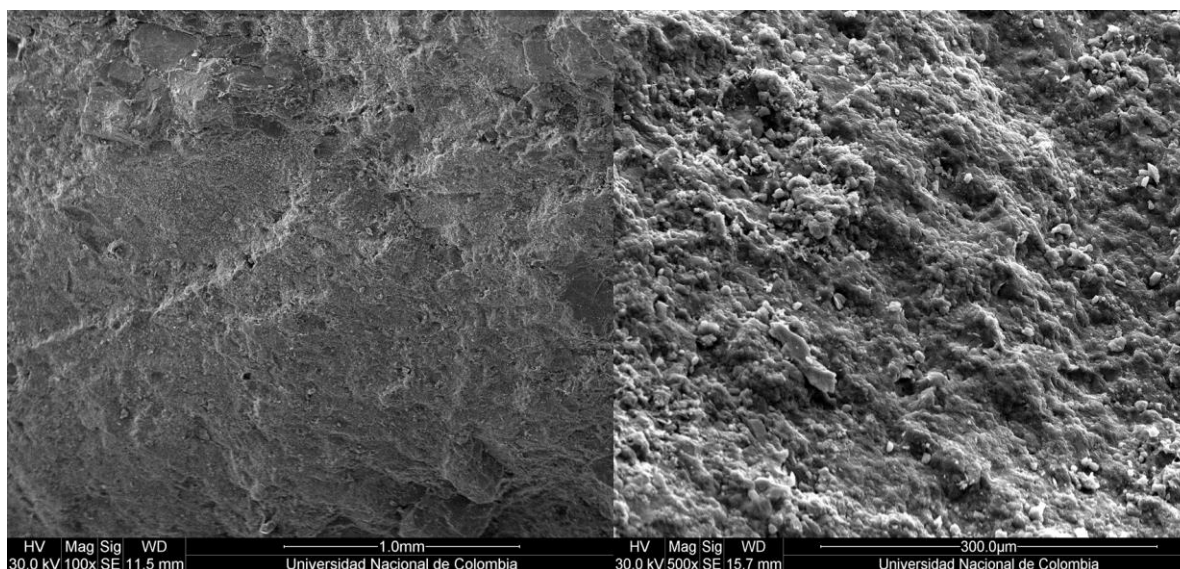
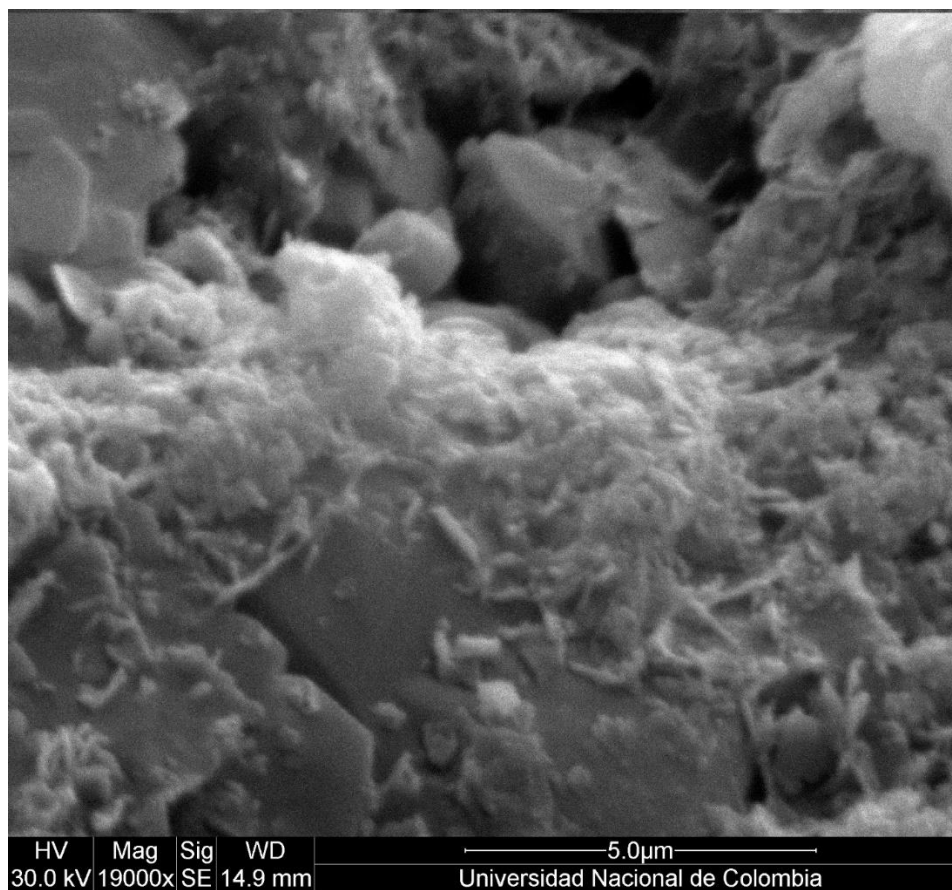


Figura 4-13. Poro dentro de muestra de cuarzo. Aumento 15000X



La Figura 4-12 muestra la superficie interna del cuarzo con un aumento de 100 X. Se puede apreciar que el mineral tiene cierta porosidad en su interior, lo que ofrece las cavidades necesarias para hospedar comunidades bacterianas chasmoendolíticas o criptoendolíticas. En la Figura 4-13 se observa la superficie interna del cuarzo con mayor resolución en uno de sus poros.

En contraste con los tapetes microbianos encontrados en las muestras de Gleeson (2005), en las muestras procesadas por MEB en el presente estudio no se puede afirmar con exactitud que se observaron estructuras típicamente conocidas para bacterias, aun cuando algunas formas tienen cierta similitud a bacterias, las imágenes obtenidas no son concluyentes, motivo por el cual se recomienda continuar con estudios posteriores de los minerales que permitan una mayor exploración de posibles hallazgos mediante procedimientos microbiológicos y de microscopía adicionales.

4.2 Resultados microbiológicos

Registro de morfotipos de colonias de microorganismos obtenidos

De las tres muestras de minerales crecieron en total 33 morfotipos como se muestra en la Tabla 4-2, los morfotipos de calcita y feldespato alcalino tienen la inicial del mineral del cual fueron extraídos como nomenclatura para identificarlos y los que fueron extraídos de cuarzo tienen una Q para evitar confusiones con calcita.

Tabla 4-2. Número de morfotipos aislados en los diferentes minerales

	Calcita	Feldespatos alcalinos (microclina)	Cuarzo	Total
Conteo morfotipos	12	13	8	33

Como resultado del método empleado para aislamiento de los microorganismos de interés, se realizó descripción morfológica de las 33 colonias resultantes la cual involucró registro de tamaño, forma, elevación, borde, superficie, densidad y pigmento (Valencia, 2004). Además, se incluyó información adicional con características especiales de las comunidades microbianas para ayudar a su identificación (Tabla 4-3;Tabla 4-4 y Tabla 4-5).

Tabla 4-3. Descripción morfológica de los morfotipos obtenidos de calcita

Colonia	Tamaño (mm)	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Densidad	Pigmento	Observaciones
C1	4mm	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Opaca	Blanca	
C2	4mm	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Opaca	Blanca	
C3	1mm	Circular	Plana	Entero	Brillante	Opaca	Blanca	
C4	7mm	Irregular	Elevada	Entero	Cerosa	Opaca	Blanca	Una estrella en el centro
C5	1,5mm	Irregular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Blanca	Halo azulado, endosporado
C6	2mm	Circular	Convexa	Entero	Cerosa	Opaca	Amarillo, blancusco	
C7	1mm	Circular	Convexa	Entero	Cerosa	Opaca	Rosada	
C8	2mm	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Opaca	Amarilla	
C9	4mm	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Opaca	Amarilla	
C10	3mm	Circular	Convexa	Ondulada	Cerosa	Opaca	Blanca	Con esfera en el centro
C11	3mm	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Opaca	Amarilla	
C12	3mm	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Opaca	Amarillo, blancusco	

Tabla 4-4. Descripción morfológica de los morfotipos obtenidos de alcalino

Colonia	Tamaño (mm)	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Densidad	Pigmento	Observaciones
FK1	4	Circular	Umbonada	Ondulado	Superficie	Opaca	Amarilla	
FK2	5	Circular	Pulvinada	Entero	Ceroso	Opaca	Blanca	
FK3	4	Circular	Cóncava	Entero	Ceroso	Opaca	Blanca	
FK4	3	Circular	Umbonada	Ondulado	Ceroso	Opaca	Blanca	
FK5	4	Circular	Umbonada	Ondulado	Ceroso	Opaca	Blanca	Halo transparente
FK6	1	Puntiforme	Convexa	Entero	Ceroso	Opaca	Blanca	
FK7	2	Circular	Convexa	Entero	Ceroso	Opaca	Rosada	
FK8	4	Circular	Plana	Entero	Brillante	Opaca	Blanca	
FK9	1	Circular	Elevada	Entero	Brillante	Opaca	Blanca	
FK10	2	Circular	Convexa	Entero	Ceroso	Opaca	Amarilla	
FK11	1,5	Circular	Convexa	Entero	Brillante	Opaca	Roja	
FK12	1	Irregular	Elevada	Entero	Brillante	Opaca	Rosada	
FK13	5	Circular	Umbonada	Ondulado	Ceroso	Opaca	Blanca	

Tabla 4-5. Descripción morfológica de los morfotipos obtenidos de cuarzo

Colonia	Tamaño (mm)	Forma	Elevación	Borde	Superficie	Densidad	Pigmento	Consistencia
Q1	1	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Transparente	Mucoide
Q2	2	Circular	Plana	Lobulado	Cerosa	Opaca	Blanco	Mucoide
Q3	1-2	Circular	Plana	Ondulado	Cerosa	Opaca	Blanco	Mucoide
Q4	<1	Puntiforme	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Blanco	Mucoide
Q5	2	Circular	Plana	Entero	Cerosa	Opaca	Blanco	Mucoide
Q6	5	Irregular	Elevada	Lobulado	Brillante	Opaca	Blanco	Mucoide
Q7	4	Puntiforme	Elevada	Entero	Cerosa	Opaca	Rosado	Mucoide
Q8	7	Puntiforme	Elevada	Irregular	Brillante	Brillante	Blanco	Mucoide

2. Resultados de tinción de Gram

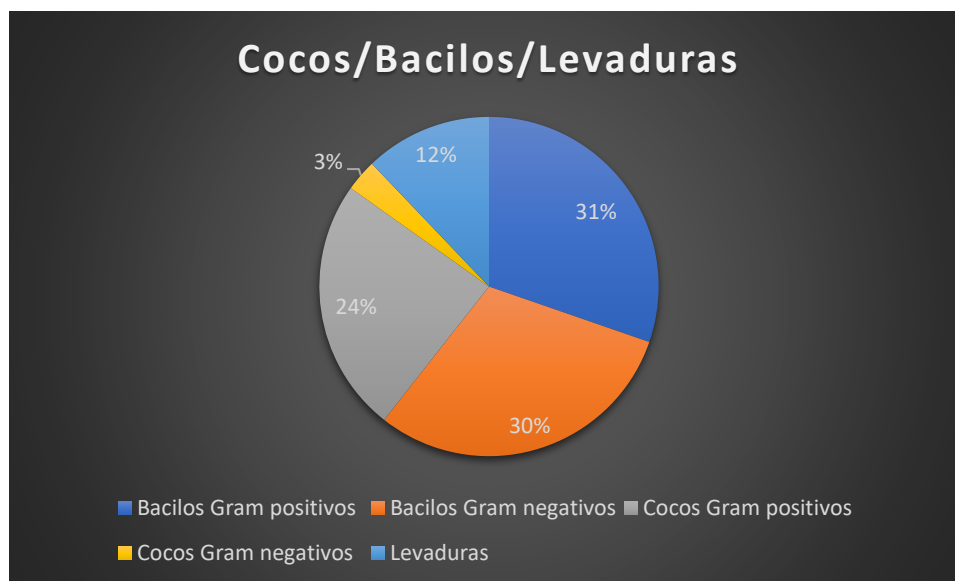
Los resultados obtenidos por la tinción de Gram, que permite efectuar descripción de las características microscópicas de los aislamientos obtenidos se visualizan en la Tabla 4-6.

Tabla 4-6. Número de morfotipos con características microscópicas diferentes empleando tinción de Gram

Calcita			Feldespató alcalino			Cuarzo		
Colonia	Coco/Bacilo	Gram	Colonia	Coco/Bacilo	Gram	Colonia	Coco/Bacilo	Gram
C1	Bacilo	-	FK1	Bacilo	+	Q1	Bacilo	+
C2	Bacilo	-	FK 2	Bacilo	-	Q2	Bacilo	+
C3	Bacilo	-	FK 3	Bacilo	-	Q3	Bacilo	+
C4	Bacilo	+	FK 4	Bacilo	-	Q4	Coco	+
C5	Bacilo	-	FK 5	Bacilo	+	Q5	Bacilo	+
C6	Coco	+	FK 6	Bacilo	-	Q6	Bacilo	+
C7	Levadura		FK 7	Levadura		Q7	Levadura	
C8	Coco	+	FK 8	Bacilo	-	Q8	Bacilo	+
C9	Coco	+	FK 9	Coco	+			
C10	Bacilo	-	FK 10	Coco	+			
C11	Coco	+	FK 11	Coco	-			
C12	Coco	+	FK 12	Levadura				
			FK 13	Bacilo	+			

De las 33 bacterias cultivadas a partir de los tres minerales, hay 20 bacilos (61% de los morfotipos) de los cuales 10 son Gram negativos y 10 Gram positivos (Figura 4-14. Porcentaje de aislamientos con características microscópicas diferentes empleando tinción de Gram.). Solo crecieron 9 cocos (27% de los morfotipos) de los cuales 8 son Gram positivos y solo 1 es Gram negativo (FK 12) (Figura 4-14). Crecieron además 4 hongos levaduriformes (12% de los morfotipos), cabe anotar que aun cuando en el presente estudio en un inicio se había hecho énfasis en la obtención de bacterias, es de interés haber obtenido aislamientos de 4 hongos levaduriformes (Q7, Fk12, FK 7 y C7) (Figura 4-14).

Figura 4-14. Porcentaje de aislamientos con características microscópicas diferentes empleando tinción de Gram.



De los morfotipos obtenidos a partir de calcita solamente un bacilo es Gram positivo, los demás son todos Gram negativos y absolutamente todos los cocos son Gram positivos (Tabla 4-6).

En contraste, en el feldespato alcalino hay mayor equivalencia entre bacilos Gram positivos y bacilos Gram negativos. Además, el único coco Gram negativo cultivado a partir del microhábitat endolítico de los tres minerales, creció en la muestra de feldespato alcalino (Tabla 4-6).

Se puede observar en la tabla Tabla 4-6 que todos los morfotipos crecidos a partir de cuarzo son Gram positivos, además la mayoría son bacilos y solo creció un coco y un hongo levaduriforme.

A continuación, se presentan registros mediante tinción de Gram para algunos de los morfotipos microbianos obtenidos: morfotipo C12 cocos Gram positivos (Figura 4-15), Bacilos Gram positivos (Figura 4-16) y hongos levaduriformes (Figura 4-17).

Figura 4-15. Diplococos Gram positivos, C12. Aumento 100X

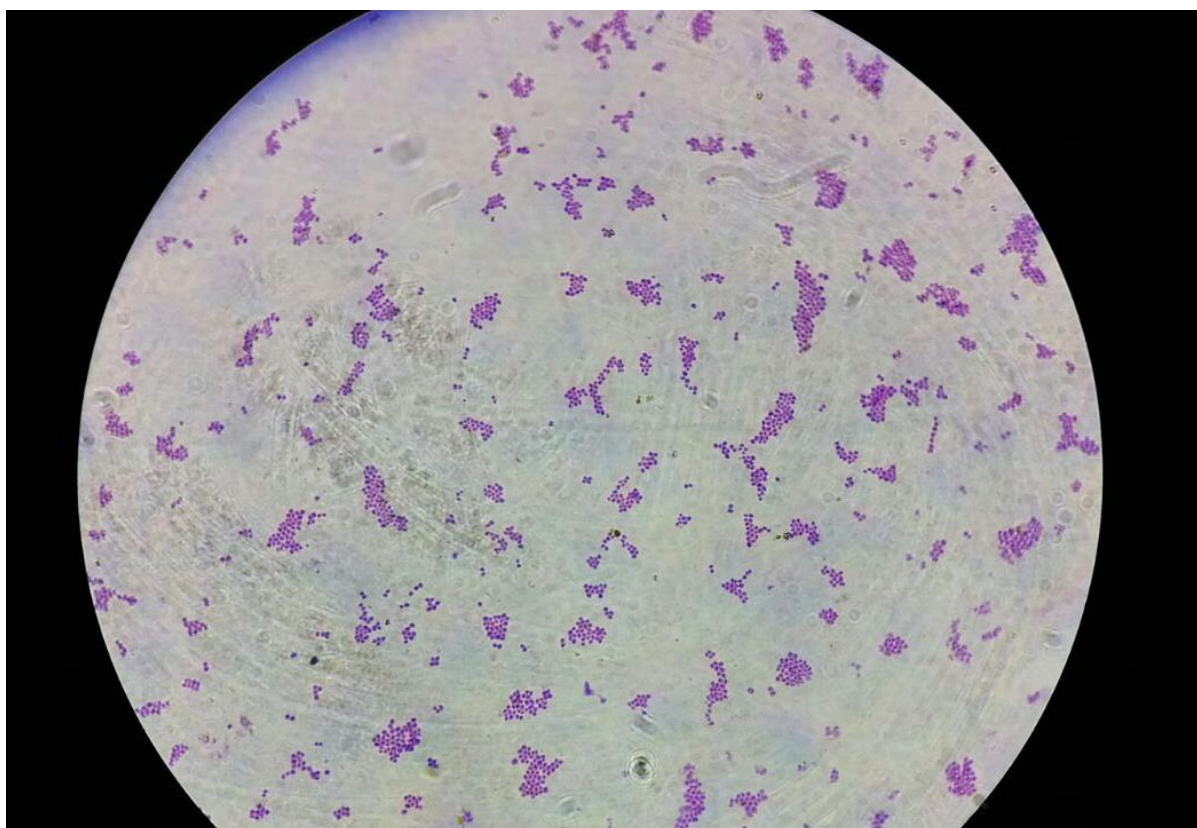


Figura 4-16. Izquierda, bacilos Gram positivos, morfotipo FK13 (aumento 100X). Derecha, bacilos Gram positivos, Q7 (aumento 100X).

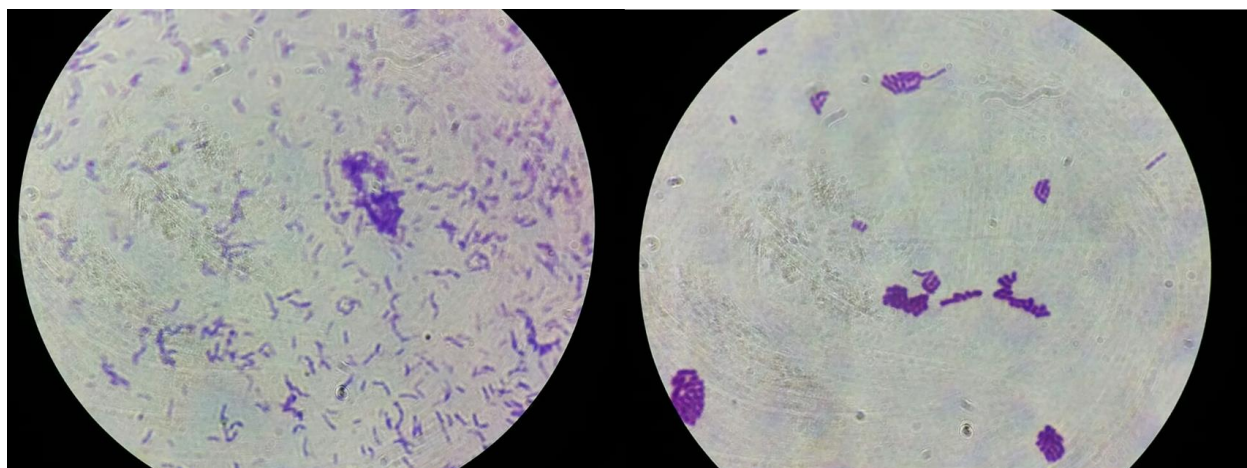
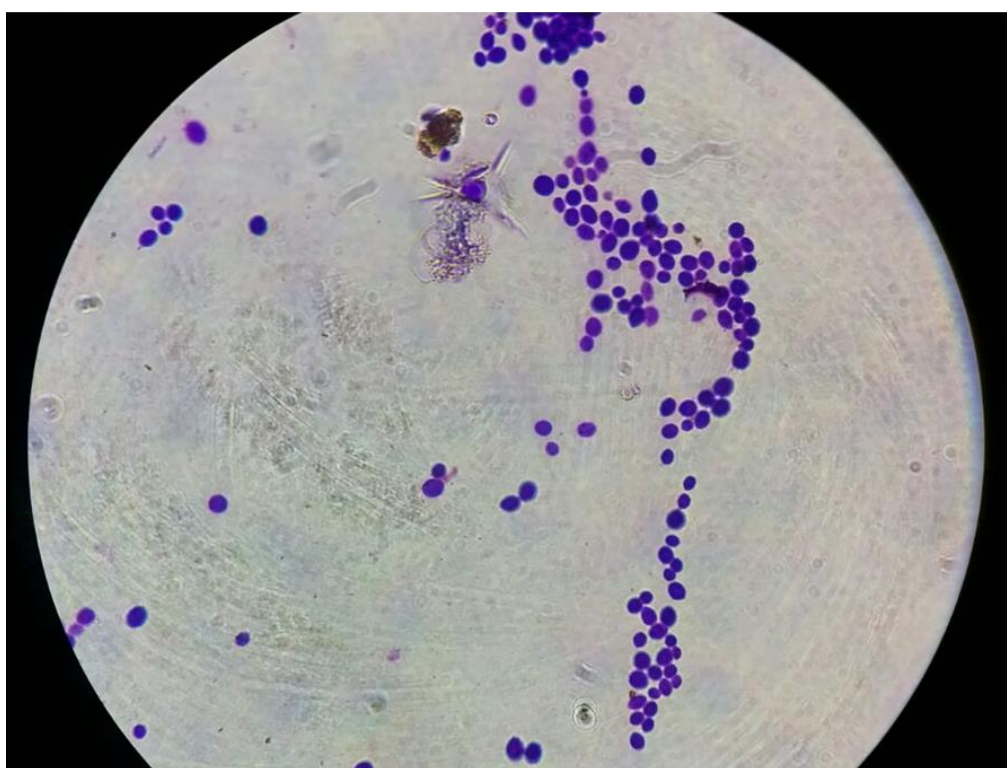


Figura 4-17. Hongo levaduriforme, morfotipo Q8 (aumento 100X).



Es importante destacar que los bacilos representan el 61% de los 33 aislamientos obtenidos a partir del interior de los tres minerales. Por otro lado, la Figura 4-14 resalta el hecho de que solamente el 1% de los aislamientos son cocos Gram negativos.

Resultados de siembra en medio selectivo

En la Tabla 4-7 se puede observar que todos los morfotipos crecieron en el medio enriquecido con los componentes de los cuales fueron extraídos.

Tabla 4-7. Aislamientos que crecieron en medio enriquecido con el mineral de origen.

Crecimiento en medio selectivo			
Colonia	Calcita	Feldespató alcalino	Cuarzo
1	Si	Si	Si
2	Si	Si	Si
3	Si	Si	Si
4	Si	Si	Si
5	Si	Si	Si
6	Si	Si	Si
7	Si	Si	Si
8	Si	Si	Si
9	Si	Si	
10	Si	Si	
11	Si	Si	
12	Si	Si	

1. Resultados de pruebas fisicoquímicas

En la Tabla 4-8 Tabla 4-9 Tabla 4-10 se observan los resultados obtenidos para evaluación del efecto de factores fisicoquímicos para el crecimiento de los morfotipos estudiados.

Tabla 4-8. Morfotipos obtenidos a partir de calcita y su crecimiento según efecto de diversos factores fisicoquímicos

Prueba/Cepa	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12
Azúcar 10%	+++	+++	++	+	+++	-	++	+++	+	+++	+++	+++
Azúcar 20%	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
Azúcar 30%	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Sal 1%	+++	+++	+++	+	+++	+++	+	+	++	+++	+++	+
Sal 6.5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-
Sal 15%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 7 (37°C)	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
pH 9	+++	+++	+++	-	+++	++	+	-	+++	+++	+++	-
T 4°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T 14°C	+++	++	++	-	+++	+	+++	+++	+++	+++	++	+
T 60°C	+++	++	++	-	++	-	+++	-	-	+++	+++	-
T 100°C	-	+	++	+	++	++	-	-	-	-	++	++

Tabla 4-9. Morfotipos obtenidos a partir de feldespatos alcalinos y su crecimiento según efecto de diversos factores físicoquímicos

Prueba/Cepa	FK1	FK2	FK3	FK4	FK5	FK6	FK7	FK8	FK9	FK10	FK11	FK12	FK13
Azúcar 10%	-	+	++	+	+	++	++	+++	-	++	++	+	+++
Azúcar 20%	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	-
Azúcar 30%	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Sal 1%	++	+	-	++	++	++	++	+++	+	+++	++	+++	+++
Sal 6.5%	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Sal 15%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
pH 7 (37°C)	+++	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++
pH 9	++	+	++	++	++	+	+	++	++	+	++	++	+
T 4°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T 14°C	+	+	+	++	+	+	++	+++	++	++	+	+++	+++
T 60°C	-	+	+	+	+	++	-	+	++	+	+	+	+
T 100°C	-	+	+	+	++	+	-	++	-	+	-	-	+

Tabla 4-10. Morfotipos obtenidos a partir de cuarzo y su crecimiento según efecto de diversos factores fisicoquímicos

Prueba/Cepa	Q1	Q2	Q3	Q4	Q1	Q2	Q3	Q4
Azúcar 10%	++	+++	++	+++	-	+++	+++	++
Azúcar 20%	-	-	+++	+++	-	++	-	-
Azúcar 30%	-	-	+	+++	-	-	-	-
Sal 1%	-	+	+++	-	+	++	++	++
Sal 6.5%	-	-	-	++	-	-	+	-
Sal 15%	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 4	-	-	-	-	-	-	-	++
pH 7 (37°C)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
pH 9	-	+++	+++	+++	-	++	++	++
T 4°C	++	+	-	-	-	-	-	-
T 14°C	+++	++	++	+++	+++	+++	++	+++
T 60°C	++	++	-	-	-	-	+	-
T 100°C	++	+	-	-	-	-	-	-

Algunos factores fisicoquímicos como pH 4, temperatura 4°C, y sal 15% son hostiles para el crecimiento de las comunidades endolíticas (Tabla 4-9, Tabla 4-10). Ninguno de los 33 morfotipos creció en caldo nutritivo con concentración de sal de 15%, sin embargo, hubo algunas excepciones. Cinco morfotipos (Q7, Q4, FK6, FK8 y C10) crecieron en caldo nutritivo con concentración de sal de 6,5%. Solamente 2 de los 33 morfotipos crecieron en pH 4 (FK12 y Q8) y solamente 2 morfotipos (Q1 y Q2) crecieron a 4°C (ver Tabla 4-8, Tabla 4-9, Tabla 4-10).

2. Resultados de siembra en medio selectivo cruzado

En general los morfotipos que crecieron en medio enriquecido con calcita no crecieron en medio enriquecido con cuarzo y feldespato alcalino, ocurre algo similar con los morfotipos que crecieron en medio enriquecido con calcita. Solo hay 6 excepciones de morfotipos que crecieron en todos los medios enriquecidos con minerales diferentes a los originales y son C5; Q2, Q3, Q7, FK3 y FK11(Tabla 4-11;Tabla 4-12 y Tabla 4-13).

Tabla 4-11. Crecimiento y coincidencia de microorganismos cultivadas a partir de calcita sembradas en medios enriquecidos con los otros minerales

Microorganismos cultivados a partir de calcita			
Colonia	Crecimiento en medio de FK	Crecimiento en medio de Cuarzo	Coincidencia
C1	Si	No	0
C2	No	No	1
C3	No	Si	0
C4	No	Si	0
C5	Si	Si	1
C6	Si	No	0
C7	No	No	1
C8	Si	No	0
C9	No	Si	0
C10	Si	No	0
C11	No	Si	0
C12	No	No	0

Tabla 4-12. Crecimiento y coincidencia de bacterias cultivadas a partir de feldespatos alcalinos sembrados en medios enriquecidos con los otros minerales.

Microorganismos cultivados a partir de FK			
Colonia	Creció en medio de Cuarzo	Creció en medio de Calcita	Coincidencia
FK1	Si	No	0
FK2	No	Si	0
FK3	Si	Si	1
FK4	No	No	1
FK5	No	No	1
FK6	Si	No	0
FK7	No	Si	0
FK8	Si	No	0
FK9	No	No	1
FK10	No	Si	0
FK11	Si	Si	1
FK12	No	No	1
FK13	Si	No	0

Tabla 4-13. Crecimiento y coincidencia de bacterias cultivadas a partir de cuarzo sembrados en medios enriquecidos con los otros minerales.

Microorganismos cultivados a partir de cuarzo			
Colonia	Creció en medio de FK	Creció en medio de Calcita	Coincidencia
Q1	Si	No	0
Q2	Si	Si	1
Q3	Si	Si	1
Q4	Si	No	0
Q5	No	Si	0
Q6	No	No	1
Q7	Si	Si	1
Q8	Si	No	0

4.3 Resultados estadísticos:

Análisis de correspondencias múltiples

Algunos de los resultados de las pruebas fisicoquímicas tuvieron siempre los mismos valores, debido a esto las siguientes pruebas fueron consideradas como variables y eliminadas de los análisis de correspondencias múltiples.

En el análisis de correspondencias múltiples de calcita se eliminaron los datos de pH 4, 4° C y sal 15% debido a que ningún morfotipo creció en estas condiciones. En el análisis de feldespato alcalino se eliminaron los datos de 4 °C y sal 15% debido a que ningún morfotipo creció en estas concentraciones. En el análisis de cuarzo se eliminaron los datos de sal 15% ya que ninguno de los morfotipos cultivados a partir de cuarzo creció en esta concentración.

De igual manera, todos los morfotipos crecieron en medio enriquecido con los minerales a partir de los cuales fueron cultivados por lo tanto se consideran constantes y fueron eliminados de la lista de variables.

Las Figura 4-18, Figura 4-19 y Figura 4-20 muestran el ACM. Fueron realizadas con R Core Team (2017) y ploteadas con ggplot (Wickham, 2009). Para analizar mejor cada plano factorial se incluyó en la nomenclatura de los morfotipos la morfología identificada por tinción de Gram.

a. Calcita

Los resultados del ACM para la tabla de calcita se muestran en la Figura 4-18. Allí se observa que las tendencias de crecimiento de los microorganismos cultivados a partir de calcita dentro de los factores abióticos de temperatura, pH, y concentración de azúcar y sal. También se ve si hubo un crecimiento en los medios de cultivo enriquecidos con los otros minerales (feldespato alcalino y cuarzo).

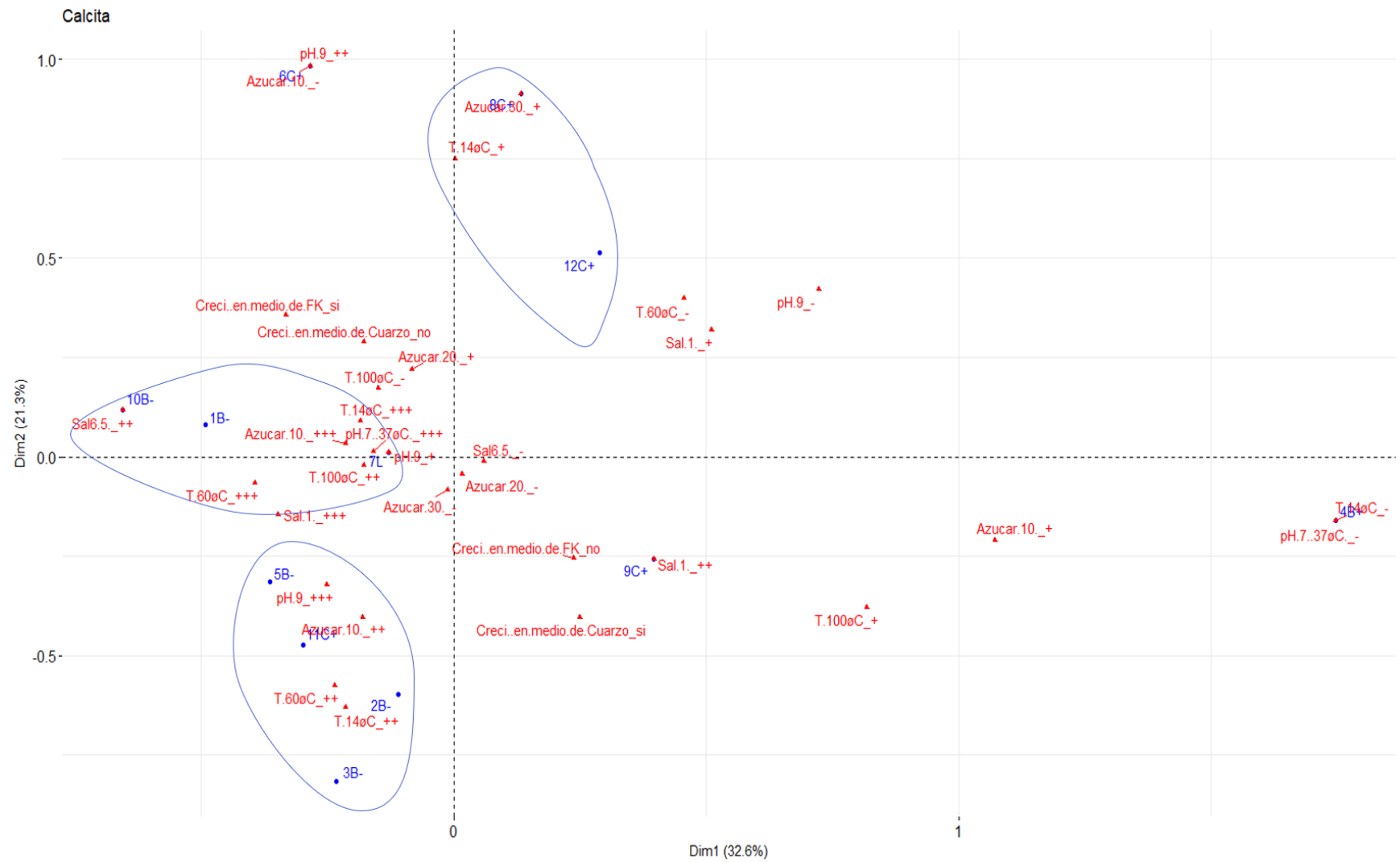
Todos los morfotipos cultivados a partir de calcita tienen una fuerte tendencia a crecer a pH 7-37°C, con excepción del morfotipo 4B+, que no creció ni en pH7-37°C ni en 14°C. Este morfotipo es el único bacilo Gram positivo de la muestra de calcita y, además fue el único formador de endospora de los 33 morfotipos recuperados (Figura 4 21). Por otra parte, mostró una ligera tendencia a crecer en azúcar 10% y temperatura 100°C. Todo esto podría indicar que tiene in carácter extremófilo, ya que su zona de confort está en condiciones fisicoquímicas muy reducidas (Figura 4-18).

Los morfotipos 2B-,3B-, 5B- y 11C+ tienen una fuerte tendencia a crecer en pH 9 y moderadamente en azúcar 10% y en temperaturas 60°C y 14°C. El bacilo Gram negativo 10B- muestra un crecimiento moderado en sal 6.5% (Figura 4-18).

La única levadura que creció a partir de calcita creció levemente en pH 9, moderadamente a 100°C y fuertemente a 14°C, pH7-37°C y azúcar 10% (Figura 4-18). Esto indica que probablemente estas condiciones son muy favorables para el crecimiento de la levadura.

El coco Gram positivo 6C+ tiene un crecimiento moderado en pH9 y no crece en azúcar 10%. El morfotipo 8C+ tiene una leve tendencia a crecer en azúcar 30% y a temperatura de 14°C (Figura 4-18). El coco Gram positivo 9C+ tiene tendencia a no crecer en medio de feldespato alcalino, a crecer en medio de cuarzo y a crecer moderadamente en sal 1% (Figura 4-18).

Figura 4-18. Plano ACM calcita



b. Feldespato alcalino

Los resultados del ACM para la tabla de feldespato alcalino se muestran en la Figura 4-19. Allí se pueden ver las tendencias de crecimiento de los microorganismos cultivados a partir de feldespato alcalino dentro de los factores abióticos de temperatura, pH, y concentración de azúcar y sal. También se puede observar si hubo un crecimiento en los medios de cultivo enriquecidos con los otros minerales (cuarzo y calcita).

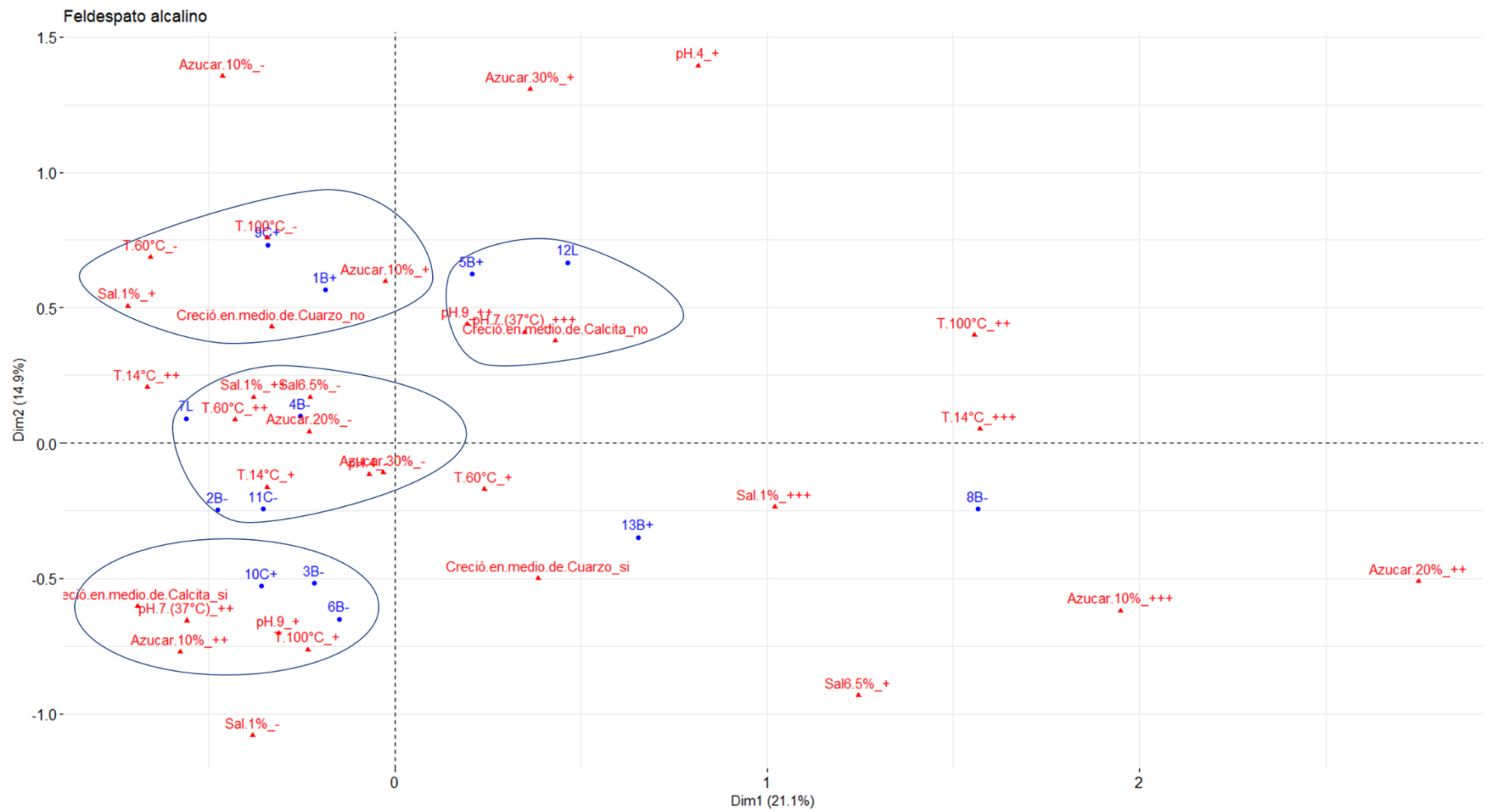
Dentro de los morfotipos recuperados a partir del feldespato no hay asociaciones entre las morfologías coco, bacilo o levadura. Por lo tanto, las asociaciones se dan en relación con algunos factores fisicoquímicos.

En la Figura 4-19 se puede evidenciar una asociación entre los morfotipos 6B-, 3B- y 10C+, que muestran tendencia a crecer en medio enriquecido con calcita y leve tendencia a crecer en pH9 y 100°C (Figura 4-19).

Los morfotipos 2B-, 11C-, 4B- y 7L tienen tendencia leve a crecer en 14°C, tendencia moderada a crecer en sal 1% y temperatura 60°C. Y ninguno de estos creció a en azúcar 20%, azúcar 30% y en pH4 (Figura 4-19).

Los morfotipos 9C+ y 1B+ están asociados a no crecer en medio de cuarzo, a 60°C y 100°C. Tienen crecimiento leve en sal 1% y azúcar 10%. Por otra parte, los morfotipos 5B+ y 12L tienen tendencia a no crecer en medio de calcita, crecimiento moderado en pH9 y crecimiento fuerte en pH 7-37°C (Figura 4-19).

Figura 4-19. Tabla ACM feldespatos alcalino



c. Cuarzo

Los resultados del ACM para la tabla de cuarzo se muestran en la Figura 4-20. Allí se observan las tendencias de crecimiento de los microorganismos cultivados a partir de cuarzo dentro de los factores abióticos de temperatura, pH, y concentración de azúcar y sal. También se puede ver si hubo un crecimiento en los medios de cultivo enriquecidos con los otros minerales (feldespato alcalino y calcita).

Los morfotipos 4C+ y 7L tienen tendencia a crecer en medio de feldespato alcalino. Crecen levemente en 60°C y fuertemente en azúcar 10%, azúcar 30%, pH7-37°C. También tienen tendencia a no crecer en pH4. El morfotipo 3B+ tiene una fuerte tendencia a crecer en azúcar al 20% (Figura 4-20).

Los bacilos 6B+ y 8B+ crecen moderadamente en pH9, azúcar 20% sal 1%. Esto puede indicar que estos bacilos son alcalófilos ya que toleran una alta concentración de pH (Figura 4-20).

Figura 4-20. Tabla ACM de cuarzo



5 Discusión

Existen reportes de microorganismos endolíticos en muchas áreas a lo largo del globo. Por ejemplo, McNamara (2005) menciona la presencia de microorganismos endolíticos en una gran variedad de biomas que incluyen desiertos cálidos y fríos, el subsuelo profundo y rocas de trincheras oceánicas. Como lo menciona Omelon (2016), estos reportes por lo general son en desiertos hiperáridos como el desierto de Atacama en Chile o en desiertos polares como la Antártida. En estos ambientes extremos, el hecho de que los microorganismos crezcan dentro del sustrato rocoso les provee protección contra las bajas temperaturas, radiación ultravioleta y desecación (Newberry *et al.*, 2004).

Sin embargo, existen pocos reportes en zonas intertropicales, cuya humedad y radiación solar difieren significativamente de los biomas anteriormente mencionados. La presente investigación, a diferencia de trabajos como los mencionados por (Bell, 1993; Bungartz 2004; Cockell, 2004; Cowan , 2010; Dong, 2007; Friedman, 1980; Friedmann , 1987; Hughes, 2003; Lacap , 2011; McKay, 2003; McNamara, 2005; Makhalanyane, Pointing , & Cowan, 2014; Omelon , 2006^a; Schlesinger, 2003; Smith, 2000; Stomeo, 2013; Vitek, 2016; Warren-Rhodes, 2007a), demostró la existencia de bacterias endolíticas cultivables en una zona intertropical (Colombia) en climas semiáridos como Villa de Leyva y Pescadero.

Existen diferencias y similitudes en cuanto a las condiciones climáticas de Villa de Leyva y Pescadero si se comparan con otros lugares donde ha habido reportes de bacterias endolíticas. El

desierto de Atacama en Chile, que ha sido reportado como el mejor análogo de Marte en la Tierra (McKay, 2002), está ubicado a $24^{\circ}30' \text{ S}$ y $69^{\circ}15' \text{ O}$ justo en el límite del trópico de Capricornio. Esto sitúa a Atacama en una zona alejada del ecuador, lo que resulta en cambios en la cantidad de radiación solar en la superficie del planeta como resultado de las estaciones (Figura 5-1 y Figura 5-2), (Zuñiga Lopez & Crespo del Arco, 2015). En cambio, Villa de Leyva y Pescadero se encuentran ambos muy cerca del ecuador a $5^{\circ} 36' 24.12'' \text{ N}$, $73^{\circ} 31' 31.32'' \text{ O}$ y $6^{\circ} 49' 0.62'' \text{ N}$; $73^{\circ} 0' 20.3'' \text{ O}$ respectivamente, lo cual los sitúa en la zona ecuatorial, que se extiende entre los 10° de latitud norte y latitud sur. En esta zona la insolación es intensa y uniforme con días y noches de parecida duración (Figura 5-2), es decir, que allí hay muy poca variación en la cantidad de radiación solar que recibe debido a la ausencia de estaciones (Zuñiga Lopez, 2015). Además de acuerdo con la Figura 5-3, conforme se aumenta en la latitud, aumenta el espesor de la atmósfera lo cual resulta en una disminución en la radiación solar (Zuñiga Lopez, 2015). Todos estos factores podrían resultar en una mayor irradiación solar uniforme durante todo el año en Villa de Leyva y Pescadero que en el desierto de Atacama.

Figura 5-1. La radiación solar incidiendo sobre la superficie terrestre. La insolación $I_i = S \sin \alpha$ depende del ángulo de incidencia, es máxima cuando $\alpha = 90^{\circ}$ y mínima cuando $\alpha = 0$. Recuperado de (Zuñiga Lopez, 2015)

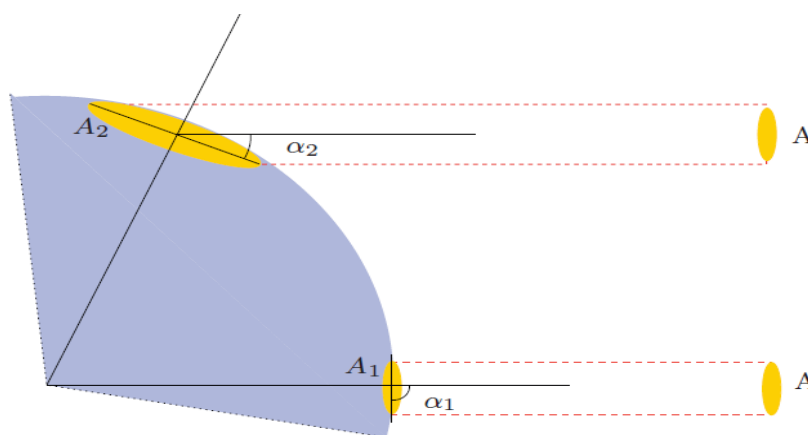


Figura 5-2. Altura solar a mediodía sobre los paralelos notables. Los trópicos delimitan la zona en la que en algún día del año la altura máxima del Sol es de 90° , y los círculos polares que delimitan las zonas en las que hay una noche de 24 horas y un día sin puesta de sol. Recuperado de (Zuñiga Lopez, 2015).

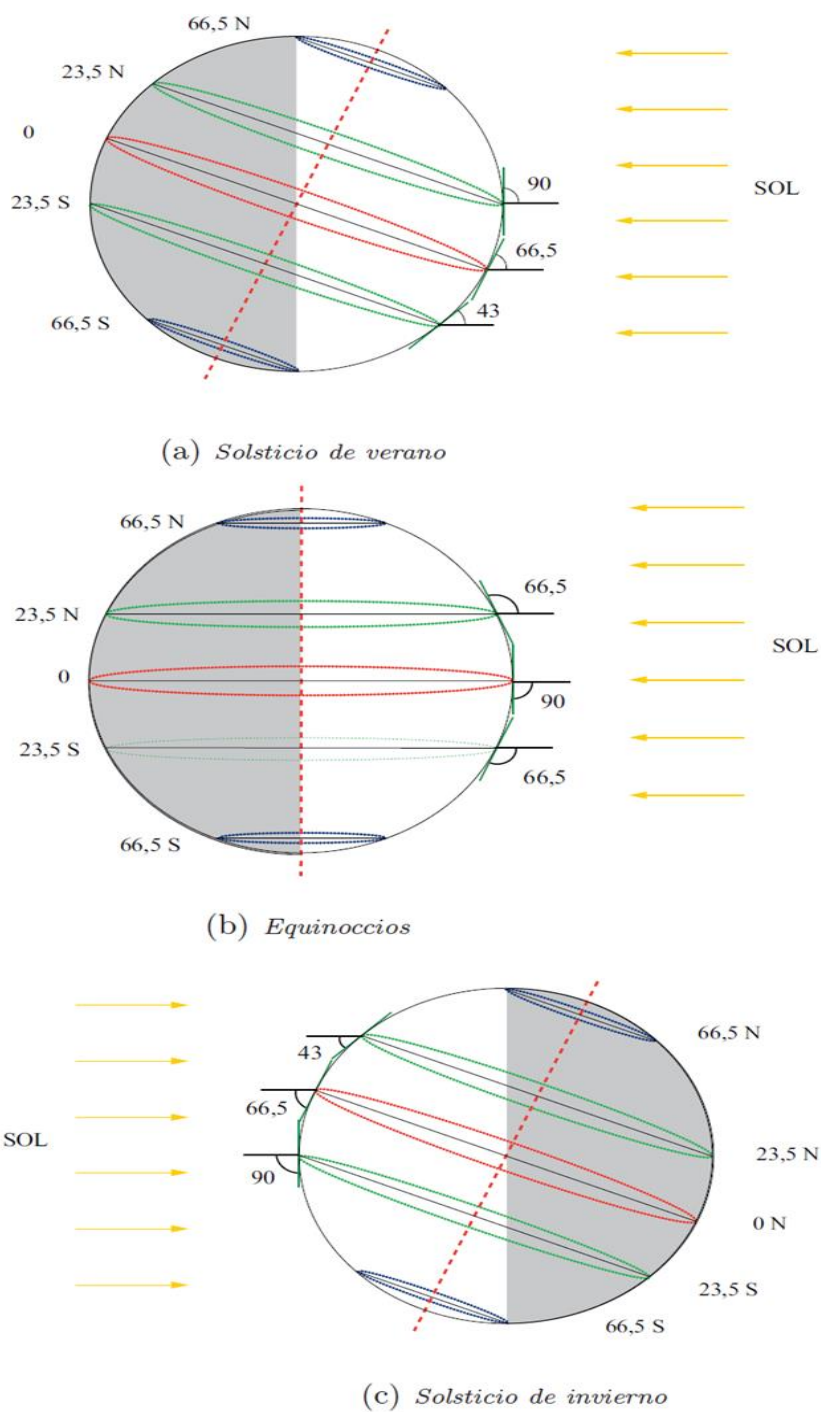
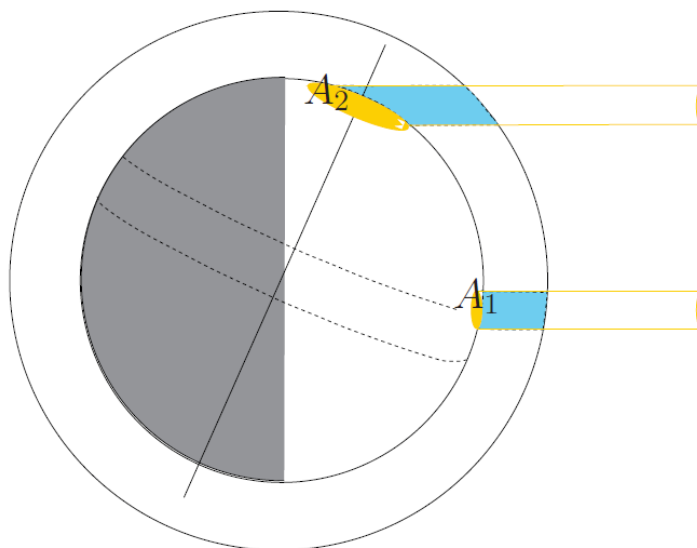


Figura 5-3. El espesor de atmósfera que la radiación encuentra en su camino a la superficie terrestre depende de la inclinación de los rayos solares. Recuperado de (Zuñiga Lopez, 2015)



A pesar de lo anterior, el desierto de Atacama se encuentra a una altura de 3000 msnm (Vítek, 2016), Villa de Leyva se encuentra a alturas entre 2150 msnm y 2300 msnm (Fischer, 2002) y el Cañón del Chicamocha (donde se encuentra Pescadero) está entre 500 msnm y 1170 msnm (Angel & Ramirez, 2015). Según Vareschi (1980), conforme aumenta la altitud, entre los 300 msnm a los 3000 msnm la radiación solar aumenta en un 20%, esto se debe al espacio más corto de atmósfera que la radiación debe atravesar (Lange, Nobel, Osbond, & Ziegler, 1981).

De acuerdo con la Figura 5-5 los niveles de irradiación media anual en el desierto de Atacama son de 2400 kWh/m², al dividir este valor en 365 días se obtiene el valor diario de 6.57 kWh/m²/d. De acuerdo con el (IDEAM, 2014-2015) los niveles de irradiación media diaria en Villa de Leyva y en Pescadero están entre 4.5-5.0 y 4.0-4.5 kWh/m² respectivamente (Figura 5-4).

Figura 5-4. Mapa de irradiación global horizontal diaria en Colombia. Recuperado de (IDEAM, 2014-2015)

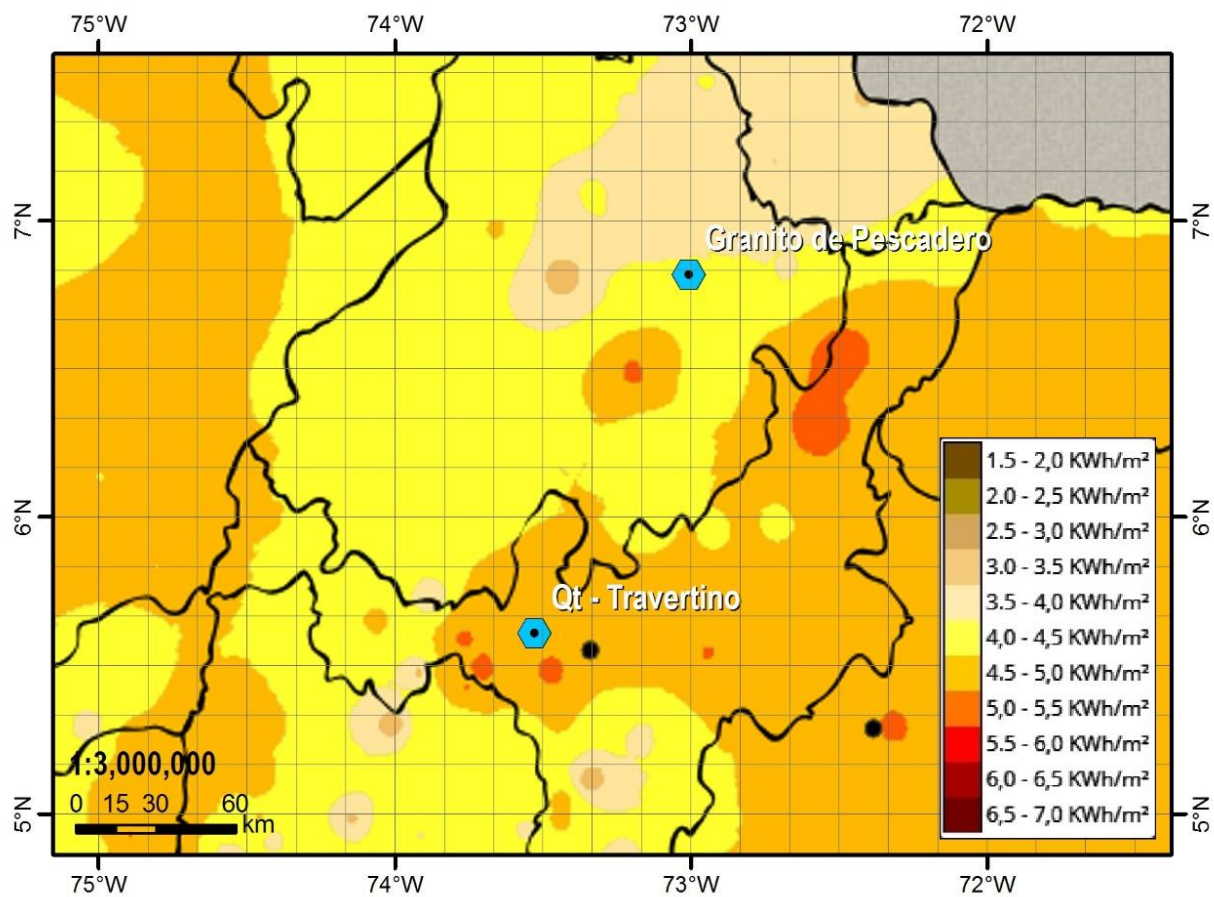
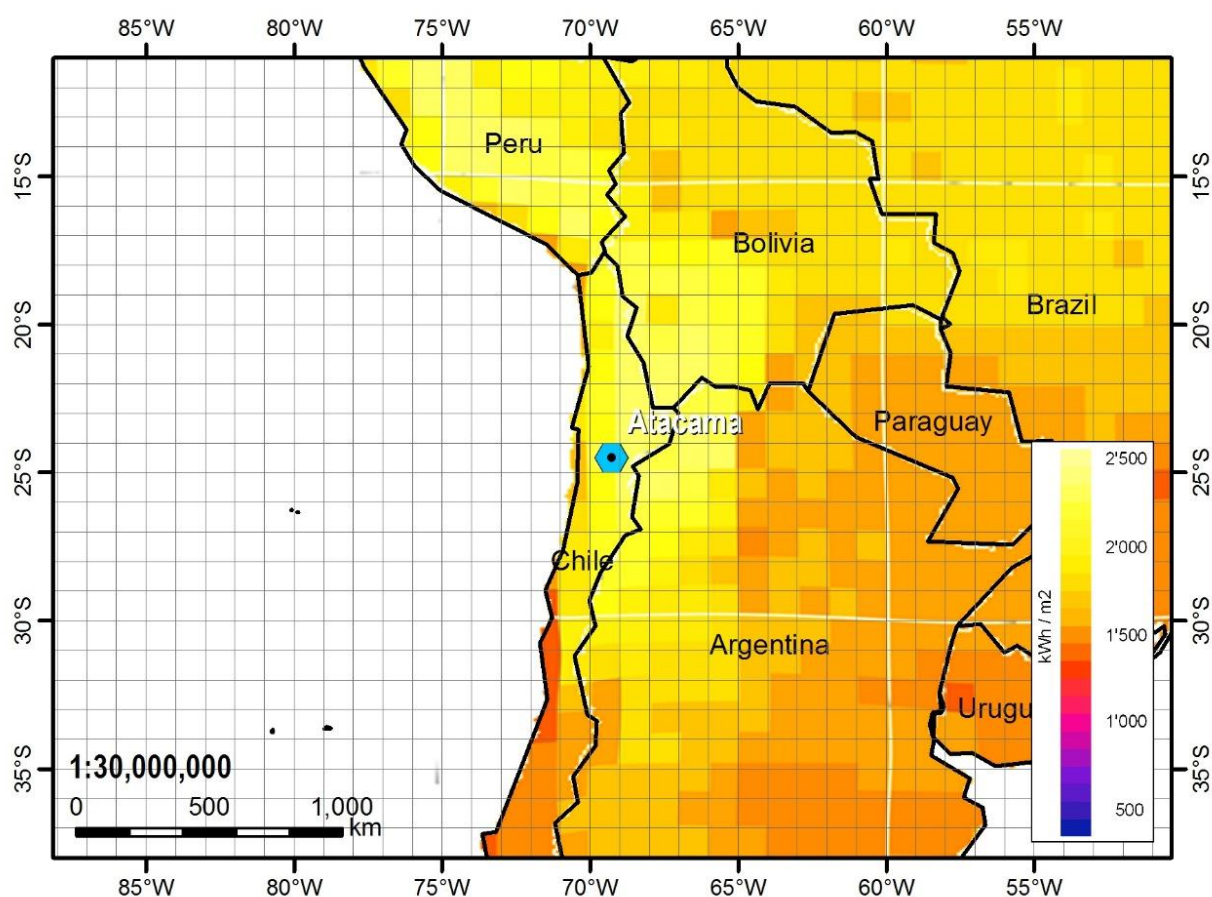


Figura 5-5. Mapa de irradiación global horizontal diaria en el desierto de Atacama, Chile. Recuperado de (Limited, 2005)



Por lo anterior, en el desierto de Atacama los niveles de irradiación media diaria son mayores que en las zonas semiáridas de Villa de Leyva y Pescadero, lo cual resulta en un ambiente mucho más estresante para los microorganismos litobióticos que allí puedan asentarse.

La cantidad de irradiación en lugares semiáridos o hiperáridos es un factor que parece restringir la aparición de las bacterias a los hábitats endolíticos (Omelon, 2016; Wierzchos, 2012), un artículo publicado por (Vítek, Ascaso, Artieda, & Wierzchos, 2016) reporta microorganismos hipoendolíticos (colonizando la parte inferior de las rocas) y criptoendolíticos (ocupando los poros bajo la superficie de la roca), en el desierto de Atacama en Chile mediante el método de espectroscopia Raman, que permite identificar la distribución de biomoléculas de estos organismos junto con la matriz mineral inorgánica que los hospeda. En este trabajo se reporta un carotenoide en diferentes áreas de colonización endolítica que está dominada por algas y cianobacterias (Vítek, 2016). El hecho de que estos microorganismos presenten este carotenoide es interpretado como un mecanismo de adaptación a la radiación solar excesiva. Por otra parte, las cianobacterias sintetizan scytonemina, la cual posiblemente es un metabolito secundario, que actúa como una pantalla pasiva de luz ultravioleta y que fue encontrada tanto en posiciones hipoendolíticas como criptoendolíticas en depósitos de yeso (Vítek, 2016).

Desde otro ángulo, las condiciones de aridez en el desierto de Atacama son extremadamente altas, esto ocurre porque la cordillera de los Andes actúa como una barrera para los vientos húmedos que vienen del oeste, cuando estos vientos chocan con la cadena montañosa pierden humedad al precipitar en el flanco occidental de la cordillera, por lo tanto, cuando los vientos descienden por el flanco oriental llegan con muy poca humedad (Rondanelli, Molina, & Falvey, 2014).

La disponibilidad de humedad en los sustratos líquidos es fundamental para la emergencia de vida y los microorganismos endolíticos no son la excepción. McKay (2002) reporta que, en desiertos extremadamente áridos como Atacama, la fotosíntesis microbiana tiene lugar dentro de rocas translúcidas. Este es el caso en las areniscas porosas, un tipo de roca dentro del cual las cianobacterias pueden vivir debido a que la luz puede penetrar dentro de la arenisca y el agua puede estar contenida en los poros (McKay, 2002). La cuarcita es la más común de las rocas desérticas donde las cianobacterias pueden vivir. Allí, los niveles de luz bajo las rocas pueden ser suficientes para permitir la fotosíntesis y la roca aparentemente atrapa la humedad (McKay, 2002). Tanto dentro de la arenisca como bajo el cuarzo los microorganismos encuentran microambientes habitables, que actúan como si estuvieran viviendo en un pequeño invernadero rocoso (McKay, 2002).

La humedad relativa promedio anual en el desierto de Atacama es de 16.5%, este valor es muy bajo en comparación con Villa de Leyva y Pescadero puesto que tienen una humedad relativa media anual de 66.6% (Fischer, 2002) y 77% (IDEAM, 1981-2010) respectivamente. Esto indica que estos últimos tendrán mayor probabilidad de que las comunidades litobióticas se desarrollen en microhábitats endolíticos.

En el desierto de Atacama la precipitación anual es de 27.1mm y la tasa de evapotranspiración es de 2920 mm por año, tiene un índice de aridez de 0,0093, lo que corresponde a condiciones extremadamente áridas. La humedad relativa anual es de 16.5% que es uno de los valores mas bajos reportados en el desierto de Atacama, la temperatura promedio es de 16.5°C

(McKay , *et al.* 2003), la temperatura máxima registrada en 1995 fue 37.9°C, y la mínima fue 25.7°C (McKay , 2003), aunque estos máximos y mínimos han variado en los últimos años, los valores no son muy diferentes de los ya mencionados. El promedio anual de luz solar entre los años 1995 y 1996 varió en un rango de 336 y 335 W m², (McKay, 2003). Además de lo anterior, Atacama se encuentra a 3000 msnm, la suma de todos estos factores lo hace el desierto más seco de la Tierra (Vítek, 2016).

La zona con más altos niveles de radiación solar, dentro del desierto de Atacama, se encuentra en la cadena montañosa Domeyko, que está cerca del área de estudio realizado por Vítek (2016) y que ha sido sugerida como la zona con más altas dosis de radiación solar en la superficie de la Tierra.

Por otra parte, se han reportado valores aún más altos de radiación UV en las regiones andinas donde hay baja nubosidad y una escasa columna de ozono con un índice de UV de 43.3 (Vítek, 2016). Villa de Leyva y Pescadero se encuentran ambos en la cordillera oriental en los Andes colombianos, pero a pesar de estar ambas sometidas a una fuerte intensidad de radiación solar, los demás factores climatológicos como la humedad relativa, régimen de lluvias y evapotranspiración difieren en gran medida con los ya mencionados en el desierto de Atacama.

La precipitación anual en Villa de Leyva es de 837 mm, la humedad relativa es 66.6%, la temperatura promedio es de 17.4 °C, y radiación UV de 1294 mW/m² (Tabla 5-1), se encuentra a alturas entre 2150msnm y 2300 msnm (Fischer, 2002). Durante el invierno la temperatura puede

descender a valores mínimos inferiores a -5°C , y en verano superiores a 40°C (Öcal, 2007). En este último aspecto las temperaturas máximas y mínimas en Villa de Leyva son comparables con las que hay en el desierto de Atacama, ya que allí el máximo es de 37.9°C y el mínimo es de -5.7°C .

El monto anual de lluvias en el cañón del Chicamocha es de 730.7mm, la temperatura promedio anual es de 25.4°C , que es igual a la evapotranspiración anual (Albesiano, 2003). La evapotranspiración varía entre 16.4 mm/mes-22.2 mm/mes, se encuentra a una altura entre 500 msnm y 1170 msnm (Angel & Ramirez, 2015), (Tabla 5-1).

Tabla 5-1. Características climatológicas de la zona con más irradiación en el desierto de Atacama, Villa de Leyva y Pescadero. Tabla construida con datos de (IDEAM, 2014-2015 y Rondanelli, 2014)

Zonas de muestreo/Características ambientales	Cordon de Lila. Desierto de Atacama, Chile	Villa de Leyva, Colombia	Pescadero, Colombia
Ubicación	24°30' S y 69°15' O	5° 36' 24.12" N, 73° 31' 31.32" O	6° 49' 0.62" N; 73° 0' 20.3" O
Altura (msnm)	3000	2150 - 2300	500 - 1170
Clasificación climática	Desierto hiperárido	Semiárido	Semiárido
Humedad relativa anual	16.5%	70 y 79 %	75%y 80%
Promedio de lluvias anual	27.1mm	837 mm	921.3 mm
Evapotranspiración promedio anual	2920 mm	900-1295 mm	947.9 mm
Mínimos medios de temperatura	6,9°C	10°C	15.8 °C
Máximos medios de temperatura	30,1°C	23.7°C	35.7°C
Irradiación horizontal media diaria	6.57 kWh/m ²	4.5-5.0 kWh/m ²	4.0-4.5 kWh/m ²

La información recopilada Tabla 5-1 indica que las comunidades endolíticas pueden encontrarse no solo en regiones climáticas extremas como el desierto de Atacama en Chile, sino, también en zonas climáticas con condiciones climáticas menos extremas como Villa de Leyva, Boyacá y Pescadero, Santander.

A partir de los resultados no concluyentes de microscopía electrónica de barrido para detección de morfologías típicas de microorganismos, se pudo constatar la presencia de fisuras y poros en la muestra de calcita y únicamente poros en las muestras de feldespato alcalino y cuarzo. Esto podría llevar a pensar de manera hipotética que los microorganismos que posiblemente están presentes en el interior de la muestra de calcita tienen la posibilidad de ser tanto chasmoendolíticos (viven en fisuras) como criptoendolíticos (viven en poros). En adición, tanto la muestra de feldespato alcalino como la de cuarzo mostraron solamente porosidad, lo cual posiblemente las capacita para albergar únicamente microorganismos criptoendolíticos.

Tradicionalmente se ha considerado a los hábitats endolíticos como lugares donde las comunidades microbianas encuentran refugio de factores ambientales como desecación, radiación o intemperismo. Además, son considerados como una fuente abundante de nutrientes para las bacterias, sin embargo, dentro del sustrato mineral puro, la fuente de nutrientes es mucho más limitada, puesto que estos, en contraste con las rocas, tienen menos elementos químicos en su estructura cristalina. En adición, allí se forma un microhábitat con fuente limitada de luz, humedad y espacio (Madigan, 2004). Todos estos factores son necesarios para el crecimiento de los microorganismos endolíticos, y, la reducción de éstos puede crear un microambiente de estrés lo suficientemente elevado como para que las bacterias y levaduras que crecen y viven en su interior sean consideradas como extremófilas.

La cantidad de morfotipos endolíticos recuperados a partir de tres minerales formadores de rocas respaldan los resultados esperados al utilizar esta metodología, ya que en (Corzo, 2015)

a partir de raspado en la superficie de una biomicrita, limolita y cuarzoarenita, se recuperaron 144 morfotipos epilíticos de colonias bacterianas de los cuales 43 correspondieron a biomicrita, 49 a cuarzoarenita de grano fino y 52 a limolita (Tabla 5-2). En cambio, en el presente estudio se obtuvieron 33 morfotipos diferentes de microorganismos a partir del interior del mineral, de las cuales 12 correspondieron a calcita, 13 a microclina y 8 a cuarzo (Tabla 5-2).

Tabla 5-2. Tabla comparativa con el conteo de morfotipos epilíticos extrados de la superficie de tres rocas (Corzo, 2015) y conteo de morfotipos endolíticos extraídos del interior de tres minerales formadores de rocas

	Biomicrita	Limolita	Cuarzoarenita de grano fino	Total
Conteo de morfotipos	43	52	49	144
	Calcita	Feldespatos alcalinos (microclina)	Cuarzo	Total
Conteo de morfotipos	12	13	8	33

Esto implica que el microhábitat endolítico provee un aislamiento para las comunidades endolíticas, por lo tanto, además del factor nutricional, las comunidades bacterianas epilíticas recuperadas en (Corzo, 2015) posiblemente tuvieron mayor exposición a agentes ambientales, acceso a una mayor diversidad de nutrientes y a dispersión; a diferencia de las comunidades microbianas endolíticas cultivadas a partir del interior de los minerales.

Tabla 5-3. Tabla comparativa con el porcentaje en peso de elementos mayores en las muestras de roca analizadas en Corzo (2015) y los minerales analizados en este estudio.

Mineral o Roca	Calcita	Biomicroita	Feldespato alcalino (microclina)	Limolita	Cuarzo	Cuarzo arenita
SiO ₂	0,34	8,89%	62,56%	61,39%	99,28	82,61%
Al ₂ O ₃	0,06	1,55%	18,29%	14,30%	0,09	5,24%
K ₂ O	0%	0,32%	13,60%	3,18%	0,02	0,78%
Na ₂ O	0%	0,07%	2,63%	0,13%	0,03	0,08%
CaO	0%	0%	2,41%	1,07%	0,47	3,01%
Ba	0%	0%	0,20%	0,06%	0,00%	0,03%
Fe ₂ O ₃	0%	0,66%	0,08%	3,35%	0,03	4,41%
Cl	0%	0,00%	0,06%	0,00%	0,04	0,00%
P ₂ O ₅	0,02%	0,58%	0,04%	0,68%	0%	2,89%
Rb	0%	0%	0,04%	0,01%	0%	0%
Pb	0%	0%	0,03%	0%	0%	0%
MnO	0%	0,02%	0,02%	0%	0%	0,02%
Sr	0%	0,04%	0,02%	0,01%	0%	0,01%
SO ₃	0%	0,02%	0,01%	0,03%	0%	0,02%
Y	0%	0%	0%	0,01%	0%	0,01%
MgO	0,03%	0%	0%	0,601	0,03	0,42%
CaCO ₃	99,49%	87,28%	0%	0,00%	0%	3,09%
TiO ₂	0%	0,11%	0%	0,74%	0%	0,33%
Zn	0%	0,04%	0%	0,05%	0%	0,01%
Zr	0%	0%	0%	0,05%	0%	0,05%

En la Tabla 5-3 se comparan los elementos mayores de las muestras de roca estudiadas en Corzo (2015) con los minerales formadores de roca del presente trabajo. El CaCO₃ es el elemento químico con mayor similitud en concentración entre calcita y biomicroita, cuyos valores son 99,49% y 87,28% respectivamente. Sin embargo, el SiO₂ en la calcita (0,34%) es mucho menor que en la biomicroita (8,89%), que además tiene bajas proporciones de Al₂O₃, K₂O, Na₂O, P₂O₅, Mn, Sr y SO₃, elementos que no están presentes en la muestra de calcita. Esto podría indicar que efectivamente la limitada fuente de nutrientes tiene incidencia en la cantidad de bacterias que pueden crecer a partir de un tipo de litología, puesto que a partir de la biomicroita crecieron 43 tipos de colonias bacterianas diferentes y del interior de la calcita pura crecieron solo 13 morfotipos (ver Tabla 5-2).

La microclina y la limolita son las muestras con mayor variabilidad de elementos químicos. Ambas tienen SiO_2 como el compuesto con más altas concentraciones 62,56% y 61,39% respectivamente. Pero a diferencia de las muestras carbonatadas, la microclina y limolita comparten altos contenidos de Al_2O_3 , K_2O , Na_2O , CaO y Ba , elementos que tienen mayor proporción en la muestra de microclina. Por lo tanto, las bajas concentraciones de otros elementos que están presentes en la limolita y ausentes o en bajas concentraciones en la microclina como P_2O_5 , Fe_2O_3 , Y , MgO , CaCO_3 , TiO_2 , Zn y Zr pueden explicar que en la limolita hayan crecido 52 morfotipos epilíticos, lo que contrasta significativamente con los 13 morfotipos endolíticos recuperados a partir de la microclina (Tabla 5-2 y Tabla 5-3).

Se puede llegar a una conclusión similar si comparamos la arenita cuarzosa trabajada en Corzo (2015) de la cual crecieron 49 morfotipos diferentes, con las 8 colonias bacterianas que crecieron a partir de cuarzo. Tanto el cuarzo como la cuarzoarenita tienen alto porcentaje de SiO_2 (99,28% y 82,61% respectivamente). Por su parte, la cuarzoarenita tiene concentraciones de Al_2O_3 , K_2O , Na_2O , CaO , Ba , Fe_2O_3 , MnO , Sr , SO_3 , Y , MgO , CaCO_3 , TiO_2 , Zn , Zr y P_2O_5 que están ausentes o a muy bajas concentraciones en la muestra de cuarzo. Estos datos sugieren que los componentes de las rocas o minerales condicionan la emergencia de las poblaciones bacterianas litobióticas.

Estos análisis son soportados por McNamara (2005) cuyo estudio realizado en un sitio arqueológico Maya mostró que las bacterias epilíticas tienen mayor diversidad que las bacterias endolíticas extraídas de monumentos hechos con caliza. De forma adicional notaron que muchos

de los grupos encontrados en las comunidades epilíticas no se detectaron en las comunidades endolíticas. Esta comparación entre las comunidades epilíticas y endolíticas indica que existe mayor diversidad bacteriana en la superficie de las rocas que en su interior. Lo cual, a su vez, puede deberse posiblemente a que las bacterias epilíticas están expuestas al medio ambiente y con mayor disponibilidad de oxígeno, por lo tanto, las comunidades tienen un mayor acceso a nutrientes y a dispersión que contribuya al crecimiento que las bacterias epilíticas.

Por otra parte, McNamara (2005) agrega que trabajos previos a su estudio se han basado exclusivamente en métodos de cultivo y microscopía. Por eso las cianobacterias y unos pocos grupos de bacterias heterotróficas fácilmente cultivables fueron identificadas como los organismos más comunes en dichas piedras Mayas. Consecuentemente, McNamara (2005) concluye que la predominancia de los géneros *Pseudomonas sp.* (Gram negativos) y *Bacillus sp.* (Gram positivos) en dichas piedras Mayas no debe ser objeto de sorpresa, dado que estos géneros son fácilmente cultivables. En contraste con los clones encontrados en su estudio, que estuvieron relacionados con Proteobacterias y otros pocos con Firmicutes.

Los resultados de otro estudio realizado por Carson (2009) son, a su vez de interés en el análisis desarrollado en este trabajo. Dicho estudio demostró que la estructura de las comunidades bacterianas en los suelos depende de qué minerales hay en sus microhábitats. Allí se provee evidencia de que, en el suelo, el papel de los minerales que están influenciando en las comunidades bacterianas no se limita a proveer una matriz inerte para el crecimiento bacteriano. Por el contrario, esta investigación demuestra que existe un microhábitat alrededor de diferentes minerales en

suelos donde hay ocurrencia de distintas comunidades bacterianas. Allí, la preferencia de diferentes comunidades bacterianas por los microhábitats de Moscovita, Basalto y Fosforita pudo haber sido conducida por la presencia de P, K, Mg y Na en los minerales y su liberación dentro del microhábitat de los granos minerales. Sus hallazgos sugieren que la distribución heterogénea de minerales en el suelo puede incrementar la variación entre los microhábitats del suelo y contribuir a la distribución espacial en comunidades bacterianas que allí se desarrollan.

Existen estudios adicionales que soportan esta hipótesis. Trabajos como el de Boyd *et al.* (2007), realizado en un acuífero demostró que muestras de cuarzo, saprolito y hematita seleccionaron distintas subdivisiones de *Proteobacterias*. Otros trabajos realizados en acuíferos como los de Mauck & Roberts (2007); Roberts (2004) y Rogers & Bennett (2004), han demostrado que diferentes minerales silicatados seleccionan diversas comunidades microbianas con diferentes estructuras colonizando sus superficies. Uno de estos trabajos (Rogers, 2004) demostró que, en un acuífero contaminado con petróleo, vidrios silicatados con P y Fe en su estructura cristalina, son preferencialmente colonizados por microorganismos y soportan comunidades microbianas con diferentes estructuras, mientras que los vidrios sin estos elementos permanecieron estériles de microorganismos. Por su parte, Gleeson (2005) encontró que, en una pegmatita expuesta a meteorización, diferentes minerales (cuarzo, plagioclasa, feldespato alcalino y moscovita) fueron colonizados por comunidades bacterianas con una única estructura, mostrando una correlación entre la presencia de ribotipos específicos en las superficies de cuarzo, plagioclasa, feldespato alcalino y moscovita con la presencia de ciertos elementos, incluidos Ca, K, Na, P, Fe, Al y Si.

En ese sentido, es posible tomar los elementos químicos como el P, K, Mg y Na según Carson (2009), el P y Fe según (Mauck & Roberts, 2007; Roberts, 2004; Rogers & Bennett, 2004) y Ca, K, Na, P, Fe, Al y Si según Gleeson (2005), como los principales componentes que controlan la emergencia y diversidad de las bacterias litobióticas.

Las bacterias que crecieron a partir de calcita tenían como fuente principal de macronutrientes Ca y C y en menor proporción trazas de micronutrientes como Si, Al, Fe y Mg (Madigan, 2004). Parece haber un equilibrio entre los bacilos y cocos que de allí crecieron; cinco bacilos Gram negativos y uno Gram positivo; seis cocos Gram positivos y una levadura.

En contraste, la microclina tiene una fuente importante de macronutrientes como Si, Al y K y cantidades menores de micronutrientes como Na, Ca, Ba y Fe (Madigan, 2004), esto puede explicar la distribución en las morfologías encontradas en sus comunidades microbianas, ocho aislamientos de bacilos (tres Gram negativos y cinco Gram positivos); tres aislamientos de cocos (uno Gram negativo) y dos levaduras.

El cuarzo tiene prácticamente solo Si como macronutriente y muy pequeñas trazas de Ca, Al y Cl como micronutrientes (Madigan, 2004). Parece que esta limitación en nutrientes afecta la distribución de morfologías ya que allí solo crecieron seis Bacilos todos Gram positivos, un Cocco Gram positivo y una levadura.

A partir de los resultados de tinción de Gram, se encontraron 4 hongos levaduriformes dentro de los 33 morfotipos microbianos recuperados de los microambientes endolíticos, esto aporta nueva información a los reportes de microorganismos endolíticos, puesto que por lo general los hongos levaduriformes requieren un ambiente aerobio para su crecimiento y desarrollo. Es posible que futuros estudios retomen esta información ya que dentro de un sustrato líquido la disponibilidad de oxígeno es limitada.

La única levadura que creció a partir de cuarzo no creció en medio enriquecido con cuarzo ni en medio enriquecido con feldespato alcalino (Figura 4-19). De los dos morfotipos de levaduras que crecieron originalmente en medio de feldespato alcalino, ninguna creció en medio enriquecido con cuarzo, pero solo una de las dos (FK7) creció en medio enriquecido con calcita. La levadura cultivada a partir de cuarzo creció tanto en medio de calcita como en medio de feldespato alcalino (Figura 4-20), esto quiere decir que, de los cuatro hongos levaduriformes que crecieron dentro de los minerales, este hongo levaduriforme es el único que parece tener un grado de adaptabilidad a los cambios en su fuente nutricional.

Dentro de las muestras de calcita sembradas en diferentes factores fisicoquímicos, se encontraron datos interesantes. El único morfotipo de levadura que creció a partir de calcita no creció en medio enriquecido con feldespato alcalino ni en medio enriquecido con cuarzo. Esto puede indicar que posiblemente las levaduras obtenidas a partir de calcita tienen un grado menor de adaptabilidad a cambios en las concentraciones de nutrientes que las bacterias endolíticas. El único morfotipo de bacilo Gram positivo de la muestra de calcita, que además es el único

endosporado de los 33 morfotipos, no toleró condiciones normales en contraste con el resto de morfotipos obtenidos de calcita como son temperatura de 14°C y de 37°C. Estas diferencias indican que las condiciones normales o adecuadas para los otros microorganismos son hostiles para este morfotipo de bacilo, por lo tanto, puede que este morfotipo sea de carácter extremófilo, ya que necesita condiciones muy específicas como 15°, 60°C o 100°C para su crecimiento.

Dentro de los morfotipos recuperados a partir de la microclina se encuentra el único coco Gram negativo (FK11) de los 33 morfotipos endolíticos. Este morfotipo parece tener la versatilidad de adaptarse exitosamente cuando es sembrado en medio nutritivo con elementos químicos distintos a los que usualmente utiliza como fuente nutricional, lo cual implica que puede tolerar niveles de estrés mayores que el resto de los microorganismos endolíticos.

Además del morfotipo FK11, los morfotipos C5, Q2, Q3, Q7 y FK3 también crecieron en medios de cultivo enriquecidos con minerales diferentes a los cuales fueron extraídos. Este dato indica que la mayoría de los microorganismos endolíticos necesitan específicamente la cantidad y concentración de nutrientes disponibles en su mineral de origen y que, un cambio en esta fuente nutricional resulta en un hábitat estresante para ellos.

Distinguir entre estructuras minerales biológicamente inducidas, de patrones de organización mineral resultantes de fenómenos inorgánicos es fundamental para proponer biomarcadores que ayuden a identificar trazas de vida en el pasado o presente de una superficie planetaria extraterrestre (Banfield, Moreau, Chan, Welch, & Little, 2001; Cousins *et al.*, 2016;

Noffke, 2010). En este trabajo se identificaron diferentes morfologías microbianas, en conjunto con hongos levaduriformes, que utilizan el interior de tres minerales formadores de roca (calcita, feldespato alcalino y cuarzo) como microhábitat y fuente de nutrientes. Dado que, en el futuro, posiblemente solo se disponga de material mineral proveniente de otra superficie planetaria para su estudio, es indispensable comprender los límites y organización de vida microbiana dentro de las superficies litológicas (Ascaso, 2002). Por consiguiente, al desarrollar técnicas que permitan identificar comunidades microbianas endolíticas, cuyo margen de error sea mínimo, se permitirá comprometer a los microorganismos a ciertos elementos químicos dentro de minerales específicos. De modo que se podría aplicar este conocimiento para detectar potenciales comunidades microbianas endolíticas en rocas o minerales provenientes de un planeta u otro cuerpo rocoso.

La superficie de Marte es actualmente un ambiente inhóspito para la vida como la conocemos (NRC, 2007). Dentro de las condiciones hostiles para la vida se encuentran su delgada atmósfera, que recibe abundante radiación ultravioleta y aridez extrema. Además, las temperaturas medias en superficie, que son aproximadamente 215K en el ecuador y 160K en los polos, pueden fluctuar ampliamente en los días de verano, cambios que resultan hostiles a cualquier actividad biótica.

En la mayor parte de Marte los primeros kilómetros de la litósfera se congelan en una delgada criósfera. Sin embargo, es posible que exista agua circulando en la subsuperficie somera como parte de un extenso sistema subterráneo de agua salina. Asimismo, son comunes fuertes vientos y tormentas de arena en la superficie. El suelo marciano es altamente oxidante y los rovers

Viking no han detectado ninguna traza de carbón orgánico. Debido a estas características en la superficie marciana, la comunidad científica ha reconocido que ésta pudo haber provisto más ambientes habitables y condiciones más favorables para la formación y preservación de biomarcadores (Léveillé & Datta, 2010). Organizaciones como la National Research Council ha recomendado a la NASA priorizar la búsqueda de depósitos de minerales asociados con agua subsuperficial y que las futuras misiones sean capaces de acceder a la subsuperficie (NRC, 2007).

Aunque la mayoría de las rocas en Marte son predominantemente básicas, existe una región en Marte cercana al Cráter Antoniadi, donde se ha identificado por medio de imágenes satelitales de alta resolución cuarzo cristalino (Smith & Bandfield, 2012). Es la única zona de Marte donde se ha reportado este mineral rico en sílice, que además está asociado con plagioclasa, lo que implica que ese afloramiento puede representar un plutón félsico que fue exhumado por impactos (Bandfield, Hamilton, Christense, & McSween Jr, 2004a). Por lo anterior el cráter Antoniadi en Marte es un lugar plausible para buscar colonias microbianas endolíticas similares a las que se han encontrado en el presente trabajo.

Por otra parte, a causa de que Marte tiene predominantemente rocas ígneas máficas en su superficie, en futuros trabajos se puede replicar esta metodología en rocas basálticas en Colombia. De esta manera se puede aumentar el potencial astrobiológico de los estudios en comunidades microbianas endolíticas en Colombia, lo cual resulta de suma importancia en términos de bioprospección.

6 Conclusiones

El hallazgo de bacterias y levaduras endolíticas en Villa de Leyva y Pescadero, sugiere que las comunidades microbianas endolíticas pueden crecer en ambientes cuyos climas no son tan extremos, puesto que la clasificación climática de ambos lugares es semiárida. Esto arroja la hipótesis de que las comunidades microbianas endolíticas no solamente se restringen a lugares en donde los índices de radiación o aridez son extremadamente altos como el desierto de Atacama o en ambientes extremadamente secos como la Antártida. Este trabajo aporta nueva información a los reportes de bacterias y levaduras endolíticas, las cuales regularmente están restringidas a regiones áridas o hiperáridas y en altas latitudes alrededor del mundo. Por lo tanto, abre nuevas posibilidades en el estudio de la Geomicrobiología al situar bacterias endolíticas en una zona intertropical con altos índices de humedad y bajos índices de aridez. Sin embargo, existen dudas sobre el papel que juegan las condiciones climáticas sobre la aparición de estos microorganismos. Es posible plantear en futuros trabajos metodologías que ayuden a comprender la relación entre la radiación, temperatura y humedad con el tipo de microorganismos endolíticos de un área de estudio determinada en Colombia.

Con respecto a la MEB, aun cuando los resultados no fueron concluyentes en la observación de estructuras microbianas típicas, abre la posibilidad para la realización de futuros trabajos en este campo, ya que después de un proceso previo de fijación de la muestra en la superficie mineral se podrá identificar con mayor precisión la presencia de los

microorganismos obtenidos en los sustratos líquidos. Por otra parte, por medio de MEB se evidenció que los microorganismos cultivados a partir de calcita pueden ser tanto chasmolíticos como criptoendolíticos. Los microorganismos que crecieron a partir de microclina y cuarzo tan solo pueden ser criptoendolíticos. En futuros trabajos se puede hacer MEB no solo para la muestra sino también para las bacterias crecidas en agar, después de un proceso de secado. Así, se tendría un punto de comparación entre las morfologías encontradas en el agar y en el interior de los minerales.

Como resultado del aislamiento y obtención de morfotipos microbianos endolíticos, se recuperaron 4 levaduras en total. Los informes de comunidades microbianas endolíticas, generalmente reportan distintos tipos de bacterias y hongos. Consecuentemente, este trabajo muestra evidencia de que los hongos levaduriformes también pueden aparecer en microambientes endolíticos. Se recomienda continuar el estudio a futuro con la identificación molecular de los morfotipos obtenidos para establecer la identidad de los microorganismos endolíticos presentes en los grupos minerales.

Las 12 comunidades bacterianas que fueron obtenidas y recuperadas del interior de la calcita crecieron en distintas concentraciones de medio de cultivo enriquecido solo con ese mineral; las 13 bacterias obtenidas a partir de la microclina también crecieron en distintas concentraciones en medio de cultivo enriquecido únicamente con este mineral; y del mismo modo, las 8 bacterias obtenidas y recuperadas a partir del interior del cuarzo crecieron en

distintas concentraciones en medio de cultivo enriquecido con ese mineral. Estos datos sugieren que las comunidades bacterianas endolíticas dentro de la calcita utilizaron Ca y C, en la microclina Si, Al y K y en cuarzo usan solamente Si como fuente de macronutrientes. Por consiguiente, las comunidades bacterianas endolíticas cultivables no solo utilizan dichos minerales como hábitat sino también como una fuente importante de nutrientes.

Los resultados estadísticos mostraron tendencias relacionales entre los morfotipos bacterianos y algunos factores fisicoquímicos, sin embargo, al ser estos resultados cualitativos y no cuantitativos este análisis tiene limitaciones. El hecho de reportar tendencias estadísticas sin patrones genéticos puede resultar problemático para la descripción de los microorganismos endolíticos. Consecuentemente, es necesario realizar en trabajos futuros análisis moleculares que permitan determinar el género o la especie de microorganismo comprometido al microhábitat endolítico y a factores fisicoquímicos que condicionen su crecimiento.

Los minerales calcita, microclina y cuarzo tienen un alto potencial como biomarcadores debido a que se encontraron microorganismos endolíticos en su interior. Las condiciones de aridez y de irradiación en Marte son similares a las que hay en el desierto de Atacama, donde hay reportes de comunidades bacterianas endolíticas asociadas a cuarcitas, yeso y areniscas. De modo que, posiblemente, en futuras misiones al planeta rojo donde muestras de minerales como el cuarzo marciano sean recolectadas y retornen a la Tierra se podrían estudiar las comunidades endolíticas que posiblemente existan en Marte en la actualidad.

Referencias

- Albesiano, S., Rangel, J. O., & Cadena, A. (2003). La vegetación del cañón del río Chicamocha (Santander, Colombia). *ECOLOGÍA*, 73-99.
- Angel, L., & Ramirez, M. J. (2015). Cartografía geológica y cálculo del balance hídrico para la construcción del túnel de carga en la central hidroeléctrica Chicamocha - municipio de Aratoca, Santander. *UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA*, Trabajo de pregrado.
- Ascaso, C., & Wierzchos, J. (2003). The search for biomarkers and microbial fossils in Antarctic rock microhabitats. *Geomicrobiology J* 20, 439–450.
- Ascaso, C. (2002). Ecología microbiana de sustratos líticos. *Ciencia y medio ambiente*, 90-103.
- Bandfield, J. L., Hamilton, V. E., Christensen, P. R., & McSween Jr, H. Y. (2004a). Identification of quartzofeldspathic materials on Mars. *J. Geophys. Res.*, 109:, E10009.
- Bandfield, J. F., Moreau, J. W., Chan, C. S., Welch, S. A., & Little, B. (2001,). Mineralogical Biosignatures and the Search for Life on Mars. *ASTROBIOLOGY, Volume 1, Number 4,,* 447-465.
- Bell, R. A., Athey, P. V., & Sommerfeld, M. R. (1986). Cryptoendolithic algal communities of the Colorado Plateau. *J Phycol* 22:, 429–435.
- Bell, R. A. (1993). Cryptoendolithic algae of hot semiarid lands and deserts. . *J Phycol* 29:, 133–139.
- Blyth, A. J., & Frisia, S. (2008). Molecular Evidence for Bacterial Mediation of Calcite Formation in Cold High-Altitude Caves. *Geomicrobiology Journal*, 101-111.
- Boyd, E., Cummings, D., & Gessey, G. (2007). Mineralogy influences structure and diversity of bacterial communities associated with geological substrata in a pristine aquifer. . *Microbial Ecology* 54, 170-182.
- Brehm, U., Gorbushina, A., & Mottershead, D. (2005). The role of microorganisms and biofilms in the breakdown and dissolution of quartz and glass. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 219, 117– 129.
- Bungartz, F., Garvie, L. J., & Nash, T. I. (2004). Anatomy of the endolithic Sonoran Desert lichen *Verrucaria rubrocincta* Breuss: implications for biodeterioration and biomineralization. *Lichenology* 36:, 55–73.
- Carson, J. K., Campbell, L., Rooney, D., Clipson, N., & Gleeson, D. B. (2009). Minerals in soil select distinct bacterial communities in their microhabitats. *FEMS microbiology ecology*, 381-388.
- Casamatta, D. A., Verb, R. G., Beaver, J. R., & Vis, M. L. (2002). An investigation of the cryptobiotic community from sandstone cliffs in southeast Ohio. *Int J Plant Sci* 163:, 837–845.
- Castellanos, A. O., Ríos, R. C., & Takasu, A. (2004). Sector-zoned garnets from pelitic schists of the Silgara Formation in the Mutiscua area, Santander Massif, Eastern Cordillera, Colombia. . *Boletín de Geología*, 26(42):, 8-18.

- Christopher J. McNamara, T. D. (2005). Epilithic and Endolithic Bacterial Communities in Limestone from a Maya Archaeological Site. *Microbial Ecology*, Vol 51, 51-64.
- Cockell , C. S., Olsson , K., Knowles , F., Kelly , L., Herrera , A., Thorsteinsson , T., & Marteinson , V. (2009a). Bacteria in weathered basaltic glass, Iceland. *Geomicrobiol J* 26, 491–507.
- Cockell , C. S., Osinski , G. R., Banerjee, N. R., Howard , K. T., Gilmour , I., & Watson , J. S. (2010). The microbe-mineral environment and gypsum neogenesis in a weathered polar evaporite. *Geobiology* 8, 293–308.
- Cockell, C. S., Olsson-Francis , K., Herrera , A., & Meunier , A. (2009b). Alteration textures in terrestrial volcanic glass and the associated bacterial community. . *Geobiology* 7, 50–65.
- Cockell, C., & Stokes , M. D. (2004). Widespread colonization by polar hypoliths. *Nature* 431, 414.
- Conrad, P. G., & Nelson, K. H. (2001). A non-Earthcentric approach to life detection. *Atrobiology* 1, 15-24.
- Cordani, U., Cardona, A., Jimenez, D., Liu, D., & Nutman, A. (2005). Geochronology of Proterozoic basement inliers in Colombian Andes: tectonic history of remnants of a fragmented Grenville belt. In: Terrane Processes at Margins of Gondwana. . *Geological Society London, Special Publications. Edited by Vaughan, A.; Leat, P.; Pankhurst, R. 246: , 329-346.*
- Corzo, J. A., & Tchegliakova, N. (2015). Relaciones geobiológicas entre rocas de la Formación Churuvita con bacterias nativas en el sector de Villa De Leyva. *Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de geociencias.*
- Cousins, C. R., Cockell, C. S., & The Geobiology in Space Exploration Topical Team. (2016). An ESA roadmap for geobiology in space exploration. *Acta Astronautica*, 286-295.
- Cowan , D. A., Khan , N., Pointing , S. B., & Cary , C. (2010). Diverse hypolithic refuge communities in the McMurdo Dry Valleys. *Antarct Sci* 22:, 714–720.
- Dietrich, L. E., Tice, M. M., & Newman, D. K. (2006). The co-evolution of life and Earth. *Current Biology Vol 16 No 11*, R395-R400.
- Dong , H., Rech , J. A., Jiang , H., Sun , H., & Buck , B. J. (2007). Endolithic cyanobacteria in soil gypsum: occurrences in Atacama (Chile), Mojave (United States), and Al-Jafr (Jordan) Deserts. . *J Geophys Res Biogeo* 112,, G02030.
- Ehrlich, H. L. (1998). Geomicrobiology: its significance for geology. *Earth-Science Reviews*, 45-60.
- Etayo, F. (1968). El sistema cretáceo en la región de Villa de Leyva y zonas próximas. *Revista Geología Colombiana-No 5*, 5-74.
- Etayo-Serna, F. (1968a). El Sistema Cretáceo en la región de Villa de Leiva y zonas próximas. *Geología Colombiana, (5):*, 5 - 74.
- Etayo-Serna, F. (1968b). Sinopsis estratigráfica de la región de Villa de Leiva y zonas próximas. *Boletín de Geología, (21):*, 19 - 32.

- Evans, J. (1977). Geological and Geochemical reconnaissance in the Central Santander Massif, Departments of Santander and Norte de Santander, Colombia. *U. S. Geological Survey (edits)* , 43.
- Ferris , F. G., & Lowson , E. A. (1997). Ultrastructure and geochemistry of endolithic microorganisms in limestone of the Niagara Escarpment. *Can J Microbiol* 43:, 211–219.
- Fischer, G., & Lüdders, P. (2002). Efecto d e la altitud sobre el crecimiento y desarrollo vegetativo de la Uchuva (*Physalis Peruviana* L.). *Revista Comalfi, Vol XXIX, número 1*, 1-10.
- Friedman , E. I. (1980). Endolithic microbial life in hot and cold deserts. *Origins Life Evolution B* 10, 223-235.
- Friedman, E. I., & Ocampo , R. (1976). Endolithic blue-green algae in the Dry Valleys primary producers in the Antarctic desert ecosystem . *Science* 193, 1247-1249.
- Friedmann , E. I., & Weed, R. (1987). Microbial trace fossil formation, biogenousand abiotic weathering in the Antarctic cold dessert. *Scienc*e 236, 654-752.
- Friedmann , E. I., & Kibler, A. P. (1980). Nitrogen economy of endolithic microbial communities in hot and cold deserts. *Microb Ecol* 6:, 95–108.
- Friedmann , E. I., McKay , C. P., & Nienow , J. A. (1987). The cryptoendolithic microbial environment in the Ross Desert of Antarctica: satellite-transmitted continuous nanoclimate data, 1984 to 1986. *Polar Biol* 7:, 273–287.
- García, C., & Ríos, C. (1999). Metamorfismo y metalogénia asociada del Macizo de Santander, Cordillera Oriental, Colombia. . *Informe fnal Proyecto de Investigación 1102-05-083-95 Colciencias-Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga* , 191.
- Gargaud, M., Martin, H., & Claeys, P. (2007). *Lectures in Astrobiology*. Verlag, Berlin, Heidelberg: Springer.
- Gleeson, D. B., Kennedy, N. M., Clipson, N., Melville, K., Gadd, G. M., & McDermott, F. P. (2005). Characterization of Bacterial Community Structure on a Weathered Pegmatitic Granite. *Microbial Ecology*, 526-534.
- Goublic , S., Friedmann, I., & Schneider , J. (1981). The lithobiontic ecological niche, with special reference to microorganisms. *J Sediment Petrol* 51, 475–478.
- Greenfield, L. G. (1988). Forms of nitrogen in Beacon sandstone rocks containing endolithic microbial in Southern Victoria Land, Antarctica. . *Polarforschung* 58:, 211–218.
- Grotzinger, J. P., & Rothman, D. H. (1996). An abiotic model for stromatolite morphogenesis. *Nature VOL: 383*, 423-425.
- Hoppert , M., Flies , C., Pohl , W., Günzel , B., & Schneider , J. (2004). Colonization strategies of lithobiontic microorganisms on carbonate rocks. *Environ Geol* 46, 421–428.
- Hughes , K. A., & Lawley , B. (2003). A novel Antarctic microbial endolithic community within gypsum crusts. . *Environ Microbiol* 5:, 555–565.

- IDEAM. (1981-2010). *Atlas interactivo IDEAM*. Obtenido de Atlas interactivo climatológico: <http://atlas.ideam.gov.co/visorAtlasClimatologico.html>
- IDEAM. (2014-2015). *Atlas interactivo IDEAM*. Obtenido de Atlas interactivo radiación IDEAM: <http://atlas.ideam.gov.co/visorAtlasRadiacion.html>
- Ingeominas. (1973). Memoria explicativa plancha 120 Bucaramanga y Pamplona. *Boletín geológico Vol XXI N° 1 - 3*, pág. 35.
- Ingeominas. (1976). Geología de la plancha 191 tunja. *Boletín geológico Vol 24 - N°2*, págs. 1-48.
- Johnston , C. G., & Vestal , J. R. (1986). Does iron inhibit cryptoendolithic communities? . *Antarct J US* 21:, 225–226.
- Konhauser, K. O., Schultze-lam, S., Ferris, F. G., Fyfe, W. S., Longstaffe, F. J., & Beveridge, T. J. (1993). Mineral Precipitation by Epilithic Biofilms in the Speed River, Ontario, Canada. *Applied and environmental microbiology*, 60, No. 2, 549-553.
- Lacap , D. C., Warren-Rhodes , K. A., McKay , C. P., & Pointing , S. b. (2011). Cyanobacteria and chloroflexidominated hypolith colonization of quartz at the hyper-arid core of the Atacama Desert, Chile. . *Extremophiles* 15:, 31–38.
- Lange, O. L., Nobel , P. S., Osbond, C. B., & Ziegler, H. (1981). Physiological plant ecology I. *Springer-Verl.*, 170-197.
- Lebart, L., Morineau, A., & Piron, M. (1995). *Statistique exploratoire multidimensinoelle*. Paris: NUNOD.
- Léveille, R. J., & Datta, S. (2010). Lava tubes and basaltic caves as astrobiological targets on Earth and Mars: A review. *Planetary and Spacy Science* 58:, 592-598.
- Limited, H. X. (2005). *Solar PV Panel/ Solar Radiation Maps*. Obtenido de Everredtronic: <http://www.everredtronic.com/Solar.Download.html>
- Madigan, M., Martinko, J., & Parker, J. (2004). *Brook, Biología de los microorganismos* (Decima edición ed.). Madrid: Pearson educación.
- Makhalanyane, T. P., Pointing , S. B., & Cowan, D. A. (2014). Lithobionts: Cryptic and Refuge Niches. En D. A. Cowan, *Antarctic Terrestrial Microbiology, Physical and Biological Properties of Antarctic Soils* (págs. 163-179). London: Springer.
- Mariño, M. A. (2009). Biodegradación estimulada de aguas contaminadas con hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) por aislados nativos pseudomonas spp. *Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias Básicas, Escuela de Química*, Tesis de pregrado.
- Mauck, B. S., & Roberts, J. A. (2007). Mineralogic control on abundance and diversity of surface-adherent microbial communities. *Geomicrobiology J* 24:, 167-177.
- McKay , C. P., Friedmann , E. I., Gómez-Silva, Villanueva , L. C., Andersen, D. T., & Landheim, R. (2003). Temperature and Moisture Conditions for Life in the Extreme Arid Region of the Atacama Desert: Four Years of Observations Including the El Niño of 1997–1998. *Astrobiology Volume 3, Number 2*, 393-406.

- McKay, C. P. (2002). Two Dry For Life: The Atacama Desert And Mars Too hostile for Earth microbes, the Atacama is a good simulation of Mars. *AD ASTRA -WASHINGTON-*. 14(3);, págs. 30-33.
- Mckay, C. P., Friedman, E. I., Wharton, R. A., & Davis, W. L. (1992). History of water on Mars: a biological perspective. *Advance Space Research* 12, 231-238.
- McCloughlin, N., Staudigel, H., Furnes, H., Eickmann, B., & Ivarsson, M. (2010). Mechanisms of microtunneling in rock substrates: distinguishing endolithic biosignatures from abiotic microtunnels. *Geobiology* 8: , 245–255.
- McNamara, C. J., Perry, T. D., Bearce, K. A., Hernandez - Duque, G., & Mitchell, R. (2005). Epilithic and Endolithic Bacterial Communities in Limestone from a Maya Archaeological Site. *Microbial Ecology*, Vol 51, 51-64.
- Mendoza, H., & et al. (1979). Geología y geoquímica del área de California, Santander. . *Boletín Geológico Ingeominas*, 22:, 3-52.
- Menéndez Valderrey, J. L., Fernández Martínez, R. R., Ruíz, L. C., & Rubio Domínguez., E. (2004-2018). *Asturnatura, Revista online, Calcita*. Obtenido de <https://www.asturnatura.com/mineral/calcita/1256.html>
- Newberry, C. J., Webster, G., Cragg, B. A., Parkes, R. J., Weightman, A. J., & Fry, J. C. (2004). Diversity of prokaryotes and methanogenesis in deep subsurface sediments from the Nankai Trough, Ocean Drilling Program Leg 190. *Environ Microbiol* 6: , 274–287.
- Noffke, N. (2010). *Geobiology. Microbial Mats in Sandy Deposits from the Archean Era to Today* . Norfolk Virgin Islands: Springer .
- NRC. (2007). An astrobiology strategy for the exploration of Mars. *The National Academies Press* (pág. 118). Washington D.C.: National Research Council.
- Nützel, A. (2017). Palaeoecology Lecture, 1st week. *Paleoecology lecture*, (pág. pp 27). Munich.
- Öcal, D. A., Cramer, T., & Siegesmund, S. (2007). Caracterización de agentes del deterioro de los monolitos de piedra arenisca del Infiernito – Colombia. 2do. CONGRESO ARGENTINO Y 1ro. LATINOAMERICANO DE ARQUEOMETRÍA, (pág. 3). Buenos Aires.
- Omelson , C. R., Pollard , W. H., & Ferris , F. G. (2006a). Environmental controls on microbial colonization of high Arctic cryptoendolithic habitats. *Polar Biol* 30:, 19–29.
- Omelson, C. R. (2016). Endolithic Microorganisms and Their Habitats. En C. J. Hurst, *Advances in environmental microbiology. Their World: A Diversity of Microbial Environments* (págs. 171-201). Cincinnati, OH, USA. Universidad del Valle, Cali, Colombia: Springer.
- Osorio, D., & Sánchez, C. (2017). Evaluación de biopelículas y tapetes microbianos actuales y comparación con estructuras similares en diferentes formaciones cretácicas de Colombia. Colombia: Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Geociencias.
- Parnell, J., Lee , P., Cockell , C. S., & Osinski , G. R. (2004). Microbial colonization in impact-generated hydrothermal sulphate deposits, Haughton impact structure, and implications for sulphates on Mars. *Int J Astrobiol* 3, 247–256.

- Patarroyo, P., & Moreno, M. (1997). Nuevas Consideraciones en torno al Cabeceo del Anticlinal de Arcabuco, en cercanías de Villa de Leyva - Boyacá . *Geología Colombiana, Volumen 22*, 27-34.
- Pentecost, A., Bayari, S., & Yesertener, C. (1997). Phototrophic Microorganisms of the Pamukkale Travertine, Turkey: Their Distribution and Influence on Travertine Deposition. *Geomicrobiology Journal* 14:4, 269-283.
- Pointing , S. B., Warren-Rhodes , K. A., Lacap , D. C., Rhodes , K. L., & McKay , C. P. (2007). Hypolithic community shifts occur as a result of liquid water availability along environmental gradients in China's hot and cold hyperarid deserts. *Environmental Microbiology* 9, 414–424.
- R Core Team. (2017). R: A language and environment for Statistical Computing. Viena, Austria.
- Restrepo, P. (1995). Late Precambrian to early Mesozoic tectonic evolution of the colombian Andes, based on new geochronological, geochemical and isotopic data. Unpub. *Ph.D. thesis, University of Arizona*, , 195.
- Reyes, Y. C., Vergara, I., Torres, O. E., Díaz, M., & González, E. E. (2016). Contaminación Por Metales Pesados: Implicaciones En Salud, Ambiente Y Seguridad Alimentaria. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo, Vol. 16 Nº 2*:, 66-77.
- Roberts, J. A. (2004). Mineral stimulation of subsurface microorganisms: release of limiting nutrients from silicates. *Chem Geology* 203:, 91-108.
- Rogers, J. R., & Bennett, P. C. (2004). Mineral stimulation of subsurface microorganisms: release of limiting nutrients from silicates. *Chemical Geology*, 91-108.
- Rondanelli, R., Molina, A., & Falvey, M. (2014). The Atacama Surface Solar Maximum. *Bulletin of the American Meteorological Society*.
- Royero , G. M., & Clavijo , J. (2001). Mapa Geológico generalizado departamento de Santander. Escala 1: 400.000. *Informe Ingeominas*, 92 p.
- Russell, M. J., Hall, A. J., & Martin, W. (2010). Serpentinization as a source of energy at the origin of life. *Geobiology*, 8 (5) , 355-371.
- Schlesinger, W. H., Phippen , J. S., Wallenstein , M. D., Hofmockel , K. S., Klepeis , D. M., & Mahall , B. E. (2003). Community composition and photosynthesis by photoautotrophs under quartz pebbles, southern Mojave desert. . *Ecology* 84:, 3222–3231.
- Siebert, J., Hirsch, P., Hoffmann, B., Gliesche, C. G., Peissl , K., & Jendrach , M. (1996). Cryptoendolithic microorganisms from Antarctic sandstone of Linnaeus Terrace (Asgard range): diversity, properties and interactions. *Biodiversity Conservation* 5, 1337–1363.
- Sigler , W. V., Bachofen , R., & Zeyer , J. (2003). Molecular characterization of endolithic cyanobacteria inhabiting exposed dolomite in central Switzerland. . *Environ Microbiol* 5:, 618–627.
- Smith, M. C., Bowman , J. P., Scott , F. J., & Line, M. A. (2000). Sublithic bacteria associated with Antarctic quartz stones. . *Antarct Sci* 12:, 177–184.

- Smith, M. R., & Bandfield, J. L. (2012). Geology of quartz and hydrated silica-bearing deposits near Antoniadi Crater, Mars. *J. Geophys. Res.*, 117:, E06007, .
- Stomeo, F., Valverde, A., Pointing, S. B., McKay, C. P., Warren-Rhodes, K. A., Tuffin, M. I., . . . Cowan, D. A. (2013). Hypolithic and soil microbial community assembly along an aridity gradient in the Namib desert. *Extremophiles* 17:, 329–337.
- Universidad Nacional de Educación a Distancia, Universidad Politécnica de Madrid. (2000). *CristaMine, Subgrupo de los feldespatos potásicos*. Obtenido de http://www2.uned.es/cristamine/min_desc/grupos/feldespatos_potasicos/fsppot_gr.htm
- Valencia, H. (2004). *Manual de prácticas de microbiología básica. Notas de clase*. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia.: Unilibros, 1Ed. Bogotá. 140 p.
- Vareshi, V. (1980). *Vegetationsökologie der Tropen*. Verl Stuttgart.
- Vargas, M. (Enero de 2014). *Research Gate, CARACTERIZACIÓN GEOLÓGICA DEL TRAVERTINO LOCALIZADO AL NOROCCIDENTE DEL MUNICIPIO DE PESCA, BOYACÁ*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/304252053_CARACTERIZACION_GEOLOGICA_DEL_TRAVERTINO_L
- Vítek, P., Ascaso, C., Artieda, O., & Wierzchos, J. (2016). Raman imaging in microbiology: Endolithic phototrophic microorganisms in gypsum from the extreme sun radiation area in the Atacama Desert. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 4083–4092.
- Walker, J. J., & Pace, N. R. (2007a). Endolithic microbial ecosystems. *Annu Rev Microbiol* 61:, 331–347.
- Ward, D., Goldsmith, R., Cruz, B., & Jaramillo, C. (1973). Geología de los Cuadrángulos H-12, Bucaramanga y H-13, Pamplona, Departamento de Santander. *U.S. Geological Survey e Ingeominas Boletín Geológico XXI (1-3)*, 1-132.
- Warren-Rhodes, K. A., Rhodes, K. L., Boyle, L. N., Pointing, S. B., Chen, Y., Liu, S., . . . McKay, C. P. (2007a). Cyanobacterial ecology across environmental gradients and spatial scales in China's hot and cold deserts. *FEMS Microbiol Ecol* 61:, 470–482.
- Wickham, H. (2009). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. Obtenido de <http://ggplot2.org>
- Wierzchos, J., Ascaso, C., Sancho, L. G., & Green, A. (2003). Iron-rich diagenetic minerals are biomarkers of microbial activity in Antarctic rocks. *Geomicrobiol J* 20, 15–24.
- Wierzchos, J., Davila, A. F., Artieda, O., Cámara-Gallego, B., de los Ríos, A., Nealson, K. H., . . . Ascaso, C. (2013). Ignimbrite as a substrate for endolithic life in the hyper-arid Atacama Desert: Implications for the search for life on Mars. *Icarus* 224:, 334–346.
- Wierzchos, J., De los Ríos, A., & Ascaso, C. (2012). Microorganisms in desert rocks: the edge of life on Earth. *International Microbiology* 15:, 173-183.
- Wong, F. K., Lau, M. C., Lacap, D. C., Aitchison, J. C., Cowan, D. A., & Pointing, S. B. (2010b). Endolithic microbial colonization of limestone in a high-altitude arid environment. *Microb Ecol* 59:, 689–699.

Zuñiga Lopez, I., & Crespo del Arco, E. (2015). *Meteorología y climatología*. Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia.