

UCH-FC
MA6-Microb
E 281
C.1



VIRIOPLANCTON MARINO EN EL GRADIENTE SALINO DEL MAR INTERIOR DE CHILOÉ

Tesis

Entregada A La

Universidad De Chile

En Cumplimiento Parcial De Los Requisitos

Para Optar Al Grado De

Magister en Ciencias Biológicas con Mención en Microbiología

Facultad De Ciencias

Por

MIGUEL ANGEL EGAÑA RASSE

Directora de Tesis: Prof. Vivian Montecino B.

Co- Directora de Tesis: Dra. Margarita Carú M.



Diciembre 2012



**FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE
INFORME DE APROBACION
TESIS DE MAGISTER**

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por el candidato.

MIGUEL ANGEL EGAÑA RASSE

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Magister en Ciencias con mención en microbiología, en el examen de Defensa Privada de Tesis rendido el día 06 de Septiembre de 2012.

Director de Tesis:

Vivian Montecino Banderet.....

Co-Director de Tesis

Dr. Margarita Carú.....

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Elie Poulin

Dr. Marcelo Baeza

*“Dedico este trabajo de tesis a mi madre, Ángela Alicia Rasse Acevedo, la
mujer con el corazón más hermoso que podría llegar a conocer”*

AGRADECIMIENTOS

Al programa del CONA CIMAR y proyecto CIMAR-Fiordos 17 por los aportes y ayuda durante el crucero y la entrega de base de datos biológicos y físico-químicos.

A Vivian Montecino por ser una gran científica y guía durante el desarrollo de esta tesis y el magister en general. A Margarita Carú por aceptar ser mi co-tutora y consejera.

Al Dr. Nelson Silva por su buena disposición para facilitar información referente a los datos de nutriente obtenidos durante el crucero CIMAR-Fiordos 17.

A Rodrigo Torres por el análisis de diversos parámetros aquí utilizados.

Al Dr. David Veliz por su apoyo en el análisis estadístico de los datos de esta tesis.

A mis padres por su constante e incondicional apoyo.

A mi novia Valeria por su apoyo y empuje en los momentos más difíciles.

A la Vida.



INDICE DE MATERIAS

Lista de Tablas.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
Resumen.....	xiii
Abstract.....	xv
1.- INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	5
1.2. OBJETIVOS.....	6
Objetivo general.....	6
Objetivos específicos.....	6
2. MATERIALES Y METODOS.....	7
2.1. Área de estudio.....	7
2.2. Obtención de muestras.....	7
2.3. Obtención de datos de variables físicas y químicas.....	7
2.4. Análisis de bacterias.....	9
2.5. Análisis de partículas virales.....	9
2.6. Análisis de pigmentos fotosintéticos.....	10
2.7. Análisis de datos.....	10
3. RESULTADOS.....	12

3.1. Variables físicas y químicas en las estaciones de transecta; distribución espacial.....	12
3.1.1 Temperatura.....	12
3.1.2 Salinidad.....	13
3.1.3. Oxígeno disuelto.....	14
3.1.4. Nitrato.....	15
3.1.5. Fosfato.....	16
3.2. Variables biológicas en las estaciones de transecta.....	17
3.2.1. Concentración de partículas virales.....	17
3.2.2. Concentración de bacterias heterótrofas.....	19
3.2.3. Clorofila a total y feo-pigmentos totales (Cl-a +FT).....	21
3.2.4. Relaciones entre las concentraciones de virus y bacterias.....	22
3.2.5. Relaciones entre salinidad y concentración de partículas virales.....	24
3.2.6. Agrupación de estaciones.....	25
3.2.7. Comparación de estaciones de los dos grupos contrastantes (estaciones 3 y 21).....	28
3.3. Variables físicas y químicas en las estaciones de procesos; Distribución temporal.....	31

3.3.1. Estación 5; Estero de Reloncaví.....	31
3.3.1.1. Temperatura.....	31
3.3.1.2. Salinidad.....	32
3.3.1.3. Oxígeno disuelto.....	32
3.3.1.4. Nitrato.....	33
3.3.1.5. Fosfato.....	34
3.3.2. Estaciones de procesos 33 y 51.....	35
3.4. Variables biológicas para las estaciones de proceso.....	36
3.4.1. Estación 5; Estero de Reloncaví.....	36
3.4.1.1. Partículas virales.....	36
3.4.1.2. Bacterias.....	37
3.4.1.3. Clorofila a total y feo-pigmentos totales (Cl-a +FT).....	37
3.4.1.4. Relaciones entre variables biológicas y fisicoquímicas.....	38
3.4.2. Estación 51; Apiao.....	39
3.4.2.1. Partículas virales.....	39
3.4.2.2. Bacterias.....	40
3.4.2.3. Clorofila a total y feo-pigmentos totales (Cl-a +FT).....	41
4. DISCUSIÓN.....	43

5. REFERENCIAS.....	50
6. ANEXOS.....	55

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis de componentes principales para las variables medidas en las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar -17 fiordos.

.....26

Tabla 2. Grupos de estaciones determinados mediante análisis de conglomerados.

.....27

Tabla 3. Andeva de un factor para los grupos de estaciones determinados en la tabla 2.

.....28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa del mar interior de Chiloé (MICH), con las estaciones oceanográficas muestreadas para este estudio.	8
Figura 2. Perfiles verticales de temperatura para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	13
Figura 3. Perfiles verticales de salinidad para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	14
Figura 4. Perfiles verticales de oxígeno disuelto ($\text{ml}\cdot\text{L}^{-1}$) para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	15
Figura 5. Perfiles verticales de la concentración de nitrato para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	16
Figura 6. Perfiles verticales de la concentración de fosfato para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	17
Figura 7. Perfiles verticales de la concentración de partículas virales para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	18
Figura 8. Abundancias promedio de (0 - 15 m) y desviación estándar de partículas virales en las estaciones muestreadas en el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	19

Figura 9. Perfiles verticales de la concentración de bacterias heterótrofas para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....20

Figura 10. Abundancias promedio de (0 - 15 m) y desviación estándar de bacterias en las estaciones muestreadas en el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....21

Figura 11. Perfiles verticales de los pigmentos totales (concentraciones de Cl-a total más concentración de feo-pigmentos totales) para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....22

Figura 12. Regresión lineal entre concentraciones de bacterias y virus integradas desde 0 a 15 m.
.....23

Figura 13. Regresión lineal entre concentraciones virus integradas desde 0 a 15 m, y concentración de pigmento totales integradas desde 0 a 15 m.
.....24

Figura 14. Salinidad versus partículas virales integradas entre 0 y 15 m para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....25

Figura 15. Conglomerado de las estaciones muestreadas en el crucero Cimar fiordos 17, en función de las concentraciones virales encontradas en cada estación.	27
Figura 16. Distribución en la columna de agua de parámetros biológicos y fisicoquímicos en la estación 3 (seno de Reloncaví).	29
Figura 17. Distribución en la columna de agua de parámetros biológicos y fisicoquímicos en la estación 21 (Golfo de Ancud).	30
Figura 18. Perfiles de temperatura para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	31
Figura 19. Perfiles de salinidad para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	32
Figura 20. Perfiles de oxígeno disuelto para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	33
Figura 21. Perfiles de nitrato para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.	34

Figura 22. Perfiles de fosfato para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....35

Figura 23. Perfil vertical de la distribución de partículas virales en el tiempo en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....36

Figura 24. Perfil vertical de la distribución células bacterianas heterótrofas en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....37

Figura 25. Perfiles verticales de la suma de concentraciones totales de Cl-a y feo-pigmentos para la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....38

Figura 26. Distribución en la columna de agua de parámetros biológicos y fisicoquímicos en la estación 5 (estero de Reloncaví).
.....39

Figura 27. Perfil vertical de la distribución de partículas virales en la estación 51, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.
.....40

Figura 28. Perfil vertical de la distribución de bacterias heterótrofas en la estación 51, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

.....41

Figura 29. Perfiles verticales de la suma de concentraciones de Cl-a total con las de feo-pigmentos totales para la estación 51, Apiao muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

.....42

RESUMEN

Se estudió la concentración de partículas virales, bacterias y clorofila *a* total, junto con las variables ambientales temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y nutrientes (nitrato y fosfato) en el mar interior de Chiloé (MICH). Estas mediciones fueron realizadas durante el crucero CIMAR-Fiordos 17, llevado a cabo en la primavera (octubre y noviembre) de 2011, con el objetivo de analizar y relacionar variables bióticas y abióticas que tengan una incidencia directa en la abundancia viral en ambientes marinos con gradientes de salinidad (40°- 43° S). Con este fin, las estaciones muestreadas se agruparon mediante técnicas de análisis de componentes principales (ACP) y de análisis de conglomerados. Se separaron así tres estaciones (3, 5 y 16) que se caracterizan por una alta influencia terrestre debido al aporte de agua dulce de ríos de importancia, ubicadas al norte de las islas Desertores hasta el estero de Reloncaví. Otro grupo lo conforman todas las otras estaciones ubicadas en el golfo de Ancud más el resto de las estaciones ubicadas en la zona del golfo de Corcovado, al sur de las islas Desertores hasta la boca del Guafo de mayor influencia oceánica. La diferencia en concentración de partículas virales entre los grupos de estaciones se evaluaron mediante ANDEVA de un factor, previa normalización de datos. Se utilizó regresiones simples para evaluar la correlación entre cada una de las variables ambientales y las concentraciones de partículas virales.

Se determinó que la distribución espacial de partículas virales y bacterias heterótrofas en el MICH está determinada significativamente por dos estructuras de la columna de agua definidas por la estratificación de los parámetros fisicoquímicos de salinidad y temperatura. Adicionalmente, se observó también una heterogeneidad de respuestas dada por la variabilidad de dichos parámetros

fisicoquímicos, principalmente la salinidad, modulando la abundancia de la biomasa fitoplanctónica, bacterias heterótrofas y partículas virales.

Además, se pudo distinguir sectores o parches dentro de la zona norte que se caracterizaron por su baja salinidad. Este patrón concuerda con la distribución espacial de clorofila *a* total como un estimador de la biomasa fitoplanctónica, ya que sus mayores abundancias (dados por la fracción $\geq 20 \mu\text{m}$) pueden explicarse por los aportes de silicatos desde los influjos de aguas continentales que ocurren en estas zonas.

Las mayores concentraciones virales se midieron en las estaciones ubicadas en el estero de Reloncaví y el golfo de Ancud que presentaron estratificación de la columna de agua y las mayores biomásas del fitoplancton. La estabilidad temporal en las abundancias virales y de estratificación de la columna de agua en las estaciones de procesos confirman el comportamiento contrastante en los gradientes salinos.

Las estaciones que registraron las mayores abundancias virales, ubicadas en el sector norte, se caracterizan por columnas de agua estratificadas. En estas áreas ingresan grandes volúmenes de aguas continentales de baja salinidad y ricas en silicatos. Las demás estaciones, mostraron menores abundancias de partículas virales, hecho que coincide con columnas de agua totalmente mezcladas y de características de tipo oceánico. Este contraste y la estabilidad en estos dos tipos de estructuración de la columna de agua, confirmado con los análisis de las series temporales, determina las diferencias registradas en las abundancias de partículas virales y de los otros parámetros biológicos registrados en el área de estudio.

ABSTRACT

The concentration of viral particles, bacteria and chlorophyll a total, together with environmental variables temperature, salinity, dissolved oxygen and nutrients (nitrate and phosphate) was studied in the inner Sea of Chiloé (MICH). These measurements were made during the CIMAR-17 Fiordos cruise, carried out in spring (October and November) of 2011, in order to analyze and relate biotic and abiotic variables having a direct impact on viral abundance in marine environments with salinity gradients (40° - 43° S). For this purpose, the sampling stations were grouped by principal component analysis (PCA) technique and cluster analysis. So, three stations (3, 5 and 16) were separated which are characterized by high terrestrial influence due to freshwater input from major rivers, located north of the Desertores Islands and the Reloncaví estuary. Another group consists of all other stations in the Golfo de Ancud plus the rest of the stations located in the Golfo Corcovado south of the Desertores Islands and Boca del Guafo with the higher oceanic influence. The difference in viral particles concentration between stations groups were evaluated by ANOVA of one factor after data normalization. Simple regression was used to assess the correlation between each of the environmental variables and the concentrations of viral particles.

It was determined that the spatial distribution of heterotrophic bacterial and viral particles in the MICH is significantly determined by two water column structures defined by the stratification the physicochemical parameters temperature and salinity. In addition, heterogeneity of responses was also observed given by the variability of these physicochemical parameters, mainly salinity, modulating the abundance of phytoplankton biomass, heterotrophic bacterial and viral particles.

Also, it was possible to distinguish areas or patches in the north that were characterized by low salinity. This pattern is consistent with the spatial distribution of chlorophyll a as an estimate of overall phytoplankton biomass since their highest abundances (given by the fraction $\geq 20 \mu\text{m}$) can be explained by the contributions of silicates from the inflows occurring in inland waters these zones.

The highest viral concentrations were measured at stations located in the Reloncaví estuary and in the Golfo of Ancud which presented stratified water column and higher phytoplankton biomass. The temporal stability in the viral abundances and stratification in the water column of the processes stations confirms the contrasting behavior in the salinity gradients.

The stations with the largest viral abundances, located in the northern sector, are characterized by stratified water columns. In these areas there is an entry of large volumes of fresh water of low salinity and rich in silicates. The other stations, showed lower abundances of viral particles, which coincide with fully mixed water columns and oceanic type characteristics. This contrast and stability in these two types of water column structures, confirmed by the analysis of time series, determines the differences in the abundances of viral particles and of the other biological parameters registered in the study area.

1.- INTRODUCCIÓN

Los virus son componentes biológicos ubicuos, muy dinámicos y abundantes, se les encuentra en todos los ecosistemas del planeta, desde los sedimentos marinos profundos hasta la atmósfera. En el océano, los virus infectan a toda la biota, desde bacterias hasta cetáceos (Suttle, 2005). En un mililitro de agua de mar se pueden encontrar hasta 10^8 partículas virales y en los sedimentos es posible cuantificar hasta 10^9 partículas virales por gramo (Wommack & Colwell, 2000). La mayoría de los virus ambientales infectan bacterias, los llamados bacteriófagos o simplemente fagos. Al extrapolar la estimación del número de bacterias existentes en el planeta, que alcanza 10^{30} (Whitman y col, 1998) y estimando una relación de 10 virus por cada bacteria, se obtiene que en el planeta existen alrededor de 10^{31} virus (Wommack & Colwell, 2000; Weinbauer, 2004). Esto hace de los virus las entidades más comunes de la Tierra, siendo los océanos y sus sedimentos los que contribuyen con aproximadamente la mitad de todos los virus del planeta.

A pesar de su pequeño tamaño (del orden de 100 nm; 10 atogramos ($ag = 10^{-17}$ g)) los virus constituyen una gran biomasa a escala global. Se estima que la biomasa viral en los océanos es aproximadamente de $2 \cdot 10^{11}$ Kg de carbono (Hambly & Suttle, 2005), lo que hace a los virus y particularmente a los fagos constituyentes de la segunda mayor biomasa en los océanos, solamente superada por la biomasa bacteriana. Mediante las infecciones y subsecuente mortalidad de una gran fracción de bacterias marinas, los virus tienen una significativa influencia en el destino de la producción primaria, la diversidad y producción secundaria bacteriana, el flujo de carbono global y los nutrientes (Rohwer, 2003). Reciente evidencia sugiere además que las comunidades virales marinas comprenden el mayor reservorio de diversidad

genética en los océanos, una diversidad que está recién comenzando a ser conocida (Rohwer, 2003).

Los virus marinos son reconocidos por infectar una amplia variedad de productores primarios, incluyendo diatomeas, cryptófitas, prasinófitas y ser responsables de gran parte de la mortalidad de procariotas. Ha sido demostrado por Fuhrman & Suttle (1993) que al agregar al agua de mar partículas de tamaño entre 0,2 y 0,02 μm concentradas mediante ultrafiltración se produce un decaimiento considerable (> 78%) de la producción primaria. Estos resultados indican que además de las presiones predatorias (pastoreo) y de limitación de nutrientes que debe soportar el fitoplancton, las infecciones producidas por patógenos virales podrían ser un factor de regulación adicional de la estructura de las comunidades fitoplanctónicas y de la productividad primaria en los océanos. Específicamente Wilhelm & Suttle (1999) han aislado virus que infectan varias especies de fitoplancton, por ejemplo, de *Micromonas pusilla* y *Heterosigma akashiwo*. Sin embargo, aún existen pocos estudios *in situ* del efecto de los virus sobre los eucariotas fotosintéticos, y es probable que no sea despreciable el porcentaje de estos que sufre lisis viral diariamente (Cottrel & Suttle, 1995).

El "pool" de virus en el océano es muy dinámico debido a que en las aguas superficiales estos son constantemente destruidos por la radiación solar y otros factores (Whilhelm & Suttle, 1999). Sin embargo nuevas progenies virales son producidas permanentemente, lo que repone a los que han sido destruidos o inactivados. Además, los nuevos virus pueden ser introducidos en la capa de mezcla desde fuentes externas como eventos de surgencia de aguas profundas o aportes fluviales. Cuando hay altas tasas de producción viral, esto implica que ocurre un incremento de las muertes por lisis de los correspondientes hospederos. Según Fuhrman & Suttle (1993), entre un 10 y 20 % de las bacterias heterotróficas

y un 5 – 10 % de las cianobacterias de aguas superficiales son destruidas diariamente por lisis lo que permite mantener a la comunidad viral activa. Considerando que las concentraciones de bacterioplancton usualmente alcanzan los $10^5 - 10^7$ células*L⁻¹, la destrucción de las células hospederas puede representar una significativa fuente de carbono orgánico, nutrientes y elementos traza para las tramas tróficas microbianas en los sistemas marinos (Proctor & Fuhrman, 1991).

Los procesos oceanográficos que tienen relación directa con la distribución del fitoplancton son principalmente aquellos que determinan la disponibilidad de luz y nutrientes, modificando la profundidad de la capa de mezcla y la estabilidad de la columna de agua. En el caso de los canales y fiordos australes, otras variables oceanográficas pueden ser forzantes de la distribución y abundancia del fitoplancton, tales como la onda de marea y la fase en que esta se encuentre. La onda de marea, al momento de penetrar los canales y fiordos puede formar en el estrato superficial un microfrente físico que crea una mezcla activa entre las aguas superficiales frías y menos densas que salen del fiordo con aguas más densas que entran desde el océano (Silva & Palma, 2006). Este proceso de mezcla vertical proporciona disponibilidad de nutrientes en la capa superficial y sustenta el crecimiento del fitoplancton, siempre que los aportes de aguas subsuperficiales contengan concentraciones de nitratos y fosfatos suficientes (Ramírez & Pizarro 2005). Las abundancias virales presentan una fuerte relación con la productividad del ecosistema costero (Weinbauer, 2004), a partir de esto se ha propuesto al estado trófico de los diferentes ambientes como un factor clave en el control de la distribución viral. No obstante, en muchos ecosistemas aún se desconoce su distribución y dinámica, como es el caso de la zona estudiada, el mar interior de Chiloé (MICH).

El MICH, ubicado en el sur-orienté del Pacífico Sur (Fig. 1), presenta una marcada estacionalidad, por efecto de los grandes aportes de agua dulce provenientes de las precipitaciones (2000 - 5000 mm*año⁻¹), de los deshielos y las aguas dulces, los que además contienen alto contenido de silicato y bajo contenido de nitrato y que simultáneamente ocasionan gradientes de salinidad. El MICH está sometido a baja radiación solar durante los inviernos, periodo caracterizado por una disminución de la temperatura superficial del agua (Iriarte y *col*, 2007; Tello & Rodríguez-Benito, 2009), lo que conlleva una estructuración vertical casi homogénea, al inverso de lo que ocurre durante las primaveras, temporada caracterizada por una mayor heterogeneidad vertical de la columna de agua (Carrasco & Silva 2009; Martínez, 2011).

La zona norte del MICH (golfo de Ancud), presenta una marcada influencia continental, debido a la estrecha conexión con el mar que se produce en el canal de Chacao (Fig.1), la alta influencia de las aguas dulces provenientes desde el estero de Reloncaví al Golfo de Ancud, donde desembocan los principales ríos (Petrohué, Puelo, Riñihue y Cochamó) que modulan las condiciones de las zonas estuarinas de los alrededores (León, 2005, *fide* Martínez, 2011).

La zona sur del MICH, golfo Corcovado y boca del Guafo (Fig.1), tiene una mayor influencia de tipo oceánico, es decir, ricas en nitrato y fosfato pero pobres en silicato (Carrasco & Silva, 2009). Aquí las temperaturas son considerablemente más bajas respecto a la zona norte, 11,4 - 12,7 °C en primavera - verano (Tello & Rodríguez-Benito, 2009).

El MICH exhibe una fuerte estacionalidad en cuanto a la biomasa fitoplanctónica, mostrando incrementos durante las temporadas primavera - verano respecto a los periodos invernales (Montecino y *col*, 2009). Durante la primavera domina la

fracción grande de fitoplancton; el microfitoplancton, mientras que en las temporadas de invierno son dominantes el nano y picofitoplancton (Iriarte y *col*, 2007; Montecino y *col*, 2009). El análisis de imágenes satelitales de clorofila *a* total superficial, muestra que las comunidades de fitoplancton del MICH se encuentran distribuidas en parches y su distribución depende de la estación del año (Lara y *col*, 2010).

El propósito de este estudio, mediante la incorporación de técnicas que permiten la visualización y enumeración de virus y bacterias (Noble, 2001), es analizar y relacionar variables ambientales y bióticas (fitoplancton y bacterioplancton) que tengan una incidencia directa en la abundancia viral en ambientes marinos caracterizados por gradientes de salinidad.

Se espera que esta tesis, aporte a la comprensión global de la presencia de altas concentraciones virales en las columnas de agua estuarinas, y que se sumarán a la experiencia y el conocimiento que se maneja desde la visión de la abundancia del fitoplancton y su dinámica en el MICH.

1.1 HIPOTESIS DE TRABAJO

Millones de partículas virales se pueden cuantificar en 1 ml de agua de mar. Estas provienen, principalmente de la lisis de las más abundantes formas de vida oceánica; bacterias y fitoplancton, incluso se ha postulado que los virus pueden ser los principales determinantes en la declinación de fenómenos de floraciones algales. El MICH, caracterizado por su marcado gradiente ambiental debido a su geomorfología y al gran volumen de aportes fluviales, presenta una oportunidad para registrar la dinámica de las partículas virales en este tipo de sistemas. Es por ello que se estudiarán las variaciones cuantitativas de las partículas virales en

relación con la distribución espacial y temporal de fito y bacterioplancton en el MICH.

Hipótesis: La abundancia de partículas virales está determinada por un conjunto de variables trófico - ambientales relacionadas con la concentración de nutrientes y la estratificación o mezcla de las capas de agua determinadas por el gradiente salino característico de la zona de estudio.

1.2 OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la relación entre virioplancton y otros parámetros biológicos y fisicoquímicos en una transecta de estaciones de muestreo y en una serie temporal en tres estaciones de procesos en el mar interior de Chiloé.

Objetivos específicos

1. Recolectar muestras de agua para determinar las concentraciones de virus y bacterias.
2. Conocer la distribución espacial de virio y bacterioplancton en el área de estudio.
3. Evaluar las variaciones en las concentraciones virales en relación con los parámetros fisicoquímicos.
4. Asociar todos los parámetros medidos y estudiar la existencia de relación entre ellos.
5. Describir los cambios temporales en las concentraciones virales en las estaciones de procesos.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Área de estudio

El estudio se realizó en el mar interior de Chiloé, MICH, entre el estero de Reloncaví (41° 39' S) y boca del Guafo (43° 49' S), este mar tiene una superficie de 9.181,5 km².

2.2. Obtención de muestras

Entre el 6 de octubre y el 11 de noviembre de 2011, se tomaron muestras de agua en superficie, 5, 10, 15 y 25 metros de profundidad mediante el uso de botellas Niskin en las estaciones de muestreo; 3, 5, 9, 11, 16, 21, 33, 36, 44 y 51 del crucero Cimar-Fiordos 17 (Fig. 1). El volumen de las muestras fue de 50 ml, la fijación de muestras se realizó con formaldehído neutralizado a una concentración final del 2% (Kuznar y *col*, 2009), posterior a esto las muestras fueron procesadas mediante el uso de filtros de distinto diámetro de poro según se trate de virus o bacterias y almacenadas en oscuridad a 4° C hasta su análisis en laboratorio (Noble, 2001).

2.3. Obtención de datos de variables físicas y químicas

Los datos de las variables temperatura, salinidad y oxígeno disuelto fueron medidos mediante CTD (conductivity, temperature & depth) in situ durante la expedición y fueron proporcionados por la Comisión Oceanográfica Nacional (CONA).

Las muestras para nutrientes (50 ml), fueron tomadas en botellas asépticas de polietileno de alta densidad y guardadas congeladas a -25 °C. Los análisis de nutrientes (nitrato y fosfato) se realizaron posteriormente mediante un autoanizador de nutrientes y de acuerdo a las técnicas de Atlas y *col*, (1971).

Los datos de nutrientes (nitrato y fosfato) y clorofila a total + feopigmentos totales (Cl-a + FT) fueron procesados y proporcionados por investigadores del Centro de

Investigación en Ecosistemas de la Patagonia (CIEP), quienes analizaron submuestras de las mismas botellas para obtener esta información y fueron analizados a través de métodos manuales siguiendo los protocolos JGOFS (JGOFS, 1993).

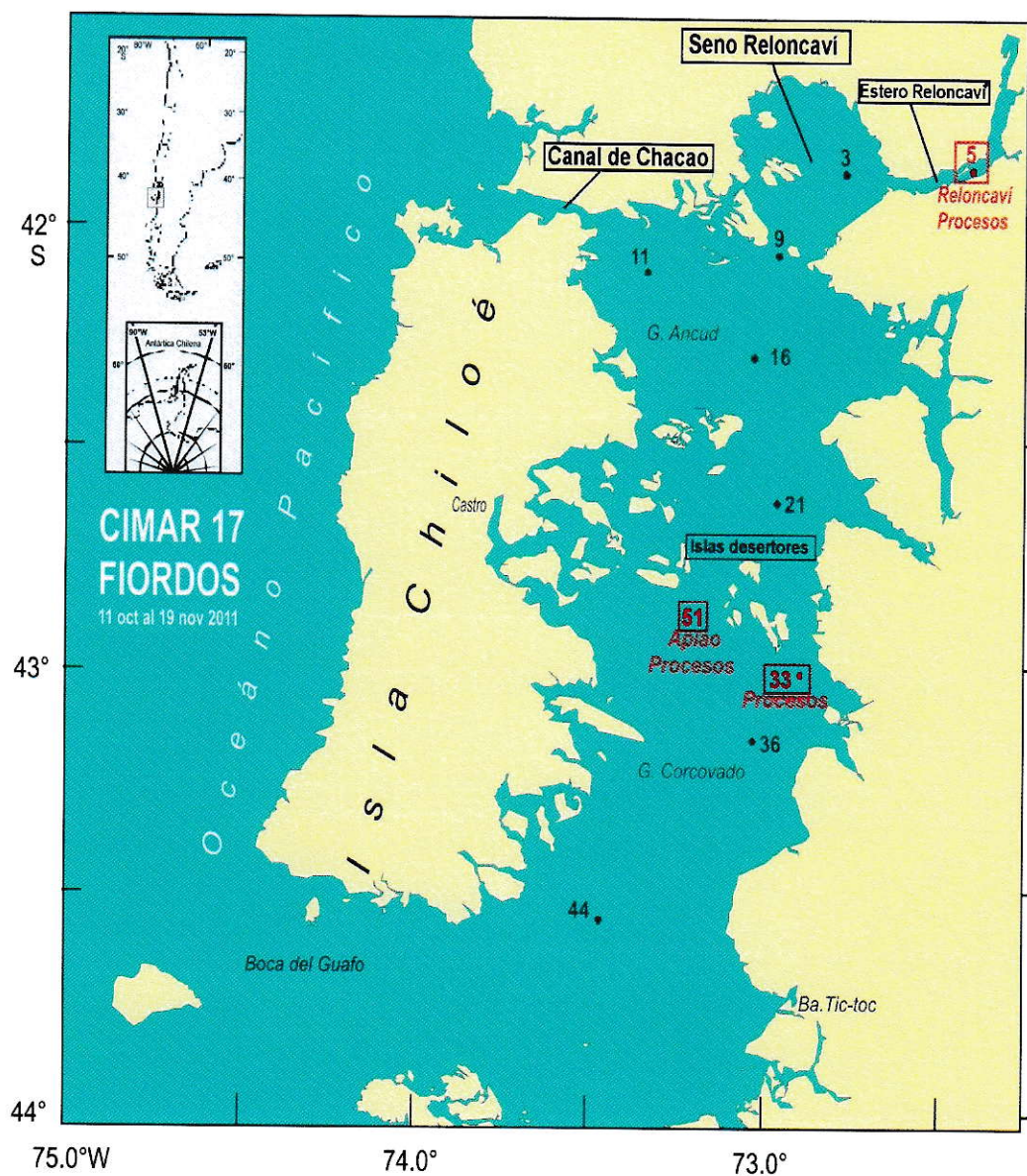


Figura 1. Mapa del mar interior de Chiloé (MICH), con las estaciones oceanográficas muestreadas para este estudio.

2.4. Análisis de bacterias

Las muestras de agua recolectadas en tubos de polipropileno de 50 ml y fijadas en formalina al 2% se filtran a través de filtros de membrana anodisc de 0,2 μm de diámetro de poro, los cuales se tiñen con Sybr Green I, previamente diluido 100 veces en agua Milli Q; tras ser mantenidos en oscuridad durante 15 minutos, los filtros son lavados con agua Milli Q tres veces y analizados en un microscopio de epifluorescencia para la cuantificación de las bacterias. Si la concentración de bacterias resulta muy alta, lo que dificulta la cuantificación, se realizan diluciones de 10x o 100x. Los filtros conteniendo bacterias (0,2 μm) fueron analizados mediante microscopía de epifluorescencia con aumento de 400x. De cada filtro se obtienen imágenes de tres campos diferentes y con una resolución de 6 mega píxeles. Estas imágenes fueron procesadas con el programa Scion Image obtenido gratuitamente desde la página web del National Institute of Health (NIH) de E.U.A. La variación entre los valores numéricos de cada campo no debe superar el 5%.

2.5. Análisis de partículas virales

1 ml de la muestra de agua se filtra a través de un filtro de 0,2 μm de diámetro de poro para eliminar bacterias y otros elementos. La submuestra obtenida, es nuevamente filtrada en un filtro de membrana anodisc de 0,02 μm de diámetro de poro. En estas condiciones se retienen componentes cuyos tamaños oscilan entre 0,2 y 0,02 μm ; en esta fracción se cuantifican las partículas virales, que son teñidas con Sybr Green I (Noble, 2001), diluido 10 veces en agua Milli Q. Tras ser mantenidos en oscuridad durante 15 minutos, los filtros son lavados con agua Milli Q tres veces y montados sobre un portaobjetos para observarlos y fotografíarlos mediante un microscopio de epifluorescencia. Si la concentración de viriones resulta muy alta, lo que dificulta la cuantificación se realizan diluciones de 10x o 100x. Las concentraciones determinadas mediante esta metodología pueden estar

significativamente sub estimadas debido al decaimiento de las partículas virales. (Kevin y col, 2004). Estas imágenes fueron procesadas con el programa Scion Image para su cuantificación. La variación entre las muestras no debe superar el 7%.

2.6. Análisis de pigmentos fotosintéticos (CI-a + FT)

Para determinar la concentración de CI-a + FT en las estaciones tanto de transecta como de procesos, los investigadores a bordo colectaron muestras de agua de mar obtenidas con roseta a 0, 5, 10, 15 y 25 m de profundidad para estimar la biomasa fitoplanctónica total y la fracción de tamaño $\geq 20 \mu\text{m}$ (microfitoplancton), considerando como un indicador de su biomasa la concentración de CI-a + FT. Cada muestra de 250 ml se filtró con y sin pre filtración con malla de $20 \mu\text{m}$, sobre filtros de fibra de vidrio de tamaño de poro $0,7 \mu\text{m}$ (nominal). Los filtros se conservaron en nitrógeno líquido hasta su análisis en laboratorio (Jeffrey y col, 1997), donde se extrajeron los pigmentos con acetona (90% v/v) y se cuantificó su concentración en un fluorómetro TURNER modelo TD-700.

2.7. Análisis de datos

Los datos se analizaron mediante estadística paramétrica con el fin de evaluar la existencia de grupos de estaciones de acuerdo a variables biológicas y fisicoquímicas. Se utilizó el software R para el análisis de componentes principales (ACP) en la determinación de las fuentes principales de variabilidad. Para la agrupación de las estaciones de muestreo se utilizó el análisis de conglomerados (software R). La determinación de diferencias significativas entre grupos de estaciones de muestreo se realizó mediante análisis de varianza de una vía con el software estadístico R, previa comprobación de normalidad de la variable respuesta, la cual fue sometida a la bondad de ajuste, que al no existir, los datos

fueron normalizados mediante la aplicación de log 10. La homocedasticidad de esta variable fue evaluada mediante docimasia de Bartlett, a través del software estadístico STATISTICA 6.0.

Además se realizó análisis de varianza de una vía con 999 permutaciones, sin previa normalización de los datos mediante el software R.

Para determinar factores predictivos se realizaron regresiones simples, previa normalización de datos mediante la aplicación de log 10.

3. RESULTADOS

3.1. Variables físicas y químicas; distribución espacial

3.1.1 Temperatura

En los perfiles verticales de temperatura se puede distinguir dos grupos; el primero formado por 5 perfiles correspondientes a las estaciones 3, 5 y 16 (Fig. 2), ubicadas en el sector norte, correspondientes al seno de Reloncaví, estero de Reloncaví y golfo de Ancud respectivamente, que muestran un rango de 10,5 °C - 12,3 °C. La estación 3 presenta además una marcada termoclina entre los 5 y los 10 m. La estación 5 día 1 y día 6 presentan perfiles muy similares con marcadas termoclinas entre los 3 - 5 m, de temperatura ascendente con un gradiente medio de 0,3 °C*m⁻¹ y entre los 5 y 18 m de gradiente medio -0,1 °C*m⁻¹, mientras la estación 5 día 4 muestra la termoclina ubicada entre los 3 y los 20 m con un gradiente medio de 0,1 °C*m⁻¹. En la estación 16 se observa una termoclina entre los 3 y los 5 m y otra entre los 15 y los 25 m. El segundo grupo, que corresponde al resto de las estaciones, muestra un rango menor de temperatura, entre 10,2 - 11,2 °C. En este grupo se distingue la estación 44 por presentar una termoclina entre los 5 y los 8 m.

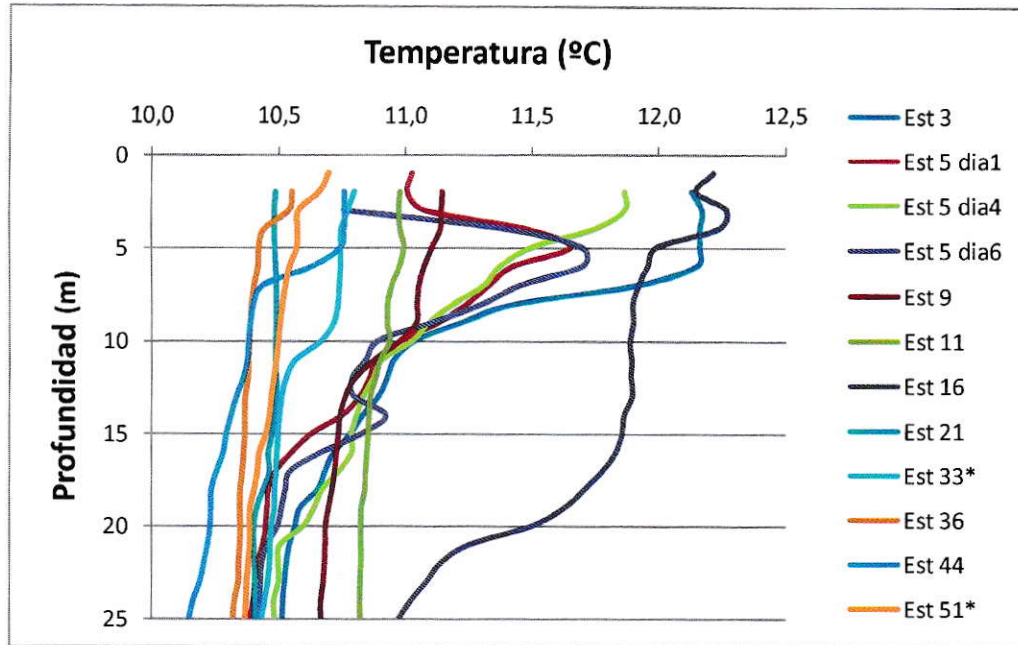


Figura 2. Perfiles verticales de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH. * Estos son un promedio para los tres días muestreados en estas dos estaciones de procesos.

3.1.2 Salinidad

En la figura 3 se muestran los perfiles de salinidad, donde se segregan claramente las estaciones 3, 5 día 1, 5 día 4, 5 día 6 y la estación 16. La Estación 3 con un rango de salinidad bajo de 28,5 - 32 PSU presenta una haloclina entre los 2 y los 10 m con un gradiente medio para este tramo de $0,38 \text{ PSU}\cdot\text{m}^{-1}$. La estación 5 los días 1 y 3 muestra una fuerte haloclina entre los 3 - 7 m, con un gradiente medio de $6 \text{ PSU}\cdot\text{m}^{-1}$, mientras que en el día 5 la haloclina principal se presenta a una mayor profundidad (5 - 13 m, gradiente de $3 \text{ PSU}\cdot\text{m}^{-1}$) y muestra otras dos termoclinas entre los 13 - 15 m donde disminuye la salinidad y entre los 18 - 24 m con aumento en la salinidad. La estación 16 presenta un rango de salinidad de 30,5 - 31,7 PSU, con una haloclina entre los 17 y 21 m y un gradiente medio para este tramo de $0,14$



PSU*m⁻¹. Las demás estaciones no presentan estratificación salina y se encuentran en un rango de salinidad de 31,7 – 32,5 PSU.

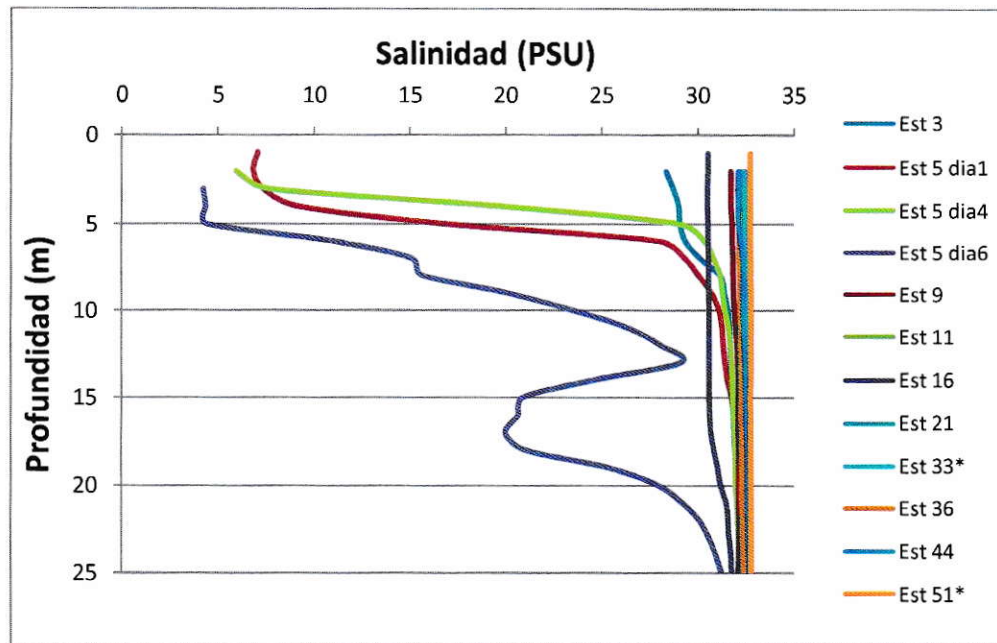


Figura 3. Perfiles verticales de salinidad (PSU) para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH. * Estos son un promedio para los tres días muestreados en estas dos estaciones de procesos.

3.1.3. Oxígeno disuelto

Los valores de oxígeno disuelto fluctuaron entre los 5,50 (ml*L⁻¹) y los 7,70 (ml*L⁻¹). La estación 11 muestra los menores valores en promedio 5 (ml*L⁻¹), sin estratificación en la columna de agua. Las estaciones 3, 5 y 16 muestran los mayores valores, sin embargo para la estación 3 esto solamente es válido cerca de la superficie, puesto que bajo los 8 m, la cantidad de oxígeno disuelto descende paulatinamente, hasta alcanzar uno de los menores valores registrados 5,30 (ml*L⁻¹) a los 25 m. La estación 3 presenta una oxiclina, la que se ubica entre los 8 y 18 m y tiene un gradiente medio de 0,16 (ml*L⁻¹*m⁻¹). La estación 5 día 1 muestra una

marcada oxiclina desde los 5 m donde se observa el mayor valor registrado ($9,20 \text{ ml}\cdot\text{L}^{-1}$) hasta los 17 m $5,10 \text{ ml}\cdot\text{L}^{-1}$ con un gradiente de $0,34 \text{ ml}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{m}^{-1}$. La estación 5 días 4 y 6 muestran perfiles similares, donde la concentración de oxígeno disuelto es alta cerca de la superficie y con una disminución paulatina en profundidad.

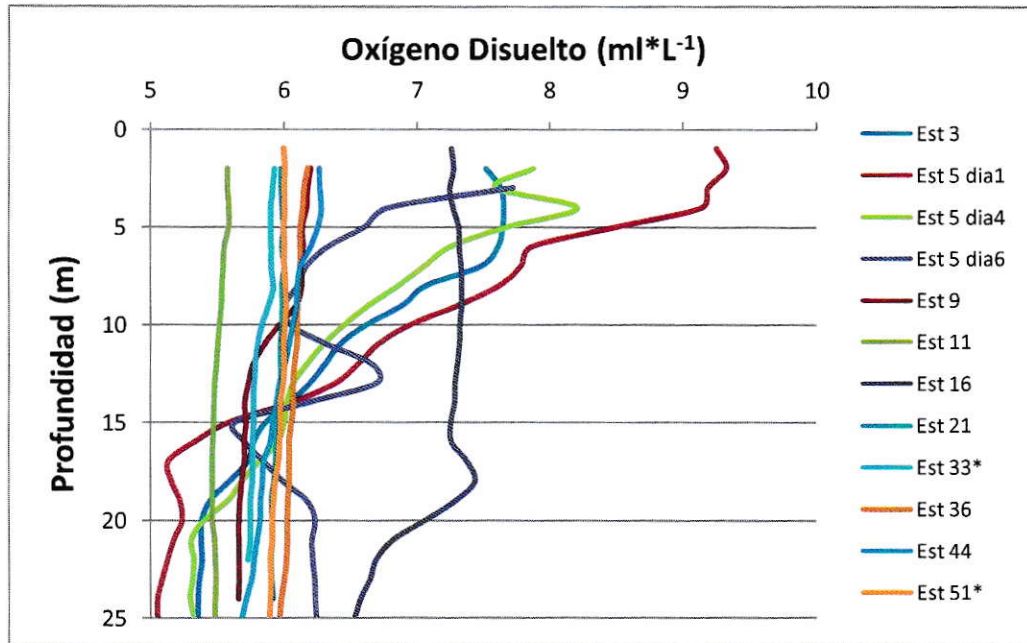


Figura 4. Perfiles verticales de oxígeno disuelto ($\text{ml}\cdot\text{L}^{-1}$) para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH. * Estos son un promedio para los tres días muestreados en estas dos estaciones de procesos.

3.1.4. Nitrato

En las distintas estaciones, las concentraciones de nitrato fluctuaron entre $0,47$ y $19,36 \mu\text{M}$ (Fig. 5). La estación 16, en el golfo de Ancud, presenta en general los mínimos y particularmente entre 0 y 10 m. En el seno de Reloncaví (estación 3), también hay una disminución considerable de nitrato los primeros 10 metros de la columna de agua, desde $12,50$ hasta $0,50 \mu\text{M}$ en superficie. La estación 5, en los tres días muestreados, muestra una marcada disminución en la concentración de

nitrato los 10 primeros metros. La estación 11, golfo de Ancud, tiene los máximos valores de nitrato cerca de la superficie, los que fluctúan entre 17,00 y 19,36 μM . Las demás estaciones de la transecta tienen rango de 8,00 – 16,00 μM .

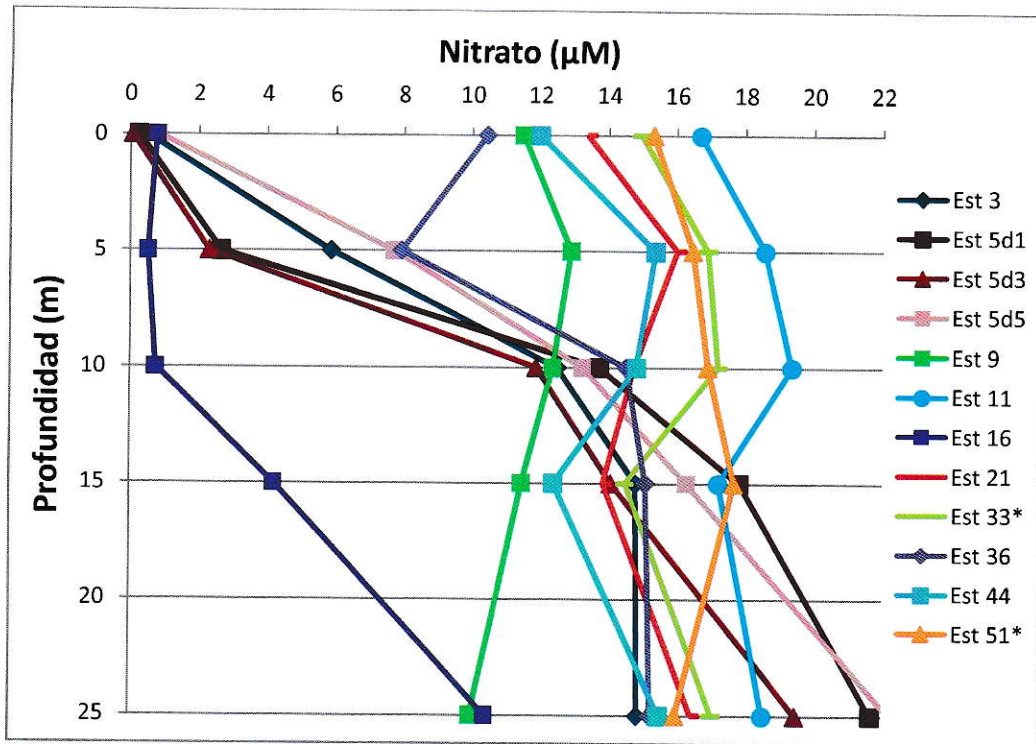


Figura 5. Perfiles verticales de la concentración de nitrato para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH. * Estos son un promedio para los tres días muestreados en estas dos estaciones de procesos.

3.1.5. Fosfato

De forma similar al perfil vertical de nitrato, las concentraciones de fosfato presentan sus mínimos en la estación 16, donde se distribuyen de manera homogénea hasta los 10 m fluctuando entre 0,30 y 0,40 μM , bajo los 10 m la concentración de fosfato aumenta sostenidamente con la profundidad. La estación 3 muestra una disminución progresiva en los 10 primeros metros, desde el mínimo de 0,20 μM en superficie hasta 1,60 μM a los 25 m. La estación 5 días 1 y 4

muestra un perfil similar a la estación 3 con un descenso paulatino desde la superficie 0,20 μM hasta 1,50 μM a los 25 m. La estación 11, al igual que con el nitrato, presenta los mayores valores en la concentración de fosfato, sin mostrar estratificación y su rango es de 1,72 - 1,88 μM . Las restantes estaciones se agrupan con un rango entre 0,90 y 1,25 μM y sin mostrar estratificación.

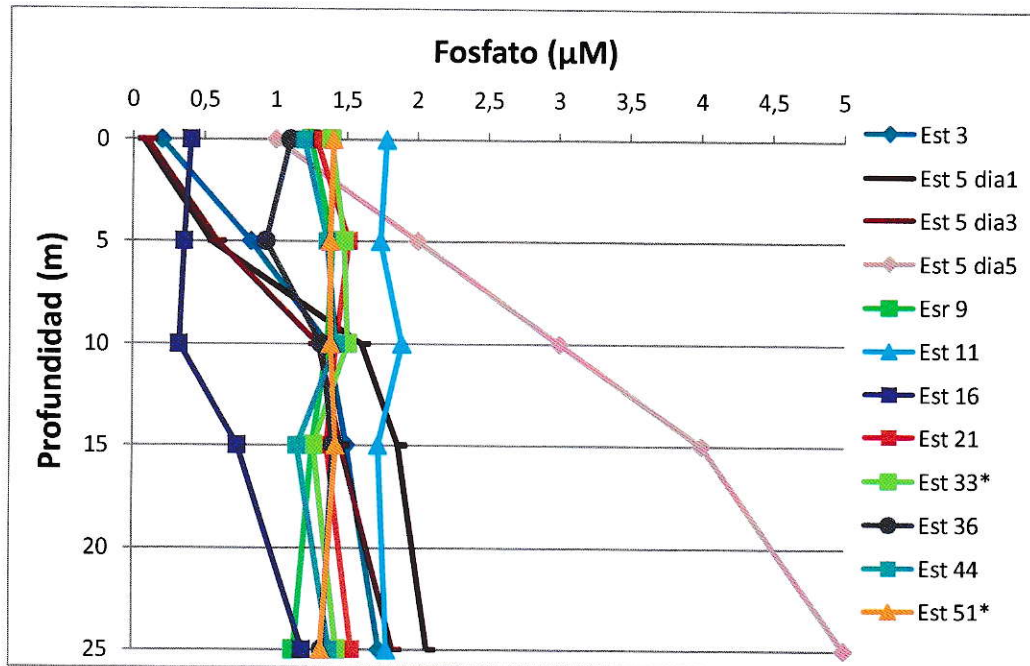


Figura 6. Perfiles verticales de la concentración de fosfato para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH. * Valores promedio para los tres días muestreados en estas dos estaciones de procesos.

3.2. Variables biológicas

3.2.1. Concentración de partículas virales

Las concentraciones de partículas virales (Fig. 7), tienen un rango de $7,50 \cdot 10^5$ – $2,19 \cdot 10^7$ virus $\cdot\text{ml}^{-1}$. Los máximos se encuentran en las estaciones 3, 5 y 16. La estación 3, ubicada en el seno de Reloncaví, muestra concentraciones altas entre

superficie y 5 m, con un máximo de $2,16 \cdot 10^7$ virus* ml^{-1} a 0 m. El promedio de los valores registrado para los tres días de muestreo en la estación 5, estero de Reloncaví, determina que la concentración de partículas virales presenta su máximo a los 5 m de profundidad y en general muestra un perfil similar a la estación 16. La estación 16, del golfo de Ancud, tiene concentraciones mayores a $1,00 \cdot 10^7$ virus* ml^{-1} desde la superficie hasta los 13 m, alcanzando sus máximos valores entre los 0 y 10 m, los que llegan a $2,19 \cdot 10^7$ virus* ml^{-1} a los 5 m. Las restantes estaciones de la transecta, exceptuando la estación 51, ubicada en el norte del golfo Corcovado, que tiene un mínimo en la concentración viral de $7,50 \cdot 10^5$ virus* ml^{-1} y un pico de $8,30 \cdot 10^7$ virus* ml^{-1} , presentan concentraciones virales que fluctúan entre $8,50 \cdot 10^5$ y $7,00 \cdot 10^6$ virus* ml^{-1} sin evidenciar una estratificación vertical.

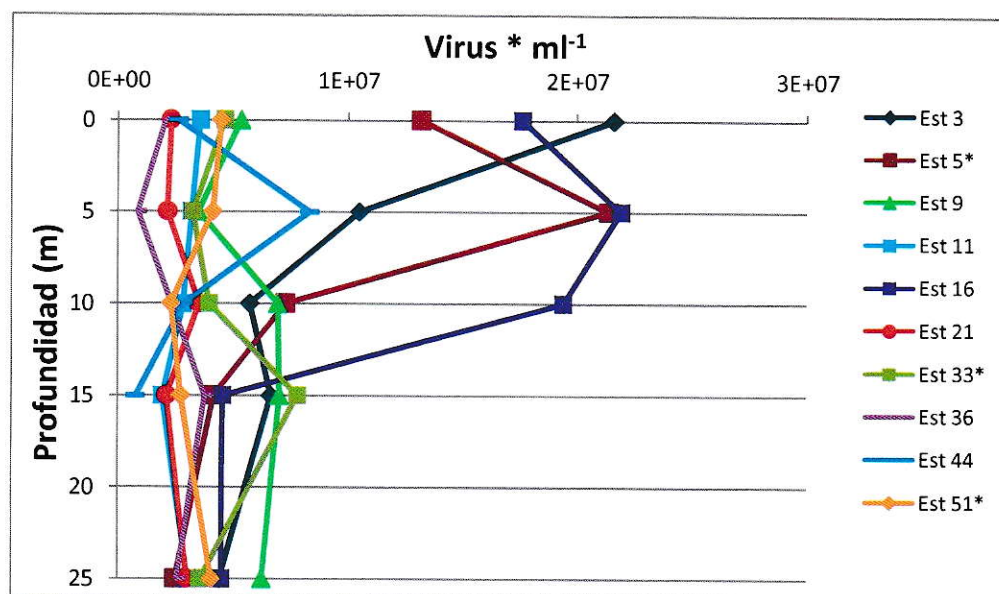


Figura 7. Perfiles verticales de la concentración de partículas virales para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH. * Valores promedio para los tres días muestreados en esas tres estaciones de procesos.

Al integrar las concentraciones virales entre los 0 y 15 m de las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 y ordenarlas latitudinalmente de norte a sur (Fig. 8), se aprecia, que algunas de las estaciones de la zona norte (estaciones 3 y 16) presentan las mayores abundancias de partículas virales ($\geq 3,00 \cdot 10^7$ virus*cm²) y estas se encuentran en el seno de Reloncaví y golfo de Ancud respectivamente.

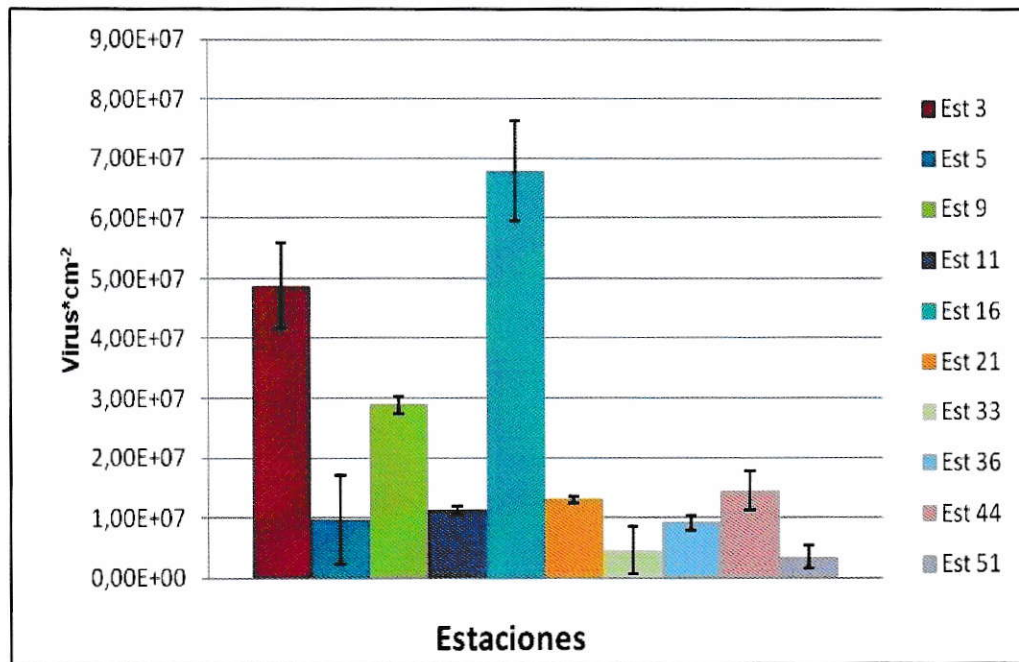


Figura 8. Abundancias virales integradas entre los 0 - 15 m y desviación estándar en las estaciones muestreadas en el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.2.2. Concentración de bacterias heterótrofas

Los perfiles verticales de las concentraciones de bacterias heterótrofas (Fig. 9) tienen un rango de $3,0 \cdot 10^5 - 5,7 \cdot 10^6$ bacterias*ml⁻¹. Las estaciones 3 y 16 presentan los mayores valores de bacterias heterótrofas en los 15 primeros metros de la columna de agua, sin embargo, bajo esta profundidad las abundancias disminuyen a niveles similares del resto de las estaciones, las cuales tienen perfiles

que fluctúan entre $6,6 \cdot 10^5$ y $1,9 \cdot 10^6$ bacterias* ml^{-1} sin mostrar estratificación en la columna de agua a excepción de la estación 44, ubicada al sur del golfo Corcovado, que tiene concentraciones bacterianas que disminuyen considerablemente bajo los 10 m.

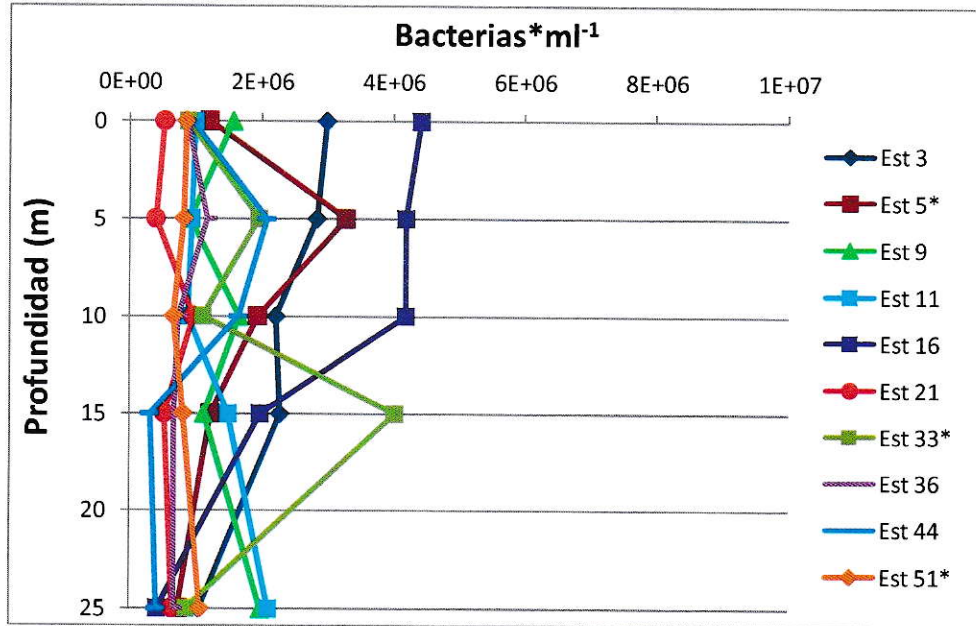


Figura 9. Perfiles verticales de la concentración de bacterias heterótrofas para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH. * Valores promedio para los tres días muestreados en esas tres estaciones de procesos.

Los valores integrados de abundancias de bacterias de 0 a 15 m y ordenados latitudinalmente de norte a sur (Fig. 10), evidencian la existencia de parches con mayores abundancias en la zona al norte de las islas Desertores, al igual como sucede con los valores integrados en las concentraciones virales de 0 -15 m, donde ciertas estaciones de la zona norte (estaciones 3 a 21) presentan mayores abundancias de bacterias heterótrofas, particularmente la estación 16, del golfo de Ancud, que registra los mayores valores integrados, seguida por la estación 3, del seno de Reloncaví.

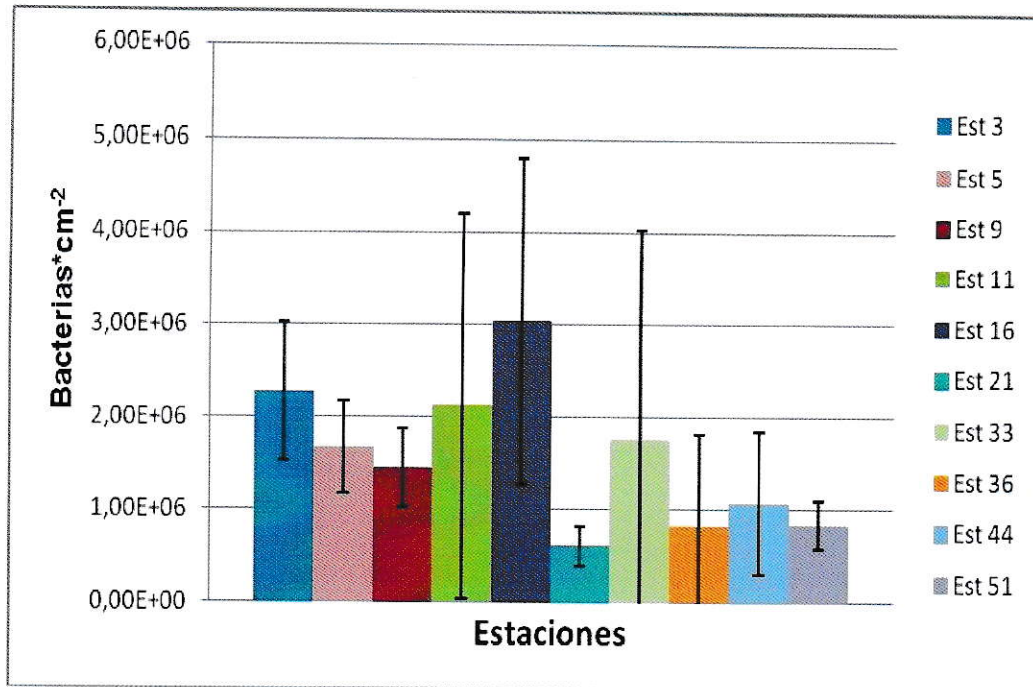


Figura 10. Abundancias bacterianas integradas de 0 - 15 m y desviación estándar en las estaciones muestreadas en el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.2.3. Clorofila a total y feo-pigmentos totales (Cl-a + FT)

La concentración de pigmentos totales correspondientes a las concentraciones de Cl-a total más la concentración de feo-pigmentos totales (Cl-a + FT) se muestra en la figura 11. los perfiles verticales de Cl-a + FT presentan un rango de 2,00 – 9,04 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. La estación 16 tiene los mayores valores con un promedio de 6,30 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y un máximo de 9,04 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a los 15 metros de profundidad. La estación 3 muestra valores altos relativos a las otras estaciones hasta los 10 m de profundidad, bajo los cuales decrece la magnitud hasta los valores medios de las otras estaciones. El promedio en la concentración de Cl-a + FT de la estación 5* muestra una leve estratificación, con valores que se pueden considerar altos hasta los 10 m de profundidad. Las restantes estaciones (9, 11, 21, 33*, 36, 44 y 51*) no muestran estratificación en la columna de agua, manteniendo su valor medio

homogéneamente desde los 0 hasta los 25 m en un rango de 1,74 – 3,42 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. La estación 51* presentó los mínimos de concentración de Cl-a + FT de todas las estaciones muestreadas durante el crucero.

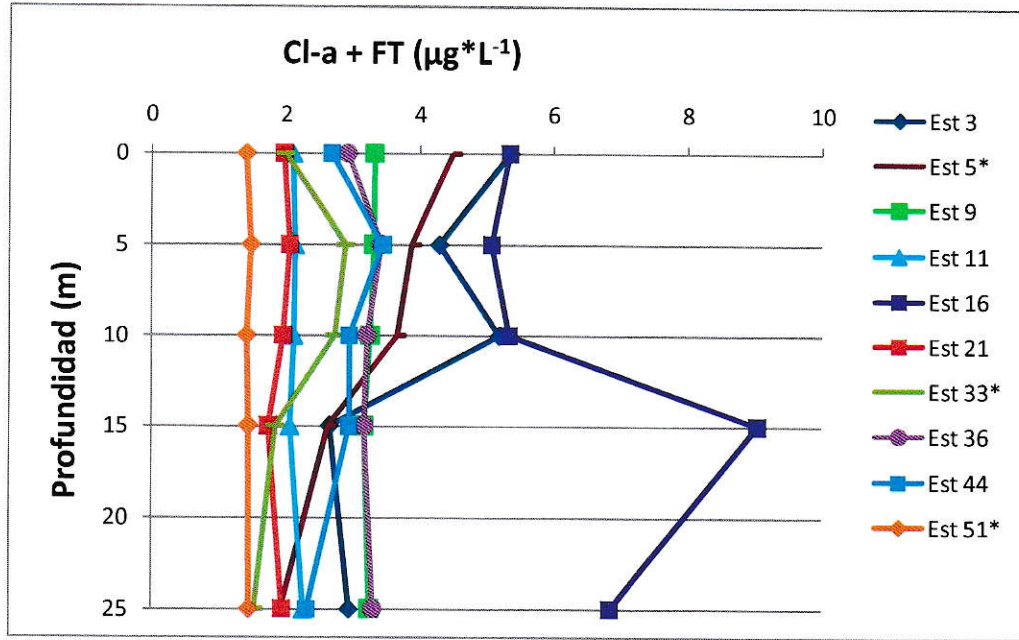


Figura 11. Perfiles verticales de las concentraciones de Cl-a + FT para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH. * Valores promedio para los tres días muestreados en esas tres estaciones.

3.2.4. Relaciones entre las concentraciones de virus y bacterias

Para comparar las concentraciones de virus y bacterias en las estaciones muestreadas durante el crucero a lo largo de la transecta, se utilizaron los valores integrados de concentraciones de virus y bacterias desde 0 a 15 m y se realizó una regresión lineal (Fig. 12). Se observa una alta correlación entre ambas variables con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,87. Los valores de concentraciones de virus y bacterias integrados se resumen en el Anexo 3 (Tabla 1).

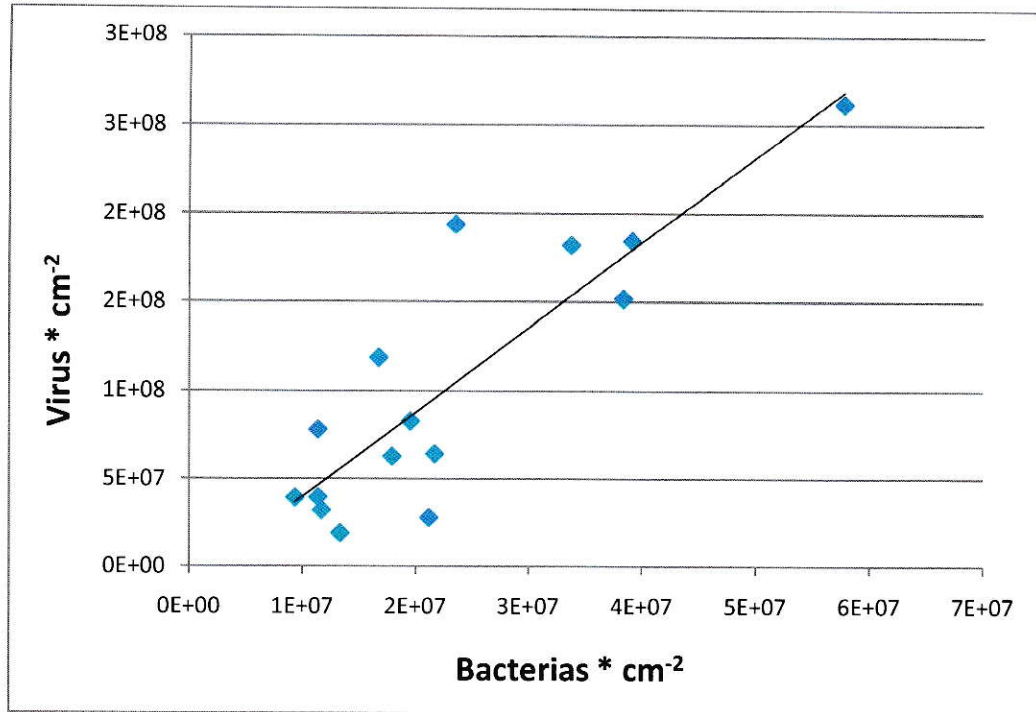


Figura 12. Regresión lineal entre concentraciones de bacterias y virus integradas desde 0 a 15 m para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH

La otra forma en que se relacionaron las concentraciones de virus y bacterias fue a través del cálculo del índice concentración de virus / concentración de bacterias ($\text{virus} \cdot \text{bacterias}^{-1}$), que se resume en el Anexo 1. El rango para los valores de dicho índice es de 0,11– 20,20 (v/b), encontrándose el mínimo en la estación 33 (islas Desertores) día 5 a los 15 m de profundidad y el máximo se dio en la estación 5 (seno de Reloncaví) día 4 en superficie.

Se realizó el mismo procedimiento de integración de datos entre CI-a + FT y partículas virales (Fig. 13), la correlación resultó ser significativa (correlación de Pearson = 0,7).

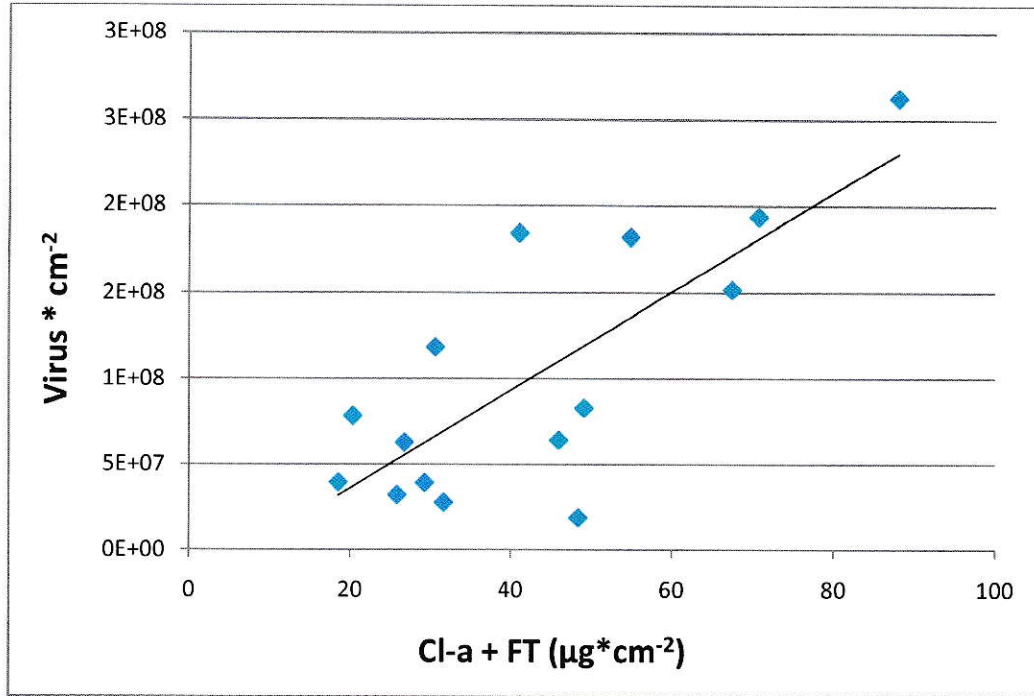


Figura 13. Regresión lineal entre concentraciones virus integradas desde 0 a 15 m, y concentraciones de Cl-a + FT integradas desde 0 a 15 m para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH

3.2.5. Relaciones entre salinidad y concentración de partículas virales.

Al analizar salinidad versus las concentraciones de virus integradas de 0 a 15 m, (Fig.14), hay cinco puntos que tienen salinidades $\leq 30,5$ PSU y abundancias virales integradas $\geq 1,50 \cdot 10^8$ virus $\cdot\text{cm}^{-2}$. Estos puntos corresponden (Anexo 3) al total de muestras recolectadas en las estaciones 3, 5 y 16. Al agrupar estas estaciones y realizar un análisis de varianza de un factor con permutaciones, se demuestra que las estaciones con menores salinidades presentan las mayores concentraciones virales, diferenciándose significativamente del resto de las estaciones.

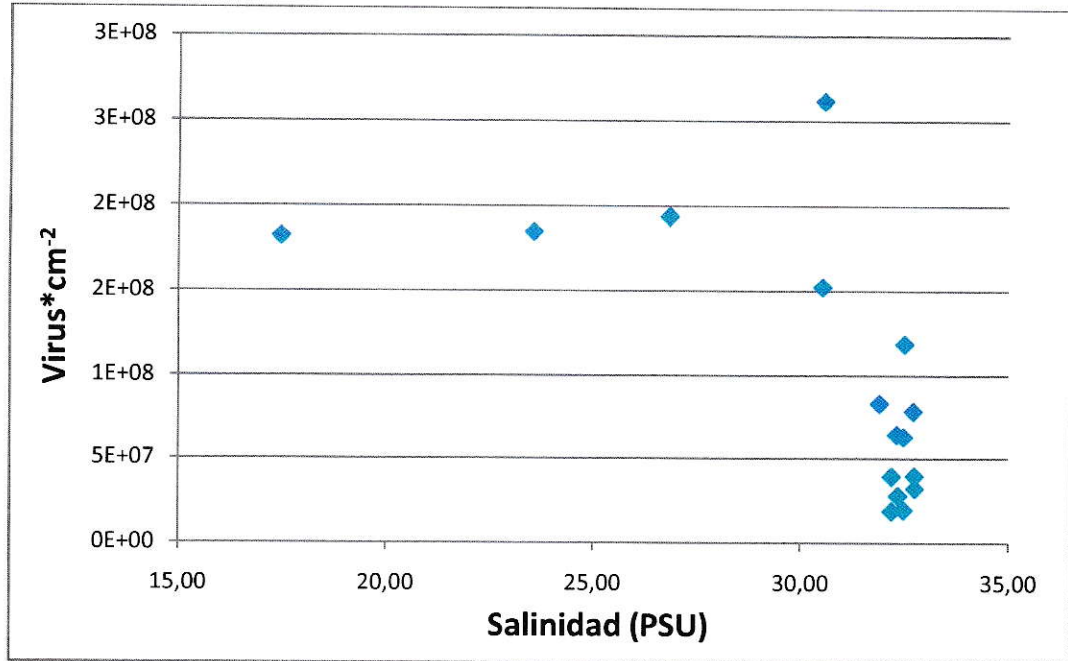


Figura 14. Salinidad versus partículas virales integradas entre 0 y 15 m para las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.2.6. Agrupación de estaciones

La agrupación de estaciones para determinar diferencias en las concentraciones virales en distintas zonas, se realizó mediante la aplicación de análisis de componentes principales (ACP) para determinar la proporción de varianza explicada por cada variable y el análisis de conglomerados para establecer las agrupaciones de las distintas estaciones en función de las concentraciones de partículas virales.

Tabla 1. Análisis de componentes principales para las variables medidas en las estaciones muestreadas durante el crucero Cimar -17 fiordos.

	PC1	PC2	PC3
Valor Propio	2,27	1,16	1,05
Proporción varianza	0,57	0,14	0,12
Proporción acumulada	0,57	0,72	0,84

Variable	PC1	PC2	PC3
Bacteria		-0,41	0,8
Temperatura	-0,35	-0,37	
Fosfato	0,38		
PSU	0,32	-0,41	
Oxigeno	-0,39		
Silicato		0,65	
Cl-a + FT	-0,35		-0,39
Virus	-0,34		
Nitrato	0,41		

El ACP muestra que los tres primeros ejes explican un 84% de la varianza total. Al realizar el análisis de conglomerados (Fig. 15), se observa que se forman dos grupos.

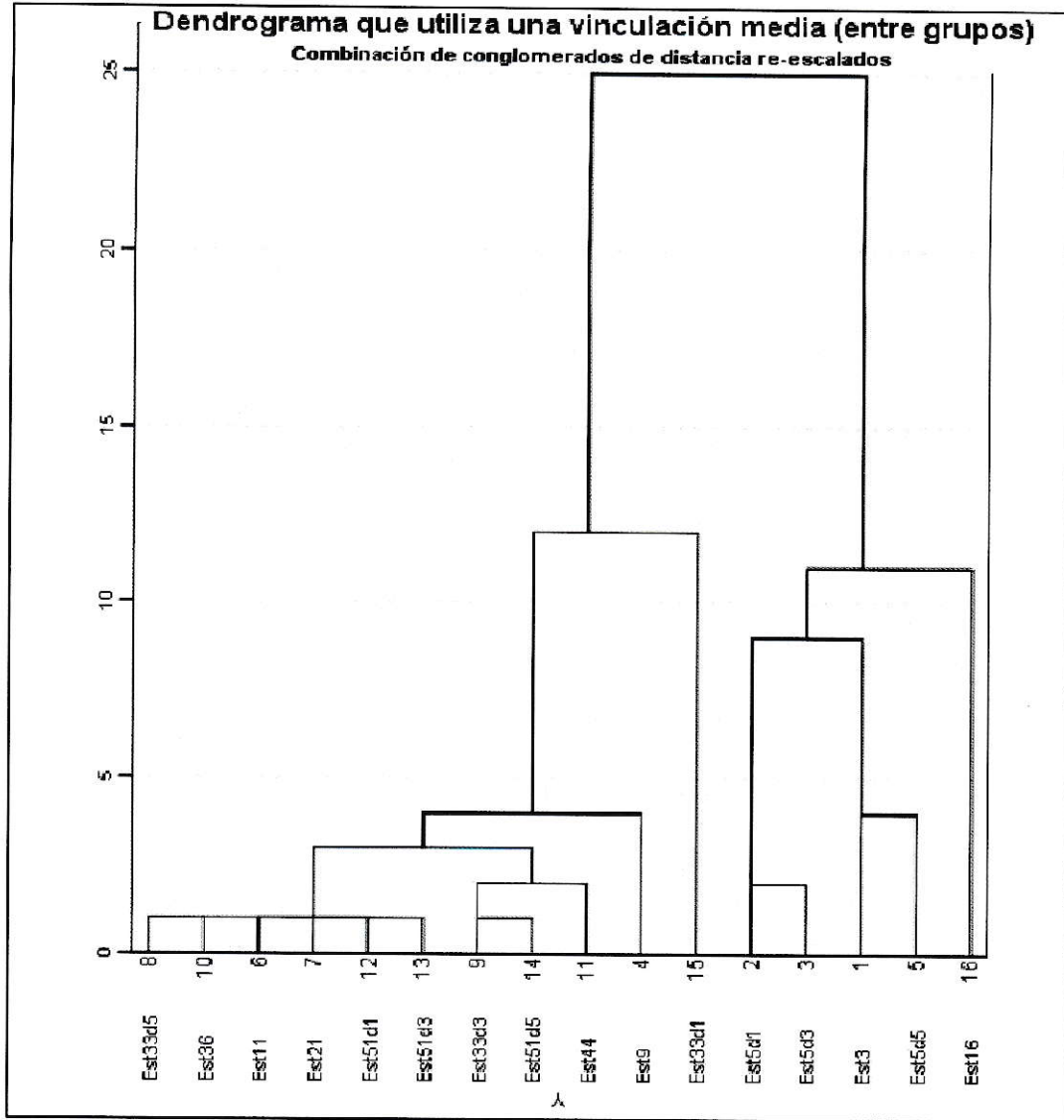


Figura 15. Conglomerado de las estaciones muestreadas en el cruceo Cimar fiordos 17, en función de las concentraciones virales encontradas en cada estación.

Tabla 2. Grupos de estaciones determinados mediante análisis de conglomerados.

Grupo	Estaciones
I	3 - 5 - 16
II	9 - 11 - 21 - 33 - 36 - 44 - 51

El ANDEVA, de un factor, indica que existen diferencias significativas en la distribución de las partículas virales entre los grupos I y II.

Tabla 3. Andeva de un factor para los grupos de estaciones determinados en la Tabla 2.

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen variaciones	Suma cuadrados	Grados libertad	Promedio cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico F
Entre grupos	9,66E+14	1	9,66E+14	43,73	1,13E-08	4
Dentro de los grupos	1,32E+15	60	2,21E+13			
Total	2,29E+15	61				

3.2.7. Comparación de estaciones de los dos grupos contrastantes (estaciones 3 y 21).

Las figuras 16 y 17 muestran de forma simultánea la distribución en la columna de agua de las variables biológicas, fisicoquímicas y concentración de nutrientes. La estación 3, como representativa del grupo I (Fig. 16), contrasta con la estación 21 (Fig. 17) por presentar concentraciones de los parámetros biológicos elevadas y concentración de nutrientes muy baja en los 10 primeros metros, evidenciando la abundancia del fitoplancton. Al contrario, la estación 21, como representativa del grupo II, no muestra estratificación en ningún parámetro fisicoquímico ni en concentración de nutrientes, lo que estaría incidiendo en la baja concentración de virus, bacterias y Cl-a + FT.

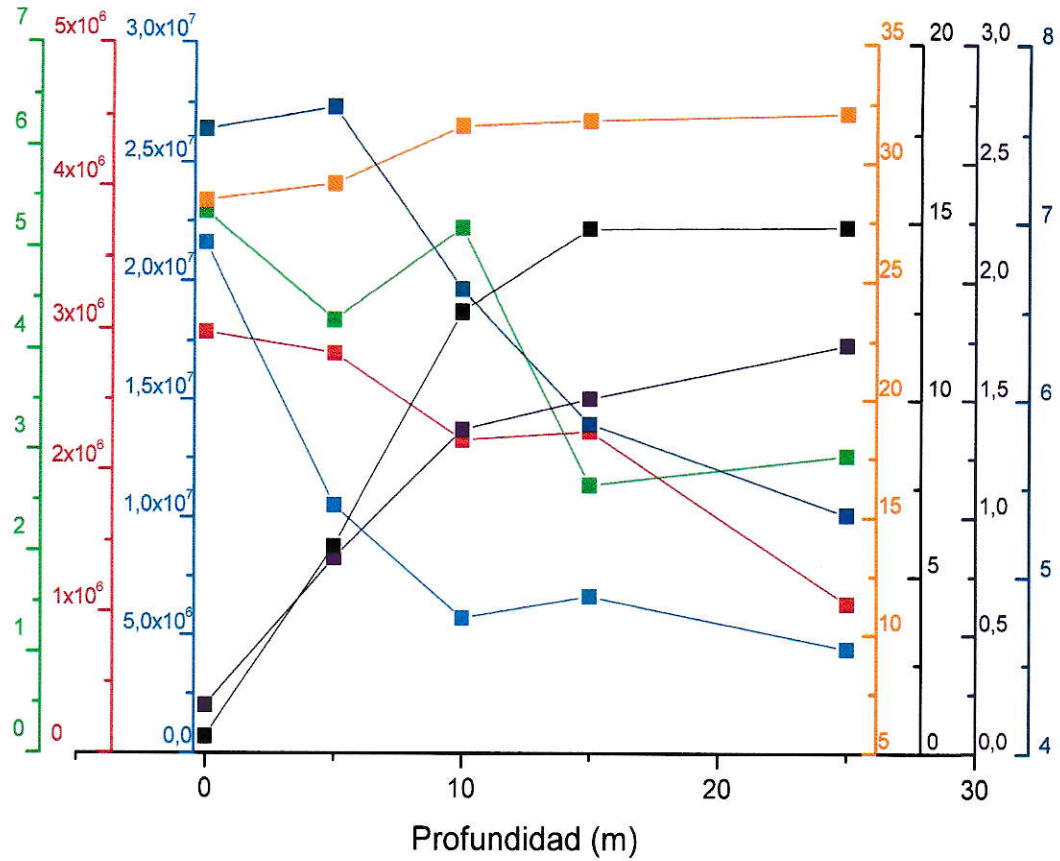


Figura 16. Distribución en la columna de agua de parámetros biológicos y fisicoquímicos en la estación 3 (seno de Reloncaví). Verde, Cl-a + FT ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); rojo, bacterias (células·ml⁻¹); azul, virus (virus·ml⁻¹); amarillo, salinidad (PSU); negro, nitrato (μM); morado, fosfato (μM); azul oscuro, oxígeno disuelto (ml·L⁻¹).

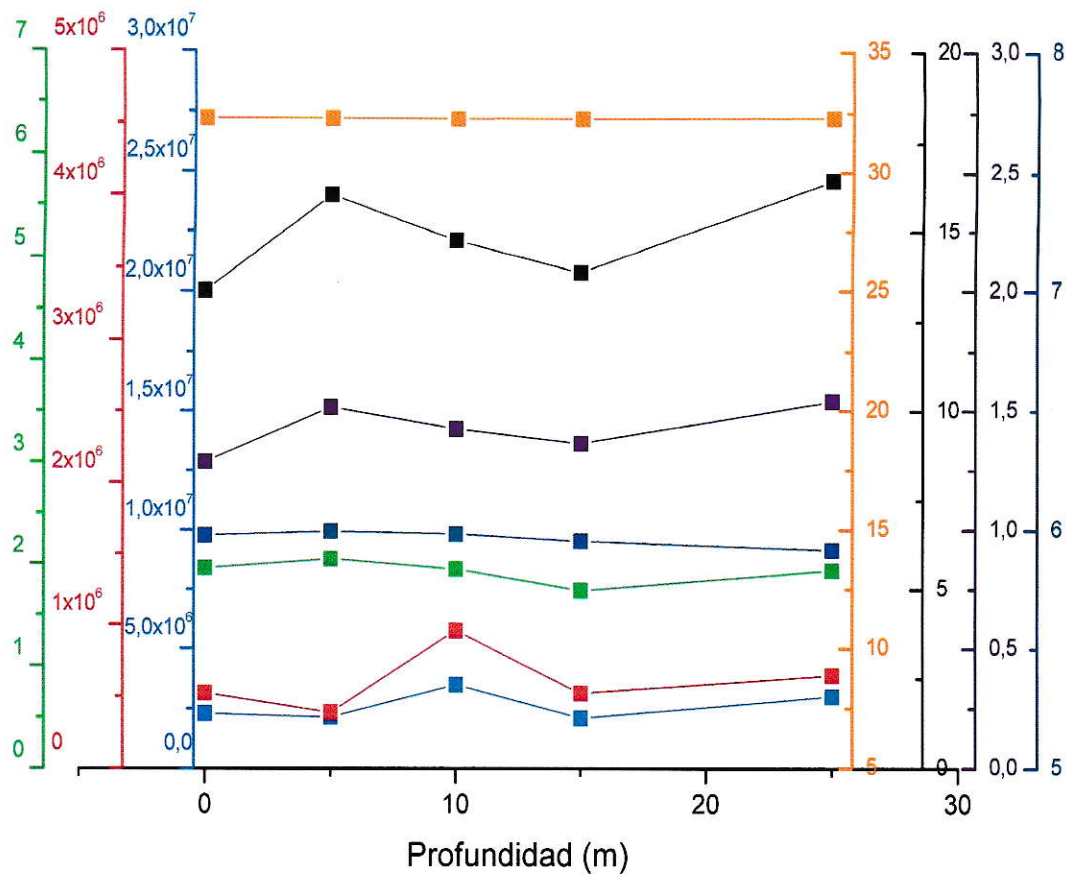


Figura 17. Distribución en la columna de agua de parámetros biológicos y fisicoquímicos en la estación 21 (Golfo de Ancud). Verde, Cl-a + FT ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); rojo, bacterias ($\text{células}\cdot\text{ml}^{-1}$); azul, virus ($\text{virus}\cdot\text{ml}^{-1}$); amarillo, salinidad (PSU); negro, nitrato (μM); morado, fosfato (μM); azul oscuro, oxígeno disuelto ($\text{ml}\cdot\text{L}^{-1}$).

3.3. Variables físicas y químicas en las estaciones de procesos; distribución temporal.

3.3.1. Estación 5; Estero de Reloncaví.

3.3.1.1. Temperatura

La estación 5 (Fig. 18), tiene un rango de temperatura de 10,4 °C – 11,8 °C y muestra una débil termoclina entre los 2 y los 7 metros, los tres días muestreados, la temperatura se mantiene sobre los 11 °C desde los 0 hasta los 10 m, desde los cuales desciende paulatinamente. Es la única estación de procesos muestreada durante el crucero que presenta estratificación de temperatura en la columna de agua.

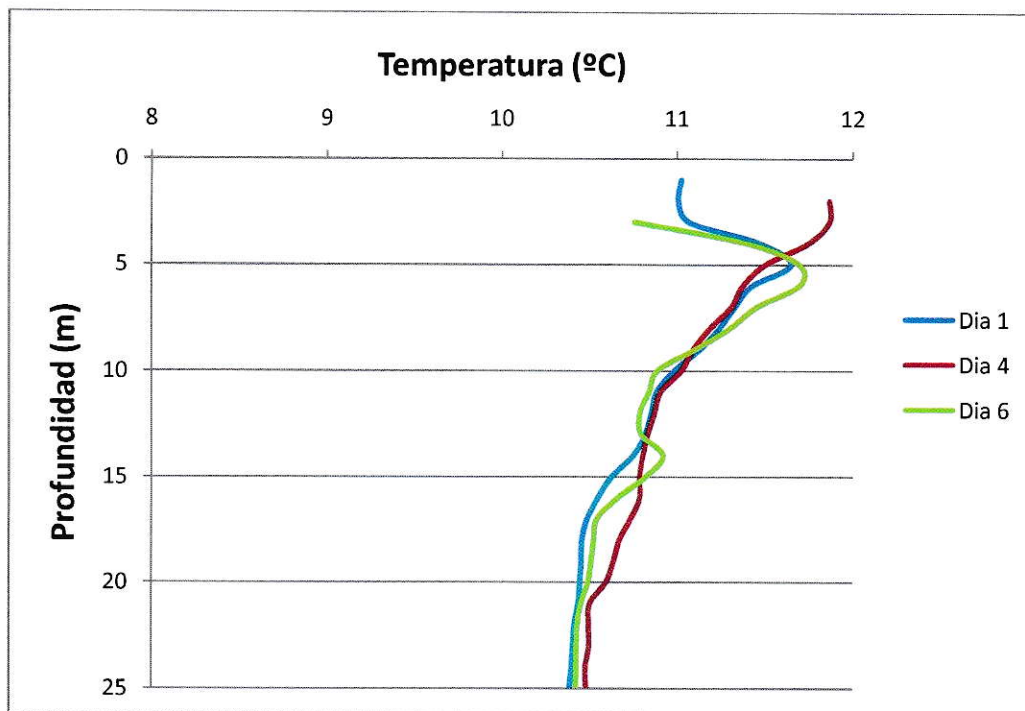


Figura 18. Perfiles de temperatura (°C) para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.3.1.2. Salinidad

La estación 5 (Fig. 19), muestra los días 1 y 4 una pronunciada haloclina entre los 2 m y 7 m con un gradiente medio de $5,0 \text{ PSU} \cdot \text{m}^{-1}$, bajo los 7 m el agua se mantiene bien mezclada. El día 6 la haloclina desciende en la columna de agua y se hace menos pronunciada, ubicándose entre los 5 m y los 13 m con un gradiente medio de $2,9 \text{ PSU} \cdot \text{m}^{-1}$, además se distingue estratificación el día cinco entre los 13 y los 20 m.

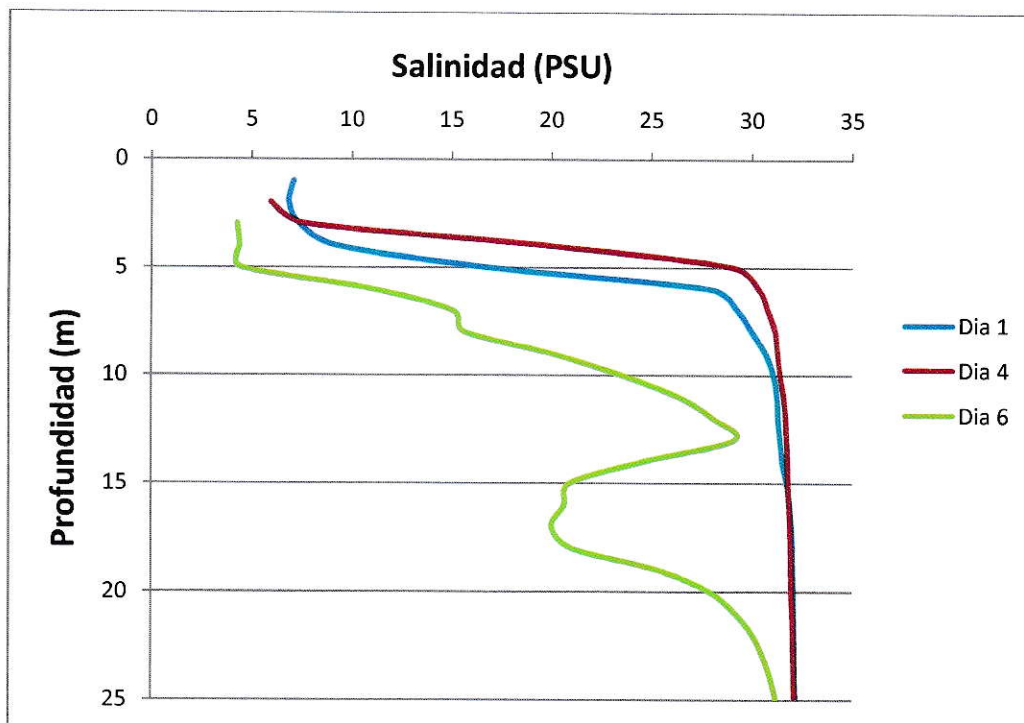


Figura 19. Perfiles de salinidad (PSU) para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.3.1.3. Oxígeno disuelto

La estación 5 presenta alta variabilidad en la columna de agua en sus contenidos de oxígeno disuelto (Fig. 20), el rango entre el día 1 y el día 6 fluctúa entre $5,0 \text{ m}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ y $9,4 \text{ m}^3 \cdot \text{L}^{-1}$. El día 1 presenta un oxiclina entre los 4 m y los 17 m con un gradiente

medio de $0,5 \text{ ml}^* \text{L}^{-1} * \text{m}^{-1}$. El día 4 tiene una oxiclina entre los 3 m y los 20 m con un gradiente medio de $0,4 \text{ ml}^* \text{L}^{-1} * \text{m}^{-1}$. El día 6 presenta una oxiclina entre los metros 3 y 10 con un gradiente medio de $0,2 \text{ ml}^* \text{L}^{-1} * \text{m}^{-1}$.

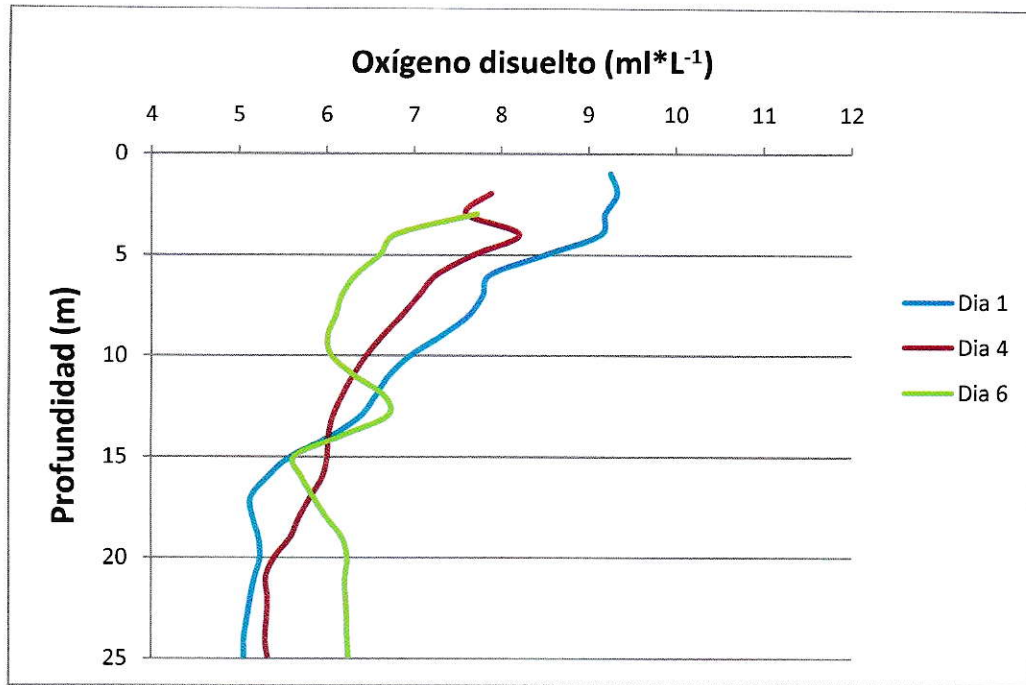


Figura 20. Perfiles de oxígeno disuelto ($\text{ml}^* \text{L}^{-1}$) para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.3.1.4. Nitrato

Los perfiles de distribución vertical de nitrato (Fig. 21), a través de los días muestreados no cambian considerablemente. Los días 1 y 4 muestran muy bajos niveles de nutrientes entre los 0 y 5 m y una disminución progresiva desde los 0 hasta los 25 m. El día 6, el nitrato aumenta su concentración los 10 primeros metros en comparación a los días anteriores, pero aun así los primeros metros de la columna de agua presentan un “agotamiento” de este nutriente.

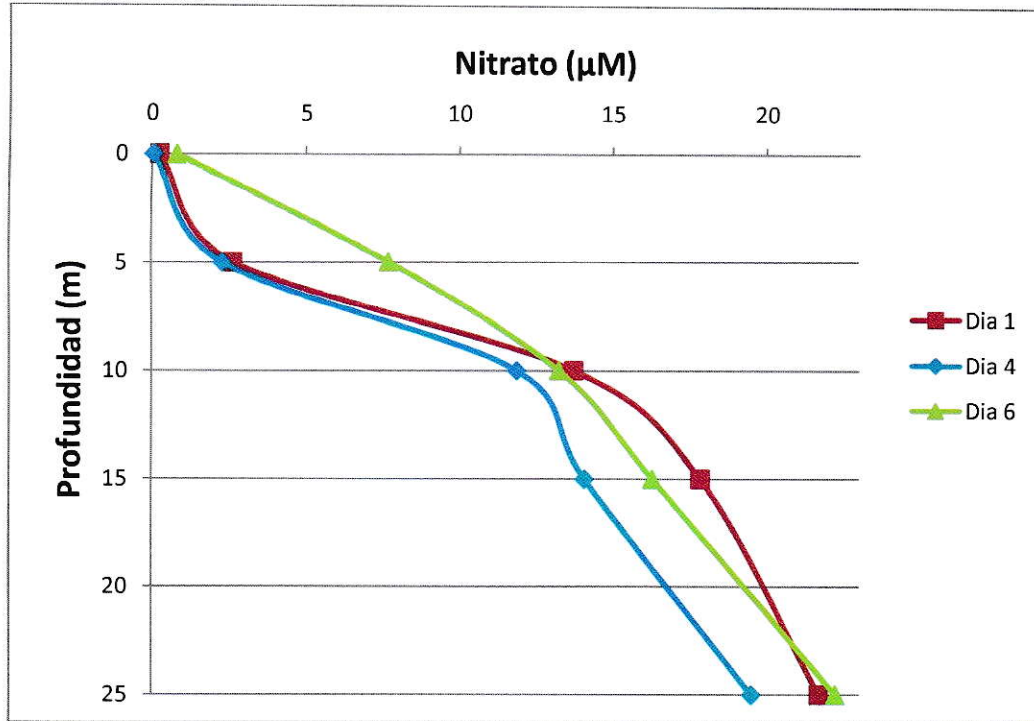


Figura 21. Perfiles de nitrato (μM) para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.3.1.5. Fosfato

Los perfiles de fosfato (Fig. 22), muestran un patrón muy parecido al observado en la distribución de nitrato, donde el día 6 presenta un aumento en comparación a los días 1 y 4, pero en general se observa una disminución de este nutriente los 10 primeros metros de la columna de agua, especialmente en superficie, donde llega a valores cercanos a cero.

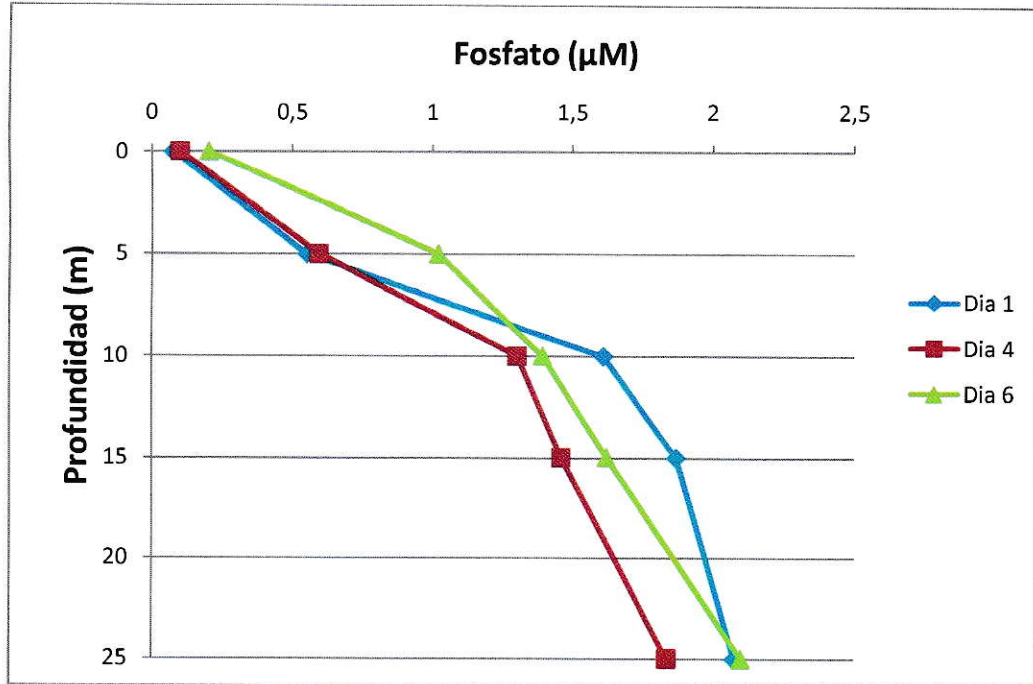


Figura 22. Perfiles de fosfato (μM) para los tres días muestreados en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.3.2. Estaciones de procesos 33 y 51

Las variables físicas y químicas en estas dos estaciones no presentaron variaciones durante los días en que transcurrieron los muestreos, mostrando una columna de agua completamente mezclada, sin estratificación. Así, como se muestra en el anexo 4, para la estación 33 la temperatura se mantuvo a escala de días y en la columna de agua homogéneamente entre 10,5 y 11 °C, la salinidad en 32,5 PSU y el oxígeno disuelto entre 5,5 y 6 $\text{ml}\cdot\text{L}^{-1}$.

Los nutrientes, nitrato y fosfato, también mantienen una distribución homogénea en el tiempo, el nitrato en la estación 33 osciló entre 16 y 18 μM en los 10 primeros metros. El fosfato para esta estación mantiene un perfil similar al del nitrato. La estación 51 (Apiao), tampoco muestra estratificación en las distribuciones verticales de nitrato y fosfato ni variaciones temporales considerables.

3.4. Variables biológicas para las estaciones de proceso.

3.4.1. Estación 5; estero de Reloncaví

3.4.1.1. Partículas virales

La distribución de partículas virales en la estación 5 (Fig. 23), alcanzan un máximo los 5 primeros metros de la columna de agua los tres días de la serie, con el máximo en los 5 m de $2,50 \times 10^7$ virus* ml^{-1} el día 4. Desde los 10 m hacia abajo, la concentración disminuye un orden de magnitud. El perfil de esta estación, no cambia considerablemente durante el periodo de muestreo y presenta una marcada estratificación en la columna de agua, de forma similar a las estaciones 3 y 16.

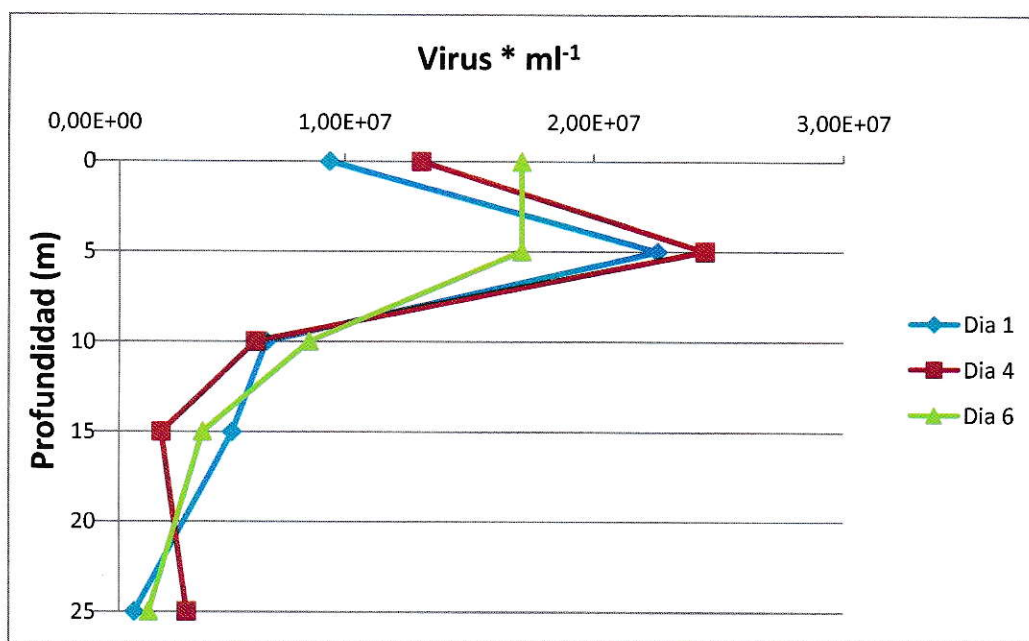


Figura 23. Perfil vertical de la distribución de partículas virales en el tiempo en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.4.1.2. Bacterias

La concentración de bacterias correspondientes a la estación 5 presenta un rango de $6,45 \times 10^5$ – $4,93 \times 10^5$ células* ml^{-1} con su máximo el día 1 a los 5 m, profundidad a

la cual ocurrieron los máximos durante los días de muestreo. En superficie y profundidades bajo los 10 metros, las concentraciones bacterianas se mantienen similares y en un estrecho rango.

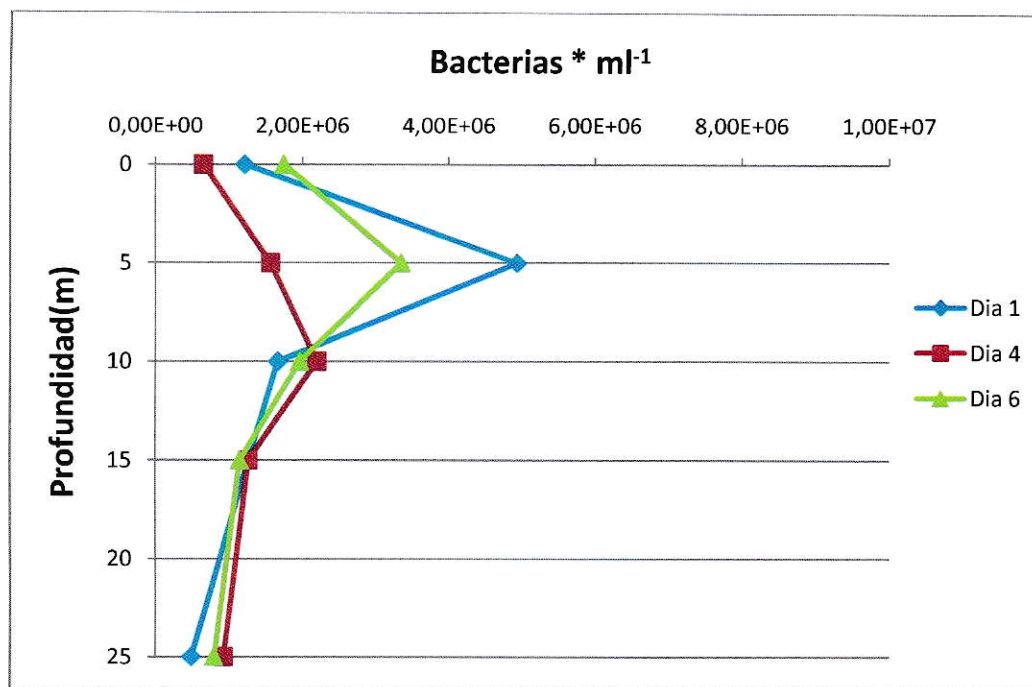


Figura 24. Perfil vertical de la distribución células bacterianas heterótrofas en la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.4.1.3. Clorofila a total y feo-pigmentos totales (Cl-a + FT)

Las concentraciones de Cl-a + FT, en la estación 5, fluctúan entre 2,0 y 6,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, siendo el estero de Reloncaví el sitio donde se detectó la segunda mayor concentración de Cl-a + FT, es decir, donde se encuentra la segunda mayor cantidad de biomasa fitoplanctónica, después de la estación 16 del golfo de Ancud.

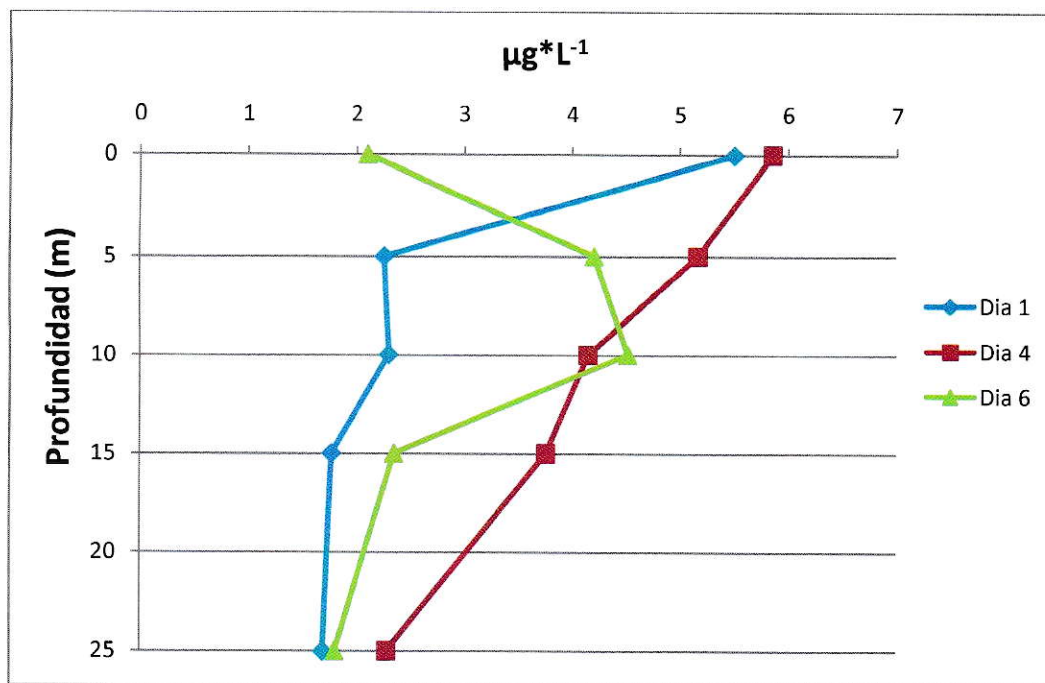


Figura 25. Perfiles verticales de la suma de concentraciones de Cl-a + FT para la estación 5, estero de Reloncaví, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.4.1.4. Relaciones entre variables biológicas y fisicoquímicas.

La figura 26 muestra de manera simultánea la distribución en la columna de agua tanto de variables biológicas (concentración de partículas virales, bacterias y Cl-a + FT) como fisicoquímicas en la estación 5. Los elevados valores en los parámetros biológicos son acompañados por el descenso de las concentraciones en nutrientes (fosfato y nitrato) y baja salinidad cerca de la superficie.



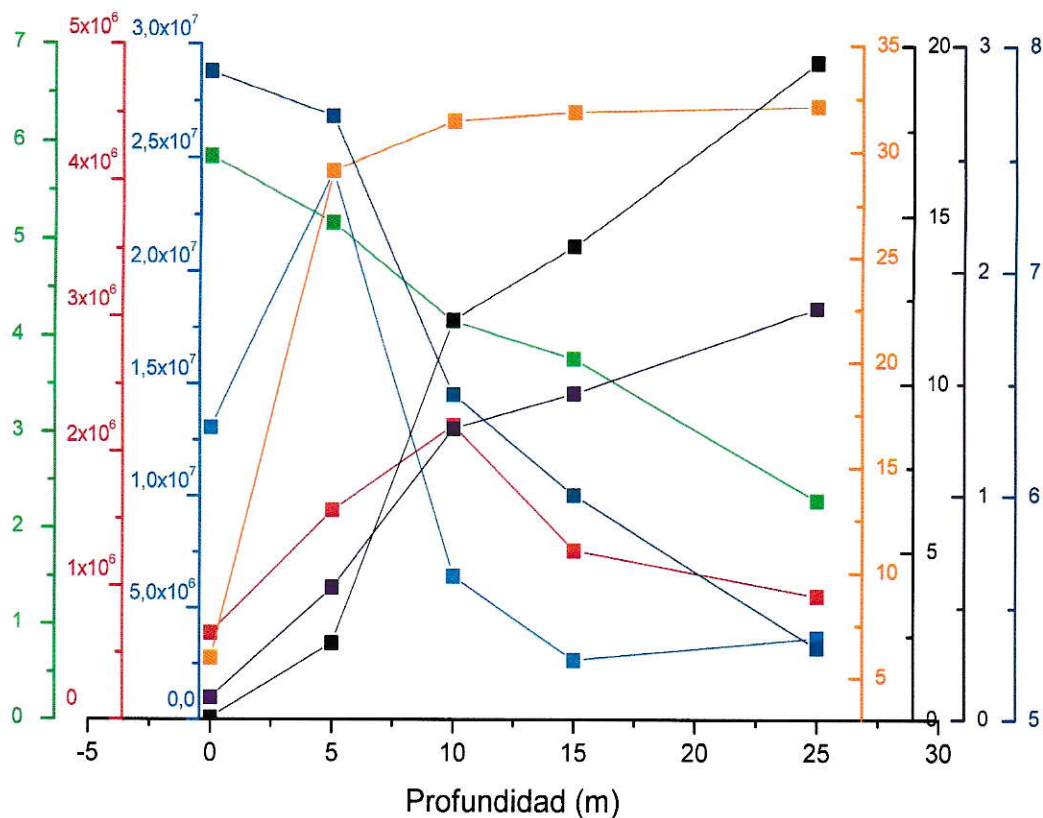


Figura 26. Distribución en la columna de agua de parámetros biológicos y fisicoquímicos en la estación 5 (estero de Reloncaví). Verde, Cl-a + FT ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$); rojo, bacterias ($\text{células}\cdot\text{ml}^{-1}$); azul, virus ($\text{virus}\cdot\text{ml}^{-1}$); amarillo, salinidad (PSU); negro, nitrato (μM); morado, fosfato (μM); azul oscuro, oxígeno disuelto ($\text{ml}\cdot\text{L}^{-1}$).

3.4.2. Estación 51; Apiao

3.4.2.1. Partículas virales

La distribución vertical de partículas virales en la estación 51 mostró un rango de $1,09\cdot 10^6 - 7,88\cdot 10^6$ $\text{virus}\cdot\text{ml}^{-1}$ (Fig. 27). El día 5 presenta la mayor variación en sentido vertical, alcanzando el valor máximo del rango a los 5 m. Los días 1 y 3 no muestran una estratificación en la columna de agua y las concentraciones oscilan entre $1,09\cdot 10^6$ y $5,80\cdot 10^6$ $\text{virus}\cdot\text{ml}^{-1}$.

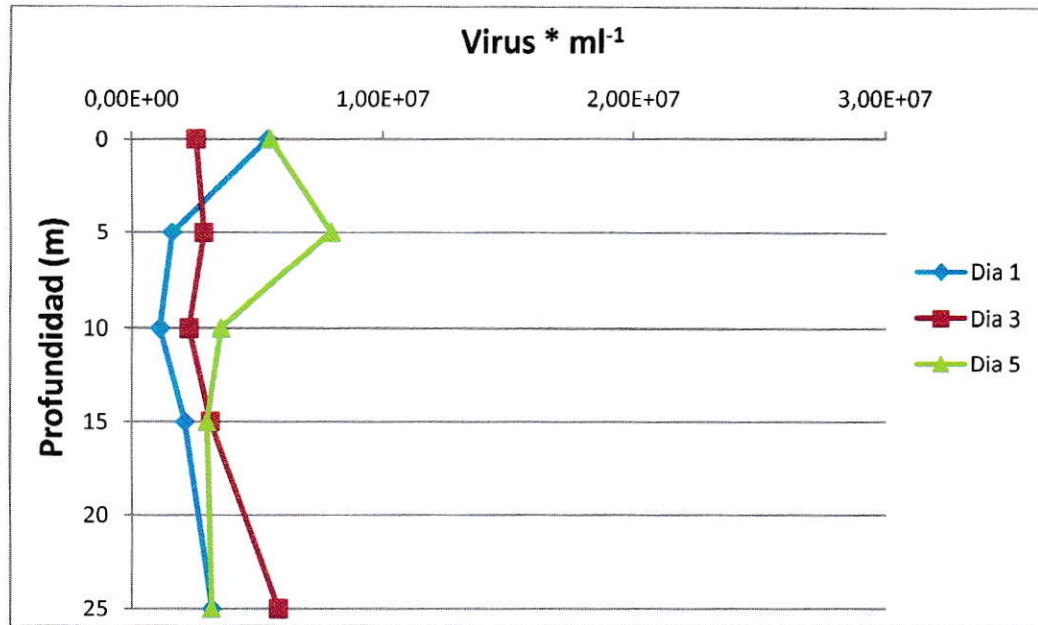


Figura 27. Perfil vertical de la distribución de partículas virales en la estación 51, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

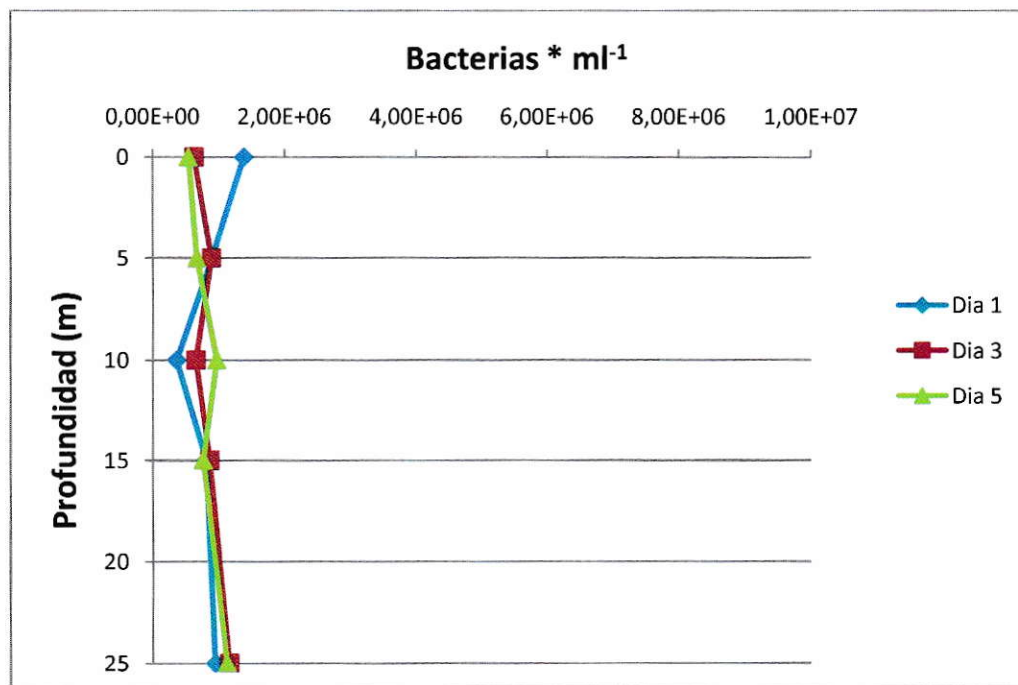


Figura 28. Perfil vertical de la distribución de bacterias heterótrofas en la estación 51, durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

3.4.2.2. Bacterias

La figura 28 muestra el perfil vertical de concentraciones de bacterianas heterótrofas para los 3 días muestreados en la estación 51, la distribución presenta un patrón uniforme a través de la columna de agua y el tiempo, las concentraciones fluctúan en un rango de $3,53 \cdot 10^5 - 1,38 \cdot 10^6$ células* ml^{-1} .

3.4.2.3. Clorofila a total y feo-pigmentos totales (Cl-a + FT)

Los patrones de distribución vertical y temporal de Cl-a + FT (Fig. 29), no muestran diferenciación, solo se distingue el día 1 por un valor levemente superior a los días siguientes, alrededor de $1,80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de Cl-a + FT. En general el rango de concentraciones de Cl-a + FT, muestran un rango de $1,16 - 1,92 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

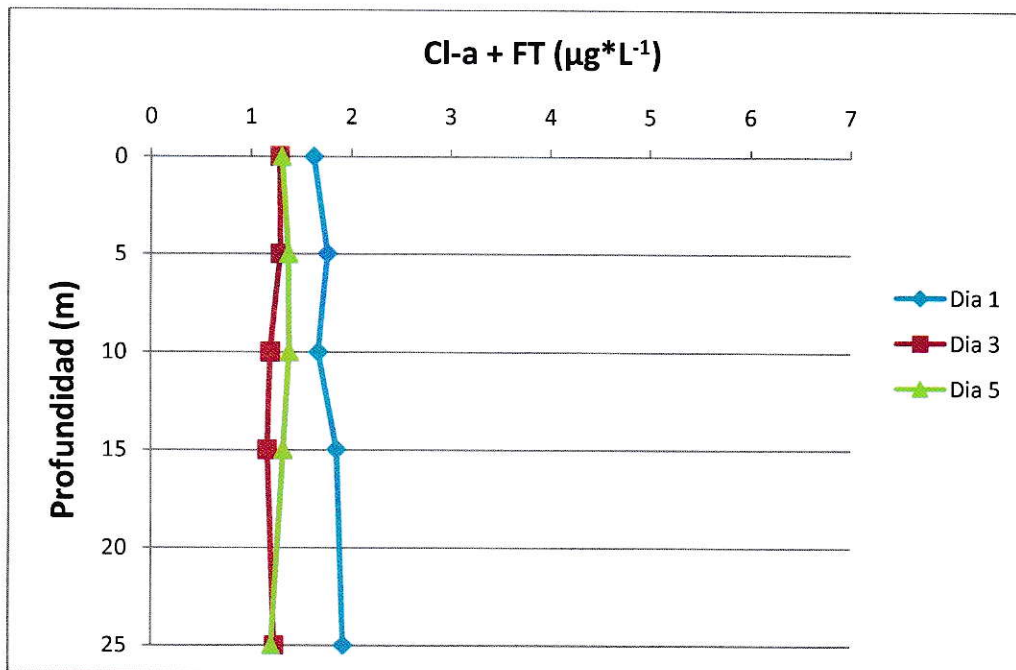


Figura 29. Perfiles verticales de la suma de concentraciones de Cl-a + FT para la estación 51, Apiao muestreadas durante el crucero Cimar-Fiordos 17 en el MICH.

4. DISCUSIÓN

En el presente estudio la distribución espacial de las variables ambientales, físicas y químicas en el MICH concuerdan con los patrones descritos en la literatura, es decir, tres de las estaciones de la zona norte, estero de Reloncaví (estación 5), seno de Reloncaví (estación 3) y el golfo de Ancud (estación 16) presentan; bajas concentraciones de nitrato y fosfato, variaciones de temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en las capas superficiales. Las variables ambientales en las estaciones del sector sur (estaciones 51, 33, 36 y 44), golfo de Corcovado y boca del Guafo, presentaron una baja heterogeneidad en temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y nutrientes, debido al ingreso de aguas subantárticas. Esto tiene como consecuencia la generación de distintas respuestas en la biomasa fitoplanctónica, la que fue medida en este trabajo como concentración de Cl-a + FT, para dar cuenta de la biomasa fitoplanctónica infectable. Así, en el sector norte, de mayor heterogeneidad ambiental, se encuentran las estaciones (3, 5 y 16) que presentan perfiles asociados a una mayor respuesta de generación de biomasa fitoplanctónica (Martínez, 2011) como lo son el agotamiento de nitrato y fosfato en la capa superficial, especialmente la estación 16. Al contrario, las estaciones ubicadas al sur de las islas Desertores, prácticamente no muestran variación en parámetros ambientales físicos y químicos debido al ingreso de aguas subantárticas subsuperficiales que impiden la estratificación de la columna de agua y no presentan una respuesta a la generación de biomasa fitoplanctónica como lo hacen las estaciones del sector norte ya mencionadas.

La distribución de partículas virales indica que las estaciones de la zona sur, de características "oceánicas", tienen una menor variabilidad en la columna de agua y menor concentración de partículas virales, principalmente en superficie y hasta los 10 m de profundidad. Bajo los 10 m las concentraciones virales tienden hacerse

más e igualmente homogéneas, tanto en las estaciones del sector norte como las del sur. Las abundancias promedio (Fig. 8) en la columna de agua muestran claramente que en el sector norte se encuentran sitios o parches que presentan una mayor concentración de partículas virales, como también de bacterio y fitoplancton en comparación con parches, sitios o las estaciones del sector sur. En cuanto a las concentraciones de bacterias heterotróficas, estas presentan distribuciones verticales y espaciales con un patrón similar al de las partículas virales. Uno de los aspectos similares es que las abundancias medias en algunas estaciones de la zona norte son bastante superiores a las de la zona sur, lo que puede deberse a que las bacterias, como principales hospederos de los virus en los ecosistemas marinos (Lensky & Levin, 1985; Ackermann & Dubow, 1987; Noble & Fuhrman, 1997; Fuhrman, 1999; Long, 2008; Paul, 2008) deben encontrarse en concentraciones suficientemente altas como para que la tasa de encuentro con los virus aumente la probabilidad de éxito en la infección viral (Murray & Jackson, 2002). Lo anteriormente planteado se confirma con los resultados obtenidos (Fig. 12), ya que la correlación entre los valores integrados de 0 a 15 m, de la concentración de bacterias heterotróficas y partículas virales es alta ($r = 0,87$) ($p < 0,05$).

El tercer factor biótico analizado, se refiere a la concentración de Cl-a más feo-pigmentos, utilizado como una aproximación cuantitativa de la biomasa fitoplanctónica. Las concentraciones de Cl-a + FT en las distintas estaciones muestran una correlación inversa con los nutrientes (nitrato y fosfato), y son coherentes con lo expuesto por Martínez (2011), quien plantea que una mayor heterogeneidad ambiental junto con la concentración y distribución de los nutrientes nitrato y silicato en el MICH inciden directamente sobre las concentraciones de Cl-a complementado con el análisis de otros factores que incidirían directamente en las

concentraciones de Cl-a, principalmente la radiación solar. El análisis de regresión lineal y correlación entre partículas virales versus Cl-a + FT, (Fig. 13) sugiere una tendencia entre los aumentos en las concentraciones de pigmentos fotosintéticos y las abundancias de partículas virales.

La agrupación de las estaciones, y posterior análisis de varianza demuestra que existen diferencias significativas entre los grupos de estaciones con características de tipo oceánico respecto de algunas de las estaciones dentro del golfo de Ancud, el seno y el estero de Reloncaví. La relación entre la concentración de partículas virales con los valores de salinidad en las distintas estaciones muestreadas durante el crucero (Fig. 14), indica que las estaciones donde los valores de salinidad son inferiores a 30,5 PSU, las concentraciones de virus fueron más altas. Al agrupar las estaciones que presentan menores salinidades (estaciones 3, 5 y 16) versus las demás estaciones (9, 11, 21, 33, 36, 44 y 51) y realizando análisis de varianza, se demuestra que la salinidad determina significativamente las diferencias entre las abundancias de partículas virales. Esto indica que la salinidad sería un buen indicador ya sea en la modulación de la biomasa fitoplanctónica o de la abundancia bacteriana, ambos factores fundamentales para la proliferación de las partículas virales.

Al analizar la dinámica temporal de variables ambientales y biológicas en la estación 5, ubicada en el estero de Reloncaví, se distingue una alta variabilidad comparativa respecto a las otras estaciones muestreadas, dicha estación presenta una marcada haloclina los primeros 8 m, donde la salinidad disminuye considerablemente, la temperatura es en promedio 1 °C superior a las otras estaciones y el oxígeno disuelto presenta los mayores valores registrados durante el crucero, hechos coherentes con lo planteado por diversos autores (Silva & Neshyba, 1979, Silva y *col*, 1997, 1998; Silva & Palma, 2006; Carrasco & Silva

2009 a, 2009 b), esta alta variabilidad ambiental podría incidir en una elevada biomasa fitoplanctónica (Lara y *col*, 2010; Martínez, 2011). Generalmente las proliferaciones fitoplanctónicas ocurren en los meses de alta luminosidad (en el caso de este estudio, durante el mes de octubre, primavera del hemisferio sur), donde las elevadas concentraciones de Cl-a se asocian a fuertes gradientes de temperatura y salinidad como al aporte de nutrientes a través de fenómenos de surgencia (Lara, 1992; Cloern, 2001; De la Hoz, 2004; Ramírez & Pizarro, 2005; Montecino y *col*, 2005; Kuznar y *col*, 2009; Valenzuela & Avaria, 2009) y a una mayor intensidad de los vientos del tercer cuadrante que producen aumento de la turbulencia del agua (Margalef, 1978; González y *col*, 2010). Debido a que las poblaciones virales deben ser constantemente repuestas, a consecuencia de su destrucción, inactivación o sedimentación (Whilhelm & Suttle, 1999), estos mecanismos podrían estar ayudando a la reposición de partículas virales en la capa de mezcla.

A medida que hay mayor abundancia de fitoplancton, las bacterias heterótrofas pueden obtener los sustratos necesarios para su metabolismo (Azam y *col*, 1983; Bratbak y *col*, 1990; Wilhelm & Suttle, 1999; Kuznar y *col*, 2009). En el recuento de bacterias heterótrofas correspondiente en la estación 5, queda en evidencia el modelo expuesto por Azam (Azam y *col* 1983) donde una alta biomasa fitoplanctónica ($>2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) permite el desarrollo y crecimiento de las poblaciones bacterianas, las cuales a su vez son los hospederos por excelencia de los virus marinos, puesto que la gran parte de los virus marinos son bacteriófagos (Whitman y *col*, 1998). Para que las concentraciones de partículas virales aumenten, necesariamente deben hacerlo las bacterias heterótrofas, con el consecuente retardo temporal en el aumento de bacterias y el posterior aumento de las partículas virales, entonces se hace necesario realizar trabajos de análisis de las

fluctuaciones de virus y bacterias en series de tiempo más prolongadas que las de este estudio, definidas a priori para el crucero Cimar-fiordos 17.

En la segunda estación de procesos, estación 51, las concentraciones de Cl-a + FT fueron 1,0 - 1,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ tres veces menores a las encontradas en la estación 5 (2,0 – 6,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), además, las variables abióticas; temperatura, salinidad y oxígeno disuelto, prácticamente no presentaron variaciones de corto plazo (días) lo que incide directamente sobre el crecimiento de la biomasa fitoplanctónica. Este hecho se ve reflejado claramente en las menores concentraciones de virus y bacterias, donde las concentraciones de bacterias en la estación 5 ($\bar{x} = 1,67\cdot 10^6$ células $\cdot\text{ml}^{-1}$) representan el doble que en la estación 51 ($\bar{x} = 8,37\cdot 10^5$ células $\cdot\text{ml}^{-1}$), lo que concuerda con lo descrito por González y col, (2010), quienes observaron una mayor biomasa bacteriana en la zona del golfo de Ancud respecto al golfo Corcovado tanto en temporadas de invierno como de primavera. A su vez la concentración de partículas virales en la estación 51 ($\bar{x} = 3,52\cdot 10^6$ células $\cdot\text{ml}^{-1}$) representa casi una tercera parte de lo cuantificado en la estación 5 ($\bar{x} = 3,52\cdot 10^6$ cel. $\cdot\text{ml}^{-1}$) (Figs. 23, 24, 27 ,28 y Anexo 1).

El índice v/b, (Anexo 1) que indica la predominancia numérica de los virus sobre las bacterias, con un promedio para todas las estaciones muestreadas de 4,4 (virus $\cdot\text{bacteria}^{-1}$) indica que las estaciones con alta variabilidad ambiental presentan un índice más alto. Al comparar las estaciones 5 y 51, de variabilidad ambiental contrastantes, se observa que la estación 5 tiene el valor del índice más alto encontrado, 20,2 v/b (con un promedio de 5,9 v/b, en el tiempo y el espacio) a los 0 m el día 4, mientras que la estación 51 tiene su máximo el día 5 a los 5 m con un valor de 11,9 v/b. El índice v/b fluctúa en escalas temporales y algunas veces se incrementa concomitantemente con la productividad de los ecosistemas, sin embargo no existe una tendencia general (Weinbauer, 2003), aunque se ha descrito

que para los sistemas oceánicos pelágicos este oscila entre 5 - 10 v/b, en lagos y ríos se han descrito rangos de 1 - 4 y 0,7 - 1,2 v/b respectivamente. En sistemas límnicos este índice es usualmente mayor que en los sistemas oceánicos pelágicos (Weinbauer, 2003). Otro factor a tener en cuenta al estimar las fluctuaciones de virus y bacterias, es de tipo metodológico y se refiere al decaimiento de dichas partículas debido al efecto producido por la fijación en formaldehído y almacenamiento por más de 45 días, lo que puede generar diferencias significativas (72%) en la cuantificación (Wen y *col*, 2004).

Diversos estudios indican que los ambientes de mayor productividad son dominados por infecciones virales líticas, mientras los sistemas oligotróficos favorecen las infecciones lisogénicas (Paul, 2008), esto junto con la mayor variabilidad ambiental (estrés gatillante de las vías líticas) permiten concluir la dominancia numérica de virus sobre bacterias de la estación 5 en relación a la estación 51.

Las estaciones que registraron las mayores abundancias virales se ubican en el sector norte. En estas áreas se produce el ingreso de grandes volúmenes de aguas continentales de baja salinidad y ricas en silicatos. Las demás estaciones, mostraron menores abundancias de partículas virales, hecho que coincide con una columna de agua totalmente mezclada y de características de tipo oceánico. Este contraste y la estabilidad en estos dos tipos de estructuración de la columna de agua, determina las diferencias registradas en las abundancias de virioplancton y los otros parámetros biológicos registrados en el área de estudio.

En síntesis, las mayores concentraciones virales se registraron en las estaciones ubicadas en el estero de Reloncaví y el golfo de Ancud, las que presentaron estratificación de la columna de agua y las mayores biomásas del fitoplancton y

bacterioplancton. La estabilidad temporal en las abundancias virales y de estratificación de la columna de agua en las estaciones de procesos (5, 33 y 51) confirman el comportamiento contrastante en los gradientes salinos.

5. REFERENCIAS

- Ackermann, H. & DuBow, M.S.** 1987. En: Viruses of Prokaryotes; General Properties of Bacteriophages Vol I. CRC Press. 202 pp.
- Atlas, S. E., Hager, S., Gordon, L. & Park, P.** 1971. A practical manual for use of the Technic on Autoanalyzer in sea water nutrient analyses. O.S.U. Dept. of Oceanography. Technical Report, 215 pp.
- Azam, F., Fenchel T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer–Rell, L.A. & Thingstad F.** 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. Marine Ecology Progress Series. 10: 257-263.
- Bratbak, G., Heldal, M., Norland, S. & Thingstad, T.F.** 1990. Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics. Applied and Environmental Microbiology. 56 (5): 1400-1405.
- Carrasco, C. & Silva, N.** 2009a. Comparación de las características oceanográficas físicas presentes en la zona Puerto Montt a boca del Guafo durante los años 1995 y 2004. Cruceros CIMAR 1 y 10 Fiordos. Aprobada.
- Carrasco, C., & Silva, N.** 2009b. Características oceanográficas físicas y químicas presentes en la zona estero Reloncaví 41° 30`S durante los años 2005 y 2006. En revisión.
- Cloern, J.E.** 2001. Our evolving conceptual model of the costal eutrophication problem. Marine Ecology Progress Series. 210:223-253.
- Cottrell, M.T., & Suttle, C.A.** 1995. Dynamics of a lytic virus infecting the photosynthetic marine picoflagellate *Micromonas pusilla*. Limnology & Oceanography. 40:730-739.

- De la Hoz, M.V.** 2004. Dinámica del fitoplancton de ciénaga grande de santa María caribe colombiano. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras 33:159:179.
- Fuhrman, J.A.** 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. Nature. 399: 541-548.
- Fuhrman, J.A., & Suttle, C., A.** 1993. Viruses in marine plankton. Oceanography 6: 51-63.
- Gonzalez, H.E., Calderon, M.J., Castro, L., Clement, A., Cuevas, L.A., Daneri, G., Iriarte, J.L., Lizarraga, L., Martinez, R., Menschel, E., Silva, N., Carrasco, C., Valenzuela, C., Vargas, C.A., Molinet, C.** 2010. Primary production and plankton dynamics in the Reloncaví fjord in the interior sea of Chiloé, Northern Patagonia, Chile. Marine Ecology Progress Series, 402:13-30.
- Hambly, E. & Suttle, C.** 2005. The virosphere, diversity, and genetic exchange within phage communities. Current Opinions in Microbiology. 8: 444-450.
- Iriarte, J., Gonzalez, H.E., Lui, K.K., Rivas, C. & Valenzuela, C.** 2007. Spatial and temporal variability of chlorophyll and primary productivity surface waters in the southern Chile 41.5-43°S. Estuarine, Coastal and Shelf Science 74:471-480.
- Jeffrey, S. W., Mantourra, R.F.C., & Wright, S.W.** 1997. Phytoplankton pigments in oceanography: methods. Monographs on Oceanographic Metodology. SCOR and Unesco.
- Kuznar, J., Espinoza, J.C., Avaria, S., Valenzuela, M., Pavez, C. & Egaña, M.** 2009. Efectos microbiológicos producidos por un evento de surgencia costera en Chile central. Revista de Biología Marina y Oceanografía 44 (1): 189-196.
- Lara, M.** 1992. ¿Por qué las especies coexisten? El caso del plancton. Hidrobiología 2:43-52.



Lenski, R. & Levin, B. 1985. Constraints on the coevolution of bacteria and virulent phage: A model, some experiments, and predictions for natural communities. *The American Naturalist*, 125: 585–602.

Margalef, R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in a instable environment. *Oceanol Acta* 1:493-509.

Martínez, V.P. 2011. Heterogeneidad ambiental y su influencia en la distribución y abundancia de la clorofila a en el mar interior de Chiloé (2004-2005). Tesis. Magister en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias. Universidad de Chile. 78 pp.

Montecino, V., Paredes, M.A., Manley, M., Astoreca, R., Uribe, P., Alarcón, G., Pizarro, G & Vargas, C. 2006. Gradientes de productividad primaria, clorofila-a y composición por tamaños del fitoplancton en canales occidentales de Aysén en noviembre 2002. *Ciencia y Tecnología del Mar* 29 (2): 65-85.

Montecino, V., Uribe, P., Soto, D., González, H., Riberos, J., Alarcón, G., Giglio, S., Martínez, V., & Paredes, M.A. 2009. Bio-óptica y diversidad de tamaños de fitoplancton del mar interior de Chiloé: variabilidad espacial en invierno-primavera 2004-2005. *Ciencia y Tecnología Del Mar* 32(2):79-99.

Murray, A. & Jackson, G. 1992. Viral dynamics: a model of the effects of size, shape, motion and abundance of single-celled planktonic organisms and other particles. *Marine Ecology Progress Series* 89:103-116.

Noble, T.R. & Fuhrman, J.A. 1997. Virus decay and its causes in coastal waters. *Applied and Environmental Microbiology*. 63(1): 77-83.

Noble, T.R. 2001. Enumeration of viruses. En: Paul, J. (ed). *Marine microbiology. Methods in Microbiology* 30: 43-51. Academic Press, New York.

- Parvathi, A. & Radhakrishnan, S.** 2010. Study of changes in bacterial and viral abundance in formaldehyde-fixed water samples by epifluorescence microscopy. *Environm. Monit. Asses.* 177: 227-231
- Paul, J.H.** 2008. Prophages in marine bacteria: dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? *The ISME Journal* 2: 579 – 589.
- Proctor, L.M. & Fuhrman, J.A.** 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature* 343: 60-62.
- Ramírez, B. & Pizarro, E.** 2005. Distribución de clorofila a y feopigmentos en los canales australes chilenos comprendidos entre Puerto Montt y laguna San Rafael, Chile. *Ciencia y Tecnología del Mar* 28 (1):45-62.
- Rohwer, F.** 2003. Global phagediversity. *Cell* 113: 141.
- Silva, N., Neshyba, S.** 1979. On the southern most extension of the Peru-Chile Undercurrent. *Deep Sea Research* 26: 1387-1393
- Silva, N., C Salvete, C. & Sievers, H.A.** 1997. Características físicas y químicas de canales australes chilenos entre Puerto Montt y laguna San Rafael (Crucero CIMAR Fiordo 1). *Ciencia y Tecnología del Mar* 20: 23-106.
- Silva, N., Salvete, C. & Sievers, H.A.** 1998. Masas de agua y circulación general para algunos canales australes entre Puerto Montt y laguna San Rafael, Chile (Crucero CIMAR- Fiordo 1). *Ciencia y Tecnología del Mar* 21: 17-48.
- Silva, N. & Palma, S.** 2006. Avances en el conocimiento oceanográfico de las aguas interiores chilenas, puerto Montt a Cabo de Hornos. Comité Oceanográfico Nacional - Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, 162pp.
- Suttle, C.A.** 2005. Viruses in the sea. *Nature* 437: 356-361.

- Tello, A. & Rodriguez-Benito, C.** 2009. Characterization of mesoscale spatio-temporal patterns and variability of remotely sensed Chl *a* and SST in the interior sea of Chile 41.4-43.5°S. *International Journal of Remote Sensing* 30(6):1521-1536.
- Valenzuela, M. & Avaria, S.** 2009. Distribución del microfitoplancton marino entre el seno Reloncaví y Boca del Guafo en invierno y primavera del 2005 (crucero CIMAR 11 fiordos). *Ciencia y Tecnología del Mar* 32(2):43-77.
- Weinbauer, M.** 2003. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiology. Rev.* 28: 127–181.
- Wen, K., Ortmann, A. & Suttle, C.A.** 2004. Accurate estimation of viral abundance by epifluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology* 70(7): 3862-3867.
- Whitman, W., Coleman, D. & Wiebe, W.** 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 6578–6583.
- Wilhelm, W. & Suttle, C.** 1999. Viruses and nutrients cycles in the sea. *Bioscience*. 49 (10): 781-788.
- Wommack, K.E., & Colwell, R.R.** 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 69-114.

6. ANEXOS

Anexo 1. Concentraciones de virus y bacterias e índice virus*bacterias⁻¹ (v/b) para las estaciones del crucero CIMAR-Fiordos 17 en el MICH:

Estación 3				Estación 9			
Profundidad	Virus	Bacterias	v/b	Profundidad	Virus	Bacterias	v/b
0	2,16E+07	2,98E+06	7,2	0	5,33E+06	1,56E+06	3,4
5	1,05E+07	2,83E+06	3,7	5	3,46E+06	9,1E+05	3,8
10	5,73E+06	2,21E+06	2,6	10	6,93E+06	1,65E+06	4,2
15	6,65E+06	2,27E+06	2,9	15	7,01E+06	1,12E+06	6,3
25	4,41E+06	1,06E+06	4,2	25	6,25E+06	1,98E+06	3,2
Promedio	9,78E+06	2,27E+06	4,1	Promedio	5,80E+06	1,44E+06	4,0
D.E.	6,99E+06	7,56E+05	1,85	D.E.	1,47E+06	4,28E+05	1,23
Mínimo	4,41E+06	1,06E+06	2,6	Mínimo	3,46E+06	9,1E+05	3,2
Máximo	2,16E+07	2,98E+06	7,2	Máximo	7,01E+06	1,98E+06	6,3

Estación 11				Estación 16			
Profundidad	Virus	Bacterias	v/b	Profundidad	Virus	Bacterias	v/b
0	3,54E+06	9,85E+05	3,6	0	1,76E+07	4,41E+06	4,0
5	-	-		5	2,19E+07	4,18E+06	5,2
10	2,81E+06	8,76E+05	3,2	10	1,94E+07	4,18E+06	4,6
15	1,91E+06	5,73E+06	0,3	15	4,54E+06	1,97E+06	2,3
25	3,03E+06	2,10E+06	1,4	25	4,48E+06	4,2E+05	10,7
Promedio	2,82E+06	2,42E+06	2,1	Promedio	1,36E+07	3,03E+06	5,4
D.E.	6,81E+05	2,27E+06	1,53	D.E.	8,42E+06	1,77E+06	3,19
Mínimo	1,91E+06	8,76E+05	0,3	Mínimo	4,48E+06	4,2E+05	2,3
Máximo	3,54E+06	5,73E+06	3,6	Máximo	2,19E+07	4,41E+06	10,7

Estación 21				Estación 36			
Profundidad	Virus	Bacterias	v/b	Profundidad	Virus	Bacterias	v/b
0	2,29E+06	5,2E+05	4,4	0	2,04E+06	862000	2,4
5	2,14E+06	3,9E+05	5,5	5	8,5E+05	1,17E+06	0,7
10	3,49E+06	9,6E+05	3,6	10	-	725000	-
15	2,11E+06	5,2E+05	4,1	15	3,76E+06	667000	5,6
25	3,00E+06	6,5E+05	4,6	25	2,55E+06	661000	3,9
Promedio	2,61E+06	6,07E+05	4,4	Promedio	2,30E+06	8,17E+05	3,15
D.E.	6,12E+05	2,16E+05	0,70	D.E.	1,21E+06	2,13E+05	1,82
Mínimo	2,11E+06	3,9E+05	3,6	Mínimo	8,5E+05	661000	0,7
Máximo	3,49E+06	9,6E+05	5,5	Máximo	3,76E+06	1,17E+06	5,6

Estación 44			
Profundidad	Virus	Bacterias	v/b
0	2,61E+06	939000	2,8
5	8,32E+06	2,07E+06	4,0
10	2,83E+06	1,64E+06	1,7
15	755000	307000	2,5
25	-	408000	-
Promedio	3,63E+06	1,07E+06	2,75
D.E.	3,26E+06	7,69E+05	0,96
Mínimo	755000	307000	1,7
Máximo	8,32E+06	2,07E+06	4,0

Estaciones de Procesos

Estación 5 D1				Estación 5 D4		
Profundidad	VLP	Bacterias	v/b	VLP	Bacterias	v/b
0	9,38E+06	1,21E+06	7,7	1,31E+07	6,45E+05	20,2
5	2,26E+07	4,93E+06	4,6	2,44E+07	1,56E+06	15,7
10	6,86E+06	1,66E+06	4,1	6,42E+06	2,19E+06	2,9
15	5,49E+06	1,26E+06	4,4	2,66E+06	1,26E+06	2,1
25	1,59E+06	4,81E+05	3,3	3,67E+06	9,21E+05	4,0
Promedio	9,18E+06	1,91E+06	4,8	1,01E+07	1,31E+06	7,6
D.E.	7,99E+06	1,74E+06	1,70	9,01E+06	5,98E+05	8,37
Mínimo	1,59E+06	4,81E+05	3,3	2,66E+06	4,73E+05	2,1
Máximo	2,26E+07	4,93E+06	7,7	2,44E+07	2,19E+06	20,2

Estación 5 D6				Estación 33 D1		
Profundidad	VLP	Bacterias	v/b	VLP	Bacterias	v/b
0	1,71E+07	1,74E+06	9,84	6,13E+06	1,00E+06	6,11
5	1,71E+07	3,34E+06	5,12	5,31E+06	7,64E+05	6,94
10	8,57E+06	1,96E+06	4,37	6,91E+06	1,17E+06	5,88
15	4,30E+06	1,15E+06	3,75	1,69E+07	1,80E+06	9,34
25	2,15E+06	7,93E+05	2,71	6,05E+06	1,49E+06	4,07
Promedio	9,85E+06	1,80E+06	5,16	8,25E+06	1,25E+06	6,47
D.E.	7,02E+06	9,82E+05	2,76	4,84E+06	4,08E+05	1,92
Mínimo	2,15E+06	7,93E+05	2,71	5,31E+06	3,86E+05	4,07
Máximo	1,71E+07	3,34E+06	9,84	1,69E+07	1,80E+06	9,34

Estación 33 D3				Estación 33 D5		
Profundidad	VLP	Bacterias	v/b	VLP	Bacterias	v/b
0	6,27E+06	1,14E+06	5,49	1,45E+06	4,83E+05	2,99
5	3,98E+06	1,31E+06	3,03	4,29E+05	3,78E+06	0,11
10	3,77E+06	1,32E+06	2,86	1,12E+06	8,16E+05	1,37
15	3,34E+06	7,64E+05	4,37	3,19E+06	9,49E+06	0,34
25	3,08E+06	4,36E+05	7,05	1,55E+06	6,46E+05	2,39
Promedio	4,09E+06	9,94E+05	4,56	1,55E+06	3,04E+06	1,44
D.E.	1,27E+06	3,84E+05	1,76	1,02E+06	3,85E+06	1,26
Mínimo	3,08E+06	4,36E+05	2,86	4,29E+05	4,83E+05	0,11
Máximo	6,27E+06	1,32E+06	7,05	3,19E+06	9,49E+06	2,99
Estación 51 D1				Estación 51 D3		
Profundidad	VLP	Bacterias	v/b	VLP	Bacterias	v/b
0	5,39E+06	1,38E+06	3,91	2,54E+06	6,25E+05	4,06
5	1,56E+06	8,89E+05	1,75	2,82E+06	8,85E+05	3,18
10	1,09E+06	3,53E+05	3,10	2,24E+06	6,44E+05	3,48
15	2,08E+06	8,00E+05	2,61	3,10E+06	8,57E+05	3,62
25	3,15E+06	9,33E+05	3,38	5,80E+06	1,15E+06	5,04
Promedio	2,66E+06	8,71E+05	2,95	3,30E+06	8,32E+05	3,88
D.E.	1,71E+06	3,66E+05	0,82	1,43E+06	2,14E+05	0,72
Mínimo	1,09E+06	3,53E+05	1,75	2,24E+06	6,25E+05	3,18
Máximo	5,39E+06	1,38E+06	3,91	5,80E+06	1,15E+06	5,04
Estación 51 D5						
Profundidad	VLP	Bacterias	v/b			
0	5,49E+06	5,37E+05	10,23			
5	7,88E+06	6,59E+05	11,96			
10	3,53E+06	9,61E+05	3,67			
15	2,96E+06	7,57E+05	3,91			
25	3,14E+06	1,12E+06	2,81			
Promedio	4,60E+06	8,06E+05	6,52			
D.E.	2,09E+06	2,34E+05	4,25			
Mínimo	2,96E+06	5,37E+05	2,81			
Máximo	7,88E+06	7,57E+05	11,96			

Anexo 2. Regresiones lineales entre las concentraciones de partículas virales integradas desde 0 a 15 m versus variables fisicoquímicas y nutrientes.

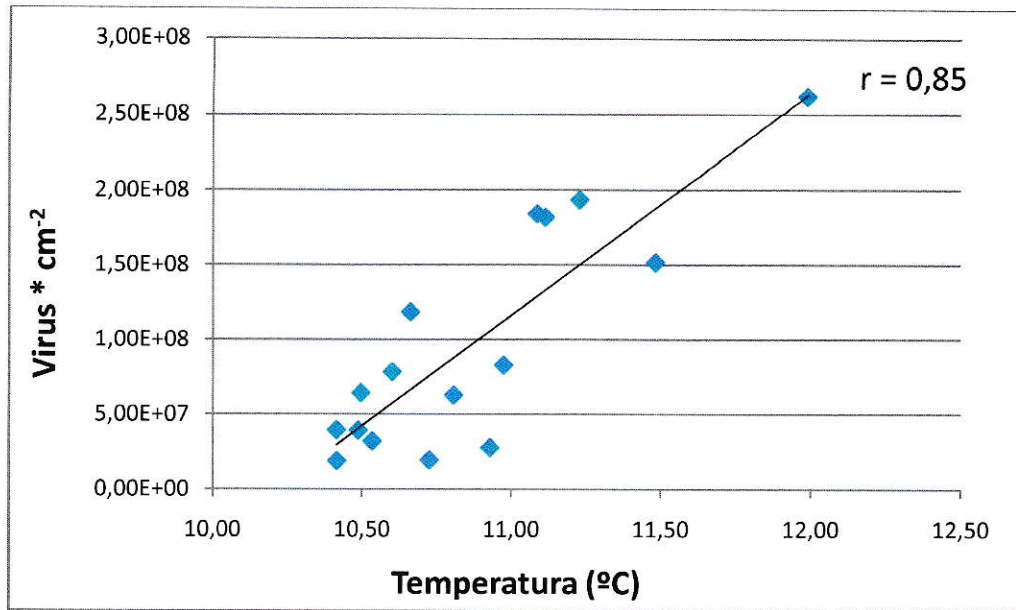


Figura 1. Regresión entre partículas virales y temperatura.

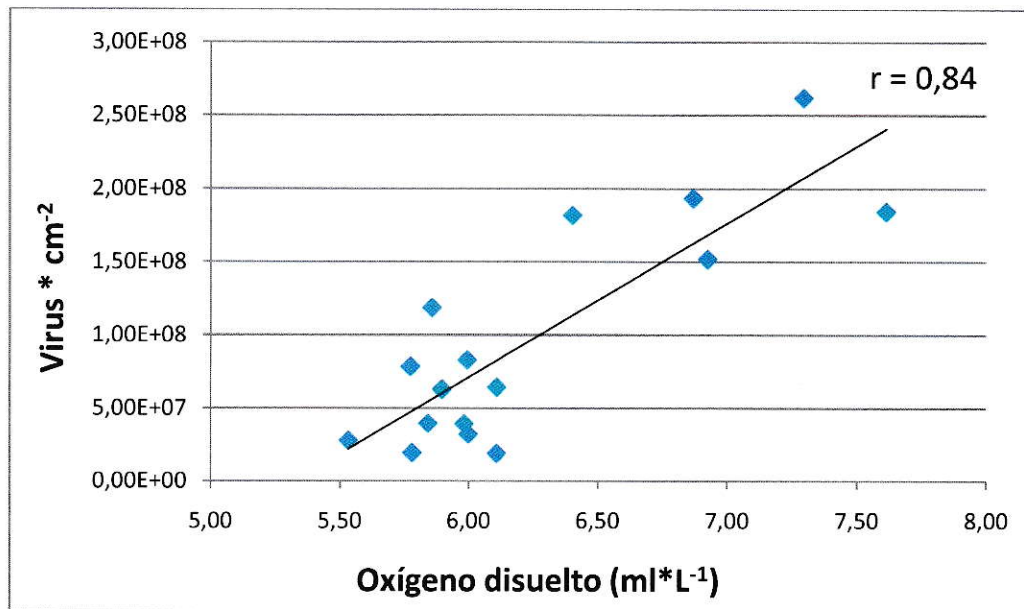


Figura 2. Regresion entre partículas virales y oxígeno disuelto.

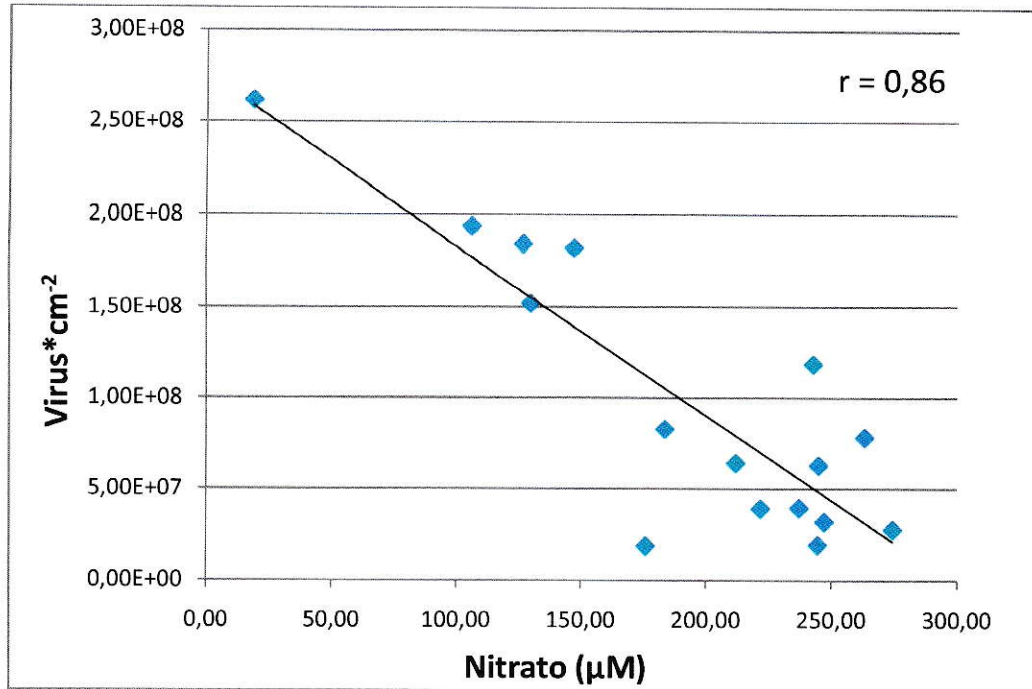


Figura 3. Regresion entre partículas virales y nitrato.

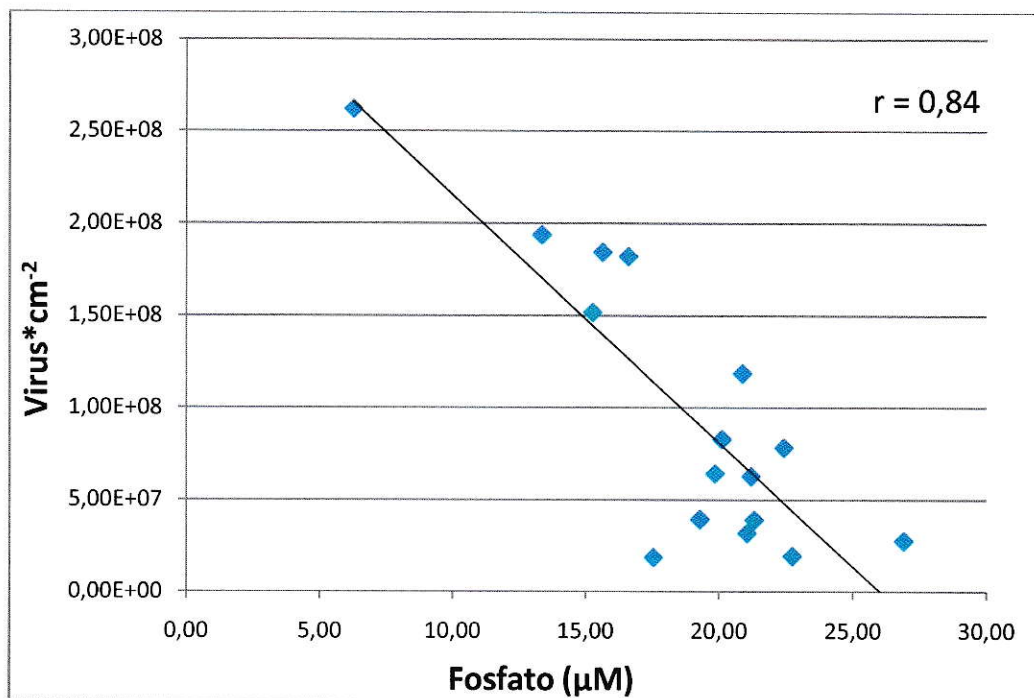


Figura 4. Regresion entre partículas virales y fosfato.

Anexo 3.

Tabla 1. Concentraciones de partículas virales, bacterias y pigmentos totales integrados desde 0 m hasta 15 m, concentraciones expresadas en virus*m⁻², bacterias*m⁻² y Cl-a + FT *m⁻².

Estación	Virus Integ. 15 m	Bacterias Integ. 15m	Cl-a + FT
3	1,52E+08	3,83E+07	67,4
5 d1	1,84E+08	3,91E+07	41,0
5 d4	1,94E+08	2,35E+07	70,6
5 d6	1,82E+08	3,37E+07	54,8
9	8,28E+07	1,95E+07	49,1
11	2,77E+07	2,12E+07	31,6
16	2,62E+08	5,78E+07	88,0
21	3,92E+07	9,33E+06	29,3
33 d1	1,19E+08	1,67E+07	30,6
33 d3	6,27E+07	1,79E+07	26,7
33 d5	1,93E+07	4,79E+07	54,8
36	1,87E+07	1,33E+07	48,4
44	6,42E+07	2,17E+07	45,9
51 d1	3,20E+07	1,17E+07	25,8
51 d3	3,94E+07	1,13E+07	18,5
51 d6	7,82E+07	1,13E+07	20,3

Anexo 4. Parámetros fisicoquímicos para las estaciones de procesos 33 y 51.

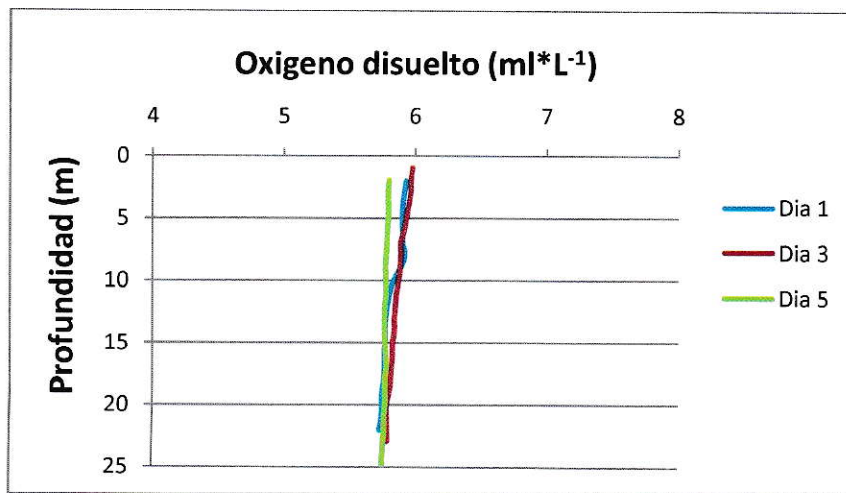
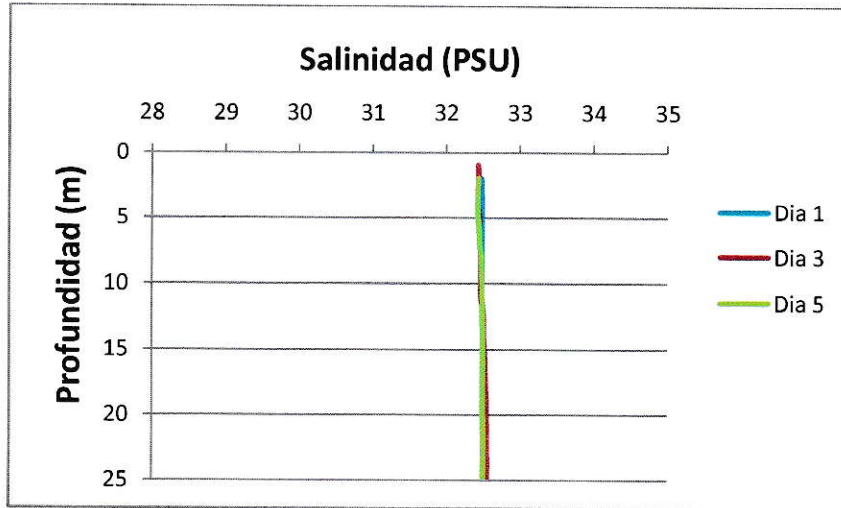
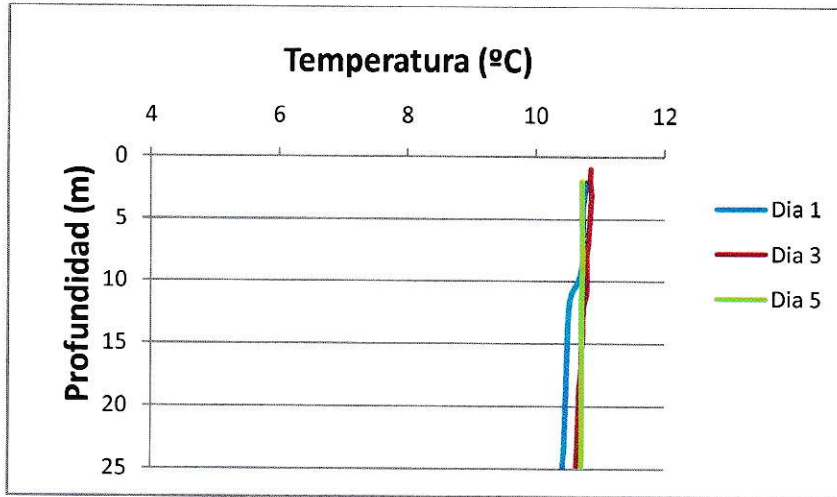
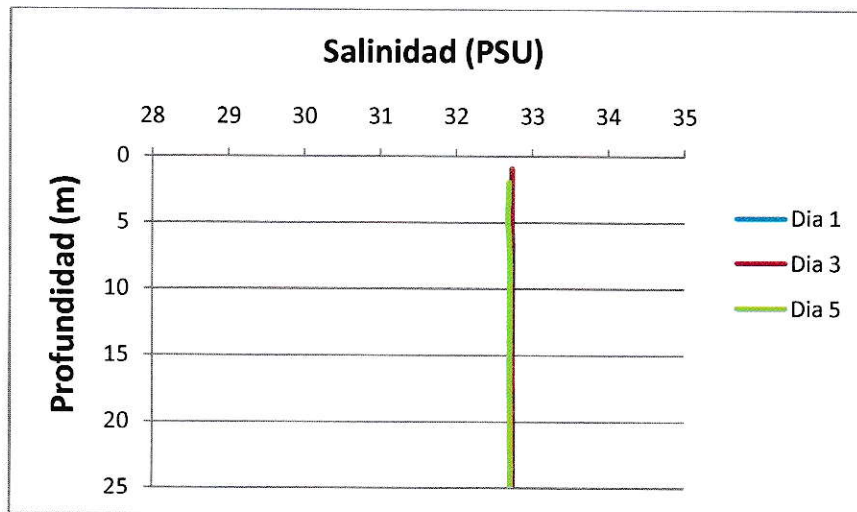
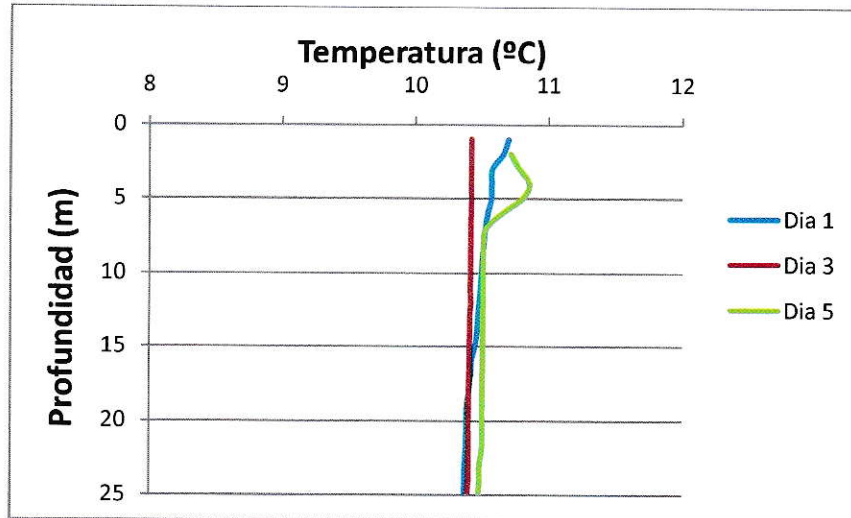


Figura 1. Parametros fisicoquimicos para la estacion 33, arriba; temperatura vs profundidad, centro; salinidad vs profundidad, abajo; oxígeno disuelto vs profundidad.



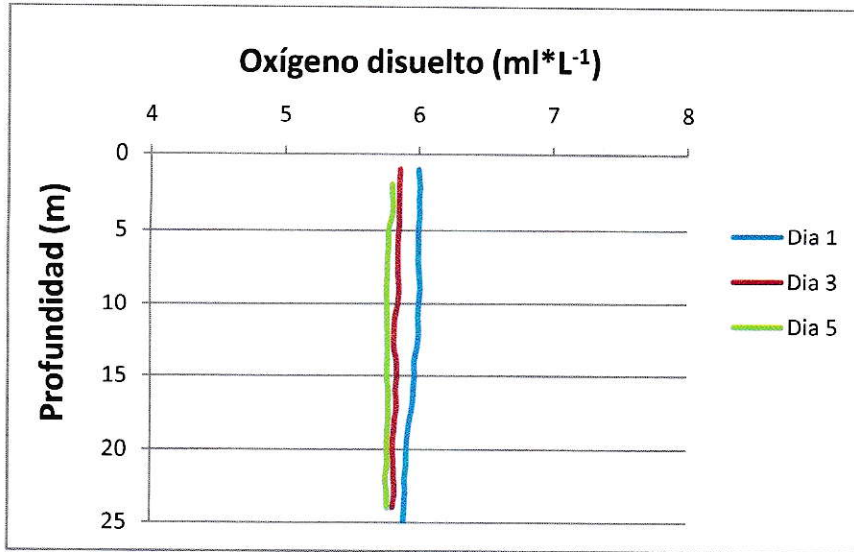


Figura 2. Parametros fisicoquímicos para la estacion 51, arriba; temperatura vs profundidad, centro; salinidad vs profundidad, abajo; oxígeno disuelto vs profundidad.