

PRIMER REGISTRO DE ABUNDANCIA VIRAL EN BAHIA COLIUMO Y PLATAFORMA CONTINENTAL FRENTE A CHILE CENTRAL

FIRST RECORD OF VIRAL ABUNDANCE IN COLIUMO BAY AND THE CONTINENTAL SHELF OFF CENTRAL CHILE

Oscar E. Chiang^{1,*}, Mathias Middelboe² & Renato A. Quiñones^{1,3}

¹Centro FONDAP-COPAS, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

Email autor: ochiang@udec.cl

²Marine Biological Laboratory, University of Copenhagen, Strandpromenaden 5, DK-3000, Helsingør, Denmark.

³Departamento de Oceanografía, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile.

ABSTRACT

The abundance of virus like particles (VLP) was determined for the first time in the water column and sediment of Coliumo Bay and on a station on the continental shelf off central Chile. The VLP decreases with depth in the water column with a surface maximum of 4.1×10^7 VLP mL⁻¹ and 5.87×10^7 VLP mL⁻¹ on the shelf and Coliumo Bay, respectively. In the sediments the VLP ranged between 4.28×10^8 VLP mL (Coliumo Bay) and 1.01×10^8 VLP mL (shelf). The abundance of VLP is higher at the Bay both in the water column and in the sediment.

KEYWORDS: Viruses, virus-like particles, prokaryotes, Humboldt Current System.

Los virus son importantes componentes de ambientes acuáticos, en especial por sus efectos sobre la abundancia y producción de comunidades procariotas, y ciclos biogeoquímicos (Fuhrman 1999, Wommack & Colwell 2000, Weinbauer 2004, Glud & Middelboe 2004). Es así, que su abundancia en la columna de agua del océano varía entre 10^4 y 10^8 virus ml⁻¹, pudiendo superar 5 a 25 veces la abundancia bacteriana (Fuhrman 1999); en tanto que en el sedimento, su número excede entre 10 y 1000 veces el encontrado en la columna de agua (Danovaro & Serresi 2000, Hewson *et al.* 2001, Middelboe *et al.* 2003).

La abundancia viral presenta una fuerte relación con la productividad del ecosistema (Weinbauer 2004), a partir de lo cual se ha propuesto al estado trófico del ambiente como un factor clave en el control de su distribución (e.g. Hewson *et al.* 2001, Danovaro *et al.* 2002, Corinaldesi *et al.* 2003). No obstante, en muchos ecosistemas aún se desconoce su distribución y dinámica, como es el caso del Sistema de la Corriente de Humboldt (SCH). Este

se caracteriza principalmente por la presencia de surgencias costeras, una masa de agua subsuperficial rica en nutrientes y bajo oxígeno, además de ser afectado por el ENSO (Troncoso *et al.* 2003, Cuevas *et al.* 2004). Los altos niveles de producción primaria que presenta el SCH, lo ubican entre los ecosistemas más productivos del mundo (Daneri *et al.* 2000, Troncoso *et al.* 2003). La costa frente a la zona central de Chile probablemente presente la mayor productividad generada por surgencias en la costa de Chile (Daneri *et al.* 2000, Cuevas *et al.* 2004), constituyendo un ecosistema altamente productivo, capaz de sustentar una alta producción y abundancia bacteriana (Troncoso *et al.* 2003). Las características tróficas del SCH frente a la zona central de Chile sumado a su alta productividad primaria y bacteriana sugieren que el componente viral debiera ser muy abundante y posiblemente jugar un importante rol ecológico. Lamentablemente no existe a la fecha ninguna estimación de la abundancia viral en este ecosistema.

Ante lo anteriormente expuesto, en este estudio se determinó por primera vez la abundancia y distribución viral en la columna de agua y sedimento superficial en dos estaciones (Bahía Coliumo y plataforma continental adyacente), ubicadas en la zona de surgencias de Chile central.

El muestreo se realizó el 14 de enero del 2004 a bordo de la L/C Kay-Kay (Universidad de Concepción) en una estación localizada en la Bahía

de Coliumo ($36^{\circ}31'79''\text{S}$, $72^{\circ}57'02''\text{W}$; Profundidad = 14.7 m) y otra en la plataforma continental adyacente ($36^{\circ}30'18''\text{S}$, $73^{\circ}00'75''\text{W}$; Profundidad = 51 m) en Chile central (Fig. 1). Se colectaron muestras de agua utilizando botellas Niskin a profundidad superficial, a profundidad intermedia y a 2 m sobre el fondo. Además se colectaron muestras de sedimento utilizando un multisacatestigos.

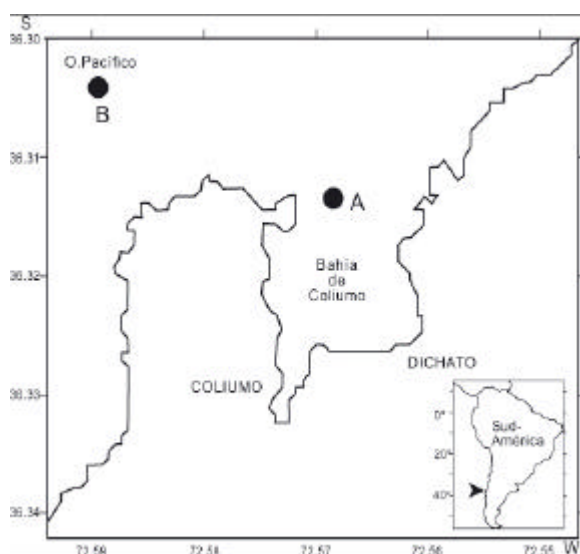


FIGURA 1. Área de muestreo. (A) Estación de muestreo en la plataforma continental (profundidad = 51 m) y (B) estación de muestreo en Bahía Coliumo (profundidad = 14.7 m).

FIGURE 1. Sampling area. (A) Sampling station in the continental shelf (depth = 51 m), and (B) sampling station in Coliumo Bay (depth = 14.7 m).

La concentración de oxígeno disuelto fue determinada utilizando una versión fotométrica semiautomática del método de Winkler (Williams y Jenkinson 1982). También se determinó clorofila *a* (Parson *et al.* 1984), y parámetros físico-químicos del sedimento como porosidad y materia orgánica total (MOT).

Partículas virales y células procariotas fueron extraídas del primer centímetro de sedimento, siguiendo la metodología descrita por Danovaro *et al.* (2001), la cual incluye la adición de pirofosfato de sodio (concentración final de 5 mM) y pasos alternados de sonicación y centrifugación. Las muestras provenientes de la columna de agua y del sedimento se fijaron con glutaraldehído filtrado por 0.02 μm (concentración final de 2%) y se conservaron

en oscuridad a 4°C , hasta ser procesadas dentro de las primeras 24 horas, con el fin de minimizar la subestimación por almacenamiento (Bongiorni *et al.* 2005). La abundancia se determinó filtrando las muestras a través de membranas de 0.02 μm de diámetro de poro (Whatman, Anodisc) y tiñendo con SYBR Green I (Noble y Fuhrman 1998). Luego, las membranas se montaron con una solución que disminuye el decaimiento de la fluorescencia (50% glicerol, 50% buffer fosfato de sodio, 0.1% p-fenilendiamina) y se conservaron en oscuridad a -20°C . Para la cuantificación de partículas virales y células procariotas se seleccionaron 10 campos al azar en un microscopio de epifluorescencia (Zeiss, Axioskop 2 plus), bajo una magnificación de 1600X.

La concentración de oxígeno disuelto en la columna de agua para el día del muestreo se observa en la Fig. 2a,b. En las profundidades cercanas al fondo tanto en la bahía como en la plataforma se observa la influencia de las Aguas Ecuatoriales Subsuperficiales con bajo contenido de oxígeno. En tanto, la clorofila *a* presentó un marcado máximo superficial de 22.98 mđg Chl *a* L⁻¹ para la estación de la plataforma, mientras que en la estación de Bahía Coliumo la distribución de Chl *a* es relativamente uniforme en la columna de agua (Fig. 3a,b).

La porosidad del sedimento superficial de la estación de la plataforma fue de 0.97 v/v, mientras que de 0.93 v/v para Bahía Coliumo, valores que disminuyen hacia los niveles más profundos en ambas estaciones (Fig. 4a). De igual modo, la MOT disminuye desde la superficie hacia niveles inferiores del sedimento, existiendo una concentración en promedio levemente mayor para la plataforma por sobre la bahía; 12.34 y 11.91%, respectivamente (Fig. 4b).

La abundancia de partículas virales en la columna de agua decrece con la profundidad en las estaciones muestreadas (Fig 5a,b), presentando en ambas un máximo superficial de 4.1 x 10⁷ VLP mL⁻¹ en la plataforma y 5.87 x 10⁷ VLP mL⁻¹ en Bahía Coliumo. Del mismo modo, la abundancia de células procariotas en la plataforma disminuye con la profundidad desde 1.38 x 10⁶ células mL⁻¹ a 1.26 x 10⁶ células mL⁻¹ (Fig. 6a,b), en tanto que la estación de bahía Coliumo presenta una distribución inversa, incrementándose con la profundidad desde 1.73 x 10⁶ células mL⁻¹ a 3.08 x 10⁶ células mL⁻¹ (Fig. 6a,b). La abundancia promedio de los 3 estratos muestreados en cada estación revela que Bahía Coliumo presenta mayor abundancia de partículas virales y células procariotas (4.26 x 10⁷ VLP mL⁻¹ y 2.52 x 10⁶ células mL⁻¹) que la estación de la plataforma (2.05 x 10⁷ VLP mL⁻¹ y 1.33 x 10⁶ células mL⁻¹). La razón VP en la columna de agua disminuye con la profundidad en ambas estaciones (Fig. 7a,b).

La distribución en la columna de agua presenta una disminución con la profundidad en ambas estaciones (Fig. 5a,b), lo que es coincidente con descripciones previas en la literatura para otros ecosistemas marinos (e.g. Steward *et al.* 1996; Hara *et al.* 1996, Culley & Welschmeyer 2002).

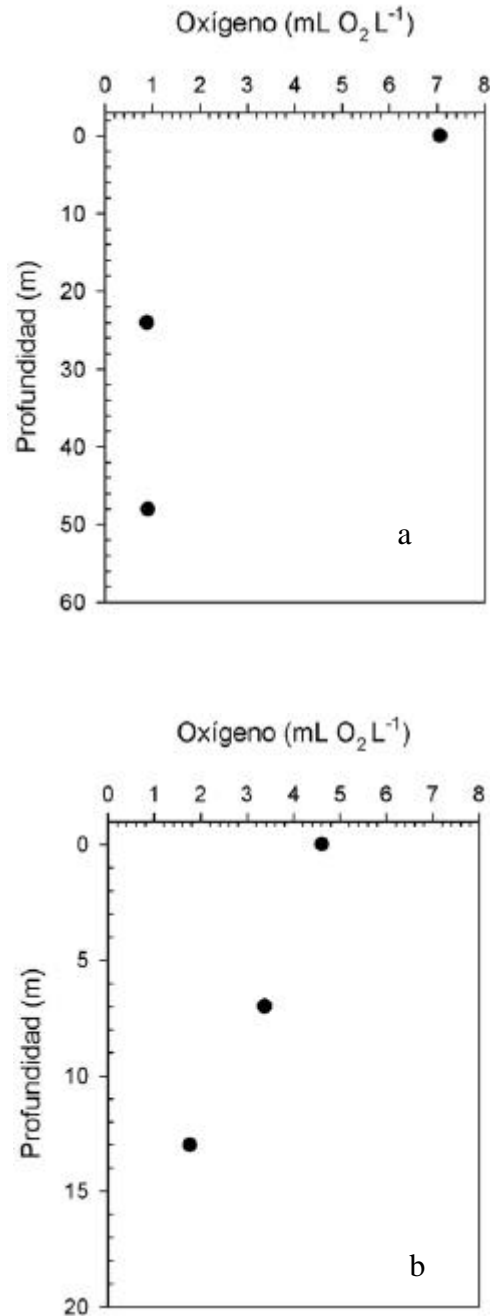


FIGURA 2. Distribución vertical de oxígeno en las estaciones de (a) plataforma continental y (b) Bahía Coliumo.

FIGURE 2. Vertical distribution of oxygen in the sampling stations of (a) continental shelf and (b) Coliumo Bay.

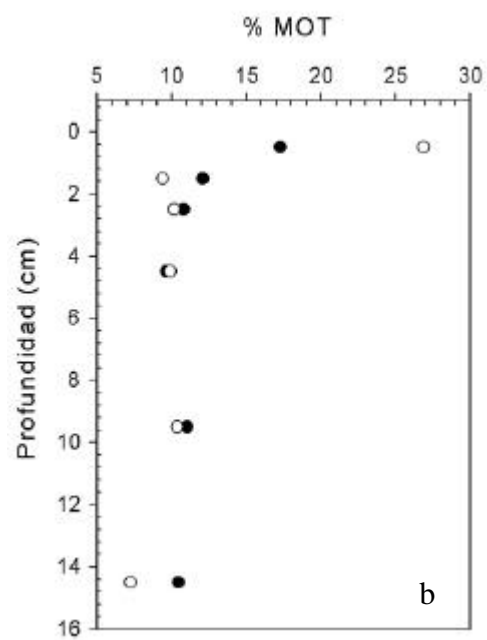
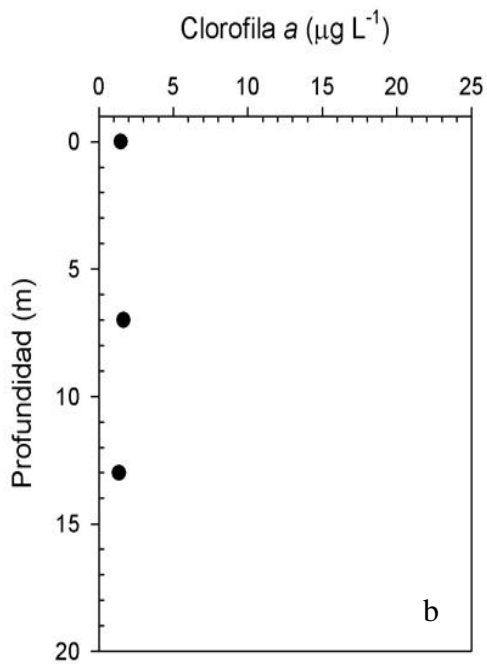
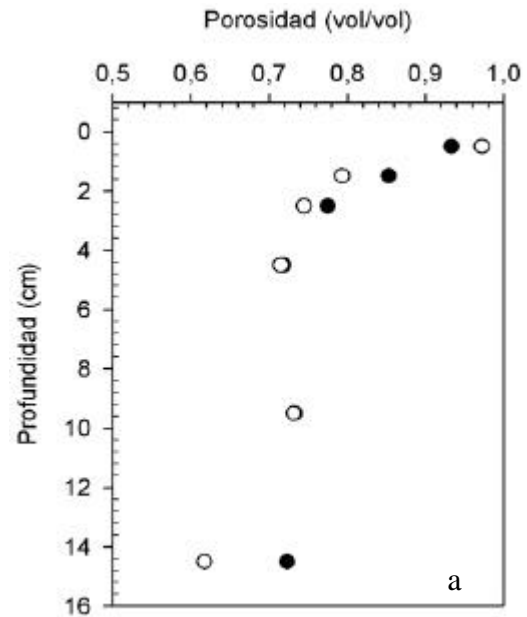
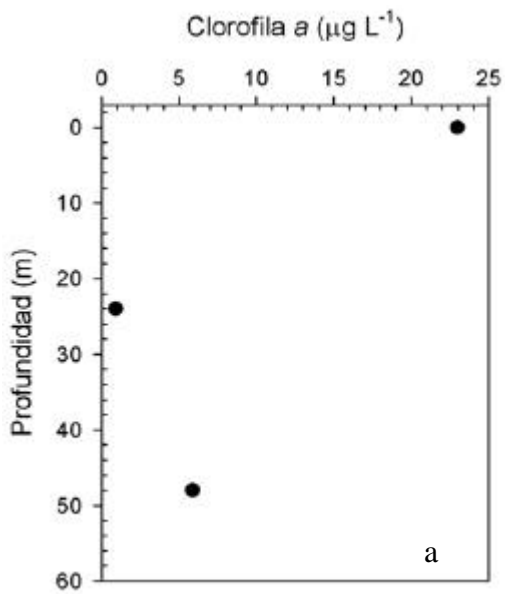


FIGURA 3. Distribución vertical de clorofila *a* en las estaciones de (a) plataforma continental y (b) Bahía Coliumo.

FIGURE 3. Vertical distribution of chlorophyll *a* in the sampling stations of (a) continental shelf and (b) Coliumo Bay.

FIGURA 4. Perfiles verticales de (a) porosidad y (b) materia orgánica total (MOT) del sedimento en las estaciones de plataforma continental (É%) y Bahía Coliumo (Í%).

FIGURE 4. Vertical profiles of (a) porosity and (b) sediment total organic matter (MOT) in the stations of continental shelf (É%) and Coliumo Bay (Í%).

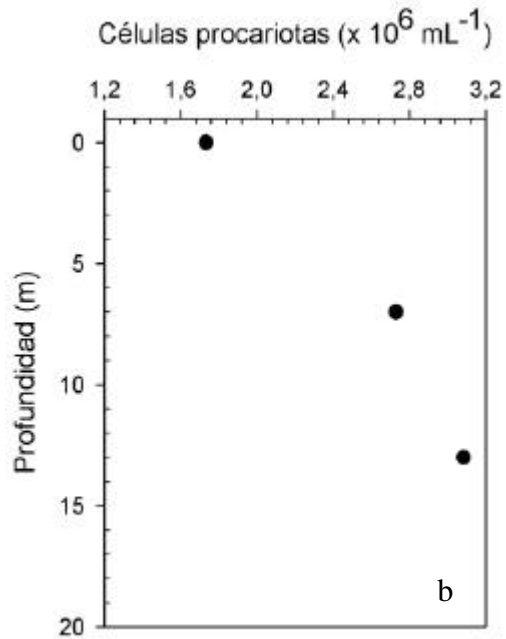
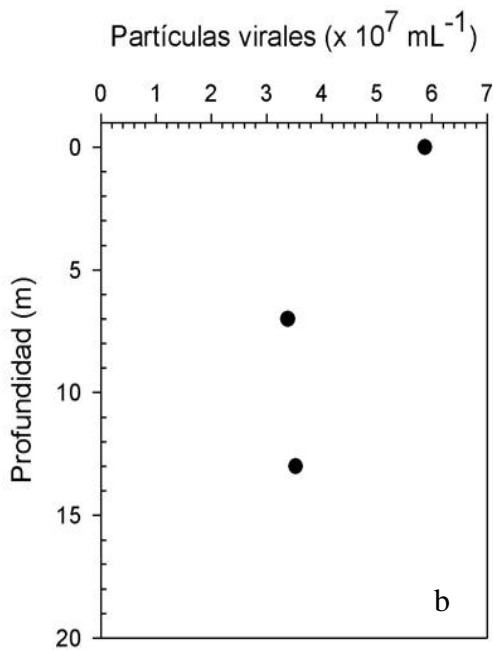
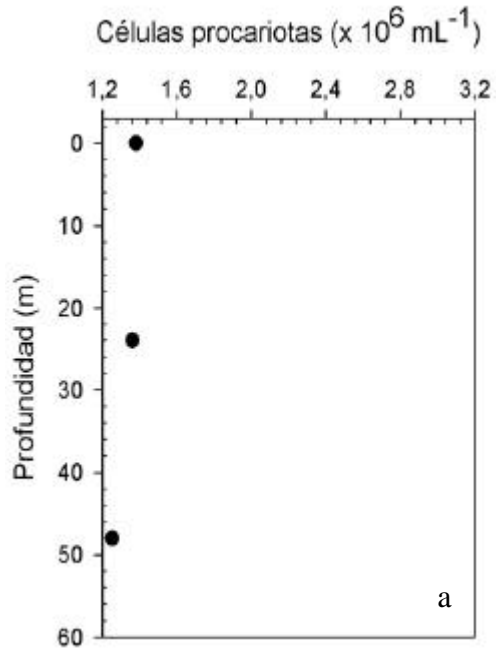
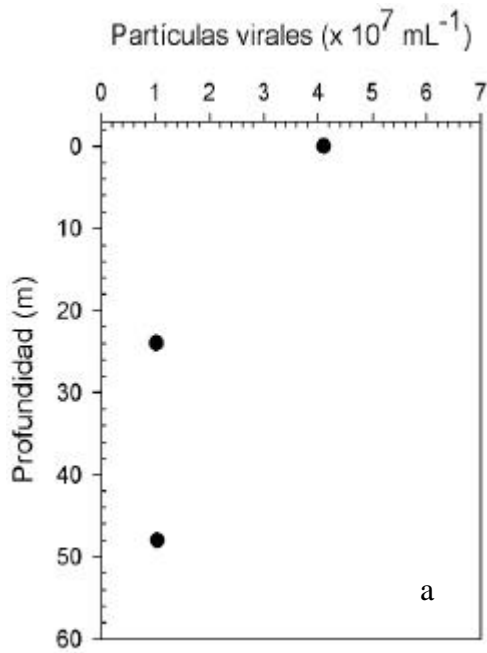


FIGURA 5. Abundancia de partículas virales en la columna de agua de las estaciones de muestreo de (a) plataforma continental y (b) Bahía Coliúmo.

FIGURE 5. Abundance of virus like particles in the water column of the sampling stations of (a) continental shelf and (b) Coliúmo Bay.

FIGURA 6. Abundancia de células procariotas en la columna de agua de las estaciones de muestreo de (a) plataforma continental y (b) Bahía Coliúmo.

FIGURE 6. Abundance of prokaryotics cells in the water column of the sampling stations of (a) continental shelf and (b) Coliúmo Bay.

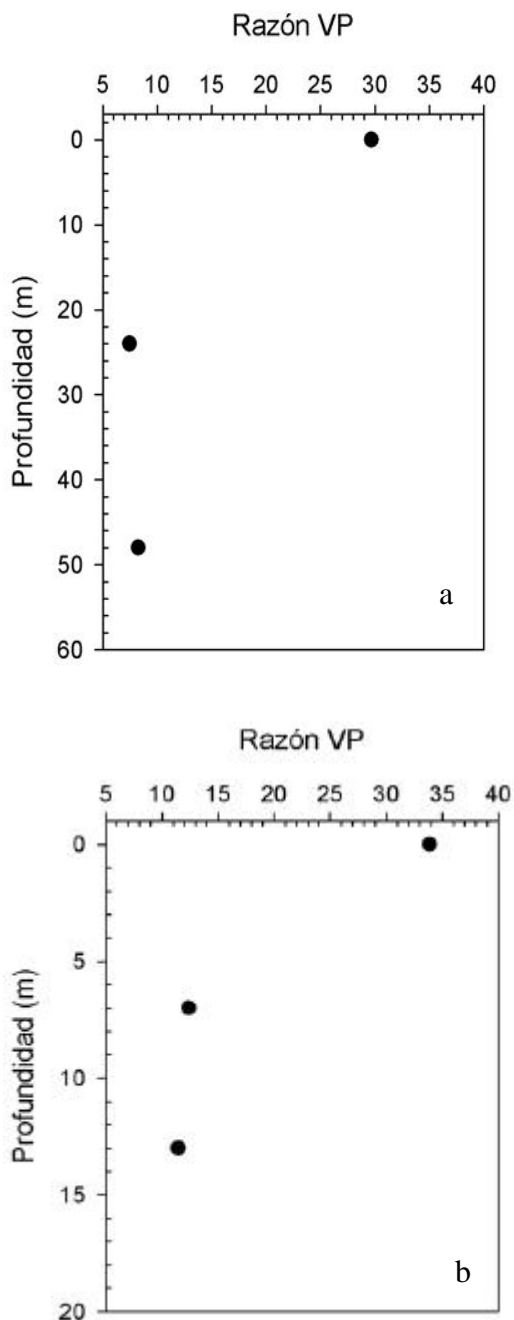


FIGURA 7. Distribución vertical de la razón virus/células procariotas en la columna de agua de las estaciones de muestreo de (a) plataforma continental y (b) Bahía Coliumo.

FIGURE 7. Vertical distribution of the virus-like-particles/prokaryotic-cells ratio in the water column of the sampling stations of (a) continental shelf and (b) Coliumo Bay.

Por otra parte, las concentraciones registradas de virus en los sedimentos de Bahía Coliumo (4.28×10^8 VLP mL^{-1}) y de la plataforma continental (1.01×10^8 VLP mL^{-1}), superan aproximadamente 10 veces la abundancia promedio de la columna de agua.

Nuestros resultados mostraron una mayor abundancia de VLP en la bahía que en la plataforma tanto en la columna de agua como en el sedimento. Considerando las limitaciones espacio-temporales de nuestro muestreo, estos resultados son evidentemente de naturaleza preliminar. Sin embargo, son consistentes con estudios similares en donde se han registrado mayores concentraciones de virus en las zonas más cercanas a la costa (e.g. Cochlan *et al.* 1993).

La elevada abundancia en la superficie del sedimento demuestra que los virus son abundantes miembros de comunidades microbianas del fondo marino de la zona central de Chile. La diferencia encontrada con la abundancia viral de la columna de agua supera 1 orden de magnitud (10^7 a 10^8 VLP mL^{-1}). Para ambas estaciones, la razón VP disminuyó con la profundidad en la columna de agua. Sin embargo, esta razón en el sedimento aumenta, debido a la alta densidad de virus registrada. En relación con la abundancia promedio de células procariotas en cada estación, las partículas virales son aproximadamente 15 veces más numerosas.

Finalmente, es importante destacar que aunque las concentraciones virales encontradas fueron altas, éstas estaban dentro de los rangos descritos en ecosistemas con menores niveles de productividad primaria o bacteriana. La relación existente entre la abundancia viral, la disponibilidad de hospedadores y la productividad del sistema continúa como una pregunta abierta en el SCH.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los Dres. Eduardo Quiroga y Víctor A. Gallardo por el apoyo logístico prestado a esta investigación. Los señores Hugo Ramírez, Sergio Torres, Pamela González, y Javier Sellanes prestaron valiosa ayuda durante el muestreo. Esta investigación fue financiada por el Centro COPAS (FONDAP, CONICYT, Chile).

Tabla 1. Abundancia de partículas virales (VLP), células procariotas, y razón de partículas virales/células procariotas (RVP) en el sedimento (primer centímetro) de las estaciones muestreadas de Bahía Coliumo y plataforma continental.

TABLE 1. Abundance of viruslike particles (VLP), prokaryote cells and the ratio virus-like-particles/prokaryote-cells (RVP) in the sediment (first centimeter) of the sampling stations of Coliumo Bay and continental shelf.

	VLP (x10 ⁸ VLP mL)	Células procariotas (x10 ⁷ cell mL)	RVP
Bahía	4.28	2.98	14.33
Plataforma	1.01	1.05	9.56

BIBLIOGRAFIA

- BONGIORNI, L., M. MAGAGNINI, M. ARMENI, R. NOBLE & R. DANOVARO. 2005. Viral production, decay rates, and life strategies along a trophic gradient in the North Adriatic Sea. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 6644-6650.
- COCHLAN, W.P., J. WIKNER, G.F. STEWARD, D.C. SMITH, & F. AZAM. 1993. Spatial distribution of viruses, bacteria and chlorophyll *a* in neritic, oceanic and estuarine environments. *Marine Ecology Progress Series* 92: 77-87.
- CORINALDESI, C., E. CREVATIN, P.D. NEGRO, M. MARINI, A. RUSSO, S. FONDA-UMANI & R. DANOVARO. 2003. Large-scale distribution of virioplankton in the Adriatic Sea: testing the trophic state control hypothesis. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 2664-2673.
- CUEVAS, L.A., G. DANERI, B. JACOB & P. MONTERO. 2004. Microbial abundance and activity in the seasonal upwelling area off Concepción (~36 °S), central Chile: a comparison of upwelling and non-upwelling conditions. *Deep-Sea Research II* 51: 2427-2440.
- CULLEY, A.I. & N.A. WELSCHEMEYER. 2002. The abundance, distribution, and correlation of viruses, phytoplankton, and prokaryotes along a Pacific Ocean transect. *Limnology & Oceanography* 47: 1508-1513.
- DANERI, G., V. DELLAROSSA, R. QUIÑONES, B. JACOB, P. MONTERO & O. ULLOA. 2000. Primary production and community respiration in the Humboldt Current System off Chile and associated oceanic areas. *Marine Ecology Progress Series* 197: 41-49.
- DANOVARO, R. & M. SERRESI. 2000. Viral density and virus-to-bacterium ratio in deep-sea sediments of the Eastern Mediterranean. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 1857-1861.
- DANOVARO, R.; A. DELL'ANNO, A. TRUCCO, A. M. SERRESI & S. VANUCCI. 2001. Determination of virus abundance in marine sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 1384-1387.
- DANOVARO, R.; E. MANINIO & A. DELL'ANNO. 2002. Higher abundance of bacteria than viruses in Mediterranean sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 1468-1472.
- FUHRMAN, J.A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 399: 541-548.
- GLUD R.N. & MIDDELBOE M. 2004. Virus and bacteria dynamics of a coastal sediment: Implication for benthic carbon cycling. *Limnology & Oceanography* 49: 2073-2081.
- HARA, S., I. KOIKE, K. TERAUCHI, H. KAMIYA & E. TANOUÉ. 1996. Abundance of viruses in deep oceanic water. *Marine Ecology Progress Series* 145: 269-277.
- HEWSON, I; J. A. O'NEIL, J.A. FUHRMAN & W.C. DENNISON. 2001. Virus-like particle distribution and abundance in sediments and overlying water along eutrophication gradients in two subtropical estuaries. *Limnology & Oceanography* 46: 1734-1746.
- MIDDELBOE, M., R.N. GLUD & K. FINSTER. 2003. Distribution of viruses and bacteria in relation to diagenetic activity in an estuarine sediment. *Limnology & Oceanography*, 48: 1447-1456.
- NOBLE, RT & J.A. FUHRMAN. 1998. Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses and bacteria. *Aquatic Microbial Ecology* 14: 113-118.
- PARSON, T.R., Y. MAITA, & C.M. LALLI. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Elmsford. 173 pp.
- STEWART, G.F., D.C. SMITH AND F. AZAM. 1996. Abundance and production of bacteria and viruses in the Bering and Chukchi Seas. *Marine Ecology Progress Series* 131: 287-300.
- TRONCOSO, V.A., G. DANERI, L.A. CUEVAS, B. JACOB & P. MONTERO. 2003. Bacterial carbon flow in the Humboldt Current System off Chile. *Marine Ecology Progress Series* 250: 1-12.

Abundancia viral en Chile central. CHIANG, O. *ET AL*

WEINBAUER, M.G. 2004. Ecology of procariotic viruses. *FEMS Microbiology Reviews* 28: 127-181.

WILLIMS, P.J. LE B. & N.W. JENKINSON. 1982. A transportable microprocessor controlled precise Winkler tritration suitable for field station and

shipboard use. *Limnology & Oceanography* 27: 576-584.

WOMMACK, K.E. & R.R. COLWELL. 2000. Virioplankton: Viruses in the aquatic ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 69-114.

Fecha de recepción: 08.04.06
Fecha de aceptación: 22.03.07