Las grandes bacterias del *Sulfureto de Humboldt*

The big bacteria in the *Humboldt Sulfuretum*

VÍCTOR ARIEL GALLARDO*, CAROLA ESPINOZA, ALEXIS FONSECA & SELIM MUSLEH

Laboratorio de Bentos, Departamento de Oceanografía
Casilla 160-C, Concepción
Universidad de Concepción, Concepción, Chile
*vagallar@gmail.com, vagallar@udec.cl

RESUMEN

Durante el primer estudio nacional de la zona de mínimo oxígeno (ZMO) y del macrobentos animal costa afuera del norte de Chile (1962), se descubrió una comunidad bentónica compuesta de bacterias filamentosas multicelulares gigantes en los sedimentos fuertemente reducidos entre 50 y 182 m. La masiva abundancia de filamentos bacterianos visibles a simple vista y el extremadamente escaso macrobentos animal, fueron rasgos inesperados. Más recientemente (2004) un nuevo ensamble de bacterias filamentosas multicelulares más pequeñas fue descubierto distribuido en los sedimentos más reducidos sub-superficiales del tapiz bacteriano. Hoy reconocemos que este ecosistema dominado por procariotas constituye un rasgo mayor y distinto al nivel mundial el que aquí denominamos “*Sulfureto de Humboldt*” (SH) por su distribución entre Perú central y Chile central. Durante un largo periodo de una intensa investigación que surge después de 1977, con fuerte contribución internacional, se ha acumulado un gran cuerpo de información sobre el primer ensamble y su ambiente, fundamental para la comprensión del funcionamiento del Gran Ecosistema Marino de Humboldt, en tanto que la investigación sobre el segundo ensamble recién comienza. El presente trabajo es un esfuerzo para reunir la mayor parte de la literatura pertinente con la intención de estimular a los científicos locales a enfrentar el necesario y urgente gran esfuerzo de investigación en las diversas líneas que la biota y el ambiente del Sulfureto de Humboldt ofrecen.

PALABRAS CLAVES: Sulfureto, tapetes microbianos, micropaleontología, astrobiología, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

During the first national study of the oxygen minimum zone (OMZ) and the animal macrobenthos off northern Chile (1962), a benthic community mainly composed of giant filamentous multicellular bacteria was discovered in the highly reduced shelf bottoms between 50-182 m depth. Totally unexpected were the great abundance of massive and visible filamentous bacteria and the pronounced scarcity of macrobenthic animals. More recently (2004) a new assemblage of smaller filamentous multicellular bacteria was again discovered interspersed within the more reduced subsurface sediment of the same bacterial mat. Today we recognize that this prokaryote-dominated ecosystem constitutes a major distinct benthic marine feature and thus it is here named “*Humboldt Sulfuretum*” (HS) for his distribution under the OMZ between central Peru and central Chile. During a period of intense scientific research which took off after 1977, strongly based on international collaboration, a large body of information fundamental to the understanding of the Humboldt Current Large Marine Ecosystem has accumulated on the first assemblage and its environment while the research on the second assemblage is just beginning. The present work is an effort to put together most of the pertinent literature with the intention of stimulating local researchers to face the much urgent, major scientific effort along the many lines offered by the biota and the environment of the Humboldt Sulfuretum.

KEYWORDS: Sulfuretum, microbial mats, micropaleontology, astrobiology, secondary metabolites.

INTRODUCCION

En los años fundacionales de las Ciencias del Mar en la Universidad de Concepción, uno de los rasgos más intrigantes del océano frente a Chile era la presencia de aguas de bajo contenido de oxígeno reportadas por

Gunther (1936) y su efecto sobre las pesquerías pelágicas del momento. En efecto, la importancia de la dinámica de las aguas desoxigenadas para las pesquerías de Chile central fue puesta sobre el tapete por Brandhorst (1959) quien organizara y/o estimulara los primeros cruceros bio-pesquero-oceanográficos realizados en el país, notablemente

la Expedición Mar-Chile I (1960) (ver Hartmann 1965). Le corresponderá luego al Departamento de Zoología de nuestra Universidad de Concepción la organización de la Expedición Mar-Chile II de julio de 1962 a bordo del escampavía de la Armada de Chile “Yelcho”. La iniciativa y organización de esta expedición fue obra de los Profesores Dr. Lisandro Chuecas, Ph. D., (Oceanógrafo Químico) y Héctor Inostroza, M. Sc. (Oceanógrafo Físico), quienes apoyaron la idea del autor principal de realizar muestreos bentónicos hasta donde fuese posible con los equipos del buque. El presente trabajo es una revisión de los alcances del particular hallazgo de grandes bacterias en los fondos del norte de Chile a bordo de esta última Expedición.

LAS GRANDES BACTERIAS

Si se define “serendipia” como: “hacer un descubrimiento o un hallazgo afortunado e inesperado que se produce cuando se está buscando otra cosa distinta” (<http://es.wikipedia.org/wiki/Serendipia>), el descubrimiento de bacterias gigantes en los fondos de la plataforma continental del norte de Chile hace medio siglo, es un buen ejemplo. Este suceso ocurrió en julio de 1962 en el marco de la Expedición “Mar-Chile II”, pionera en el estudio de la estructura de masas de aguas frente a la zona norte de Chile, en particular de la misteriosa masa de aguas intermedias deficientes en oxígeno. Esta circunstancia es la que hoy nos permite realizar esta breve revisión de los alcances de aquella decisión. No había

entonces recursos tecnológicos para muestrear el bentos profundo, sin embargo, se logró extraer muestras en las estaciones más costeras utilizando el cabrestante y cable de remolque del remolcador de alta mar, AGS “Yelcho” de nuestra Armada, en cada uno de los cinco cortes oceanográficos planificados entre los 18°29’– 20°48’S de latitud (Gallardo 1963) (Fig. 1). La serendipia está en que el objetivo del trabajo bentónico era conocer la composición de las comunidades de macro-invertebrados, siguiendo la escuela danesa (Thorson 1957). La hipótesis en boga que se intentaba testear durante la mencionada expedición era si en los fondos sublitorales del Pacífico Sur Oriental existían comunidades animales similares - “paralelas” - a las descritas para otras latitudes. Sin embargo, no obstante numerosos intentos con dragas cuantitativas y rastras cualitativas sólo se recuperaron escasos invertebrados bentónicos los que no alcanzaban para definir una comunidad animal. En cambio las muestras con rastras bentónicas extraían masivas muestras de filamentos blanquecinos desde fondos pútridos, con fuerte olor a ácido sulfhídrico. Enredados en la masa del material, predominantemente procariótico, se observó sólo pequeños poliquetos junto a escamas de peces, mandíbulas de cefalópodos, dientes de tiburón y huesos de peces y mamíferos marinos, teñidas de negro por efecto del ambiente sulfuroso en que estaban depositados (Gallardo 1963, Gallardo 1976, Milessi *et al.* 2005).

FIGURA 1. Cortes oceanográficos y posición de las estaciones de muestreo realizados entre el 12 y el 30 de julio de 1962 durante la Expedición “Mar-Chile II” a bordo del buque AGS “Yelcho” de la Armada de Chile.

FIGURE 1. Oceanographic transects and position of sampling stations covered between July 12 and 30, 1962 off northern Chile during the “Mar-Chile II” Expedition on board the AGS “Yelcho” of the Chilean Navy.

Las determinaciones del oxígeno disuelto realizadas durante la Expedición Mar-Chile II indicaron que los fondos con material filamentoso y restos óseos descubiertos estaban asociados a una gruesa capa de mínimo oxígeno y a una corriente que se dirigía hacia el sur, la Contracorriente Subsuperficial de Perú-Chile, también denominada Corriente de Gunther. El movimiento de las masas de agua se determinó mediante el método lagrangiano; se utilizaron paracaídas lastrados a las profundidades apropiadas. Hoy reconocemos a estos fondos marinos como un ecosistema natural mayor al nivel mundial y para diferenciarlo de las denominadas “dead zones” (Díaz & Rosenberg 2008) lo denominamos “Sulfureto de Humboldt” (SH) por su distribución entre Perú central y Chile central en el ámbito del Sistema de Corrientes de Humboldt. Distribuido bajo la denominada zona de mínimo oxígeno (OMZ), se estima que este sulfureto se extiende entre aproximadamente los 6°S y los 37°S, cubriendo potencialmente alrededor de 100.000 km² (Helly & Levin 2004).

Los análisis subsecuentes al descubrimiento del material filamentoso en el norte de Chile indicaron que el principal componente eran bacterias gigantes, multicelulares, uniseriadas, generalmente envueltas en una vaina gelatinosa. Se estimó que en el momento del muestreo este material debe haber constituido tapetes extensos y masivos a lo largo y ancho de los fondos de la estrecha plataforma continental (Figs. 2a, b; Figs. 3a, b, c, d). Tentativamente el material

filamentoso colectado en el SH y siguiendo la nomenclatura de la época, se identificó como “algas cianofíceas”, pero más tarde se determinaría como consistente de bacterias del género no fotosintético *Thioploca* (Lauterborn 1907), hasta ese momento sólo conocido de aguas dulces continentales (Gallardo 1977a, b). En colaboración con el Dr. Siegfried Maier, de la Ohio University se describieron dos nuevas especies, *i. e.*, *Th. araucae* y *Th. chileae* (Maier & Gallardo 1984a, b). Una revisión reciente (Salman *et al.* 2011) sugieren: (1) reconocer sólo *Thioploca araucae* como válida pese, a que ambas especies han sido objeto de numerosos estudios y que por más de 29 años -por razones justificadas- fueron reconocidas como buenas especies, y (2) aplicar el status taxonómico de *Candidatus* con el nuevo nombre de *Marithioploca* al conjunto. En adelante se seguirá la nomenclatura de Salman *et al.* (2011) excepto el no reconocimiento de *Thioploca chileae*, es decir, reconocemos una *Candidatus Marithioploca araucae* y una *Candidatus Marithioploca chileae*, las que para los efectos de este trabajo al conjunto lo denominaremos “*Candidatus Marithioploca*” chilenas o, en breve, CMs chilenas. Conviene, sin embargo, informar que el status de *Candidatus*: “... should be used for describing procaryotic entities for which more than a mere sequence is available but for which characteristics required for description according to the International Code of Nomenclature of Bacteria are lacking”, (Murray & Stackebrandt 1995). Aunque Salman *et al.* (2011) no especifican cuales son las características requeridas con que

FIGURA 2. **a.** Masivo material filamentoso bacteriano colectado con rastra bentónica desde sedimentos de la plataforma continental de Chile central (ca. 36°S) en diciembre de 1975 a 65 m de profundidad. La muestra es muy similar a la obtenida en el norte de Chile en 1962 durante la Expedición Mar Chile II. La foto muestra la captura obtenida después de 30 minutos de rastreo. Como referencia de tamaño de los filamentos es útil el tubo de poliqueto vacío en el centro de la foto que tiene aproximadamente 5 mm de diámetro. **b.** Marco y red de una rastra tipo Agassiz de 1 m de ancho, mostrando los filamentos enredados de *Candidatus Marithioploca* spp.

FIGURE 2. **a.** Massive bacterial filamentous material collected with a benthic dredge from central Chile shelf sediments (ca. 36°S) in December 1975 at 65 m depth, similar to those sampled in 1962 during the “Mar Chile II Expedition”. The photograph shows the yield after 30 minutes of dredging. The empty polychaete tube (ca. 5 mm in diameter) may be a reference to the size of the filaments. **b.** Frame of a 1 m wide Agassiz-type dredge showing the entangled filaments of *Candidatus Marithioploca* spp. When the bacterial mats are fully developed, the filaments can collapse the dredge, a well known occurrence by the hake and squat lobster fishers.

las CMs chilenas no cuentan, aceptaremos provisoriamente la nueva denominación en tanto reconoce el carácter exclusivamente marino de estas especies. Con fines ecológicos a estas formas filamentosas multicelulares las denominamos “megabacterias” *sensu* Gallardo & Espinoza (2007a, b) (Figs. 4a, b, c). Respecto de la morfología de

estas bacterias la denominación de “filamento” incluye la presencia de: (1) una vaina gelatinosa y (2) su contenido de tricomas, siendo éstos últimos cadenas uniseriadas de células similares, excepto las células apicales que pueden tener forma roma o aguzada (Fig. 4c). Es también común observar una variada comunidad de “macrobacterias” *sensu*

FIGURA 3. **a.** Vista desde arriba de una muestra de tapete microbiano obtenida con una caja sacatestigos GOMEX de 30x30 cm de ancho en la Estación 7 a 35 m de profundidad dentro de la Bahía de Concepción en enero de 1996. Se observa una densa distribución de tricomas de megabacterias *Candidatus* Marithioploca spp. El color blanco se debe a glóbulos intracelulares con azufre elemental. **b.** Muestra de tapete bacteriano en tubo de acrílico de 95 mm de diámetro obtenida en la Estación 7 (dentro de la Bahía de Concepción) a 35 m de profundidad en enero de 1996. Se puede observar la distribución vertical de las megabacterias CMs y la alta reducción del sedimento subyacente de color negro, hábitat de las macrobacterias principalmente. **c.** Foto de una porción de fondo marino tomada mediante buceo autónomo a más o menos 10 m de profundidad en la Bahía de Concepción que muestra la disposición normal del tapete de CMs en la naturaleza (Foto: S. Nuño). **d.** Filamentos de CMs después de ser eliminado el sedimento mediante tamizado a través de un cedazo con malla de 0,5 mm por lado.

FIGURE 3. **a.** Top view of a sample of bacterial mat obtained with a GOMEX box-corer 30x30 cm wide at Station 7, 35 m depth, Bay of Concepción, January 1996. A dense distribution of trichomes of the megabacteria CMs is observed. The white color is due to intracellular elemental sulfur globules. **b.** Sample of bacterial mat obtained with a GOMEX multicorer with acrylic tubes 95 mm in diameter at Station 7, 35 m depth, Bay of Concepción, January 1996. The vertical distribution of the CMs and the strong reduction of the black subjacent sediment can be observed. **c.** The picture shows a portion of the sea floor at ca. 10 m depth within the Bay of Concepción showing the normal disposition of the CMs bacterial mat (Photo: S. Nuño). **d.** CMs filaments after sieving through a 0.5 mm mesh.

(Gallardo & Espinoza 2007a) viviendo en la vaina de las CMs chilenas, posiblemente también de microbacterias, por ejemplo bacterias anammox (ver más adelante), una característica que sugiere simbiosis o sintrofia (Prokopenko *et al.* 2006, Teske *et al.* 2009, ver más adelante). Los tricomas pueden presentarse por cientos dentro de una vaina así como también hay vainas con pocos tricomas o incluso ninguno, por ejemplo después de la ocurrencia de condiciones ambientales desfavorables (altos niveles de oxígeno disuelto y carencia de sulfuro de hidrógeno). En Chile central estas condiciones se dan estacionalmente (otoño e invierno) e interanualmente (eventos El Niño). Los filamentos se disponen en general verticalmente dentro del sedimento con el extremo sobresaliendo levemente del mismo, lo que bajo condiciones ambientales favorables, *i. e.*, $<0.5 \text{ mL O}_2 \text{ L}^{-1}$, permite a los tricomas asomar hasta varios cm en la interfaz sedimento-agua rica en H_2S , la molécula dadora de electrones (Huettel *et al.* 1996). Los tricomas pueden deslizarse independientemente dentro de la vaina entre la zona profunda sedimentaria y la zona de la interfaz sedimento-agua donde se ubica el aceptor de electrones, el

nitrito (Fossing *et al.* 1995). Para facilitar el tráfico dentro de la vaina las células apicales de los tricomas con el tiempo modifican su morfología desde una forma roma, que refleja una reciente división transversal de un largo tricoma madre, hasta formas extremadamente aguzadas. Los tricomas de las CMs son multicelulares con un variado número de células, varias decenas a cientos de ellas (Figs. 5a, b, c, d). Importa señalar que el más pequeño espécimen observado de las CMs chilenas consistía sólo de cuatro células y, además, que nunca se ha observado un espécimen unicelular. Ocasionalmente se ubican en una misma vaina tricomas de ambas CMs (Fig. 6). También la literatura menciona una tercera forma muy pequeña, básicamente una macrobacteria, la que se ha dado en denominar “*Thioploca marina*”, que aun no ha sido descrita y hoy no se reconoce como *Candidatus*, aunque ocasionalmente se encuentra mezclada dentro de vainas con alguna de las otras dos especies de CMs. También, en el caso de sedimentos no consolidados, se puede encontrar tricomas aislados, sin vaina, lo que determina que la clave de identificación de Bergey’s (Maier 1989) que indicaba “tricomas en vaina = *Thioploca*, y

FIGURA 4. **a.** Porción media de un tricoma de la *exThioploca araucae*. Se observan las células cortas, los glóbulos intracelulares y la presencia de una vacuola central. **b.** Porción apical de un tricoma de la *exThioploca chileae*. **c.** Porciones de dos tricomas de la *exThioploca araucae* demostrando la diferente morfología de la célula apical. La célula apical redondeada resulta de una reciente división celular, mientras que la célula apical aguzada está ya adaptada para deslizarse en medio de múltiples tricomas dentro de una vaina común (no mostrada).

FIGURE 4. **a.** Median portion of a trichome of the *exThioploca araucae*. Short cells, intracellular globules and the presence of a central vacuole can be observed. **b.** Apical portion of the *exThioploca chileae*. **c.** Portions of two *exThioploca araucae* apical portions showing the different morphology of the apical cell. The rounded apical cell indicates a recent cellular division, while the pointed apical cell it is already adapted to slide among multiple trichomes within a common sheath (not shown).

tricomas libres de vaina = *Beggiatoa*”, era incorrecta. El uso de esta clave en la práctica resultó en determinaciones o asignaciones taxonómicas y árboles filogenéticos que agrupaban formas estrechamente emparentadas pero que tenían diferentes nombres científicos o designaciones (Schmaljohann *et al.* 2001, Musmann *et al.* 2003), entre otros y es posible que aun existan casos en la literatura donde se asigna el nombre de *Beggiatoa* a lo que hoy se denominaría CM. Casos más específicos son el de la “gran *Beggiatoa* de la Bahía de Concepción” (Teske *et al.* 1999) y las *Beggiatoa* de los cañones submarinos de California, *i. e.*, Monterey Canyon (McHatton *et al.* 1996, Ahmad *et al.* 1999) y Carmel Canyon (Kalanetra *et al.* 2004) (Fig. 7 a,

b, c). El ordenamiento propuesto por Salman *et al.* (2011) soluciona estos problemas particulares creando los géneros de *Candidatus Marithioploca* y *Candidatus Maribeggiatoa*. De este modo la forma originalmente denominada “gran *Beggiatoa* de la Bahía de Concepción” pasa a ser *Candidatus Marithioploca araucae*, taxón que, según Salman *et al.* (2011) incluiría a la previamente descrita *Th. chileae*, proposición no aceptable por nosotros. Es interesante que según Salman *et al.* (2011) las previamente denominadas *Beggiatoa* de los cañones submarinos de California, pasan a constituir una nueva especie de *Candidatus Maribeggiatoa*, *v. gr.*, *C. M. vulgaris* y al mismo tiempo la *Beggiatoa* común asociada a los tapetes microbianos de Bahía de

FIGURA 5. **a.** Filamento de *Candidatus Marithioploca araucae* (CMA) de más de 20 cm de longitud obtenido frente a Iquique, norte de Chile (Expedición MINOX marzo 2000). **b.** Microfotografía de microscopio electrónico de barrido mostrando un filamento de CMA y la vaina gelatinosa que envuelve varios tricomas emergentes. **c.** *Idem* con mayor magnificación. (Gentileza del Prof. Dr. M. Steiner, Berlin Technical University, Alemania). **d.** Grandes filamentos de CMA sobre la malla de 1 mm² de un cedazo geológico. La muestra se obtuvo en la Estación 14, a 65 m de profundidad fuera de la Bahía de Concepción, diciembre de 1975.

FIGURE 5. **a.** Filament of *Candidatus Marithioploca araucae* (CMA) longer than 20 cm obtained off Iquique, northern Chile (MINOX Expedition, March 2000). **b.** Scanning electron microscope photograph of a CMA filament showing the gelatinous sheath surrounding several emerging trichomes. **c.** *Idem* under larger magnification. (Photos kindly supplied by Prof. Dr. M. Steiner, Berlin Technical University, Germany). **d.** Large filaments of CMA on a geological sieve with a 1 mm² mesh, obtained at Sta. 14 at 65 m depth off the Bay of Concepción, December 1975.

Concepción, Chile central, pasa a un nuevo género, *i. e.*, *Candidatus* Isobeggiatoa sp. 'Chile'. Estas especies de megabacterias oxidan sulfuro de hidrógeno y poseen morfologías similares como lo son: su forma multicelular seriada, con células cilíndricas que contienen glóbulos de azufre elemental. En especies de otros géneros de la misma familia Beggiatoaceae se han descrito diversos tipos de glóbulos intracitoplasmáticos que pueden incluir, aparte del azufre elemental, fosfolípidos, polihidroxiálcanoatos (PHA), glicógeno y posiblemente otras poliglucosas, como combustible para los metabolismos heterotróficos adicionales a los quimiolitotróficos, *i. e.*, polifosfatos. Estos últimos han sido descritos para *Thiomargarita* por Schulz & Schulz (2005) y para *Beggiatoa* por Brock *et al.* (2012). En general las megabacterias incluyen una gran vacuola intracelular (Schulz 2006) que es un reservorio de nitrato altamente concentrado (160-500 mM), lo que constituye un rasgo muy singular (Schulz 2006, Peixoto de Albuquerque 2010). Schulz (2006) indica que el nitrato puede ser utilizado por las bacterias sulfuro-oxidantes como su único aceptor de electrones o como una fuente alternativa y que la acumulación de nitrato en altas concentraciones permite a *Thioploca* y *Beggiatoa* transportar al nitrato como un aceptor de electrones hacia el interior del sedimento hasta encontrar sulfuro de hidrógeno, el dador de electrones.

Nota además que pueden almacenar azufre elemental internamente también como dador de electrones (Fig. 8). Debido a que ambas *Thioploca* son capaces de almacenar tanto aceptores como dadores de electrones en altas concentraciones y migrar entre la superficie del sedimento donde encuentra nitrato y zonas más profundas dentro de sedimento donde se encuentra el sulfuro, estas formas de vida pueden monopolizar esta fuente de energía la que sólo queda disponible para ellas. Es interesante especular sobre el origen de esta adaptación que obviamente permite utilizar un nicho ecológico muy exclusivo y nos hace recordar el trabajo de Shapiro (2007).

Se sugiere que después del GOE ("Great Oxygenation Event"), alrededor de 2.400 millones de años antes del presente y el concomitante incremento de la disponibilidad de nitrato, existieron presiones evolutivas para que posiblemente a partir de macrobacterias anaeróbicas algunas se especializaran y aprovecharan la bonanza de aceptores de electrones anteriormente muy escasos, fundamentalmente Fe^{2+} . Más adelante se mencionará más detalladamente otra estrategia con el mismo objetivo, *i. e.*, la utilizada por las denominadas "cable bacteria" o macrobacterias eléctricas, estrategia sofisticada cuyo origen podría ser más antiguo que el desarrollado por las megabacterias que son aeróbicas.

FIGURA 6. Vaina conteniendo simultáneamente tricomas de *Candidatus* Marithioploca araucae (CMA) (más gruesa) y de *Candidatus* Marithioploca chileae. Estas formas pueden ser encontradas en vainas separadas, compartiendo una misma vaina o solitarias libres sin vaina.

FIGURE 6. Sheath simultaneously containing *Candidatus* Marithioploca araucae (CMA) and *Candidatus* Marithioploca chileae trichomes. These forms can be found in separated sheaths, sharing the same sheath, or freely without sheath.

FIGURA 7. Secciones pertinentes de los árboles filogenéticos publicados por: a. Mussmann *et al.* 2007; b. Salman *et al.* (2011); c. Salman *et al.* (2011).

FIGURE 7. Pertinent sections of the published phylogenetic trees by: a. Mussmann *et al.* 2007; b. Salman *et al.* (2011); c. Salman *et al.* (2011).

FIGURA 8. Diagrama que muestra la ecofisiología de *Candidatus Marithioploca* (según Otte *et al.* 1999): (a) Agua de fondo con bajo contenido de oxígeno disuelto, normalmente $< 0.5 \text{ mL L}^{-1}$ pero alto nitrato ($\sim 10\text{--}38 \text{ } \mu\text{M L}^{-1}$); (b) trichoma dentro de (c) vaina gelatinosa; (V) vacuola conteniendo nitrato en concentraciones de alrededor de 20,000 veces el nivel ambiental; (d) epibiontes en vaina; (e) sedimento superficial ligeramente oxidado; (f) sedimento anóxico; (g) macrobacteria en sedimento circundante. Se muestran los productos del metabolismo, *i. e.*, el amonio y el nitrito resultante de la reducción del nitrato; el sulfato y el azufre elemental (glóbulos S^0) resultantes de la oxidación del sulfuro de hidrógeno.

FIGURE 8. Cartoon showing the ecophysiology of *Candidatus Marithioploca* (after Otte *et al.* 1999 and own observations). (a) Bottom water with low dissolved oxygen, normally $< 0.5 \text{ mL L}^{-1}$ but high levels of nitrate ($\sim 10\text{--}38 \text{ } \mu\text{M L}^{-1}$); (b) trichome inside gelatinous (c) sheath; (V) Vacuole-containing nitrate in concentrations around 20,000 times the environmental level; (d) epibionts in sheath; (e) surface sediment slightly oxidized; (f) anoxic sediment; (g) macrobacteria in surrounding sediment. Metabolic products are shown, *i. e.*, ammonium and nitrite resulting from the reduction of nitrate; sulfate and elemental sulfur (S^0 globules) resulting from the oxidation of hydrogen sulfide.

Otro bioelemento importante asociado a las megabacterias es el fósforo. Reconociendo la estrecha similitud entre el ambiente propicio para la formación de fosforitas y su distribución según Burnett (1974) y Manheim *et al.* (1975) y el ambiente de las megabacterias Gallardo (1976 y 1977b) planteaba: ... “*It would also seem appropriate to examine the possible relationship between the ... populations [of Thioploca] and the genesis of phosphorite deposits which off south-western South America share the same environment*”. Según Manheim *et al.* (1975), cuatro eran los requisitos para la formación de depósitos de fosforitas: (a) sedimentos ricos en materia orgánica, (b) aguas sobre el fondo con bajas concentraciones de oxígeno, (c) bajas tasas de sedimentación inorgánica (especialmente terrígena), y (d) concentraciones bajas pero no despreciables de carbonato de calcio en el sedimento. Prácticamente todos estos requisitos se dan en la región más septentrional del Sulfureto de Humboldt. La confirmación de esta asociación se realizó recientemente con el trabajo de Schulz & Schulz (2005) que asocian a la bacteria gigante del sulfureto de Namibia, *Thiomargarita namibiensis*, con la formación de fosforita en el ecosistema de la Corriente de Benguela. Esta especie pertenece a la misma familia Beggiatoaceae que las especies de CMs chilenas lo que sugiere que podría definitivamente existir una asociación similar en el Sulfureto de Humboldt. Las probabilidades de que esto se diese aumentaron luego de la publicación de Brock *et al.* (2012) que encuentran inclusiones de polifosfato en una cepa de *Beggiatoa* y además, que en cultivos de una cepa marina de *Beggiatoa*, el sulfuro induce en este género la liberación de polifosfatos (Brock *et al.* 2011). La micropaleontología también apoya la relación propuesta entre bacterias sulfurosas de la familia Beggiatoaceae y los depósitos de fosforitas (Bailey *et al.* 2007). Estos autores rescatan la similitud morfológica entre fósiles globulares similares a *Thiomargarita* en fosforitas de la formación Doushantuo (China del Sur) del Neoproterozoico de 600 millones de años de edad. Finalmente, la genómica, confirma las bases genéticas de la presencia de polifosfatos (poli-P) en *Beggiatoa* (Mussman *et al.* 2007), posiblemente válidas también para otros géneros de la familia Beggiatoaceae, *i. e.*, *Thiomargarita* y las CMs chilenas, aunque es preciso mencionar que el polifosfato no fue detectable en CMs chilenas mediante microautorradiografía, ni tinciones ni microscopia (Hoegslund *et al.* 2009).

El mismo estudio genómico antes citado de Mussman *et al.* (2007) abre una nueva línea de investigación muy importante para Chile al identificar genes en la megabacteria *Beggiatoa* que codifican metabolitos secundarios, *i. e.*, sintetisas peptídicas ribosomales y sintetisas policetidas (PKS= *polyketide synthase*). Este conocimiento fue puesto a prueba con las megabacterias del SH con resultados positivos (Li *et al.* 2013) quienes describen una nueva molécula -

macplocimine A - un metabolito secundario macrólido (con acción antibiótica) obtenido de muestras de tapetes dominados por la *exThioploca* de la Bahía de Concepción, Chile central. Este descubrimiento permite vislumbrar que la extraordinariamente diversa biota microbiana del Sulfureto de Humboldt, además de su rol oceanográfico y ecológico, podría tener importancia biotecnológica.

Las similitudes entre el ecosistema de surgencias costeras de Humboldt y el de Benguela permitían pronosticar la existencia en este último de tapetes microbianos como los encontrados en el norte de Chile (Gallardo 1977a). Indicios de su existencia se encontraron en un informe de investigación pesquera (Bonde 1928) quien reportó cantidades substanciales de material biológico recolectado frente a Walvis Bay mediante redes de pesca de arrastre de fondo al que denominó “*slimy grass*”, “*algae*” o “*seaweeds*”, en profundidades entre 84 y 212 m, o sea, similar a los hallazgos en el norte de Chile de 1962, descartando también que se trate de material vegetal. Los muestreos bentónicos realizados en diciembre de 1996 frente a Walvis Bay (Gallardo *et al.* 1998), sin embargo, no confirmaron la presencia de tapetes bacterianos sino que sólo rindieron escasos filamentos con tricomas morfológicamente similares a la *exThioploca chileae* ostensiblemente muertos en el momento de la recolección. El sustrato muestreado estaba constituido por un fango fuertemente reducido y muy fluido. Una condición similar es reportada para abril de 1997 para el mismo ecosistema, *i. e.*, “*Thioploca ... were present, but only in low numbers [sic]. The high fluidity and instability of sediments at Walvis Bay, however, seem to prevent Thioploca from forming vertical sheaths and establishing dense populations*” (Schulz *et al.* 1999). El nivel de oxígeno disuelto en el fondo fue de 0-3 μM y el del H_2S fluctuaba entre 100 y 800 μM . De acuerdo con experimentos en meso-cosmos con CMs chilenas en la Estación de Biología Marina de Dichato (Huettel *et al.* 1996), el óptimo para su supervivencia incluye un máximo de 40 μM de oxígeno en la interfaz agua-sedimento y un máximo de 500 μM de sulfuro de hidrógeno en el sedimento sub-superficial. Los hallazgos de cantidades de “*slimy grass*” en la zona de Walvis Bay (Bonde 1928) probablemente indican que al igual que en el Sulfureto de Humboldt, existen en el putativo Sulfureto de Benguela variaciones estacionales y posiblemente de mayor ciclo, *i. e.*, interanuales, que se expresan geográficamente en forma diversa (Monteiro *et al.* 2006).

Durante la década de los '90 y siguiente se llevó a cabo un proceso de investigación cooperativa internacional intenso que involucró al Laboratorio de Bentos del Departamento de Oceanografía de nuestra Universidad y el Instituto Max Planck de Microbiología Marina de Bremen, Alemania, *i. e.*, las “Expediciones *Thioploca*-Chile” de 1994, 1996, 1998, 2006). Estas expediciones se centraron en torno a estudios sobre la filogenia, biología molecular, ecología y

ecofisiología de las megabacterias y la biogeoquímica de su hábitat. Los resultados se han ido describiendo a lo largo de los años, hasta el presente: *v. gr.*, Fossing *et al.* (1995), Jannasch (1995), Teske *et al.* (1995), Huettel *et al.* (1996), Ferdelman *et al.* (1997), Brinkhoff *et al.* (1999), Fukui *et al.* (1999), Jørgensen & Gallardo (1999), Otte *et al.* (1999), Schubert *et al.* (2000), Schulz *et al.* (1996, 2000), Schulz & Jørgensen (2001), Teske & Nelson (2006), Teske *et al.* (1995, 1999, 2009), Arning *et al.* (2008), Zopfi *et al.* (2001, 2008), Høglund *et al.* (2008, 2009), Jørgensen (2010). Con el objeto de conocer el ambiente oceanográfico en que se desarrollaba la comunidad de grandes bacterias, se acopló a las actividades de la Expedición “*Thioploca*-Chile 1994” dos cruceros oceanográficos a bordo del B/O “Vidal Gormaz” de la Armada, uno al comienzo (7-8 de marzo) y el otro al final (30-31 de marzo) de la Expedición en marzo de 1994. Estos cruceros consistieron principalmente de observaciones hidrográficas y la instalación por casi un mes de 16 correntómetros en el área comprendida entre los cañones submarinos del Río Itata y del Río Bio-Bío, los límites de la zona de interés de la expedición (Tabla 1 y Anexos 1 y 2). Los datos presentados en los anexos representan una situación típica, no-El Niño con relativamente bajas temperaturas superficiales pese a ser verano, una capa de mínimo oxígeno bien desarrollada y altos contenidos de nitrato sub-superficiales. Resultados de las mediciones de corrientes dieron origen a los trabajos de Sobarzo & Djurfeldt (2004) y Sobarzo *et al.* (2007). En resumen, la literatura citada arriba constituye hoy una importante fuente de información sobre la historia natural, ecología y oceanografía del Sulfureto de Humboldt frente Chile central.

Entre numerosos otros resultados de la Expediciones “*Thioploca*-Chile”, resaltan: el descubrimiento de la asociación de los ciclos del C, S y N con la fisiología de las megabacterias, las muy altas tasas de sulfato reducción en los sedimentos del sulfureto, la fuerte hipoxia y la ocasional anoxia, la eficaz reducción del nitrato a amonio, la posible participación de bacterias anammox en la oxidación del amonio y la eficiente oxidación del sulfuro de hidrógeno mediada por las grandes bacterias. Este último proceso constituye una detoxificación del hábitat bentónico posibilitando la convivencia de un sistema mixto procariota/eucariota (Gallardo 1985), involucrando no sólo otros microbios (Protistas), sino que también metazoos con adaptaciones fisiológicas a la hipoxia, *i. e.*, nemátodos, poliquetos (González & Quiñones 2000) y crustáceos galatéidos (Gallardo *et al.* 1994, Roa *et al.* 1995).

En una mirada geológica estas observaciones sugieren que así como el oxígeno disuelto aumentaba en el océano en el Eón Proterozoico, este mismo tipo de bacterias o sus primitivos ancestros pudieron haber jugado un rol

importante en la colonización del ambiente bentónico profundo al facilitar el asentamiento de eucariotas de metabolismo aeróbico. Por otro lado, su participación en la reducción disimilativa del nitrato a amonio (“*dissimilative reduction of nitrate to amonium*” o RDNA) y nitrito, lo que significa una regeneración de nutrientes críticos para la productividad primaria del sistema, el amonio así producido podría constituir un importante aporte, aunque aún no investigado en detalle, a la alta productividad del Gran Ecosistema de Humboldt (Graco *et al.* 2001, Zopfi *et al.* 2001). Esta interacción obviamente posible entre el pélagos y el bentos en este sistema de corrientes de borde oriental, aparece como un buen ejemplo de “autopoiesis” (Varela *et al.* 1974) que es definida como la capacidad de un sistema de autoreproducirse. Esta visión es particularmente intrigante si se considera que los tapetes bacterianos del sulfureto de Humboldt pueden constituir standing-stocks en el orden de millones de toneladas de C, N, S y P (Gallardo *et al.* 2013) disponibles no sólo para sustentar la vida en la zona costera, nerítica y sublitoral sino que también para la vida en la alta mar, incluyendo las zonas batial, abisal y hadal (Trinchera de Atacama) frente a Chile y Perú.

Es preciso resaltar la singular capacidad de las CMs chilenas de conectar los ciclos del C, S, N y P a través de la autotrofia (quimiosíntesis) y la heterotrofia (mixotrofia) (Maier & Gallardo 1984b). La primera función involucra la oxidación del hidrógeno sulfurado mediante el nitrato resultando por un lado NH_4^+ y NO_2^- y por el otro S^0 y SO_4^{2-} (Otte *et al.* 1999) (Fig. 8). Aunque estos autores encuentran que bajo las condiciones experimentales las CMs chilenas también reducen en pequeña proporción el nitrato a N_2 , *ca.* 15% de la producción de amonio (probablemente con la colaboración de las bacterias anammox, desconocidas entonces), sugieren que la principal vía metabólica de ellas es la reducción de nitrato a amonio. Además resaltan la implicancia ecológica de este hallazgo ya que esta fisiología de las CMs no significaría una pérdida de nitrógeno en el vasto ecosistema de océano costero que se extiende entre el Perú y Chile. El potencial rol biogeoquímico de los tapetes de las CMs, particularmente en la dinámica del N, fue estudiado por Farías *et al.* (1996), Farías (1998), Graco *et al.* (2001) y Muñoz *et al.* (2004). Los primeros autores explicaron los altos flujos de amonio debido a su actividad metabólica a través de la interfaz sedimento/agua de la Bahía de Concepción adelantándose a los resultados experimentales de Otte *et al.* (1999). Corresponde consignar que estos últimos experimentos se realizaron en la Estación de Biología Marina de Dichato durante la Expedición “*Thioploca*-Chile 1996” bajo la dirección del Prof. J. Gijs Kuenen, líder del grupo de investigadores que descubrió la reacción anammox (ver Kuenen 2008). Coincidentemente, en el mismo año 1999 se describen las bacterias responsables de la reacción anammox como miembros del

filo Planctomycetes (Strous *et al.* 1999). Estos “*lithotrophs missing from nature*” sugeridos originalmente por Broda (1977) pudieron haberse propuesto para una asociación con las CMs chilenas luego de descubrir que su actividad metabólica resultaba precisamente en las dos moléculas requeridas por las bacterias anammox, *i. e.*, amonio y nitrito, y que también se detectó la producción de N_2 en menor proporción lo que, correctamente, se supuso podría ser el resultado del trabajo de epibiontes (en ese momento las bacterias anammox eran aún desconocidas), o de la fisiología de las CMs. Los primeros autores que aparecen relacionando la producción de N_2 del sistema configurado por una CM y

su vaina con bacterias anammox fueron Prokopenko *et al.* (2006) quienes propusieron que en sedimentos del Pacífico Norte Subtropical frente a México parte del amonio sería oxidado a N_2 en la vaina de la CM mexicana (asignada en esa publicación a *Thioploca araucae*). Esta reacción resultaría de una posible quimiosimbiosis o sintrofia entre “*Thioploca*” y bacterias anammox que viven en su vaina, en estrecho contacto con sus tricomas (Prokopenko *et al.* 2013). En este trabajo estos autores discuten la naturaleza de la asociación entre la CM mexicana (*Thioploca araucae*) y las bacterias anammox, como sigue:

TABLA 1. Estaciones de muestreo creadas por la Expedición *Thioploca*-Chile el 6 de marzo de 1994 en la Bahía de Concepción y margen continental adyacente.

TABLE 1. Sampling stations created for the Bay of Concepción and the adjacent continental margin by the *Thioploca*-Chile-1994 Expedition on March 6, 1994.

EST. N°	POSICIÓN	PROF. (m)	t°C (fondo)	SEDIMENTO	OBSERVACIONES (<i>Thioploca/Beggiatoa</i> *)
2	36°40,1'S - 73°03,9'W	19	11,4	Fango negro	sin datos
4	36°38,7'S - 73°02,2'W	29	11,9	Fango negro	<i>Beggiatoa</i> * mat
6	36°37,3'S - 73°00,5'W	34	11,4	Fango negro	Mucha <i>Beggiatoa</i> *, + que en Est. 4
7	36°36,5'S - 73°00,6'W	37	11,6	Fango negro	<i>Thioploca</i> + <i>Beggiatoa</i> *
8	36°35,6'S - 73°00,7'W	39	11,5	Capa superficial parda	Mucha <i>Beggiatoa</i> , + que en Est. 4
9	36°34,6'S - 73°00,8'W	36	11,5	0-1 cm pardo, 1-2,5 cm negro; debajo de 5 cm gris	<i>Thioploca</i> pero más poliquetos
10	36°33,6'S - 73°00,9'W	39	11,4	0-0,5 cm pardo, 0,5-1,5 negro; debajo de 1,5 cm gris	Igual que Est. 9, pero menos <i>Thioploca</i>
13	36°32,4'S - 73°01,8'W	45	11,5	0-0,5 cm pardo; 0,5-2 cm negro; debajo de 2 cm gris	<i>Thioploca</i> y poliquetos
14	36°32,1'S - 73°03,0'W	57	11,5	0-0,25 cm pardo; 0,25-0,50; 0,50-8 cm pardo; 8-11 cm negro; debajo de 11 cm gris	<i>Thioploca</i>
18	36°30,8'S - 73°07,7'W	87	11,7	Perturbada	Tapete de <i>Thioploca</i>
21	36°29,5'S - 73°11,7'W	101	11,3	0-3 cm amarillo verdoso, debajo 3 cm verde oscuro	Tapete de <i>Thioploca</i> , la mitad que en Est. 18
26	36°25,9'S - 73°23,4'W	122	11,2	0-8 cm verdoso	Escasa <i>Thioploca</i>
27	36°25,3'S - 73°26,1'W	121	sd	Arrecife de grava - Grava verdosa	sin datos
28	36°24,5'S - 73°28,4'W	120	sd	Caja sacatestigos vacío, probablemente arrecife de piedra	sin datos
32	36°23,8'S - 73°32,0'W	197	sd	Arena	sin datos
33	36°23,8'S - 73°33,2'W	280	sd	Arcilla	sin datos
34	36°23,3'S - 73°33,6'W	396	7,6	Arena limos (1-2 mm)	sin datos
36	36°22,6'S - 73°35,9'W	577	5,2	Arcilla	sin datos
40	36°20,1'S - 73°43,7'W	1015	7,1	Limo	sin datos
41	36°19,6'S - 73°49,3'W	2000	sin datos	sd	sin datos

* Probablemente tricomas de *Thioploca* libres, sin vaina.

“Thioploca serves as a beneficial host for anammox bacteria by providing the metabolically required substrates. However, whether the described symbiosis represents mutualism, syntrophy or commensalism remains uncertain. At sulphidic boundaries, Thioploca may need to rapidly convert toxic HS⁻ to elemental S⁰, generating nitrite. Nitrate is a potentially toxic metabolite, so active nitrite removal by anammox would be advantageous for Thioploca, benefiting both bacteria (mutualism). If Thioploca actually requires anammox to remove nitrate, this mutualism would be classified as a syntrophy. Alternatively, anammox may simply be using nitrite leaking from Thioploca with no benefit to Thioploca (commensalism).

El que las CMs chilenas no generaban N₂ en la reducción del nitrato y que tampoco funcionaba en ellas el proceso anammox fueron resultados de experimentos realizados en la Estación de Biología Marina de Dichato (EBMD) en el verano de 2006 (Hoegslund *et al.* 2009). Sin embargo, se contraponen a estos resultados, experimentos independientes realizados en un curso internacional de verano (ASI-6), también en Dichato el mismo verano de 2006. En primer lugar se identificaron bacterias anammox mediante PCR (com. pers. Dra. Jenny Blamey, Bioscience Foundation, Santiago de Chile) y además, también en la EBMD el verano de 2006 y luego en el verano de 2007, en colaboración con investigadores del Instituto Max Planck de Microbiología Marina de Bremen, Alemania, se obtuvo filotipos estrechamente relacionados con “*Scalindua*” (un género de bacteria anammox) en sedimentos de las Estaciones 7 y 18 (Tabla 1) (A. Teske, com. pers.). A esta información se suma la gran base de datos de secuencias cortas de la región V6 del gen del RNA ribosomal 16S (ver metodología en Huse *et al.* 2008) logradas por los autores durante el desarrollo del programa global *Census of Marine Life* y el proyecto FONDECYT 1070552 de muestras obtenidas entre 2007 y 2009 en sedimentos de Bahía de Concepción y plataforma adyacente, las que rindieron diversos filotipos del filo Planctomycetes entre los que se observan los siguientes géneros de bacterias anammox, *i. e.*, *Scalindua*, *Brocadia* y *Kuenenia*. Como conclusión tentativa, es muy probable que las CMs Chilenas presenten la misma asociación con bacterias anammox que la descrita del Pacífico mexicano. Prokopenko *et al.* (2006) expresan ... “*Whether this process (Anammox) contributes to denitrification [or not] depends on whether the ammonium produced escapes into the water column where it can be assimilated or converted into nitrate, or whether the ammonium is completely re-oxidized in the sediments and subsequently denitrified before it can escape*”. Esta declaración imprime alguna urgencia a la confirmación de la existencia de un consorcio entre bacterias anammox y las CMs chilenas y sus efectos biogeoquímicos ya que ello contribuiría a dilucidar si el Sulfureto de Humboldt es

un sistema nitrificante neto, por la producción de amonio resultante de la fisiología de las CMs o desnitrificante por acción de las bacterias anammox.

Considerando los niveles que pueden alcanzar los standing-stocks de las CMs chilenas en el sistema de corrientes de Humboldt (Gallardo *et al.* 2013), dilucidar este dilema es fundamental para comprender cómo realmente funciona el “Gran Ecosistema de Humboldt”, meta que aun no se ha alcanzado. Quiñones *et al.* (2010) señalan que: “*One of the major enigmas regarding the OMZ [Oxygen Minimum Zone] of the HCS [Humboldt Current System] is the question of the biogeochemical role played by it and its inhabitants*”. Dada la extraordinariamente alta productividad del Sistema de Corrientes de Humboldt (SCH) y los estimados altos volúmenes de nitrato que estarían procesando las CMs chilenas (Gallardo *et al.* 2013), se podría inferir que una porción substancial del amonio resultante de su fisiología es conservada quedando disponible a otros micro-organismos del ecosistema los que a su vez aportarían a la trama trófica general alimento adicional al fotosintético. En relación con la gestión de las grandes pesquerías nacionales aparece entonces como urgente determinar el rol de la quimiosíntesis en el seno del Sulfureto de Humboldt. Sobre el particular se comenta que no obstante el SCH tiene niveles de productividad primaria fotosintética del orden de 1 kg C m⁻² año⁻¹ (Daneri *et al.* 2000 *fide* Quiñones *et al.* 2010), estos no explican los volúmenes de capturas de peces pelágicos en la región centro-sur donde se ubica la región pesquera más importante de Chile (Cubillos *et al.* 1998 *fide* Quiñones *et al.* 2010). Se sospecha, entonces, que otros inputs pudiesen estar involucrados y se confirma que existen aun vacíos en el conocimiento requerido para una mejor comprensión del funcionamiento del Sistema de Corrientes de Humboldt (SCH) necesaria para su adecuada gestión.

Una guía para futuros estudios en el Sulfureto de Humboldt son las investigaciones de científicos del Leibniz-Institut für Meereswissenschaften, IFM-GEOMAR de Kiel, Alemania, quienes han trabajado sobre el tema del nitrógeno en sedimentos frente al Perú. A continuación resumimos sus hallazgos. En gran medida la cantidad de nitrógeno disponible o nitrógeno disuelto constituido por el nitrato, el nitrito y el amonio depende del balance entre las pérdidas por desnitrificación y anammox y las ganancias por la fijación de nitrógeno elemental. Recientes estudios en la zona frente al Perú, bajo la influencia del Sulfureto de Humboldt, las investigaciones de Bohlen *et al.* (2011) a los 11° de latitud S concluyen que las vías y tasas que determinan el ciclo del nitrógeno presentan dramáticos cambios batimétricos. Los procesos que llevan a la producción de amonio mediante la reducción disimilativa del nitrato predominan en la plataforma y zona batial

superior (80-260 m), donde las tasas de mineralización de la materia orgánica eran altas y las aguas cercanas al fondo eran anóxicas (primavera de 2008), además de carentes de nitrato y nitrito. Estos sedimentos obviamente representan localidades donde se reciclaban los compuestos solubles de nitrógeno liberando grandes cantidades de amonio el que según los autores puede crear un *feedback* positivo sobre la productividad primaria y una reducción del oxígeno en la ZMO frente al Perú. A profundidades mayores (>300 m) donde la degradación de la materia orgánica fue menor y las concentraciones de nitrato mayores, la desnitrificación fue la vía predominante. Aquí los sedimentos eran entonces un sumidero neto del nitrógeno disuelto. También se encontró que la actividad anammox tenía menor importancia sobre la plataforma y la zona batial que a profundidades mayores que 400 m. Aquí contribuía con hasta un 62% del total del nitrógeno producido. De los resultados expuestos por los autores entendemos que lo que aquí denominamos Sulfureto de Humboldt probablemente no contribuye tanto a la pérdida del nitrógeno biodisponible como se había previamente supuesto y sugieren que la idea que los sedimentos bajo las zonas de mínimo oxígeno son importantes sumideros de nitrógeno disuelto, debería ser revisada.

Desde su descubrimiento la completa reducción del nitrato a dinitrógeno se asignó a los Dominios procariotas Bacteria y Archaea, sin embargo, se ha encontrado también esta capacidad en eucariotas del sulfureto de Humboldt (Høgslund *et al.* 2008). Los autores describen la acumulación de nitrato en especies de *Nonionella cf. stella* y *Stainforthia* sp., las que combinadas alcanzan una tasa de desnitrificación de $173 \mu\text{mol N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Los autores sugieren además que debido a la variabilidad en la disponibilidad del oxígeno o del nitrato en el Sulfureto de Humboldt, pudieran existir otros organismos adaptados a respirar nitrato además de oxígeno.

Las relaciones entre las grandes bacterias del sulfureto frente a Chile y la fauna bentónica han sido objeto de estudios por varios autores, entre ellos Carrasco & Gallardo 1983, Gallardo *et al.* (1985, 1994, 1995, 1996); Arntz *et al.* (1991), Roa *et al.* (1995), Gutiérrez *et al.* (2000), Levin *et al.* (2002), Palma *et al.* (2005). En su mayoría estos trabajos relacionan el efecto de la hipoxia sobre la estructura de la comunidad macrobentónica y la convivencia con procariotas. En la macroescala espacial, el impacto del ciclo ENOS (El Niño Southern Oscillation) sobre el bentos animal y los tapetes bacterianos de Chile central comenzaron a ser registrados a partir de los El Niño 1982-83 (Arntz *et al.* 1985, Gallardo 1985), El Niño 1991-93 (Tarazona *et al.* 1996), Carrasco *et al.* (1999), y continuaron durante El Niño 1997-98 (Gutiérrez *et al.* 2000), (Sellanes & Neira 2006), (Arntz *et al.* 2001, 2007). Arntz *et al.* (1985) y Tarazona *et al.* (1996)

encontraron frente al Perú biomasa más altas de la ex-*Thioploca* tanto durante El Niño 1982-83 como durante el largo El Niño 1991-93, que previo a estos eventos. Dada la mayor oxigenación del sustrato en ambos eventos, una biomasa alta de bacterias gigantes es inexplicable y lo más probable es que el material medido no correspondiera completamente a material vivo sino que, por lo menos en parte, a material biogénico, *i. e.*, vaina sin tricomas, (Gallardo 1985, Gallardo *et al.* 2013), lo que desde el punto de vista biogeoquímico, ecológico y paleontológico es igualmente importante de reconocer y medir. Ocasionalmente se ha observado material orgánico filamentosos de intenso color negro – “melanofilamentos” – en muestras de sedimentos colectadas desde el Sulfureto de Humboldt, que al descolorarse en solución alcohólica demuestran ser vainas con tricomas impregnadas posiblemente con sulfuro de metales (Gallardo 1992). Este tipo de material teñido por metales ha sido descrito de sedimentos del Mar Negro y otras localidades tanto modernas como geológicamente antiguas (Degens & Ittekkot 1982).

Desde el hallazgo de las originalmente denominadas *Thioploca* en Chile en 1962, este género se ha reportado en varias otras localidades, *i. e.*, Perú (Arntz *et al.* 1985, Rosenberg *et al.* 1983, Tarazona & Arntz 1986, Zafra *et al.* 1988); el Margen de Omán, en el Mar de Arabia Nor-Occidental (Schmaljohann *et al.* 2001), Namibia (Gallardo *et al.* 1998), el Margen del Eel River, California del Norte (~500 m) en un coladero frío de metano (L. Levin, com. pers.) y en el Pacífico Tropical Sur-Oriental (Margen de Mazatlán, Boca del Golfo de California (Prokopenko *et al.* 2006). Recientemente el complejo “*Thioploca/Beggiatoa*” ha sido descrito en sedimentos enriquecidos orgánicamente bajo las jaulas de cultivo de salmones en la zona austral de Chile (Aranda *et al.* 2010). De acuerdo con el análisis filogenético de Salman *et al.* 2011, este último género pasaría a llamarse *Candidatus Isobeggiatoa* sp. “Chile”, género que también está representado en el Archipiélago de Svalbard, Océano Ártico y Bahía de Tokio, Japón. Mencionaremos también que en muestras obtenidas en el Sulfureto de Humboldt se han observado formas similares a *Thiomargarita*, aunque más pequeñas pero no han sido aun objeto de mayores estudios en esta región. El género *Thiomargarita* fue creado sobre la base de especímenes gigantes de células en cadena descubiertas en Namibia (Schulz *et al.* 1999) encontrándose ejemplares hasta de 750 μm de diámetro constituyendo así la bacteria unicelular más grande de vida libre del planeta! Actualmente se ha propuesto la existencia de una especie válida y de dos *Candidatus*, *i. e.*, *Thiomargarita namibiensis* y *Candidatus Thiomargarita nelsonii* y *Candidatus Thiomargarita joergensenii*. Sin embargo, en la categoría de bacterias filamentosas multicelulares, uniseriadas, las CMs chilenas, cuyos tricomas pueden alcanzar hasta 7 cm de largo, están entre las más grandes del mundo.

LAS MACROBACTERIAS

Intrigados por la escasa aplicación del gran tamaño entre las bacterias filamentosas del Sulfureto de Humboldt, a pesar de su obvia ventaja ecológica, Schulz & Jørgensen (2001) sugerían que habría que estar alertas a las sorpresas que pudiera mostrar “*the enigmatic world of the big bacteria*”. La predicción se cumplió cuando, en febrero de 2004 durante el desarrollo de la *Global Ocean Sampling Expedition* a bordo del *Sorcerer II* del Dr. J. Craig Venter (Rusch *et al.* 2007), se observa la presencia de bacterias filamentosas multicelulares de un tamaño significativamente menor que las ya conocidas de Chile central. Estas filamentosas se encontraron en muestras de sedimentos arenosos finos obtenidas mediante buceo a ca. 20 m de profundidad asociados a un surgidero de sulfuro de hidrógeno cerca de Roca Redonda, Archipiélago de las Galápagos, Ecuador. En marzo del mismo año 2004 se busca y se encuentra este tipo de bacterias en el líquido intersticial, rico en H_2S , de los tapices de las CMs que durante ese año tuvieron un especial gran desarrollo. Al microscopio de fase contrastada se observó una gran variedad de formas bacterianas filamentosas multicelulares, notablemente más pequeñas, una o dos órdenes de magnitud menores en diámetro y longitud que las CMs (Gallardo & Espinoza 2007a y b). A este tipo de bacterias las denominamos “*macrobacterias*” (Figs. 9a-q) para diferenciarlas de las *exThioploca* y las *exBeggiatoa* que denominamos “*megabacterias*”. Estas durante el largo periodo interino habían acaparado la atención de prácticamente todos los investigadores. Las macrobacterias pueden o no compartir el hábitat de las megabacterias, aunque en el primer caso limitándose principalmente a la capa sub-superficial del sulfureto, más rica en H_2S pues el sulfuro en exceso es letal para las CMs chilenas (Huettel *et al.* 1996). A diferencia de las CMs chilenas que poseen metabolismo aeróbico (Hoegslund *et al.* 2009), el metabolismo más probable de la mayoría de las macrobacterias, considerando su hábitat, la zona anóxica de la columna sedimentaria, debería ser el anaeróbico. De hecho pueden sobrevivir por largo tiempo en tubos herméticamente cerrados con sedimento fuertemente reducido a la temperatura de un refrigerador corriente. Es probable que muchas de las macrobacterias que habitan en el Sulfureto de Humboldt sean nuevas para la ciencia. La macrobacteria emblemática del SH es la denominada “*anaconda*” por la longitud extraordinaria que puede alcanzar (>1 cm) y su robustez. Actualmente contamos con el genoma obtenido en el marco del “*Microbial Genome Sequencing Project*” de la Gordon and Betty Moore Foundation y ejecutado en el Institute J. Craig Venter, VA, U.S.A. Como resultado de una indagación reciente utilizando PhyloPhlAn (Segata *et al.* 2013), ver <http://huttenhower.sph.harvard.edu/phylophlan>, esta macrobacteria pertenece a la familia Desulfobacteraceae, sin poder ir más lejos, lo que

significaría que podría tratarse de un nuevo género (com. pers. Juan Ugalde, scripps Institution of Oceanography).

Mientras que las macrobacterias se encontraron primeramente en sedimentos hipóxicos/anóxicos de la plataforma continental de Chile central, se han observado después poblaciones afines en otras zonas con similares condiciones ambientales a lo largo del Pacífico Sur-Oriental y aun en ámbitos litorales. De hecho estas formas parecen estar presentes dondequiera que exista hidrógeno sulfurado en forma predecible y suficiente en los sedimentos, por ejemplo en los manglares tropicales y en sedimentos en torno a rizoides de plantas fanerógamas marinas como *Halophyla* (observación personal en playas arenosas de Vietnam) y en la denominada “sombra negra” debajo de las jaulas de cultivo de salmones (Gallardo & Espinoza 2007a).

Pese a que la comunidad de macrobacterias del Sulfureto de Humboldt está compuesta de una gran variedad de fenotipos, perfectamente reconocibles bajo el microscopio, las razones por las que no fueron consideradas antes podría deberse a que no siempre son abundantes y/o simplemente porque no se sabía qué buscar y por lo tanto los sedimentos no fueron examinados en la apropiada ventana de tamaño. A favor de la primera sugerencia se menciona que en años posteriores al descubrimiento de las CMs en 1962, ocurrieron varios eventos El Niño fuertes, *i. e.*, 1973-74, 1982-83 (Quinn & Neal 1987) y el largo El Niño de 1991-93 (Tarazona *et al.* 1996). Todos conllevan condiciones hidrográficas, *i. e.*, en la columna de agua niveles de oxígeno normales, baja productividad fotosintética, y en los fondos, disminución del carbono orgánico, de la calidad de la materia orgánica y del sulfuro de hidrógeno (Gutiérrez *et al.* 2000), todos factores desfavorables para el desarrollo de comunidades de procariotas.

Otra sorpresa interesante proveniente de las grandes bacterias lo constituye el reciente hallazgo de macrobacterias filamentosas multicelulares de la familia Desulfobulbaceae de localidades danesas con la capacidad de transportar electrones a través de distancias de centímetros mediante nano-cables (“*nanowires*”) intracelulares convenientemente aislados. De este modo se comunica la zona más profunda del sedimento potencialmente rica en dadores de electrones pero pobre en aceptores de electrones con la zona superficial rica en aceptores de electrones, *i. e.*, oxígeno, nitrato (Nielsen *et al.* 2010, Pfeiffer *et al.* 2012). Los autores se plantean muchas preguntas entre las cuales nos interesa: ¿Cuán distribuido en la Naturaleza es este estilo de vida? Dada la rica biota de macrobacterias multicelulares filamentosas en el Sulfureto de Humboldt, incluyendo formas de la familia Desulfobulbaceae donde primero se ha investigado esta capacidad, podemos vislumbrar que este

estilo de vida podría ser muy común en este ecosistema abriendo excitantes líneas de investigación en áreas como la evolución de la vida en la Tierra, así como también sobre las potencialidades de uso biotecnológico del conocimiento obtenido del estudio de las macrobacterias del Sulfureto de Humboldt y similares.

EL AMBIENTE OCEANOGRÁFICO Y LAS GRANDES BACTERIAS SULFUROSAS

El Pacífico Sur-Oriental constituye un sistema de corrientes de borde oriental donde las condiciones oceanográficas de gran escala dependen del forzamiento planetario determinado por la rotación de la Tierra, que frente a los bordes occidentales de los continentes genera el afloramiento surgencias - de aguas de fondo, ricas en nutrientes, en reemplazo de las aguas superficiales que se desplazan por el impulso de los vientos costeros hacia alta

mar, *i. e.*, el efecto de Coriolis (Fig. 10). Este ecosistema de surgencias costeras, no obstante su escasa magnitud espacial, es uno de los más productivos del planeta con una tasa de productividad primaria, un tanto conservadora, de $1\text{Kg m}^{-2}\text{ año}^{-1}$ (Daneri *et al.* 2000). Parte de la materia orgánica que se deposita en el fondo mediante la acción de bacterias sulfato-reductoras es transformada en H_2S molécula que contribuye a sustentar la vida en el Sulfureto de Humboldt. Esta cadena de procesos es la responsable de la persistencia de hábitats favorables para la supervivencia de la biota del sulfureto en tiempos relativamente modernos bajo un océano mayormente oxigenado. En el eón Arcaico, sin oxígeno, los océanos eran globalmente sulfurosos. Según la evidencia la sulfato reducción más temprana con la producción de H_2S estaba presente ya en el Eón Arcaico, *ca.* 3.470 millones de años atrás (Shen *et al.* 2001) lo que ha sido recientemente confirmado (Wacey *et al.* 2013).

FIGURA 9. Collage mostrando (a) microbacterias clásicas; (b-p) un conjunto de diferentes tipos de macrobacterias comunes en el Sulfuretum de Humboldt; (q) células apicales de una *Candidatus Marithioploca araucae* sin vaina.

FIGURE 9. Collage showing (a) classical microbacteria; (b-p) an assortment of different kinds of macrobacteria common in the Humboldt sulfuretum; (q) tip of *Candidatus Marithioploca araucae*, sin vaina.

FIGURA 10. Diagrama que muestra la estructura de masas de agua del sistema de corrientes de borde oriental (visto desde el Sur) frente a Chile central en relación con la formación del Sulfureto de Humboldt, hábitat de las grandes bacterias. ASAA: Aguas superficiales antárticas con niveles normales de oxígeno disuelto, (en dirección al ecuador); AESS: Aguas ecuatoriales sub-superficiales deficientes en oxígeno (en dirección al polo); AIAA: Aguas Intermedias Antárticas (en dirección al ecuador). El efecto de los vientos del sur-oeste a lo largo de la costa (en dirección al ecuador) refuerza las surgencias de aguas de fondo ricas en nutrientes y por tanto la productividad primaria del mar costero.

FIGURE 10. Cartoon showing the water mass structure of the eastern boundary current system (seen from the South) off central Chile in relation with the formation of the Humboldt sulfuretum, the habitat of the big bacteria. ASAA: Antarctic surface waters (Equator-ward) with normal dissolved oxygen levels; AESS: Equatorial Sub-surface Waters with strongly reduced dissolved oxygen (poleward); AIAA: Antarctic Intermediate Waters (Equatorward). The effect of long-shore SW winds reinforces upwelling of nutrient-rich deeper waters enhancing coastal primary productivity.

El Pacífico Sur-Oriental frente a Chile central está sujeto a por lo menos dos tipos de variabilidades más evidentes, las intra-anales o estacionales y las inter-anales. El primer tipo se debilita hacia el norte del país y por lo tanto para la comunidad bacteriana del sulfureto, que depende del hidrógeno sulfurado, esta variabilidad significa que cuando en las estaciones de otoño e invierno cubren la plataforma aguas ricas en oxígeno disuelto de la corriente costera de Humboldt (Aguas Superficiales Antárticas), este se ve menguado o desaparecen los tapetes. A la inversa, cuando en las estaciones de primavera y verano las aguas que cubren la plataforma son reemplazadas por la Contracorriente Sub-superficial de Perú-Chile (Aguas Ecuatoriales Sub-superficiales), deficientes en oxígeno disuelto y más fértiles, las comunidades bacterianas se desarrollan formando tapetes bentónicos extensos y masivos. Otra variabilidad en esta zona en la escala temporal inter-anual se asocia a la denominada El Niño Oscilación del Sur (ENOS) que consiste en la ocurrencia de eventos cálidos de corta duración denominados El Niño y eventos fríos de también de corta duración denominados La Niña. Ambos extremos

están insertos en un estado moderadamente frío “normal” del océano costero. Los eventos EN, que introducen aguas oxigenadas y pobres en nutrientes sobre la plataforma continental afectan negativamente a las comunidades bentónicas bacterianas, en particular a las megabacterias que en general viven en el estrato más reducido del sedimento. En cambio las megabacterias como las CMs poseen adaptaciones para sobrellevar estos eventos. Estas bacterias simplemente, se sumergen en el sedimento donde continúan con su vida utilizando el nitrato de sus vacuolas y el hidrógeno sulfurado ambiental mientras pasa el evento. También tienen un reservorio de azufre elemental al cual recurrir en caso de agotarse el sulfuro (Otte *et al.* 1999, Hoegslund *et al.* 2009), o bien, escapan de sus vainas y son transportadas por las corrientes hacia sitios que pueden ser o no favorables. Así se explica que se hayan encontrado tricomas en muestras de sedimentos de *ca.* 1.000 m de profundidad tanto en el norte de Chile como frente a las costas de Chile central. Este hecho también es indicativo del aporte energético y material que puede llegar del sublitoral a las zonas batial y abisal. El desarrollo de los

tapetes de CMs y la biota acompañante responde a estos cambios oceanográficos que afectan al ecosistema. La presencia/ausencia del oxígeno disuelto es sólo uno de los factores importantes siendo los niveles de productividad primaria y los flujos de materia orgánica al fondo, también importantes. Por lo tanto, resumiendo, dependiendo de la particular localidad a lo largo del Pacífico Sur-Oriental, las comunidades bacterianas (macrobacterias principalmente) y microbianas de metabolismo anaeróbico mostrarán en su abundancia y biodiversidad variabilidades intra-anales (estacionales), inter-anales y posiblemente también inter-decadales. Lo mismo ocurriría con las CMs que requieren de una baja concentración de oxígeno en la interfaz agua sedimento (Huettel *et al.* 1996). La variación interdecadal puede entenderse del trabajo de Blanco (2004) que describe el Índice de la Corriente de Humboldt (ICH) (Fig. 11). Según este autor el ICH corresponde a la diferencia de presión atmosférica entre el sistema de altas presiones del Pacífico y las bajas presiones continentales, por lo tanto

FIGURA 11. Índice Corriente de Humboldt (Isla de Pascua – Antofagasta). En teoría este índice podría representar condiciones hasta la latitud de Puerto Montt ($41^{\circ}28,18' S$), la zona de influencia directa del anticiclón. Todas las series de tiempo analizadas, incluyendo las de pesquerías, *i. e.*, del jurel, la sardina, la jibia, la sierra, etc., muestran la misma tendencia. Por otra parte, los datos sugieren que las variaciones inter-decadales se hacen más importantes así como aumenta la distancia del Ecuador, donde la variabilidad responde principalmente al ENOS (com. pers. Dr. José Luis Blanco 2012 y Blanco 2004).

FIGURE 11. Humboldt Current Index (Easter Island – Antofagasta). This index could represent conditions down to the latitude of Puerto Montt ($41^{\circ}28,18' S$), the zone under the direct influence of the anticyclone. All other time series examined, including those from fisheries (jack mackerel, sardine, Humboldt squid, snook) show the same tendency. Data suggest more intense interdecadal variability away from the Equator, where instead the ENSO variability is dominant (Dr. José Luis Blanco, personal communication 2012 and Blanco 2004).

representa la actividad atmosférica que es la principal fuerza de la dinámica del océano, especialmente a lo largo de las costas del norte y centro de Chile. Todas las demás series de tiempo (atmosféricas, marinas y biológicas) sugieren que hacia el sur del Ecuador (donde la variación es principalmente ENOS), las variaciones decadales se hacen más importantes. Muchos autores se refieren a este proceso como “cambio de régimen.” Los periodos con índice negativo (anticiclón débil), corresponden a periodos cálidos y con vientos de intensidad por debajo del promedio mientras que un índice positivo (anticiclón fuerte) podría asociarse a periodos fríos y vientos fuertes. Los vientos en estas escalas son responsables de la formación de la capa de mezcla, la profundidad de la mínima de oxígeno, el bombeo de Ekman, las surgencias, el transporte costa-afuera, la retención y la dispersión larval, el tamaño de las partículas, la actividad de remolinos, etc. En tanto la variabilidad de la intensidad de los vientos determina la profundidad de la capa de mínimo oxígeno, es entonces de esperar que las comunidades bentónicas registren una variabilidad también importante, posiblemente cambiando desde una dominada por eucariotas, en el caso de ICHs negativos y de procariotas en el caso de ICHs positivos.

LA BIOSFERA OLVIDADA: LAS GRANDES BACTERIAS

Es sorprendente que pese a su gran tamaño, en comparación con las bacterias clásicas nano- y microbacterias, las grandes bacterias no fotosintéticas, en particular las de distribución sublitoral (< 200 m de profundidad) hayan pasado inadvertidas hasta 1962 (Gallardo 1963) y aceptadas en la literatura recién en 1977 (Gallardo 1977a). En cambio, desde mediados del siglo pasado los micropaleontólogos (Barghoorn & Tyler 1965, Barghoorn & Schopf 1965, Cloud 1965), estaban bien familiarizados con fósiles de este tipo de bacterias filamentosas. Hoy existe una extensa literatura y aquí sólo se mencionan los trabajos más reconocidos y útiles para una introducción al tema, *i. e.*, Schopf (1992a y b, 1993, 1994, 2006), Schopf & Walter (1983), Schopf & Packer (1987), Schopf *et al.* (2002), Bailey *et al.* (2007, 2012, 2013). Los registros correspondientes a los hallazgos en rocas del Eón Arcaico de los fósiles más antiguos que representan procariotas filamentosas similares a las “macrobacterias” y que no podrían ser cianobacterias por su antigüedad, *i. e.*, entre 3.496 y 3.465 millones de años de edad, se extrajeron de Schopf (2006) y se listan en la Tabla 2. Excepto uno, todos estos fósiles corresponden a procariotas filamentosos que originalmente fueron asignados tentativamente a cianobacterias y provienen del Grupo Warrawoona, Supergrupo Pilbara (Cratón de Pilbara, Australia Occidental). La excepción es un registro putativo de una “vaina de cianobacteria oscilatoriacea” a la que se le asignó el nombre científico de *Syphonophycus antiquus*, que consideramos podría corresponder más bien a una vaina vacía de CM. La literatura micropaleontológica en general asignó

a bacterias no fotosintéticas o posiblemente cianobacterias los hallazgos fósiles que comenzaron hacia mediados del siglo pasado. El descubrimiento de las macrobacterias del Sulfureto de Humboldt afianza la sugerencia que los putativos fósiles filamentosos designados previamente

en la literatura micropaleontológica como cianobacterias pudiesen en realidad ser bacterias no fotosintéticas – macro- y megabacterias - análogas a las que actualmente habitan en el Sulfureto de Humboldt (Gallardo & Espinoza 2007a y b).

TABLA 2. Registros de fósiles de bacterias similares a macro y megabacterias del Sulfureto de Humboldt.

TABLE 2. Records of fossil bacteria similar to macro and megabacteria of the Humboldt Sulfuretum.

Formación Dresser, Grupo Warrawoona, Supergrupo Pilbara (Cratón de Pilbara, Australia Occidental, Australia), ca. 3.496 millones de años, hidrotermal (Van Kranendonk <i>et al.</i> 2003).	
1. Filamentos procarióticos angostos no ramificados, <i>cf.</i> bacteria.	Ueno <i>et al.</i> 2001a, b, 2004.
2. Filamentos procarióticos anchos, septados, no ramificados, <i>cf.</i> bacteria o cianobacterias oscilatoriaceas (<i>Archeosclatoriopsis</i> sp., diámetro ca. 4-16 µm).	Ueno <i>et al.</i> 2001b.
3. Filamentos procarióticos tubulares anchos no ramificados <i>cf.</i> bacteria o cianobacteria oscilatoriacea (<i>Siphonophycus antiquus</i> , diámetro ca. 7-20 µm).	Ueno <i>et al.</i> 2001b.
Basaltos Monte Ada, Grupo Warrawoona, Supergrupo Pilbara (Cratón de Pilbara, , Australia Occidental, Australia), ca. 3470 millones de años, marino somero (Schopf & Walter 1983, Awramik <i>et al.</i> 1983).	
4. Filamentos procarióticos angostos no ramificados, <i>cf.</i> bacteria (<i>Archaeotrichion contortum</i> , diámetro ca. 0,5 µm)	Awramik <i>et al.</i> 1983; Schopf & Walter 1983).
5. Filamentos procarióticos, septados? angostos, no ramificados, <i>cf.</i> bacteria (<i>Eoleptonema australicum</i> , diámetro 1,0 µm).	Awramik <i>et al.</i> 1983; Schopf & Walter 1983).
6. Filamentos procarióticos anchos, septados, no ramificados, <i>cf.</i> cianobacteria oscilatoriacea (<i>Primaevifilum septatum</i> , diámetro 4-6 µm).	Awramik <i>et al.</i> 1983; Schopf & Walter 1983).
7. Vainas procarióticas tubulares anchas y no ramificadas, <i>cf.</i> cianobacteria oscilatoriacea (<i>Syphonophycus antiquus</i> , diámetro ca. 3-10 µm).	Awramik <i>et al.</i> 1983; Schopf & Walter 1983).
Cuarzo Apex, basalto Apex, Grupo Warrawoona, Supergrupo Pilbara (Cratón de Pilbara, Australia Occidental, Australia), ca. 3.465 millones de años, hidrotermal (Brasier <i>et al.</i> 2002, Van Kranendonk <i>et al.</i> 2003).	
8. Filamentos procarióticos septados, no ramificados y angostos, <i>Incertae Sedis cf.</i> bacteria? (<i>Archaeotrichion septatum</i> , diámetro ca. 0,5 µm).	Schopf 1992, 1993.
9. Filamentos procarióticos septados, no ramificados, angostos, <i>Incertae Sedis cf.</i> bacteria? (<i>Eoleptonema apex</i> , diámetro 1 µm).	Schopf 1992, 1993.
10. Filamentos procarióticos septados, no ramificados, angostos, <i>Incertae Sedis cf.</i> bacteria? O cianobacteria? (<i>Primaevifilum minutum</i> , diámetro 1-2 µm).	Schopf 1993.
11. Filamentos procarióticos septados, no ramificados, angostos, <i>Incertae Sedis cf.</i> bacteria? O cianobacteria? (<i>Primaevifilum delicatulum</i> , diámetro 1-3 µm).	Schopf & Packer 1987; Schopf 1992, 1993.
12. Filamentos procarióticos septados, no ramificados de diámetro intermedio <i>Incertae Sedis cf.</i> cianobacteria? (<i>Primaevifilum amoenum</i> , diámetro ca. 2-5 µm).	Schopf & Packer 1987, Schopf 1992, 1993.
13. Filamentos procarióticos septados, no ramificados de diámetro intermedio, con células intermedias discoidales, <i>Incertae Sedis cf.</i> cianobacteria? (<i>Archeosclatoriopsis disciformis</i> , diámetro ca. 2-5 µm).	Schopf 1993.
14. Filamentos procarióticos anchos, septados, no ramificados con células cónicas, <i>Incertae Sedis cf.</i> cianobacteria? (<i>Primaevifilum conicoterminatum</i> , diámetro ca. 4-6 µm)	Schopf 1992, 1993.
15. Filamentos procarióticos septados, no ramificados, anchos, con células intermedias de igual diámetro, <i>Incertae Sedis cf.</i> cianobacteria? (<i>Primaevifilum laticellulosum</i> , diámetro ca. 6-8,5 µm).	Schopf 1992, 1993.
16. Filamentos procarióticos septados, no ramificados, anchos, <i>Incertae Sedis cf.</i> cianobacteria? (<i>Archeosclatoriopsis grandis</i> , diámetro ca. 8-11, 5 µm).	Schopf 1993.
17. Filamentos procarióticos septados, marcadamente aguzados, no ramificados, anchos, <i>Incertae Sedis cf.</i> cianobacteria, ? (<i>Primaevifilum attenuatum</i> , diámetro ca. 4-12 µm).	Schopf 1993.
18. Filamentos procarióticos septados, no ramificados, anchos, <i>Incertae Sedis cf.</i> cianobacteria? (<i>Archeosclatoriopsis maxima</i> , diámetro ca. 15-19,5 µm).	Schopf 1993.
Formación Hoogenoeg, Grupo Onverwacht, Supergrupo Swaziland (Barberton Greenstone Belt, Provincia Transvaal, África del Sur), ca. 3.460 millones de años, marino somero, (Walsh & Lowe 1985; Walsh 1992).	
19. Filamentos procarióticos no ramificados, angostos <i>cf.</i> bacteria o cianobacteria (innominado), diámetro ca. 0,2-2,5 µm.	Walsh & Lowe 1985; Walsh 1992.

El océano del Eón Arcaico era en general reductor (Kranendonk 2003) y la disponibilidad de oxidantes mucho menor que hoy en el sulfureto moderno inserto en un océano oxigenado, sin embargo debió haber sido suficiente, i. e., Fe^{3+} , como para sostener protosulfuretos que dejaron huellas fósiles. La similitud entre las morfologías de algunas de las actuales bacterias y registros fósiles se muestra en las figuras (Figs. 12 a-l, Figs. 13 a, b, c). En particular es notable la semejanza entre las morfologías de los filamentos en la Fig. 14 a, b y c, donde el espécimen fósil corresponde a un hallazgo realizado en un sistema geológico marino somero, i.

e., Basalto del Mount Ada (Grupo Warrawoona, Supergrupo Pilbara) de Australia Occidental de ca. 3.470 millones de años. Las bacterias filamentosas no fotosintéticas del Sulfureto de Humboldt, más allá de entregar antecedentes para la ubicación en el tiempo de la aparición de las cianobacterias y por lo tanto el comienzo de la oxigenación del océano, del GOE (*Great Oxigenation Event*) (Schopf 1996 a, b), su ocurrencia en el océano actual cumpliendo funciones fisiológicas posiblemente similares a las del pasado, constituye un ejemplo de “hipobraditelia”, término acuñado por Schopf (1987) para indicar la extraordinariamente lenta

FIGURA 12. Putativos microfósiles Arcaicos de 3.465 millones de años de cuarzos de Apex de Australia Occidental y microfósiles no cuestionados de ca. 2.000 millones de años del Proterozoico, fotografiados desde secciones petrográficas finas. **a.-d.** Filamentos carbonáceos no ramificados (*Primaevifilum amoenum*) descritos como *procariontes Incerta Sedis* fósiles degradados e interpretados como presentando una morfología similar a la de cianobacterias oscilatoriaceas (Schopf 1992, 1993). Brasier *et al.* (2002, 2004) los considera como de biogenicidad cuestionable. Lo difuso de la imagen en **d.** se debe a su profundidad (rango entre 65-90 µm) dentro de la fina sección estudiada; la escala para **a.-d.** está en **d.** **e.-i.** Putativos fósiles de filamentos carbonáceos angostos, similares a bacterias, de ca. 3.496 millones de años obtenidos de la Formación Dresser de Australia Occidental (Ueno *et al.* 2001a); **e., f., h.** y **i.** son fotomontajes requeridos por la preservación 3D del filamento sinuoso; **g.** es un dibujo interpretativo del espécimen en **f.**; la escala para **e.-i.** está en **i.** (modificado de Ueno *et al.* 2001a). **j.** Filamento angosto, procariótico, carbonáceo (similar a bacteria) (*Gunflintia minuta*). **k.** y **l.** filamentos procarióticos degradados, septados (similares a cianobacterias oscilatoriaceas), (*Gunflintia grandis*) de ca. 1900 millones de años de la Formación Gunflint de Ontario del sur, Canadá (Hofmann 1971; Hofmann & Schopf 1983); la escala para **j.-l.** está en **j.** (Adaptado de Schopf 2006).

FIGURE 12. Archaean putative microfossils more than 3,450 Myr old and ca. 2,000 Myr old Proterozoic unquestioned microfossils photographed in petrographic thin sections. **a.-d.** Unbranched carbonaceous filaments (*Primaevifilum amoenum*) described as degraded cellular fossil prokaryotes Incertae Sedis and interpreted as exhibiting oscillatoriacean cyanobacterium-like morphology (Schopf 1992, 1993), but regarded by Brasier *et al.* (2002, 2004) as being of questionable biogenicity, from the ca. 3,465 Myr old Apex chert of Western Australia; the faintness of the image of the filament illustrated in part **d.** due to its depth (range ca. 65–90 mm) within the thin section studied; scale for parts **a.-d.** shown in **d.** **e.-i.** Narrow carbonaceous filamentous bacterium-like putative fossils from the ca. 3,496 Myr old Dresser Formation of Western Australia (Ueno *et al.* 2001a); parts **e., f., h.** and **i.** show photomontages necessitated by the three-dimensional preservation of the sinuous filaments; part **g.** shows an interpretive drawing of the specimen illustrated in **f.**; scale for parts **e.-i.** shown in **i.** (modified after Ueno *et al.* 2001a). **j.** Narrow prokaryotic (bacterium-like) carbonaceous filament (*Gunflintia minuta*) and **k. l.** broader degraded septate prokaryotic (oscillatoriacean cyanobacterium-like) filaments (*Gunflintia grandis*) from the ca. 1,900 Myr old Gunflint Formation of southern Ontario, Canada (Hofmann 1971; Hofmann & Schopf 1983); scale for parts **j.-l.** shown in **j.** (Adaptado de Schopf 2006).

tasa de cambio evolutivo de los taxa de cianobacterias cuyos morfo-especies también muestran poco o ningún cambio morfológico a través de millones de años (Schopf 1994).

Es interesante comentar cómo las grandes bacterias filamentosas multicelulares acusan las estrategias desarrolladas a lo largo del tiempo geológico para acceder a los oxidantes en una situación de escasez generalizada, *i. e.*, (1) las megabacteria CMs con vaina cubriendo el significativo espacio entre los dos horizontes – el reductor y el oxidante – mediante deslizamientos de sus tricomas dentro de una vaina gelatinosa, y (2) las macrobacterias utilizando para lo mismo un nanocableado transportador de electrones a lo largo de sus cuerpos (Nielsen *et al.* 2010, Pfeffer *et al.* 2012).

El reciente hallazgo de las macrobacterias en el sulfureto de Humboldt ha tenido otro vuelco interesante en relación con la Astrobiología. En su trabajo, Schopf *et al.* (2012), discuten la frecuente ocurrencia de diversos fósiles de macrobacterias filamentosas, similares morfológicamente a algunas del Sulfureto de Humboldt, en rocas compuestas de sulfato de calcio hidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) o “yeso”, en diversas localidades del Fanerozoico: dos del Pérmico de Nuevo México (~260 Ma), una del Mioceno de Italia (~6 Ma), y cuatro de depósitos salinos y lacustres Recientes de Australia, México y Perú. La sugerencia que interesa es que dado que este es un tipo de rocas que abunda en el planeta Marte, se sugiere que se muestreen en futuras misiones y se examinen por la eventual presencia de macrobacterias que reflejen una vida pasada en ese planeta.

FIGURA 13. Microfósiles Arcaicos de más de 3.200 millones de años fotografiados desde secciones finas: **a.** Filamento procariótico angosto (similar a bacteria); **b.** filamento procariótico más ancho (bacteria o cianobacteria) de *ca.* 3.320 millones de años de la Formación Kronberg de África del Sur (Walsh & Lowe 1985; Walsh 1992; Schopf *et al.* 2002); **c.** filamento procariótico angosto (similar a bacteria) (*Archaeotrichum contortum*), reportado por Awramick *et al.* (1983) de cuarzós estromatolíticos en una localidad asociada al Basalto Monte Ada de *ca.* 3.470 millones de años (Van Kranendonk *et al.* 2003). De una proveniencia no confirmada estratigráficamente (Schopf 1999, pp. 83–84), estas muestras fosilíferas podrían ser de una unidad cuarcífera suprayacente al Grupo Fortescue de *ca.* 2.700 millones de años. (Extraído y adaptado de Schopf 2006).

FIGURE 13. More than 3200 Myr old Archaean microfossils photographed in petrographic thin sections: **a.** Narrow prokaryotic (bacterium-like) filament; **b.** broader prokaryotic (bacterial or cyanobacterial) filament from the *ca.* 3,320 Kromberg Formation of South Africa (Walsh & Lowe 1985; Walsh 1992; Schopf *et al.* 2002); **c.** narrow prokaryotic (bacterium-like) filament (*Archaeotrichum contortum*), reported by Awramik *et al.* (1983) from stromatolitic cherts collected at a locality that maps within the *ca.* 3,470 Myr old Mount Ada Basalt (Van Kranendonk *et al.* 2003). Of unconfirmed stratigraphic provenance (Schopf 1999, pp. 83–84), these fossiliferous samples may be from a chert unit of the overlying *ca.* 2,700 Myr old Fortescue Group. (Extracted and adapted from Schopf 2006).

FIGURA 14. a. Filamento procariótico ancho (similar a cianobacteria oscilatoriacea) (*Primaevifilum septatum*). Reportado por Awramick *et al.* (1983) de cuarzós estromatolíticos en una localidad asociada al Basalto Monte Ada de ca. 3.470 millones de años (Van Kranendonk *et al.* 2003). De una proveniencia no confirmada estratigráficamente (Schopf 1999, pp. 83–84), estas muestras fosilíferas podrían ser de una unidad cuarcífera suprayacente al Grupo Fortescue de ca. 2.700 millones de años; **b.** Interpretación artística de (a). (Schopf 1992a); **c.** Macrobacteria indeterminada (“anaconda” – a Desulfobacteraceae) común en el Sulfureto de Humboldt (Foto: C. Espinoza).

FIGURE 14. a. Broad septate prokaryotic (oscillatoriacean cyanobacterium-like) filament (*Primaevifilum septatum*) reported by Awramick *et al.* (1983) from stromatolitic cherts collected at a locality that maps within the ca. 3,470 Myr old Mount Ada Basalt (Van Kranendonk *et al.* 2003). Of unconfirmed stratigraphic provenance (Schopf 1999, pp. 83–84), these fossiliferous samples may be from a chert unit of the overlying ca. 2,700 Myr old Fortescue Group; **b.** Artistic interpretation of (a) (Schopf 1992a). **c.** Undetermined macrobacteria (“anaconda” a Desulfobacteraceae) common in the Humboldt sulfuretum (Photo: C. Espinoza).

CONCLUSIONES

Desde el descubrimiento de las primeras bacterias grandes, filamentosas, multicelulares bentónicas marinas en el Sulfureto de Humboldt en 1962 (Gallardo 1963), hoy denominadas *Candidatus* Marithioploca nombre que enfatiza su origen marino, han constituido un sujeto de investigación sumamente prolífico generando interés de docenas de científicos en varios países, obteniendo cientos de citas en primera generación y miles en segunda generación, en las más variadas disciplinas científicas. Sin embargo, los temas relacionados con las grandes bacterias, la biota adaptada a vivir en el Sulfureto de Humboldt y el ambiente en general en que viven, tiene todavía mucho que ofrecer a la Ciencia. Es de esperar que fluya un adecuado financiamiento para estos estudios que son fundamentales para comprender cómo funcionan sistemas tan complejos y de importancia para la Humanidad como los de corrientes de borde oriental de los continentes, responsables de grandes tasas en los flujos de nutrientes a pesar de su escasa superficie en el contexto global. Estos conocimientos balancearían a los que se realizan con cierta preferencia

del sistema pelágico local. Ciertamente, es más difícil y costoso trabajar en el bentos, aun en las profundidades relativamente someras de las plataformas continentales, pero como lo expresan Levin *et al.* (2002), “*A holistic view of benthic responses to OMZ conditions will improve our ability to predict ecosystem-level consequences of climatic trends that influence oxygen availability, such as global warming or ENSO-related events*”.

ACKNOWLEDGEMENTS

Expresamos nuestros agradecimientos a CONICYT/FONDECYT su consistente apoyo a través de los proyectos 1070552 y 1110786; a la National Science Foundation de U.S.A. por financiar las visitas Dr. Siegfried Maier de la Universidad de Ohio; al Prof. Dr. Bo Barker Jørgensen y a sus colaboradores del Instituto Max Planck de Microbiología Marina de Bremen, Alemania; a muchos colegas de diversos países e instituciones que fascinados con el peculiar ecosistema del Sulfureto de Humboldt nos han visitado repetidamente, *i. e.*, de la Aarhus University y

de la Aalborg University, Dinamarca; de la Delft University of Technology, Países Bajos; de la University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, North Carolina, U.S.A.; al Prof. Dr. Wolf Arntz del Institute for Polar and Marine Research de Bremerhaven, Alemania; a la Dra. Lisa Levin, de Scripps Institution of Oceanography, La Jolla, California, U.S.A.; al Dr. J. Craig Venter por la invitación a VAG a participar en el crucero de las Galápagos de la expedición *Global Ocean Sampling* y la hospitalidad en sus institutos; al Dr. Thomas Shohy del Synthetic Genomics Institute, Del Mar California, U.S.A., por las numerosas y valiosas interacciones. Al Dr. Jesse Ausubel por la iniciativa del programa global Census of Marine Life (CoML), a Mitch Sogin del Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA, U.S.A. y su equipo por el apoyo de su programa International Census of Marine Microbes (ICoMM) y a todos los miembros del Scientific Steering Committee del CoML. Finalmente, agradecimientos a la Universidad de Concepción por su continuo y apoyo.

REFERENCIAS

- AHMAD, A., BARRY, J.P. & NELSON, D.C. 1999. Phylogenetic Affinity of a Wide, Vacuolate, Nitrate-Accumulating *Beggiatoa* sp. from Monterey Canyon, California, with *Thioploca* spp. Applied and Environmental Microbiology 65(1): 270-277.
- ARANDA, C., PAREDES, J., VALENZUELA, C., LAM, P. & GUILLOU, L. 2010. 16S rRNA gene-based molecular analysis of mat-forming and accompanying bacteria covering organically-enriched marine sediments underlying a salmon farm in Southern Chile (Calbuco Island). Gayana (Concepción) 74: 125-1235.
- ARNING, E.T., BIRGEL, D., SCHULZ-VOGT, H.N., HOLMKVIST, L., JØRGENSEN, B.B., LARSON, A. & PECKMANN, J. 2008. Lipid Biomarker Patterns of Phosphogenic Sediments from Upwelling Regions. Geomicrobiology Journal 25(2): 69-82.
- ARNTZ, W.E., FLORES, L.A., MALDONADO, M. & CARBAJAL, G. 1985. Cambios de los factores ambientales, macrobentos y bacterias filamentosas en la zona de mínimo de oxígeno frente al Perú durante "El Niño" 1982-1983. En: "El Niño" y su Impacto en la Fauna Marina (Eds. Arntz, W.E., Landa, A. & Tarazona, J.), Arequipa, Perú. Instituto del Mar del Perú.
- ARNTZ, W.E., GALLARDO, V.A., GUTIÉRREZ, D., ISLA, E., LEVIN, L.A., MENDO, J., NEIRA, C., ROWE, G.T., TARAZONA, J. & WOLFF, M. 2006. El Niño and similar perturbation effects on the benthos of the Humboldt, California, and Benguela Current upwelling ecosystems. Adv. Geosci. 6: 243-265.
- ARNTZ, W.E., TARAZONA, J., GALLARDO, V.A., FLORES, L.A. & SALZWEDEL, H. 1991. Benthos communities in oxygen deficient shelf and upper slope areas of the Peruvian and Chilean Pacific coast, and changes caused by El Niño. Geological Society, London, Special Publications 58(1): 131-154.
- BAILEY, J.V., CORSETTI, F.A., GREENE, S.E., CROSBY, C.H., LIU, P. & ORPHAN, V.J. 2013. Filamentous sulfur bacteria preserved in modern and ancient phosphatic sediments: implications for the role of oxygen and bacteria in phosphogenesis. Geobiology 11(5): 397-405.
- BAILEY, J.V., JOYE, S.B., KALANETRA, K.M., FLOOD, B.E. & CORSETTI, F.A. 2007. Evidence of giant sulphur bacteria in Neoproterozoic phosphorites. Nature 445(7124): 198-201.
- BARGHOORN, E. S. & SCHOPF, J. W. 1965. Microorganisms from the Late Precambrian of central Australia. Science 150:337-339.
- BARGHOORN, E. S. & TYLER, S. A. 1965. Microorganisms from the Gunflint chert. Science 147:563-577.
- BLANCO, J.L. 2004. Inter-annual to Inter-decadal Variability of Upwelling and Anchovy Population Off Northern Chile. Tesis de Doctorado. Old Dominion University. Norfolk, Virginia, United States.
- BOHLEN, L., DALE, A.W., SOMMER, S., MOSCH, T., HENSEN, C., NOFFKE, A., SCHOLZ, F. & WALLMANN, K. 2011. Benthic nitrogen cycling traversing the Peruvian oxygen minimum zone. Geochimica et Cosmochimica Acta 75(20): 6094-6111.
- BRANDHORST, W. 1959. Relationship between the Hake Fishery and a Southerly Sub-surface Return Flow below the Peru Current off the Chilean Coast. Nature 183(4678): 1832-1833.
- BRINKHOFF, T., MUYZER, G., WIRSEN, C.O. & KUEVER, J. 1999. *Thiomicrospira chilensis* sp. nov., a mesophilic obligately chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing bacterium isolated from a *Thioploca* mat. International Journal of Systematic Bacteriology 49(2): 875-879.
- BROCK, J., RHEIL, E., BEUTLER, M., SALMAN, V. & SCHULZ-VOGT, H. 2012. Unusual polyphosphate inclusions observed in a marine *Beggiatoa* strain. Antonie van Leeuwenhoek 101(2): 347-357.
- BRODA, E. 1977. Two kinds of lithotrophs missing in nature. Zeitschrift für allgemeine Mikrobiologie 17(6): 491-493.
- BURNETT, W.C. 1974. Phosphorite deposits from the sea floor off Perú and Chile: radiochemical and geological investigations concerning their origin. Ph. D. Diss., Hawaii Institute of Geophysics, University of Hawaii, 164 pp.
- CARRASCO, F.D. & GALLARDO, V.A. 1983. Abundance and Distribution of the Macrobenthic Infauna of the Gulf of Arauco, Chile. Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie 68(6): 825-838.
- CARRASCO, F.D., GALLARDO, V.A. & BALTAZAR, M. 1999. The structure of the benthic macrofauna collected across a transect at the central Chile shelf and relationships with giant sulfur bacteria *Thioploca* spp. Mats. Cahiers de Biologie Marine 40: 195-202.
- CLOUD, P. 1965. Significance of the Gunflint (Precambrian) microflora. Science 148:27-35.
- CUBILLOS, L.S., NÚÑEZ, S.E. & ARCOS, D.R. 1998. Producción primaria requerida para sustentar el desembarque de peces pelágicos en Chile. Investigaciones marinas 26: 83-96.
- DANERI, G., DELLAROSSA, V., QUIJÁN-ONES, R., JACOB, B., MONTERO, P. & ULLOA, O. 2000. Primary production and community respiration in the Humboldt Current System off Chile and associated oceanic areas. Marine Ecology Progress Series 197: 41-49.
- DE ALBUQUERQUE, J.P., KEIM, C.N. & LINS, U. 2010. Comparative analysis of *Beggiatoa* from hypersaline and marine

- environments. *Micron* 41(5): 507-517.
- DEGENS, E.T. & ITTEKKOT, V. 1982. In situ metal-staining of biological membranes in sediments. *Nature* 298(5871): 262-264.
- DIAZ, R.J. & ROSENBERG, R. 2008. Spreading Dead Zones and Consequences for Marine Ecosystems. *Science* 321(5891): 926-929.
- FARIAS, L. 1998. Potential role of bacterial mats in the nitrogen budget of marine sediments: the case of *Thioploca* spp. *Marine Ecology Progress Series* 170: 291-292.
- FARIAS, L., CHUECAS, L.A. & SALAMANCA, M.A. 1996. Effect of coastal upwelling on nitrogen regeneration from sediments and ammonium supply to the water column in Concepcion Bay, Chile. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 43(2): 137-155.
- FERDELMAN, T.G., LEE, C., PANTOJA, S., HARDER, J., BEBOUT, B.M. & FOSSING, H. 1997. Sulfate reduction and methanogenesis in a *Thioploca*-dominated sediment off the coast of Chile. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 61(15): 3065-3079.
- FOSSING, H., GALLARDO, V.A., JØRGENSEN, B.B., HUTTEL, M., NIELSEN, L.P., SCHULZ, H., CANFIELD, D.E., FORSTER, S., GLUD, R.N., GUNDERSEN, J.K., KUVER, J., RAMSING, N.B., TESKE, A., THAMDRUP, B. & ULLOA, O. 1995. Concentration and transport of nitrate by the mat-forming sulphur bacterium *Thioploca*. *Nature* 374(6524): 713-715.
- FUKUI, M., TESKE, A., ASSMUS, B., MUYZER, G. & WIDDEL, F. 1999. Physiology, phylogenetic relationships, and ecology of filamentous sulfate-reducing bacteria (genus *Desulfonema*). *Archives of Microbiology* 172(4): 193-203.
- GALLARDO, V.A. 1963. Notas sobre la densidad de la fauna bentónica en el sublitoral del norte de Chile. *Gayana (Zoología)* 10: 3-15.
- GALLARDO, V. A., 1976. On a benthic sulfide system on the continental shelf of north and central Chile, pp. 113-118. In: *Proceedings International Symposium on Coastal Upwelling*. Universidad del Norte, Centro de Investigaciones Submarinas, Coquimbo, Chile.
- GALLARDO, V.A. 1977A. Large benthic microbial communities in sulphide biota under Peru-Chile Subsurface Countercurrent. *Nature* 268(5618): 331-332.
- GALLARDO, V.A. 1977B On the discovery of a large microbial community living in the bottoms of the continental shelf off Chile and Peru. En: *Memorias del Seminario Internacional sobre Problemas de la Ecología Marina Actual y el Futuro del Hombre* (Eds. *Anales del Instituto de Investigaciones Marinas de Punta Betín, Colombia*. pp 23-30.
- GALLARDO, V.A. 1985 Efectos del fenómeno del El Niño sobre el Bentos sublitoral frente a Concepción Chile. En: "El Niño" Su Impacto en la Fauna Marina (Eds. Arntz, W., Landa, A. & Tarazona, J.), Callao, Perú. Instituto del Mar del Perú. pp 79-85.
- GALLARDO, V.A. 1992. Presencia de material orgánico teñido por metales en los fondos de *Thioploca* de la plataforma continental frente a Bahía de Concepción, Chile. *Gayana Oceanológica* 1: 27-33.
- GALLARDO, V.A., CAÑETE, J.I., ROA, R., ENRÍQUEZ-BRIONES, S. & BALTAZAR, M. 1994. Recruitment of the Squat Lobster *Pleuroncodes monodon* on the Continental Shelf off Central Chile. *Journal of Crustacean Biology* 14(4): 665-669.
- GALLARDO, V.A. & ESPINOZA, C. 2007A Large multicellular filamentous bacteria under the oxygen minimum zone of the eastern South Pacific: a forgotten biosphere. En: *Proc SPIE 6694, Instruments, Methods, and Missions for Astrobiology X* (Eds. pp 66941H-66941H).
- GALLARDO, V.A. & ESPINOZA, C. 2007b. New communities of large filamentous sulfur bacteria in the eastern South Pacific. *International Microbiology* 10(2): 97-102.
- GALLARDO, V.A., FONSECA, A., MUSLEH, S.S. & ESPINOZA, C. 2013. Extrapolations of Standing-Stocks of Big Bacteria in Humboldt Eastern Boundary Current Ecosystem (HEBCE). *Oceanography* 1: 110.
- GALLARDO, V.A., KLINGELHOEFFER, E., ARNTZ, W. & GRACO, M. 1998. First report of the bacterium *Thioploca* in the Benguela ecosystem off Namibia. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 78(3): 1007-1010.
- GONZALEZ, R.R. & QUINONES, R.A. 2000. Pyruvate oxidoreductases involved in glycolytic anaerobic metabolism of polychaetes from the continental shelf off central-south Chile. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 51(4): 507-519.
- GRACO, M., FARIAS, L., MOLINA, V., GUTIERREZ, D. & NIELSEN, L.P. 2001. Massive developments of microbial mats following phytoplankton blooms in a naturally eutrophic bay: Implications for nitrogen cycling. *Limnology and Oceanography* 46(4): 821-832.
- GUNTHER, E.R. 1936. A report on oceanographical investigations in the Perú coastal current. *Discovery Reports* 13: 107-276.
- GUTIERREZ, D., GALLARDO, V.A., MAYOR, S., NEIRA, C., VASQUEZ, C., SELLANES, J., RIVAS, M., SOTO, A., CARRASCO, F. & BALTAZAR, M. 2000. Effects of dissolved oxygen and fresh organic matter on the bioturbation potential of macrofauna in sublittoral sediments off Central Chile during the 1997/1998 El Niño. *Marine Ecology Progress Series* 202: 81-99.
- HARTMAN-SCHRÖDER, G. 1965. Zur Kenntnis des Sublittorals der chilenischen Küste unter besonderer Berücksichtigung der Polychaeten und Ostracoden. *Die Polychaeten des Sublittorals. Mitteilungen aus dem Hamburgischen Zoologischen Museum und Institut* 62: 59-305.
- HELLY, J.J. & LEVIN, L.A. 2004. Global distribution of naturally occurring marine hypoxia on continental margins. *Deep Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers* 51(9): 1159-1168.
- HØGSLUND, S., REVSBECH, N.P., CEDHAGEN, T., NIELSEN, L.P. & GALLARDO, V.A. 2008. Denitrification, nitrate turnover, and aerobic respiration by benthic foraminiferans in the oxygen minimum zone off Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 359(2): 85-91.
- HØGSLUND, S., REVSBECH, N.P., KUENEN, J.G., JØRGENSEN, B.B., GALLARDO, V.A., VOSSENBERG, J.V.D., NIELSEN, J.L., HOLMKVIST, L., ARNING, E.T. & NIELSEN, L.P. 2009. Physiology and behaviour of marine *Thioploca*. *ISME J* 3(6): 647-657.
- HUETTEL, M., FORSTER, S., KLOSER, S. & FOSSING, H. 1996. Vertical Migration in the Sediment-Dwelling Sulfur Bacteria *Thioploca* spp. in Overcoming Diffusion Limitations. *Applied and Environmental Microbiology* 62(6): 1863-1872.
- HUSE, S.M., DETHLEFSEN, L., HUBER, J.A., WELCH, D.M., RELMAN,

- D.A. & SOGIN, M.L. 2008. Exploring Microbial Diversity and Taxonomy Using SSU rRNA Hypervariable Tag Sequencing. *PLoS Genet* 4(11): e1000255.
- INOSTROZA, H. 1972. Atlas oceanográfico de Chile. Instituto Hidrográfico de la Armada de Chile, 21 págs., 76 figs.
- JANNASCH, H. W. 1995. Life in the sea floor. *Nature* 374:676-677.
- JØRGENSEN, B.B. 2010. Big sulfur bacteria. *ISME J* 4(9): 1083-1084.
- JØRGENSEN, B.B. & GALLARDO, V.A. 1999. *Thioploca* spp.: filamentous sulfur bacteria with nitrate vacuoles. *FEMS Microbiology Ecology* 28(4): 301-313.
- KALANETRA, K.M., HUSTON, S.L. & NELSON, D.C. 2004. Novel, Attached, Sulfur-Oxidizing Bacteria at Shallow Hydrothermal Vents Possess Vacuoles Not Involved in Respiratory Nitrate Accumulation. *Applied and Environmental Microbiology* 70(12): 7487-7496.
- KUENEN, J.G. 2008. Anammox bacteria: from discovery to application. *Nature Reviews Microbiology* 6(4): 320-326.
- LAUTERBORN, R. 1907. A new genus of sulphur bacteria (*Thioploca schmidlei* nov. gen., nov. spec.) (in German). *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 25(238-242):
- LEVIN, L., GUTIÉRREZ, D., RATHBURN, A., NEIRA, C., SELLANES, J., MUÑOZ, P., GALLARDO, V. & SALAMANCA, M. 2002. Benthic processes on the Peru margin: a transect across the oxygen minimum zone during the 1997–98 El Niño. *Progress in Oceanography* 53(1): 1-27.
- LI, X., VANNER, S., WANG, W., LI, Y., GALLARDO, V.A. & MAGARVEY, N.A. 2013. Macplocimine A, a new 18-membered macrolide isolated from the filamentous sulfur bacteria *Thioploca* sp. *The Journal of Antibiotics* 66(443–446):
- MAIER, S. 1989. Genus III. *Thioploca* Lauterborn 1907. En: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st ed (Eds. Staley, J.T., Bryant, M.P., Pfennig, N. & Holt, J.C.), pp. 2101–2105. Williams and Wilkins, Baltimore.
- MAIER, S. & GALLARDO, V.A. 1984a. Nutritional characteristics of two marine thioplocas determined by autoradiography. *Archives of Microbiology* 139(2-3): 218-220.
- MAIER, S. & GALLARDO, V.A. 1984b. *Thioploca araucae* sp. nov. and *Thioploca chileae* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* 34(4): 414-418.
- MANHEIM, F., ROWE, G.T. & JIPA, D. 1975. Marine phosphorite formation off Peru. *Journal of Sedimentary Research* 45(1): 243-251.
- MCHATTON, S.C., BARRY, J.P., JANNASCH, H.W. & NELSON, D.C. 1996. High Nitrate Concentrations in Vacuolate, Autotrophic Marine *Beggiatoa* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 62(3): 954-958.
- MILESSI, A.C., SELLANES, J., GALLARDO, V.C.A. & LANGE, C.B. 2005. Osseous skeletal material and fish scales in marine sediments under the oxygen minimum zone off northern and central Chile. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64(2–3): 185-190.
- MONTEIRO, P.M.S. & VAN DER PLAS, A.K. 2006. 5 Low oxygen water (LOW) variability in the Benguela system: Key processes and forcing scales relevant to forecasting. En: *Large Marine Ecosystems* (Eds. Vere Shannon, G.H.P.M.-R.C.M. & John, W.), pp. 71-90. Elsevier,
- MUNOZ, P., SALAMANCA, M.A., NEIRA, C. & SELLANES, J. 2004. Nitrogen sediment fluxes in an upwelling system off central Chile (Concepcion Bay and adjacent shelf) during the 1997-1998 El Nino. *Revista Chilena De Historia Natural* 77(2): 305-318.
- MURRAY, R.G.E. & STACKEBRANDT, E. 1995. Taxonomic note: Implementation of the provisional status Candidatus for incompletely described prokaryotes. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45(1): 186-187.
- MUSSMANN, M., HU, F.Z., RICHTER, M., DE BEER, D., PREISLER, A., JØRGENSEN, B.B., HUNTEMANN, M., GLOCKNER, F.O., AMANN, R., KOOPMAN, W.J.H., LASKEN, R.S., JANTO, B., HOGG, J., STOODLEY, P., BOISSY, R. & EHRLICH, G.D. 2007. Insights into the genome of large sulfur bacteria revealed by analysis of single filaments. *Plos Biology* 5(9): 1923-1937.
- MUSSMANN, M., SCHULZ, H.N., STROTMANN, B., KJAER, T., NIELSEN, L.P., ROSSELLO-MORA, R.A., AMANN, R.I. & JØRGENSEN, B.B. 2003. Phylogeny and distribution of nitrate-storing *Beggiatoa* spp. in coastal marine sediments. *Environmental Microbiology* 5(6): 523-533.
- NIELSEN, L.P., RISGAARD-PETERSEN, N., FOSSING, H., CHRISTENSEN, P.B. & SAYAMA, M. 2010. Electric currents couple spatially separated biogeochemical processes in marine sediment. *Nature* 463(7284): 1071-1074.
- OTTE, S., KUENEN, J.G., NIELSEN, L.P., PAERL, H.W., ZOPFI, J., SCHULZ, H.N., TESKE, A., STROTMANN, B., GALLARDO, V.A. & JØRGENSEN, B.B. 1999. Nitrogen, carbon, and sulfur metabolism in natural *Thioploca* samples. *Applied and Environmental Microbiology* 65(7): 3148-3157.
- PALMA, M., QUIROGA, E., GALLARDO, V.A., ARNTZ, W., GERDES, D., SCHNEIDER, W. & HEBBELN, D. 2005. Macrobenthic animal assemblages of the continental margin off Chile (22 degrees to 42 degrees S). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 85(2): 233-245.
- PFEFFER, C., LARSEN, S., SONG, J., DONG, M.D., BESENACHER, F., MEYER, R.L., KJELDSEN, K.U., SCHREIBER, L., GORBY, Y.A., EL-NAGGAR, M.Y., LEUNG, K.M., SCHRAMM, A., RISGAARD-PETERSEN, N. & NIELSEN, L.P. 2012. Filamentous bacteria transport electrons over centimetre distances. *Nature* 491(7423): 218-221.
- PROKOPENKO, M.G., HAMMOND, D.E., BERELSON, W.M., BERNHARD, J.M., STOTT, L. & DOUGLAS, R. 2006. Nitrogen cycling in the sediments of Santa Barbara basin and Eastern Subtropical North Pacific: Nitrogen isotopes, diagenesis and possible chemosymbiosis between two lithotrophs (*Thioploca* and Anammox)—“riding on a glider”. *Earth and Planetary Science Letters* 242(1–2): 186-204.
- PROKOPENKO, M.G., HIRST, M.B., DE BRABANDERE, L., LAWRENCE, D.J.P., BERELSON, W.M., GRANGER, J., CHANG, B.X., DAWSON, S., CRANE III, E.J., CHONG, L., THAMDRUP, B., TOWNSEND-SMALL, A. & SIGMAN, D.M. 2013. Nitrogen losses in anoxic marine sediments driven by *Thioploca*-anammox bacterial consortia. *Nature* 500(7461): 194-198.
- QUINN, V.H., NEAL, V.T. & ANTUNEZ DE MAYOLO, S.E. 1987. El Niño occurrences over the past four and a half centuries. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 92(C14): 14449–14461.
- QUIÑONES, R.A. 2010. An Overview of Eastern Boundary Current Systems. En: *Carbon and Nutrient Fluxes in Continental Margins: A Global Synthesis* (Eds. Liu, K.K., Atkinson, L., Quiñones, R.A. & Talaue-McManus, L.), pp. 25-29. Springer Berlin Heidelberg, Germany.
- ROA, R., GALLARDO, V.A., ERNST, B., BALTAZAR, M., CANETE, J.I. &

- ENRIQUEZBRIONES, S. 1995. Nursery ground, age structure and abundance of juvenile squat lobster *Pleuroncodes monodon* on the continental-shelf off central Chile. *Marine Ecology Progress Series* 116(1-3): 47-54.
- ROSENBERG, R., ARNTZ, W.E., DE TARAZONA, J. 1983 Benthos biomass and oxygen deficiency in the upwelling system off Peru. *Journal of Marine Research* 41(2): 263-279.
- RUSCH, D.B., HALPERN, A.L., SUTTON, G., HEIDELBERG, K.B., WILLIAMSON, S., YOOSEPH, S., WU, D., EISEN, J.A., HOFFMAN, J.M., REMINGTON, K., BEESON, K., TRAN, B., SMITH, H., BADEN-TILLSON, H., STEWART, C., THORPE, J., FREEMAN, J., ANDREWS-PFANNKUCH, C., VENTER, J.E., LI, K., KRAVITZ, S., HEIDELBERG, J.F., UTTERBACK, T., ROGERS, Y.-H., FALCÓN, L.I., SOUZA, V., BONILLA-ROSSO, G., EGUIARTE, L.E., KARL, D.M., SATHYENDRANATH, S., PLATT, T., BERMINGHAM, E., GALLARDO, V., TAMAYO-CASTILLO, G., FERRARI, M.R., STRAUSBERG, R.L., NEALSON, K., FRIEDMAN, R., FRAZIER, M. & VENTER, J.C. 2007. The Sorcerer II Global Ocean Sampling Expedition: Northwest Atlantic through Eastern Tropical Pacific. *PLoS Biol* 5(3): e77.
- SALMAN, V., AMANN, R., GIRNTH, A.C., POLERECKY, L., BAILEY, J.V., HOGSLUND, S., JESSEN, G., PANTOJA, S. & SCHULZ-VOGT, H.N. 2011. A single-cell sequencing approach to the classification of large, vacuolated sulfur bacteria. *Systematic and Applied Microbiology* 34(4): 243-259.
- SCHMALJOHANN, R., DREWS, M., WALTER, S., LINKE, P., VON RAD, U. & IMHOFF, J.F. 2001. Oxygen-minimum zone sediments in the northeastern Arabian Sea off Pakistan: a habitat for the bacterium *Thioploca*. *Marine Ecology Progress Series* 211: 27-42.
- SCHOPF, J.W. 1987. Hypobradely: Comparisons of rates of Precambrian and Phanerozoic evolution. *Journal of Vertebrate Paleontology* 7(3 suppl.): 25.
- SCHOPF, J.W. 1992a. Atlas of representative Proterozoic microfossils. En: *The Proterozoic Biosphere. A multidisciplinary study* (Eds. Schopf, J.W. & Klein, C.), pp. 1055-1118. Cambridge University Press, Cambridge.
- SCHOPF, J.W. 1992b. Paleobiology of the Archean. En: *The Proterozoic Biosphere. A multidisciplinary study* (Eds. Schopf, J.W. & Klein, C.), pp. 1055-1118. Cambridge University Press, Cambridge.
- SCHOPF, J.W. 1993. Microfossils of the Early Archean Apex Chert: New Evidence of the Antiquity of Life. *Science* 260(5108): 640-646.
- SCHOPF, J.W. 1994. Disparate rates, differing fates: tempo and mode of evolution changed from the Precambrian to the Phanerozoic. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91(15): 6735-6742.
- SCHOPF, J.W. 1996a. Are the oldest fossils cyanobacteria? . En: *Evolution of Microbial Life* (Eds. Roberts, D.M., Sharp, P., Alderson, G. & Collins, M.), pp. 23-61. Cambridge University Press, Cambridge.
- SCHOPF, J.W. 1996b. Cyanobacteria: Pioneers of the early Earth. *Nova Hedwigia* 112: 13-32.
- SCHOPF, J.W. 2006. Fossil evidence of Archean life. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361(1470): 869-885.
- SCHOPF, J.W., FARMER, J.D., FOSTER, I.S., KUDRYAVTSEV, A.B., GALLARDO, V.A. & ESPINOZA, C. 2012. Gypsum-permineralized microfossils and their relevance to the search for life on Mars. *Astrobiology* 12(7): 619-633.
- SCHOPF, J.W., KUDRYAVTSEV, A.B., AGRESTI, D.G., WDOWIAK, T.J. & CZAJA, A.D. 2002. Laser-Raman imagery of Earth's earliest fossils. *Nature* 416(6876): 73-76.
- SCHOPF, J.W. & WALTER, M.R. 1983. Early Proterozoic microfossils. En: *Earth's earliest biosphere. Its origin and evolution* (Eds. Schopf, J.W.) Princeton Press, New Jersey.
- SCHUBERT, C.J., FERDELMAN, T.G. & STROTMANN, B. 2000. Organic matter composition and sulfate reduction rates in sediments off Chile. *Organic Geochemistry* 31(5): 351-361.
- SCHULZ-VOGT, H. 2006. Vacuoles. En: *Inclusions in Prokaryotes* (Eds. Shively, J.), pp. 295-298. Springer Berlin Heidelberg, Berlin.
- SCHULZ, H.N., BRINKHOFF, T., FERDELMAN, T.G., MARINÉ, M.H., TESKE, A. & JØRGENSEN, B.B. 1999. Dense Populations of a Giant Sulfur Bacterium in Namibian Shelf Sediments. *Science* 284(5413): 493-495.
- SCHULZ, H.N. & JØRGENSEN, B.B. 2001. Big bacteria. *Annual Review of Microbiology* 55(1): 105-137.
- SCHULZ, H.N., JØRGENSEN, B.B., FOSSING, H.A. & RAMSING, N.B. 1996. Community Structure of Filamentous, Sheath-Building Sulfur Bacteria, *Thioploca* spp., off the Coast of Chile. *Applied and Environmental Microbiology* 62(6): 1855-1862.
- SCHULZ, H.N. & SCHULZ, H.D. 2005. Large Sulfur Bacteria and the Formation of Phosphorite. *Science* 307(5708): 416-418.
- SCHULZ, H.N., STROTMANN, B., GALLARDO, V.A. & JØRGENSEN, B.B. 2000. Population study of the filamentous sulfur bacteria *Thioploca* spp. off the Bay of Concepción, Chile. *Marine Ecology Progress Series* 200: 117-126.
- SEGATA, N., BORNIGEN, D., MORGAN, X.C. & HUTTENHOWER, C. 2013. PhyloPhlAn is a new method for improved phylogenetic and taxonomic placement of microbes. *Nature Communications* 4:
- SELLANES, J. & NEIRA, C. 2006. ENSO as a natural experiment to understand environmental control of meiofaunal community structure. *Marine Ecology* 27(1): 31-43.
- SHAPIRO, J.A. 2007. Bacteria are small but not stupid: Cognition, natural genetic engineering and socio-bacteriology. *Studies in History and Philosophy of Science Part C* 38(4): 807-819.
- SHEN, Y., BUICK, R. & CANFIELD, D.E. 2001. Isotopic evidence for microbial sulphate reduction in the early Archean era. *Nature* 410(6824): 77-81.
- SOBARZO, M. & DJURFELDT, L. 2004. Coastal upwelling process on a continental shelf limited by submarine canyons, Concepción, central Chile. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 109(C12): C12012.
- SOBARZO, M., SHEARMAN, R.K. & LENTZ, S. 2007. Near-inertial motions over the continental shelf off Concepción, central Chile. *Progress in Oceanography* 75(3): 348-362.
- STROUS, M., FUERST, J.A., KRAMER, E.H.M., LOGEMANN, S., MUYZER, G., VAN DE PAS-SCHOONEN, K.T., WEBB, R., KUENEN, J.G. & JETTEN, M.S.M. 1999. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature* 400(6743): 446-449.
- TARAZONA, J., ARNTZ, W., CANAHUIRE, E., AYALA, Z. & ROBLES, A. 1985. Modificaciones producidas durante "El Niño" en la infauna bentónica de áreas someras del ecosistema de afloramiento peruano. En: "El Niño" y su Impacto en la

- Fauna Marina (Eds. Arntz, W.E., Landa, A. & Tarazona, J.), Arequipa, Perú. Instituto del Mar del Perú.
- TARAZONA, J., ARNTZ, W.E. & CANAHUIRE, E. 1996. Impact of Two "El Niño" Events of Different Intensity on the Hypoxic Soft Bottom Macrobenthos off the Central Peruvian coast. *Marine Ecology* 17(1-3): 425-446.
- TESKE, A., JØRGENSEN, B.B. & GALLARDO, V.A. 2009. Filamentous bacteria inhabiting the sheaths of marine *Thioploca* spp. on the Chilean continental shelf. *FEMS Microbiology Ecology* 68(2): 164-172.
- TESKE, A. & NELSON, D. 2006. The Genera *Beggiatoa* and *Thioploca*. En: *The Prokaryotes* (Eds. Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H. & Stackebrandt, E.), pp. 784-810. Springer New York.
- TESKE, A., RAMSING, N.B., KÜVER, J. & FOSSING, H. 1995. Phylogeny of *Thioploca* and Related Filamentous Sulfide-Oxidizing Bacteria. *Systematic and Applied Microbiology* 18(4): 517-526.
- TESKE, A., SOGIN, M.L., NIELSEN, L.P. & JANNASCH, H.W. 1999. Phylogenetic Relationships of a Large Marine *Beggiatoa*. *Systematic and Applied Microbiology* 22(1): 39-44.
- THORSON, G. 1957. Chapter 17: Bottom Communities (Sublittoral or Shallow Shelf). *Geological Society of America Memoirs* 67(1): 461-534.
- VAN KRANENDONK, M.J., WEBB, G.E. & KAMBER, B.S. 2003. Geological and trace element evidence for a marine sedimentary environment of deposition and biogenicity of 3.45 Ga stromatolitic carbonates in the Pilbara Craton, and support for a reducing Archaean ocean. *Geobiology* 1(2): 91-108.
- VARELA, F.G., MATURANA, H.R. & URIBE, R. 1974. Autopoiesis: The organization of living systems, its characterization and a model. *Biosystems* 5(4): 187-196.
- VON BONDE, C. 1928. Report N° 5, for the years 1925-1927. Fisheries and Marine Biological Survey Report 5:10-85. Union of South Africa, Pretoria.
- WACEY, D., KILBURN, M.R., SAUNDERS, M., CLIFF, J. & BRASIER, M.D. 2011. Microfossils of sulphur-metabolizing cells in 3.4-billion-year-old rocks of Western Australia. *Nature Geosci* 4(10): 698-702.
- ZAFRA, A.H., SALZWEDEL, H. & FLORES, L. 1988 Distribución y biomasa de bacterias filamentosas (*Thioploca* spp.) en la costa norte del Perú 1976-1985. En: *Recursos y Dinámicas del Ecosistema de Afloramiento Peruano* (Eds. Salzwedel, H. & Landa, A.), Lima, Perú. Instituto del Mar del Perú. pp 99-105.
- ZOPFI, J., BÖTTCHER, M.E. & JØRGENSEN, B.B. 2008. Biogeochemistry of sulfur and iron in *Thioploca*-colonized surface sediments in the upwelling area off central Chile. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 72(3): 827-843.
- ZOPFI, J., KJÆR, T., NIELSEN, L.P. & JØRGENSEN, B.B. 2001. Ecology of *Thioploca* spp.: Nitrate and Sulfur Storage in Relation to Chemical Microgradients and Influence of *Thioploca* spp. on the Sedimentary Nitrogen Cycle. *Applied and Environmental Microbiology* 67(12): 5530-5537.

ANEXO 1: Datos hidrográficos de la Expedición Thioploca-Chile 1994. Crucero I - Vidal Gormaz - Marzo 7-8, 1994.

NOTA: El trabajo de terreno y los análisis químicos fueron realizados por el Laboratorio de Química Ambiental del Centro EULA, Universidad de Concepción.

N° Trans.	N° Est.	Prof. (m)	t°C	PSU	Sigma t	DO (mL L ⁻¹)	% Sat. O ₂	Silicato (µMol L ⁻¹)	Nitrito (µMol L ⁻¹)	Nitrato (µMol L ⁻¹)	Fosfato (µMol L ⁻¹)
1	1.2	0	13.940	34.4974	25.81	5.70	97.69	1.02	0.22	2.71	1.78
1	1.2	5	13.116	34.7597	26.18	5.90	99.48	1.27	0.22	2.66	1.21
1	1.2	10	12.023	35.1879	26.73	1.70	28.08	5.99	2.12	13.73	3.29
1	1.2	15	11.725	34.7554	26.45	0.90	14.73	11.64	2.11	15.26	2.20
1	1.2	50	11.005	34.5927	26.46	0.50	8.05	20.49	2.08	16.86	3.58
1	1.3	0	14.062	34.0074	25.41	6.10	104.49	3.74	0.24	3.63	0.61
1	1.3	10	13.132	34.3177	25.84	4.50	75.68	5.45	0.55	12.07	1.77
1	1.3	15	12.813	34.3437	25.92	4.00	66.82	4.94	0.53	11.82	n.d.
1	1.3	30	11.213	34.5177	26.36	1.90	30.72	11.66	0.22	22.27	n.d.
1	1.3	50	10.936	34.5180	26.41	0.80	12.86	15.73	0.57	21.87	3.30
1	1.3	75	10.932	34.4629	26.37	0.60	9.64	11.37	0.22	25.46	3.22
1	1.3	100	10.774	34.4252	26.37	0.40	6.40	17.18	0.58	21.18	3.92
1	1.4	0	13.405	34.4020	25.85	5.60	94.80	4.26	0.23	6.57	0.50
1	1.4	5	13.401	34.4210	25.86	5.90	99.88	3.76	0.22	7.56	1.05
1	1.4	10	13.404	34.4200	25.86	5.40	91.42	2.19	0.22	7.31	n.d.

1	1.4	15	12.103	35.0130	26.58	5.30	87.58	1.50	0.22	5.63	n.d.
1	1.4	30	10.904	34.6430	26.52	1.50	24.11	10.64	0.34	21.59	n.d.
1	1.4	50	11.048	34.5930	26.45	0.80	12.90	14.17	0.22	21.49	n.d.
1	1.4	75	10.976	34.5800	26.45	0.60	9.66	14.75	0.22	20.98	n.d.
1	1.4	100	10.873	34.6250	26.51	0.40	6.43	18.26	0.22	22.63	3.34
1	1.4	150	10.607	34.6290	26.56	0.50	7.99	17.88	0.22	20.19	n.d.
1	1.4	200	10.476	34.5970	26.56	0.40	6.37	16.76	0.22	25.25	3.72
1	1.4	250	10.221	34.5780	26.58	1.50	23.77	18.61	0.22	23.25	2.45
1	1.5	0	13.114	34.3840	25.89	4.50	75.69	3.11	0.53	12.06	2.12
1	1.5	5	13.122	34.4010	25.91	4.50	75.71	6.30	0.59	10.02	2.04
1	1.5	10	13.124	34.4020	25.91	4.20	70.67	4.40	0.27	10.06	2.48
1	1.5	15	12.626	34.6340	26.18	4.40	73.35	10.00	0.22	17.57	2.01
1	1.5	30	11.456	34.3110	26.16	4.00	64.91	3.65	0.32	14.95	1.62
1	1.5	50	10.592	34.3090	26.31	3.20	51.01	6.01	0.22	18.90	1.65
1	1.5	75	10.847	34.5520	26.45	4.10	65.80	12.77	0.22	16.69	n.d.
1	1.5	100	11.004	34.6230	26.48	0.90	14.50	15.84	0.28	20.83	n.d.
1	1.5	500	6.889	34.3950	26.96	3.10	45.95	11.00	0.22	28.81	n.d.
1	1.5	800	4.292	34.3210	27.22	2.90	40.93	18.13	0.22	27.56	2.38
2	2.2	0	13.868	34.5654	25.88	6.10	104.43	0.63	0.22	3.88	0.90
2	2.2	5	13.856	34.5728	25.89	6.00	102.69	1.23	0.22	5.34	3.57
2	2.2	10	13.352	34.8389	26.20	4.70	79.70	2.80	0.70	10.86	1.48
2	2.2	15	12.996	34.8470	26.28	3.30	55.53	4.72	0.59	14.15	1.78
2	2.2	30	11.427	34.7449	26.50	0.60	9.76	17.30	0.79	16.87	n.d.
2	2.2	50	11.275	34.6636	26.46	0.50	8.10	17.30	0.93	19.48	2.33
2	2.2	75	11.154	34.6752	26.50	0.40	6.47	17.72	2.50	18.08	n.d.
2	2.3	0	n.d.	n.d.	n.d.	6.20	n.d.	0.36	0.22	2.07	0.63
2	2.3	5	n.d.	n.d.	n.d.	6.00	n.d.	0.36	0.22	2.42	0.70
2	2.3	10	13.568	35.5370	26.69	4.90	83.87	1.32	0.38	8.27	1.22
2	2.3	15	12.880	35.7110	26.97	3.40	57.39	7.34	0.24	13.26	2.44
2	2.3	30	12.309	35.6000	27.00	2.90	48.31	8.58	0.30	19.89	2.97
2	2.3	50	n.d.	n.d.	n.d.	0.70	n.d.	11.66	0.22	30.82	1.29
2	2.3	75	10.986	34.6280	26.49	1.00	16.10	16.98	0.22	21.31	n.d.
2	2.3	100	10.827	34.6290	26.52	0.60	9.63	16.38	0.22	25.50	3.33
2	2.4	0	13.825	34.0280	25.47	4.20	71.58	0.36	0.22	2.94	n.d.
2	2.4	5	13.820	34.1270	25.55	5.00	85.26	0.36	0.22	4.44	1.04
2	2.4	10	13.702	34.1710	25.61	5.20	88.47	0.36	0.22	4.07	1.24
2	2.4	15	12.789	34.4040	25.97	4.10	68.49	2.86	0.46	13.76	1.28
2	2.4	30	12.264	34.4260	26.09	4.40	72.69	2.40	0.68	9.56	1.33
2	2.4	50	11.010	34.4580	26.35	2.80	45.06	5.90	0.45	18.34	2.12
2	2.4	75	11.105	34.5000	26.37	0.80	12.90	12.65	0.22	20.12	n.d.
2	2.4	100	n.d.	n.d.	n.d.	0.50	n.d.	10.14	0.22	24.15	3.02
2	2.5	0	14.348	34.2350	25.52	5.60	96.68	0.94	0.29	7.96	2.90
2	2.5	5	14.346	34.2390	25.53	5.20	89.77	1.09	0.30	7.66	1.48

2	2.5	15	14.118	34.2450	25.58	5.20	89.32	2.36	0.57	11.57	1.78
2	2.5	30	13.246	34.3620	25.85	4.70	79.27	2.44	0.73	15.33	3.22
2	2.5	50	12.066	34.2700	26.01	4.20	69.02	5.34	0.22	20.54	2.72
2	2.5	75	11.240	34.5010	26.34	1.90	30.73	10.24	0.31	19.74	2.28
2	2.5	100	11.164	34.5790	26.42	0.60	9.69	15.09	0.22	21.74	n.d.
2	2.5	150	10.767	34.6180	26.52	0.60	9.62	9.91	0.22	17.51	3.57
2	2.5	200	10.181	34.5760	26.59	0.90	14.25	13.00	0.22	22.26	0.50
2	2.5	500	6.331	34.3970	27.03	3.80	55.73	6.64	0.22	27.97	2.52
2	2.5	800	4.492	34.3650	27.23	3.40	48.18	12.37	0.22	34.78	0.55
2	2.5	1300	3.245	34.4950	27.46	2.60	36.05	36.70	0.22	38.32	0.80
3	3.1	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3	3.1	5	n.d.	n.d.	n.d.	4.10	n.d.	16.21	0.95	9.88	2.56
3	3.1	10	n.d.	n.d.	n.d.	2.80	n.d.	5.78	1.32	14.25	3.17
3	3.1	30	n.d.	n.d.	n.d.	0.50	n.d.	9.56	0.92	19.67	n.d.
3	3.21	0	13.417	34.4700	25.90	4.69	79.45	3.42	0.67	10.66	2.70
3	3.21	5	13.415	34.4740	25.90	4.69	79.45	2.79	0.92	12.34	n.d.
3	3.21	10	12.937	34.4970	26.02	2.55	42.76	1.52	0.90	7.36	n.d.
3	3.21	20	11.474	34.9970	26.69	0.67	10.92	13.98	1.35	23.18	n.d.
3	3.21	30	11.371	34.6160	26.41	0.80	12.98	20.87	0.22	20.64	n.d.
3	3.21	50	11.305	34.5300	26.35	1.07	17.33	21.91	0.88	15.08	3.46
3	3.22	0	14.026	34.4280	25.74	7.67	131.65	0.46	0.22	0.92	0.19
3	3.22	5	14.020	34.4370	25.75	7.67	131.64	1.61	0.22	1.55	1.94
3	3.22	10	14.031	34.4350	25.74	7.67	131.67	0.36	0.22	2.24	2.52
3	3.22	20	13.775	34.5540	25.89	1.08	18.45	14.48	1.72	20.01	2.18
3	3.22	30	11.431	34.8080	26.55	0.67	10.90	13.54	0.84	21.77	1.20
3	3.22	50	11.306	34.5970	26.41	0.67	10.86	16.72	0.40	9.14	2.44
3	3.22	75	11.234	34.5940	26.42	0.94	15.21	17.90	2.60	20.90	3.21
3	3.3	0	14.042	34.4220	25.73	7.24	124.30	0.90	0.22	0.39	0.27
3	3.3	5	14.039	34.4300	25.74	7.10	121.90	0.36	0.22	1.69	0.43
3	3.3	10	14.028	34.4400	25.75	6.43	110.38	0.63	0.22	1.51	0.33
3	3.3	20	13.392	34.2100	25.70	6.43	108.68	0.36	0.22	4.30	0.25
3	3.3	30	11.569	34.4870	26.27	2.68	43.64	9.12	0.22	18.64	3.26
3	3.3	50	11.362	34.5950	26.39	0.67	10.87	14.11	0.39	16.52	2.73
3	3.3	75	n.d.	n.d.	n.d.	0.40	n.d.	8.90	0.35	25.97	0.89
3	3.3	100	n.d.	n.d.	n.d.	0.40	n.d.	18.62	n.d.	6.90	3.46
3	3.4	0	12.832	34.2620	25.86	6.43	107.41	0.58	0.31	6.62	0.64
3	3.4	5	12.824	34.3020	25.89	6.43	107.42	1.17	0.31	4.70	0.50
3	3.4	10	12.825	34.3040	25.89	6.43	107.42	0.71	0.24	6.89	1.17
3	3.4	20	12.816	34.3160	25.90	6.43	107.41	3.07	0.36	12.57	0.50
3	3.4	30	12.819	34.3410	25.92	3.08	51.46	1.96	0.32	13.53	1.62
3	3.4	50	11.400	34.2580	26.13	2.95	47.80	6.05	0.22	21.41	1.96
3	3.4	75	10.535	34.3600	26.36	2.14	34.08	10.91	0.22	21.06	1.89
3	3.4	100	10.871	34.5400	26.44	0.67	10.76	15.96	0.22	19.71	n.d.

3	3.5	0	14.333	34.2470	25.54	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
3	3.5	5	14.338	34.2450	25.53	6.43	110.99	0.56	0.30	10.57	1.18
3	3.5	10	14.331	34.2590	25.55	6.16	106.33	n.d.	0.39	6.81	1.33
3	3.5	20	13.713	34.4100	25.79	6.16	104.99	0.94	0.49	9.25	2.08
3	3.5	30	13.411	34.3380	25.80	5.36	90.71	3.41	n.d.	0.88	n.d.
3	3.5	50	12.627	34.4940	26.08	4.69	78.11	1.63	0.34	14.64	1.85
3	3.5	75	10.994	34.3070	26.24	2.68	43.08	6.16	0.22	3.24	n.d.
3	3.5	100	11.211	34.5240	26.37	1.34	21.66	13.31	0.22	22.40	3.32
3	3.5	150	10.774	34.6220	26.52	0.94	15.07	14.46	0.22	14.85	n.d.
3	3.5	200	10.256	34.6300	26.62	0.94	14.91	15.71	0.22	25.13	3.54
3	3.5	300	n.d.	n.d.	n.d.	1.34	n.d.	13.88	0.22	29.07	n.d.
3	3.5	400	n.d.	n.d.	n.d.	2.41	n.d.	10.45	0.22	27.31	2.88
3	3.5	600	n.d.	n.d.	n.d.	4.96	n.d.	10.12	0.22	19.69	2.17
4	4.1	0	14.064	34.4240	25.73	7.37	126.60	0.36	0.22	1.48	2.62
4	4.1	5	14.038	34.4390	25.75	7.37	126.54	0.36	0.22	2.06	2.61
4	4.1	10	12.673	35.1450	26.57	4.82	80.70	0.36	0.42	11.02	1.65
4	4.1	20	n.d.	n.d.	n.d.	1.21	n.d.	14.77	0.37	22.76	2.52
4	4.2	0	n.d.	n.d.	n.d.	7.37	n.d.	0.52	0.22	0.30	0.52
4	4.2	5	14.249	34.5040	25.75	7.24	124.94	6.14	0.22	1.85	2.44
4	4.2	10	14.113	34.5380	25.81	6.03	103.77	1.48	0.22	1.19	0.41
4	4.2	20	11.241	34.4830	26.33	1.74	28.14	9.39	0.22	21.99	n.d.
4	4.2	30	11.386	34.6060	26.40	0.80	12.99	14.32	0.22	23.27	3.10
4	4.2	50	11.284	34.6390	26.44	0.80	12.96	16.96	0.22	19.21	n.d.
4	4.3	0	14.121	34.5440	25.81	7.50	129.10	1.08	0.22	2.84	1.52
4	4.3	5	14.119	34.5530	25.82	7.37	126.86	0.75	0.22	6.54	0.50
4	4.3	10	14.117	34.5620	25.82	7.10	122.22	0.48	0.22	1.19	0.99
4	4.3	20	12.543	34.7830	26.32	4.82	80.28	4.13	0.22	14.54	6.33
4	4.3	30	11.799	34.7660	26.45	1.61	26.39	10.12	0.25	21.44	n.d.
4	4.3	50	11.299	34.6550	26.45	1.61	26.10	14.38	0.22	21.94	n.d.
4	4.3	75	11.083	34.6890	26.52	0.94	15.17	14.75	0.60	21.35	n.d.
4	4.3	90	11.196	34.6640	26.48	0.80	12.94	13.42	n.d.	16.25	n.d.
4	4.4	0	13.418	34.4230	25.86	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4	4.4	10	13.355	34.4180	25.87	6.16	104.18	0.50	0.22	7.02	1.00
4	4.4	20	13.005	34.4870	26.00	6.03	101.25	1.58	0.40	9.20	2.13
4	4.4	30	12.642	34.5030	26.08	5.36	89.31	4.74	0.38	13.87	1.52
4	4.4	50	11.201	34.3400	26.23	3.48	56.19	6.36	0.42	18.16	2.38
4	4.4	75	10.876	34.5320	26.43	1.34	21.52	11.81	0.22	27.73	2.86
4	4.4	100	11.073	34.5730	26.43	0.80	12.90	9.66	0.22	22.26	1.22
4	4.5	0	13.582	34.2370	25.68	6.03	102.36	0.84	0.24	10.45	3.33
4	4.5	5	13.574	34.3240	25.75	6.03	102.40	1.54	0.53	10.29	1.32
4	4.5	10	13.549	34.3340	25.77	6.03	102.35	0.73	0.22	11.06	2.40
4	4.5	20	13.388	34.3380	25.80	6.03	102.00	1.24	0.42	9.62	0.85
4	4.5	30	13.321	34.3300	25.81	6.03	101.84	1.36	0.44	10.05	0.77

4	4.5	50	11.627	34.2390	26.07	3.62	58.93	4.11	0.22	15.99	1.81
4	4.5	75	10.949	34.4340	26.34	1.21	19.45	11.16	0.22	22.75	2.05
4	4.5	100	11.055	34.5050	26.38	1.34	21.59	11.96	0.22	21.45	n.d.
4	4.5	150	10.758	34.6160	26.52	1.74	27.88	14.63	0.22	25.15	2.86
4	4.5	200	10.371	34.6060	26.58	0.54	8.58	15.55	0.22	26.98	n.d.
4	4.5	300	9.119	34.5290	26.73	1.61	24.94	14.23	0.22	24.69	n.d.
4	4.5	350	8.574	34.4980	26.79	1.34	20.53	10.93	0.22	26.44	2.62
4	4.5	400	7.867	34.4530	26.86	2.41	36.41	14.75	0.22	28.22	3.11
5	5.1	0	13.337	34.5410	25.97	5.49	92.88	0.36	0.64	6.35	1.13
5	5.1	5	13.319	34.5540	25.98	5.36	90.66	0.36	0.61	8.25	1.24
5	5.1	10	13.015	34.7140	26.17	5.36	90.15	0.36	0.46	13.79	2.70
5	5.1	20	12.085	34.7720	26.40	3.08	50.80	8.05	0.58	17.72	2.44
5	5.1	30	11.715	34.6240	26.35	3.08	50.36	12.44	0.36	19.66	3.93
5	5.1	50	11.472	34.6200	26.39	3.08	50.10	7.26	0.36	17.72	n.d.
5	5.2	0	13.587	34.4960	25.88	6.70	113.94	0.40	0.33	5.21	0.89
5	5.2	5	13.569	34.5130	25.90	5.63	95.72	0.48	0.36	6.15	1.14
5	5.2	10	12.644	34.9240	26.41	4.69	78.36	1.44	0.31	14.56	n.d.
5	5.2	20	12.238	34.6000	26.23	3.08	50.91	5.99	0.48	16.15	n.d.
5	5.2	30	11.557	34.6470	26.40	2.68	43.68	12.21	0.54	22.62	2.97
5	5.2	50	11.392	34.6550	26.44	1.88	30.53	15.65	0.22	22.20	3.65
5	5.2	75	11.365	34.6370	26.43	1.74	28.24	21.37	0.64	20.91	3.58
5	5.3	0	13.225	34.4780	25.94	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5	5.3	10	13.113	34.5640	26.03	5.90	99.35	0.69	0.22	1.26	0.12
5	5.3	20	12.632	34.5520	26.12	5.90	98.32	3.11	0.43	6.65	3.38
5	5.3	30	11.792	34.9060	26.56	4.82	79.07	4.82	0.22	19.08	n.d.
5	5.3	50	11.341	34.6500	26.44	3.75	60.84	10.66	0.22	23.53	2.85
5	5.3	75	11.302	34.6280	26.43	1.34	21.72	16.80	0.44	20.20	n.d.
5	5.3	100	11.181	34.6500	26.47	1.21	19.57	18.90	n.d.	16.94	3.70
5	5.4	0	13.472	34.3720	25.81	6.30	106.78	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
5	5.4	5	13.473	34.3690	25.81	6.30	106.78	0.42	0.32	11.17	1.65
5	5.4	10	13.474	34.3700	25.81	6.16	104.41	1.36	0.22	8.56	2.72
5	5.4	20	13.001	34.4370	25.96	6.16	103.39	1.02	0.38	7.75	0.92
5	5.4	30	10,n.d.	34.5610	26.43	4.69	75.51	2.05	0.58	15.00	3.77
5	5.4	50	10.438	34.3090	26.34	4.02	63.88	8.70	0.36	17.99	1.59
5	5.4	75	11.322	34.5710	26.38	1.21	19.61	13.32	0.22	18.73	n.d.
5	5.4	100	11.406	34.6450	26.43	1.21	19.66	16.09	0.22	17.69	3.18
5	5.5	0	14.141	34.2420	25.57	6.03	103.63	1.46	0.22	8.50	0.65
5	5.5	5	14.111	34.2500	25.58	6.03	103.57	0.73	0.34	9.47	0.61
5	5.5	10	14.098	34.2470	25.59	6.03	103.54	0.85	0.22	7.07	2.44
5	5.5	20	13.947	34.2460	25.62	6.03	103.19	0.77	0.33	6.90	0.97
5	5.5	30	13.706	34.3000	25.71	6.03	102.68	1.56	0.38	7.63	0.70
5	5.5	50	12.480	34.1840	25.86	5.78	95.78	1.27	0.72	10.55	2.97
5	5.5	75	10.797	34.2970	26.26	2.68	42.90	7.07	0.22	24.09	2.94

5	5.5	100	11.135	34.4470	26.32	1.88	30.33	8.60	0.22	21.72	n.d.
5	5.5	150	10.787	34.5970	26.50	1.07	17.16	16.11	0.22	14.21	2.16
5	5.5	200	10.393	34.6130	26.58	0.67	10.66	15.86	0.22	18.81	n.d.
5	5.5	300	9.150	34.5540	26.75	1.07	16.59	15.04	0.22	28.92	n.d.
5	5.5	400	n.d.	n.d.	n.d.	2.41	n.d.	16.48	0.22	28.72	2.85

ANEXO 2: Expedicion Thioploca-Chile 1994. Crucero 2 - Vidal Gormaz - Marzo 30 - 31, 1994

N° Trans.	N° Est.	Prof. (m)	t°C	PSU	Sigma t	DO (mL L ⁻¹)	% Sat. O ₂	Silicato (μMol L ⁻¹)	Nitrito (μMol L ⁻¹)	Nitrato (μMol L ⁻¹)	Fosfato (μMol L ⁻¹)
1	1.2	0	12.92	33.725	25.421	4.52	75.39	18.21	0.66	22.76	2.75
1	1.2	5	12.95	33.686	25.386	3.77	62.90	26.43	0.67	12.44	2.99
1	1.2	10	12.28	34.494	26.144	3.62	59.84	26.07	0.60	22.54	3.06
1	1.2	15	11.32	34.685	26.473	2.11	34.22	14.29	0.44	25.96	2.98
1	1.2	30	11.45	34.644	26.417	1.21	19.67	19.64	0.63	25.56	3.11
1	1.2	50	11.4	34.620	26.406	0.45	7.31	17.86	1.51	21.12	3.14
1	1.3	0	13.22	34.163	25.701	6.63	111.61	4.29	0.36	7.53	1.78
1	1.3	5	13.21	34.175	25.713	6.33	106.53	3.57	0.30	6.41	1.79
1	1.3	10	12.96	34.305	25.863	6.03	101.04	4.64	0.32	7.82	1.97
1	1.3	15	12.57	34.394	26.009	4.52	75.15	n.d.	0.26	15.92	2.24
1	1.3	30	11.28	34.601	26.414	2.26	36.61	38.57	0.22	30.14	2.84
1	1.3	50	11.19	34.607	26.436	1.51	24.41	18.57	0.22	29.02	2.72
1	1.3	75	11.04	34.610	26.464	1.51	24.34	18.21	0.31	27.99	2.79
1	1.3	100	10.95	34.637	26.502	1.51	24.30	18.93	0.22	26.93	2.97
1	1.3	150	10.77	34.628	26.528	1.36	21.80	21.43	0.42	29.11	2.92
1	1.4	0	11.92	33.951	25.791	7.24	118.37	1.43	0.44	8.85	0.92
1	1.4	5	11.2	34.156	26.083	6.94	111.91	0.36	0.40	9.12	1.01
1	1.4	10	10.7	34.160	26.176	6.94	110.77	0.36	0.42	10.56	0.99
1	1.4	15	10.91	34.056	26.057	6.18	99.00	0.36	0.22	15.68	1.24
1	1.4	30	10.26	34.101	26.206	5.28	83.49	2.50	0.22	19.42	1.43
1	1.4	50	10.87	34.357	26.299	4.22	67.67	16.97	0.22	24.24	2.14
1	1.4	75	10.89	34.507	26.411	2.11	33.89	8.93	0.22	22.36	2.69
1	1.4	100	11.14	34.609	26.446	2.11	34.08	7.14	0.91	21.15	3.02
1	1.4	150	11.07	34.646	26.488	1.51	24.36	15.71	0.22	29.42	2.66
1	1.4	200	9.811	34.599	26.671	0.75	11.79	18.57	0.22	34.43	2.81
1	1.4	250	9.435	34.546	26.692	1.51	23.54	18.93	0.22	34.12	2.70
1	1.4	500	n.d.	n.d.	n.d.	1.21	n.d.	9.64	0.22	36.30	2.66
1	1.5	0	12.6	34.034	25.724	7.54	125.14	0.36	0.51	7.93	1.07
1	1.5	5	12.35	34.109	25.831	7.39	122.05	2.14	0.48	9.98	1.22
1	1.5	10	11.95	34.080	25.885	6.63	108.55	0.36	0.32	10.25	1.15
1	1.5	15	11.38	34.311	26.171	6.63	107.42	1.43	0.23	14.08	1.25
1	1.5	30	11.15	34.113	26.058	6.18	99.54	2.50	0.28	16.23	1.37

1	1.5	50	10.95	34.156	26.128	6.18	99.14	3.57	0.27	18.03	1.53
1	1.5	75	10.45	34.287	26.318	4.52	71.83	6.07	0.22	29.08	1.92
1	1.5	100	11.11	34.529	26.389	2.11	34.04	38.57	0.22	26.99	2.64
1	1.5	200	9.933	34.565	26.624	1.66	26.15	36.09	0.22	32.49	2.67
1	1.5	500	6.156	34.335	27.008	5.28	77.15	6.79	0.22	31.96	2.05
1	1.5	800	n.d.	n.d.	n.d.	5.28	n.d.	31.43	0.22	34.77	2.41
1	1.5	950	n.d.	n.d.	n.d.	4.07	n.d.	31.43	0.22	36.57	2.47
2	2.2	0	n.d.	n.d.	n.d.	4.52	n.d.	10.36	0.54	18.78	2.34
2	2.2	5	n.d.	n.d.	n.d.	6.33	n.d.	10.71	0.54	14.26	1.92
2	2.2	10	n.d.	n.d.	n.d.	4.52	n.d.	9.29	0.56	18.50	2.11
2	2.2	20	n.d.	n.d.	n.d.	4.52	n.d.	4.64	0.25	21.79	1.80
2	2.2	30	n.d.	n.d.	n.d.	1.81	n.d.	5.71	0.22	29.02	2.77
2	2.2	50	n.d.	n.d.	n.d.	1.06	n.d.	16.07	0.22	28.60	2.69
2	2.2	100	n.d.	n.d.	n.d.	0.75	n.d.	32.86	1.21	18.98	3.09
2	2.3	0	13.02	34.278	25.831	6.94	116.41	n.d.	0.39	11.70	1.83
2	2.3	5	13	34.289	25.843	6.94	116.36	10.00	0.34	12.67	1.83
2	2.3	10	13	34.283	25.839	7.09	118.87	6.43	0.37	15.95	1.71
2	2.3	15	12.8	34.399	25.968	6.33	105.75	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
2	2.3	30	10.95	34.647	26.510	1.96	31.54	16.79	0.22	33.06	2.94
2	2.3	50	10.93	34.610	26.485	1.51	24.28	20.36	0.22	28.29	2.78
2	2.3	75	11.15	34.651	26.478	1.21	19.55	23.21	0.59	22.37	3.00
2	2.3	100	n.d.	n.d.	n.d.	0.75	n.d.	18.21	0.80	24.26	2.85
2	2.4	0	11.36	34.196	26.085	6.48	104.87	2.14	0.33	19.05	1.56
2	2.4	5	11.38	34.155	26.049	6.48	104.89	2.50	0.32	16.95	1.56
2	2.4	10	11.21	34.199	26.114	6.18	99.72	4.29	0.31	18.06	1.74
2	2.4	15	11.09	34.286	26.204	6.18	99.52	6.23	0.31	18.47	1.70
2	2.4	30	10.91	34.257	26.214	6.03	96.72	4.64	0.26	18.08	1.65
2	2.4	50	10.9	34.324	26.268	5.28	84.71	6.79	0.32	17.61	1.98
2	2.4	75	10.64	34.383	26.360	4.82	76.94	8.57	0.26	22.92	2.10
2	2.4	100	11.27	34.602	26.418	1.66	26.88	23.57	0.22	24.61	3.00
2	2.4	150	10.81	34.635	26.526	0.60	9.63	18.21	0.22	34.70	2.88
2	2.5	0	14.06	35.092	26.246	7.54	130.09	3.93	0.48	10.19	0.85
2	2.5	5	13.79	35.244	26.421	7.09	121.71	0.36	0.41	9.01	1.04
2	2.5	10	13.38	35.227	26.492	6.94	118.06	0.36	0.37	11.46	1.11
2	2.5	15	13.34	35.178	26.464	6.94	117.90	0.36	0.38	13.31	1.25
2	2.5	30	n.d.	n.d.	n.d.	6.78	n.d.	n.d.	0.22	13.16	1.18
2	2.5	50	11.19	34.113	26.051	5.88	94.78	2.86	0.26	18.04	1.62
2	2.5	75	11.46	34.345	26.183	3.92	63.63	7.86	0.22	26.61	2.13
2	2.5	100	n.d.	n.d.	n.d.	2.86	n.d.	12.50	0.22	28.31	2.58
2	2.5	150	10.98	34.663	26.518	1.51	24.32	23.21	2.42	20.93	2.97
2	2.5	200	10.26	34.635	26.623	1.66	26.33	19.64	0.22	32.82	2.81
2	2.5	500	6.015	34.329	27.021	5.43	79.13	10.71	0.22	16.29	2.61
2	2.5	800	n.d.	n.d.	n.d.	5.28	n.d.	8.57	0.22	34.71	2.26

2	2.5	1300	n.d.	n.d.	n.d.	3.62	n.d.	50.71	0.22	35.00	2.61
3	3.1	0	13.98	34.546	25.840	5.28	90.61	7.86	1.05	7.57	3.37
3	3.1	5	13.69	34.761	26.067	4.52	77.18	5.36	1.19	10.09	3.96
3	3.1	10	11.92	35.319	26.853	1.51	24.90	24.29	1.24	23.02	3.38
3	3.1	20	11.51	34.971	26.660	1.36	22.19	19.29	n.d.	15.25	3.30
3	3.21	0	12.74	34.435	26.008	4.52	75.43	15.00	0.99	22.30	3.16
3	3.21	5	12.6	34.468	26.061	4.52	75.23	16.07	1.04	18.63	3.33
3	3.21	10	11.87	34.541	26.258	4.22	69.18	17.14	0.93	21.36	3.06
3	3.21	20	11.69	34.565	26.310	2.11	34.47	33.57	1.48	19.63	3.38
3	3.21	30	11.51	34.628	26.393	1.36	22.14	9.29	2.33	20.98	3.11
3	3.21	60	n.d.	n.d.	n.d.	0.75	n.d.	27.50	n.d.	9.40	3.17
3	3.22	0	11.84	34.125	25.940	5.13	83.83	9.64	0.53	19.70	1.80
3	3.22	5	11.75	34.150	25.976	5.43	88.58	4.29	0.38	19.00	1.68
3	3.22	10	11.28	34.187	26.093	4.82	77.87	7.86	0.49	20.81	2.14
3	3.22	20	11.63	34.274	26.096	2.26	36.80	11.43	0.22	20.67	2.66
3	3.22	30	11.2	34.423	26.291	1.51	24.39	11.79	0.31	23.72	2.49
3	3.22	50	11.34	34.543	26.359	0.75	12.16	n.d.	0.22	25.11	2.90
3	3.22	80	11.27	34.611	26.425	0.75	12.15	23.21	0.22	18.68	3.07
3	3.3	0	12.64	34.110	25.776	6.56	109.02	3.93	0.42	11.67	1.39
3	3.3	5	12.6	34.112	25.785	6.42	106.60	0.71	0.31	12.56	1.39
3	3.3	10	12.26	34.123	25.859	6.14	101.22	3.57	0.44	12.73	1.45
3	3.3	15	12.09	34.143	25.906	4.95	81.33	4.64	0.22	16.77	1.95
3	3.3	30	11.46	34.345	26.181	3.63	58.93	8.57	0.22	25.49	2.12
3	3.3	50	11.3	34.526	26.352	1.88	30.45	15.36	0.22	28.84	2.83
3	3.3	75	11.13	34.600	26.442	1.33	21.47	20.71	0.22	22.52	2.71
3	3.3	100	11.12	34.661	26.490	0.56	9.04	26.43	0.40	19.51	3.22
3	3.4	0	12.99	34.330	25.877	5.58	93.57	6.79	0.60	15.30	2.00
3	3.4	5	12.76	34.526	26.074	5.58	93.23	3.57	0.52	17.15	2.01
3	3.4	10	12.04	34.607	26.277	4.95	81.47	4.29	0.58	20.35	2.11
3	3.4	20	11.7	34.614	26.347	3.21	52.46	13.21	0.48	23.22	2.51
3	3.4	30	11.51	34.600	26.372	2.51	40.85	12.86	0.35	26.24	2.58
3	3.4	50	10.81	34.502	26.423	2.37	37.99	15.71	0.25	27.47	2.46
3	3.4	75	10.88	34.571	26.464	0.91	14.61	8.57	0.22	27.48	2.72
3	3.4	100	11.05	34.640	26.488	0.42	6.77	19.64	0.22	24.32	2.95
3	3.5	0	11.77	34.216	26.025	6.14	100.24	5.00	0.50	12.50	1.65
3	3.5	5	11.75	34.157	25.983	6.42	104.72	3.93	0.39	15.05	1.61
3	3.5	10	11.6	34.234	26.069	5.58	90.79	2.50	0.29	16.62	1.55
3	3.5	20	11.04	34.155	26.112	5.72	91.93	2.86	0.30	30.57	1.48
3	3.5	30	10.82	34.128	26.129	5.58	89.27	22.11	0.25	20.24	1.53
3	3.5	50	11.23	34.320	26.204	4.68	75.60	11.07	0.22	16.14	2.05
3	3.5	75	11.28	34.582	26.400	n.d.	n.d.	15.71	0.22	29.25	2.83
3	3.5	100	11.2	34.675	26.488	1.46	23.62	16.79	0.22	24.87	2.76
3	3.5	150	10.92	34.674	26.537	1.05	16.89	18.57	0.22	28.70	2.77

3	3.5	200	10.46	34.632	26.586	1.46	23.26	42.86	0.22	16.13	2.79
3	3.5	300	9.602	34.580	26.691	0.91	14.24	n.d.	0.22	21.13	2.67
3	3.5	400	7.449	34.504	26.965	3.21	48.12	n.d.	0.22	35.20	2.54
3	3.5	600	n.d.	n.d.	n.d.	4.68	n.d.	16.79	0.22	30.53	2.12
4	4.1	0	12.65	34.539	26.106	3.84	64.00	15.00	0.75	19.19	2.79
4	4.1	5	12.69	34.531	26.092	3.07	51.22	14.64	0.79	25.16	2.85
4	4.1	10	12.44	34.615	26.205	2.02	33.54	15.36	0.56	27.21	3.01
4	4.1	20	11.88	34.603	26.304	1.33	21.82	16.43	0.37	26.88	2.92
4	4.2	0	13.22	34.494	25.958	4.95	83.51	2.50	0.84	18.96	2.17
4	4.2	5	13.2	34.498	25.964	5.30	89.38	3.57	0.71	20.52	2.39
4	4.2	10	12.98	34.616	26.099	4.40	73.91	3.93	0.87	20.95	2.62
4	4.2	20	11.43	34.751	26.503	2.16	35.13	10.36	0.22	32.31	2.67
4	4.2	30	11.4	34.606	26.397	1.33	21.60	16.07	0.22	29.41	2.98
4	4.2	50	11.46	34.606	26.385	1.18	19.19	16.07	0.22	27.11	2.81
4	4.3	0	13.29	34.435	25.897	5.86	98.97	5.36	0.76	16.17	2.00
4	4.3	10	13.28	34.448	25.910	5.86	98.96	6.43	0.77	12.96	1.86
4	4.3	20	12.79	34.577	26.108	4.95	82.78	5.36	0.49	20.60	2.07
4	4.3	30	11.22	34.863	26.629	1.88	30.46	15.00	0.22	28.71	2.59
4	4.3	50	10.99	34.583	26.453	1.60	25.76	12.50	0.22	22.53	2.75
4	4.3	75	11.16	34.642	26.468	1.33	21.50	17.50	0.43	24.50	2.73
4	4.3	100	n.d.	n.d.	n.d.	0.70	n.d.	25.36	n.d.	10.89	3.19
4	4.4	0	12.75	34.263	25.873	5.86	97.71	2.50	0.53	13.77	1.66
4	4.4	5	12.75	34.262	25.872	5.86	97.71	5.71	0.64	16.43	1.66
4	4.4	10	12.5	34.364	26.000	5.86	97.24	17.14	0.48	17.75	1.75
4	4.4	20	12.45	34.361	26.006	5.72	94.84	3.93	0.62	15.47	1.91
4	4.4	30	11.58	34.437	26.231	3.35	54.55	10.00	0.52	23.26	2.52
4	4.4	50	11.18	34.585	26.421	2.37	38.30	8.57	0.22	29.03	2.51
4	4.4	75	11.08	34.574	26.430	0.91	14.68	15.00	0.22	28.24	2.72
4	4.4	100	11.16	34.638	26.466	0.56	9.05	19.64	0.22	28.14	2.62
4	4.5	0	14.36	34.179	25.477	7.05	121.71	0.71	0.58	3.08	n.d.
4	4.5	5	14.27	34.211	25.522	6.42	110.62	1.07	0.57	7.07	n.d.
4	4.5	10	13.21	34.594	26.037	5.09	85.91	0.36	0.65	0.22	n.d.
4	4.5	20	12.16	34.415	26.105	4.95	81.58	4.64	0.32	19.59	n.d.
4	4.5	30	11.96	34.303	26.056	5.09	83.48	2.50	0.43	16.09	n.d.
4	4.5	50	11.44	34.418	26.243	3.21	52.11	0.36	0.22	27.00	n.d.
4	4.5	75	10.79	34.467	26.398	2.93	46.94	11.43	0.22	24.85	n.d.
4	4.5	100	10.47	34.467	26.455	2.02	32.15	13.57	0.22	27.79	n.d.
4	4.5	150	10.1	34.596	26.620	1.33	21.03	11.79	0.22	32.51	n.d.
4	4.5	200	10.22	34.591	26.596	1.05	16.64	21.79	0.22	32.54	n.d.
4	4.5	300	8.87	34.518	26.762	1.33	20.50	17.50	0.22	35.66	n.d.
4	4.5	350	8.262	34.471	26.819	1.60	24.36	13.57	0.22	36.08	n.d.
4	4.5	400	7.404	34.417	26.903	2.65	39.67	11.43	0.22	34.83	n.d.

5	5.1	0	13.5	34.472	25.883	5.30	89.96	11.79	0.86	19.11	2.39
5	5.1	5	13.47	34.501	25.912	5.30	89.90	13.57	0.82	22.85	2.37
5	5.1	10	13.15	34.694	26.126	5.09	85.86	32.50	0.76	25.12	2.49
5	5.1	20	11.76	34.845	26.514	1.60	26.22	15.36	0.22	27.00	3.09
5	5.1	30	11.59	34.674	26.414	1.33	21.69	18.93	0.22	29.91	3.08
5	5.1	50	n.d.	n.d.	n.d.	0.56	n.d.	26.43	0.22	23.19	3.06
5	5.2	0	13.38	34.515	25.941	4.95	83.81	3.93	0.63	17.48	2.22
5	5.2	5	13.39	34.518	25.942	4.95	83.83	8.21	0.70	19.04	2.37
5	5.2	10	13.36	34.519	25.948	5.09	86.15	12.50	0.96	15.59	2.63
5	5.2	20	12.53	34.751	26.293	4.68	77.92	1.43	0.22	29.02	2.50
5	5.2	30	11.93	34.536	26.242	2.16	35.46	12.50	0.22	29.85	2.58
5	5.2	50	11.39	34.609	26.400	0.70	11.37	n.d.	0.22	31.16	2.85
5	5.2	75	11.5	34.652	26.413	0.28	4.56	8.21	0.58	25.23	2.50
5	5.3	0	13.23	34.478	25.944	5.30	89.41	3.93	0.69	17.87	2.08
5	5.3	5	13.22	34.477	25.943	5.09	85.87	5.71	0.62	19.49	2.15
5	5.3	10	13.11	34.564	26.033	4.68	78.81	6.07	0.65	22.72	2.22
5	5.3	20	12.63	34.552	26.119	3.84	63.99	16.07	0.46	22.97	2.39
5	5.3	30	11.79	34.906	26.556	2.79	45.77	10.71	0.22	26.31	2.49
5	5.3	50	11.34	34.650	26.441	0.91	14.76	15.00	0.22	23.10	2.79
5	5.3	75	11.3	34.628	26.431	1.33	21.56	25.00	0.22	18.77	2.84
5	5.3	100	11.18	34.650	26.471	0.56	9.06	24.29	0.22	18.94	2.75
5	5.4	0	13.39	34.213	25.705	6.00	101.41	2.14	0.69	15.08	1.37
5	5.4	5	13.38	34.227	25.719	5.86	99.02	0.36	0.80	12.30	n.d.
5	5.4	10	12.96	34.426	25.957	5.58	93.57	3.21	0.92	14.31	1.39
5	5.4	20	12.65	34.294	25.916	5.58	92.86	3.93	0.95	15.85	1.50
5	5.4	30	12.15	34.248	25.977	4.40	72.43	3.21	0.40	21.09	1.83
5	5.4	50	11.47	34.364	26.195	3.49	56.67	4.64	0.22	23.83	1.96
5	5.4	75	10.9	34.498	26.403	2.51	40.31	14.64	0.22	26.20	2.42
5	5.4	100	11.1	34.566	26.420	1.05	16.94	18.21	0.45	25.20	3.06
5	5.5	0	13.92	34.206	25.590	6.28	107.39	0.36	0.90	10.29	1.10
5	5.5	20	13.83	34.234	25.632	6.14	104.79	1.79	0.83	9.99	1.22
5	5.5	50	11.28	34.304	26.183	6.42	103.80	0.36	0.81	10.21	1.27
5	5.5	100	10.42	34.320	26.349	4.25	67.51	2.50	0.22	16.27	1.44
5	5.5	200	10.04	34.532	26.579	1.74	27.46	6.79	0.22	26.36	2.44
5	5.5	400	7.928	34.483	26.879	1.46	22.09	9.29	0.22	29.41	2.59

Recibido: 05.03.13
Aceptado: 26.09.13