



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y OCEANOGRÁFICAS

**ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LA COMUNIDAD BACTERIANA DEL
SULFURETO DE HUMBOLDT BAJO DOS CONDICIONES ENSO “LA NIÑA”:
2007-2009 & 2011-2012.**

Fabián Andrés Leiva González

Seminario de Título presentado al
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA DE LA UNIVERSIDAD DE
CONCEPCIÓN
para optar al título de
BIÓLOGO MARINO

Concepción - Chile

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA**

**Este Seminario de Título ha sido realizado en el Departamento de
Oceanografía de la Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas.**

Profesor(a) Guía

Dr. Victor Gallardo

Nombre y Grado (s) Académico (s)

Director de Tesis

Dr. Victor Gallardo

Nombre y Grado (s) Académico (s)

Dr. Ciro Oyarzún

Nombre y Grado (s) Académico (s)

Dra. Nathaly Ruíz-Tagle

Nombre y Grado (s) Académico (s)

Jefe de Carrera

Dr. Ariel Valenzuela

Nombre y Grado (s) Académico (s)

Dedicatoria:

A mis padres, familiares y amigos; quienes me apoyaron de principio a fin.

*I'll wake up in a new life
Down by the seaside.*

British Sea Power – Cleaning up the Rooms

Agradecimientos:

A mis profesores guía Dr. Víctor A. Gallardo y M.Sc. Sra. Carola Espinoza del Laboratorio de Bentos y Exobiología, y al Prof. Dr. Ariel Valenzuela, por proveer apoyo y orientación durante la elaboración de este Seminario de Título.

Índice:

Índice de Figuras.....	vi
Índice de Tablas.....	vi
Índice de Anexos.....	vi
Resumen.....	7
Abstract.....	8
1. Introducción.....	9
1.2. <i>Objetivos</i>	14
1.2.1. <i>Objetivo principal</i>	14
1.2.2. <i>Objetivos secundarios</i>	14
2. Materiales y métodos.....	15
2.1. <i>Trabajo previo a la investigación</i>	15
2.2. <i>Procesamiento de datos</i>	15
3. Resultados.....	20
3.1 <i>La estructura del Sulfureto</i>	20
3.2 <i>Diversidad α y β</i>	23
4. Discusión.....	26
4.1. <i>Sobre la estructura del Sulfureto</i>	26
4.2. <i>Sobre el uso simultáneo de OTUs y ASVs</i>	28
4.3. <i>Sobre trabajo futuro</i>	29
5. Conclusión.....	31
6. Referencias.....	32
7. Material complementario.....	39

Índice de Figuras

Fig. 1: Temperatura oceánica superficial durante periodos de muestreo (2007-2009 y 2011-2012).....	11
Fig. 2: Zona de muestreo durante ambos periodos “La Niña”	16
Fig. 3: Curva de rarefacción del SH por temporada de muestreo.....	19
Fig. 4: Diversidad α para el primer (VG_OTU) y segundo crucero (VG_ASV).....	21
Fig. 5: Ordenación NMDS para el 1 ^{er} y 2 ^o muestreo.....	22
Fig. 6: Curva de rarefacción del SH por estación.....	26

Índice de Tablas

Tabla 1: Metadata de muestras seleccionadas de ambos muestreos.....	16
Tabla 2: Porcentaje de taxones compartidos entre muestreos por nivel taxonómico.....	20
Tabla 3: Resultados del test PERMANOVA en los muestreos.....	23
Tabla 4: Resultados de test ANOSIM en los muestreos.....	24

Índice de Anexos

Anexo 7.1: Abundancia relativa de especies por phylum (a) y familia (b) (OTU)...	37
Anexo 7.2: Abundancia relativa de especies por phylum (a) y familia (b) (ASV)...	38

Resumen:

Desde finales de 2007 hasta principios de 2009, y durante los años 2011 y 2012, se observaron condiciones oceanográficas de gran intensidad, denominadas “La Niña” (LN), frente a la costa de Chile central. Durante ambos periodos y en esta zona, se realizaron muestreos bentónicos en el denominado Sulfureto de Humboldt (SH), frente a las costas de Chile central, analizándose mediante pirosecuenciación Roche 454 el material genético procarionte presente. La información genética resultante fue procesada y depositada públicamente en la base de datos pública del NCBI.

Las muestras de cada crucero fueron secuenciadas mediante OTUs (Unidades Taxonómicas Operacionales) y ASVs (Variantes de Secuencia de Amplicón), respectivamente. Con el objetivo de evaluar la estabilidad temporal de la comunidad bacteriana, se compararon las poblaciones muestreadas para analizar taxones compartidos durante ambas, junto con una comparación estadística a través de análisis de diversidad α y β por medio de un Índice de Shannon (H'), y test ANOSIM, PERMANOVA y escalamiento no métrico multidimensional (NMDS) respectivamente; estos tres últimos basados en la “matriz de similitud de Jaccard” para presencia/ausencia de especies.

Este estudio reveló que ambos muestreos comparten una alta proporción de taxones y que, cuando se analizaron por separado, tanto la diversidad α (riqueza observada e índice de Shannon) como la diversidad β (ANOSIM y PERMANOVA) no mostraron diferencias significativas entre estaciones ni temporadas. Un análisis conjunto, sin embargo, revela diferencias significativas en las métricas de diversidad β , principalmente por la variable temporal.

Una comparación tanto cualitativa como estadística, por tanto, requiere de trabajos futuros realizados no solo en condiciones meteorológicas similares, sino que con metodologías constantes; en concreto, mismas técnicas de secuenciación de material genético, como también acceso a datos crudos para asegurar métricas estadísticas tanto confiables como robustas.

Palabras clave: Procarionte, variabilidad poblacional, OTUs, ASVs, Sulfureto de Humboldt, Bahía de Concepción, “La Niña”.

Abstract:

From late 2007 to early 2009, and during the years 2011 and 2012, intense oceanographic conditions known as “La Niña” (LN) were observed off the coast of central Chile. During both periods and in this region, benthic samples were collected at the so-called Humboldt Sulfuretum (SH), off the coast of central Chile (BC), and the prokaryotic genetic material present was analyzed using Roche 454 pyrosequencing. The resulting genetic data was processed and made publicly available through the NCBI database.

Samples from each expedition were sequenced using OTUs (Operational Taxonomic Units) and ASVs (Amplicon Sequence Variants), respectively. In order to assess the temporal stability of the bacterial community, the sampled populations were compared to analyze shared taxa across both periods, along with statistical comparisons through alpha and beta diversity analyses. Specifically, Shannon’s Index (H') was used for α -diversity, and ANOSIM, PERMANOVA, and non-metric multidimensional scaling (NMDS) were applied for β -diversity — all three based on the “Jaccard similarity matrix” for presence/absence of species.

This study revealed that both sampling events shared a high proportion of taxa, and when analyzed separately, neither α -diversity (observed richness and Shannon Index) nor β -diversity (ANOSIM and PERMANOVA) showed significant differences between stations or between seasons. A combined analysis, however, revealed significant differences in β -diversity metrics, primarily due to the temporal variable.

A meaningful comparison, both qualitative and statistical, therefore requires future work to be conducted not only under similar meteorological conditions, but also with consistent methodologies; specifically, the same genetic sequencing techniques and access to raw data in order to ensure both reliable and robust statistical metrics.

Keywords: Prokaryote, population variability, OTUs, ASV, Humboldt Sulfuretum, Concepción Bay, La Niña.

1.1. Introducción:

Los sistemas de surgencias frente las costas chilenas corresponden a uno de los sistemas marinos más productivos del mundo, en gran parte debido a la presencia de la Corriente de Humboldt (Strub *et al.*, 1998; Levin, 2003). Estos sistemas han sido objeto de investigación científica durante casi un siglo, generando un cuerpo significativo de conocimiento oceanográfico y ecológico durante este periodo.

En la hoy denominada Zona de Mínimo Oxígeno (OMZ), y durante la expedición Mar-Chile II en la zona norte de nuestro país, se tomarían muestras del sistema bentónico marino donde, a bordo del navío AGS Yelcho (de la Armada de Chile), se descubrieron grandes mantos de filamentos blanquecinos cubriendo el fondo marino costero, junto con la peculiaridad de poseer un característico olor a H₂S y un color negro producto de la reducción del azufre presente en el ambiente (Gallardo, 1963). Estos mantos blanquecinos (clasificados provisoriamente como "algas cianofíceas") fueron luego identificados correctamente como miembros del género *Thioploca* (Phylum Pseudomonodota), a ese entonces sin registro previo de su presencia en el mar (Gallardo, 1977); a raíz de este descubrimiento, dos especies nuevas serían descritas para dicho género: *T. araucae* y *T. chileae* (Maier & Gallardo, 1984).

Estudios posteriores en la plataforma continental, en especial aquellos realizados durante el transcurso de las expediciones Thioploca-Chile y el crucero Sonne-156, estuvieron centrados principalmente en las denominadas *megabacterias* y su rol en el ecosistema. Un segundo objetivo acoplado a la expedición fue dedicado a estudiar la hidrografía de la costa chilena, incluyendo aquella entre los cañones submarinos de los ríos Itata y Bío-Bío. Estos estudios confirmarían un ambiente habitado predominantemente por bacterias y su rol en los ciclos del N y S en ambientes pobres en O₂ (Otte *et al.*, 1995; Jørgensen & Gallardo, 1999); con contadas excepciones de eucariontes, como el anfípodo *Ampelisca araucae* (Gallardo, 1962 y Carrasco & Arcos, 1984) y el crustáceo *Pleurocondes monodon* (Carrasco *et al.*, 1999, actualmente renombrado *Grimothea monodon*, (Macpherson, 2023).

Si bien uno de los miembros más notorios de los sulfuretos corresponde a las grandes bacterias sulfurosas filamentosas, la gran biodiversidad presente en estos sistemas ecológicos abarca más allá, por ejemplo, Jørgensen (1982) describe una serie de géneros bacterianos directamente involucrados en el ciclo del S y C (*i.e.*: *Desulfovibrio*, *Desulfobacter*, *Desulfonema*), presentes en ambientes ricos en compuestos sulfurados; y, más recientemente, se encuentran las denominadas “bacterias cable” (phylum *Thermodesulfobacteriota*, familia *Desulfobulbaceae*), presentes en la ZMO y caracterizadas por el transporte de electrones libres a lo largo de su pared celular, los cuales son usados como fuente de energía (Fonseca, 2022).

Este tipo de ambiente replicaría las condiciones en la Tierra hace ~3.5 Ga, con sistemas metabólicos basados en el S, elemento mucho más abundante en ese entonces, y sinónimo del océano primitivo (Wacey *et al.*, 2011). Estando presentes desde antes de la era del oxígeno, las bacterias sulfurosas se han mantenido en el tiempo y, en ocasiones, han adquirido la habilidad de una limitada interacción con el oxígeno –como es el caso del género *Candidatus Marithioploca* (Gallardo & Espinoza, 2007) y su interacción con iones nitrato como parte de su metabolismo.

Las condiciones que favorecen y mantienen a la ZMO están sujetas a los efectos del evento El Niño-Oscilación del Sur (o ENSO, del inglés). Si bien la ZMO es mantenida por la Corriente de Humboldt y Contracorriente de Gunther, la incidencia de un evento o el otro influye en la estacionalidad de las surgencias que mantienen a la ZMO (Suits & Arthur, 2000). La Niña, por ejemplo, estimula estos eventos, en contraste con El Niño que demuestra una prolongación del periodo entre surgencias (Montecinos & Gómez, 2010); ambos eventos producen cambios en la composición y comportamiento de las masas de agua lo que afecta al ecosistema (Nam *et al.*, 2011). Esto debido a que el bentos y la columna de agua no son independientes entre sí y que interactúan constantemente (Pieppenburg *et al.*, 1997; Arntz *et al.*, 1991), por lo que los efectos que ocurran en la columna de agua afectan a las comunidades bentónicas locales (Povero *et al.*, 2006). Esto es observado por Daneri *et al.* 2000, quienes reportan una varianza significativa de la producción primaria entre las distintas fases del ENSO en la costa chilena a pesar de su efecto más

tenue en las costas peruanas, lo que se refleja en los desembarques pesqueros. Esto puede explicarse como el efecto que poseen las comunidades procariotas bentónicas sobre los ambientes pelágicos, manteniendo una biodiversidad y productividad ricas y estables (Levin *et al.*, 2010).

Durante el verano del año 2008 hasta enero del 2009, un fuerte periodo de La Niña tomó lugar en las costas chilenas (Fig. 1), donde Gallardo *et al.* 2016 realizaron un crucero bentónico en la Bahía de Concepción (BC) para la obtención de material y su posterior secuenciación y análisis, con el fin de estudiar la composición de la población bacteriana presente en la ZMO; proponiendo que la hipótesis *Thienemann-Sanders* (TS^2), que supone estabilidad temporal de la estructura de las especies de un ecosistema macroecológico, aplicaría también a *microbiomas*, como aquel presente en el Sulfureto.

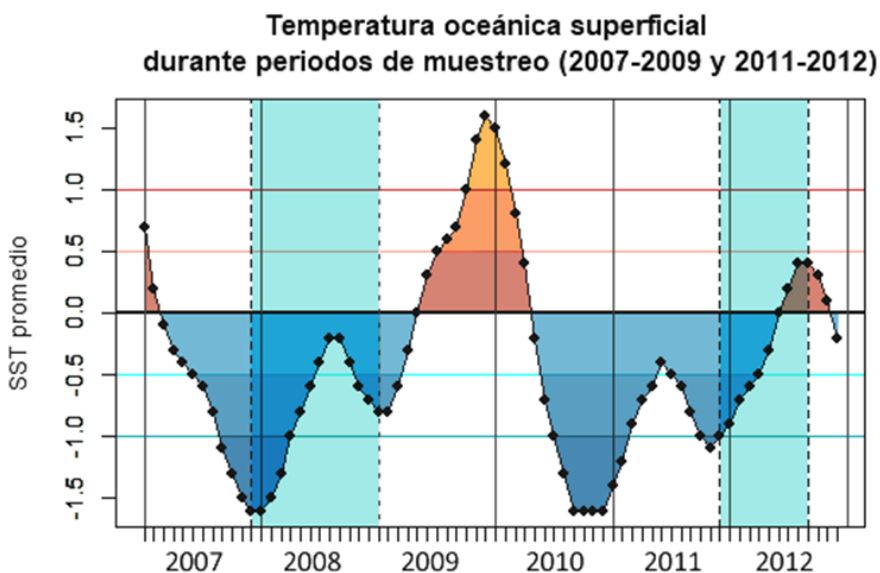


Fig. 1: Temperatura oceánica superficial durante los periodos de muestreos (2007-2009 y 2011-2012). El eje vertical corresponde a la variación en la t° oceánica superficial (SST, del inglés *Sea Surface Temperature*); con una variación de $\sim 0.5^{\circ}\text{C}$ sobre o bajo el promedio lo que

corresponde a un evento ENSO y 1.0°C correspondiendo a un “evento fuerte”. La duración del muestreo se encuentra delimitada entre las líneas punteadas (DEC-2007 & ENE-2009, y DEC-2011 & SEP-2012, respectivamente). Los datos fueron extraídos desde el sitio web: https://origin.cpc.ncep.noaa.gov/products/analysis_monitoring/ensostuff/ONI_v5.php.

Un segundo trabajo fue realizado durante el periodo de La Niña ocurrido entre los años 2011 y 2012, comparando la población bacteriana bentónica en diferentes zonas costeras de Chile, las cuales incluyeron la Bahía de Concepción (Fig. 2),

donde nuevamente se secuenció la población procarionte presente en el bentos y de igual forma que el trabajo anterior y observando que el Sulfureto se presenta como una zona de alta diversidad biológica; sumando a este conocimiento la presencia de una distribución latitudinal de diferentes especies a lo largo de la costa chilena, claramente delimitada para cada latitud (Fonseca *et al.*, 2022).

Zona de muestreo durante ambos periodos La Niña

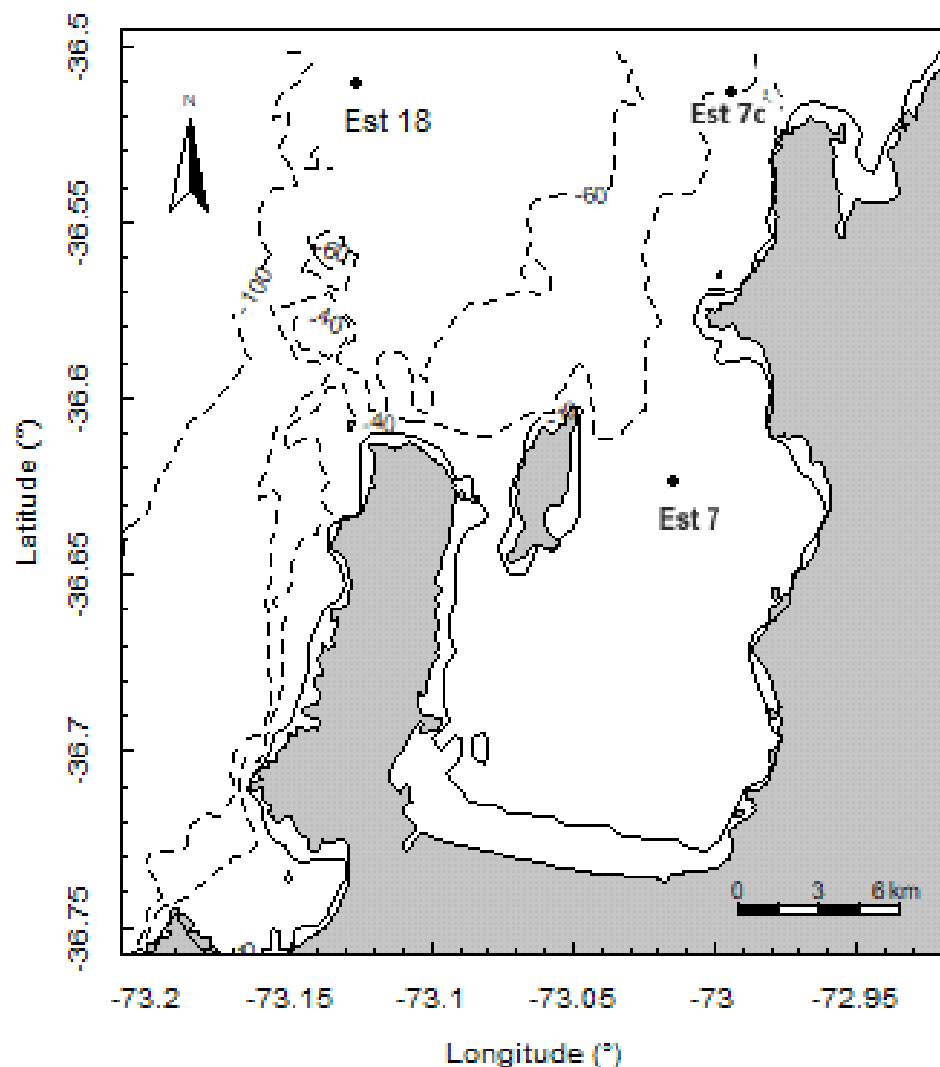


Fig. 2: Zona de muestreo durante ambos periodos La Niña. La figura muestra las estaciones 7, 7c y 18 (33m, 50m y 88-90m de profundidad, respectivamente), donde se extrajeron las muestras del primer muestreo.

La siguiente investigación, por lo tanto, pretende comparar si la comunidad procarionte bentónica es similar durante fases de La Niña; evaluando variaciones poblacionales entre el primer y segundo periodo de muestreo en la Bahía de Concepción (BC) a fin de comprobar si, efectivamente, la comunidad procarionte bentónica se mantiene (sin grandes cambios en su composición) a lo largo del tiempo, con condiciones ambientales similares entre muestreos.

1.2. Objetivos:

1.2.1 Objetivo principal:

- Determinar estructura poblacional procarionte presente durante periodos La Niña en el Sulfureto de Humboldt (HS), frente a las costas de la Región del Bio Bio.

1.2.2 Objetivos secundarios:

- Evaluar la variación estadística en la composición de la biodiversidad procariótica presente en el Sulfureto de Humboldt (SH) para las muestras de ambos cruceros.
- A partir de los resultados de test estadísticos, determinar la presencia o ausencia de un patrón poblacional constante en el Sulfureto de Humboldt (SH).

2. Materiales y métodos:

2.1. Trabajo previo a la investigación: Durante los años 2007 a 2009, frente la costa de la Bahía de Concepción, se realizaron un total de 4 cruceros, en los cuales se recolectaron muestras del bentos de las estaciones 1, 4, 7 y 18 (35m y 88m de profundidad, respectivamente) frente a la BC, de los cuales se seleccionaron aquellos muestreos realizados durante el verano de los años 2007-2008 (VG_OTU1, VG_OTU2), primavera del año 2008 (VG_OTU3, VG_OTU4), y verano del 2009 (VG_OTU5, VG_OTU6).

Durante el segundo estudio (2011-2012), se extrajeron muestras bentónicas cuantitativas a 50m y 90m de profundidad a lo largo de la costa chilena, seleccionando para el presente trabajo las muestras realizadas frente a la BC durante el verano del año 2011 (VG_ASV1, VG_ASV2) y primavera del año 2012 (VG_ASV3, VG_ASV4).

Durante ambos trabajos, se extrajo 0.5g de sedimento superficial, fijados en glutaraldehído al 2.5%. Las muestras fueron enviadas al Laboratorio Biológico Marino en Woods Hole, Massachusetts, EE.UU. para su análisis por pirosecuenciación Roche 454, obteniéndose de este modo las secuencias de la sección v6 (OTUs, primer muestreo) y v4v6 (ASVs, segundo muestreo) del gen 16S mARN, debido a su variabilidad inter-específica y estabilidad temporal a lo largo de un linaje.

Los detalles del muestreo y protocolos seguidos para la secuenciación de OTUs y ASVs se encuentran en Gallardo *et al.* (2016) y Fonseca *et al.* (2022), respectivamente. Las muestras, en ambos casos, fueron filtradas y posteriormente depositadas al Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) para su almacenamiento; encontrándose las muestras del primer crucero disponibles mediante el código *SRP048832* primer crucero, y aquellas del segundo crucero mediante el proyecto *PRJNA251688*.

2.2 Procesamiento de datos: Una vez seleccionadas las muestras (Tabla 1), el procesamiento de éstas fue realizado por medio de RStudio (R Core Team, 2024). La asignación de taxonomía y elaboración de tablas de abundancia, debido al pre-

procesamiento previo de los datos y la ausencia en éstos de tasas de error verdaderas, se realizó por medio de la función *IdTaxa()* del paquete *DECIPHER* (Wright, 2016), usando como referencia taxonómica la base de datos SILVA 138r2 (Quast *et al.*, 2012), empleando el formato FASTA para los pasos subsiguientes. El paquete *phyloseq* (McMurdie & Holmes, 2013) se empleó para el manejo de las tablas de OTUs y ASVs.

Muestra	Estación	Profundidad (m)	Temporada	MOT (%)	Rdx (mV)	T° (C°)	OD (mg/L)
VG_OTU2	STA18	88	SM_07-08	6.4	-164	10	0.16
VG_OTU3	STA7	33	SP_08	4.2	3	11.58	0.28
VG_OTU4	STA18	88	SP_08	5.1	-131	10.48	0.36
VG_OTU5	STA7	33	SM_09	3.8	-234	11.8	0.4
VG_OTU6	STA18	88	SM_09	3.8	-102	<NA>	<NA>
VG_ASV1	STA7c	50	SM-11	14	-85	13.4	1.09
VG_ASV2	STA18	90	SM-11	7.6	-120	13.8	0.39
VG_ASV3	STA18	90	SP_12	17.5	-78	10	0.8
VG_ASV4	STA7c	50	SP_12	19.2	-96	9	1.8

Tabla 1: Metadata de muestras seleccionadas de ambos muestreos. Debido a la similitud batimétrica y por conveniencia del autor, la profundidad de 50m de las muestras empleadas en la elaboración de ASVs fue denominada “STA7c”.

Para evaluar la diversidad α presente durante ambos cruceros, entendiéndose como el análisis de diversidad dentro de cada muestra, se reportó la diversidad observada (especies únicas por muestra) y la equidad de las muestras (distribución de abundancia por especie) por medio del índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') (Shannon, 1948) usando el comando *estimate_richness()* del paquete *phyloseq*.

Dicho test está dado por la ecuación:

$$H' = -\sum (p_i * \ln(p_i))$$

Donde p_i = abundancia de i especies, y

$\ln(p_i)$ = logaritmo natural de la abundancia de dichas i especies.

Para comprobar diferencias dentro de los resultados de riqueza observada y H' entre muestras y periodo de muestreo, se realizó un test de Wilcoxon para comparar estas métricas por medio del comando *wilcox.test()* y para complementar este análisis, se realizó un test de Kruskal-Wallis por medio del comando *kruskal.test()*, ambos presentes en el paquete *stats* de R; esto debido al bajo número de muestras comparables (OTU n=5, ASV n=4), sumando un total de nueve muestras; las precauciones del uso de este método son elaboradas en la sección 4.3. del presente documento.

Para analizar la diversidad β , entendida como las diferencias entre dos o más comunidades, se optó por un test de Análisis de Permutación Multivariado (PERMANOVA) por medio de la función *adonis2()* presente en el paquete *vegan* (v2.6-8) (Oksanen *et al.*, 2024). Con el fin de explicar las varianzas entre los datos, explicables por las variables dadas; se requiere de una matriz cuadrada de disimilitud, usando como métrica la distancia de Jaccard (basada en presencia/ausencia de especies), a fin de determinar la presencia o ausencia de taxones presentes por muestra y entre muestreos; la cual se calcula a raíz de la forma binaria de la matriz de Bray-Curtis.

Esto queda de la forma:

$$BC = \frac{A + B - 2J}{A + B - J}$$

Con $J = N^\circ$ especies presentes en dos muestras i y j .

$A = N^\circ$ especies *sólo* en una muestra A .

$B = N^\circ$ especies *sólo* en una muestra B .

Posteriormente, el Índice de Jaccard se calcula como:

$$J = \frac{2B}{(1 + B)}$$

Donde $B =$ Matriz de Bray-Curtis

A su vez, el modelo general de *adonis2()*, corresponde a:

$$Y = X\beta + \epsilon$$

Donde Y = Matriz de distancia (Bray-Curtis o Jaccard),

X = Matriz que contiene las variables explicativas.

β = Coeficientes del impacto de cada variable explicativa en la muestra.

ϵ = Error/sobrante no explicado por las variables integradas al modelo.

Para corroborar los tests PERMANOVA, se realizó igualmente un Análisis de Similitud (ANOSIM), usando los mismos parámetros empleados para los tests PERMANOVA (Estación y temporada de muestreo) por medio del comando *anosim()*, igualmente del paquete *vegan* (v2.6-8).

La fórmula empleada por *anosim()* corresponde a:

$$R = \frac{(rB - rW)}{(N(N - 1)/4)}$$

Con R = Estadística R.

rB = Diferencia de rango entre grupos.

rW= Diferencia de rango interna.

N = Número de grupos o muestras.

Para graficar posibles aglomeraciones entre muestras debido a variables físicas, se empleó un Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS en inglés); así, de tener una relación entre las variables seleccionadas, las muestras deberían agruparse según su nivel de similitud. Para mantener la consistencia de los métodos, se eliminaron los *singletons* de las tablas de abundancia finales (taxones con un solo conteo en una tabla de abundancia), siguiendo la metodología de Fonseca *et al.* (2022).

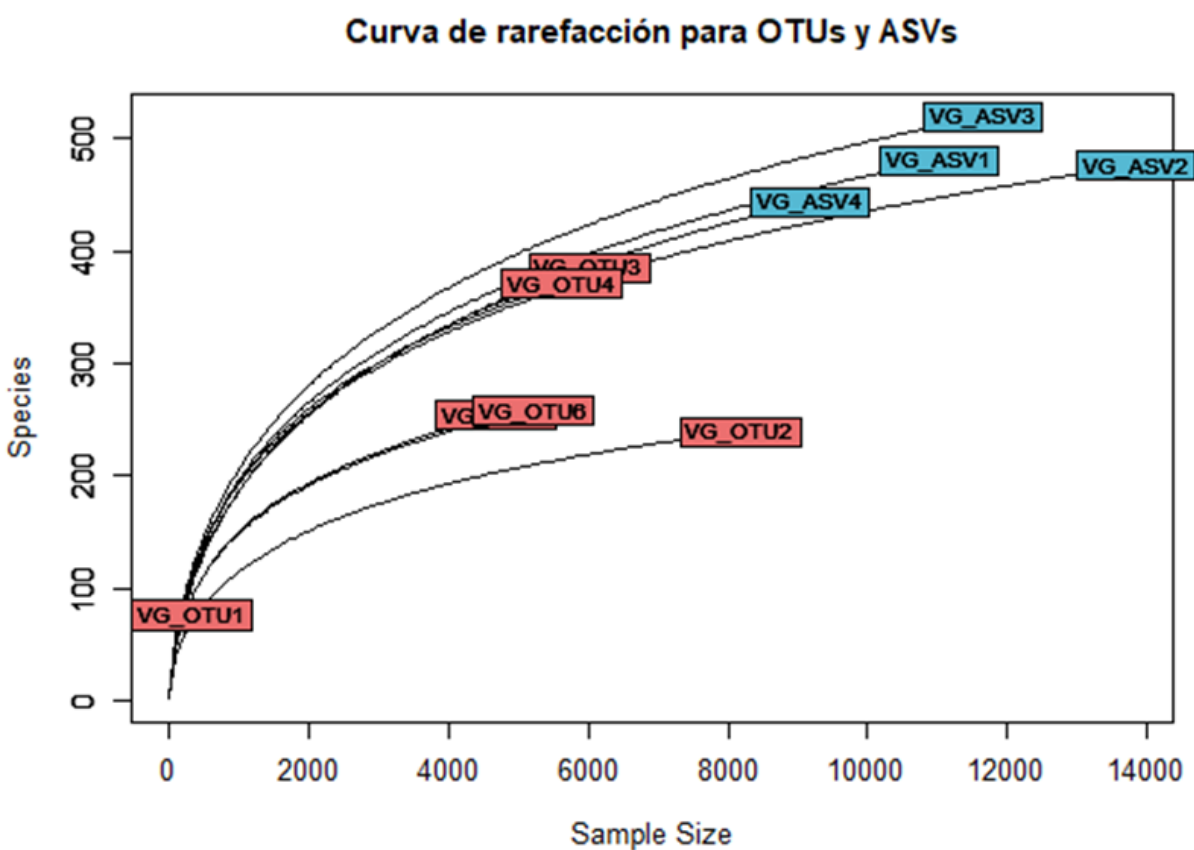
Los sets de datos, para asegurar resultados congruentes, fueron rarificados a 4676 observaciones (el mínimo presente en los datos de ambos muestreos) por

medio de la función *rarefy_even_depth()* de phyloseq. Debido a un artefacto producto del uso de DECIPHER (y secuencias pre-procesadas), la muestra correspondiente a VG_OTU1 fue excluida de los análisis estadísticos posteriores, debido no sólo a un número inusualmente bajo de conteos con respecto al resto de las muestras mediante el paso de rarificación, sino que también debido a que el proceso de rarificación descartó la muestra completamente.

3. Resultados:

3.1. *La estructura del SH:* El primer muestreo resultó en 30053 conteos, identificando un total de 583 filogenias únicas por medio de OTUs, las cuales se encuentran distribuidas entre 53 *phyla*, 121 clases, 204 órdenes, 282 familias y 373 géneros; por otro lado, el segundo muestreo registró 91312 conteos totales y 762 filogenias únicas, repartidas entre 69 *phyla*, 139 clases, 270 órdenes, 361 familias y 510 géneros por medio de ASVs (Fig. 3).

Fig. 3: Curva de rarefacción de las muestras analizadas para las estaciones en el SH por temporada



de muestreo. El eje X corresponde al total de conteos, y el eje Y a la cantidad de tags únicos/especies observadas para cada muestra. VG_OTU corresponde al muestreo realizado durante La Niña entre los años 2007-2009, y VG_ASV al evento de 2011-2012.

Comparando los datos de ambas poblaciones, se revela una similitud promedio del 77% entre los distintos niveles taxonómicos; con un 83% a nivel de phylum y 68% a nivel de género (Tabla 2).

Nivel taxonómico	% Común
Phylum	83.02
Clase	82.50
Orden	76.85
Familia	74.73
Género	68.11

Tabla 2: Porcentaje de taxones compartidos entre muestreos por nivel taxonómico. Hacia niveles inferiores, el porcentaje de taxones en común disminuye, más sigue manteniéndose sobre el 50%.

Para ambos grupos, los tres *phyla* más abundantes correspondieron a Pseudomonadota, Bacteroidota y Thermodesulfobacteriota; éstos conformando 65.9% y 60.3% para OTUs y ASVs respectivamente, y ~63.9% de la población global (Fig. 3a). Las clases más abundantes correspondieron a Gammaproteobacteria (phylum Pseudomonadota), Bacteroidia (Bacteroidota) y Desulfobacteria (Thermodesulfobacteriota), conformando un 54.7% de la población total, y los órdenes con mayor presencia fueron, junto a un orden sin identificar, de la clase Gammaproteobacteria, Desulfobacteriales (Desulfobacteria) y Bacteroidales (Bacteroidia), los que forman el 31.1% de la población total. Finalmente, las tres familias más numerosas fueron Flavobacteriaceae, Bacteriodetes BD2 (Phylum Bacteroidota), y Desulfosarcinaceae (Thermodesulfobacteriota), sumando ésta vez sólo 10.5% y 8.48% para OTUs y ASVs, y un 18.9% de la población global (Fig. 3b).

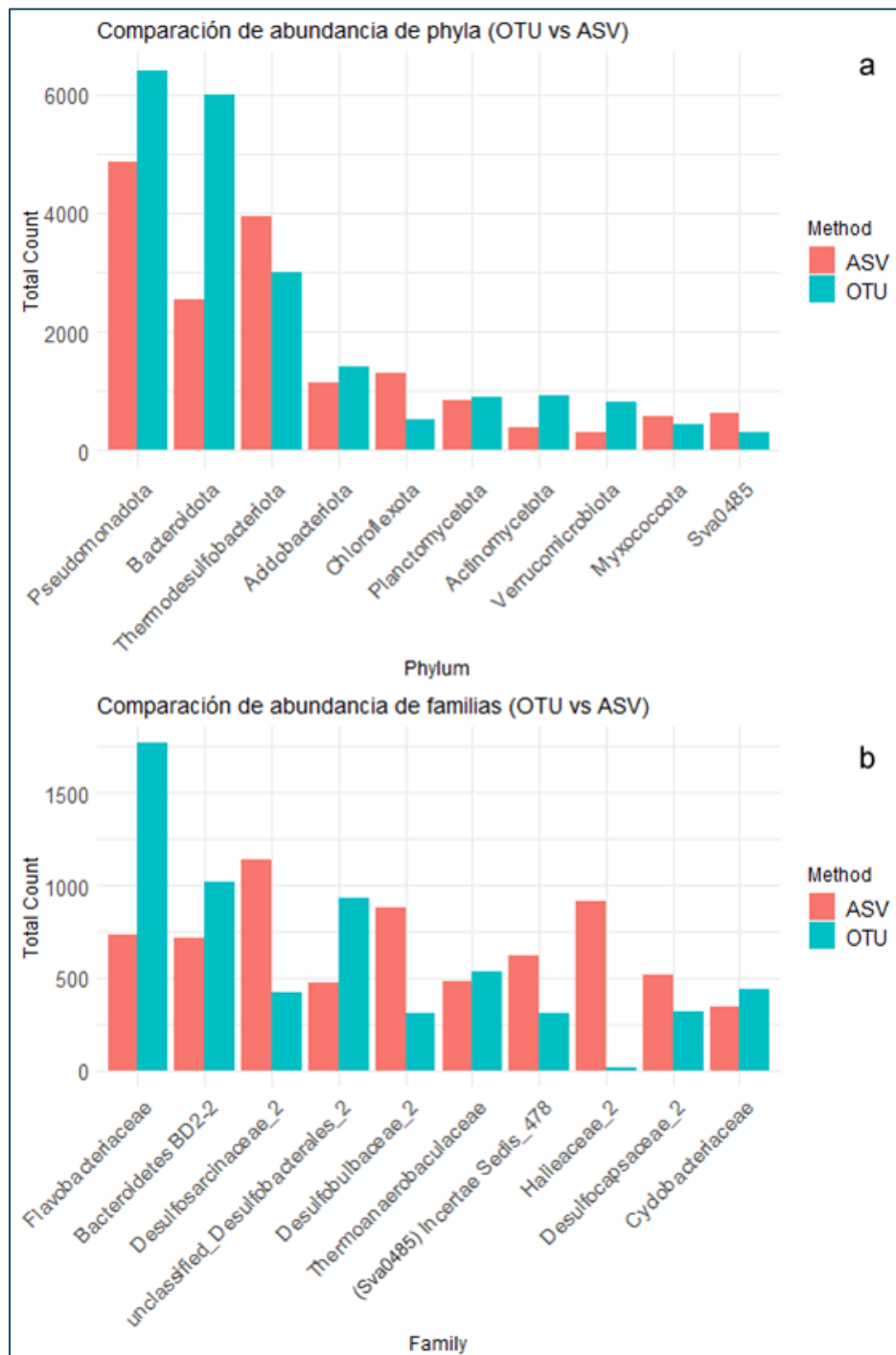


Fig. 4: Abundancia de especies por phyla (a) y familia (OTU vs ASV) (b). Ordenando los *phyla* por abundancia total entre ambos muestreos, se aprecia la predominancia de Pseudomonadota, Bacteroidetes y Thermodesulfobacteriota, los cuales poseen >2000 observaciones y conforman el 63.8% de la población total. Las tres familias más numerosas pertenecieron a los *phyla* Bacteroidota (Flavobacteriaceae y BD2) y Pseudomonadota (Desulfosarcinaceae).

3.2. *Diversidad α y β* : Los resultados de diversidad α observada y el Índice de Shannon muestran una mayor riqueza y equidad a favor del muestreo de 2011-2012; con la muestra VG_ASV3 teniendo el valor máximo entre ambos muestreos (Est. 18, primavera 2012) (Fig. 4). Para la diversidad α , no se detectaron diferencias significativas en las métricas obtenidas entre ambos cruceros para la riqueza observada (Wilcoxon: $W=0$, $p=0.01587$; Kruskal: $\chi^2=5.39$, $df=3$, $p=0.15$), ni en el Índice de Shannon (Wilcoxon: $W=20$, $p=0.016$; Kruskal: $\chi^2=8$, $df=8$, $p=0.43$).

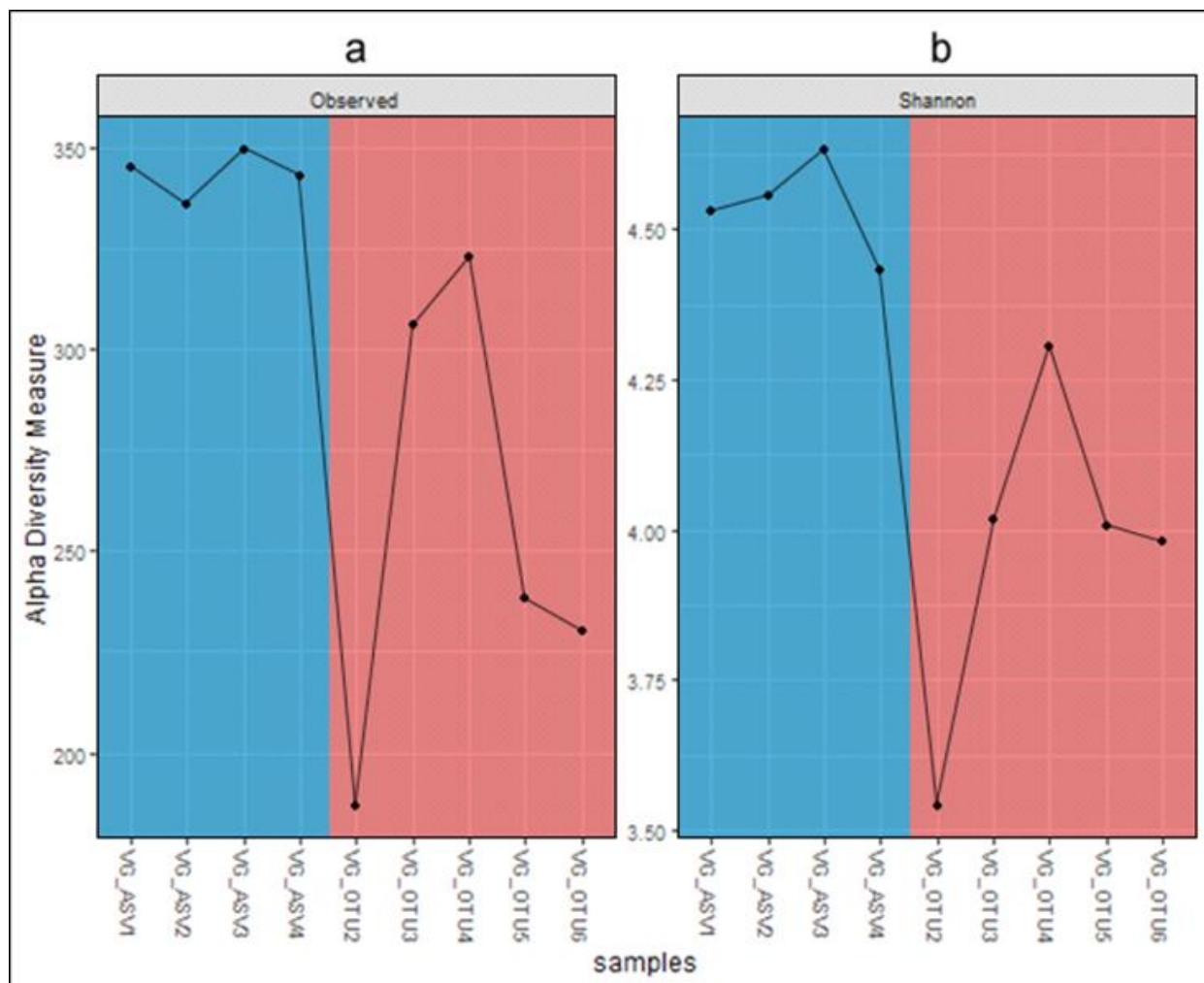


Fig. 5: Diversidad α para el primer (VG_OTU) y segundo crucero (VG_ASV). Se aprecia la diversidad observada (cantidad de especies) (a), junto con el Índice de Shannon, que mide la equidad (distribución de conteos entre especies) de dicha diversidad (b). Los valores más altos en ambas métricas correspondieron a las muestras pertenecientes al segundo crucero.

Sobre la diversidad β , el test PERMANOVA, realizado sobre ambos muestreos por separado, no detectó un efecto significativo sobre la variación de los datos debido a la estación o la temporada de muestreo, como tampoco fue el caso en los test ANOSIM; con la métrica R describiendo una mayor intra-variación en las muestras de ambos cruceros, que entre ellos; lo cual puede considerarse como ruido estadístico más que un verdadero reflejo de la biodiversidad del bentos del SH (R = -0.25 en ambos casos).

Sin embargo, se encontró un efecto significativo solo al combinar ambos muestreos de forma directa, especialmente para la variable temporal: Al analizar ambos cruceros en conjunto, éste logró explicar 83.2% de la variación poblacional de forma significativa para el test PERMANOVA con gran significancia ($p < 0.05$), y el test ANOSIM denotando una diferencia significativa entre las poblaciones de ambos cruceros (R = 0.896, $p < 0.05$) producto de esta variable (Tabla 4 y 5, respectivamente). La ordenación NDMS, por su parte, revela leves agrupamientos por temporada y estación dentro de cada periodo de muestreo, reflejando mínima intra-variabilidad; sin embargo, la clara separación *entre* muestreos es evidente (Fig. 5).

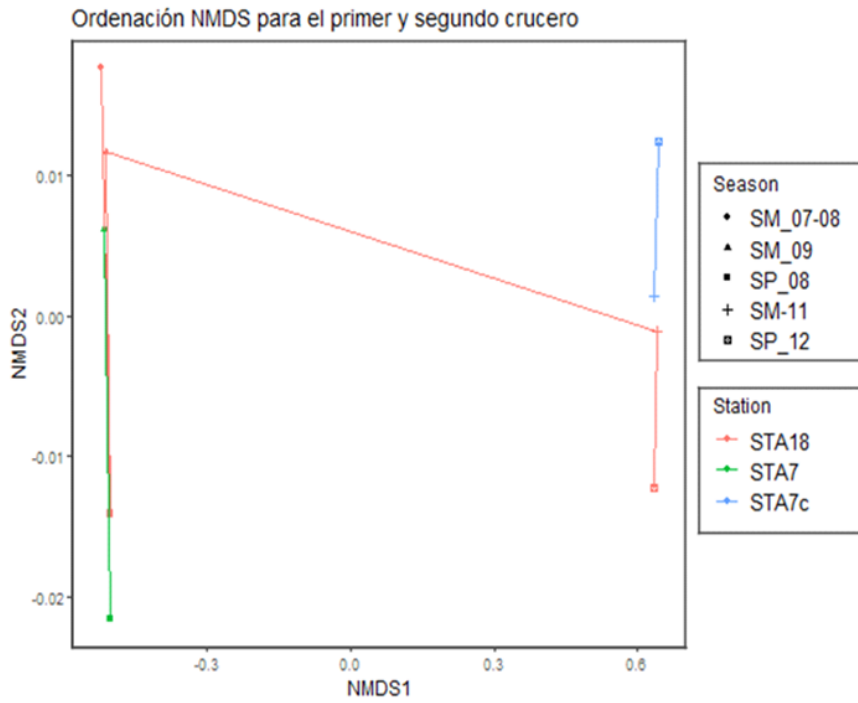


Fig. 6: Ordenación NMDS para el primer y segundo muestreo. Los ejes X e Y son medidas arbitrarias, mientras que las figuras corresponden a temporadas (Season) y estaciones (Station) de muestreo. La separación de ambos periodos de muestreo indica una clara separación entre las muestras de los dos cruceros, sin embargo, la disposición vertical de los puntos indica mínima

intra-variación dentro de cada muestreo. Las temporadas de muestreo corresponden a verano (SM) y primavera (SP).

4. Discusión:

4.1. *Sobre la estructura del Sulfureto*: Según la evidencia de los datos adquiridos, la variabilidad de la diversidad de la comunidad bacteriana bentónica dentro de la BC se ve afectada principalmente por la variable temporal, lo cual queda avalado por trabajos previos en el mismo SH (Gallardo & Espinoza, 2007, Gallardo et. al, 2013); los cuales aseveran que aguas frías ($\leq 12^{\circ}\text{C}$), pobres en oxígeno y ricos en materia orgánica benefician la comunidad anaeróbica característica de los sulfuretos, observándose una especie de “temporalidad de abundancia”, donde mantos bacterianos son esperables en el fondo marino; notablemente, los miembros de la familia Beggiatociae (Pseudomonadota, Gammaproteobacteria, Thiotrichales) y, en específico, *Beggiatoa* sp. y *Candidatus Marithioploca* spp. son los ejemplos más notables en este ambiente; estos taxones destacan debido a su gran tamaño para morfotipos procariontes y, en el caso de *Thioploca* sp., presenta dificultades para su cultivo aislado en laboratorio debido a la estrecha relación que presenta con otros taxones (Teske & Nelson, 2006).

Muestreo	Variable	R ²	F	p
OTU	Estación	0.144	0.51	0.9
OTU	Temporada	0.786	3.68	0.067
ASV	Estación	0.114	0.51	0.9
ASV	Temporada	0.343	1.04	0.667
OTU+ASV	Estación	0.656	3.18	0.024
OTU+ASV	Temporada	0.832	4.97	0.002

Tabla 4: Resultados del test PERMANOVA en los diferentes muestreos. Al analizar ambas tablas de abundancia de forma conjunta, se observa un efecto significativo de estación y temporada ($p < 0.05$), siendo más acentuado el efecto de la temporada de muestreo sobre la composición de la comunidad procariótica bentónica.

De la misma forma, la notoria pérdida de dominancia hacia niveles taxonómicos inferiores registrado en el trabajo presente está respaldado por autores pasados, quienes notan que la dominancia poblacional para microbiomas suele componerse

principalmente por taxones “raros” con un reducido número de observaciones, quienes sin embargo forman la mayoría de la población y biodiversidad de un microbioma (Chakraborty *et al.*, 2025; Sogin *et al.*, 2006).

Muestreo	Variable	R	p
OTU	Estación	-0.25	0.7
OTU	Temporada	1	0.067
ASV	Estación	-0.25	0.7
ASV	Temporada	-0.25	0.1
OTU+ASV	<i>Estación</i>	<i>0.56</i>	<i>0.046</i>
OTU+ASV	<i>Temporada</i>	<i>0.896</i>	<i>0.004</i>

Tabla 5: Resultados de test ANOSIM en los diferentes muestreos. Nuevamente, se observa un efecto significativo de estación y temporada al analizar la población de ambos cruceros de forma conjunta. Los valores negativos para la estadística R pueden interpretarse como ruido, debido a la baja cantidad de muestras individuales para cada crucero.

Los taxones presentes en ambos cruceros son característicos de un ambiente no solo hipóxico, sino que también rico en nutrientes y azufre. La predominancia a nivel de phylum de Pseudomonadota durante ambos cruceros no es de sorprender, siendo este uno de los más abundantes y diversos a nivel global, estando presentes en casi todo tipo de cuerpo de agua y sedimento (Morris *et al.*, 2002); el cual abarca organismos mixótrofos (ie. autótrofos facultativos) y ligados a los ciclos de C, N y S, particularmente relevante para el SH (Chobert *et al.*, 2025).

Así mismo, el phylum Bacteroidota se encuentra comúnmente relacionado al ciclo del C; particularmente como descomponedores de detrito y materia orgánica (Ge *et al.*, 2025); lo que, junto a la hipoxia y los altos niveles de materia orgánica en la fase La Niña del ciclo ENSO, contribuyen a la población bacteriana del SH, destacando las especies relacionadas con ambientes hipóxicos y anóxicos en el bentos (Arntz *et al.*, 2006; Molina *et al.*, 2021). De la misma forma y junto a Pseudomonadota, Ma *et al.* (2023) reportan la presencia de los *phyla* Bacteroidota, Bacillota (anteriormente Firmicutes), y Actinomycetota en fondos arcillosos, hipóxicos y

provistos de gran cantidad de materia orgánica; *phyla* que fueron igualmente observados durante las muestras de ambos cruceros y formando parte de los 10 *phyla* más abundantes, con la sola excepción de Bacillota (14° lugar en abundancia total entre ambos cruceros). El phylum Thermodesulfobacteroidota es igualmente notado por Banzaraktsaeva *et al.* (2025) como notablemente propio de estos ambientes.

En cuanto a clases, Gammaproteobacteria (Pseudomonadota) posee taxas que participan del ciclo del S tanto como reductores como oxidantes, además de capturar C por medio de quimiolitotrofia (Callbeck *et al.*, 2021, Dyksma *et al.*, 2016); Bacteroidia (Bacteroidota) es propio de los márgenes más oxigenados de la ZMO, y cuyo metabolismo se basa en la descomposición de material orgánico particulado (Medina-Armijo *et al.*, 2020); y Desulfobacteria (Thermodesulfobacteriota) posee gran cantidad de taxas relacionados con la reducción de S, metabolizando sulfatos en H₂S y propios de ambientes pobres en oxígeno disuelto (Lincy & Manohar, 2020).

Respecto a los órdenes más abundantes, Burceau *et al.* (2023) mencionan a Desulfobacterales (Desulfobacteria) como descomponedores, así como participantes directos del ciclo del S.

La familia Flavobacteriaceae (Flavobacteriia) presenta gran cantidad de taxas relacionados con ambientes anaeróbicos, como aquellos presentes en ambientes marinos empleando nitrato o S como parte de su metabolismo y adaptados igualmente a condiciones hipóxicas (Bernardet & Nakawaga, 2006), por lo que su presencia en el SH es esperable. Así mismo, la familia BD2-2 (Bacteroidetes, orden Bacteroidales) está relacionada a los ciclos del NO₃ y P (Chen *et al.*, 2021); y Desulfosarcinaceae corresponde principalmente a procariontes anaeróbicos y vinculados al ciclo del C y S por medio del SO₄ y H₂S (Watanabe *et al.*, 2015).

4.2. Sobre el uso de OTUs y ASVs: La diferencia entre *phyla* identificados para OTUs y ASVs por medio de *IdTaxa()* para los taxones más abundantes es apreciable a simple vista; donde existe la mayor captura de taxones únicos durante el segundo crucero (Fig. 7).

Respecto de los OTUs en el presente documento se muestra una mayor cantidad

de conteos y ASVs. Joos *et al.* (2020) observaron diferencias entre los resultados derivados del uso de ambos métodos de forma simultánea, obteniendo métricas distintas al evaluar las mismas comunidades bacterianas lo que implica que la comparación de OTUs y ASVs de forma directa es capaz de introducir artefactos artificiales en las métricas de diversidad debido a que los OTUs emplean *clustering* (acomodar secuencias con un 97% de similitud como una lectura) mientras que los ASVs emplean secuencias de nucleótidos, las cuales son directamente asociadas a una referencia taxonómica; lo que conduciría a una sobreestimación o subestimación de las métricas reales de la población muestreada, afectando los resultados de ambos en forma más significativa que dicho *clustering* o el uso de rarefacción (Chiarello *et al.*, 2022). Sin embargo, Callahan *et al.* (2017) argumentan que el uso de ASVs, debido a la comparación directa de nucleótidos durante la asignación taxonómica de secuencias, sería el método más adecuado para el análisis de microbiomas.

Cabe destacar, de igual forma, que el proceso de rarefacción ha sido cuestionado últimamente como método de normalización de conteos. McMurdie & Holmes (2014) consideran esta práctica como innecesariamente derrochadora, puesto que especies menos abundantes son omitidas de las estimaciones de diversidad en cálculos posteriores (tanto abundancia como riqueza de especies); subestimando las métricas reales presentes en el microbioma estudiado.

En cambio, Schloss (2024) argumenta que sin rarefacción, las mediciones de diversidad α estarían sujetas al esfuerzo de muestreo (e.g. número total de muestras, cantidad de sitios de muestreo, etc.) mientras que la diversidad β al esfuerzo de secuenciación (cuantas lecturas es capaz de registrar un instrumento/software determinado); argumentando que la rarefacción es (al menos de momento) la mejor herramienta disponible para atenuar estos problemas cuando se trabaja con comunidades bacterianas.

4.3. *Sobre trabajo futuro*: Como fue mencionado durante la sección 2 (Materiales y métodos), el presente estudio optó, por iniciativa propia del tesista, emplear las secuencias listadas en los muestreos previos realizados en la BC, almacenados en

la base de datos de la NCBI: *SRP048832* y *PRJNA251688*. Debido al proceso previo eliminando las tasas de errores reales de las secuencias empleadas, las cuales fueron pre-procesadas antes de ser depositadas en la base de datos de la NCBI, los resultados deben ser considerados con precaución; en concordancia con las referencias compiladas en la sección 4.2. Al usar la evidencia obtenida de la intersección de taxones presentes entre ambos cruceros, resultan las diferencias sin un verdadero peso estadístico; puesto a que no existe un cambio en el régimen poblacional presente en el SH. Sin embargo, hay que aclarar que al combinar ambos muestreos, la situación cambia drásticamente: tanto la variable temporal como la variable espacial tendrían un gran efecto significativo sobre la biodiversidad del SH; es decir, éstos resultados deberían considerarse con precaución, debido a los artefactos introducidos en el análisis producto de dos métodos diferentes de secuenciación (*clustering* de secuencias a 97% de similitud vs comparación directa de nucleótidos con el modelo de referencia taxonómica seleccionado). Así mismo, la baja cantidad de muestras comparables entre ambos muestreos reduce el peso estadístico de los análisis ($n = 5$ para el primer crucero, $n = 4$ para el segundo). Por lo tanto, y a fin de no llegar a conclusiones prematuras y erróneas, se hace poco factible una comparación estadística entre la población muestreada por ambos cruceros.

5. Conclusión:

Finalmente, el presente trabajo pretende aportar con los siguientes conocimientos:

- La comparación cualitativa de la población bacteriana del SH durante el periodo La Niña revela una similitud taxonómica promedio del ~77% entre ambos periodos.
- El análisis estadístico, al estudiar ambos cruceros por separado, refleja que **no hay diferencias significativas dentro de sus respectivos muestreos**, ni por estación y tampoco por temporada de muestreo. Sin embargo, estudiando los muestreos de forma conjunta, **hay variaciones significativas en la estructura de la población bentónica bacteriana explicadas principalmente por la variable temporal**.
- Las diferencias metodológicas en la secuenciación del material genético para ambos cruceros resultan en un análisis estadístico conjunto con peso insuficiente.

Este trabajo se presenta como un primer paso en la comprensión de la dinámica poblacional bacteriana bentónica presente en la ZMO durante una de las fases del ciclo ENSO – La Niña frente a Chile central.

6. Referencias:

- 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.
- Arntz, W. E., Gallardo, V. A., Gutiérrez, D., Isla, E., Levin, L. A., Mendo, J., ... & Wolff, M. (2006). El Niño and similar perturbation effects on the benthos of the Humboldt, California, and Benguela Current upwelling ecosystems. *Advances in geosciences*, 6, 243-265.
- Banzaraktsaeva, T. G., Lavrentyeva, E. V., Dambaev, V. B., Ulzetueva, I. D., & Khakhinov, V. V. (2025). Taxonomic diversity of microbial communities in the cold sulfur spring Bezymyanny (Pribaikalsky district, Republic of Buryatia). *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 29(2), 268.
- Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological)*, 57(1), 289-300.
- Bernardet, J. F., & Nakagawa, Y. (2006). An introduction to the family Flavobacteriaceae. *The prokaryotes*, 7, 455-480.
- Birchenough, S. N., Reiss, H., Degraer, S., Mieszkowska, N., Borja, Á., Buhl-Mortensen, L., ... & Wätjen, K. (2015). Climate change and marine benthos: a review of existing research and future directions in the North Atlantic. *Wiley interdisciplinary reviews: climate change*, 6(2), 203-223.
- Bourceau, O. M., Ferdelman, T., Lavik, G., Mussmann, M., Kuypers, M. M. M., & Marchant, H. K. (2023). Simultaneous sulfate and nitrate reduction in coastal sediments. *ISME communications*, 3(1), 17.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. (2017). Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME journal*, 11(12), 2639-2643.

- Callbeck, C. M., Canfield, D. E., Kuypers, M. M., Yilmaz, P., Lavik, G., Thamdrup, B., ... & Bristow, L. A. (2021). Sulfur cycling in oceanic oxygen minimum zones. *Limnology and Oceanography*, 66(6), 2360-2392.
- Carrasco, F. D., & Arcos, D. F. (1984). *Ampelisca araucana*. *Marine Ecology-Progress Series*, 14, 245-252.
- 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(2), 195-202.
- Chakraborty, Ditam, Alexandre Jousset, Zhong Wei, and Samiran Banerjee. Rare taxa in the core microbiome. *Trends in Microbiology* (2025).
- Chen, H., Zhou, W., Xu, Z., Liu, F., Feng, P., Su, L., ... & Wang, Z. (2021). Nitrogen and phosphorus removal by GAOs and PAOs using nitrate and limited oxygen as electron acceptors simultaneously and the impact of external carbon source in the anoxic phase. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(6), 106520.
- Chiarello, M., McCauley, M., Villéger, S., & Jackson, C. R. (2022). Ranking the biases: The choice of OTUs vs. ASVs in 16S rRNA amplicon data analysis has stronger effects on diversity measures than rarefaction and OTU identity threshold. *PLoS One*, 17(2), e0264443.
- Chobert, S. C., Roger-Margueritat, M., Flandrin, L., Berraies, S., Lefèvre, C. T., Pelosi, L., ... & Abby, S. S. (2025). Dynamic quinone repertoire accompanied the diversification of energy metabolism in Pseudomonadota. *The ISME Journal*, 19(1), wrae253.
- Daneri, G., Dellarossa, V., Quiñones, 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.
- Diaz, R.J. & Rosenberg, R. 2008. Spreading Dead Zones and Consequences for Marine Ecosystems. *Science* 321(5891): 926-929.

- Fonseca, A. (2023). Community and control of filamentous sulfur bacteria. Århus Universitet.
- Fonseca, A., Espinoza, C., Nielsen, L. P., Marshall, I. P., & Gallardo, V. A. (2022). Bacterial community of sediments under the Eastern Boundary Current System shows high microdiversity and a latitudinal spatial pattern. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1016418.
- Fossing, H., Gallardo, V. A., Jørgensen, B. B., Hüttel, M., Nielsen, L. P., Schulz, H., Canfield, D.E., Forster, S., Glud, R.N., Gundersen, J.K., Küver, 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.
- Ge, H., Li, C., Huang, C., Zhao, L., Cong, B., & Liu, S. (2025). Bacterial community composition and metabolic characteristics of three representative marine areas in northern China. *Marine Environmental Research*, 204, 106892.
- 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.
- Hill, E., Hickey, B., Shillington, F., Strub, T., Brink, K., Barton, E., Thomas, A. (1998). Eastern ocean boundaries coastal segment (E). *The Sea, vol. 11*. Wiley, pp. 30–67
- Hurlbert, S. H. (1971). The nonconcept of species diversity: a critique and alternative parameters. *Ecology*, 52(4), 577-586.
- Gallardo A. (1963). Descripción de una nueva especie de *Ampelisca* (Amphipoda). *Gayana, Zoología*, 7, pp. 1-11;2 pls.
- 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. (1977). Large benthic microbial communities in sulphide biota under Peru-Chile subsurface countercurrent. *Nature (London)* 268: 331-332.

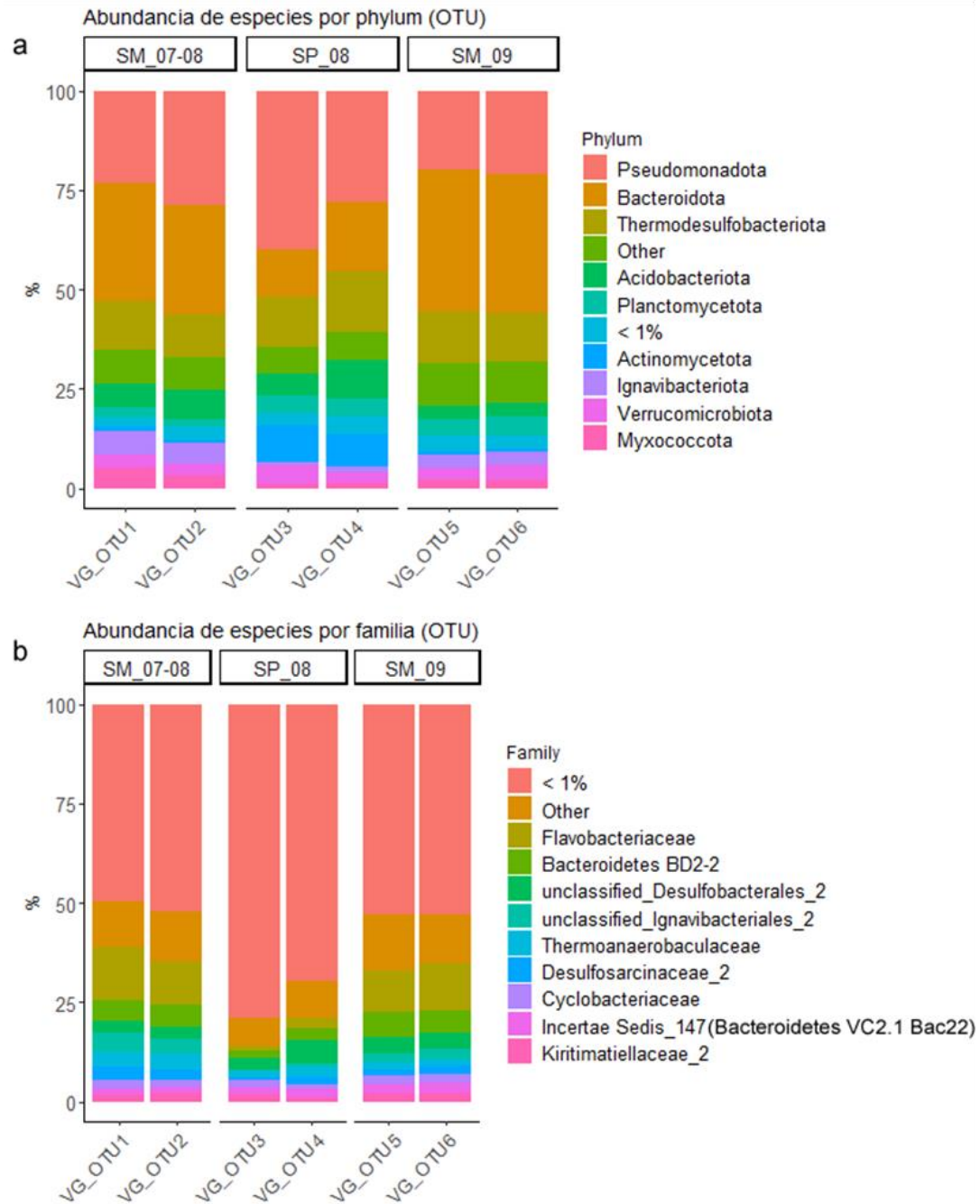
- Gallardo, V. A., & Espinoza, C. (2007). New communities of large filamentous sulfur bacteria in the eastern South Pacific. *International Microbiology*, 10(2), 97.
- Gallardo, V.A., Espinoza, C., Fonseca, A., & Musleh, S. (2013). Las grandes bacterias del Sulfureto de Humboldt. *Gayana (Concepción)*, 77(2), 136-170.
- Gallardo, V. A., Fonseca, A., Espinoza, C., Ruiz-Tagle, N., & Musleh, S. (2016). Bacteria of the Humboldt sulfuretum comply with unifying macroecological principles. *Marine Biodiversity*, 46, 399-406.
- Gunther, E.R. (1936). A report on oceanographical investigations in the Perú coastal current. *Discovery Reports* 13: 107–276.
- Joos, L., Beirinckx, S., Haegeman, A., Debode, J., Vandecasteele, B., Baeyen, S., ... & De Tender, C. (2020). Daring to be differential: metabarcoding analysis of soil and plant-related microbial communities using amplicon sequence variants and operational taxonomical units. *BMC genomics*, 21(1), 733.
- Jørgensen, B. B., & Gallardo, V. A. (1999). *Thioploca* spp.: filamentous sulfur bacteria with nitrate vacuoles. *FEMS Microbiology Ecology*, 28(4), 301-313.
- Jørgensen, B. B. (1982). Ecology of the bacteria of the sulphur cycle with special reference to anoxic—oxic interface environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 298(1093), 543-561.
- Levin, L. A. (2003). Oxygen minimum zone benthos: adaptation and community response to hypoxia. *Oceanogr. Marine Biol. Annu. Rev*, 41, 1-45.
- Levin, L. A., Sibuet, M., Gooday, A. J., Smith, C. R., & Vanreusel, A. (2010). The roles of habitat heterogeneity in generating and maintaining biodiversity on continental margins: an introduction. *Marine Ecology*, 31(1), 1-5.
- Lo Giudice, A., & Rizzo, C. (2018). Bacteria associated with marine benthic invertebrates from polar environments: unexplored frontiers for biodiscovery?. *Diversity*, 10(3), 80.
- Ma, K. J., Ye, Y. L., Fu, Y. H., Fu, G. Y., Sun, C., & Xu, X. W. (2023). Genomic and phylotypic properties of three novel marine Bacteroidota from bare tidal flats

- reveal insights into their potential of polysaccharide metabolism. *Frontiers in Marine Science*, 10, 1222157.
- Macpherson, E. (2023). "*Grimothea monodon* (H. Milne Edwards, 1837)". *WoRMS. World Register of Marine Species*. Retrieved June 17, 2023.
- Maier, S., & Gallardo, V. A. (1984). *Thioploca araucae* sp. nov. and *Thioploca chileae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 34(4), 414-418.
- Marziah, Z., Mahdzir, A., Musa, M. N., Jaafar, A. B., Azhim, A., & Hara, H. (2016). Abundance of sulfur-degrading bacteria in a benthic bacterial community of shallow sea sediment in the off-Terengganu coast of the South China Sea. *Microbiologyopen*, 5(6), 967-978.
- Molina, V., Cornejo-D'Ottone, M., Soto, E. H., Quiroga, E., Alarcón, G., Silva, D., ... & Silva, N. (2021). Biogeochemical responses and seasonal dynamics of the benthic boundary layer microbial communities during the El Niño 2015 in an eastern boundary upwelling system. *Water*, 13(2), 180.
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*, 8(4), e61217.
- McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2014). Waste not, want not: why rarefying microbiome data is inadmissible. *PLoS computational biology*, 10(4), e1003531.
- Montecinos, A., & Gomez, F. (2010). ENSO modulation of the upwelling season off southern-central Chile. *Geophysical Research Letters*, 37(2).
- Morris, R. M., Rappé, M. S., Connon, S. A., Vergin, K. L., Siebold, W. A., Carlson, C. A., & Giovannoni, S. J. (2002). SAR11 clade dominates ocean surface bacterioplankton communities. *Nature*, 420(6917), 806-810.
- Nam, S., Kim, H. J., & Send, U. (2011). Amplification of hypoxic and acidic events by La Niña conditions on the continental shelf off California. *Geophysical Research Letters*, 38(22).

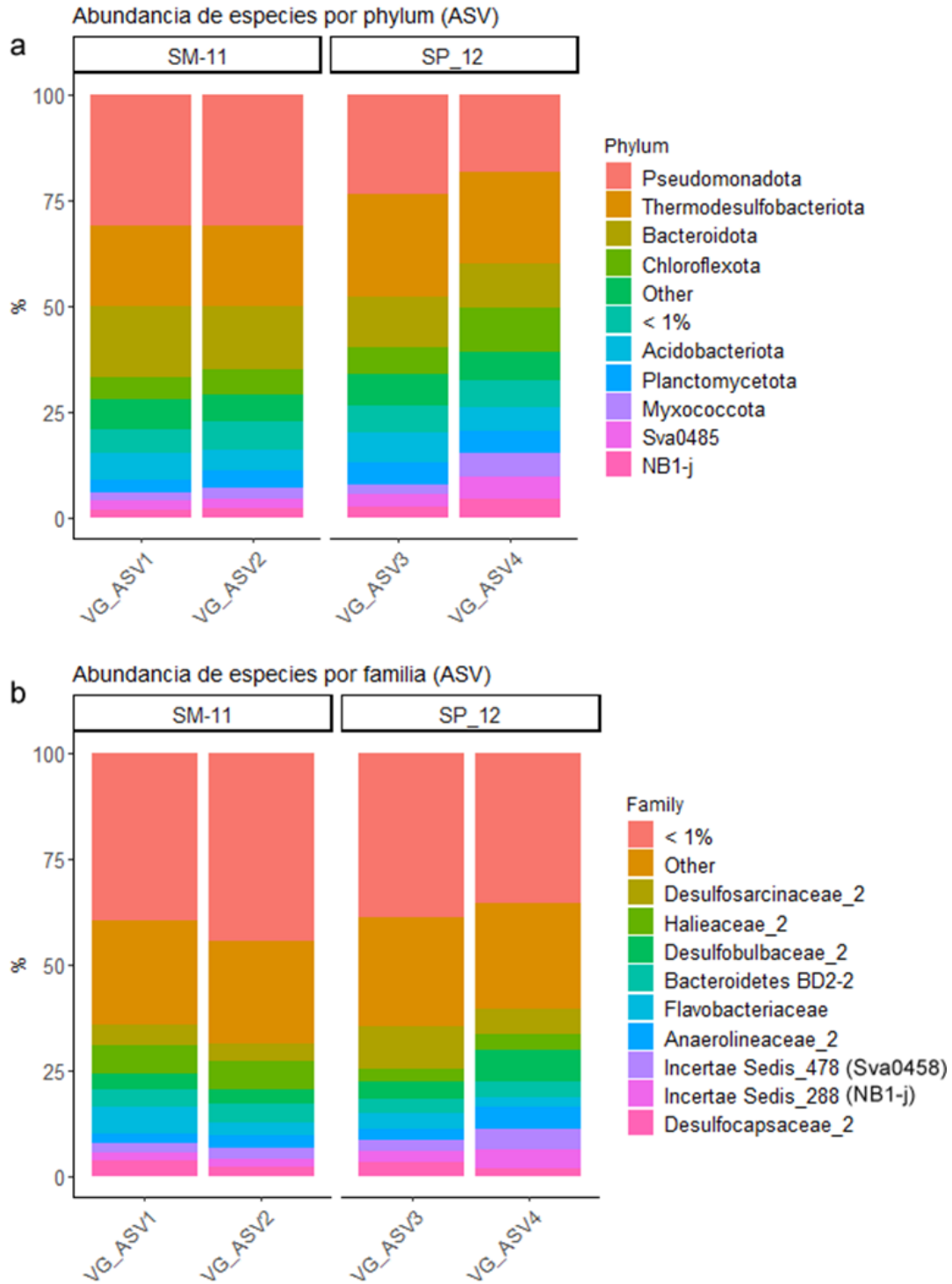
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'hara, R. B., ... & Oksanen, M. J. (2024). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.6-8
- Otte, S., Kuenen, J. G., Nielsen, L. P., Paerl, H. W., Zopfi, J., Schulz, H. N., Teske, A., Strotmann, B, Gallardo, V.A., & Jørgensen, B. B. (1999). Nitrogen, carbon, and sulfur metabolism in natural *Thioploca* samples. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(7), 3148-3157.
- Piepenburg, D., Ambrose Jr, W. G., Brandt, A., Renaud, P. E., Ahrens, M. J., & Jensen, P. (1997). Benthic community patterns reflect water column processes in the Northeast Water polynya (Greenland). *Journal of Marine Systems*, *10*(1-4), 467-482.
- Povero, P., Castellano, M., Ruggieri, N., Monticelli, L. S., Saggiomo, V., Chiantore, M., ... & Cattaneo-Vietti, R. (2006). Water column features and their relationship with sediments and benthic communities along the Victoria Land coast, Ross Sea, summer 2004. *Antarctic Science*, *18*(4), 603-613.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., ... & Glöckner, F. O. (2012). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*, *41*(D1), D590-D596.
- R Core Team (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*.
- Salonen, I. S., Chronopoulou, P. M., Nomaki, H., Langlet, D., Tsuchiya, M., & Koho, K. A. (2021). 16S rRNA Gene Metabarcoding Indicates Species-Characteristic Microbiomes in Deep-Sea Benthic Foraminifera. *Frontiers in microbiology*, *12*, 694406.
- Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell system technical journal*, *27*(3), 379-423.
- Schloss, P. D. (2024). Waste not, want not: revisiting the analysis that called into question the practice of rarefaction. *Mosphere*, *9*(1), e00355-23.

- Sogin, M. L., Morrison, H. G., Huber, J. A., Welch, D. M., Huse, S. M., Neal, P. R., ... & Herndl, G. J. (2006). Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(32), 12115-12120.
- Strub, P. T. (1998). Coastal ocean circulation off western South America. *The global coastal ocean. Regional studies and syntheses*, 273-315.
- Suits, N. S., & Arthur, M. A. (2000). Bacterial production of anomalously high dissolved sulfate concentrations in Peru slope sediments: steady-state sulfur oxidation, or transient response to end of El Niño?. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, *47*(10), 1829-1853.
- Talbi, C., Elmarrkechy, S. ., Youssfi, M. ., Bouzroud, S. ., Belfquih, M. ., Sifou, A. ., Bouhaddou, N. ., Badaoui, B. ., Balahbib, A. ., Bouyahya, A. ., & Bourais, I. . (2023). Bacterial Exopolysaccharides: From Production to Functional Features. *Progress In Microbes & Molecular Biology*, *6*(1).
- 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 Geoscience*, *4*(10), 698-702.
- Watanabe, M., Galushko, A., Fukui, M., & Kuever, J. (2015). Desulfosarcinaceae. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-4.
- Willis, A. D. (2019). Rarefaction, alpha diversity, and statistics. *Frontiers in microbiology*, *10*, 2407.
- Wright, E.S (2016). "Using DECIPHER v2.0 to Analyze Big Biological Sequence Data in R." *The R Journal*, *8*(1), 352-359.
- Zeileis, A., Grothendieck, G. (2005). "zoo: S3 Infrastructure for Regular and Irregular Time Series." *Journal of Statistical Software*, *14*(6), 1–27.

7. Material complementario:



Anexo 7.1: Abundancia relativa de especies por phylum (a) y familia (b) (OTU). Los taxones fueron ordenados de mayor a menor según su abundancia total. La predominancia de taxones específicos desaparece hacia niveles inferiores; con taxones correspondientes a menos de un 1% de de población total componiendo la mayoría del microbioma.



Anexo 7.2: Abundancia de especies por phylum y familia (ASV). De la misma forma que en la figura anterior, la aparente predominancia de taxones pertenecientes a Pseudomonadota, Bacteroidota y Thermodesulfobacteroidota desaparece hacia taxas inferiores. A diferencia del primer crucero, la distribución de taxones raros es menor, lo cual queda reflejado en los mayores índices H' del segundo crucero.