



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**DINÁMICA ECOLÓGICA DEL VIRIOPLANCTON
EN EL LAGO MAAR-CRÁTER ALCHICHICA**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGO**

**ELABORA
MONTIEL HERNÁNDEZ JORGE RICARDO**

**Director
Dr. MIROSLAV MACEK**

Los Reyes Iztacala, Edo. de México 2015





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Gracias a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado. Con todo mi cariño.

A mis Profesores que en este andar por la vida, influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como una persona de bien y preparada para los retos que pone la vida, a todos y cada uno de ellos les dedico cada una de estas páginas de mi tesis.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Le doy gracias a mis padres por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

Gracias al Dr. Miroslav Macek por todo el apoyo incondicional brindado para la realización de ésta investigación, por creer en mí y motivarme a seguir siempre adelante, por su tiempo, su amistad y por el cúmulo de conocimientos transmitidos en esas extensas charlas en los muestreos.

Gracias a cada uno de mis profesores de carrera de la Facultad de estudios Superiores Iztacala-UNAM por su apoyo, consejos y apoyo recibido en los momentos difíciles de mi carrera.

A mis amigos por todos los momentos que pasamos juntos. Por las tareas que juntos realizamos y por todas las veces que sirvieron de guías. Por la confianza que en mí depositaron.

En especial a una persona que en algún lugar del planeta se encuentra trabajando muy duro para salir adelante, gracias por cada uno de esos momentos que nunca se me olvidarán, así como por motivarme hacia el final para elegir mi camino en la ciencia.

| CONTENIDO | Pág. |
|--|-------------|
| 1. RESUMEN | 5 |
| 2. INTRODUCCIÓN | 6 |
| 3. ANTECEDENTES | 10 |
| 4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO | 12 |
| 5. HIPÓTESIS | 13 |
| 6. OBJETIVOS | |
| 6.1. Objetivo general | 14 |
| 6.2. Objetivos específicos | 14 |
| 7. MATERIAL Y MÉTODOS | |
| 7.1. Descripción del área de estudio | 15 |
| 7.2. Análisis <i>in situ</i> | 16 |
| 7.3. Análisis de microorganismos | 16 |
| 7.4. Cuantificación | 17 |
| 7.5. Análisis estadísticos | 17 |
| 8. RESULTADOS | |
| 8.1. Variables limnológicas | 19 |
| 8.2. Picoplancton | 22 |
| 8.3. Partículas Tamaño Virus (VLP's) | 22 |
| 8.4. Relación de Factores | 25 |
| 9. DISCUSIÓN | |
| 9.1. Dinámica Espacial y Temporal | 27 |
| 9.2. Interacciones pico-fitoplanctónicas | 29 |
| 9.3. Gradiente de oxígeno vs. Dinámica picoplanctónica | 31 |
| 10. CONCLUSIONES | 33 |
| 11. REFERENCIAS | 34 |

1. RESUMEN

Mediante el estudio de la ecología de los virus en sistemas acuáticos, se han encontrado nuevos mecanismos que controlan a las formas de vida procariontas. Para analizar los mecanismos controladores de ambas formas de vida y su interacción en el sistema oligotrófico, monomítico Alchichica (Cuenca Oriental), se registró la relación de la densidad de las Partículas Similares a Virus o VLP's sobre el picoplancton autotrófico APP y picoplancton heterotrófico o bacterioplancton BCT, mediante la técnica de microscopia de epifluorescencia en combinación con la tinción *SYBR Gold*. El orden de magnitud registrado fue de 10^7 VLP's mL⁻¹, 10^5 cél. mL⁻¹ de APP y 10^6 cél. mL⁻¹ de BCT. El aporte máximo de VLP's y APP ($p < 0.05$) y su acumulación se observa en las capas del metalimnion y/o epilimnion (T°C $p < 0.05$), con <10% de radiación fotosintéticamente activa (PAR) y un promedio de oxígeno disuelto (OD) de 3.5 mg L⁻¹ ($p < 0.05$). El periodo de mezcla se relaciona con la presencia de los máximos de VLP's y de APP ($p < 0.05$), principalmente en capas de agua superficiales. La densidad mínima de picoplancton (APP+BCT) en el periodo de estratificación coincide con un particular máximo de VLP's. La variación espacio/temporal de la comunidad (APP+BCT+VLP's) es explicada por el análisis de componentes principales (ACP), principalmente por la incidencia del PAR. Así mismo, en zonas superficiales la concentración de OD se relaciona con más del 50% de PAR y altas densidades de APP ($p < 0.05$). También se registró una correlación positiva entre VLP's y APP, y no correlación entre VLP's y BCT. La conexión o relación entre virus y las procariontas (VLP's-APP-BCT) durante meses como febrero de 2012, pudo verse modificada, probablemente al crecimiento de *Nodularia* sp., *Cyclotella alchichicana* y *C. choctawhatcheeana*. Así mismo, durante el periodo de hundimiento de la termoclina (octubre-noviembre) la obtención de registros con densidades mínimas de picoplancton y la máxima densidad de VLP's, se podría explicar por la dinámica térmica que impera en el lago. Se comprueba la relación entre VLP's y APP y una no muy clara relación con el BCT. Lo que indica la naturaleza inestable del virioplancton en periodos cortos, sugiriendo que los procesos que controlan las poblaciones de virus son muy diferentes en las distintas temporadas.

2. INTRODUCCIÓN

Los avances en el conocimiento de los bacteriófagos durante el siglo XX generaron nuevas ideas acerca del origen de la vida, producto de los análisis que comenzaron a realizarse al genoma (ADN y ARN virales), surgiendo nuevas teorías sobre el comportamiento de los virus en diversos sistemas (Fuhrman, 1999; Wommack y Colwell, 2000). En los años 70's, este tipo de estudios resaltó por descubrimientos biotecnológicos, algunos con aplicación médica y por su importancia en el ambiente desde el punto de vista de salud pública. En los años 80's el enfoque sobre los virus generó un nuevo paradigma para la ciencia dentro de las interacciones en sistemas acuáticos (océano-mar, lagos, ríos), principalmente sobre la relación con la red trófica microbiana y el mantenimiento de la "maquinaria operativa" del flujo de energía (Weinbauer, 2004).

En la siguiente década, se comenzaron a generar estudios destinados a la ecología de los virus, describiendo nuevas relaciones con formas de vida procariontas y eucariontas; específicamente, aplicando conceptos ecológicos, describiendo el comportamiento de estas formas de vida parásita (Weinbauer, 2004). Posteriormente, los estudios se fueron enfocando en la selección específica de su huésped (ej. cianobacterias), así como en las formas de respiración de los diferentes grupos fisiológicos de microorganismos huéspedes (sulfato-reductoras, nitrificantes/desnitrificantes, etc.). La respuesta de ambos grupos a variaciones climáticas (vientos-lluvias-luz), así como a cambios en los factores fisicoquímicos y flujo de nutrientes dentro del sistema acuático, hasta llegar a relacionarlos en los procesos biogeoquímicos de la biosfera (Fuhrman y Suttle, 1993; Jiang y Paul, 1998; Wilhelm y Suttle, 1999; Weinbauer, 2004).

En los sistemas acuáticos los virus se mantienen inactivos y suspendidos en el exterior celular principalmente como viriones, representados en su mayoría por estructuras icosaédricas de composición variable (ej. cubierta membranosa). En el interior de su huésped, son capaces de agregarse permaneciendo anclados al material genético o al citosol (parásitos), hasta controlar el propio mecanismo de su huésped (Wommack y Colwell, 2000; Weinbauer, 2004; Kirchman, 2012).

En general, los virus se pueden clasificar en varios grupos, tomando en cuenta su material genético ADN o ARN monocatenario o bicatenario, a la cantidad de cadenas de ácido nucleico

que se encuentren envueltas por la cápside y a su tipo de huésped o grupos de huéspedes; sin embargo su clasificación o árbol filogenético aún no se conoce con exactitud (Kirchman, 2012).

El tamaño de los virus se ha descrito en diversos sistemas acuáticos en el rango de 30 a 60 nm (Peduzzi y Weinbauer, 1993; Sommaruga *et al.*, 1995; Kepner, 1998; Pina *et al.*, 1998), las excepciones son un sistema de remanso del Danubio, donde el 84% de los virus tenía cápside mayor de 60 nm (Mathias, *et al.* 1995), y el lago Superior donde > 50% de los virus eran menores de 30 nm (Tapper y Hicks, 1998). Existen registros de virus “gigantes” (Bratbak *et al.*, 1992) de 750 nm de diámetro encontrados en la vacuola de los radiolarios de la familia Phaeodarea (Gowing, 1993; Weinbauer, 2004). Así mismo, se ha cuantificado la depredación de virus grandes por nanoflagelados heterotróficos (*Heterotrophic nanoflagellates*, HNF) (González y Suttle, 1993; Murray, 1995; Bettarel *et al.*, 2003b; Šimek *et al.* 2006, 2007 Weinbauer *et al.* 2006).

Los virus dentro de la red trófica del plancton interaccionan importantemente con productores primarios procariotas (*Synechococcus* sp.; Callieri *et al.*, 2013), específicamente son responsables de una eliminación diaria equivalente a más del 50% de la biomasa instantánea presente en el sistema (Fuhrman y Noble, 1995; Guixa Boixareu *et al.*, 1996; Steward *et al.*, 1996; Weinbauer y Höfle, 1998). Por lo cual, adquieren un papel relevante en la regulación del crecimiento (súbito) en biomasa del fitoplancton, en particular sobre los florecimientos (Fuhrman, 1999; Suttle *et al.*, 1990; Suttle, 1994, 2005; Wilhelm y Suttle, 1999; Noble y Fuhrman, 2000; Weinbauer, 2004).

Por otro lado, se ha comprobado que la influencia de la radiación UV y la exposición a ciertos periodos de luz (Weinbauer y Suttle 1996, 1999; Maranger *et al.*, 2002), regula la dinámica de la capa eufótica correspondiente al 1% de PAR, favoreciendo la infección a bacterias autótrofas y heterótrofas (Jiang y Paul 1996; Danovaro y Corinaldesi, 2003). Así mismo la conjunción entre el acoplamiento de virus y bacterias vía disponibilidad de recursos (ascendente, *bottom-up*), se puede analizar tomando en cuenta que los virus no dependen de un control directo, si no de sus huéspedes y las condiciones de infección. Si le sumamos a las condiciones de infección, las densidades de virus presentes, protozoos y parte del metazooplancton, podemos explicar en mejor medida el control de los procariotas (descendente, *top-down*). Con este

resultado entonces observamos que los virus estructuran el circuito microbiano, participando en la remineralización de DOM (materia orgánica disuelta) y POM (materia orgánica particulada) hasta en un 60% de biomasa del ensamblaje total en el sistema (Wommack y Colwell, 2000; Šimek *et al.*, 2001; Corinaldesi *et al.* 2003, Horňák *et al.*, 2004).

En general se piensa que la densidad viral aumenta con la productividad del sistema (Maranger y Bird, 1996), por ejemplo en los estuarios alcanzan el orden de 10^8 VLP's mL⁻¹, mientras que en aguas superficiales y en ambientes costeros disminuyen en un orden de magnitud (Paul, 2000). Dentro de los tapetes de cianobacterias de zonas costeras, alcanzan densidades significativas de 10^9 VLP's mL⁻¹ (Hennes y Suttle, 1995). En comparación con las capas profundas del mar (1000 m), donde se registran densidades de 10^4 a 10^5 VLP's. Sin embargo, también se han encontrado densidades significativamente mayores en sistemas acuáticos continentales de carácter oligotrófico (Proctor *et al.*, 1988; Maranger y Bird, 1995; Wilson y Mann, 1997; Fuhrman, 1999; Wommack y Colwell, 2000; Suttle, 2005; Jacquet, *et al.*, 2005; Danovaro *et al.*, 2008 y Kirchman, 2012). Finalmente, los factores reguladores de nutrientes (ej. fósforo) en los sistemas acuáticos que provocan el aumento de biomasa y florecimientos de cianobacterias, aún no se comprenden a la perfección (Callieri y Stoecker, 2002).

La densidad de virus y bacterias en los sistemas marinos disminuyen con la profundidad, mientras que en sistemas lacustres pueden llegar a un máximo en su densidad en capas profundas (Fuhrman 1999; Corinaldesi *et al.*, 2003; Taylor *et al.*, 2003). En sistemas lacustres térmicamente estratificados se han observado densidades mayores de virus en la capa del metalimnion y en el límite del metalimnion (metalimnion/oxiclina) (Drake *et al.*, 1998; Bettarel *et al.*, 2003a, b). En capas anóxicas (Maranger y Bird, 1996; Goddard *et al.*, 2005; Colombet *et al.*, 2006), las bacterias se relacionan con densidades significativas de virus, de acuerdo con los registros de máximos virales en la cuenca anóxica del mar Caribe (Taylor *et al.*, 2003) o del Lago Plußsee (Weinbauer y Höfle, 1998).

Debido a la falta de información sobre la biogeografía de los virus acuáticos, se sabe poco sobre su afiliación como entidades ubicuas o endémicas. Por esa razón, el uso de métodos de biología molecular como DGGE (*Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*), combinado con la Citometría de Flujo y técnicas modificadas de hibridación *in situ* (sondas de ARN CARD-FISH,

Zhong *et al.*, 2013, 2014a,b), sin duda aumentarán nuestro conocimiento sobre la biogeografía viral en los próximos años.

Así mismo, la microscopía electrónica de transmisión (Bergh *et al.*, 1989; Børsheim *et al.*, 1990; Hennes y Simon 1995) y las técnicas moleculares tales como PCR en tiempo real (Reacción en Cadena de Polimerasa, por sus siglas en inglés), podrán permitirnos una identificación y enumeración más detallada (Gruber *et al.*, 2001). Así mismo, mediante otro tipo de métodos como las sondas específicas para la detección de viriones, por medio de anticuerpos monoclonales, la detección de fagos *in situ* (Puig *et al.*, 1998), sondas específicas para la investigación de grupos virales específicos (Fuller *et al.*, 1998; Short y Suttle, 1999), o sondas para la detección de genomas dentro de las células (Ogunseitán *et al.*, 1992; Labrie y Moineau, 2000; Puig *et al.*, 2000a,b); la utilización de la microscopia de epifluorescencia (Hara *et al.*, 1991; Weinbauer y Suttle, 1997; Xenopoulos y Bird, 1997) con ayuda de tintes fluorescentes de tipo *SYBR Green / Gold* (Noble y Fuhrman 1998, 2000; Marie *et al.*, 1999; Bettarel *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2001; Noble, 2001; Wen *et al.*, 2004) permitirán llegar a reportar datos que resulten útiles en la investigación ecológica de los virus (Azaiez, 1998).

3. ANTECEDENTES

Los modelos de crecimiento microbiano en el lago oligotrófico, monomíctico Alchichica no han podido explicar hasta el momento la disminución instantánea del picoplancton, al principio de la estratificación, cuando la eliminación diaria por depredación por los ciliados aporta únicamente un máximo de 10% en la densidad instantánea, cuando el APP es evidente (Peštová *et al.*, 2008). La densidad promedio y aparentemente periódica del picoplancton total (TPP) en toda la columna de agua y en la superficie hasta 20 m (límite superior del metalimnion) es del orden de magnitud de 10^6 . Durante la fase estacional de lluvias llega al orden de magnitud de 10^7 . Así mismo, el APP también contribuye hasta en un 60% al número total del picoplancton (TPP) en el epilimnion, y menos del 35% a lo largo de la columna de agua. Generalmente, la distribución del APP durante la estratificación coincide con la posición de la oxiclina y $< 1\%$ de PAR (de 16 m a 30 m). La densidad máxima (numérica y de biomasa) se encuentra debajo del metalimnion, en el piso de la oxiclina y/o por arriba del fondo. En cambio, los valores mínimos de densidad se registran durante el periodo de estratificación bien establecido (Macek *et al.*, 2009; Peštová *et al.*, 2008; Hernández Avilés *et al.*, 2010; Bautista-Reyes y Macek, 2012).

Durante el periodo de estratificación el OD en los primeros 20 m es bastante estable. La sobresaturación se alcanza durante la estratificación temprana. En la estratificación bien establecida, el OD disminuye rápidamente en la capa superior de la termoclina llegando a valores ≤ 0.2 mg L⁻¹ a pocos metros por debajo del metalimnion, con una completa anoxia de mayo a diciembre (hipolimnion, Macek *et al.*, 2009). Las concentraciones promedio de clorofila *a* en la columna de agua son menores a 5 µg L⁻¹, con aumentos de > 10 µg L⁻¹ en el periodo de mezcla (enero-febrero; Oliva *et al.*, 2001; Macek *et al.*, 2009), esto debido a la presencia de *Cyclotella alchichicana* y *Chaetoceros elmorei*. Las concentraciones de un máximo de clorofila profundo se registran en julio/agosto a nivel del metalimnion (20 y 30 m, Adame *et al.*, 2007). El pico máximo de concentración de clorofila *a* en el epilimnion coincide con el florecimiento de *Nodularia* sp. al final de la temporada de mezcla y comienzo de la estratificación (marzo a mayo); con un máximo absoluto observado en la capa superficial (20 cm de profundidad (Oliva *et al.*, 2001). Según la concentración de fósforo debería clasificarse como eutrófico (Callieri *et al.*, 2007).

Con respecto a las interacciones entre el picoplancton, nanoplancton y microplancton dentro de la metacomunidad planctónica junto con el femtoplancton o virioplancton, han generado diversos estudios que podrían ser comparables, por ejemplo los realizados en el mar Báltico, en la bahía de Chesapeake y en el lago eutrófico Plußsee que involucran a las discontinuidades generadas en la columna de agua como la picnoclina (Wilhelm *et al.*, 2002; Wommack *et al.*, 1992) o quimioclina (Weinbauer y Höfle, 1998; Taylor *et al.*, 2001, 2003; Tuomi *et al.*, 1997; Weinbauer, *et al.* 2003). A estas discontinuidades a menudo se asocian los cambios de la densidad viral, reflejando que la densidad de los virus fluctúa significativamente durante períodos cortos, variando en escalas que van de minutos a semanas (Bratbak *et al.*, 1990, Jiang y Paul, 1994; Hennes y Simon, 1995, Yager *et al.*, 200, Šimek *et al.*, 2007). También hacen énfasis sobre la variación durante y después de la desaparición de un florecimiento de fitoplancton (Hwang y Cho, 2002; Cochlan *et al.*, 1993; Riemann y Middelboe, 2002), así como su agrupación en zonas de mayor salinidad (Guixa Boixareu *et al.*, 1996).

En los sistemas acuáticos lacustres como el lago Pavin (oligomesotrófico) y lago Aydat (eutrófico) (Bettarel *et al.*, 2004) remarcan la importancia de los estudios sobre el comportamiento de los virus en periodos de largo plazo (mayor a 6 meses). Principalmente tomando en cuenta la variabilidad de los virus en la profundidad, aunado al cambio en la concentración de nutrientes. Algunos de los estudios, registran máximas densidades a finales de la primavera (mayo a junio) y durante el otoño (septiembre a octubre), con medias de 25.7 y 30.2 VLP's bacteria⁻¹, respectivamente. Finalmente se puede mencionar que la relación en el sistema menos productivo parece mostrar una mayor importancia. Por su parte, en otro tipo de embalses, como los que se encuentran en Sri Lanka, la densidad bacteriana no siguió un patrón estacional (Peduzzi y Schiemer, 2004), sin embargo, el acoplamiento de virus y bacterias en la columna de agua durante la fase de mezcla en la estación seca, no solo se relacionó positivamente a la densidad de bacterias y la producción, sino también al nitrógeno orgánico y a algunas formas de fosforo disuelto.

4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En el lago Alchichica resulta de gran importancia el conocimiento de la dinámica del virioplancton, así como su función como posible efecto regulador de incrementos instantáneos de poblaciones específicas, principalmente en zonas de mayor actividad del picoplancton y de formación de florecimientos cianobacterianos potencialmente nocivos (*Nodularia* sp.).

De la misma manera, el conocimiento del efecto de los factores físicos sobre el proceso de acoplamiento de la comunidad biótica virus-picoplancton, nos permitirá un conocimiento más detallado sobre la dinámica de remineralización de DOM, POM y flujo génico en sistemas oligotróficos, generando un criterio más amplio sobre su participación en el circuito microbiano y en la biogeoquímica del lago Alchichica.

5. HIPÓTESIS

La variación espacial de los factores físicos provoca que en las capas del epilimnion y metalimnion la densidad de los virus se correlacione positivamente con la densidad de las picocianobacterias y no se correlaciona con la densidad del bacterioplancton. Lo que provoca que temporalmente la densidad del virioplancton se correlacione positivamente con las picocianobacterias en periodos de mezcla e inversamente en la estratificación la densidad de virioplancton no se correlaciona con las picocianobacterias.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Analizar la dinámica espacial y temporal de la relación de VLP's (Partículas de Tamaño Virus) y la densidad de picoplancton durante un ciclo anual en el lago maar Alchichica.

6.2 Objetivos específicos

Durante un ciclo anual:

Analizar la relación de las variables limnológicas temperatura, oxígeno disuelto y luz fotosintéticamente activa (PAR) sobre la variación de la densidad del virioplancton y del picoplancton.

Analizar la relación del virioplancton con la comunidad picoplanctónica, así como la variación de los valores de su densidad en la columna de agua durante un ciclo anual.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Descripción del área de estudio

El estudio, monitoreo y los experimentos se realizaron en un sistema acuático ubicado en la Cuenca Oriental en el SE del Altiplano Mexicano ($19^{\circ}24'N$ y $97^{\circ}24'W$) en el límite este de la Faja Volcánica Trans-Mexicana, entre los estados de Puebla, Veracruz (Arredondo, 1995; Alcocer *et al.*, 2000).

El lago Alchichica es un lago cráter tipo maar procedente de una explosión freato-magmática, localizado a $19^{\circ}24'13''N$ y $97^{\circ}24'00''W$, a una altura de 2350 m.s.n.m (Figura 1). El lago tiene forma circular con una longitud máxima de 1.8 km; profundidad media de 40.9 m, profundidad máxima (comprobada) de 62 m; el perímetro del lago corresponde a 5.06 km, un área superficial de 2.3 km^2 y volumen de $9.4 \times 10^7 \text{ m}^3$ (Filonov *et al.*, 2006). Este es un lago hiposalino con predominancia de cloruros y de sodio ($8.5 \pm 0.2 \text{ g L}^{-1}$ de salinidad; $13 \pm 0.5 \text{ mS cm}^{-1}$ de conductividad) y pH básico (9.2) (Vilaclara *et al.*, 1993). El clima de la región es seco templado, con una temperatura media anual de 12.9°C y precipitación anual menor de 400 mm (García, 1988). Presenta un periodo de mezcla (enero-abril) y un periodo de estratificación el resto del año (Alcocer *et al.*, 2000); de acuerdo a Lewis (1996) se clasifica como un lago monomíctico cálido.

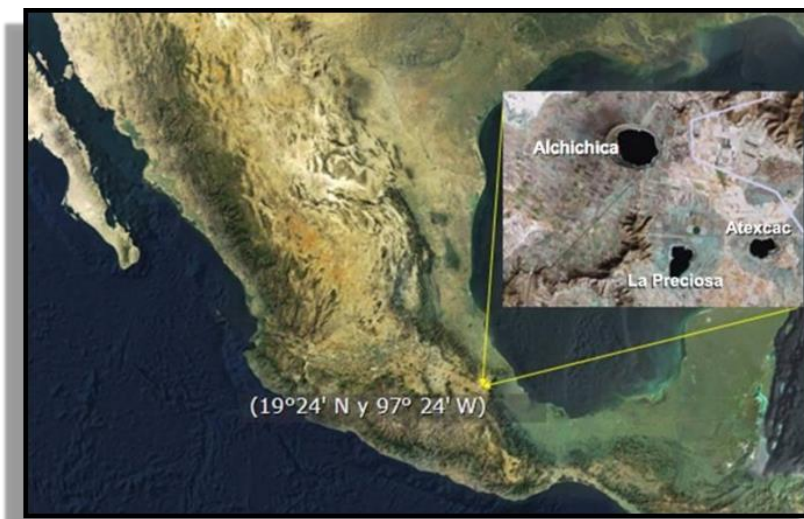


Figura 1. Localización de algunos de los lagos cráter de la Cuenca Oriental. En el recuadro aparecen Alchichica y los lagos vecinos La Preciosa y Atexcac (INEGI, 2014).

Se realizaron los muestreos mensualmente durante un ciclo anual, de junio de 2011 a junio de 2012 y mediciones de producción de oxígeno por fitoplancton mensual de enero a junio 2012. Se colectaron muestras de 4 o 5 profundidades representativas (Tabla 1), tomando en cuenta los periodos de mezcla y estratificación.

Tabla 1. Profundidades para el muestreo; el estrato varió durante la temporada de estratificación de acuerdo a la posición de la termoclina y/u oxiclina.

| | Estratificación | Mezcla |
|----------|--|-----------------------------|
| 1 | Epilimnion superficie y/o 8.5 m | superficie y/o 8.5 m |
| 2 | Metalimnion | 17 m |
| 3 | 1% de PAR | 1% de PAR |
| 4 | Oxiclina o hipolimnion | 30 m |

7.2 Análisis *in situ*

En la zona central y más profunda se determinaron las características limnológicas de los estratos a estudiar antes de cada muestreo. Se registró la temperatura y oxígeno disuelto con un perfilador multiparamétrico de calidad de agua DS4/SVR Hydrolab (USA). El perfil de la Radiación Fotosintéticamente Activa (PAR) se registró con el Irradiómetro LI-COR1400 (USA) equipado con dos sensores Quantum Sensor LI-192 (hv).

A través de los perfiles de temperatura y oxígeno disuelto se determinaron los periodos de mezcla y estratificación, así como las fronteras de los distintos estratos o capas del lago (epilimnion, metalimnion e hipolimnion); con los de PAR se delimitó la profundidad de la capa eufótica (Z_{Eu}) correspondiente al 1% de la PAR superficial.

7.3 Análisis de microorganismos

El muestreo de los microorganismos se realizó con la botella IHE (República Checa). Los procariotas se fijaron con formol al 2% (Straškrabová *et al.*, 1999); los virus se fijaron con glutaraldehído al 0.5% en tubos Eppendorf (1.8 mL) y se congelaron inmediatamente en mezcla del hielo y sal (Brussaard, 2009).

7.4 Cuantificación

Los virus se concentraron sobre membranas Anodisk (Whatman, Gran Bretaña) de tamaño de poro 0.02 μm , tiñéndolos con SYBR Gold (Invitrogen, USA) según Suttle y Fuhrman (2010) y Bettarel *et al.* (2006). Para su cuantificación se tomaron imágenes en un microscopio de epifluorescencia LEICA DMLB (Leica, Alemania), juego de filtros I3 (FITC, AO).

El APP (picoplancton autotrófico) se cuantificó por su autofluorescencia y el HPP-BCT (picoplancton heterotrófico-bacterioplancton) por tinción de DAPI (Porter y Feig, 1980) en muestras concentradas sobre membrana de policarbonato (Osmonics, USA) de 0.2 μm de poro, utilizando el microscopio de epifluorescencia arriba mencionado y el juego de filtros Y3 (excitación en verde, observación en rojo) y A (excitación UV, observación azul) respectivamente, según Straškrabová *et al.* (1999). Las imágenes fueron capturadas por medio de la cámara digital Canon Power Shot S-45 (Japón).

7.6 Análisis estadísticos

Se integraron en Microsoft Excel 2013 los conteos de las variables biológicas (VLP's, APP, BCT) y se delimitaron las capas del epilimnion, metalimnion, oxiclina, 1% de PAR con el fin de analizar gráficamente el patrón de desarrollo (promedio ponderado, desviación estándar).

En Surfer 6 (Golden Software, Inc USA) se graficaron mapas de isolíneas de las variables limnológicas y de las variables biológicas, con el fin de analizar la variación espacial y temporal.

Mediante el software Minitab 17 (Minitab Inc. 2013) se realizó un análisis de conglomerados para poder determinar la dinámica de las temporadas estratificación y mezcla, tomando en cuenta para los cálculos de la Piconocline la función de máximos y mínimos de la $T^{\circ}\text{C}$ y OD con cambios (Δ) de 0.2 a 0.5 unidades respectivamente al inicio y al final de la temporada, delimitando el límite superior y límite inferior de la capa de agua (eje. oxigenada y anóxica; así mismo se tomó en cuenta el 1 y 0.1 % de PAR para la construcción de las similitudes.

Posteriormente se realizó un análisis de correlación bivariado entre la densidad del picoplancton (APP y BCT), la densidad de VLP's y las variables limnológicas ($T^{\circ}\text{C}$, OD, %PAR

y Profundidad ó Zm). La magnitud de asociación lineal entre las variables se explica mediante el rango de valores en la siguiente tabla:

Tabla 3. Guía general para la interpretación de la magnitud del coeficiente de correlación (R).

| Valor Absoluto del Coeficiente de Correlación “R” | Grado de Asociación |
|--|----------------------------|
| 0.8-1.0 | Fuerte |
| 0.5-0.8 | Moderada |
| 0.2-0.5 | Débil |
| 0.0-0.2 | Insignificante |

Se generó un análisis de componentes principales (ACP) para tratar de redefinir la relación a un número menor de componentes que expliquen en mejor medida los cambios espacio-temporales en el epilimnion, metalimnion y oxiclina; así como los cambios de densidad del picoplancton y VLP's. Para la reducción de la dimensión de variables se utilizó el método de Kaiser, el cual determina conservar solo los componentes con valores propios >1(Minitab Inc. 2013). Así mismo se analizó la probable existencia de diferencias en la densidad de picoplancton y VLP's en las distintas temporadas (mezcla, estratificación y ciclo anual).

8. RESULTADOS

8.1 Variables limnológicas

El lago Alchichica muestra claramente el comportamiento térmico de un lago monomítico (Figura 2) con el periodo de circulación asociado al invierno hemisférico, desfasado en un mes; el cual en este caso, abarca desde finales de diciembre, principios de enero hasta finales de abril o inicios de mayo. La estratificación comienza a definirse entre mayo y junio extendiéndose hasta diciembre (Figura 2 y 3). Por su parte la temporada de mezcla se define por el periodo de enero a marzo, con una etapa de transición en diciembre, y otra, entre abril y mayo.

Durante el periodo de estratificación se obtuvieron valores de temperatura máxima superficial de 19.9 °C en junio del 2011 y una mínima de 15.7 °C en diciembre del 2011, con un gradiente estable de temperatura ($\Delta 0.5^{\circ}\text{C m}^{-1}$) en la termoclina durante los meses de julio a noviembre de 2011, variando el límite superior del metalimnion entre los 10 y 32 m de profundidad (Figura 2). Una termoclina “inestable” ($>\Delta 0.2^{\circ}\text{C m}^{-1}$) se ubicó a un máximo de profundidad de 40 m (diciembre 2011) y una mínima de 9 m (junio de 2011 y mayo de 2012). La concentración máxima superficial promedio de OD registró 6.8 mg L⁻¹, con gradiente de oxígeno a lo largo de la columna de agua ($<0.2 \text{ mg m}^{-1}$) durante los periodos de julio a diciembre del 2011 y de marzo a julio del 2012. La oxiclina se ubicó a un máximo de profundidad de 40 m (diciembre de 2011) y una mínima 10 m (junio de 2011 y mayo 2012) (Figura 3).

Con el PAR se definió la capa eufótica correspondiente al $\geq 1\%$ de PAR (Figura 4). Durante la etapa de estratificación, la profundidad mínima a la que se encontró el 10% de PAR se ubicó a los 9 m en diciembre de 2011 y la profundidad máxima a 18 m en septiembre de 2011; el límite inferior de la capa fótica (1% de PAR) se ubicó a profundidad máxima de 29 m en septiembre de 2011, con una profundidad mínima de 20 m en enero y un segundo mínimo en marzo de 2012; el 0.1% de PAR se varió de posición entre los 20 y 30 m (Figura 4). Así mismo se puede observar una discontinuidad en relación a la cantidad de luz recibida en el epilimnion, observándose un descenso hasta del 20% (8.5 m), disminuyendo hasta alcanzar un 0.05% de PAR en capas más profundas próximas a la termoclina (30 m, Diciembre 2012).

Durante la temporada de mezcla de enero a marzo de 2012 se registran valores casi homogéneos de temperatura y OD en la columna de agua. En el mes de enero del 2012 la temperatura máxima fue de 15.5°C en superficie y 14.6°C en el fondo (62 m). Las concentraciones de OD fueron de 4.8 mg L⁻¹ en superficie, con una disminución a 4.0 mg L⁻¹ a los 62 m. En el periodo de mezcla el 10% de PAR se mantiene por debajo de los 10 m; el 1% de PAR fluctúa ubicándose a la profundidad de 13 m en enero, 18 m febrero y en marzo 13.5 m (Figura 4).

En el periodo de transición entre la mezcla y la estratificación estable, se registraron valores de temperatura en superficie de 15.7 °C y en la capa más profunda 14.3 °C (62 m). La concentración de OD en la columna de agua muestra un decremento en las capas de los 35 m hasta los 42 m generando una transición de capas óxica/anóxica, ubicando el 10% de PAR a los 9 m y el 1% PAR a los 20 m de profundidad en la columna de agua. El 10% de PAR se ubicó a los 8 m y el 1% de PAR a los 12 m de profundidad.

Se observó un acoplamiento bien establecido de la termoclina y la oxiclina durante la etapa de estratificación, aunque en el mes de junio de 2012 la estratificación térmica es muy tenue, comparada con la registrada en junio de 2011. Los registros de OD enmarcan un gradiente (oxiclina) durante junio del 2011 a partir de los 10 m. Durante el periodo de estratificación bien establecido, el acoplamiento de termoclina/oxiclina comienza a fluctuar en la profundidad de los 15 m hasta los 30 m hacia el fondo.

La diferenciación de 3 fronteras de las fases se observa por la similitud en los valores registrados durante el ciclo anual, tomando en cuenta la profundidad de la termoclina, oxiclina y 1% de PAR, junto con su cambio en la densidad del sistema. Por lo tanto, podemos afirmar que diciembre y abril forman un conjunto denominado periodo de transición, así mismo, un segundo conjunto inestable se observa por los meses de enero, febrero y marzo. Finalmente en el tercer conjunto se agrupan los meses de junio a noviembre del 2011 y de mayo a junio del 2012, lo cual nos indica un comportamiento similar del sistema (Figura 5).

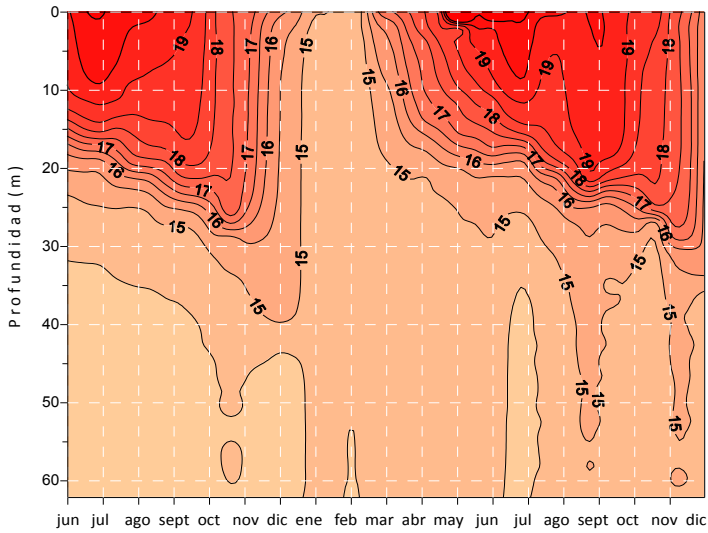


Figura 2. Isolíneas de la Temperatura (T °C) en función de la temporada de muestreo (mes) y de la profundidad. Se observa un conjunto de datos para el periodo de junio del 2011- diciembre del 2012.

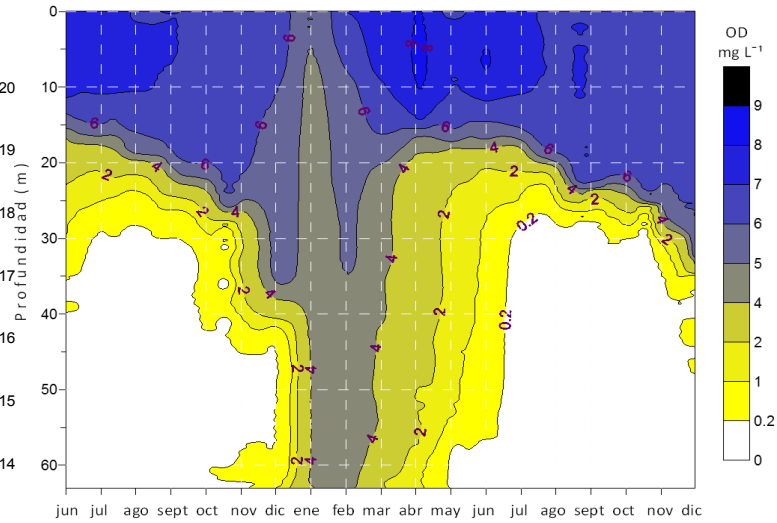


Figura 4. Isolíneas de Oxígeno Disuelto (OD mg L^{-1}) en función de la temporada de muestreo (mes) y de la profundidad (Z_m). Se presentan el conjunto de datos tanto para la temporada de muestreo (junio 2011-julio 2012) como para la temporada de experimentos (enero-diciembre 2012).

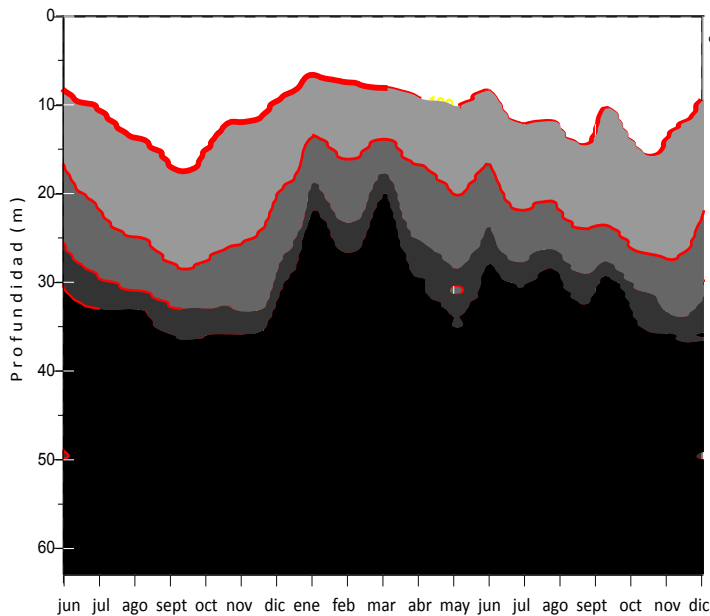


Figura 4. Isolíneas de la radiación fotosintéticamente activa (%PAR) en función del tiempo y de la profundidad (Z_m). De junio de 2011 a diciembre de 2012.

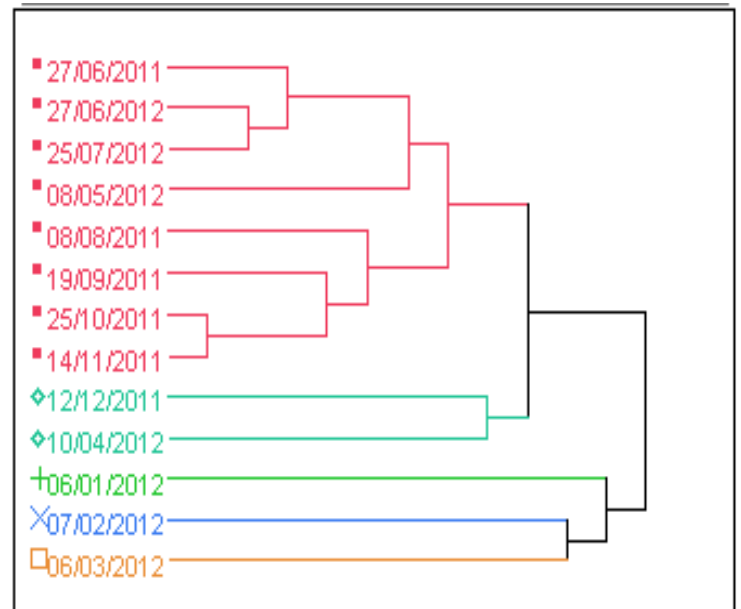


Figura 5. Análisis de Conglomerados de los perfiles limnológicos (T °C, OD, 1 y 0.1% de PAR), tomando en cuenta el Δ de 0.2 a 0.5 unidades al delimitar las fronteras de los estratos de agua en la temporada de mezcla (azul, verde, amarillo), estratificación (rojo) y transición (verde agua).

8.2 Picoplancton

El picoplancton autotrófico (APP) durante la fase de mezcla (promedio ponderado de la columna de agua) alcanzó su máxima densidad en el mes de mayo (5.4×10^5 cél.mL⁻¹) y su mínima densidad en febrero de 2012 (8×10^4 cél.mL⁻¹), con un posterior incremento hasta disminuir en el junio del mismo año. Al cotejar el primer muestreo, con un segundo muestreo en el mes de febrero de 2012, se observó que la densidad aumentó al orden de magnitud de 1.4×10^5 cél.mL⁻¹ a 1.2×10^6 cél.mL⁻¹ en superficie después del florecimiento de *Nodularia* sp. Por otro lado, durante la fase de estratificación, la densidad de APP registró un menor cambio en sus intervalos de densidad en los meses de octubre y diciembre de 2011 (Figura 6).

Por otro lado, analizando en el periodo de estratificación (2011) las mayores densidades de APP se encuentran en el metalimnion (Figura 7). La densidad varía en un intervalo de 0.5 a 3.0×10^5 cél.mL⁻¹. A 8.5 m (epilimnion) el intervalo de densidad se encontró de 0.3 a 1.4×10^5 cél.mL⁻¹. En la zona transición óxica/anóxica aprox. 40 m se registró una densidad de 0.4 a 2.9×10^5 .

La densidad del bacterioplancton (BCT), registró su máximo en marzo del 2012 (4.0×10^6 cél.mL⁻¹), estabilizándose hasta el mes de mayo del 2012, con una posterior disminución de la densidad (Figura 6). Durante el periodo de estratificación también se registran mínimas variaciones en la densidad, principalmente entre los meses de septiembre a noviembre de 2011 (0.8 a 1×10^6 cél.mL⁻¹). La variación en la columna de agua del BCT en el epilimnion fue de 0.4 a 2.9×10^6 cél.mL⁻¹, en el metalimnion entre 0.83 a 3.26×10^6 cél.mL⁻¹, y el hipolimnion de 0.46 a 3.9×10^6 (Figura 7).

8.3 Partículas Tamaño Virus (VLP's)

La tendencia en el comportamiento espacial y temporal de VLP's en el lago se vio marcado por un máximo en su densidad registrado en el mes de octubre 2011 (1.6×10^8 VLP's mL⁻¹), seguido de una disminución en su densidad que alcanzó un mínimo en enero 2012. Un segundo máximo se observó en marzo (1.1×10^8 VLP's mL⁻¹), manteniendo su densidad hasta disminuir en el mes de julio.

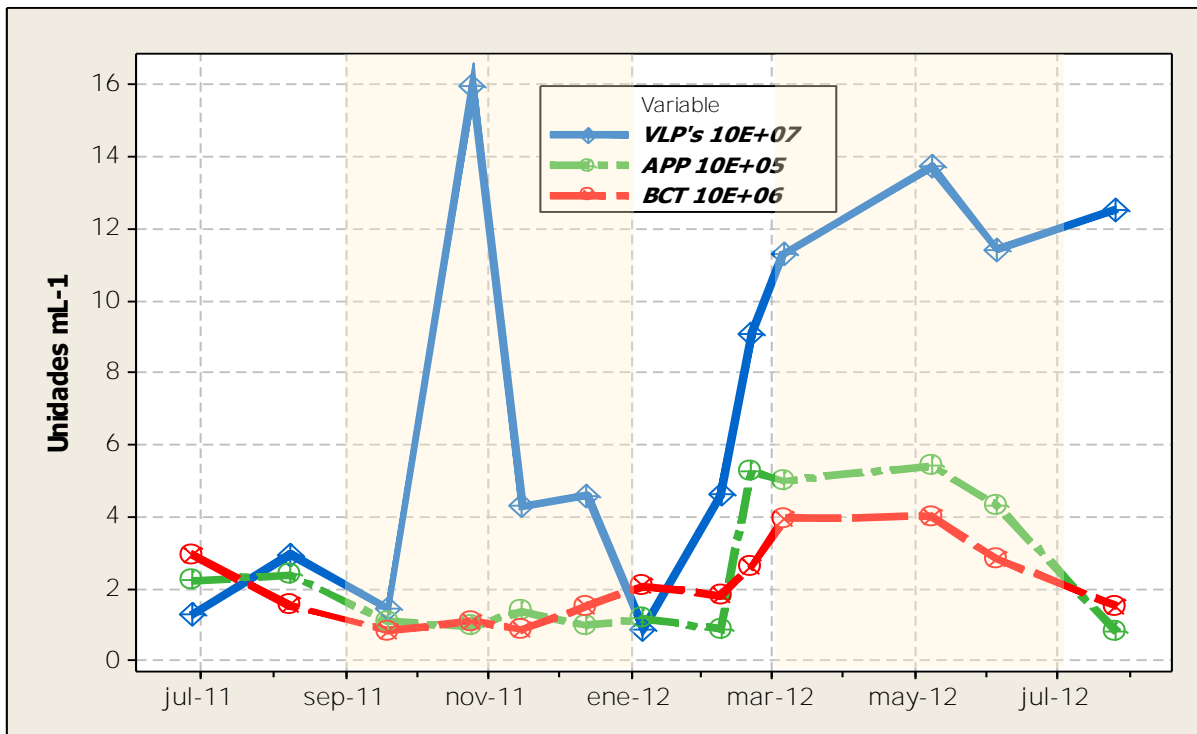


Figura 6. Densidad de virus (VLP), bacterioplancton (BCT) y picoplancton autotrófico (APP), durante la temporada de mezcla y estratificación.

La dinámica de los virus en la columna de agua se vio representada por un máximo en su densidad durante la etapa de mezcla, seguido del metalimnion en la fase de estratificación. Por su parte, los datos en la densidad del metalimnion fluctuaron entre 7.4 a 0.9×10^7 VLP's mL^{-1} . Sin embargo en la columna de agua, durante esta fase de estratificación en metalimnion los intervalos fueron de 6.33 a 0.36×10^7 VLP's mL^{-1} ; en epilimnion de 2.16 a 0.05×10^8 VLP's mL^{-1} . Y aunque en la etapa de estratificación no hubo un muestreo continuo del hipolimnion (Figura 7), las veces que se tuvo registro de esta capa, albergó una densidad de 8×10^7 VLP's mL^{-1} en el mes de agosto, 1.7×10^8 VLP's mL^{-1} en el mes de noviembre hacia la parte del fondo (61 m), hasta llegar en el mes de diciembre a 5×10^7 VLP's mL^{-1} en capa anóxica (46 m).

Durante la etapa de mezcla, el comportamiento de las partículas cambió completamente abarcando los intervalos de 2.5 a 2.3×10^7 VLP's mL^{-1} (superficie y 20 m respectivamente). En el segundo muestreo del mes de febrero se obtuvo una mayor densidad (3.2×10^8 VLP's mL^{-1} , en superficie) en comparación con el primero (7.7×10^7 VLP's mL^{-1}).

La densidad de VLP's registrada durante los florecimientos con *Nodularia* sp. (febrero), en la fase de estratificación térmica, alojaron densidades entre 4.15 a 1.71×10^7 VLP's mL^{-1} en la parte del epilimnion; en el metalimnion 6.04 a 2.74×10^7 VLP's mL^{-1} ; en la parte del hipolimnion 5.99 a 2.72×10^7 VLP's mL^{-1} . Durante la etapa de mezcla 1.57×10^7 VLP's mL^{-1} a los 20 m y en la parte más profunda (60 m) 7.57×10^6 VLP's mL^{-1} muestreo Enero).

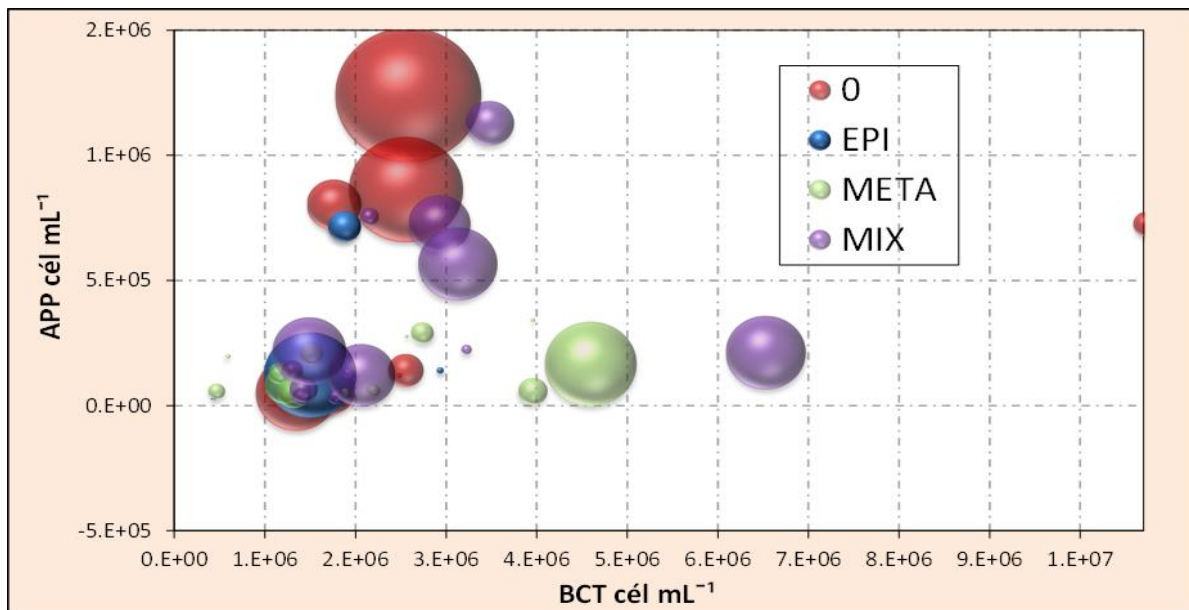


Figura 7. Relación entre la densidad de virus (area de la burbuja), bacterias (BCT) y picoplancton autotrófico (APP) en la superficie (0), epilimnion (EPI), metalimnion (META) y durante la mezcla (MIX).

8.4 Relación de Factores

Al integrar las variables limnológicas y las variables biológicas en la matriz de correlación, observamos que la T°C registra una correlación positiva débil, con el PAR y una correlación positiva moderada con el OD. El OD presenta una correlación positiva débil con el PAR. La

Tabla 5. Análisis de correlación bivariado, donde se observa el valor de correlación de Pearson (azul claro) y la probabilidad (azul oscuro); tanto para las variables limnológicas como para las variables biológicas.

| | BCT | APP | VLP's | Z (m) | T°C | OD | %PAR |
|-------|--------|---------|-------|---------|--------|--------|------|
| BCT | | | | | | | |
| APP | .433** | | | | | | |
| VLP's | .116 | .335* | | | | | |
| Z (m) | -.219 | -.374** | -.100 | | | | |
| T°C | .047 | .330* | .166 | -.615** | | | |
| OD | .123 | .358* | .119 | -.810** | .694** | | |
| %PAR | .152 | .167 | .097 | -.711** | .351* | .469** | |
| | .296 | .252 | .506 | .000 | .013 | .001 | |

** La correlación es significativa en el nivel 0.01
 * La correlación es significativa en el nivel 0.05

profundidad (Z m) presenta una correlación negativa moderada con la T°C y el PAR una correlación negativa fuerte con el OD (Tabla 5). El BCT no presenta correlación con la profundidad, con la T°C, el OD ni el PAR. EL APP tiene una correlación negativa débil con la profundidad, una correlación positiva débil con el OD y la T°C. Los VLP's no registran una correlación con la profundidad, el PAR, el OD y la T°C. Así mismo, los VLP's no registran una correlación con el BCT, sin embargo con el APP registra una correlación positiva.

Al reducir la dimensión de la influencia de las variables limnológicas sobre el ajuste de la relación del picoplancton y de VLP's, se registra que es razonable utilizar los primeros 3 componentes; debido a que con la reducción a estos 3 componentes se explica el 92.6% de la varianza total, tomando en cuenta que añadiendo una dimensión se obtiene un 6.6% y quitando uno perdemos un 12.9% de la variabilidad total (Tabla 6). Así mismo se puede hacer distinción

entre la reducción de las variables, con el registró de una mayor fuerza de correlación y una carga positiva del PAR (valor absoluto del coeficiente-VAC=0.881), seguida del OD y la T°C en el componente principal 1 (CP1). Sin embargo el OD, toma una carga positiva y mayor fuerza de correlación con el CP2 (VAC=0.610), seguida del APP y VLP's en el mismo componente. En el CP 3 tenemos asociada la profundidad (Zm) y el OD con cargas positivas.

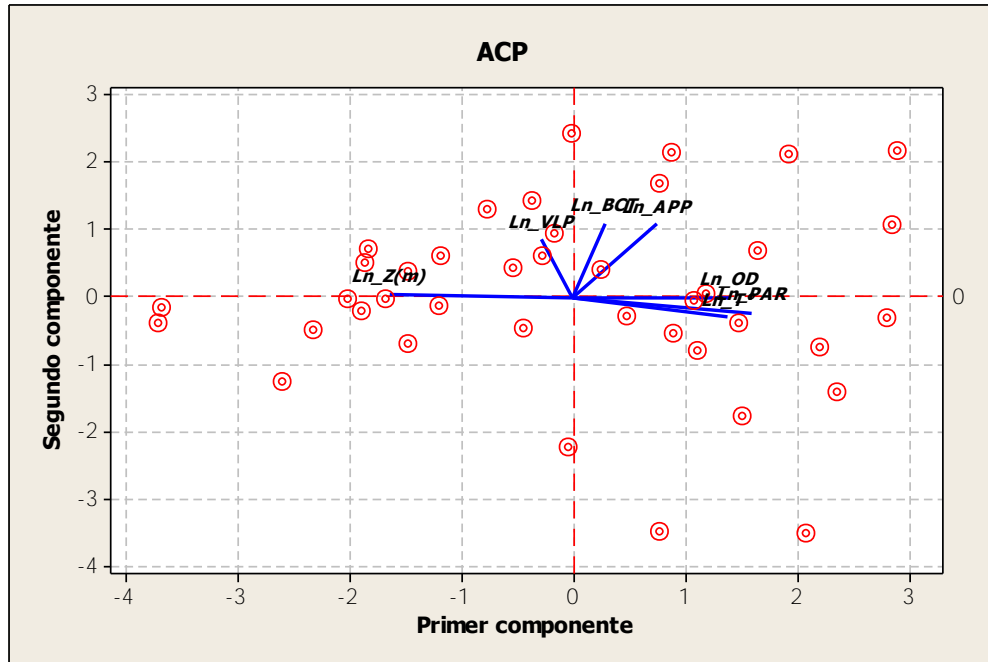


Figura 8. Grafica de doble proyección de (cargas y puntos) del análisis de componentes principales reduciendo la dimensión de las variables limnológicas (T°C, OD, PAR, y Profundidad) con respecto a las variables biológicas (VLP's, APP, BCT). Los puntos dispersos en la gráfica, representan a las ponderaciones obtenidas de la combinación de variables. Las líneas de proyección ejemplifican la relación de los factores o variables

Tabla 6. Valores del Análisis de Componentes Principales (ACP) de las variables limnológicas, VLP's, BCT y APP, donde se muestran los valores y vectores propios de la matriz de correlación de 40 casos utilizados, con 9 casos de valores faltantes.

| Variable | PC1 | PC2 | PC3 |
|--------------|--------|--------|--------|
| Zm | -0.180 | -0.033 | 0.012 |
| T C | 0.027 | -0.000 | -0.002 |
| OD | 0.417 | 0.709 | 0.521 |
| PAR | 0.881 | -0.339 | -0.282 |
| VLP's | -0.092 | 0.422 | -0.714 |
| BCT | 0.008 | 0.257 | -0.137 |
| APP | 0.092 | 0.370 | -0.345 |
| Valor propio | 7.7218 | 1.6906 | 1.5247 |
| Proporción | 0.654 | 0.143 | 0.129 |
| Acumulada | 0.654 | 0.797 | 0.926 |

9. DISCUSIÓN

9.1 Dinámica Espacial y Temporal

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de correlación, se confirma la hipótesis que señala al virioplancton como uno de los elementos principales en la composición de la comunidad de procariotas. La variación de la densidad de VLP's (10^7) fluctúa por arriba de dos órdenes de magnitud sobre el APP (10^5) y un orden de magnitud sobre el BCT (10^6). De manera que la dinámica de la comunidad de virus se encuentra afectada por periodos de alta y baja densidad del picoplancton; sin embargo, la densidad de VLP's puede incrementarse súbitamente debido a la variación en la composición del picoplancton (Declerck *et al.*, 2013). Lo cual se vuelve más dinámico al ir integrando las variables limnológicas en periodos cortos o de transición (mezcla/estratificación). Por ejemplo, la densidad de VLP's indirectamente responde a variaciones en la intensidad de luz a lo largo de la columna de agua, específicamente durante la temporada de estratificación. El incremento en la densidad de VLP's podría estar provocada por la acumulación de células en ciertos sectores de la columna de agua. Sin embargo, aun tomando en cuenta las densidades mínimas de picoplancton durante la estratificación la densidad de VLP's incrementa significativamente. Esta acumulación también depende del periodo de exposición al %PAR y a la temporada (ACP), comprobando que el PAR provoca que exista una mayor correlación significativa de los VLP's con el APP y no correlación con el BCT.

Por otro lado, la disponibilidad de OD durante la temporada de mezcla, refleja dos cosas: primero, la oxigenación de las capas producto de la producción primaria, así como por la dinámica que impera en las capas de agua superficiales debido a las fuerzas físicas como el viento y segundo la integración del consumo de oxígeno (respiración) al conjunto de factores, parecen influir significativamente en la densidad del picoplancton, generando que los valores de VLP's respondan a la variación de los valores de OD en capas superficiales, principalmente en las capas de picnoclina (el gradiente establecido $0.5^{\circ}\text{C m}^{-1}$) y oxiclina. Durante el ciclo anual observamos que las condiciones microambientales que genera el %PAR y otras longitudes de onda (p. ej. UV), en general pueden propiciar condiciones óptimas para una infección (Kopylov *et al.*, 2010, van Dongen-Vogels *et al.*, 2011), permitiendo la presencia y/o vulnerabilidad de las partículas-células a ser destruidas (lisadas).

El modelo de correlación del ACP también ayuda a predecir la distribución espacial (columna de agua) del picoplancton y los virus, tomando en cuenta la dinámica temporal (estratificación-mezcla) que incide sobre el picoplancton (APP+BCT), detallando mayor predicción de la variabilidad de los datos al ajustar los valores que predicen su interacción o relación. En promedio el APP y BCT presentan una mayor densidad en aguas superficiales; estos valores resultan comparables a las máximas densidades de BCT registradas por Peřtová *et al.* (2008). Por su parte, la ubicación de la picnoclina y los cambios verticales de OD provocan que la distribución vertical de la densidad del picoplancton cambie de estado, es decir, cambie la acumulación de picoplancton y virus en los diferentes estratos de la columna de agua, de una manera muy particular, lo que termina generando una fuerte significancia. Estos límites o microambientes los ubicamos principalmente por debajo de 8.5 m. Sin embargo esta acumulación de partículas se observan más íntimamente relacionado entre las capas del 10 y 1% de PAR (Parvathi *et al.*, 2014). Por lo tanto, esta dinámica de similitud, coincidencia o probable lisis de picoplancton podría contribuir a que en los siguientes 20 m se provoque un aumento de la densidad por parte del picoplancton en el sistema. Este particular comportamiento del sistema acuático también se registra en periodos tempranos de la estratificación (fase de transición) en la termoclina y oxiclina. Sin embargo, la alta densidad de BCT en el hipolimnion, también podría indicar otro tipo de comportamiento, siendo posible una relación inversa del BCT con al ya registrado por parte del APP en estas zonas (Hernández Avilés *et al.*, 2010).

Esta relación inversa podría sustentarse con lo registrado durante la fase de estratificación, donde la densidad del picoplancton autotrófico (APP) fue alta en el metalimnion, relativamente menor en el epilimnion y mucho menor en el hipolimnion, observaciones que se relacionan con datos previamente publicados en el lago Alchichica (Peřtová *et al.*, 2008; Macek *et al.* 2009; Bautista Reyes, 2011; Bautista Reyes y Macek, 2012). Así mismo, el registro de la acumulación de las poblaciones de APP entre las capas del 1% de PAR y en la capa del metalimnion demuestra significativamente que la conjunción de los factores PAR + Profundidad obtienen un peso muy importante al reducir la dimensión de los factores limnológicos sobre el comportamiento del picoplancton y los virus. Sin embargo también hay que mencionar que en la presente investigación no se estudiaron más a fondo las relaciones fisicoquímicas (p. ej. flujo de nutrientes, Agawin *et al.*, 2000) u otras condiciones biológicas (p. ej. depredación,

Wommack, 2000), principalmente en la superficie. Por otro lado, la probable variación de las condiciones mencionadas anteriormente, podrían inducir induciendo la aclimatación de los organismos a condiciones de menos luz (>0.1% de PAR), obligando a generar una mayor eficiencia metabólica (Jürgens y Güde, 1990; Morris y Lewis, 1992). Con esto y tomando en consideración las condiciones que permiten el proceso de remineralización de compuestos en el sistema (Suttle *et al.*, 1990; Steitz y Velimirov, 1999; Rodríguez, 2008; Hernández Avilés *et al.*, 2010; Bautista Reyes y Macek, 2012), muestra que la variabilidad de los valores del picoplancton y de virus con respecto a la profundidad, permite la acumulación de células en capas o zonas con altos y bajos en el periodo de mezcla (30 m), metalimnion y/o hipolimnion, identificando capas constituidas por una fracción mayor de APP (ej. oxiclina, capa eufótica y 10% de PAR).

Con esta dinámica se enmarca la importancia del régimen térmico en el lago, mostrando las variaciones que surgen a lo largo del periodo anual, notándose considerablemente en el aumento de la densidad de APP y BCT en la fase de transición y su descenso durante la etapa de estratificación, así como influencia del %PAR en la dinámica y variación de la distribución de picoplancton en la columna de agua.

9.2 Interacciones pico-fitoplanctónicas

La variabilidad de las densidades de picoplancton (APP + BCT) en la columna de agua podrían permitir la conjunción de competidores o colonizadores dentro de la comunidad pico-nano-microplanctónica, afectando los periodos de alta densidad (mezcla, estratificación). Por ejemplo, la cianobacteria *Nodularia* y las diatomeas *Chaetoceros* sp. y *Cyclotella alchichicana* sp. (Ramos Higuera *et al.*, 2008; Ramírez Olvera, 2009; Oliva *et al.*, 2006, 2008, 2001) aportan biomasa al sistema lo podría provocar la modificación de la similitud o relación de los factores que influyen en la densidad o comportamiento del picoplancton y los virus en la columna de agua. Por ejemplo, el acoplamiento de *Nodularia* sp. a la dinámica de remineralización, podría explicar los valores atípicos alejados del valor residual de la varianza.

Por otro lado, la relación APP+BCT también podría modificarse por la migración de nanoflagelados heterotróficos (HNF) y ciliados al acumulamiento de células en regiones óptimas de crecimiento para la comunidad pico-nano-microplanctónica (eje. 1% PAR y/o

picnoclina) (Vrede *et al.*, 1999; Šimek, K. *et al.*, 2001; Bautista Reyes, 2011; Bautista Reyes y Macek, 2012). Lo que impactaría en la visualización de los valores de densidad y por lo tanto en la relación que guardan con la posición espacial, el acumulamiento de células, la densidad de virus y su capacidad de cambio de estado (ciclo lítico y lisogénico), ayudando a redefinir una relación entre la dinámica espacio/temporal del sistema operativo microbiano y las múltiples especies coexistentes, tomando en cuenta la probable muerte celular por inducción de lisis viral (Tuomi *et al.*, 1997; van Hannen *et al.*, 1999)

Aunque se tienen varios registros de datos para el lago Alchichica para analizar este tipo de interacciones, los datos aún no se han analizado a fondo y solo se especula acerca de su comportamiento con los primeros avances.

Finalmente, los resultados obtenidos en la presente investigación de la densidad media de picoplancton (APP+BCT) son similares a los registrados en cuerpos de agua meso-eutróficos de Eurasia por Sherr *et al.* (1991) y Šimek *et al.* (1995). En esos lagos la mayor densidad de picoplancton también se observó durante la etapa de mezcla, seguido de un constante decremento conforme el lago comenzaba a estratificarse. Así mismo, los registros de BCT alto, nos permite especular sobre la relación de los virus, la tasa intrínseca de crecimiento, y la transferencia horizontal de genes en zonas anóxicas (Pernthaler, 2005, Parvathi *et al.*, 2012, 2014). Así mismo, tomando como base el papel que juegan los virus en términos de eliminación de microorganismos o bien “depredación”, durante los periodos de máximos, y si lo comparamos con lo que sucede en sistemas acuáticos de lagos muy eutróficos y en ambientes controlados, obtenemos que la distribución de VLP's coincide con la temporada de mezcla/estratificación y con el máximo de actividad de la comunidad total, sin embargo los valores registrados siguen siendo bajos en las medidas de VLP's (Gons *et al.*, 2002; van Hannen *et al.*, 1999). (Bergh *et al.*, 1989; Wommack *et al.*, 2000). En Alchichica temporalmente el picoplancton y los VLP's coinciden espacialmente, generando nuevos datos y conclusiones en el estudio del virioplancton y su influencia sobre los procariotas en aguas epicontinentales, principalmente para lagos cráter.

9.3 Gradiente de oxígeno vs. Dinámica picoplanctónica

La importancia del gradiente de oxígeno radica en que permite la partición de nicho para poblaciones funcionalmente similares (Amarasekare *et al.*, 2004; Granado, 2007; Leibold *et al.*, 2004; Leibold y Geddes, 2005) con tolerancias al cambio de concentración de oxígeno en el sistema, provocando que organismos de diferentes tamaños (pico-nano-microplanctívoros), se acoplen para solventar su respiración y/u otras rutas metabólicas, permitiendo que los organismos aerobios pequeños tengan un nicho de condiciones subóxicas (Fenchel y Finlay, 1995), generando una relación directa entre la necesidad/disponibilidad, toxicidad del oxígeno y los costos de detoxificación de las peroxidasas u otro mecanismo (Fenchel *et al.*, 1989; Fenchel y Finlay 1995; 2008). Así mismo, hay que tener en cuenta que los virus no presentan una actividad metabólica propia, por lo tanto el oxígeno prácticamente no sería un factor que afecte directamente la dinámica de los virus, pero si se relaciona directamente con su huésped. Sin embargo, como ya se había mencionado anteriormente, esta característica podría determinar la variación del ensamblaje espacial de la comunidad microbiana, correlacionada con el OD (BCT-OD-APP), independientemente de la similitud o relación que guarda con VLP's, T°C, PAR o la Profundidad (Steitz y Velimirov, 1999; Callieri *et al.*, 2013 Parvathi *et al.*, 2014).

Así mismo, analizando las densidades registradas de VLP's y el Δ OD en el Lago Alchichica se puede mencionar que el comportamiento del virioplancton se parece a lo registrado en diversos lagos europeos (Bettarel *et al.*, 2003a, b; Weinbauer y Höfle, 1998; Xenopoulos *et al.*, 1997). La densidad de VLP's registrada a lo largo de la época de muestreos se sitúa aparentemente en el mismo orden de magnitud (10^7 VLP's mL⁻¹; Zhong *et al.*, 2013, 2014a; Parvathi *et al.*, 2014). Sin embargo, en el lago Alchichica existen dos periodos de muestreo donde operan valores mínimos y máximos superando el rango marcado por los datos expuestos en dichas investigaciones. De la misma forma, algunos conteos pudieron haberse sobreestimado, debido al proceso en la estandarización de la técnica del fluoromarcador (*SYBR Gold*). Sin embargo, este tipo de conteo indirecto, parece tener menor subestimación de los datos, comparado con métodos tradicionales (p. ej. ensayo en placa) para analizar muestras ambientales y de cultivo (Furuse, 1987; Colwell, 1997; Paul *et al.*, 1997; Wommack y Colwell, 2000).

La actividad metabólica del picoplancton y su relación con la densidad de VLP's, solo se aproxima teóricamente analizando estudios publicados con anterioridad por un lado ubicando zonas de mayor actividad fotosintética y por el otro tomando en cuenta periodos de tiempo con mayor actividad. Estos pequeños núcleos de actividad espacial y temporal, sumado a una productividad significativa de virioplancton podrían dar lugar a un acumulamiento de VLP's, generando un diverso banco de especies, que se terminarían desplazando a capas profundas (Suttle *et al.*, 1990, Zhong *et al.*, 2013, Jacquet *et al.*, 2014, Parvathi *et al.*, 2014)

La dinámica espacio/temporal de los microambientes aerobios/anaerobios sobre el pico-nano-micro plancton y el virioplancton, podrían beneficiar al sistema acuático, al permitir un balance de la competencia por recursos, mediante la generación de entradas y salidas de subsidios por parte de los virus a otros puntos de la columna de agua (Amarasekare *et al.*, 2004; Granado, 2007; Leibold *et al.*, 2004; Leibold y Geddes, 2005).

Finalmente se sugiere continuar con la elaboración de nuevos proyectos, con nuevos métodos que nos ayuden a comprender cómo se mueve la materia y la energía en este nivel mediante la combinación de técnicas moleculares y microscopía (electrónica y citometría de flujo) con análisis *in situ* para una mejor aproximación en la modelación de las variables.

10. CONCLUSIONES

El aumento y disminución de los valores a nivel temporal como a un nivel espacial de la densidad del picoplancton, sugieren que los procesos que controlan a estas poblaciones pueden cambiar en periodos cortos o de transición e instantáneamente debido a la presencia de los virus.

Las densidades de VLP's se correlacionan positivamente con las del APP ($p < 0.05$) y no se correlacionan con el BCT ($p > 0.05$).

La densidad de VLP's en el lago Alchichica se encuentra entre el orden de magnitud de 10^7 VLP's nL^{-1} , lo que supera en 1 y 2 (en ocasiones 3) órdenes de magnitud a la densidad de picoplancton (APP+BCT), principalmente en capas de agua profunda a nivel del metalimnion y Z_{EU} 1% PAR.

El efecto de los factores físicos, principalmente del %PAR y la disponibilidad de OD permitió especular sobre la ubicación e influencia de zonas de mayor actividad metabólica del APP y su relación con los virus.

11. REFERENCIAS

- Adame, M.F., Alcocer J. y Escobar E. 2007. Size-fractionated phytoplankton biomass and its implications for the dynamics of an oligotrophic tropical lake. *Freshwater Biol.* 53: 22-31
- Agawin, N.S.R., Duarte, C.M. y Agustín, S. 2000. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnol Oceanogr*, 45: 591-600.
- Alcocer, J., Lugo, A., Escobar, E., Sánchez, M.R. y Vilaclara, G. 2000. Water column stratification and its implications in the tropical warm monomictic Lake Alchichica, Puebla, Mexico. *Verh Internat Ver theor angew Limnol*, 27: 3166–3169.
- Amarasekare, P., Hoopes M., Mouquet N. y M. Holyoak. 2004. Mechanisms of coexistence in competitive metacommunities. *Am Nat*, 164: 310-326.
- Arredondo Figueroa, J.L. 1995. Los axalapasos de la cuenca Oriental, Puebla. En: G. de la Lanza, J.L. García (Eds.): *Lagos y presas de México*. Centro de Ecología y Desarrollo, México. pp. 65-87.
- Azaiez, S.R.C., Fliss, I., Simard, R.E. y Moineau, S. 1998. Monoclonal antibodies raised against native major capsid proteins of lactococcal c2-like bacteriophages. *Appl Environ Microbiol*, 64: 4255–4259.
- Bautista Reyes, F. 2011. Selección *in situ* de presas de protistas picoplanctívoros del lago Alchichica. Tesis de Doctorado. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. 74 p.
- Bautista Reyes, F. y Macek, M. 2012. Ciliate food vacuole content and bacterial community composition in the warm-monomictic crater lake Alchichica (México). *FEMS Microbiol Ecol* 79: 85–97.
- Bettarel, Y., Sime-Ngando, T., Amblard, C. y Laveran, H. 2000. A comparison of methods for counting viruses in aquatic systems. *Appl Environ Microbiol*, 66:2283-2289.
- Bettarel, Y., Amblard, C., Sime-Ngando, T., Carrias, J.F., Sargos, D., Garabétian, F. y Lavandier, P. 2003a. Viral lysis, flagellate grazing potential, and bacterial production in Lake Pavin. *Microb Ecol*, 45: 119-127.
- Bettarel, Y., Sime-Ngando, T., Amblard, C., Carrias, J.F. y Portelli, C. 2003b. Virioplankton and microbial communities in aquatic systems: a seasonal study in two lakes of differing trophy. *Freshwater Biol*, 48: 810-822.
- Bettarel Y., Sime-Ngando, T., Amblard, C. y Dolan, J. 2004. Viral activity in two contrasting lake ecosystems. *Appl Environ Microb*, 70: 2941–2951.
- Bettarel, Y., Bouvy, M., Dumont, C. y Sime-Ngando, T. 2006. Virus-bacterium interactions in water y sediment of West African inland aquatic systems. *Appl Environ Microbiol*, 72: 5274–5282.
- Bergh, O., Børsheim, K.Y., Bratbak, G. y Heldal, M. 1989. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*, 340: 467-468.
- Børsheim, K.Y., Bratbak, G. y Heldal, M. 1990. Enumeration and biomass estimation of planktonic bacteria and viruses by transmission electron microscopy. *Appl Environ Microbiol*, 56:352-356.

- Bratbak, G., Heldal, M., Norland, S. y Thingstad, T.F. 1990. Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics. *Appl Environ Microbiol*, 56: 1400–1405.
- Bratbak, G., Heldal M., Thingstad T.F., Riemann, B. y Haslund, O.H. 1992. Incorporation of viruses into the budget of microbial C-transfer. A first approach. *Mar Ecol Prog Ser*, 83: 273-280.
- Brussaard, C.P. 2009. Enumeration of bacteriophages using flow cytometry. *Methods Mol Biol*, 501:97-111.
- Callieri, C. y Stockner, J.G. 2002. Freshwater autotrophic picoplankton: a review. *J Limnol* 61: 1–14.
- Callieri, C., Modenutti B., Queimaliños C., Bertoni R. y Balseiro E. 2007. Production and biomass of picophytoplankton and larger autotrophs in Andean ultraoligotrophic lakes: Differences in light harvesting efficiency in deep layers. *Aquat Ecol*, 41: 511–523.
- Callieri, C., Coci, M., Corno, G., Macek, M., Modenutti, B., Balseiro, E. y Bertoni, R. 2013. Phylogenetic diversity of nonmarine picocyanobacteria. *FEMS Microbiol Ecol*, 85: 293–301.
- Chen, F., Lu, J.R., Binder, B.J., Liu, Y.C. y Hodson, R.E. 2001. Application of digital image analysis and flow cytometry to enumerate marine viruses stained with SYBR Gold. *Appl Environ Microbiol*, 67:539-545.
- Cochlan, W.P., Wikner, J., Steward, G.F., Smith, D.C. y Azam, F. 1993. Spatial distribution of viruses, bacteria and chlorophyll *a* in neritic, oceanic and estuarine environments. *Mar Ecol Prog Ser*, 92: 77–87.
- Colombet, J., Sime-Ngando, T., Cauchie, H.M., Fonty, G., Hoffmann, L. y Demeure, G. 2006. Depth-related gradients of viral activity in Lake Pavin. *Appl Environ Microbiol*, 72: 4440-4445.
- Colwell, R.R. 1997. Microbial diversity: the importance of exploration and conservation. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 18: 302–307.
- Corinaldesi, C., Crevatin, E., Del Negro, P., Marini, M., Russo, A., Fonda-Umani, S. y Danovaro, R. 2003. Large-scale spatial distribution of virioplankton in the Adriatic Sea: Testing the trophic state control hypothesis. *Appl Environ Microbiol*, 69: 2664-2673.
- Danovaro, R. y Corinaldesi, C. 2003. Sunscreen products increase virus production through prophage induction in marine bacterioplankton. *Microb Ecol*, 45:109-118.
- Danovaro, R., Dell A., Corinaldesi C., Magagnini M., Noble R., Tamburini C. y Weinbauer, M. 2008. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature*, 454: 1084.
- Drake, L.A., Choi, K. H., Haskell, A.G.E. y Dobbs, F.C. 1998. Vertical profiles of virus-like particles and bacteria in the water column and sediments of Chesapeake Bay, USA. *Aquat Microb Ecol*, 16:17-25.
- Fenchel, T., Finlay, B.J. y Gianni, A. 1989. Microaerophily in ciliates: responses of a *Euplotes* species (Hypotrichida) to oxygen tension. *Arch Protistenk*, 137: 317-330.
- Fenchel, T. y Finlay, B.J. 1995. *Ecology and evolution in anoxic worlds*. Oxford University Press. 204 p.

- Fenchel, T. y Finlay, B. 2008. Oxygen and the spatial structure of microbial communities. *Biol Rev*, 83: 553-569.
- Filonov, A., Tereshchenko, I. y Alcocer, J. 2006. Dynamic response to mountain breeze circulation in Alchichica a crater lake in Mexico. *Geophys Res Lett*, 33: L07404.
- Fuhrman, J.A. y Suttle, C.A. 1993. Viruses in marine planktonic systems. *Ocean* 6: 51–63.
- Fuhrman, J.A. y Noble, R.T. 1995. Viruses and protists cause similar bacterial mortality in coastal seawater. *Limnol Oceanogr*, 40:1236–1242.
- Fuhrman, J.A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature*, 399: 541-548.
- Fuller, N.J., Wilson, W.H., Joint, I.R. y Mann, N.H. 1998. Occurrence of a sequence in marine cyanophages similar to that of T4 g20 and its application to PCR-based detection and quantification techniques. *Appl Environ Microbiol*, 64: 2051–2060.
- Furuse, K. 1987. Distribution of coliphages in the environment: general considerations, pp. 87–124. En Goyal, S.M., Gerba, C.P. y Britton, G. (Eds.) *Phage ecology*. John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y.
- García, E. 1988. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)*. Offset Larios, S. A. 4ª Edición. México, D. F. México. 217 p.
- Goddard, V.J., Baker, A.C., Davy, J.E., Adams, D.G., De Ville, M.M., Thackeray S.J., Maberly S.C. y Wilson W.H. 2005. Temporal distribution of viruses, bacteria, and phytoplankton throughout the water column in a freshwater hypereutrophic lake. *Aquat Microb Ecol*, 39: 211-223.
- Gons, H.J., Ebert, J., Hoogveld, H.L., van den Hove, L., Pel, R., Takkenberg, W. y Woldringh, C.J. 2002. Observations on cyanobacterial population collapse in eutrophic lake water. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81: 319-326.
- González, J.M. y Suttle, C.A. 1993. Grazing by marine nanoflagellates on viruses and viral-sized particles: ingestion and digestion. *Mar Ecol Prog Ser*, 94: 1–10.
- Gowing, M.M. 1993. Large virus-like particles from vacuoles of phaeodarian radiolarians and from other marine samples. *Mar Ecol Prog Ser*, 101: 33–43.
- Granado, C. 2007. Avances en ecología: Hacia un mejor conocimiento de la naturaleza. Universidad de Sevilla, 228 p.
- Gruber, F., Falkner, F.G., Dorner, F. y Hammerle, T. 2001. Quantitation of viral DNA by real-time PCR applying duplex amplification, internal standardization, and two-color fluorescence detection. *Appl Environ Microbiol*, 67: 2837–2839.
- Guixa Boixareu, N., Calderon Paz, J.I., Heldal, M., Bratbak, G. y Pedros Alió, C. 1996. Viral lysis and bacterivory as prokaryotic loss factors along a salinity gradient. *Aquat Microb Ecol*, 11: 215–227.
- Hara, S., Terauchi, K. y Koike, I. 1991. Abundance of viruses in marine waters: assessment by epifluorescence and transmission electron microscopy. *Appl Environ Microbiol*, 57: 2731-2734.
- Hennes, K.P. y Simon, M. 1995. Significance of bacteriophages for controlling bacterioplankton growth in a mesotrophic lake. *Appl Environ Microbiol*, 61:333-340.

- Hennes, K.P. y Suttle, C.A. 1995. Direct counts of viruses in natural waters and laboratory cultures by epifluorescence microscopy. *Limnol Oceanogr*, 40: 1050–1055.
- Hernández Avilés, J.S., Macek, M., Alcocer, J., López Trejo, B. y Merino Ibarra M. 2010. Prokaryotic picoplankton dynamics in a warm-monomictic saline lake: temporal and spatial variation in structure and composition. *J Plankton Res*, 32: 1302-1314.
- Horňák Karel, Michal Mašín, Jan Jezbera, Yvan Bettarel, Jiří Nedoma, Téséphore Sime-Ngando, Karel Šimek. 2004. Effects of decreased resource availability, protozoan grazing and viral impact on a structure of bacterioplankton assemblage in a canyon-shaped reservoir. *FEMS Microbiol Ecol*, 52: 315-327
- Hwang, C. y Cho, B. 2002. Virus-infected bacteria in oligotrophic open waters of the East Sea, Korea. *Aquat Microb Ecol*, 30: 1–9.
- Jacquet, S. 2005. 1st European Workshop on Aquatic Phage Ecology in Château de Ripaille. Thonon les Bains, France.
- Jacquet, S., O. Kerimoglu, F. Rimet, G. Paolini y O. Anneville. 2014. Cyanobacterial bloom termination: the disappearance of *Planktothrix rubescens* from Lake Bourget after restoration. *Freshwater Biol*. 59: 2472-2487
- Jiang, S.C. y Paul, J.H. 1994. Seasonal and diel abundance of viruses and occurrence of lysogeny/bacteriocinogeny in the marine environment. *Mar Ecol Prog Ser*, 104: 163-172.
- Jiang, S.C. y Paul, J.H. 1996. Occurrence of lysogenic bacteria in marine microbial communities as determined by prophage induction. *Mar Ecol Prog Ser*, 142:27-38.
- Jiang, S.C. y Paul, J.H. 1998. Gene transfer by transduction in the marine environment. *Appl Environ Microbiol*, 64: 2780–2787.
- Jürgens, K. y Güde, H. 1990. Incorporation and release of phosphorus by planktonic bacteria and phagotrophic flagellates. *Mar Ecol Prog Ser*, 59: 271-284.
- Kepner, R., Wharton Jr., R.A. y Suttle, C.A. 1998. Viruses in Antarctic lakes. *Limnol Oceanogr*, 43: 1754–1761.
- Kirchman, D. L., 2012. *Processes in Microbial Ecology*. Oxford University Press, Gran Bretaña. 328 p.
- Kopylov A., Kosolapov D., Zobotkina E., Straskrabova V. 2010. Distribution of picocyanobacteria and virioplankton in mesotrophic and eutrophic reservoirs: The role of viruses in mortality of picocyanobacteria. *Biol Bull*. 37: 565
- Labrie, S. y Moineau, S. 2000. Multiplex PCR for detection and identification of lactococcal bacteriophages. *Appl Environ Microbiol*, 66: 987–994.
- Leibold, M.A., Holyoak, M., Mouquet, N., Amarasekare, P., Chase, J.M., Hoopes, M.F., Holt R.D., Shurin, J.B., Law, R., Tilman, D., Loreau, M. y Gonzalez, A. 2004. The metacommunity concept: a framework for multi-scale community ecology. *Ecol Lettr*, 7: 601–613.
- Leibold, M. A. y Geddes, P. 2005. El concepto de nicho en las metacomunidades. *Ecol austral*, 15-2: 117-129.
- Lewis, W.M. 1996. Tropical lakes: how latitude makes a difference. En: Schiemer, F., Boland, B.T. (Eds.): in *Perspectives in Tropical Limnology*. SPB Academic Publishing BV, Amsterdam, Países Bajos. pp. 43–64.

- Macek, M., Alcocer, J., Lugo Vázquez, A., Martínez Pérez, M.E., Peralta Soriano, L. y Vilaclara Fatjó, G. 2009. Long-term picoplankton dynamics in a warm-monomictic, tropical high altitude lake. *J Limnol*, 68: 183-192.
- Maranger, R. y Bird, D.F. 1995. Viral abundance in aquatic systems: a comparison between marine and fresh waters. *Mar Ecol Prog Ser*, 121:217-226.
- Maranger, R. y Bird, D.F. 1996. High concentrations of viruses in the sediments of Lac Gilbert, Québec. *Microb Ecol*, 31: 141-151.
- Maranger, R., Giorgio, P.A. y Bird, D.F. 2002. Accumulation of damaged bacteria and viruses in lake water exposed to solar radiation. *Aquat Microb Ecol*, 28: 213-227.
- Marie, D., Brussaard, C.P.D., Thyrhaug, R., Bratbak, G. y Vaulot, D. 1999. Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry. *Appl Environ Microbiol*, 65: 45-52.
- Matias, C.B., Kirschner, A.K.T. y Velimirov, B. 1995. Seasonal variations of virus abundance and viral control of the bacterial production in a backwater system of the Danube river. *Appl Environ Microbiol*, 61: 3734–3740.
- Morris, D. P. y Lewis, W.M. 1992. Nutrient limitation of bacterioplankton growth in Lake Dillon, Colorado. *Limnol Oceanogr*, 37: 1179-1192.
- Murray, A.G. 1995. Phytoplankton exudation: exploitation of the microbial loop as a defence against algal viruses. *J Plankton Res*, 17: 1079–1094.
- Noble, R.T. y Fuhrman, J.A. 1998. Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses and bacteria. *Aquat Microb Ecol*, 14: 113-118.
- Noble, R.T. y Fuhrman, J.A. 2000. Rapid virus production and removal as measured with fluorescently labeled viruses as tracers. *Appl Environ Microbiol*. 66: 3790–3797.
- Noble, R.T. 2001. Enumeration of viruses. *Method Microbiol*, 30: 43 - 50.
- Ogunseitan, O.A., Sayler, G.S. y Miller, R.V. 1992. Application of DNA probes to analysis of bacteriophage distribution patterns in the environment. *Appl Environ Microbiol*, 58: 2046–2052.
- Oliva, M.G., Lugo, A., Alcocer, J., Peralta, L., Sánchez, M.R. 2001. Phytoplankton dynamics in a deep, tropical, hyposaline lake. *Hydrobiologia* 466: 299-306
- Oliva, M. G., Lugo, A., Alcocer, J, Cantoral Uriza, E.A. 2006. *Cyclotella alchichicana* sp. nov. from a saline Mexican lake. *Diatom Res*, 21: 81-89.
- Oliva, M. G., Lugo, A., Alcocer, J. y Cantoral Uriza, E. A. 2008. Morphological study of *Cyclotella choctawhatcheeana* Prasad (Stephanodiscaceae) from a saline Mexican lake. *Saline Systems. Diatom Res*, 4, 1: 17.
- Parvathi, A., Zhong X. y Jacquet S. 2012. Dynamics of various viral groups infecting autotrophic plankton in Lake Geneva. *Adv Oceanogr Limnol*, 3: 171-191.
- Parvathi, A., Zhong X., Pradeep Ram A.S. y Jacquet S. 2014. Dynamics of auto and heterotrophic picoplankton and associated viruses in Lake Geneva. *Hydrol Earth Syst Sci*, 18: 1073-1087.
- Paul, J. H., Rose, J. B., Jiang, S. C., London, P., Xhou X. y Kellogg C. 1997. Coliphage and indigenous phage in Mamala Bay, Oahu, Hawaii. *Appl Environ Microbiol*, 63: 133–138.

- Paul, J., 2000. Ecology of bacteriophages in nature. En C. Hurst (Ed.). *Viral Ecology*. Academic Press, San Diego. pp. 211–246.
- Peduzzi, P. y Weinbauer M.G. 1993. The submicron size fraction of seawater containing high numbers of virus particles as bioactive agent in unicellular plankton community successions. *J Plankton Res*, 15: 1375–1386.
- Peduzzi, P. y Schiemer, F. 2004. Bacteria and viruses in the water column of tropical freshwater reservoirs. *Environ Microbiol*, 6: 707–715.
- Pernthaler, J. 2005. Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nature Rev Microbiol*, 3: 537-546.
- Peštová, D., Macek, M. y Martínez Pérez, M. E. 2008. Ciliates and their picophytoplankton feeding activity in a high-altitude warm-monomictic saline lake. *Europ J Protistol*, 44: 13-25.
- Pina, S., Creus, A., González, N., Gironés, R., Felip, M. y Sommaruga, R. 1998. Abundance, morphology and distribution of planktonic virus-like particles in two high-mountain lakes. *J Plankton Res*, 20: 2413–2421.
- Porter, F.G. y Feig, Y.S. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol Oceanogr*, 25: 943-948.
- Proctor, L.M., Fuhrman, J.A. y Ledbetter, M.C. 1988. Marine bacteriophages and bacterial mortality. *Eos, Trans Amer Geophys Union*, 69: 1111-1112.
- Puig, A., Jofre, J. y Araujo, R. 1998. Use of oxyrase enzyme (Oxyrase®) for the detection of bacteriophages of *Bacteroides fragilis* in aerobic incubation conditions. *J Microbiol Method*, 31: 205–207.
- Puig, M., Jofre, J. y Girones, R. 2000a. Detection of phages infecting *Bacteroides fragilis* HSP40 using a specific DNA probe. *J Virol Methods*, 88: 163–173.
- Puig, M., Pina, S., Lucena, F., Jofre, J. y Girones, R. 2000b. Description of a DNA amplification procedure for the detection of bacteriophages of *Bacteroides fragilis* HSP40 in environmental samples. *J Virol Methods*, 89: 159–166.
- Ramírez Olvera, M.A., Alcocer, J., Merino Ibarra, M. y Lugo, A. 2009. Nutrient limitation in a tropical saline lake: a microcosm experiment. *Hydrobiologia*, 626: 5-13.
- Ramos Higuera, E., Alcocer, J., Ortega Mayagoitia, E. y Camacho, A. 2008. Nitrógeno: elemento limitante para el crecimiento fitoplanctónico en un lago oligotrófico tropical. *Hidrobiológica* 18: 105-113.
- Riemann, L. y Middelboe, M. 2002 Stability of bacterial and viral communities in Danish coastal waters as depicted by DNA fingerprinting techniques. *Aquat Microb Ecol*, 27: 219–232.
- Rodríguez, P. L. 2008. Estructura y producción primaria del fitoplancton y perifiton en un humedal del bajo Paraná. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. 244 p.
- Sherr, E. B. y Sherr, B. F., Berman, T. y Hadas, O. 1991. High abundance of picoplankton ingesting ciliates during late fall in Lake Kinneret, Israel. *J Plankton Res*, 13: 789-799.
- Short, S. y Suttle, C. 1999 Use of the polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis to study diversity in natural virus communities. *Hydrobiologia*, 401: 19–33.

- Šimek, K., Bobková, J., Macek, M., Nedoma, J. y Psenner, R. 1995. Ciliate grazing on picoplankton in a eutrophic reservoir during the summer phytoplankton maximum: a study at the species and community level. *Limnol Oceanogr*, 40: 1077-1090.
- Šimek, K., Pernthaler, J., Weinbauer, M.G., Horňák, K., Dolan, J.R., Nedoma, J., Mašín, M. y Amann, R. 2001. Changes in bacterial community composition and dynamics and viral mortality rates associated with enhanced flagellate grazing in a mesoeutrophic reservoir. *Appl Environ Microbiol*, 67: 2723-33.
- Šimek K, Horňák K, Jezbera J, Nedoma J, Vrba J, Straškrábová V, Macek M, Dolan JR, Hahn MW. 2006. Maximum growth rates and possible life strategies of different bacterioplankton groups in relation to phosphorus availability in a freshwater reservoir. *Environ Microbiol*, 8: 1613–1624.
- Šimek, K., Weinbauer, M.G., Horňák, K., Jezbera, J., Nedoma, J. y Dolan, J.R. 2007. Grazer and virus-induced mortality of bacterioplankton accelerates development of *Flectobacillus* populations in a freshwater community. *Environ Microbiol* 9: 789–800.
- Steitz A. y Velimirov B. 1999. Contribution of picocyanobacteria to total primary production and community respiratory losses in a backwater system. *J Plankton Res*, 21: 2341-2360.
- Steward, G.F., Smith, D.C. y Azam, F. 1996. Abundance and production of bacteria and viruses in the Bering and Chukchi Sea. *Mar Ecol Prog Ser*, 131: 287–300.
- Straškrabová, V., Callieri C., Cruz-Pizarro L., Hartman P., Macek M., Nedoma J. y Šimek K. 1999. Investigations on microbial food webs in mountain lakes - aims and methods. En: Straškrabová, V., Callieri, C., Fott, J. (Eds.), *Pelagic food web in mountain lakes. Mountain Lakes Research Program*. *J Limnol*, 58: 77-87.
- Sommaruga, R., Krossbacher, M., Salvenmoser, W., Catalan, J. y Psenner, R. 1995. Presence of large virus-like particles in a eutrophic reservoir. *Aquat Microb Ecol*, 9: 305–308.
- Suttle, C.A., Chan, A.M. y Cottrell, M.T. 1990. Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity. *Nature*, 347: 467-469.
- Suttle, C.A. 1994. The significance of viruses to mortality in aquatic microbial communities. *Microb Ecol*, 28: 237–243.
- Suttle, C.A. 2005. Viruses in the sea. *Nature*, 437: 356-361.
- Suttle, C.A. y Fuhrman, J.A. 2010. Enumeration of virus particles in aquatic or sediment samples by epifluorescence microscopy. En: Wilhelm, S.W., Weinbauer, M.G. y Suttle, C.A. (Eds.). *Manual of Aquatic Viral Ecology*. Waco, TX: Am Soc Limnol Oceanogr. doi:10.4319/mave.2010.978-0-9845591-0-7 15: 145–153.
- Tapper, M.A. y Hicks, R.E. 1998. Temperate viruses and lysogeny in Lake Superior bacterioplankton. *Limnol Oceanogr*, 43: 95–103.
- Taylor, G., Labichella, M., Ho, T.-Y., Scranton, M., Thunell, R., Muller-Karger, F. y Varela, R. 2001. Chemoautotrophy in the redox transition zone of the Cariaco basin: a significant midwater source of organic carbon production. *Limnol Oceanogr*, 46: 148–163.
- Taylor, G.T., Hein, C. y Labichella, M. 2003. Temporal variations in viral distributions in the anoxic Cariaco Basin. *Aquat Microb Ecol*, 30: 103-116.
- Tuomi, P., Torsvik, T., Heldal, M. y Bratbak, G. 1997. Bacterial population dynamics in a meromictic lake. *Appl Environ Microbiol*, 63: 2181–2188.

- van Hannen, E.J., Zwart, G., van Agterveld, M.P., Gons, H.J., Ebert, J. y Landbroek, H.J. 1999. Changes in bacterial and eukaryotic community structure after mass lysis of filamentous cyanobacteria associated with viruses. *Appl Environ Microbiol*, 65: 795–801.
- Vilaclara, G., Chávez, M., Lugo, A., González, H. y Gaytán, M. 1993. Comparative description of crater-lakes basic chemistry in Puebla State, Mexico. *Verh internat Verein Limnol*, 25: 435-440.
- van Dongen-Vogels V., Seymour J. R., Middleton J. F., Mitchell J. G., y Seuront L. 2011. Influence of local physical events on picophytoplankton spatial and temporal dynamics in South Australian continental shelf waters. *J. Plankton Res.* 33: 1825-1841.
- Vrede, K., Vrede, T., Isaksson, A. y Karlsson, A. 1999. Effects of nutrients (phosphorus, nitrogen and carbon) and zooplankton on bacterioplankton and phytoplankton: a seasonal study. *Limnol Oceanogr*, 44: 1616-1624.
- Weinbauer, M.G. y Suttle, C.A. 1996. Potential significance of lysogeny to bacteriophage production and bacterial mortality in coastal waters of the Gulf of Mexico. *Appl Environ Microbiol*, 62: 4374-4380.
- Weinbauer, M.G. y Suttle, C.A. 1997. Comparison of epifluorescence and transmission electron microscopy for counting viruses in natural marine waters. *Aquat Microb Ecol*, 13: 225-232.
- Weinbauer, M.G. y Höfle, M.G. 1998. Significance of viral lysis and flagellate grazing as factors controlling bacterioplankton production in a eutrophic lake. *Appl Environ Microbiol*, 64: 431–438.
- Weinbauer, M.G. y Suttle, C.A. 1999. Lysogeny and prophage induction in coastal and offshore bacterial communities. *Aquat Microb Ecol*, 18: 217-225.
- Weinbauer, M., Brettar, I. y Höfle, M. 2003. Lysogeny and virus-induced mortality of bacterioplankton in surface, deep, and anoxic waters. *Limnol Oceanogr*, 48: 1457–1465.
- Weinbauer, M. G. 2004. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol Rev*, 28: 127–181.
- Weinbauer, M.G. Horňák, Jezbera, J., Nedoma, J., Dolan, J.R. y Šimek, K. 2006. Synergistic and antagonistic effects of viral lysis and protistan grazing on bacterial biomass, production and diversity. *Environ Microbiol*. 9: 777-788
- Wen, K., Ortmann, A.C. y Suttle, C.A. 2004. Accurate estimation of viral abundance by epifluorescence microscopy. *Appl Environ Microbiol*, 70: 3862 – 3867.
- Wilhelm, S.W. y Suttle, C.A. 1999. Viruses and nutrient cycles in the sea. *BioScience*, 49: 781–788.
- Wilhelm, S., Brigden, S. y Suttle, C. 2002. A dilution technique for the direct measurement of viral production: a comparison in stratified and tidally mixed coastal waters. *Microb Ecol* 43: 168–173.
- Wilson, W.H. y Mann, N.H. 1997. Lysogenic and lytic viral production in marine microbial communities. *Aquat Microb Ecol*, 13:95-100.
- Wommack, K.E., Hill, R.T., Kessel, M., Russek-Cohen, E. y Colwell, R.R. 1992. Distribution of viruses in the Chesapeake Bay. *Appl Environ Microbiol*, 58: 2965–2970.
- Wommack, K.E. y Colwell, R.R. 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol Mol Biol Rev*, 64: 69–114.

- Xenopoulos, M.A. y Bird, D.F. 1997. Virus à la sauce Yo-Pro: microwave-enhanced staining for counting viruses by epifluorescence microscopy. *Limnol Oceanogr*, 42: 1648-1650.
- Yager, P., Connelly, T., Mortazavi, B., Wommack, K., Bano, N., Bauer, J., Opsahl, S. y Hollibaugh, J. 2001. Dynamic bacterial and viral response to an algal bloom at subzero temperatures. *Limnol Oceanogr*, 46: 790–801.
- Zhong, X., Berdjeb, L. y Jacquet, S. 2013. Temporal dynamics and structure of picocyanobacteria and cyanomyoviruses in Lakes Annecy and Bourget. *FEMS Microb Ecol*, 86: 312-326.
- Zhong, X., Pradeep Ram, A.S., Colombet, J. y Jacquet, S. 2014a. Variations in abundance, genome size, morphology and functional role of the virioplankton in Lakes Annecy and Bourget over a 1-year period. *Microb Ecol*, 67: 66-82.
- Zhong, X., Rimet, F. y Jacquet, S. 2014b. Seasonal variations in PCR-DGGE fingerprinted viruses infecting phytoplankton in large and deep peri-alpine lakes. *Ecol Res*, 29: 271-287.

Los virus y el circuito microbiano. Diagrama esquemático sobre la importancia potencial de la infección viral y la lisis, en la producción de DOM (materia orgánica disuelta), POM (materia orgánica particulada) en ecosistemas acuáticos (adaptado de Wommack y Colwell, 2000).

