



Allò que el mar amaga: virus i microorganismes del plàncton

Dolors Vaqué 

Institut de Ciències del Mar (CSIC), Barcelona, Catalunya, Espanya

Resum: A la columna d'aigües dolces i marines hi habiten microorganismes i virus planctònics. Malgrat contribuir amb el 90% de la biomassa viva dels oceans, hi ha un gran desconeixement sobre qui són, quants n'hi ha i què fan. En aquest article descriurem alguns aspectes de la seva biologia i del paper que juguen en els cicles biogeoquímics de l'oceà, així com en el manteniment de la vida del Planeta.

Summary: WHAT THE SEA HIDES: PLANKTONIC MICROORGANISMS AND VIRUSES. – The freshwater and marine water column are inhabited by planktonic microorganisms and viruses. Though they account for 90% of the living biomass of the oceans, there is a lack of knowledge about how many there are and what they do. In this article we will describe some aspects of their biology and the role they play in the biogeochemical cycles of the ocean and in maintaining life on the Planet.

Microorganismes del plàncton marí

El reconeixement de la microbiologia marina com a ciència es remunta a finals del segle XIX. Entre altres, ja Darwin a l'any 1838, en una de les seves recerques durant l'expedició a bord del *Beagle* (Darwin, 1845) en observar mostres d'aigua al microscopi i a la lupa, hi veia una gran quantitat d'organismes microscòpics que ell anomenava “infusoria”, els quals eren l'aliment d'éssers pelàgics més grans (meduses, larves de peixos...). Ell es preguntava, ¿si molts organismes marins pelàgics es nodreixen d'aquests “infusoria”, aquests de qui s'alimenten? (“I presume that the numerous lower pelagic animals feed on the Infusoria, which are now known, from the researches of Ehrenberg, to abound in the open ocean: but on what, in the clear blue water, do these Infusoria subsist?”).

Al llarg del segle passat es van anar desvetllant qui eren, i què feien aquests éssers invisibles que sustentaven els “infusoria”. Així, a principis i mitjans del segle XX, gràcies a científics de l'Europa de l'Est (Williams i Ducklow, 2019) es començà a tenir en compte la importància dels bacteris marins. Les mesures de la seva activitat i abundància es basaven en fer-los créixer en medi de cultiu, en placa i analitzar el seu metabolisme utilitzant diferents substrats. Tanmateix, el nombre obtingut era menys de l'1% de la concentració real que hi havia al mar, ja que se seleccionaven els bacteris que podien créixer en el medi que havien usat.

A finals dels anys 70, gràcies a l'avenç i utilització de noves tècniques es començà a tenir un coneixement més real de l'abundància i activitats dels microorganismes planctònics. Als anys 1978, en Hobbie i col·laboradors, i a principis dels 80 en Porter i Feig (1980) publiquen sengles mètodes per mesurar l'abundància de procariotes i eucariotes. Es basen en l'ús de colorants fluorescents (taronja d'acridina i DAPI -4,6-diamidino-2-phenylindole-, respectivament) que tenyeixen el DNA del microorganisme en qüestió. Això permetia la seva observació i recompte al microscopi d'epifluorescència (1000x) d'una forma fàcil i rutinària a mostres ambientals. A la vegada, gràcies a la irrupció del marcatge amb isòtops radioactius (timidina, adenina, Fuhrman i Azam, 1982; Karl, 1980; Hollibaugh *et al.*, 1980) i substrats proteínics o glucosídics lligats amb fluorocroms (Chróst *et al.*, 1986, Hoppe *et al.*, 1988), permetien quantificar el creixement i producció bacteriana, així com l'activitat exoenzimàtica sobre diferents compostos de matèria orgànica. Els resultats d'aquests estudis mostraven que els bacteris no creixien indefinidament, ja fos perquè estiguessin limitats pel substrat (matèria orgànica dissolta) o perquè fossin depredats per altres microorganismes. Gràcies als estudis d'en Fenchel (1982a,b, 1987) i altres autors com Boenigk i Arndt (2000) mitjançant microscòpia de llum transmesa, electrònica i epifluorescència, descrivien qui eren aquests depredadors de bacteris, la seva abundància i morfologia. Aquests eren petits protists



Figura 1. Got d'aigua de mar de la platja de Sa Riera on es mostra la seva transparència. Foto V. H. Torné.

amb flagells (p. ex., nanoflagel·lats) que podien tenir diferents mecanismes per captar i ingerir la seva presa. Posteriorment, es desenvoluparen mètodes per quantificar de forma rutinària les taxes d'ingestió dels nanoflagel·lats, observant el nombre de preses captades a dins dels vacuols digestius. Per això s'utilitzaven anàlegs de la presa (p. ex., boles de làtex, bacteris del medi o de cultiu) marcats amb fluorocroms (Sherr *et al.*, 1987; Vaqué *et al.*, 1994). Paral·lelament gràcies al desenvolupament de les tècniques d'anàlisi d'imatge (Bjørnsen 1986), es va poder estimar la mida (biovolum), i el carboni cel·lular bacterià (Børsheim *et al.* 1990) i per tant el que s'exportaria a nivells tròfics superiors. Finalment, un grup important d'altres microorganismes planctònics com són el fitoplàncton i els ciliats han estat abundantment estudiats des del segle XIX fins ara, a causa de la seva possible observació i identificació al microscopi òptic i posteriorment a l'electrònic. Al llarg d'aquests anys s'ha descrit la seva abundància, morfologia i metabolisme en diferents sistemes aquàtics (Margalef 1973, 1982; Estrada *et al.* 1983; Vaqué *et al.*, 1997) i el paper que juguen interaccionant amb altres microorganismes.

En una mostra d'aigua, ja sigui de mar, de riu o llac, a simple vista només veiem un líquid transparent (fig. 1). Però, si observem una gota al microscopi hi veurem un esclat de vida integrada per microorganismes (fig. 2), els quals sustentarien els "infusoria" de què parlava en Darwin i que a la vegada interaccionen entre ells i amb el medi. Són éssers unicel·lulars de mida molt petita entre 0,1 a 200 µm. Si els classifiquem segons el que mesuren tenim, el picoplàncton entre 0.1 i 2.0 µm, el nanoplàncton entre 2.0 i 20 µm i el microplàncton entre 20 i 200 µm, que abasten els següents grups de microorganismes:

Procarïotes

Formen part del picoplàncton i estan representats per bacteris i archaea (fig. 3). Tots ells són microorganismes unicel·lulars sense nucli definit, amb el material genètic més o menys escampat

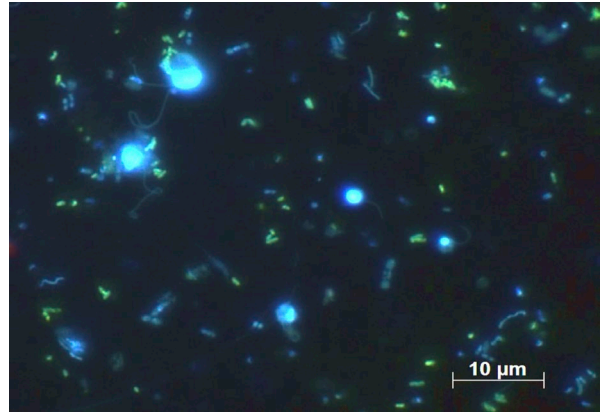


Figura 2. Imatge de microorganismes del plàncton marí observats per microscòpia d'epifluorescència (1000×). Foto M. Jaime Ferré i D. Vaqué.

pel citoplasma (fig. 3). Els bacteris tenen formes de cocs, bacils, comes i filaments (fig. 3A), mentre que els arqueus poden adoptar també formes quadrangulars. Aquests, encara que són morfològicament semblants als bacteris (fig. 3B), pertanyen a una línia evolutiva diferent, de fet estan entremig dels bacteris i dels eucariotes. Els arqueus que es coneixien fins al moment havien estat aïllats d'ambients hipersalins, de temperatura molt elevada, o eren simbiotes d'altres organismes. A l'any 1994 es va trobar que els arqueus habitaven també en els sistemes marins, representant el 20% dels procarïotes antàrtics. I l'any 2001 es va saber que els arqueus dominaven el mar profund, per sota dels 2.000 metres, ambients freds i plens d'oxigen. L'abundància dels procarïotes marins oscil·la entre 10^5 - 10^6 cèl·lules mL⁻¹, assolint un to-

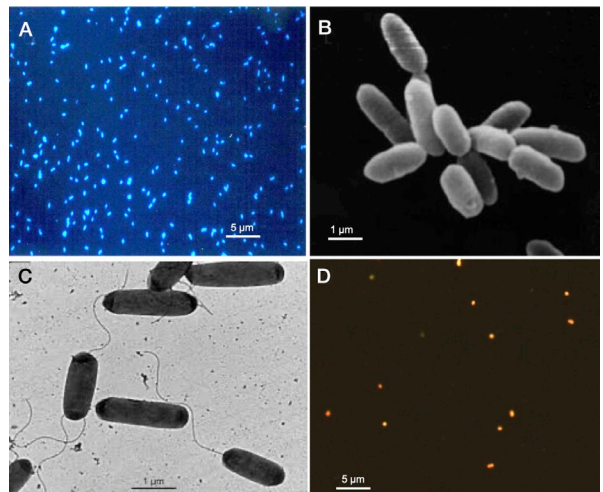


Figura 3. Imatges de procarïotes marins. A, procarïotes observats al microscopi d'epifluorescència; B, arqueus observats al microscopi electrònic d'escandallatge (SEM); C, bacteris heterotròfics observats al microscopi electrònic de transmissió (TEM); D, bacteris fototròfics (cianobacteris) observats al microscopi d'epifluorescència. Fotos: A, J.M. Gasol; B, <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Halobacteria.jpg>; C, E. Lara i D. Vaqué; D, I. Forn.

tal de 10^{29} cèl·lules a tot l'oceà. Alguns presenten mobilitat mitjançant flagells (fig. 3C), mentre altres són immòbils. Aquests poden tenir metabolismes heterotròfics (que es troben distribuïts a tota la columna d'aigua) (fig. 3A) o quimioheterotròfics com els arqueus (fig. 3B) que fixen CO_2 amb energia obtinguda de reaccions químiques d'oxidació-reducció (Gasol, 2016) i fototròfics (que habiten, principalment a la zona fòtica) constituïts sobretot pels cianobacteris com *Synechococcus* sp. i *Prochlorococcus* sp. (fig. 3D). En el cas de bacteris heterotròfics aprofitaran la matèria orgànica dissolta, excretada pels organismes fotosintètics (fitoplàncton) en créixer, o d'altres fonts, ja sigui d'origen natural o antropogènic, la qual serà remineralitzada a nutrients inorgànics i/o respirada produint CO_2 . Mentre que els fototròfics en presència de llum captaran el CO_2 per fer la fotosíntesi i s'inclouran dins dels productors primaris (fitoplàncton). Els seus principals depredadors són els virus i els protists (pico/nanoflagel·lats heterotròfics, mixotròfics i alguns ciliats).

Fitoplàncton

Altament anomenat "microalgues" i/o productors primaris són responsables del 50% de la fotosíntesi de tot el Planeta i abasten un extens conjunt de microorganismes unicel·lulars, que van

des de procariotes a eucariotes (fig. 4), aquests darrers amb un nucli definit on hi ha el material genètic. A la vegada tenen unes estructures anomenades cloroplasts on es produeixen els pigments fotosintètics. Alguns membres del fitoplàncton són mòbils i neden gràcies a la presència de flagells (p. ex., dinoflagel·lades) mentre que d'altres són immòbils (p. ex., cianobacteris, diatomees). Tenen mides que oscil·len entre 1-100 μm , des de pico/nanoplàncton (p. ex., cianobacteris i pico/nanoflagel·lats) a cèl·lules microplanctòniques (diatomees, dinoflagel·lades, flagel·lades) (fig. 4). La seva abundància oscil·la entre 10^1 - 10^6 cèl·lules mL^{-1} . El nombre i activitat del fitoplàncton s'incrementa a la primavera en els sistemes temperats mentre que a les latituds altes (zones polars) es produeixen grans proliferacions microalgals durant els estius austral (Antàrtida) i boreal (Àrtic). La llum, els nutrients inorgànics i el CO_2 són els factors principals per al seu creixement, així com la disponibilitat d'oligoelements com el ferro (Fe), per produir la clorofil·la, pigment essencial per a la fotosíntesi. La seva abundància, producció i diversitat és diferent en diferents sistemes. A mesura que van creixent, per una banda són consumides per ciliats i zooplàncton (copèpodes, cladocers, eufasias; Saiz, 2021), o lisades per virus i per altra banda excreten matèria orgànica dissolta que serà aprofitada pels procariotes heterotròfics.

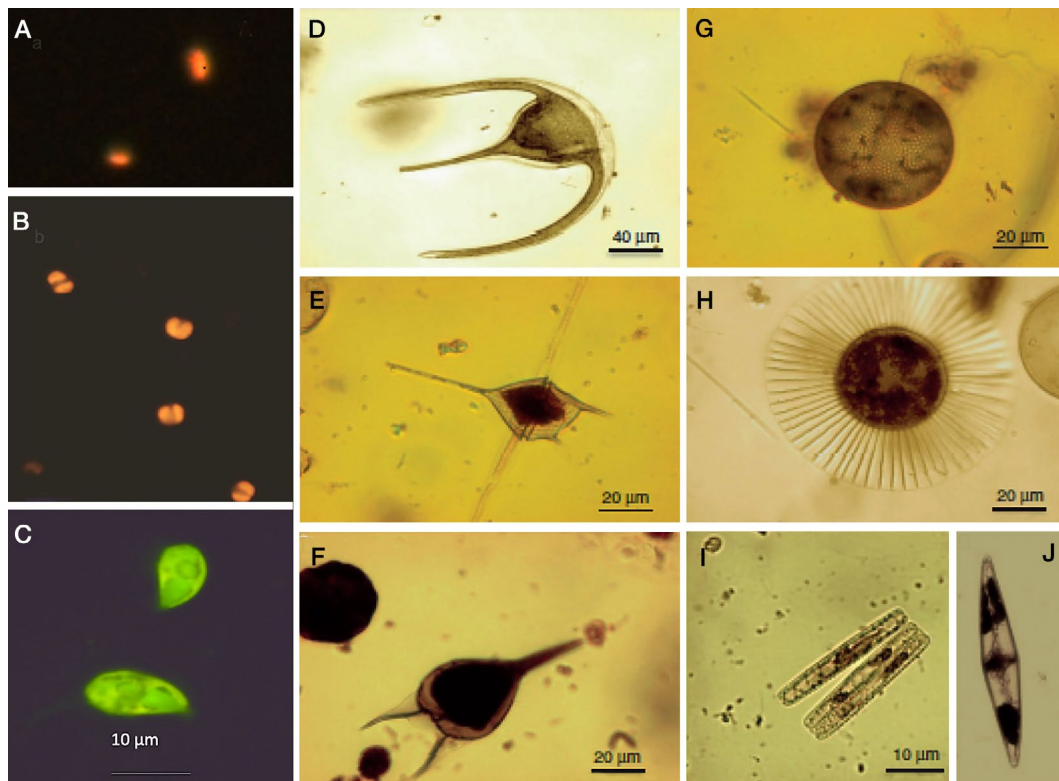


Figura 4. Imatges de fitoplàncton marí. A-C, pico/nanoplàncton fototròfic observats per microscòpia d'epifluorescència a 1000 \times (A, cianobacteris; B-C, pico/nanoflagel·lats fototròfics); D-J, microfítoplàncton observats per microscòpia de llum transmesa a 200-400 \times (D-F, dinoflagel·lades i G-J, diatomees. Fotos: D.Vaqué i C. Garcia-Botín.

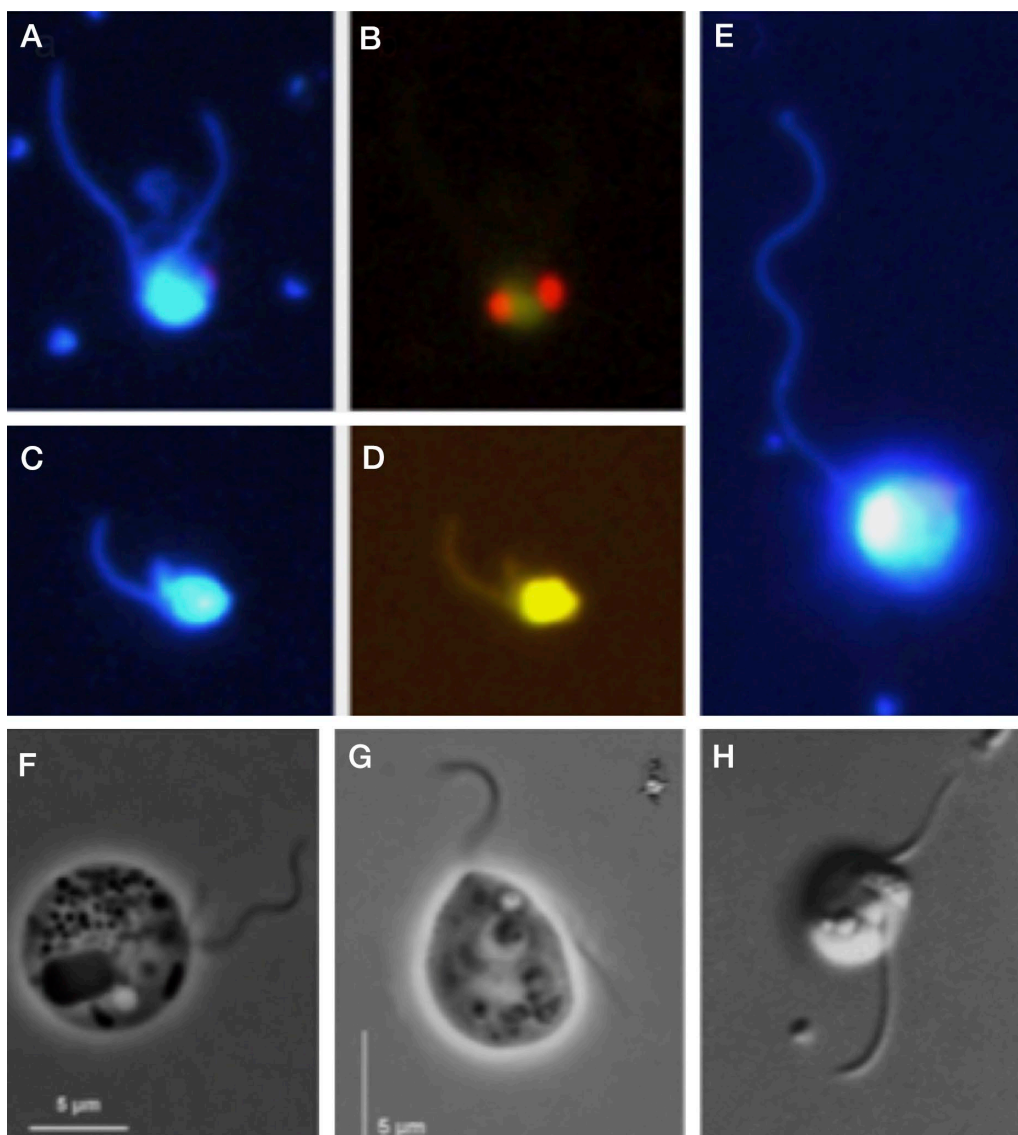


Figura 5. Imatges de pico/nanoflagel·lats marins: A-E, observats per microscòpia d'epifluorescència a 1000× i F-H, per microscòpia de llum transmesa a 400×. Exemples de nanoflagel·lat fototròfic (A-B) on es veu la presència de plastis. Fotos: R. Massana i I. Forn.

Protists

Aquest grup l'integren els pico/nanoflagel·lats heterotròfics, mixotròfics, i fototròfics i els ciliats. Els pico/nanoflagel·lats són éssers unicel·lulars, que presenten formes esfèriques, elipsoidals, o còniques, que poden tenir d'1 a 4 flagells (fig. 5). Tenen mides que oscil·len entre 1 i 20 µm, i abundàncies entre 10^2 – 10^4 cèl·lules per mil·lilitre a la capa fòtica i un o dos ordres de magnitud menys al mar profund. Val a dir que els fototròfics, només es troben a la zona fòtica, els quals tenen pigment fotosintètics i formarien part del fitoplàncton. Els pico/nanoflagel·lats heterotròfics i mixotròfics utilitzen els flagells per nedar, atraure i atrapar les preses, generalment bacteris i arqueus, o altres picoeucariotes més petits. Un cop capturades, creen vacuols digestius, i són els principals res-

ponsables de la mortalitat de bacteris i arqueus, juntament amb els virus i els pico/nanoflagel·lats mixotròfics. Aquests darrers, es poden comportar com heterotròfics si hi ha suficient preses al medi, si no és el cas, ja que tenen pigments fotosintètics per l'acció de la llum i nutrients inorgànics que es comporten com les microalgues. A més, en sistemes oligotròfics on la producció primària es basa en cianobacteris i petits protists fototròfics, els flagel·lats heterotròfics són els principals herbívors del sistema.

Quant als ciliats (fig. 6) generalment planctònics, estan distribuïts al llarg de tota la columna d'aigua. La seva mida oscil·la de 10 a 200 µm, amb abundàncies que varien entre 0,1 i 100 cèl·lules per mil·lilitre. Es caracteritzen per tenir cilis, que són estructures anàlogues als flagells, més curtes i en gran nombre, de manera que envol-

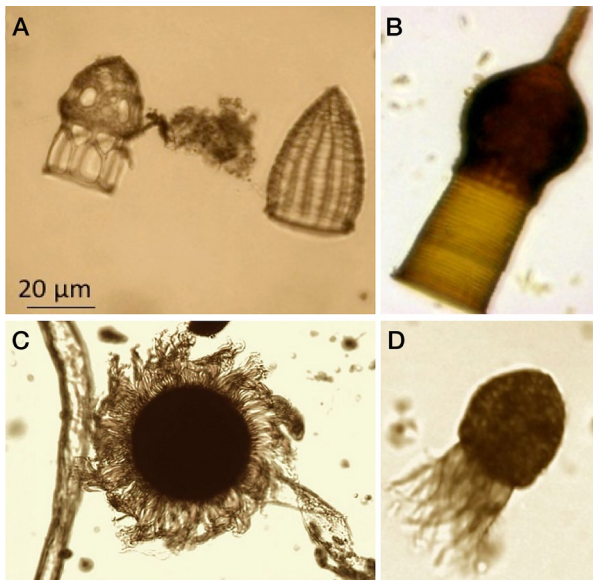


Figura 6. Imatges de ciliats marins observats per microscòpia de llum transmesa. Exemples de tintínids (A, B) i de ciliats oligòtrics sense lòrica (C, D). Fotos: D. Vaqué.

ten la cèl·lula total o parcialment. Aquests cilis els serveixen per desplaçar-se, crear corrents i portar les preses a la boca (citostoma). La seva forma pot ésser esfèrica, el·lipsoïdal, cònica o cilíndrica. Alguns d'ells, com els tintinnids, desenvolupen una closca (lòrica) al voltant de la cèl·lula, que en alguns és transparent de naturalesa hialina (fig. 6) i en altres opaca formada per aglomerats de partícules inorgàniques i a vegades closques de coccolitoforals (nanoflagel·lat fototròfic embolcat

de plaques de carbonat càlcic, els cocòlits). Molts s'alimenten de preses petites com bacteris, flagel·lats i fitoplàncton. Alguns ciliats a la vegada que són fagotròfics poden incorporar els cloroplasts de les preses fotosintètiques que han ingerit i així poden fer també la fotosíntesi i convertir-se en mixotròfics.

Finalment, s'ha de tenir en compte que la majoria dels microorganismes pico i nanoplanctònics (procariotes i eucariotes) són difícils d'identificar a partir de la seva morfologia quan s'observen al microscopi d'epifluorescència, de llum transmesa o fins i tot a l'electrònic. Tanmateix, a partir de l'any 2000 hi ha hagut un gran avenç gràcies al desenvolupament de noves metodologies per identificar-los i estimar la seva diversitat com són les tècniques de seqüenciació massiva del DNA del seu genoma (Venter *et al.* 2004). Amb la seqüenciació del genoma de microorganismes marins aïllats i cultivats i dels provinents de diverses expedicions de circumnavegació oceanogràfica (p. ex., Global Ocean Spedition -GOS-, Tara Oceans, i Malaspina) s'han anat construint bases de dades de diferents genomes, les quals s'utilitzen per identificar i estimar la diversitat de les comunitats dels microorganismes marins (metagenomes) que viuen en un determinat ecosistema.

Virus del plàncton marí

Els virus marins, com qualsevol virus, són entitats biològiques que presenten una càpsida de material proteic, que embolcalla i protegeix el seu genoma constituït per material genètic que pot ser de DNA o RNA (fig. 7A). Els virus són agents infecciosos submicroscòpics (p. ex., 20-200

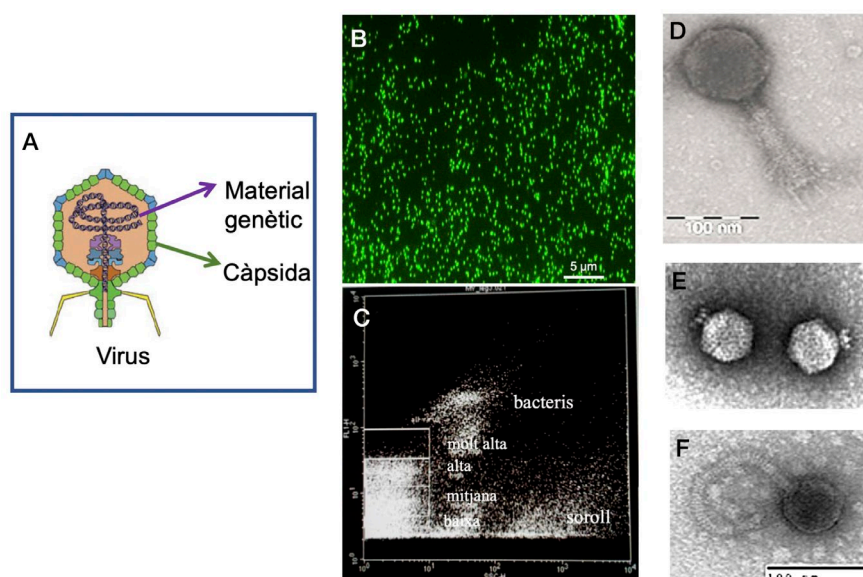


Figura 7. Virus marins. A, esquema. Imatges per: B, microscòpia d'epifluorescència, C, citometria de flux, on es poden distingir diferents comunitats de virus depenent de la seva fluorescència (baixa, mitjana i alta) i D-F, microscòpia electrònica de transmissió (*Myoviridae*, *Podoviridae*, i *Siphoviridae*, respectivament). Fotos: A, https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fa/Phage_T7.png; B, C, D, F, D. Vaqué, Y. M. Castillo i Elena Lara; E, https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8f/Bacteriophage_P22_Casjens_Lenk.png

nm) que necessiten sempre un hoste per multiplicar-se (Breitbart i Rowher, 2005), és a dir, són paràsits obligats. El primer virus aïllat a l'ambient marí es va produir fa més de 60 anys per Spencer (1955), encara que els primers recomptes daten de l'any 1979, quan Torrella i Morita a partir d'una mostra d'aigua de mar de Yaquina Bay (Oregon), estimaven al microscopi d'epifluorescència una abundància de 10^4 virus mL^{-1} . Constataven que eren virus perquè els varen observar també al microscopi electrònic de transmissió, però, no sabien encara quin paper podien jugar a l'oceà. Aquests autors, més tard, s'adonaren que subestimaven la seva abundància real. Això era degut a la utilització de filtres no adequats per a la recollida de la mostra, ja que tenien un diàmetre de porus de 200 nm, i per tant una gran part de virus amb mides ≤ 200 nm es podien haver perdut. A la dècada dels 90, investigadors noruecs (Bratbak *et al.*, 1990) i americans (Noble i Fuhrman, 1998), varen recollir els virus d'una mostra d'aigua sobre filtres de 0,02 μm de diàmetre de porus, per la seva observació i el seu recompte per microscòpia electrònica i d'epifluorescència (fig. 7B). Més tard Brussaard (2004) descrivia el mètode de citometria de flux per mesurar la seva abundància, on a més es podien distingir diferents comunitats de virus segons la seva fluorescència deguda al contingut en DNA. Així es distingien comunitats de virus de baixa fluorescència i mitjana que generalment infectaven procariotes i els d'alta fluorescència que infectaven eucariotes (fig. 7C). Comparant els resultats entre metodologies (microscòpia electrònica i d'epifluorescència i citometria de flux) s'arribava a la conclusió que el nombre de virus a l'oceà oscil·lava entre 10^5 i 10^8 virus mL^{-1} . Aquesta variabilitat depenia si les mostres provenien de mar obert i fondària (valors baixos) o de la costa i superfície (valors alts), respectivament. En tot l'oceà es calcula que el nombre de virus es de $\sim 4 \times 10^{30}$ que equivaldria a uns sis ordres de magnitud més gran que cossos celestes hi ha a la nostra galàxia (10^{24}). Tenint en compte que la seva mida oscil·la entre 20 i 200 nm, i que cada virus té un contingut de 0,055 fg de C, la seva biomassa a tot l'oceà seria de 275 megatonnes de carboni que equivaldrien a 75 milions de balenes blaves (Suttle, 2005). Més endavant, cap als anys 2003, s'evidencià la presència de virus gegants amb una mida semblant a bacteris (400 nm), els quals se'ls va anomenar Mimivirus (La Scola *et al.*, 2003) ja que es podien confondre amb un bacteri quan s'observaven al microscopi electrònic. La majoria d'aquests virus gegants infecten cèl·lules eucariotes.

Els virus marins poden infectar a tots els organismes que habiten l'oceà (des de bacteris a balenes), però tenint en compte que el nombre de procariotes es 10^{29} , aquests serien els seus hostes més probables. Per tant, la major proporció de virus que hi ha als oceans són bacteriòfags (del grec, menjadors de bacteris). La majoria d'ells

són de doble cadena de DNA (dsDNA) els quals pertanyen a les famílies de *Myoviridae* amb cua contràctil (fig. 7D), *Podoviridae* amb una cua molt curta i no contràctil (fig. 7E) i *Syphoviridae* amb una cua llarga, corbada i no contràctil (fig. 7F). Hi ha però, un coneixement creixent de la presència de virus de cadena senzilla de DNA (ssDNA) (Labonté i Suttle, 2013), doble cadena de RNA (dsRNA) i de cadena senzilla de RNA (ssRNA) (Lang *et al.*, 2009), els quals s'han trobat tant a procariotes com a protists. És remarcable el desconeixement que es tenia dels virus que infectaven diatomees. Fins a l'any 2004 es creia que les diatomees eren resistents a la infecció vírica. Tanmateix aquest fet quedà aclarit pels estudis de Tomaru *et al.* (2009) que van aïllar i quantificar-los per primer cop i van obtenir que eren molt petits (amb un diàmetre de càpsida ≤ 20 nm) i que el seu genoma estava constituït per ssDNA i ssRNA.

Cicles de replicació viral

Els virus marins tenen diferent tipus d'infecció viral sobre la cèl·lula hoste. Els dos tipus més freqüents són els cicles lític i lisogènic encara que n'hi ha d'altres menys comuns que també són importants com els cicles pseudolisogènic i crònic.

Cicle lític. Els virus introdueixen el seu material genètic dins de la cèl·lula hoste, els quals donaran ordres a la maquinària genètica de l'hoste per a què fabriqui noves cadenes de DNA o RNA (a partir del tipus de genoma) i càpsides. En el següent pas hi ha un autoacoblament de les subunitats proteiques per formar les precàpsides i el posterior empaquetament del genoma viral dins aquestes (fig. 8). El període que transcorre des de la introducció del material genètic del virus dins de l'hoste fins a l'aparició dels virus dins de la cèl·lula s'anomena fase d'eclipsi. Per tant si se segueix la infecció per microscòpia electrònica, la infecció no es detecta fins que tots els virus no estan constituïts. Aleshores, a partir que tots els virus estan formats, excreten uns enzims anomenats holines que lisan la paret cel·lular de l'hoste, dispersant la progènie al medi, on part dels quals aniran a infectar un altre hoste, i alliberaran el contingut cel·lular (matèria orgànica) que podrà ésser aprofitat per altres hostes. L'etapa que abasta des del contacte del virus amb l'hoste (incloent el període d'eclipsi) fins a l'expulsió dels virus formats des de la cèl·lula lisada, s'anomena període de latència. Els nombre de virus que surten de cada cèl·lula lisada correspon a la mida d'explosió (*burst size*). Per cada cèl·lula infectada poden sortir de 20 a >300 virus (Steward *et al.*, 1996; Weinbauer *et al.*, 2002; Boras *et al.* 2010a,b). S'estima que cada segon es produeixen 10^{23} infeccions virals, el que donaria lloc a fins a 10^9 tones de carboni alliberat del contingut de les cèl·lules lisades (Suttle, 2007; Breitbart, 2012). S'ha determinat

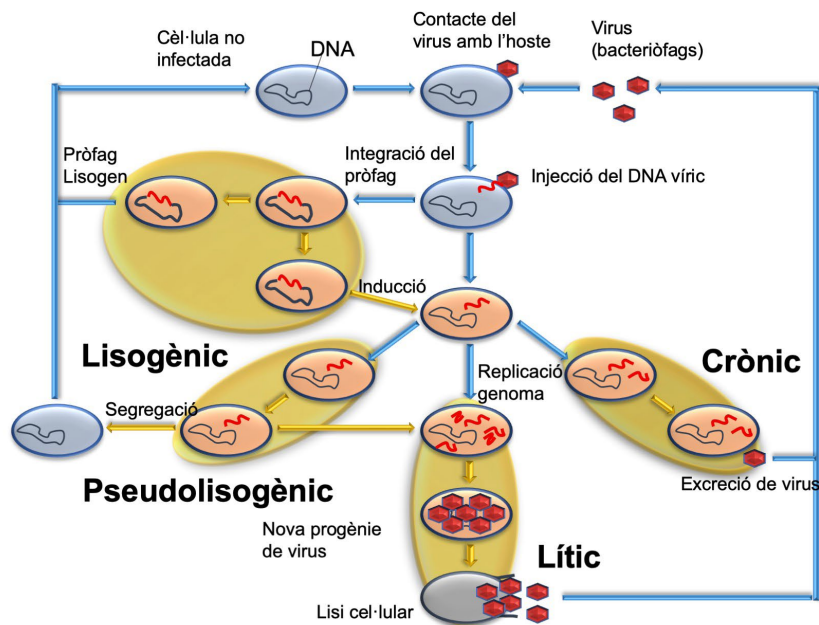


Figura 8. Cicles de replicació viral. Esquema de Weinbauer (2004), modificat a Boras (2009) i D. Vaqué.

que en tot l'oceà els virus retornen ~140 Gt (1Gt =10¹⁵ grams) de carboni a l'any, provinent de la lisi bacteriana (Lara *et al.*, 2017).

Cicle lisogènic. Tanmateix, els virus no sempre són paràsits obligats lisant els seus hosts. En el cicle de replicació lisogènica, el virus infecta l'hoste fent que el seu genoma s'integri en el seu genoma, i s'estableixi una relació de mutualisme virus-hoste, fent que la cèl·lula infectada es dupliqui per moltes generacions amb la nova dotació gènica. Però, pot ser que per canvis ambientals, fisiològics, o de metabolisme, el virus reverteixi al cicle lític (fig. 8). El genoma viral integrat a l'hoste se l'anomena pròfag (Jiang i Paul, 1994) en el cas que infecti a un bacteri, o viròfag (Fischer i Hackl, 2016; Castillo *et al.*, 2019) si infecta un picoeucariota. En ambdós casos es tracta d'un virus temperat i la cèl·lula portadora del pròfag és el lisogen. Per una banda el fet que l'hoste tingui un virus temperat és una bomba de relotgeria, ja que en qualsevol moment la cèl·lula pot acabar lisada. Per altra banda, li confereix certs avantatges, com la de no ser infectat per un altre virus (Levin i Lenski, 1983) o la de no ser depredat (Brussow, 2007). Aquest autor (Brussow, 2007) descriu, que el bacteriòfag fa que el bacteri produeixi toxines enfront als seus depredadors.

Les primeres observacions de replicació lisogènica seguien una pauta, essent més freqüent en microorganismes que vivien en sistemes oligotròfics (poc productius) que en els eutròfics (altament productius). Per tant, era lògic pensar que en el primer cas, els virus no tindrien gaire èxit a l'ho-

ra de trobar un altre hoste a l'abast (Jiang i Paul 1994) ja que estarien molt dispersos. No obstant això, ara que ja es tenen més mesures sobre els diferents tipus de replicació vírica, s'ha vist que la lisogènia és molt més corrent del que es creia en microorganismes que viuen en sistemes més productius (Knowles *et al.* 2016). Per tant, no està gens clar que el tipus d'infecció vírica segueixi el patró d'acord amb el nivell tròfic del sistema, sinó que potser té a veure també amb l'estat fisiològic de la cèl·lula (Thingstad, 2017).

Tant en el procés d'infecció lítica o lisogènica, els virus s'apropien de gens d'altri i els poden passar a diferents hosts. Això es traduiria en una transferència horitzontal de gens. De fet, els virus es consideren el més gran reservori de la diversitat en el mar (Suttle, 2007).

Cicle pseudolisogènic. De manera similar a l'anterior, en el cicle d'infecció pseudolisogènica el genoma del virus (anomenat prepròfag) es manté dins la cèl·lula hoste, en aquest cas en el citoplasma per períodes de temps indeterminat, potencialment llargs. És a dir, no es produeix integració del genoma del virus amb el de l'hoste, i la informació genètica del prepròfag no es replica i és segregada de les cèl·lules hostes (fig. 8). Es creu que baixes concentracions de nutrients a l'ambient pot ésser un dels factors principals que afavoreixen aquest tipus d'infecció (Ripp i Miller, 1997). La pseudolisogènia podria ser un fenomen força comú d'infecció dels bacteriòfags en els ecosistemes marins (Moebus, 1996), encara, que en els sistemes aquàtics s'han descrit molt pocs bacteriòfags pseudolisogènics (Moebus, 1997).

Cicle crònic. Finalment, el cicle de replicació crònica implica l'alliberament de nous virus produïts, però no la destrucció immediata de l'hoste (Russel i Model, 2006). Les cèl·lules bacterianes romanen infectades i produeixen bacteriòfags, que s'alliberen per extrusió, sense lisar la cèl·lula (fig. 8). Hi ha poca informació sobre una possible infecció crònica *in situ* (Hofer i Sommaruga, 2001)

Microorganismes i virus: els principals components de la biomassa viva a l'oceà

Els microorganismes i virus marins estan presents a tota la columna d'aigua, des de la superfície (0-200 m), zona mesopelàgica (200-1000 m) a la zona batipelàgica (>1000 m), excepte els fototròfics que només són a la zona fòtica (superfície - fins on arriba l'1% de llum). Entre tots ells ocupen el 90% de la biomassa viva a l'oceà (Suttle, 2007), i són els virus més abundants, cobrint el 94% de les partícules biològiques amb àcids nucleics. Mentre que, en termes de biomassa, a causa de la seva mida, només comprenen el 5% de la resta de microorganismes. En canvi els procarïotes (bacteris i arqueus) representen menys del 10% de les partícules que contenen àcids nucleics, però signifiquen més del 90% de la biomassa. Finalment els protists, amb abundàncies molt menors que virus i procarïotes, en terme mig tenen una biomassa similar a la dels virus.

Xarxes tròfiques microbianes, bucle víric i cicles biogeoquímics

Fins fa quatre dècades, la imatge que es tenia de les xarxes tròfiques marines era la que es representa a la figura 9A on els productors primaris (fitoplàncton), eren l'aliment del zooplàncton (i.e., copèpodes, >200 µm). Alhora, les larves peixos i altres organismes com meduses s'alimentaven d'aquests copèpodes. En aquest esquema, els microorganismes unicel·lulars (excepte les microalgues) eren totalment innecessaris per a explicar el funcionament tròfic a l'oceà. Cap als anys 70, Pomeroy (1974) publicà la seva síntesi de les xarxes alimentàries ("The oceans food web: a changing paradigm") que s'anticipava al que seria el concepte de bucle microbià on la matèria orgànica dissolta provinent del fitoplàncton, circularia a través de bacteris i d'aquests als flagel·lats fins arribar a nivells tròfics superiors de la cadena alimentària. Diferents científics com per exemple Sorokin (1978) i Azam *et al.* (1983) amb l'aportació de noves idees i dades descrivien les xarxes tròfiques microbianes. Així, els protists (nanoflagel·lats heterotròfics) que depredaven sobre els bacteris, aprofitarien el seu carboni i el passarien a nivells tròfics superiors via ciliats i zooplàncton (fig. 9B). De fet, els ciliats serien la baula que lliga el bucle microbià (matèria orgànica-procarïotes-protists) i la xarxa tròfica

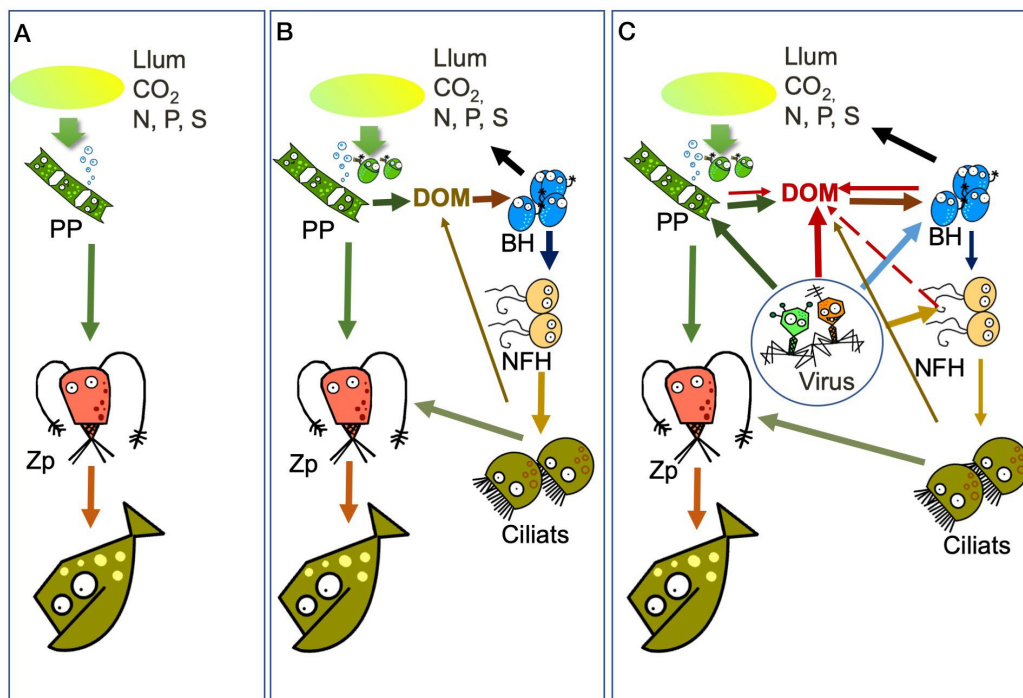


Figura 9. A, cadena tròfica alimentària; B, xarxa tròfica microbiana enllaçada a la cadena tròfica alimentària; C, xarxa tròfica microbiana i bucle viral, enllaçat a la cadena tròfica alimentària. N, P, S: nutrients inorgànics; PP: productors primaris; Zp: Zooplàncton; DOM: Matèria orgànica dissolta; BH: bacteris heterotròfics; NFH: nanoflagel·lats heterotròfics. Esquema: D. Vaqué amb dibuixos de C. Ruíz-González.

microbiana (fitoplàncton-matèria orgànica-bacteris-protists) per acabar a la cadena alimentària clàssica (fitoplàncton-zooplànton-peixos) (fig. 9A, B).

Però, no va ser fins als anys 90, que amb l'aparició dels virus com a part important del plàncton, es va plantejar si podien jugar un paper important en el funcionament del bucle microbià i en les xarxes tròfiques microbianes. La resposta era que sí. Així els depredadors de bacteris, com els nanoflagel·lats heterotròfics i mixotròfics, i de piceucariotes, com els ciliats, haurien de competir amb els virus per les mateixes preses. Aquests curtcircuitarien el bucle microbià i constituirien el bucle viral (fig. 9C). Els virus lisen part dels microorganismes i el seu contingut (matèria orgànica dissolta, DOM) passaria a formar part del material orgànic dissolt de la columna d'aigua. Se sap que per terme mig a tot l'oceà cada dia es perd entre un 10 i un 50% de la biomassa bacteriana i més del 50% de la seva producció per la lisi vírica (Suttle, 2007). A la vegada que, són els responsables de la mortalitat dels productors primaris entre 5% fins un 50% per dia. Per una banda, els virus juntament amb els protists, actuen com a reguladors de l'abundància i biomassa de procariotes i fitoplàncton. Per una altra banda, no tot el carboni bacterià o dels productors primaris seria canalitzat a nivells tròfics superiors. Una part important retornaria a la columna d'aigua i es reutilitzaria de nou (Fuhrman, 1999) per altres bacteris per créixer, i produir canvis en la comunitat. A la vegada, que aquest carboni seria remineralitzat a nutrients inorgànics (N, P, S), que serien utilitzats pel fitoplàncton (fig. 9C). A més, com a resultat de la lisi cel·lular

també s'alliberen al medi diferents substrats orgànics i oligoelements, com per exemple el ferro (Fe), element cabdal pel fitoplàncton per produir clorofil·la i per tant per fer la fotosíntesi.

Impacte dels virus i dels protists en la recirculació del carboni bacterià

Segons la teoria promulgada per Thingstad i Lignell (1997), els virus es consideraven espècie-específic i per tant la infecció vírica s'afavoriria quan un determinat hoste fos abundant. Esperariem, doncs, que en sistemes oligotròfics on l'abundància bacteriana és relativament baixa, dominaria la depredació per protists i la manera més habitual de replicació vírica seria la lisogènia. En canvi, que en sistemes eutròfics, on l'abundància bacteriana és alta la lisi viral seria superior o semblant a la mortalitat per protists i la manera més habitual de replicar-se seria la via lítica. A partir de mostres de superfície de diferents sistemes marins que anaven de molt oligotròfics (nord-est de l'oceà Atlàntic, Boras *et al.*, 2010a), oligotròfic (nord-oest del mar Mediterrani, Boras *et al.*, 2009) a eutròfic (oceà Àrtic, Boras *et al.*, 2010b), comparem com variaven els fluxos de carboni des de bacteris a nivells tròfics superiors via protists, o bé a la columna d'aigua com a matèria orgànica dissolta a causa de la lisi vírica (fig. 10). L'abundància de bacteris oscil·lava de mitjana entre $0,3 \times 10^6$ a $1,5 \times 10^6$ cel mL^{-1} (fig. 10). Esperariem doncs, que en els sistemes on l'abundància de bacteris era més elevada l'impacte dels virus també seria més alt que la dels depredadors. Però malgrat les nostres expectatives, la taxa de carboni alliberat a causa de la lisi vírica sobre els bacteris respecte

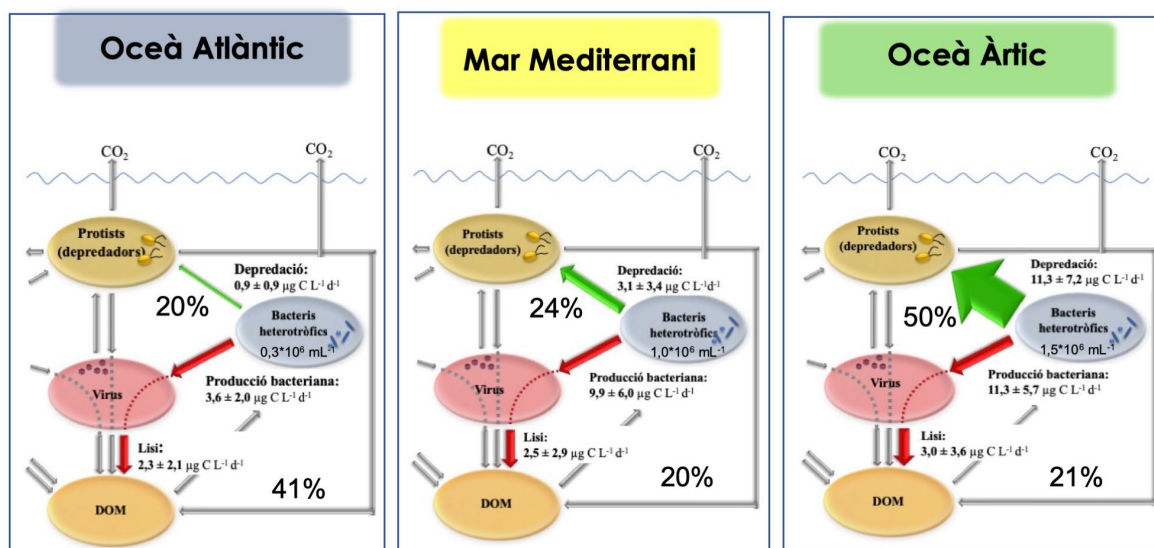


Figura 10. Contribució dels virus i els protists a l'hora de canalitzar els fluxos de carboni orgànic en diferents sistemes marins. Les fletxes verdes indiquen les taxes de carboni bacterià depredat pels protists (NFH). Les fletxes vermelles assenyalen la taxa de carboni dissolt que passa a la columna d'aigua per la lisi vírica sobre els bacteris. El gruix de les fletxes mostra la importància d'un tipus o d'un altre de flux de carboni. També s'indica el nombre de bacteris i la seva producció. Esquema modificat a partir de Boras (2009).

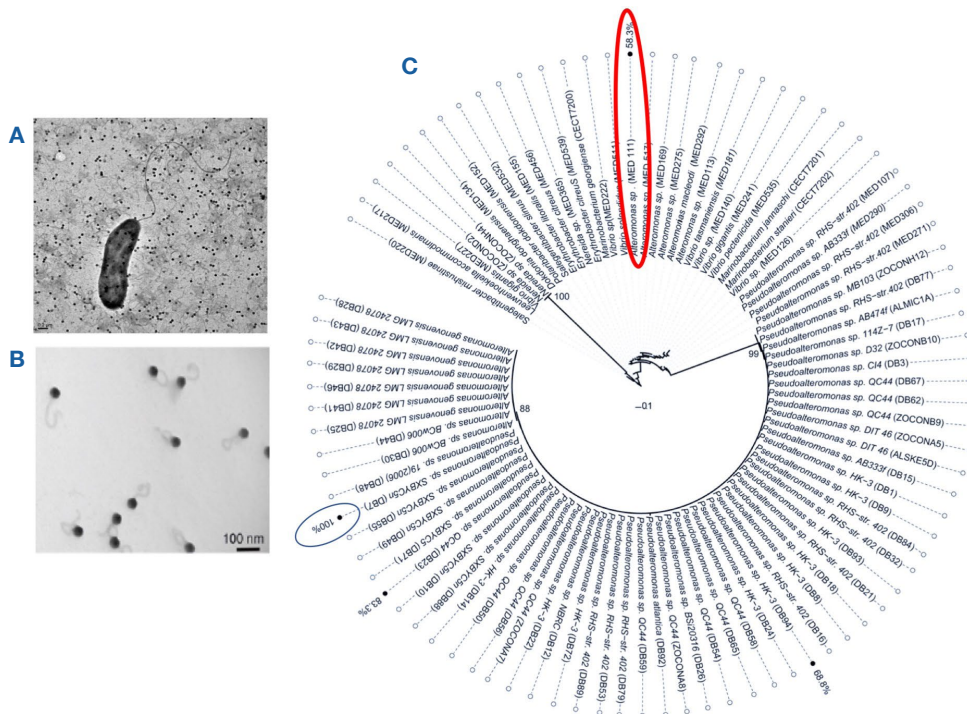


Figura 11. Imatges per microscòpia electrònica de transmissió de: A, *Pseudoalteromonas* sp. rodejat del seu bacteriòfag; B, el bacteriòfag *Syphovirus* B8b; C, anàlisi filogenètiques de les soques bacterianes usades per provar el rang d'infecció del B8b. Les soques infectades per aquest *Syphovirus* estan marcades amb un punt negre i també s'indica el percentatge de la seva eficiència; els cercles negre i vermell indiquen la soca mare d'on s'ha aïllat el virus i la soca d'*Alteromonas* sp., respectivament. Imatge extreta de Lara *et al.* (2015).

a la producció bacteriana anava del 40% a l'oceà Atlàntic, 20% al mar Mediterrani i 21% a l'oceà Àrtic. Mentre que la depredació presentava percentatges de taxes de carboni canalitzats a nivells tròfics superiors del 20% d⁻¹ a l'Atlàntic i entre el 24% d⁻¹ i 50 % d⁻¹ al mar Mediterrani i oceà Àrtic, respectivament. D'altra banda quan vàrem analitzar el tipus d'infecció, resultava que en el lloc més oligotròfic hi dominava la lisi sobre la lisogènia. En conseqüència, ens preguntàvem ¿com podia ser que en llocs més oligotròfics obtinguéssim una més alta lisi vírica que en els mes eutròfics si la infecció vírica era espècie-específica i per tant depenia de l'abundància de l'hoste? Una de les explicacions més plausibles era que els virus no fossin sempre espècie-específic i que tinguessin un rang d'infecció més ampli del que s'havia pensat. És a dir que un mateix virus podia infectar diferents soques de bacteris. De fet, era així, Holmfeldt *et al.* (2007) observaren que un mateix virus podia infectar fins a més de vint soques, mentre que altres tenien un rang d'infecció més estret, tal i com es mostrava a l'estudi de Lara *et al.* (2015). En aquest cas es tractava d'un bacteriòfag (B8b) aïllat d'una soca de *Pseudoalteromonas* a l'Observatori marí de Blanes, i identificat com un *Syphovirus* el qual podia infectar 4 soques de bacteris diferents (3 soques del gènere *Pseudoalteromonas* i una soca d'*Alteromonas* sp. d'una família diferent als anteriors) dels 52 analitzats (fig. 11). El que era remarcable és que pogués infectar un

hoste d'una família diferent (*Alteromonadaceae*) de la que es va aïllar (*Pseudoalteromonadaceae*), tot i que l'eficiència d'infecció del B8b fos menor (58% sobre *Alteromonas* sp.) comparada amb la de l'hoste d'on es va aïllar (99%, *Pseudoalteromonas* sp.). El fet d'infectar hostes de famílies diferents era habitual pels *Myovirus* (Chang i Kim, 2011), però, en el cas dels *Syphovirus*, només s'havia observat per dues soques de gèneres de bacteris diferents en aigües residuals, però no als sistemes marins. Atès que aquest bacteriòfag pot infectar més enllà dels límits de gènere, destaca el potencial d'aquest bacteriòfag per intervenir en la transducció i, per tant, augmentar la microdiversitat, no solament entre soques bacterianes estretament relacionades, sinó també en un espai taxonòmic més ampli, contribuint a la transferència horitzontal de gens. Aquests resultats, a més, corroboren que els virus són el reservori de diversitat més gran a l'oceà.

Paper dels microorganismes planctònics de l'Oceà en un Planeta canviant

Que el Planeta s'escalfa és un fet (IPCC, 2014). Que en els darrers cent anys els nivells de CO₂ han augmentat exponencialment a causa de la crema de combustibles fòssils també i que això ha portat a un increment global de temperatura. Tanmateix, si no fos pel mar la concentració de CO₂ que hi ha a l'atmosfera assoliria quasi el doble de concen-

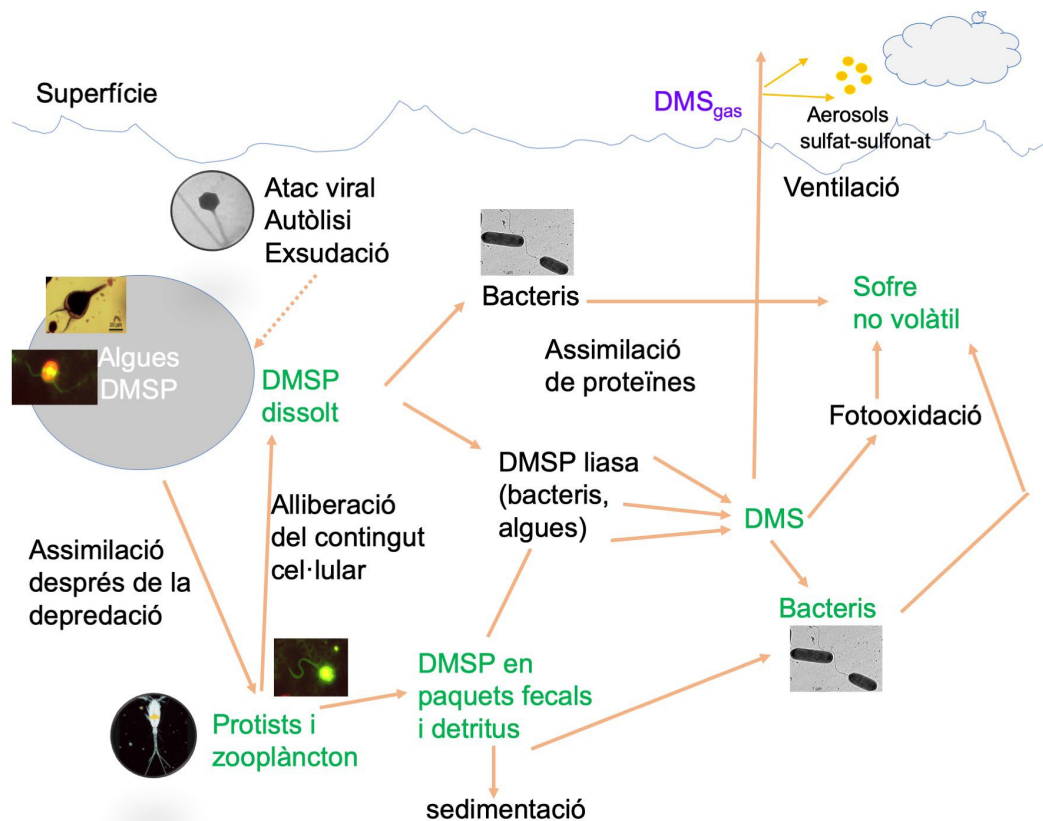


Figura 12. Esquema de la producció de DMS a l'aigua i a l'atmosfera a partir de l'alliberament del contingut cel·lular fitoplanctònic del DMSP, gràcies a la contribució de diferents organismes planctònics i virus. Tots ells seran responsables de la producció de nuclis de condensació que donaran lloc a la formació de núvols. Esquema modificat per D. Vaqué a partir de Simó (2001).

tració actual. El mar actua tamponant els nivells de CO_2 a través de processos, físics, químics i biològics. Així, el fitoplàncton actua captant CO_2 per créixer. Part d'aquest fitoplàncton acabarà exportat al fons marí per depredació del zooplàncton, el qual digerirà aquest fitoplàncton i l'excretarà en forma de paquets fecals, i/o per sedimentació cel·lular. Per tant en ambdós casos aquest CO_2 atrapat acabarà sedimentant a l'oceà profund (p. ex., bomba biològica; Passow i Carlson, 2012). A la vegada, aquests organismes fotosintètics retornaran oxigen al medi durant el procés de la fotosíntesi. A més, els microorganismes del plàncton poden contribuir que la Terra no s'escalfi encara més, mitjançant la formació de núvols, els quals fan que els rajos solars rebotin cap amunt (albedo) de l'atmosfera i l'ambient s'escalfi menys. Un núvol es forma gràcies a la presència de partícules de mides molt petites (de pocs nanòmetres a micròmetres) que s'anomenen nuclis de condensació. Aquestes partícules poden provenir de diferents orígens (contaminació, incendis, pols del desert...), entre ells, del mar (Simó, 2001; Dall'Osso *et al.*, 2017), podent ésser primaris i secundaris. Els nuclis de condensació primaris són els que surten directament des de la superfície del mar a l'aire quan hi ha vent i es produeixen aerosols. Aquests poden ser, cristalls de sal, un virus,

un bacteri, una microalga, etc. en els quals s'hi enganxaria el vapor d'aigua per formar el núvol. En el cas de formació de nuclis de condensació secundaris la seva producció és més complexa ja que intervenen processos físics, químics, biològics i biogeoquímics. Un exemple, el trobem en la formació de productes derivats del dimetilsulfopropionat (DMSP). Algunes microalgues (p. ex., haptòfits) tenen DMSP intracel·lular. Quan aquestes són depredades per zooplàncton, autolisades per apoptosi, o lisades per virus, aquest DMSP s'allibera al medi i es transforma amb DMSP dissolt. Per l'acció d'uns enzims (liases) produïts per bacteris i algues, el DMSP dissolt passa a dimetil sulfur (DMS) (Simó, 2001). Aquest DMS per acció de l'agitació del mar a causa del vent surt a l'atmosfera. Allà, es transformen en partícules derivades del sofre que actuaran com a nuclis de condensació per la formació de núvols (fig. 12). Autors com Hill *et al.* (1998) demostraren al laboratori que perquè es formi DMS es necessita la intervenció de tots aquests microorganismes: fitoplàncton, virus i bacteris.

Conclusions

Els microorganismes i els virus del plàncton, que ocupen el 90% de la biomassa viva de l'oceà,

juguen un paper fonamental en els cicles biogeoquímics a través de les xarxes tròfiques microbianes. Per una banda, els protists mitjançant la depredació, per exemple sobre bacteris, transporten el carboni bacterià a nivells tròfics superiors. Per una altra banda, els virus, a través de la lisi cel·lular mantenen la matèria orgànica en suspensió a la columna d'aigua per l'aprofitament d'altres microorganismes. Ambdós, virus i protists contribuiran a regular l'abundància de les seves preses i principalment, en el cas dels virus, tindran un paper cabdal també en regular la composició de les comunitats de microorganismes. Finalment, virus i microorganismes, cadascun amb les seves funcions contribueixen a mantenir la producció dels oceans i la vida del Planeta.

Referències

- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A. i Thingstad, T.F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*, 10: 257-263.
<https://doi.org/10.3354/meps010257>
- Björnsen, P.K. 1986. Automatic determination of bacterioplankton biomass by image analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 51: 1199-1204.
<https://doi.org/10.1128/aem.51.6.1199-1204.1986>
- Boenigk, J. i Arndt, H. 2000. Comparative studies on the feeding behavior of two heterotrophic nanoflagellates: the filter-feeding choanoflagellate *Monosiga ovata* and the raptorial-feeding kinetoplastid *Rhynchomonas nasuta*. *Aquatic Microbial Ecology*, 22: 243-249.
<https://doi.org/10.3354/ame022243>
- Boras, J.A. 2009. *Impact of viruses on bacterial communities in marine systems*. Tèsi doctoral, 221 p. Universitat de Barcelona.
- Boras, J.A., Sala, M.M., Vazquez-Dominguez, E., Weinbauer, M.G. i Vaqué, D. 2009. Annual changes of bacterial mortality due to viruses and protists in an oligotrophic coastal environment (NW Mediterranean). *Environmental Microbiology*, 11: 1181-1193.
<https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01849.x>
- Boras, J.A., Sala, M.M., Baltar, F., Arístegui, F., Duarte, C.M. i Vaqué, D. 2010a. Effect of viruses and protists on bacteria in eddies of the Canary Current region (subtropical northeast Atlantic). *Limnology and Oceanography*, 55: 885-898.
<https://doi.org/10.4319/lo.2010.55.2.0885>
- Boras, J.A., Sala, M.M., Arrieta, J.M., Sà, E.L., Felipe, J., Agustí, S., Duarte, C.M. i Vaqué, D. 2010b. Effect of ice melting on bacterial carbon fluxes channelled by viruses and protists in the Arctic Ocean. *Polar Biology*, 33: 1695-1707.
<https://doi.org/10.1007/s00300-010-0798-8>
- Børshheim, K.Y., Bratbak, G., Heldal M. 1990. Enumeration and biomass estimation of planktonic bacteria and viruses by transmission electron microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 352-356.
<https://doi.org/10.1128/aem.56.2.352-356.1990>
- Bratbak, G., Heldal, M., Norland, S. i Thingstad, T.F. 1990. Viruses as Partners in Spring Bloom Microbial Trophodynamics. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 1400-1405.
<https://doi.org/10.1128/aem.56.5.1400-1405.1990>
- Breitbart, M. 2012. Marine Viruses: Truth or Dare. *Annual Review in Marine Science*, 4: 425-448.
<https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142805>
- Breitbart, M. i Rohwer, F. 2005. Here a virus, there a virus, everywhere the same virus? *Trends of Microbiology*, 13: 278-284.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.04.003>
- Brussaard, C.P.D. 2004. Optimisation of procedures for counting viruses by flow cytometry. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 1506-1513
<https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1506-1513.2004>
- Brüssow, H. 2007. Bacteria between protists and phages: from antipredation strategies to the evolution of pathogenicity. *Molecular Microbiology*, 65: 583-589.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05826.x>
- Castillo, Y.M., Mangot, J., Benites, L.F., Logares, R., Kuronishi, M., Ogata, H. et al. 2019. Assessing the viral content of uncultured picoeukaryotes in the global-ocean by single cell genomics. *Molecular Ecology*, 28: 4272-4289.
<https://doi.org/10.1111/mec.15210>
- Chang, H.W. i Kim, K.H. 2011. Comparative genomic analysis of bacteriophage EP23 infecting *Shigella sonnei* and *Escherichia coli*. *Journal of Microbiology*, 49: 927-934.
<https://doi.org/10.1007/s12275-011-1577-0>
- Chróst, R.J. i Krambeck, H.J. 1986. Fluorescence correction for measurements of enzyme activity in natural waters using methylumbelliferyl substrates. *Archives Hydrobiology*, 106: 79-90.
- Dall'Osto, M., Ovadnevaite, J., Paglione, M., Beddows, D.C.O., Ceburnis, D., Cree, C., Cortés, P., Zamanillo, M., Nunes, S.O., Pérez, G.L., et al. 2017. Antarctic sea ice region as a source of biogenic organic nitrogen in aerosols. *Scientific Reports*, 7: 1-10.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-06188-x>
- Darwin, C. R. 1845. *Journal of researches into the natural history and geology of the countries visited during the voyage of H.M.S. Beagle round the world, under the Command of Capt. Fitz Roy, R.N.* 2a edició. London: John Murray.
- Estrada, M. 1981. Biomasa fitoplanctónica y producción primaria en el Mediterráneo occidental, a principios de otoño. *Investigación Pesquera*, 45 : 211-230.
- Fenchel, T. 1982a. Ecology of heterotrophic microflagellates. 1. Some important forms and their functional morphology. *Marine Ecology Progress Series*, 8: 211-223.
<https://doi.org/10.3354/meps008211>
- Fenchel, T. 1982b. Ecology of Heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative Occurrence and Importance as Bacterial Consumers. *Marine Ecology Progress Series*, 9: 35-42.
<https://doi.org/10.3354/meps009035>
- Fenchel, T. 1987. *Ecology of Protozoa*. Springer-Verlag.
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-06817-5>
- Fischer, M.G. i Hackl, T. 2016. Host genome integration and giant virus-induced reactivation of the virophage mavirus. *Nature*, 540: 288-291.
<https://doi.org/10.1038/nature20593>
- Fuhrman, J.A. 1999. Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature*, 399: 541-548.
<https://doi.org/10.1038/21119>
- Fuhrman, J.A. i Azam, F. (1982). Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. *Marine Biology*, 66: 109-120.
<https://doi.org/10.1007/BF00397184>
- Hobbie, J.E., Daley, R.J. i Jasper, S. 1978. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 33: 1225-1228.
<https://doi.org/10.1128/aem.33.5.1225-1228.1977>
- Hofer, J.S. i Sommaruga R. 2001. Seasonal dynamics of viruses in an alpine lake: importance of filamentous forms. *Aquatic Microbial Ecology*, 26: 1-11.
<https://doi.org/10.3354/ame026001>
- Hollibaugh, J.T., Fuhrman, J.A. i Azam, F. 1980. Radioacti-

- vely labeling natural assemblages of bacterioplankton for use in trophic studies. *Limnology and Oceanography*, 25: 172-181.
<https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.1.0172>
- Hoppe, H.-G., Kim, S.J., i Gocke, K. 1988. Microbial decomposition in aquatic environments combined process of extracellular enzyme-activity and substrate uptake. *Applied and Environmental Microbiology*, 54: 784-790.
<https://doi.org/10.1128/aem.54.3.784-790.1988>
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) 2014. Drivers, trends and mitigation.
http://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/ipcc_wg3_ar5_chapter5.pdf
- Jiang, S.C. i Paul, J.H. 1994. Seasonal and diel abundance of viruses and occurrence of lysogeny/bacteriocinogeny in the marine environment. *Marine Ecology Progress Series*, 104: 163-72.
<https://doi.org/10.3354/meps104163>
- Karl, D.M. 1979. Measurement of microbial activity and growth in the ocean by rates of stable ribonucleic acid synthesis. *Applied and Environmental Microbiology*, 38: 850-860.
<https://doi.org/10.1128/aem.38.5.850-860.1979>
- Knowles, B., Silveira, C.B., Bailey, B.A., Barott, K., Cantu, V.A., Cobián-Güemes, A.G., Coutinho, F.H.E., et al. 2016. Lytic to temperate switching of viral communities. *Nature*, 531: 466-470.
<https://doi.org/10.1038/nature17193>
- La Scola, B., Audic, S., Robert, C., Jungang, L., de Lamballerie, X., Drancourt, M., Birtles, R., Claverie, J.-M. i Raoult, D. 2003. A Giant Virus in Amoebae. *Science*, 299: 2033.
<https://doi.org/10.1126/science.1081867>
- Labonté, J.M. i Suttle, C.A. 2013. Previously unknown and highly divergent ssDNA viruses populate the oceans. *ISME Journal*, 11: 2169-2177.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2013.110>
- Lang, A.S., Rise, M.L., Culley, A.I. i Steward, G.F. 2009. RNA viruses in the sea. *FEMS Microbiology Review*, 33: 295-323.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00132.x>
- Lara, E., Vaqué, D., Sà, E.L., Boras, J.A., Gomes, A., Borruell, E., Díez-Vives, C., Teira, E., Pernice, M.C., Garcia, F.C., Forn, I., Castillo, Y.M., et al. 2017. Unveiling the role and life strategies of viruses from the surface to the dark ocean. *Science Advances*, 3: e1602565.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1602565>
- Lara, E., Holmfeldt, K., Solonenko, N., Sà E.L., Ignacio-Espinoza, J.C., Cornejo-Castillo, F.M., Verberkmoes, N.C., Vaqué D., Sullivan, M.B. i Acinas, S.G. 2015. Life-Style and genome structure of marine *Pseudoalteromonas* Sphovirus B8b isolated from the northwestern Mediterranean Sea. *PLoS ONE*, 10(1): e0114829.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114829>
- Levin, B. R. i Lenski, R. E. 1983. Coevolution in bacteria and their viruses and plasmids, in Coevolution. Futuyama, D.J. i Slatkin M. (eds.). Sinauer, Sunderland, Massachusetts, pp. 99-127.
- Margalef, R. 1973. Distribución de los ciliados planctónicos en la región de afloramiento del noroeste de África. (campana Sahara II del Buque Cornide de Saavedra). *Resultados de expediciones científicas del Buque Oceanográfico Cornide de Saavedra*, 2: 109-124.
- Margalef, R. 1982. Some thoughts on the dynamics of populations of ciliates. *Annales Institut Oceanographique*, 58: 15-18.
- Noble, R.T. i Fuhrman, J.A. 1998. Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses and bacteria. *Aquatic Microbial Ecology*, 14: 113-118.
<https://doi.org/10.3354/meps09985>
- Moebus, K. 1996. Marine bacteriophage reproduction under nutrient-limited growth of host bacteria. 2. Investigations with phage-host system. *Marine Ecology Progress Series*, 144: 13-22.
<https://doi.org/10.3354/meps144013>
- Moebus, K. 1997. Investigations of the marine lysogenic bacterium H24.2. Development of pseudolysogeny in nutrient rich broth. *Marine Ecology Progress Series*, 148: 229-240.
<https://doi.org/10.3354/meps148229>
- Passow, U. i Carlson, C.A. 2012. The biological pump in a high CO₂ world. *Marine Ecology Progress Series*, 70: 249-271.
<https://doi.org/10.3354/meps09985>
- Pomeroy, L.R. 1974. The oceans food web: a changing paradigm. *BioScience*, 24: 499-504.
<https://doi.org/10.2307/1296885>
- Porter, K. i Feig Y.S. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography*, 25: 943- 948.
<https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.5.0943>
- Ripp, S. i Miller R.V. 1997. The role of pseudolysogeny in bacteriophage-host interactions in a natural freshwater environment. *Microbiology*, 143: 2065-2070.
<https://doi.org/10.1099/00221287-143-6-2065>
- Russel, M. i Model P. 2006. Filamentous phage. In: *The Bacteriophages*. Calendar, R.L. i Abedon, S.T. (eds.), Oxford University Press, pp. 146-160.
- Saiz, E. 2021. Els copèpodes: un grup clau en el plàncton marí. *L'Atzavara*, 31: 35-46.
<https://doi.org/10.2436/20.1502.atz31.035>
- Sherr, B.F., Sherr, E.B. i Fallon, R.D. 1987. Use of mono-dispersed, fluorescently labeled bacteria to estimate in situ protozoan bacterivory. *Applied and Environmental Microbiology*, 53: 958-965.
<https://doi.org/10.1128/aem.53.5.958-965.1987>
- Simó, R. 2001. Production of atmospheric sulfur by oceanic plankton: Biogeochemical, ecological and evolutionary links. *Trends in Ecology and Evolution*, 16: 287-294.
[https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02152-8](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02152-8)
- Spencer, R. 1955. A marine bacteriophage. *Nature*: 175: 690.
<https://doi.org/10.1038/175690a0>
- Sorokin, Y.I. 1978. Decomposition of organic matter and nutrient regeneration. A: *Marine Ecology, IV: Dynamics*. Kinne, O (ed.), Chichester, West Sussex, UK, John Wiley, pp. 501-516.
- Steward, G.F., Smith, D.C. i Azam F. 1996. Abundance and production of bacteria and viruses in the Bering and Chukchi Seas. *Marine Ecology Progress Series*, 131: 287-300.
<https://doi.org/10.3354/meps131287>
- Suttle, C.A. 2007. Marine viruses - major players in the global ecosystem. *Nature Reviews in Microbiology*, 5: 801-812.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1750>
- Suttle, C.A. 2005. Viruses in the Sea. *Nature*, 437: 356-361.
<https://doi.org/10.1038/nature04160>
- Thingstad T.F. 2017. Viral strategies at sea. *Nature*, 531: 454-455.
<https://doi.org/10.1038/nature17303>
- Thingstad, T.F. i Lignell, R. 1997. Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand. *Aquatic Microbial Ecology*, 13:19-27.
<https://doi.org/10.3354/ame013019>
- Tomaru Y, Takao Y, Suzuki H, Nagumo T, i Nagasaki K. 2009. Isolation and Characterization of a Single-Stranded RNA Virus Infecting the Bloom-Forming Diatom *Chaetoceros socialis*. *Microbial Ecology*, 75: 2375-2381.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02580-08>

- Torrella, F. i Morita, Y.R. 1979. Evidence by electron micrographs for a high incidence of bacteriophage particles in the waters of Yaquina Bay, Oregon: ecological and taxonomical implications. *Applied and Environmental Microbiology*, 37: 774-778.
<https://doi.org/10.1128/aem.37.4.774-778.1979>
- Vaqué, D., Blough, H. i Duarte, C.M. (1997). Dynamics of ciliate abundance, biomass and community composition in an oligotrophic coastal environment (NW Mediterranean). *Aquatic Microbial Ecology*, 12: 71-83.
<https://doi.org/10.3354/ame012071>
- Vaqué, D., Gasol, J.M. i Marrasé, C. 1994. Grazing rates on bacteria: the significance of methodology and ecological factors. *Marine Ecology Progress Series*, 109: 263-274.
<https://doi.org/10.3354/meps109263>
- Venter, C., Remington, J. F., Heidelberg, A. L., Halpern, D. Rusch, J. A. Eisen, D. Y. Wu, I. Paulsen, K. E. Nelson, W. Nelson, D. E. Fouts, S. Levy, A. H. Knap, M. W. Lomas, K. Nealson, O. White, J. Peterson, J. Hoffman, R. Parsons, H. Baden-Tillson, C. Pfannkoch, Y. H. Rogers, H. O. Smith. 2004. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 304: 66-74.
<https://doi.org/10.1126/science.1093857>
- Weinbauer, M.G., Winter, C. i Höffle, M.G. 2002. Reconsidering transmission electron microscopy based estimates of viral infection of bacterioplankton using conversion factors derived from natural communities. *Aquatic Microbial Ecology*, 27:103-110.
<https://doi.org/10.3354/ame027103>
- Williams, J.le B. i Ducklow, H.W. 2019. The microbial loop concept: A history, 1930-1974. In *The Sea: The current and future Ocean. Journal of Marine Research*, 77: 23-81.
<https://doi.org/10.1357/002224019828474359>