

El paper dels virus a l'oceà

Discurs de presentació de Dolors Vaqué Vidal
com a membre numerària de la Secció de Ciències
Biològiques, llegit el dia 19 d'abril de 2021



Institut
d'Estudis
Catalans

SECCIÓ
DE CIÈNCIES
BIOLÒGIQUES

El paper dels virus a l'oceà

El paper dels virus a l'oceà

Discurs de presentació de Dolors Vaqué Vidal
com a membre numerària de la Secció de Ciències
Biològiques, llegit el dia 19 d'abril de 2021

Barcelona, 2021



Institut
d'Estudis
Catalans

SECCIÓ
DE CIÈNCIES
BIOLÒGIQUES

Biblioteca de Catalunya. Dades CIP

Vaqué Vidal, Dolors, autor

El Paper dels virus a l'oceà. — Primera edició

Bibliografia

ISBN 9788499655918

I. Institut d'Estudis Catalans. Secció de Ciències Biològiques II. Títol

1. Microbiologia marina 2. Ecologia microbiana

579.68(26)

579.26

© Dolors Vaqué Vidal

© 2021, Institut d'Estudis Catalans, per a aquesta edició

Carrer del Carme, 47. 08001 Barcelona

Primera edició: abril de 2021

Text revisat lingüísticament per la Unitat de Correcció del Servei Editorial de l'IEC

Disseny de la coberta: Azcunce | Ventura

Compost per la Unitat de Producció del Servei Editorial de l'IEC

Imprès a Open Print, SL

ISBN: 978-84-9965-591-8

Dipòsit Legal: B 6002-2021

Són rigorosament prohibides, sense l'autorització escrita dels titulars del *copyright*, la reproducció total o parcial d'aquesta obra per qualsevol procediment i suport, incloent-hi la reprografia i el tractament informàtic, la distribució d'exemplars mitjançant lloguer o préstec comercial, la inclusió total o parcial en bases de dades i la consulta a través de xarxa telemàtica o d'Internet. Les infraccions d'aquests drets estan sotmeses a les sancions establertes per les lleis.

La superfície del nostre planeta està ocupada en un 70 % pels oceans, en els quals habiten una gran quantitat de microorganismes (procariotes, protists heterotròfics i fototròfics, i virus; Fuhrman, 1999). Aquests microorganismes constitueixen el 90 % de la biomassa viva dels oceans. A la vegada que conviuen i interaccionen entre ells, contribueixen a sustentar la vida al mar (peixos, cetacis, aus, crustacis...) a través dels cicles biogeoquímics i a regular el clima de la Terra.

EL CONCEPTE BUCLE MICROBIÀ

El reconeixement de la microbiologia marina com a ciència es remunta a finals del segle XIX, quan microbiòlegs mèdics i del sòl, així com botànics i zoòlegs, van poder participar en expedicions oceanogràfiques i van tenir l'oportunitat de mesurar l'abundància, la distribució i la identitat dels bacteris de l'oceà (ZoBell, 1946). Darwin, l'any 1838, en el *Voyage of the Beagle*, observant mostres al microscopi i a la lupa, era capaç de distingir microorganismes com cèl·lules de fitoplàncton, ciliats i altres petits organismes, que ell anomenava *infusoria* (els infusoris), i es preguntava: «Si molts organismes marins pelàgics s'alimenten d'aquests "infusoria", aquests de què 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?») (Darwin, 1838). No és fins a 1930 que científics de l'est d'Europa van ser pioners a tenir proves de l'activitat bacteriana marina. Les mesures d'abundància i activitat es basaven a fer créixer els bacteris en placa i n'analitzaven el metabolisme. Tanmateix, el nombre obtingut era menys de l'1 % de la concentració real que hi

havia al mar, ja que se seleccionaven aquells que podien créixer en el medi que havien usat. No és fins més tard, cap als anys setanta, que Lawrence Pomeroy (1974) publicà la seva síntesi sobre les xarxes alimentàries («The ocean's food web: A changing paradigm»), en la qual s'anticipava al que seria el concepte *bucle microbià* (figura 1).

Així, la vida al mar és possible perquè hi ha un component microbià en què la matèria orgànica dissolta (DOM, de l'anglès *dissolved organic matter*) provinent del fitoplàncton, els bacteris i els protists forma part d'un engranatge, el *bucle microbià*. Aquest bucle s'enllaçaria amb el que avui coneixem com a *xarxa tròfica microbiana*, que inclou el fitoplàncton i el nanoplàncton (figura 1). A partir del concepte *bucle microbià*, es van generar nous estudis que, amb l'aportació de dades i noves idees, donaven suport al concepte *xarxa tròfica microbiana* (per exemple, Sorokin, 1978; Azam *et al.*, 1983). Així, els protists que depredaven els bacteris n'aprofitarien el carboni i el passarien a nivells tròfics superiors via zooplàncton, el qual formaria part de la xarxa i/o cadena alimentària clàssica. L'aparició de nous mètodes per determinar l'abundància i el metabolisme bacterians era un primer pas per reflectir una imatge més real sobre els bacteris que hi havia a la columna d'aigua i per saber quina era la seva funció a l'oceà. L'any 1978, Hobbie i col·laboradors i, a principis dels anys vuitanta, Porter i Feig publicaren sengles mètodes per mesurar-ne l'abundància. Es basaren en l'ús de colorants fluorescents (taronja d'acridina i DAPI, respectivament) que tenyien el DNA bacterià, cosa que en permetia l'observació i el recompte al microscopi d'epifluorescència (1000x). Anteriorment, els recomptes es feien en placa, els quals en subestimaven molt l'abundància (només se'n detectaven del 0,1 a l'1 % del nombre total). A la vegada, la irrupció per marcatge amb isòtops radioactius (timidina i adenina; Fuhrman i Azam, 1982; Karl, 1979; Hollibaugh *et al.*, 1980) i substrats proteínics o glucosídics

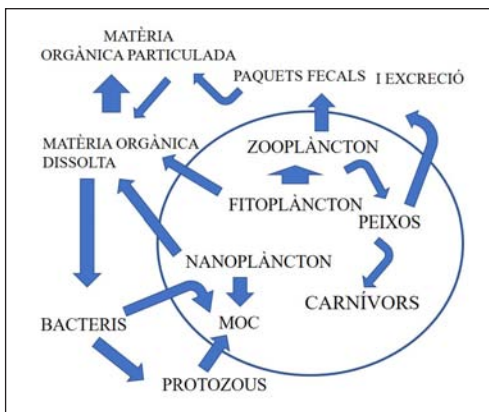


FIGURA 1. El paradigma clàssic de la xarxa tròfica a l'oceà de manera simplificada es troba dins del cercle. Les vies que formen part del bucle microbià es troben fora del cercle.

FONT: Modificat a partir de la figura 1 de Pomeroy (1974).

lligats amb fluorocroms (Chróst i Krambeck, 1986; Hoppe *et al.*, 1988) quantificaven el creixement i la producció bacterians, així com l'activitat exoenzimàtica sobre diferents compostos de matèria orgànica. D'altra banda, els bacteris no creixien indefinidament, ja fos perquè estaven limitats per nutrients o perquè eren depredats per protists, principalment pico- i nanoflagel·lats heterotròfics. Gràcies als estudis de Fenchel (1982*a*, 1982*b* i 1987) i altres autors, com Boenigk i Arndt (2000), mitjançant microscòpia de llum transmesa, electrònica i epifluorescència, en descrivien l'abundància i la morfologia, així com quin era el mode d'ingestió de la presa d'aquests nanoflagel·lats (per exemple, per filtració, ingestió raptorial, interceptació). Posteriorment, es desenvoluparen mètodes per quantificar de manera rutinària les taxes d'ingestió dels nanoflagel·lats en els vacúols digestius, utilitzant anàlegs de la presa marcats amb fluorocroms (Sherr *et al.*, 1987; Vaqué *et al.*, 1994). A partir d'aquí, gràcies a l'avenç en les tècniques d'anàlisi d'imatge (Bjørnsen, 1986), es van poder estimar la mida (biovolum) i el carboni cel·lular bacterians (Børsheim *et al.*, 1990), que s'exportaria a nivells tròfics superiors. Finalment, un grup important de protists, com són els ciliats, han estat a bastament estudiats des del segle XIX fins ara, ja que han pogut ser observats a través del microscopi òptic. Al llarg d'aquests anys, se n'ha descrit l'abundància, la morfologia i el metabolisme en diferents sistemes aquàtics (Margalef, 1973 i 1982; Vaqué *et al.*, 1997). Aquests protists són la baula que lliga el bucle microbià (matèria orgànica - procariotes - protists) i la xarxa tròfica microbiana (fitoplàncton - matèria orgànica - bacteris - protists) per acabar a la cadena alimentària clàssica (fitoplàncton - zooplàncton - peixos). Els ciliats consumirien els protists que havien ingerit bacteris i serien ingerits pel zooplàncton i aquest per larves de peixos (figura 1).

MICROORGANISMES IMPLICATS EN EL BUCLE MICROBIÀ

Aquí presentem les principals característiques dels diferents grups que constitueixen el bucle microbià.

Fitoplàncton: als oceans, a la zona fòtica, un dels microorganismes clau per al funcionament del bucle microbià, de les xarxes tròfiques microbianes i de la cadena alimentària és el fitoplàncton, que és responsable del 50 % de la fotosíntesi de tot el planeta. Els diferents grups de fitoplàncton tenen mides que oscil·len entre 1 i >100 µm, des de pico- i nanoeucariotes fins a cèl·lules microplànctòniques (diatomees, dinoflagel·lades, flagel·lades; figura 2). La seva abundància oscil·la entre 10-10⁷ cèl·lules L⁻¹.

L'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 CO₂ són els factors principals per al creixement del fito-

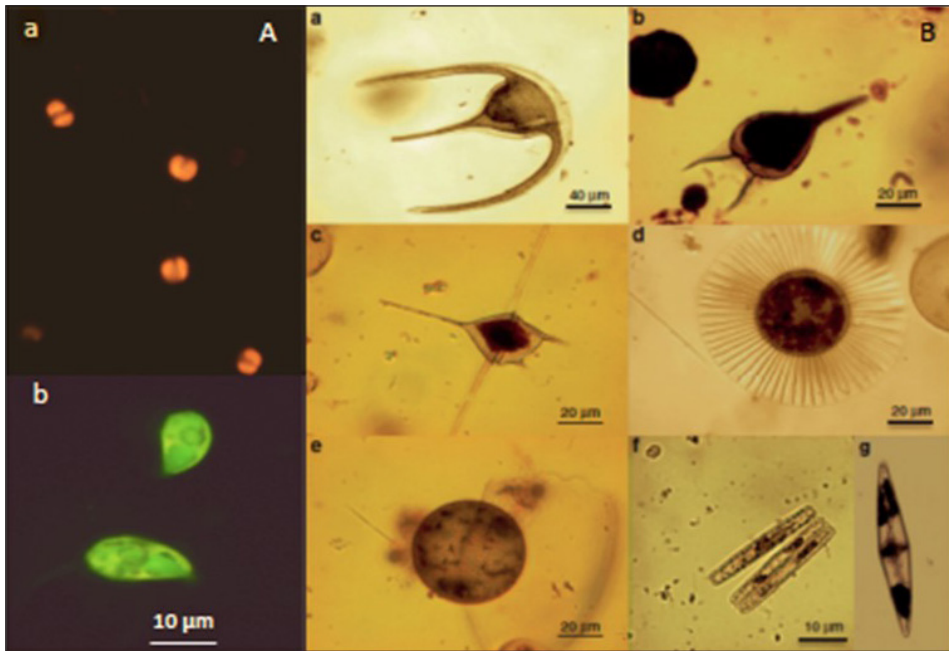


FIGURA 2. Imatges de fitoplàncton marí. A) Pico- i nanoflagel·lats fototròfics observats per microscòpia d'epifluorescència (1000x) (a-b); B) microfitoplàncton observat per microscòpia de llum transmesa (200-400x): dinoflagel·lades (a-c) i diatomees (d-g).

FONT: D. Vaqué i C. García-Botín.

plàncton. La seva abundància, producció i diversitat és diferent segons el sistema. A mesura que aquest fitoplàncton va creixent, per una banda, és consumit per zooplàncton (copèpodes, cladòcers, eufausiacis...) i, per l'altra, excreta matèria orgànica dissolta, que serà aprofitada pels bacteris.

Procariotes: el bacterioplàncton i els arqueus són microorganismes unicel·lulars sense nucli definit que formen part del picoplàncton amb mides d'entre 0,2 i 2,0 µm (figura 3). Alguns presenten mobilitat mitjançant flagells. Els bacteris, en general, es presenten com cocs, bacils i filaments, mentre que els arqueus poden adoptar també formes quadrangulars. L'abundància de procariotes oscil·la entre 10^5 - 10^6 cèl·lules mL^{-1} , i assoleixen un total de 10^{29} cèl·lules a tot l'oceà. Els procariotes poden ser, principalment, heterotròfics (que es troben distribuïts a tota la columna d'aigua) i fototròfics (que habiten, principalment, a la zona fòtica). Els procariotes heterotròfics aprofiten la matèria orgànica dissolta excretada pel fitoplàncton, o d'altres fonts (ja siguin naturals o d'origen antropogènic), remineralitzant-la, la qual cosa dona lloc a nutrients inorgànics, i/o respirant-la, cosa que produeix CO_2 ; mentre que els procariotes fototròfics es comporten com el fitoplàncton. Els seus

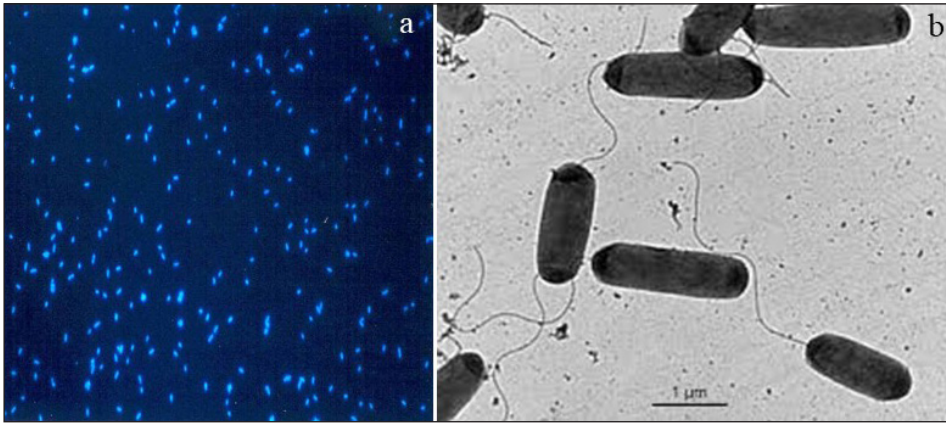


FIGURA 3. Imatges de procariotes observats per mitjà de: a) microscopi d'epifluorescència a 1000x; b) microscopi electrònic de transmissió (TEM, de l'anglès *transmission electron microscopy*) a 30000x.

FONT: D. Vaqué i J. M. Gasol.

principals depredadors són virus i protists (pico- i nanoflagel·lats heterotròfics, mixotròfics i alguns ciliats).

Protists (pico- i nanoflagel·lats heterotròfics, mixotròfics, fototròfics i ciliats): els pico- i nanoflagel·lats són éssers unicel·lulars que es troben en tots els ecosistemes marins, amb mides que oscil·len entre 1 i 20 μm , i abundàncies entre 1.000 i 10.000 cèl·lules mL^{-1} a la capa fòtica i un o dos ordres de magnitud menys al mar profund i fosc. Són microorganismes que presenten formes esfèriques, el·lipsoïdals o còniques. Acostumen a tenir un o dos flagells, que fan servir per nadar, atraure i atrapar les preses, generalment bacteris i arqueus. Els pico- i nanoflagel·lats heterotròfics són els principals responsables de la mortalitat de bacteris i arqueus, junt amb els pico- i nanoflagel·lats mixotròfics (que tenen pigments però poden també fagocitar bacteris) (figura 4) i els virus. A més, en sistemes oligotròfics, en què la producció primària es basa en cianobacteris i petits protists fototròfics, els flagel·lats heterotròfics són també els principals herbívors del sistema.

Els ciliats (figura 5), generalment planctònics, es troben tant als oceans com als rius i llacs al llarg de tota la columna d'aigua. La seva mida varia de 10 a 200 μm , amb abundàncies que oscil·len entre 0,1 i 100 cèl·lules mL^{-1} . Es caracteritzen perquè tenen cilis, que són estructures anàlogues als flagells, però en gran nombre, de manera que envolten la cèl·lula totalment o parcialment. Aquests cilis els serveixen per desplaçar-se, crear corrents i portar les preses a la boca (citostoma). La seva forma pot ser esfèrica, el·lipsoïdal, cònica o cilíndrica. Alguns, com els tintínids, desenvolupen una closca (lorica) al voltant de la cèl·lula, que en alguns és transparent, de

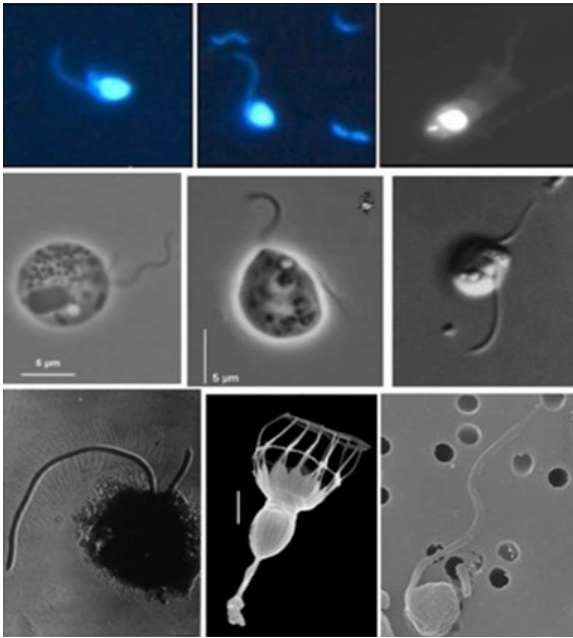


FIGURA 4. Imatges de pico- i nanoflagel·lats heterotròfics marins, observats per microscòpia d'epifluorescència (panell superior), microscòpia de llum transmesa (panell central) i microscòpia electrònica (panell inferior).
 FONT: Jürgens i Massana (2008).

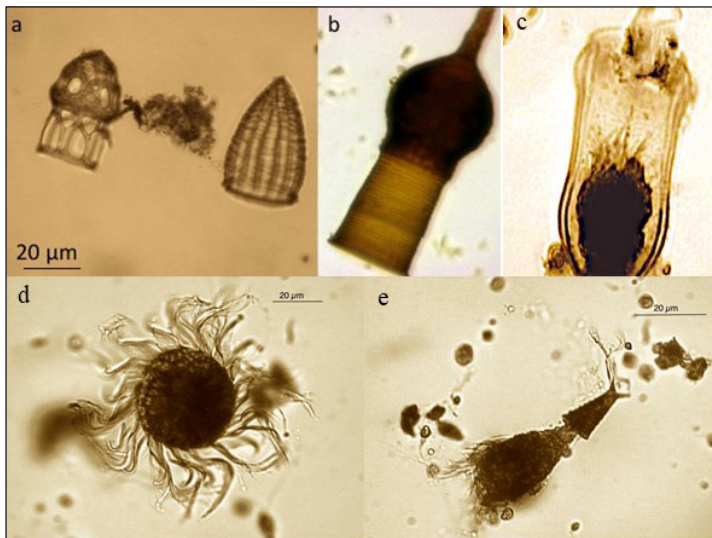


FIGURA 5. Imatges de ciliats marins, observats per microscòpia de llum transmesa. Exemples de tintínids (panell superior) i de ciliats oligotrífics sense lorica (panell inferior).
 FONT: D. Vaqué.

naturalesa hialina (figura 5), i en d'altres, opaca, formada per aglomerats de partícules inorgàniques i, a vegades, closques de coccolitoforals. Molts s'alimenten de preses petites com bacteris, flagel·lats i fitoplàncton. Alguns ciliats fagotròfics incorporen els cloroplasts de les preses fotosintètiques que han ingerit, de manera que també poden fer la fotosíntesi i convertir-se, alhora, en mixotròfics.

VIRUS MARINS I XARXES TRÒFIQUES MICROBIANES

Els virus marins, com tots els virus, són entitats biològiques formades per una càpsida de material proteic que embolcalla i protegeix el genoma, constituït per material genètic. Són agents infecciosos submicroscòpics que necessiten sempre un hoste per multiplicar-se (Breitbart i Rohwer, 2005). El primer virus aïllat a l'ambient marí es va produir fa més de seixanta anys (Spencer, 1955), encara que els primers recomptes daten de l'any 1979, quan Torrella i Morita, en una mostra d'aigua de mar, obtenien al microscopi d'epifluorescència 10^4 virus mL^{-1} . Constataren que eren virus perquè els van observar al microscopi electrònic de transmissió, però no sabien quin paper podien tenir a l'oceà. Aquests autors en subestimaren l'abundància real degut a la utilització de filtres no adequats, amb un diàmetre de porus de $0,2 \mu\text{m}$ i, per tant, una gran part de virus amb mides $\leq 200 \text{ nm}$ s'hauria pogut perdre. A finals dels anys vuitanta, investigadors noruecs (Bratbak *et al.*, 1990) i

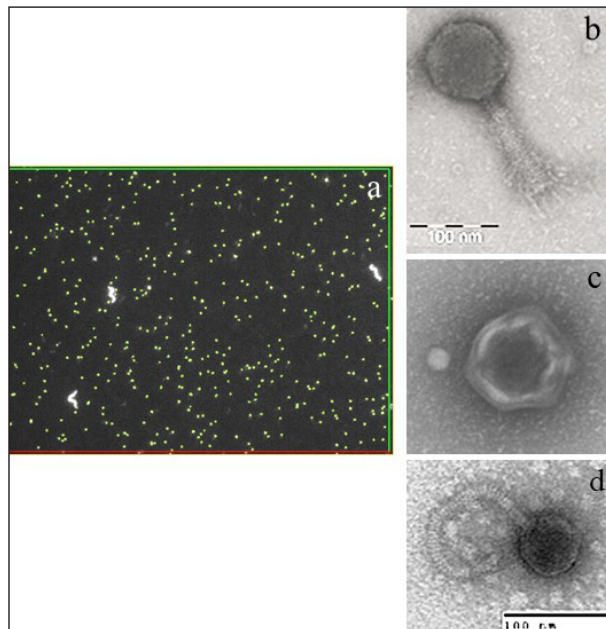


FIGURA 6. a) Imatges de virus marins per microscòpia d'epifluorescència i per microscòpia electrònica de transmissió: b) *Myoviridae*, c) *Podoviridae* i d) *Siphoviridae*.

FONT: Y. M. Castillo, E. Lara i D. Vaqué.

americans (Noble i Fuhrman, 1998), utilitzant filtres de 0,02 μm de diàmetre de porus, per microscòpia d'epifluorescència, i més tard, l'any 2004, Brussaard, per citometria de flux, determinaren que el nombre de virus oscil·lava entre 10^5 i 10^8 virus mL^{-1} . Això depenia de si les mostres eren de mar obert o de prop de la costa, o bé de fondària o de superfície. En tot l'oceà es calcula un nombre de virus de 10^{30} , que equivaldria a uns sis ordres de magnitud més gran que cossos celestes hi ha a la nostra galàxia (10^{24}). La mida d'aquests virus oscil·la entre 20 i 200 nm, al voltant de 10-100 vegades més petits que un bacteri, i la seva biomassa a tot l'oceà seria de 275 megatonnes de carboni, que equivaldrien a 75 milions de balenes blaves. La majoria de virus marins són de doble cadena de DNA (dsDNA, de l'anglès *double-stranded DNA*), els quals pertanyen a les famílies: *Myoviridae*, amb cua llarga i contràctil; *Podoviridae*, amb cua molt curta i no contràctil, i *Syphoviridae*, amb cua llarga, corbada i no contràctil (figura 6). Encara que hi ha un coneixement creixent de la presència de virus de cadena senzilla d'RNA (ssRNA, de l'anglès *single-stranded RNA*) (Lang *et al.*, 2009) i de cadena senzilla de DNA (ssDNA, de l'anglès *single-stranded DNA*) (Labonté i Suttle, 2013) als oceans.

Els microorganismes marins estan presents a tota la columna d'aigua, des de la superfície (0-200 m) fins a la zona mesopelàgica (200-1.000 m) i la zona batipelàgica (> 1.000 m), excepte els fototròfics, que només són a la zona fòtica (des de la superfície fins on arriba l'1 % de llum). Aquests microorganismes marins ocupen el 90 % de la biomassa viva a l'oceà (Suttle, 2007), entre els quals els virus són els més abundants, ja que cobreixen el 94 % de les partícules biològiques amb àcids nucleics, mentre que, en termes de biomassa, degut a la seva mida, només comprenen el 5 % de la resta de microorganismes. En canvi, els procariotes (bacteris i arqueus) representen menys del 10 % de les partícules que contenen àcids nucleics, però representen més del 90 % de la biomassa. Finalment, els protists, amb abundàncies molt inferiors que els virus i procariotes, en termes mitjans, tenen una biomassa similar a la dels virus (figura 7).

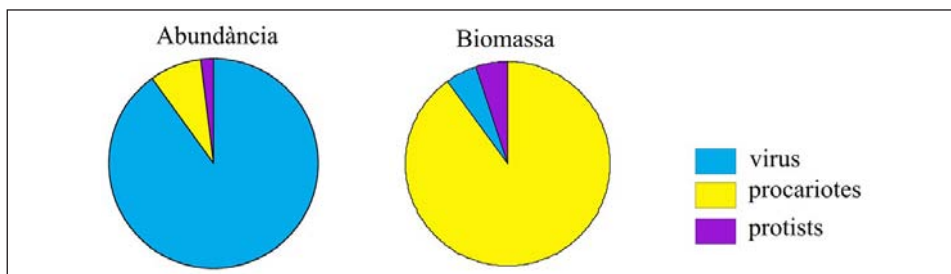


FIGURA 7. Representació de l'abundància i la biomassa de virus, procariotes i protists a l'oceà.
 FONT: Modificat a partir de Suttle (2007).

Cicles de replicació viral

A l'oceà els virus poden infectar tots els organismes que hi habiten, però tenint en compte que el nombre de procariotes és de 10^{29} , aquests serien els seus hosts més probables. Per tant, la proporció més gran de virus que hi ha als oceans són bacteriòfags. S'estima que cada segon es produeixen 10^{23} infeccions virals, cosa que donaria lloc a fins a 10^9 tones de carboni alliberat del contingut de les cèl·lules lisades (Suttle, 2007). S'ha determinat que en tot l'oceà els virus retornen ~140 Gt (1 Gt = 10^{15} g) de carboni a l'any, que provenen de la lisi bacteriana (Lara *et al.*, 2017). No obstant això, els virus no sempre lisen els seus hosts, també poden infectar-los i fer que el seu genoma s'integri en el genoma de l'hoste, de manera que s'estableix una relació de mutualisme amb els hosts, que es repliquen per moltes generacions (cicle lisogènic), en lloc de lisar-los. Aquest genoma del virus s'anomena *pròfag* (Jiang i Paul, 1994), en cas que infecti un bacteri, o *viròfag* (Fischer i Hackl, 2016), si infecta una cèl·lula piceucariota i passa a ser un virus temperat i la cèl·lula portadora del pròfag és el lisogen. Aquesta cèl·lula continuarà replicant-se amb la nova

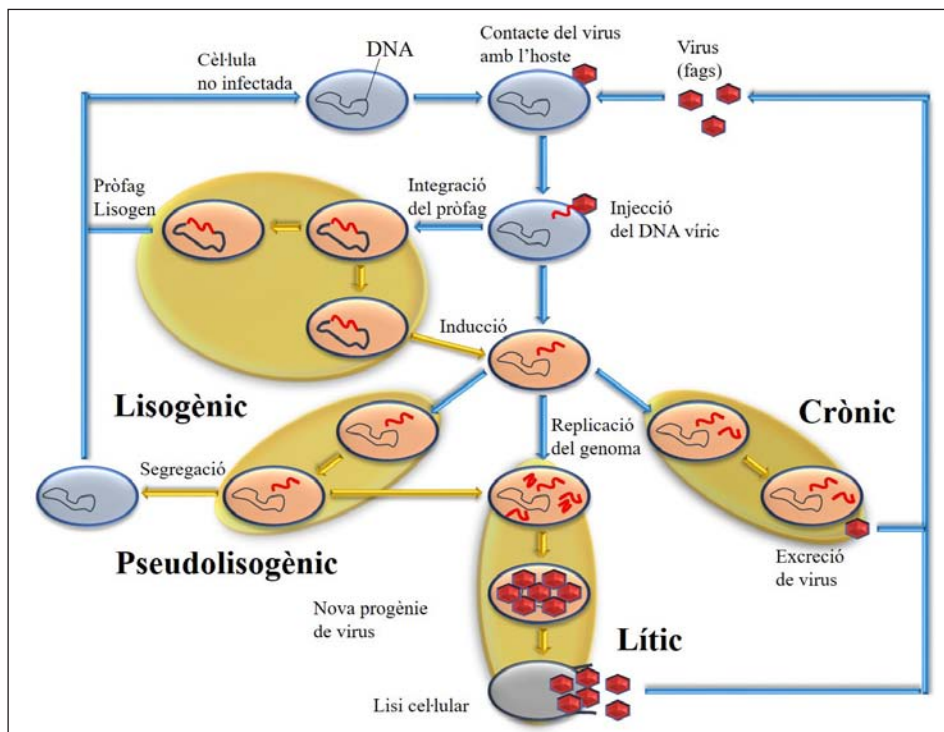


FIGURA 8. Cicles de replicació viral.

FONT: Esquema de Weinbauer (2004), modificat per Boras (2009) i D. Vaqué.

dotació gènica aportada pel virus fins que, degut a canvis externs (ambientals), fisiològics o de metabolisme de l'hoste, el pròfag reverteixi al cicle lític. Els virus també poden seguir el cicle d'infecció pseudolisogènica en el qual el genoma del virus (anomenat *prepròfag*) es manté dins la cèl·lula hoste, en el citoplasma, per períodes de temps potencialment llargs. No es produeix integració del genoma del virus amb el de l'hoste, i la informació genètica del pròfag no es replica i és segregada de les cèl·lules hostes. Es creu que les baixes concentracions de nutrients a l'ambient és un dels factors principals que afavoreix aquest tipus d'infecció (Ripp i Miller, 1997). La pseudolisogènia podria ser un fenomen força corrent per als bacteriòfags en els ecosistemes marins (Moebus, 1996), encara que en els sistemes aquàtics s'han descrit molt pocs fags pseudolisogènics (Moebus, 1997). Finalment, el cicle de replicació crònic 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 fags, que s'alliberen per extrusió, sense lisar el bacteri. Hi ha poca informació sobre una possible infecció crònica *in situ* (Hofer i Sommaruga, 2001) (figura 8).

El paper dels virus a les xarxes tròfiques microbianes

A partir dels anys noranta, quan es va començar a considerar els virus part important del plàncton, també es va replantejar quin era el paper que tenien en el funcionament del bucle microbià i de les xarxes tròfiques microbianes. Així, els depredadors (nanoflagel·lats i ciliats) de procariotes i picoeucariotes haurien de competir amb els virus per les mateixes preses, ja que curtcircuitaven el bucle microbià, cosa que constituïa el bucle viral (figura 9). Se sap que, en termes mitjans, a tot l'oceà cada dia es perd entre un 20 % i un 40 % de la biomassa bacteriana i més del 50 % de la seva producció per la lisi vírica (Suttle, 2007). Per tant, no tot el carboni bacterià serà canalitzat a nivells tròfics superiors; una part important retornarà a la columna d'aigua i serà reutilitzat de nou (Fuhrman, 1999) pels bacteris per créixer i part de la matèria orgànica alliberada per la lisi serà remineralitzada a nutrients inorgànics (nitrogen, N; fòsfor, P; sofre, S), que podran ser utilitzats pel fitoplàncton. A la vegada, les cèl·lules lisades alliberaran al medi el seu contingut constituït per diferents compostos orgànics i oligoelements com, per exemple, el ferro (Fe), element cabdal del fitoplàncton per produir clorofil·la i, per tant, per fer la fotosíntesi. En conseqüència, els virus tenen un paper fonamental en els cicles biogeoquímics de l'oceà i mantenen la matèria orgànica en suspensió a la columna d'aigua per a l'aprofitament d'altres microorganismes, i això contribueix a regular l'abundància dels seus hostes i la composició de les comunitats de microorganismes. A més, se'ls considera els més grans reservoris de diversitat a l'oceà, ja que poden transmetre els seus gens als hostes i els d'aquests a altres hostes (Brussaard *et al.*, 2008; Breitbart, 2012).

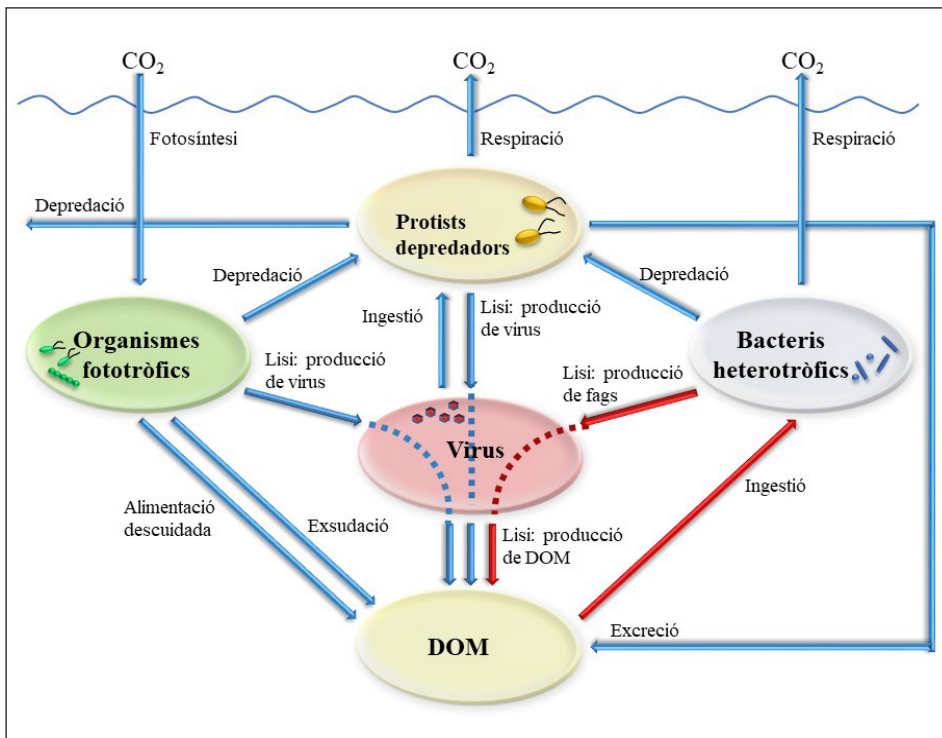


FIGURA 9. Bucle microbià, incloent-hi el paper dels virus. Les fletxes blaves mostren el flux de carboni dins del sistema i les fletxes vermelles mostren el bucle viral.

FONT: Model adaptat de Wommack i Colwell (2000) i modificat per Boras (2009).

A tall d'exemple, estudis fets en mostres de superfície de diferents sistemes marins: nord-est de l'oceà Atlàntic (Boras *et al.*, 2010b), nord-oest del mar Mediterrani (Boras *et al.*, 2009) i oceà Àrtic (Boras *et al.*, 2010a), comparaven com variaven els fluxos de carboni que anaven de bacteris a nivells tròfics superiors via protists, o bé a la columna d'aigua com a matèria orgànica dissolta degut a la lisi vírica (figura 10). En aquests tres escenaris, la importància dels virus era més gran que la depredació a l'oceà Atlàntic, semblant al mar Mediterrani i molt més baixa a l'oceà Àrtic (figura 10). Així, la taxa de carboni alliberat per la lisi bacteriana respecte a la seva producció oscil·lava des del 25 % d^{-1} al mar Mediterrani i a l'oceà Àrtic fins al 64 % d^{-1} a l'oceà Atlàntic; mentre que la depredació presentava percentatges de taxes de carboni canalitzat a nivells tròfics superiors al 25 % a l'oceà Atlàntic i entre el 30 % d^{-1} i el 100 % d^{-1} al mar Mediterrani i a l'oceà Àrtic, respectivament.

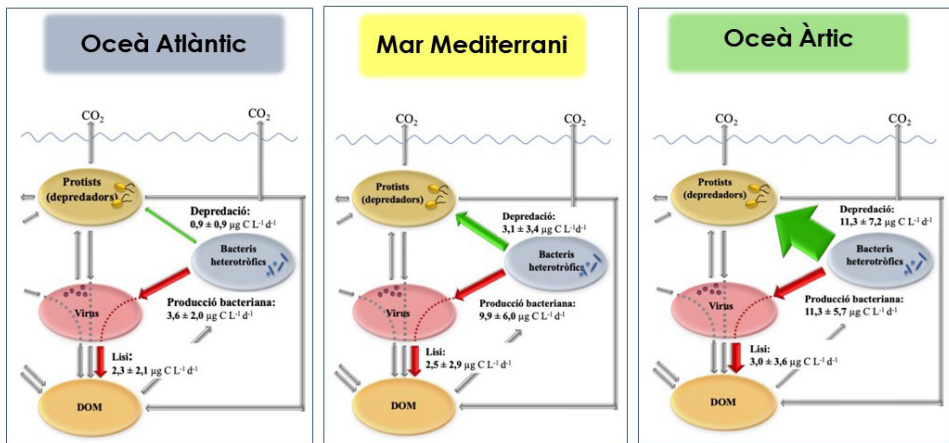


FIGURA 10. Contribució dels virus i els protists a l'hora de canalitzar els fluxos de carboni orgànic a l'oceà Atlàntic, al mar Mediterrani i a l'oceà Àrtic. Les fletxes verdes indiquen les taxes de carboni bacterià depredat pels protists. Les fletxes vermelles assenyalen la taxa de carboni dissolt que passa a la columna d'aigua per la lisi vírica. El gruix de les fletxes mostra la importància d'un tipus o d'un altre.

FONT: Esquema modificat a partir de Boras (2009).

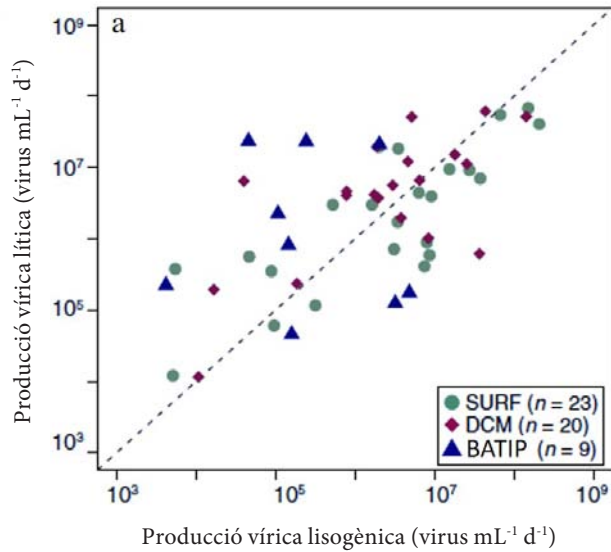
Estratègies de la infecció vírica

L'any 1997, Thingstad i Lignell presentaren el teorema *kill the winner* ('matar el guanyador', KtW) segons el qual els virus es consideraven espècie-específics i es creia que infectarien aquella espècie d'hoste més abundant, per una qüestió de probabilitat d'encontre. La seva lisi faria augmentar la concentració de matèria orgànica dissolta disponible perquè els hostes menys abundants i exitosos l'aprofitessin per créixer. Això comportaria un canvi de producció i diversitat dels hostes. En el cas de sistemes eutròfics, on l'abundància d'hostes és alta, els virus tindrien una probabilitat alta d'infectar-los i, per tant, dominaria la infecció lítica. En canvi, en sistemes oligotròfics, on l'abundància i l'activitat dels hostes és baixa, hi hauria una disminució de la probabilitat d'encontre virus-hoste i una taxa d'infecció baixa, i la lisogènia seria l'estratègia de supervivència preferible per a la comunitat viral (Jiang i Paul, 1994). Així, el virus en forma de pròfag romandria dins de l'hoste fins que les condicions fossin més propícies per a ell; per exemple, que augmentés el nombre d'hostes. És a dir, el canvi de lisi a lisogènia es trobaria sota el control de l'estat tròfic del sistema, i l'estratègia de vida canviaria de lisogènia a lisi quan milloressin les condicions tròfiques. Tanmateix, investigacions recents mostren una gran controvèrsia quant a les estratègies d'infecció vírica. En sistemes oligotròfics no sempre es compleix que la lisogènia fos el mode d'infecció

escollit pels virus, ni que la infecció lítica predominés en sistemes eutròfics (Boras *et al.*, 2009).

Per una banda, s'ha especulat que en sistemes rics, malgrat que hi ha un nombre d'hostes (per exemple, bacteris) relativament alt, la lisogènia predominaria seguint la teoria del *piggyback the winner* ('anar a coll del guanyador', PtW; Knowles *et al.*, 2016). D'acord amb aquesta teoria, l'augment de la densitat de l'hoste seria el principal impulsor del pas de la infecció lítica a la lisogènica. Això donaria lloc a una reducció del quocient virus/bacteri, i la promoció de la lisogènia conferiria avantatges competitius als bacteris dominants, que reduirien l'oportunitat de creixement dels bacteris relativament menys actius, la qual cosa faria disminuir la diversitat de la comunitat bacteriana (Knowles *et al.*, 2016). Un exemple que corroborava el model *piggyback the winner* el vam trobar durant l'expedició de circumnavegació Malaspina, on mesuràrem la lisi vírica en mostres de la zona fòtica (superfície i màxim profund de clorofil·la, 1-200 m) i de fondària (oceà fosc, 1.000-4.000 m) de tres oceans diferents (Atlàntic, Índic i Pacífic). Segons el model *kill de winner*, esperaríem que a la zona fòtica hi hagués més activitat vírica lítica que lisogènica, ja que l'abundància de bacteris i virus era més alta que a l'oceà fosc (zona batipelàgica). Però vam obtenir que en set casos de nou a la zona de l'oceà fosc (zona batipelàgica) la lisogènia dominava respecte a la lisi (figura 11a). Trobarem, de mitjana, valors de lisi i lisogènia decreixents de superfície a fondària, però els valors de lisogènia eren més elevats que la lisi a superfície i al revés, en fondària (figura 11b) (Lara *et al.*, 2017). En treballs posteriors, s'ha demostrat que els canvis de lisi a lisogènia poden seguir els dos models (KtW i PtW) sense ser excloents. Per exemple, Chen *et al.* (2019), en un ecosistema experimental, van demostrar la coexistència dels models KtW i PtW, cosa que va evidenciar una relació estreta entre els canvis d'abundància de microorganismes, la seva successió i diversitat amb l'activació de lisi a lisogènia i viceversa. Això implica que ambdós models podrien actuar consecutivament per explicar el control dels virus sobre la comunitat microbiana a l'oceà.

Per una altra banda, el fet d'observar en sistemes amb una abundància de bacteris i virus relativament baixa una mortalitat alta per virus es deuria al fet que els virus poden infectar més d'un hoste (ja que tenen diferents rangs d'infecció). És a dir, que els virus no sempre eren espècie-específics. Així, un mateix virus podia infectar diferents soques de bacteris, fins a més de vint, tal com s'observa en l'estudi de Holmfeldt *et al.* (2007), mentre que d'altres eren més específics, tal com vam mostrar a Lara *et al.* (2015). En aquest estudi, el bacteriòfag aïllat (B8b) d'una soca de *Pseudoalteromonas* sp. a l'observatori marí de Blanes, i identificat com un *Syphovirus*, podia infectar quatre soques de bacteris diferents dels cinquanta-dos analitzats. El B8b infectava tres soques diferents del gènere *Pseudoalteromonas* sp. i una soca d'*Alteromonas* sp., la qual pertanyia a una família diferent (*Alteromo-*



	Lisi (10^6 virus $\text{mL}^{-1} \text{d}^{-1}$)			Lisogènia (10^6 virus $\text{mL}^{-1} \text{d}^{-1}$)	
	Oceans	Mitjana	SE	Mitjana	SE
SUPERFÍCIE	ATL	1,8	0,8	4,5	1,4
	IN	20,4	10,3	60,0	32,4
	PAC	8,2	1,9	10,5	4,5
	TOTS	9,1	0,03	22,4	10,0
DCM (màxim profund de clorofil·la)	ATL	18,5	6,9	22,7	1,6
	IN	0,6	0,2	9,1	5,7
	PAC	1,8	3,3	7,8	3,7
	TOTS	14,7	3,3	14,3	6,6
ZONA BATIPELÀGICA	ATL	1,3	0,4	0,05	0,05
	IN	0,2	0,02	2,4	0,9
	PAC	7,5	2,9	1,1	0,6
	TOTS	3,4	1,3	1,4	0,5

FIGURA 11. a) Comparació entre l'activitat lítica i lisogènica en diferents oceans i b) a diferents fondàries; mitjana i error estàndard (SE) dels valors de lisi i lisogènia per a cada oceà i per a tots. La fletxa vermella indica la disminució de la lisi en fondària. Els valors més alts de lisi o de lisogènia per les diferents fondàries estan emmarcats en blau, més baixos en lila i iguals en verd.

NOTA: superfície (SURF), màxim profund de clorofil·la (DCM, de l'anglès *deep chlorophyll maximum*), zona batipelàgica (BATIP), oceà Atlàntic (ATL), oceà Índic (IN) i oceà Pacífic (PAC).

FONT: Modificat a partir de Lara *et al.* (2017).

nadaceae), de la qual s'havia aïllat el bacteriòfag B8b (*Pseudoalteromonadaceae*). Vam observar que l'eficiència d'infecció (58 %) sobre *Alteromonas* sp. no era tan elevada comparada amb els hostes dels quals es va aïllar el B8b (figura 12). Encara que el fet d'infectar hostes de famílies diferents era habitual per als *Myovirus* (Chang i Kim, 2011), en el cas dels *Syphovirus* només s'havia observat per a dues soques de gèneres de bacteris diferents en aigües residuals, però no per a sistemes marins. Donat que aquest bacteriòfag pot infectar més enllà dels límits de gènere, destaca el potencial d'aquest bacteriòfag perquè intervé en la transducció i, per tant, augmenta la microdiversitat, no solament entre soques bacterianes estretament relacionades, sinó també en un espai taxonòmic més ampli, i contribueix a la transferència horitzontal de gens. Aquests resultats, a més, corroboren que els virus són el reservori de diversitat més gran a l'oceà.

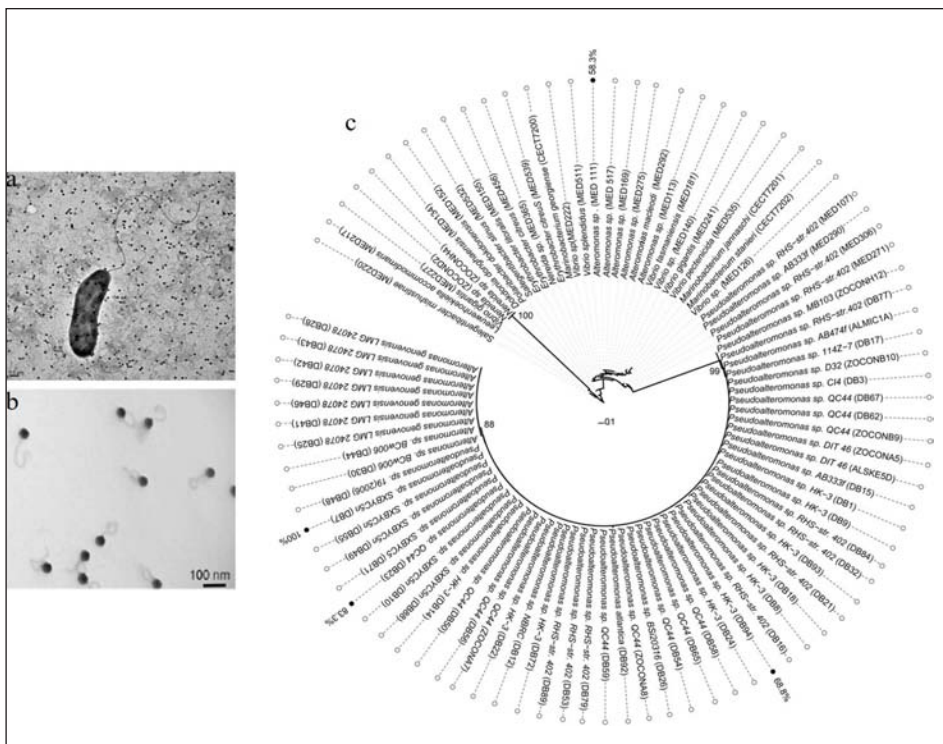


FIGURA 12. Imatges per microscòpia electrònica de transmissió de: a) *Pseudoalteromonas* sp. amb el seu bacteriòfag B8b; b) el bacteriòfag *Syphovirus* B8b; c) anàlisi filogenètiques de les soques bacterianes usades per provar el rang d'infecció del fag B8b. Les soques infectades pel *Syphovirus* B8b estan marcades amb un punt negre, i s'indica l'eficiència del fag B8b en les soques infectades.

FONT: Lara *et al.* (2015).

Diversitat vírica i qui infecta a qui a l'oceà

Als oceans hi ha força coneixement de la diversitat dels organismes que es poden distingir fàcilment per la seva morfologia (peixos, cetacis, crustacis...), que no són els més abundants, i, en canvi, estem lluny de saber quantes espècies hi ha de microorganismes amb mides < 20 µm (nano- i picoplàncton) i sobretot de virus, els quals són molt abundants. És a dir, hi ha una relació inversa entre l'abundància i la mida dels organismes i la diversitat. A partir d'una imatge al microscopi de llum transmesa o d'epifluorescència, així com imatges per citometria de flux, veiem una gran quantitat de formes similars i punts (figures 13a i 13b), però érem incapaços d'identificar qui és qui. A finals dels anys noranta, apareixen diferents tècniques per avaluar l'estructura de les comunitats virals, com són l'electroforesi de camp polsant (PFGE, de l'anglès *pulse field gel electrophoresis*; Steward, 2001) i, més tard, el mètode d'amplificació aleatòria del DNA polimòrfic (RAPD, de l'anglès *random amplification of polymorphic DNA*; Winget i Wommack, 2008). El mètode de PFGE produeix un patró de bandes, sobre un gel d'agarosa, on cada banda correspon a la mida del genoma d'un determinat virus de DNA, mentre que els patrons de bandes dels RAPD corresponen a fragments de DNA que resulten de la seva amplificació de manera aleatòria a partir d'encebadors concrets. El patró de bandes de cada mostra correspon a l'estructura d'una comunitat de virus (figures 13c i 13d). No obstant això, no ens diu quins virus s'amaguen darrere de cada banda. Però l'aparició de les tècniques metagenòmiques per seqüenciació massiva va ser crucial per a la identificació de nous virus, la qual cosa va donar un gran impuls al coneixement de la diversitat viral. Per tant, les anàlisis de metaviromes han revelat que la gran majoria de virus en mostres naturals pertanyen a grups nous sense cap representant prèviament aïllat i cultivat (Roux *et al.*, 2016; Gregory *et al.*, 2019). En un parell d'estudis recents, usant mostres de les expedicions Tara Oceans i Malaspina, es van descriure 15.200 noves poblacions virals (Roux *et al.*, 2016), el triple de les descrites fins aleshores (Brum *et al.*, 2015), mentre que, si s'hi afegien mostres àrtiques i antàrtiques, s'arribava fins a 200.000 noves poblacions virals (Gregory *et al.*, 2019). Tot i que es va aprofundint en la descripció de la diversitat de virus, som conscients que encara hi ha un gran desconeixement a l'hora de saber qui infecta a qui. D'aquest fet dependrà el coneixement sobre els canvis de diversitat de les comunitats d'hostes i els canvis en els cicles biogeoquímics.

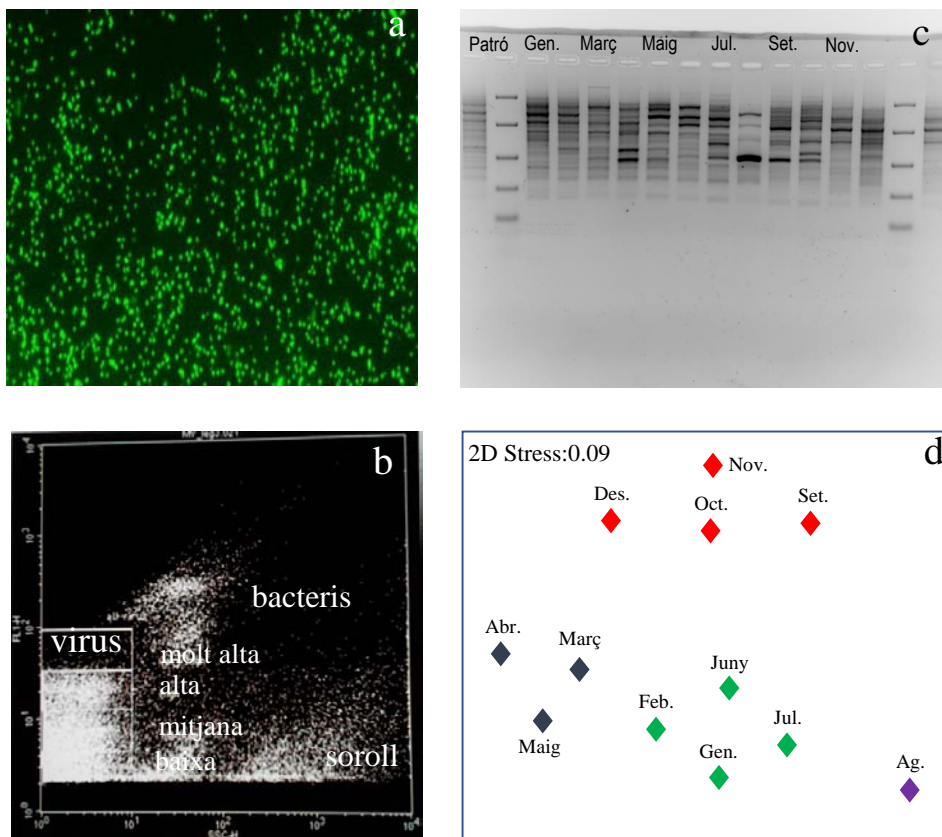


FIGURA 13. Imatges de virus: *a*) al microscopi d'epifluorescència; *b*) citometria de flux, en què es mostren les diferents fraccions que van de fluorescència baixa a molt alta; *c*) comparació de comunitats de virus per RAPD en diferents mostres al llarg de l'any de la badia de Blanes, i *d*) diferències i similituds entre comunitats de virus, gràcies a l'aplicació de l'anàlisi d'escalament multidimensional no mètric (NMDS, de l'anglès *non-metric multidimensional scaling*). Els símbols del mateix color per als diferents mesos corresponen a comunitats semblants.

FONT: Y. M. Castillo, E. Lara i D. Vaqué.

Models de virus-hoste cultivats

Una manera ideal de saber qui infecta a qui és aïllar un nombre elevat de virus marins a partir dels seus hostes i, posteriorment, fer el cultiu hoste-virus al laboratori (figura 14*a*). A continuació, es caracteritza el virus estimant la mida del seu genoma mitjançant PFGE (figura 14*b*) i s'analitza la seva morfologia i la mida de la càpsida per microscòpia electrònica de transmissió (figura 14*c*). Finalment, se'n seqüencia el genoma (figura 14*d*). L'inconvenient és que els virus aïllats i identificats

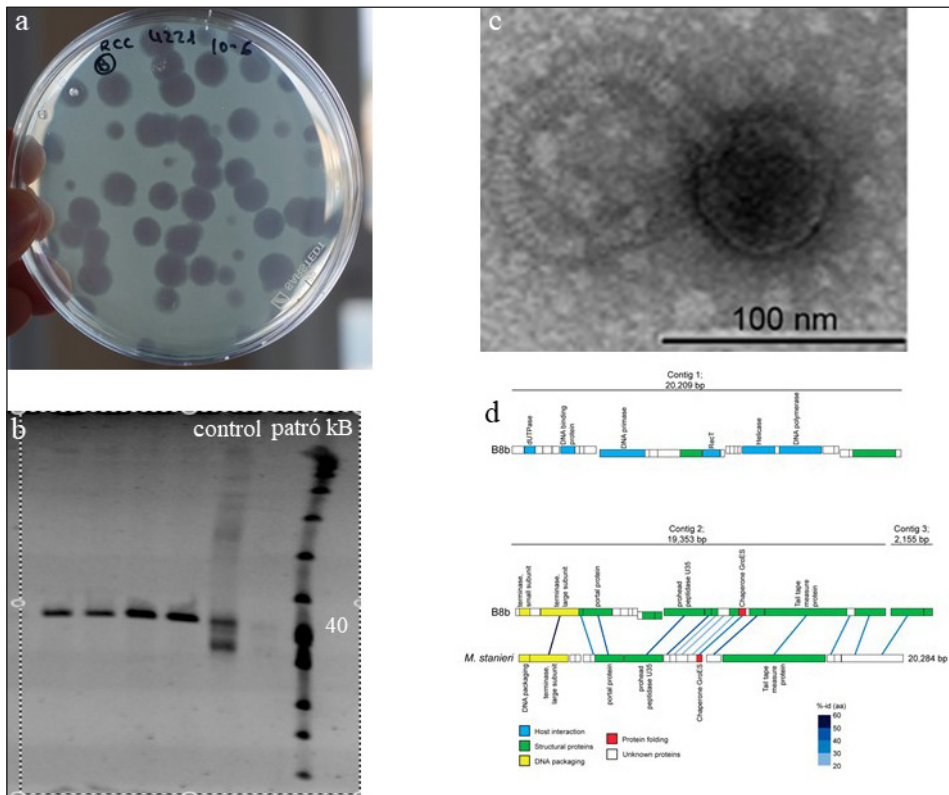


FIGURA 14. Aïllament i caracterització d'un virus. *a*) Cultiu hoste-virus (calbes); *b*) caracterització de la mida del genoma per PFGE; *c*) imatge per microscòpia electrònica de transmissió; *d*) genoma seqüenciat.

FONT: Fotos *a* i *b* de Y. M. Castillo, E. Lara i D. Vaqué; fotos *c* i *d*, Lara *et al.* (2015).

a partir de cultius representen menys del 0,1 % dels virus que hi ha al mar. Tot i això, la combinació de models de virus i hostes cultivats amb tècniques d'hibridació *in situ* fluorescent ens permetria visualitzar i quantificar la interacció entre bacteri-bacteriòfag (phageFISH, Allers *et al.*, 2013) i entre picoeucariotes-virus (virusFISH, Castillo, 2019; Castillo *et al.*, 2020) en el cultiu i després aplicar-ho a la natura. Per a la tècnica de virusFISH vam utilitzar com a model el picoeucariota marí *Ostreococcus tauri* i el seu virus: *Ostreococcus tauri* virus 5 (OtV5) (figures 15a i 15b).

Primer, en condicions experimentals, vam visualitzar i quantificar la proporció de cèl·lules d'*O. tauri* infectades al llarg del temps (figures 16a i 16b). Al cap de 72 hores ja no quedava quasi cap cèl·lula d'*O. tauri*. En observar les mostres al microscopi d'epifluorescència, després d'haver hibridat l'hoste amb un marcador

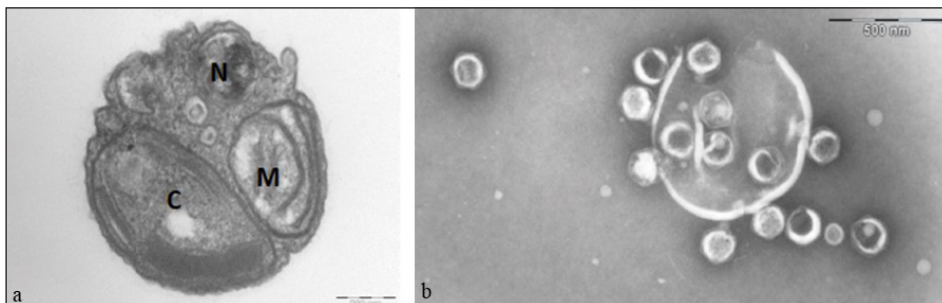


FIGURA 15. Imatges per microscòpia electrònica de transmissió de: a) *Ostreococcus tauri* (N: nucli, M: mitocondria, C: cloroplast), piceucariota d'1 μm de diàmetre; b) virus d'*O. tauri* (OtV5) amb una mida de la càpsida de 130 nm.

FONT: Imatges fetes al Parc Científic de Barcelona a la Unitat de Microscòpia Electrònica.

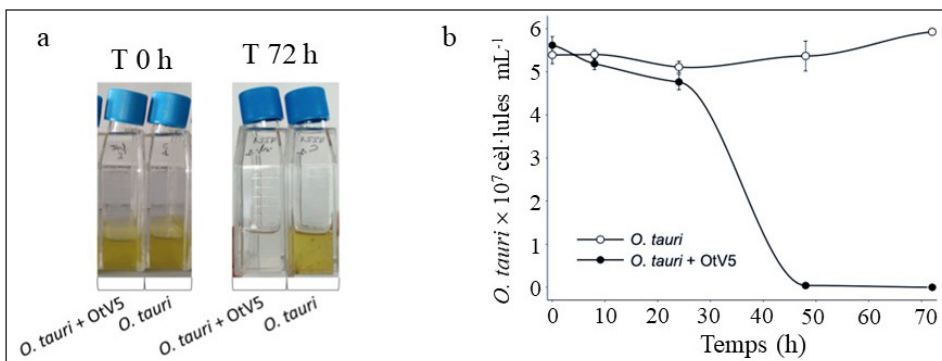


FIGURA 16. Dinàmica de la infecció per *O. tauri* amb OtV5. a) Flascos de cultiu d'infecció i control al temps 0 i 72 h; b) abundàncies de cèl·lules d'*O. tauri* detectades per hibridació *in situ* amb un marcador fluorescent i comptades per microscòpia d'epifluorescència tant en els cultius infectats (cercles sòlids) com en el control (cercles buits).

FONT: Modificat a partir de Castillo *et al.* (2020).

amb fluorescència verda i el virus OtV5 amb un marcador amb fluorescència vermella, a les 24 hores veiem que un percentatge elevat d'*O. tauri* estava infectat i a les 48 hores ja quedaven poques cèl·lules intactes (figura 17).

El pas següent era aplicar aquest mètode a comunitats naturals, on *Ostreococcus* és un gènere cosmopolita del fitoplàncton marí. Aquest microorganisme és un dels eucariotes de vida lliure més petits coneguts fins ara (~1 μm de diàmetre) i es troba en aigües mesotròfiques i oligotròfiques. Emprant virusFISH vam visualitzar i quantificar la dinàmica de la infecció vírica en poblacions naturals d'*Ostreococcus*.

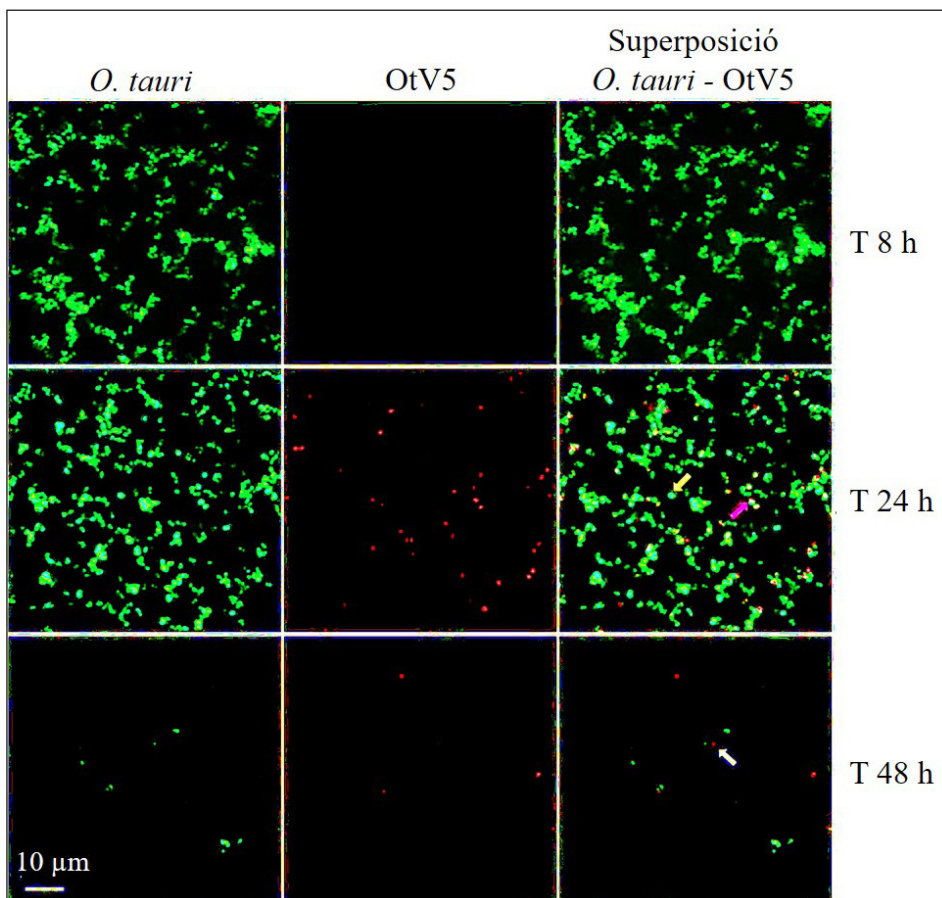


FIGURA 17. Micrografies de l'evolució de la infecció a partir de 8 h fins a 48 h. Esquerra: *O. tauri*. Centre: OtV5. Columna dreta: superposició de cèl·lules d'*O. tauri* en verd i de OtV5 en vermell. Fletxa groga: *O. tauri* no infectat; fletxa rosa: *O. tauri* infectat; fletxa grisa: núvol de virus retinguts al filtre per la matèria orgànica alliberada durant la lisi.

FONT: Modificat a partir de Castillo *et al.* (2020).

coccus durant un cicle estacional al mar Cantàbric central. Els *Ostreococcus* es van trobar predominantment a l'estiu i a la tardor a la superfície, en aigües costaneres (E1), del talús (E2) i de mar endins (E3), i representaven fins al 21 % de les comunitats de picoeucariotes. L'impacte de la infecció viral va ser variable, però més alt de maig a juliol i de novembre a desembre, quan es va infectar fins a la meitat de la població (figura 18). Per tant, poder quantificar l'impacte dels virus sobre poblacions de diferents microorganismes ens dona informació del paper que poden tenir en els cicles biogeoquímics a l'oceà (Castillo, 2019).

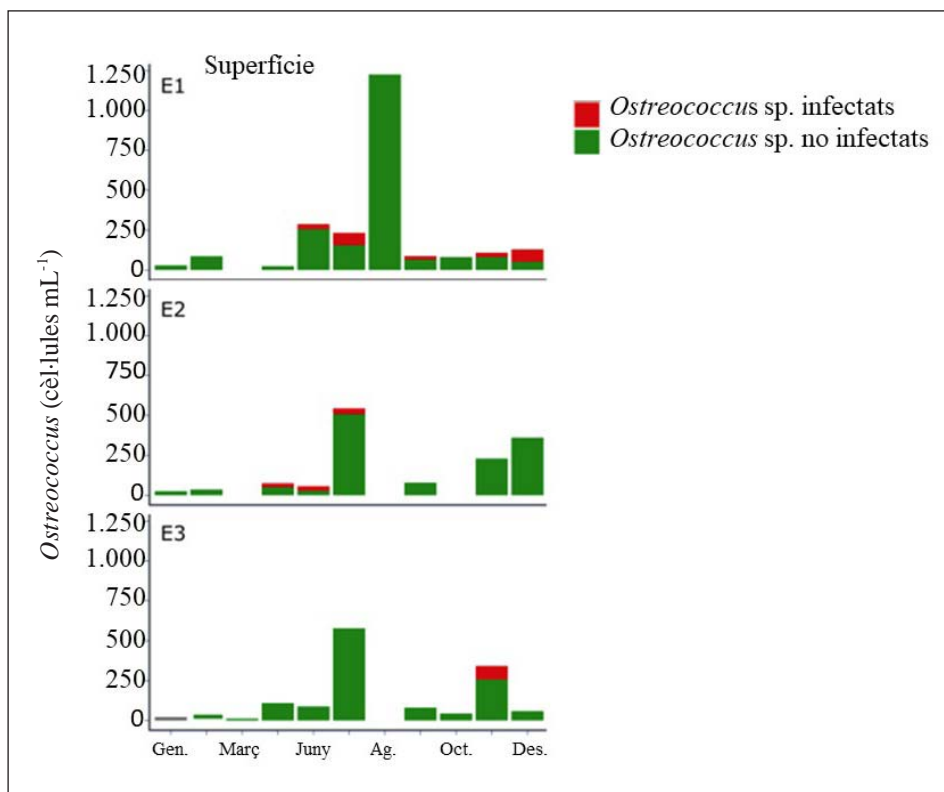


FIGURA 18. Canvis en l'abundància de cèl·lules d'*Ostreococcus* no infectades i infectades per virus, des de gener fins a desembre del 2012 en aigües costaneres (E1), de talús (E2) i de mar endins (E3) del mar Cantàbric.

NOTA: No hi ha dades per al mes d'abril.

FONT: Modificat a partir de Castillo (2019).


Models de virus-hoste no cultivats

Així com els bacteris i els protists tenen gens conservats com el 16S rDNA i 18S rDNA, respectivament, que s'utilitzen per identificar determinades espècies d'acord amb el seu genoma, en els virus no existeixen. Tot i això, en el cas d'alguns virus s'ha descrit l'existència de seqüències conservades per estudiar-ne la diversitat. Per exemple, s'han emprat encebadors específics per al gen de la DNA-polimerasa de *Phycodnaviridae* (virus de microalgues), o una regió del gen de la proteïna d'assemblatge de càpsides dels cianòfags, per estudiar la diversitat de virus de microalgues (Chen i Suttle, 1995) i cianòfags (Lu *et al.*, 2001), respectivament. No obstant això, aquestes tècniques no permeten veure qui infecta a qui.

Una de les tècniques més prometedores per detectar interaccions virus-hoste a l'oceà és la cerca de signatures víriques en genomes seqüenciats de cèl·lules individuals utilitzant la tècnica d'amplificació genòmica cel·lular (SAG, de l'anglès *single amplified genome*; Yoon *et al.*, 2011; Fischer i Hackl, 2016; Castillo *et al.*, 2019). Durant l'expedició Tara Oceans es van agafar mostres al mar Adriàtic i a l'oceà Índic per investigar la presència de gens vírics en seixanta-cinc cèl·lules individuals d'onze llinatges d'estramenopils marins —MAST— (taula 1), els quals són els pico- i nanoflagel·lats més abundants a l'oceà.

TAULA 1
Característiques generals dels SAG analitzats en mostres agafades a l'expedició Tara Oceans

Llinatges	Nre. de SAG	Estacions	Fondàries
MAST-3A (MAST-31)	4	41 (oceà Índic)	superfície
MAST-3F (MAST-32)	2	23 (mar Mediterrani)	DCM
MAST-4A	14	23 i 41	DCM
MAST-4C	4	41	DCM
MAST-4E	9	23	DCM
MAST-7	6	23 i 41	DCM
Chrysophyta G1	4	41	superfície
Chrysophyta H1	8	23	DCM
Chrysophyta H2	3	23	DCM
Dictyochophyceae	4	47 i 48	superfície
<i>Pelagomonas calceolata</i>	7	23	DCM
Total	65	—	—



FONT: Modificat a partir de Castillo *et al.* (2019).

Es va observar que en el 57 % de les cèl·lules hi havia signatures víriques, que cobrien gairebé tots els llinatges (figura 19). Només set dels seixanta-cinc virus detectats van mostrar homologies a seqüències virals conegudes (taula 2), cosa que ens confirma el gran desconeixement que hi ha sobre la diversitat dels virus eucariotes marins.

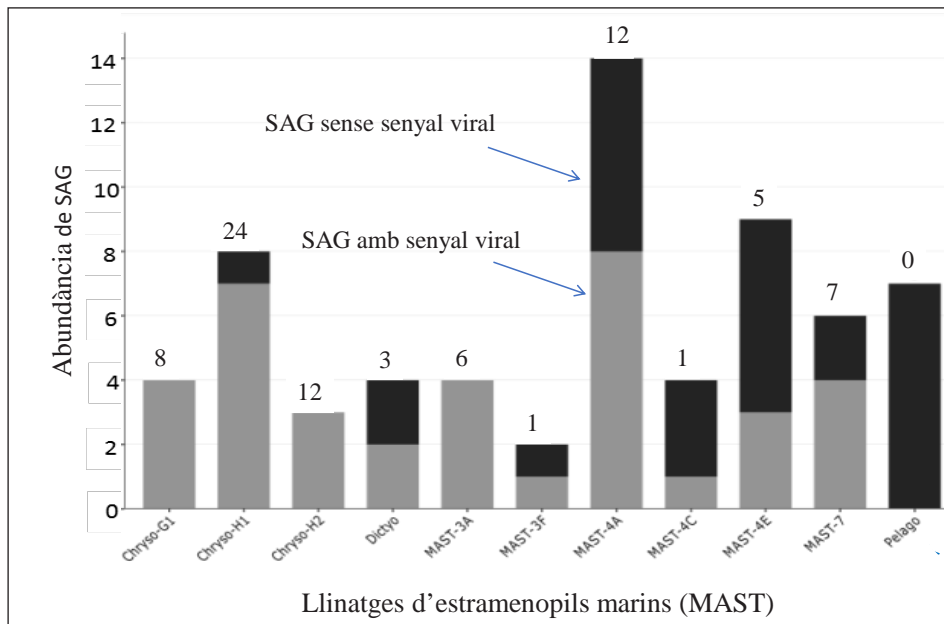


FIGURA 19. Presència i especificitat de contagis virals en seixanta-cinc SAG d'estramenopils marins. Els diagrames de barres mostren el nombre de SAG amb senyals virals en el seu genoma o sense. El nombre total de senyals virals associats a cada SAG s'indiquen a la part superior de la barra. FONT: Modificat a partir de Castillo *et al.* (2019).

Entre els senyals virals vam detectar un viròfag, pertanyent a un mavirus, integrat dins del genoma nuclear de dos estramenopils no cultivats i genèticament distants (taula 2).

TAULA 2

Comparació dels genomes de virus trobats en els SAG estudiats amb virus coneguts i identificació del mavirus (SV11) trobat en SAG distants genèticament (Chrysophyta i en el MAST-3A)

Seqüències virals associades als SAG				Assignació taxonòmica a la base de dades virus-hoste GenomeNet (Mihara <i>et al.</i> , 2016)				
Seqüències virals	Llinatge SAG (nombre de SAG)	Longitud de la seqüència (kbp)	Nombre de gens	Millor coincidència viral (GenBank número d'accés)	Família de virus	Grup d'hosts coneguts	SG:	Semblança (%)
SV11	Chryso-G1 (4), MAST-3A (1)	15,5	18	<i>Maverick-related virus</i> (mavirus, NC_015230)	Lavidviridae	Bicosocophyceae	0,96	98,3
SV27	Chryso-H2 (1)	6,4	8	<i>Aureococcus anophagefferens virus</i> (NC_024697)	Phycodnaviridae	Pelagophyceae	1,0	52,4
SV35	MAST-3F (1)	5,4	7	<i>Yellowstone lake phycodnavirus</i> (NC_028110)	Phycodnaviridae	N/D	0,3	52,9
SV46	Chryso-H1 (1)	3,7	3	YSLV6 (NC_028270)	Unclassified virophage	N/D	0,17	40,3
SV48	Chryso-G1 (1)	3,0	2	<i>Escherichia phage</i> (NC_025447)	Myoviridae	Gamma proteobacteria	0,2	41,4
SV50	MAST-7 (1)	2,9	3	<i>Ectocarpus siliculosus virus</i> (NC_002687)	Phycodnaviridae	Phaeophyceae	0,2	46,1
SV64	MAST-4A (1)	1,0	3	<i>Planctothrix phage</i> (NC_016564)	Podoviridae	Cyanobacteria	0,2	49,1

FONT: Modificat a partir de Castillo *et al.* (2019).

Els viròfags actuen defensant una determinada població de protists d'altres virus i, per tant, poden tenir un paper ecològic important en la regulació d'aquestes poblacions. Finalment, un cop identificades les seqüències de virus, vam fer una cerca d'aquestes seqüències en metagenomes obtinguts a l'oceà global, després de l'extracció de DNA en mostres recollides sobre filtres de diàmetre de porus de $< 0,2 \mu\text{m}$ i entre $0,2\text{-}3,0 \mu\text{m}$. Les nostres seqüències de virus es van trobar preferentment al màxim profund de clorofil·la (DCM, de l'anglès *deep chlorophyll maximum*) i dins de la fracció de mida de $0,2\text{-}3 \mu\text{m}$ (figura 20). Alguns dels senyals

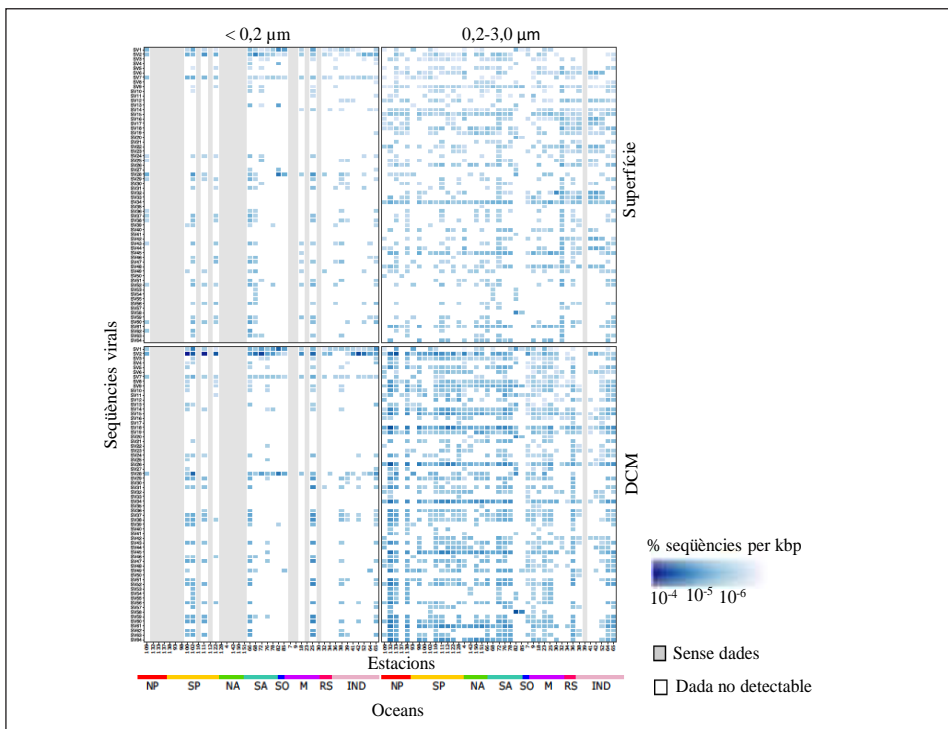


FIGURA 20. Distribució biogeogràfica de virus associats a SAG, determinada sobre fragments de DNA metagenòmic. El conjunt de seqüències virals es van trobar en metagenomes d'aigües epipelàgiques (superfície i DCM). La barra d'escala indica el percentatge de seqüències virals associades a cada SAG respecte a les seqüències trobades als metagenomes. Aquests metagenomes corresponen a virus i microorganismes recollits sobre filtres de $< 0,2 \mu\text{m}$ (panells de l'esquerra) i $0,2\text{-}3,0 \mu\text{m}$ (panells de la dreta) per a les aigües superficials (panells superiors) i DCM (panells inferiors). Les estacions en què no hi havia dades es mostren en gris, i en blanc, si no es podien detectar. Les barres de colors representen les diferents conques oceàniques.

NOTA: oceà Pacífic nord (NP), oceà Pacífic sud (SP), oceà Atlàntic nord (NA), oceà Atlàntic sud (SA), oceà sud (SO), mar Mediterrani (M), mar Roig (RS) i oceà Índic (IND).

FONT: Modificat a partir de Castillo *et al.* (2019).

virals es van distribuir àmpliament per tots els oceans, mentre que d'altres van ser limitats geogràficament. Aquests resultats apunten que la utilització de l'amplificació genòmica de cèl·lules individuals pot ser una eina poderosa per investigar les interaccions entre protists i virus no cultivats, per identificar qui infecta a qui, a més de proporcionar una nova visió sobre la diversitat viral mundial.

ELS MICROORGANISMES MARINS I EL CANVI CLIMÀTIC

Que el planeta s'escalfa és un fet (IPCC, 2014) i que en els darrers cent anys els nivells de CO₂ han augmentat exponencialment degut a la crema de combustibles fòssils també, la qual cosa ha comportat un increment global de temperatura. Tanmateix, si no fos pel mar, la concentració de CO₂ que hi ha a l'atmosfera encara seria molt més alta. El mar actua tamponant els nivells de CO₂ a través de processos, físics, químics i biològics. Així, el fitoplàncton, a part de captar el CO₂ per créixer, també pot ser que quedi segregat i transportat al fons marí, sia perquè aquest fitoplàncton quan mor sedimenta, sia perquè acabi sent depredat pel zooplàncton i excretat en forma de paquets fecals que també acabaran a l'oceà profund (bomba biològica; Passow i Carlson, 2012). A la vegada, aquests productors primaris retornaran oxigen al medi durant el procés de la fotosíntesi. Al mateix temps, els microorganismes del plàncton poden contribuir al fet que la Terra no s'escalfi encara més, mitjançant la formació de núvols, que fan que els rajos solars rebotin cap amunt (albedo) i l'ambient s'escalfi menys. Un núvol es forma gràcies a la presència de partícules —que poden provenir de diversos orígens, entre els quals el mar (Simó, 2001; Dall'Osto *et al.*, 2017)— de mides molt petites (de nanòmetres a micròmetres) que s'anomenen *nuclis de condensació*, que poden ser primaris i secundaris. Els nuclis de condensació primaris són els que surten directament des de la superfície del mar fins a l'aire quan hi ha vent i es produeixen esprais, així com cristalls de sal, un virus, un bacteri, una microalga, etc., en els quals s'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 hi intervenen processos físics, químics, biològics i biogeoquímics. Un exemple el trobem en la formació de productes derivats del dimetil-sulfopropionat (DMSP). Algunes microalgues (per exemple, haptòfits) tenen DMSP intracel·lular. Quan són depredades per zooplàncton o lisades per virus, aquest DMSP s'allibera al medi i es transforma en DMSP dissolt. Per l'acció d'uns enzims (liases) produïts per bacteris i altres algues, el DMSP passa a dimetil sulfur (DMS) (Simó, 2001). Aquest DMS, per acció de l'agitació del mar causada pel vent, surt a l'atmosfera. Allà s'oxida i finalment s'acaba transformant en cristalls de sofre, que actuaran com a nuclis de condensació per a la formació de núvols (figura 21). Hill *et al.* (1998) demostren que perquè es formi DMS es necessita la intervenció de tots aquests microorganismes: fitoplàncton, virus i bacteris.

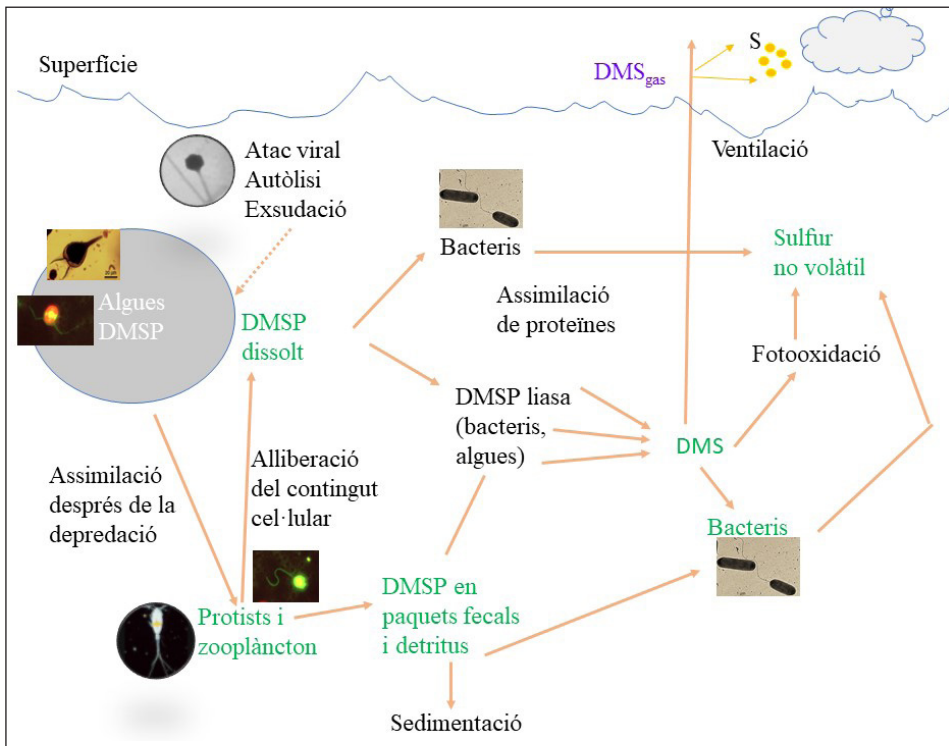


FIGURA 21. Esquema de la producció de DMS a l'aigua i a l'atmosfera per produir nuclis de condensació que donaran lloc a la formació de núvols a partir de l'alliberament del contingut cel·lular de DMSP, gràcies a la contribució dels organismes planctònics: de virus a zooplàncton.
 FONT: Modificat a partir de Simó (2001).

CONCLUSIONS

Els virus marins es caracteritzen perquè són les partícules biològiques més abundants i perquè tenen un paper cabdal en el control de l'abundància i diversitat dels microorganismes que infecten. A la vegada, són responsables d'alliberar el contingut de les cèl·lules lisades, de manera que la matèria orgànica dissolta romanrà a la columna d'aigua i podrà ser utilitzada per altres microorganismes. D'altra banda, es consideren els principals reservoris de diversitat al mar, ja que són els responsables de la transmissió horitzontal de gens: els roben d'un hoste i els donen a un altre. Finalment, els virus, juntament amb altres microorganismes, tenen un paper primordial en la regulació del clima.

BIBLIOGRAFIA

- AGUSTÍ, S.; GONZÁLEZ-GORDILLO, J. I.; VAQUÉ, D.; ESTRADA, M.; CEREZO, M. I.; SALAZAR, G.; GASOL, J. M.; DUARTE, C. M. (2015). «Ubiquitous healthy diatoms in the deep sea confirm deep carbon injection by the biological pump». *Nature Communications*, vol. 6, p. 7608-7616. DOI: 10.1038/ncomms8608.
- ALLERS, E.; MORARU, C.; DUHAIME, M. B.; BENEZE, E.; SOLONENKO, N.; BARRERO-CANOSA, J.; AMANN, R.; SULLIVAN, M. (2013). «Single-cell and population level viral infection dynamics revealed by phageFISH, a method to visualize intracellular and free viruses». *Environmental Microbiology*, vol. 15, p. 2306-2318. DOI: 10.1111/1462-2920.12100.
- AZAM, F.; FENCHEL, T.; FIELD, J. G.; GRAY, J. S.; MEYER-REIL, L. A.; THINGSTAD, T. F. (1983). «The ecological role of water-column microbes in the sea». *Marine Ecology Progress Series*, vol. 10, p. 257-263. DOI: 10.3354/meps010257.
- BJØRNSEN, P. K. (1986). «Automatic determination of bacterioplankton biomass by image analysis». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 51, p. 1199-1204.
- BOENIGK, J.; 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*, vol. 22, p. 243-249.
- BORAS, J. A. (2009). *Impact of viruses on bacterial communities in marine systems*. Tesi doctoral. Barcelona: Universitat de Barcelona, p. 221.
- BORAS, J. A.; SALA, M. M.; ARRIETA, J. M.; SÀ, E. L.; FELIPE, J.; AGUSTÍ, S.; DUARTE, C. M.; VAQUÉ, D. (2010a). «Effect of ice melting on bacterial carbon fluxes channelled by viruses and protists in the Arctic Ocean». *Polar Biology*, vol. 33, p. 1695-1707.
- BORAS, J. A.; SALA, M. M.; BALTAR, F.; ARÍSTEGUI, F.; DUARTE, C. M.; VAQUÉ, D. (2010b). «Effect of viruses and protists on bacteria in eddies of the Canary Current region (subtropical northeast Atlantic)». *Limnology and Oceanography*, vol. 55, p. 885-898.
- BORAS, J. A.; SALA, M. M.; VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E.; WEINBAUER, M. G.; VAQUÉ, D. (2009). «Annual changes of bacterial mortality due to viruses and protists in an oligotrophic coastal environment (NW Mediterranean)». *Environmental Microbiology*, vol. 11, p. 1181-1193.
- BØRSHEIM, K. Y.; BRATBAK, G.; HELDAL, M. (1990). «Enumeration and biomass estimation of planktonic bacteria and viruses by transmission electron microscopy». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 56, p. 352-356.
- BRATBAK, G.; HELDAL, M.; NORLAND, S.; THINGSTAD, T. F. (1990). «Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 56, p. 1400-1405.
- BREITBART, M. (2012). «Marine viruses: Truth or dare». *Annual Revision in Marine Science*, vol. 4, p. 425-448. DOI: 10.1146/annurev-marine-120709-142805.
- BREITBART, M.; ROHWER, F. (2005). «Here a virus, there a virus, everywhere the same virus?». *Trends in Microbiology*, vol. 13, p. 278-284.
- BRUM, J.; IGNACIO-ESPINOZA, J.; ROUX, S.; DOULCIER, G.; ACINAS, S.; ALBERTI, A.; CHAFRON, S.; CRUAUD, C.; VARGAS, DE C.; GASOL, J. M.; GORSKY, G.; GREGORY, A.;

- GUIDI, L.; HINGAMP, P.; IUDICONE, D.; NOT, F.; OGATA, H.; PESANT, S.; POULOS, B.; SCHWENCK, S.; SPEICH, S.; DIMIER, C.; KANDELS-LEWIS, S.; PICHERAL, M.; SEARSON, S.; TARA OCEANS COORDINATORS; BORK, P.; BOWLER, C.; SUNAGAWA, S.; WINCKER, P.; KARSENTI, E.; SULLIVAN, M. (2015). «Patterns and ecological drivers of ocean viral communities». *Science*, vol. 348, 1261498.
- BRUSSAARD, C. P. D. (2004). «Optimisation of procedures for counting viruses by flow cytometry». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 70, p. 1506-1513.
- BRUSSAARD, C. P. D.; WILHELM, S. W.; THINGSTAD, F.; WEINBAUER, M. G.; BRATBAK, G.; HELDAL, M.; KIMMANCE, S. A.; MIDDELBOE, M.; NAGASAKI, K.; PAUL, J. H.; SCHROEDER, D. C.; SUTTLE, C. A.; VAQUÉ, D.; WOMMACK, K. E. (2008). «Global-scale processes with a nanoscale drive: The role of marine viruses». *ISME Journal*, vol. 2, p. 575-578.
- CASTILLO, Y. M. (2019). *Interactions between marine picoeukaryotes and their viruses one cell at a time*. Tesi doctoral. Barcelona: Universitat de Barcelona. 203 p.
- CASTILLO, Y. M.; MANGOT, J.; BENITES, L. F.; LOGARES, R.; KURONISHI, M.; OGATA, H.; JAILLON, O.; MASSANA, R.; SEBASTIÁN, M.; VAQUÉ, D. (2019). «Assessing the viral content of uncultured picoeukaryotes in the global-ocean by single cell genomics». *Molecular Ecology*, vol. 28, p. 4272-4289. DOI: 10.1111/mec.15210.
- CASTILLO, Y. M.; SEBASTIÁN, M.; FORN, I.; GRIMSLEY, N.; YAU, S.; MORARU, C.; VAQUÉ, D. (2020). «Visualization of viral infection dynamics in a unicellular eukaryote and quantification of viral production using virus fluorescence in situ hybridization». *Frontiers Microbiology*, vol. 11, p. 1559. DOI: 10.3389/fmicb.2020.01559.
- CHANG, H. W.; KIM, K. H. (2011). «Comparative genomic analysis of bacteriophage EP23 infecting *Shigella sonnei* and *Escherichia coli*». *Journal of Microbiology*, vol. 49, p. 927-934. DOI: 10.1007/s12275-011-1577-0 PMID:22203555.
- CHEN, X.; MA, R.; YANG, Y.; JIAO, N.; ZHANG, R. (2019). «Viral regulation on bacterial community impacted by lysis-lysogeny switch: A microcosm experiment in eutrophic coastal waters». *Frontiers Microbiology*, vol. 10, p. 1763. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01763.
- CHEN, F.; SUTTLE, C. A. (1995). «Amplification of DNA polymerase gene fragments from viruses infecting microalgae». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 61, p. 1274-1278.
- CHRÓST, R. J.; KRAMBECK, H. J. (1986). «Fluorescence correction for measurements of enzyme activity in natural waters using methylumbelliferyl substrates». *Archive Hydrobiology*, vol. 106, p. 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.; ORTEGA-RETUERTA, E.; EMELIANOV, M.; VAQUÉ, D.; MARRASÉ, C.; ESTRADA, M.; SALA, M.; VIDAL, M.; FITZSIMONS, M.; BEALE, R.; AIRS, R.; RINALDI, M.; DECESARI, S.; FACCHINI, M. C.; HARRISON, R.; O'DOWD, C.; SIMÓ, R. (2017). «Antarctic sea ice region as a source of biogenic organic nitrogen in aerosols». *Scientific Reports*, vol. 7, p. 1-10.
- DARWIN, C. (1838). «Voyage of the Beagle». A: *eLib.at* (Hrg.) [en línia]. <https://www.univie.ac.at/elib/index.php?title=Charles_Darwin_-_Voyage_of_the_Beagle_-_1838>.

- FENCHEL, T. (1982a). «Ecology of heterotrophic microflagellates. 1. Some important forms and their functional morphology». *Marine Ecology Progress Series*, vol. 8, p. 211-223.
- (1982b). «Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers». *Marine Ecology Progress Series*, vol. 9, p. 35-42.
- (1987). *Ecology of Protozoa*. Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag.
- FISCHER, M. G.; HACKL, T. (2016). «Host genome integration and giant virus-induced reactivation of the virophage mavirus». *Nature* [en línea], vol. 540, p. 288-291. <<https://doi.org/10.1038/nature20593>>.
- FUHRMAN, J. A. (1999). «Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects». *Nature*, vol. 399, p. 541-548.
- FUHRMAN, J. A.; AZAM, F. (1982). «Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: Evaluation and field results». *Marine Biology*, vol. 66, p. 109-120.
- GREGORY, A. C.; ZAYED, A. A.; CONCEIÇÃO-NETO, A. A.; SUNAGAWA, S.; WINCKER, P.; SULLIVAN, M. B. (2019). «Marine DNA viral macro- and microdiversity from Pole to Pole». *Cell*, vol. 177, p. 1109-1123.
- HILL, R. W.; WHITE, B. A.; COTTRELL, M. T.; DACEY, J. W. (1998). «Virus-mediated total release of dimethylsulfoniopropionate from marine phytoplankton: A potential climate process». *Aquatic Microbial Ecology*, vol. 14, p. 1-6.
- HOBBIE, J. E.; DALEY, R. J.; JASPER, S. (1978). «Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 33, p. 1225-1228.
- HOFER, J. S.; SOMMARUGA, R. (2001). «Seasonal dynamics of viruses in an alpine lake: Importance of filamentous forms». *Aquatic Microbial Ecology*, vol. 26, p. 1-11.
- HOLLIBAUGH, J. T.; FUHRMAN, J. A.; AZAM, F. (1980). «Radioactively labeling natural assemblages of bacterioplankton for use in trophic studies». *Limnology and Oceanography*, vol. 25, p. 172-181.
- HOLMFELDT, K.; MIDDELBOE, M.; NYBROE, O.; RIEMANN, L. (2007). «Large variabilities in host strain susceptibility and phage host range govern interactions between lytic marine phages and their *Flavobacterium* hosts». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 73, p. 6730-6739. DOI: 10.1128/AEM.01399-07.
- HOPPE, H.-G.; KIM, S. J.; GOCKE, K. (1988). «Microbial decomposition in aquatic environments combined process of extracellular enzyme-activity and substrate uptake». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 54, p. 784-790.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC) (2014). *Drivers, trends and mitigation* [en línea]. <https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/2018/02/ipcc_wg3_ar5_chapter5.pdf>.
- JIANG, S. C.; PAUL, J. H. (1994). «Seasonal and diel abundance of viruses and occurrence of lysogeny/bacteriocinogeny in the marine environment». *Marine Ecology Progress Series*, vol. 104, p. 163-172.
- JÜRGENS, K.; MASSANA, R. (2008). «Protistan grazing on marine bacterioplankton». A: KIRCHMAN, D. L. (ed.). *Microbial ecology of the oceans*. 2a ed. Nova York: John Wiley & Sons, Inc., p. 383-441.

- KARL, D. M. (1979). «Measurement of microbial activity and growth in the ocean by rates of stable ribonucleic acid synthesis». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 38, p. 850-860. DOI: 10.1128/AEM.38.5.850-860.
- KNOWLES, B.; SILVEIRA, C. B.; BAILEY, B. A.; BAROTT, K.; CANTU, V. A.; COBIÁN-GÜEMES, A. G.; COUTINHO, F. H. E.; DINSDALE, A.; FELTS, B.; FURBY, K. A.; GEORGE, E. E.; GREEN, K. T.; GREGORACCI, G. B.; HAAS, A. F.; HAGGERTY, J. M.; HESTER, E. R.; HISAKAWA, N.; KELLY, L. W.; LIM, Y. W.; LITTLE, M.; LUQUE, A.; MCDOLE-SOMERA, T.; MCNAIR, K.; OLIVEIRA, L. S. de; QUISTAD, S. D.; ROBINETT, N. L.; SALA, E.; SALAMON, P.; SANCHEZ, S. E.; SANDIN, S.; SILVA, G. G. Z.; SMITH, J.; SULLIVAN, C.; THOMPSON, C.; VERMEIJ, M. J. A.; YOULE, M.; THOMPSON, C. F.; ROHWER, F. (2016). «Lytic to temperate switching of viral communities». *Nature*, vol. 531, p. 466-470.
- LABONTÉ, J. M.; SUTTLE, C. A. (2013). «Previously unknown and highly divergent ssDNA viruses populate the oceans». *ISME Journal*, vol. 11, p. 2169-2177.
- LANG, A. S.; RISE, M. L.; CULLEY, A. I.; STEWARD, G. F. (2009). «RNA viruses in the sea». *FEMS Microbiology Review*, vol. 33, p. 295-323. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2008.00132.x.
- 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.; ACINAS, S. G. (2015). «Life-style and genome structure of marine *Pseudoalteromonas* Siphovirus B8b isolated from the northwestern Mediterranean Sea». *PLOS ONE*. DOI: 10.1371/journal.pone.0114829.
- LARA, E.; VAQUÉ, D.; SÀ, E. L.; BORAS, J. A.; GOMES, A.; BORRULL, E.; DíEZ-VIVES, C.; TEIRA, E.; PERNICE, M. C.; GARCIA, F. C.; FORN, I.; CASTILLO, Y. M.; PEIRÓ, A.; SALAZAR, G.; MORÁN, X. A. G.; MASSANA, R.; CATALÁ, T.; LUNA, G. M.; AGUSTÍ, A.; ESTRADA, M.; GASOL, J. M.; DUARTE, C. M. (2017). «Unveiling the role and life strategies of viruses from the surface to the dark ocean». *Science Advances*, vol. 3, e1602565.
- LU, J.; CHEN, F.; HODSON, R. E. (2001). «Distribution, isolation, host specificity, and diversity of cyanophages infecting marine *Synechococcus* spp. in river estuaries». *Applied and Environmental Microbiology*. DOI: 10.1128/AEM.67.7.3285-3290.2001.
- MARGALEF, R. (1973). «Distribución de los ciliados planctónicos en la región de afloramiento del noroeste de África (campana "sahara II" del "cornide de Saavedra")». A: *Resultados de expediciones científicas del Buque Oceanográfico «Cornide de Saavedra»*. Vol. 2, p. 109-124.
- (1982). «Some thoughts on the dynamics of populations of ciliates». *Annales Institut Oceanographique*, vol. 58, p. 15-18.
- MIHARA, T.; NISHIMURA, Y.; SHIMIZU, Y.; NISHIYAMA, H.; YOSHIKAWA, G.; UEHARA, H.; HINGAMP, P.; GOTO, S.; OGATA, H. (2016). «Linking virus genomes with host taxonomy». *Viruses* [en línea], vol. 8, núm. 3, p. 66. <<https://doi.org/10.3390/v8030066>>.
- MOEBUS, K. (1996). «Marine bacteriophage reproduction under nutrient-limited growth of host bacteria. 2. Investigations with phage-host system». *Marine Ecology Progress Series*, vol. 144, p. 13-22.
- (1997). «Investigations of the marine lysogenic bacterium H24.2. Development of pseudolysogeny in nutrient rich broth». *Marine Ecology Progress Series*, vol. 148, p. 229-240.

- NOBLE, R. T.; FUHRMAN, J. A. (1998). «Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses and bacteria». *Aquatic Microbial Ecology* [en línia], vol. 14, p. 113-118. <<https://doi.org/10.3354/meps09985>>.
- PASSOW, U.; CARLSON, C. A. (2012). «The biological pump in a high CO₂ world». *Marine Ecology Progress Series*, vol. 70, p. 249-271.
- POMEROY, L. R. (1974). «The ocean's food web: A changing paradigm». *BioScience*, vol. 24, p. 499-504.
- PORTER, K.; FEIG, Y. S. (1980). «The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora». *Limnology and Oceanography*, vol. 25, p. 943-948.
- RIPP, S.; MILLER, R. V. (1997). «The role of pseudolysogeny in bacteriophage-host interactions in a natural freshwater environment». *Microbiology*, vol. 143, p. 2065-2070.
- ROUX, S.; BRUM, J. R.; DUTILH, B. E.; SUNAGAWA, S.; DUHAIME, M. B.; LOY, A.; POULOS, B. T.; SOLONENKO, N.; LARA, E.; POULAIN, J.; PESANT, S.; KANDELS-LEWIS, S.; DIMIER, S.; PICHERAL, M.; SEARSON, S.; CRUAUD, C.; ALBERTI, A.; DUARTE, C. M.; GASOL, J. M.; VAQUÉ, D.; TARA OCEANS COORDINATORS; BORK, P.; ACINAS, S. G.; WINCKER, P.; SULLIVAN, M. B. (2016). «Ecogenomics and potential biogeochemical impacts of globally abundant ocean viruses». *Nature*, vol. 537, p. 689. DOI: 10.1038/nature19366.
- RUSSEL, M.; MODEL, P. (2006). «Filamentous phage». A: CALENDAR, R. L.; ABEDON, S. T. (ed.). *The bacteriophages*. Oxford: Oxford University Press, p. 146-160.
- SHERR, B. F.; SHERR, E. B.; FALLON, R. D. (1987). «Use of monodispersed, fluorescently labeled bacteria to estimate in situ protozoan bacterivory». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 53, p. 958-965.
- SIMÓ, R. (2001). «Production of atmospheric sulfur by oceanic plankton: Biogeochemical, ecological and evolutionary links». *Trends in Ecology and Evolution*, vol. 16, p. 287-294.
- SOROKIN, Y. I. (1978). «Decomposition of organic matter and nutrient regeneration». A: KINNE, O. (ed.). *Marine ecology. IV: Dynamics*. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley, p. 501-516.
- SPENCER, R. (1955). «A marine bacteriophage». *Nature*, vol. 175, p. 690.
- STEWART, G. (2001). «Fingerprinting viral assemblages by pulsed field gel electrophoresis (PFGE)». *Methods in Microbiology*, vol. 30, p. 85-103.
- SUTTLE, C. A. (2007). «Marine viruses - major players in the global ecosystem». *Nature Reviews in Microbiology*, vol. 5, p. 801-812. DOI: 10.1038/nrmicro1750.
- THINGSTAD, T. F.; LIGNELL, R. (1997). «Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand». *Aquatic Microbial Ecology*, vol. 13, p. 19-27.
- TORRELLA, F.; 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*, vol. 37, p. 774-778. DOI: 10.1128/AEM.37.4.774-778.
- VAQUÉ, D.; BLOUGH, H.; DUARTE, C. M. (1997). «Dynamics of ciliate abundance, biomass and community composition in an oligotrophic coastal environment (NW Mediterranean)». *Aquatic Microbial Ecology*, vol. 12, p. 71-83. DOI: 10.3354/ame012071.

- VAQUÉ, D.; GASOL, J. M.; MARRASÉ, C. (1994). «Grazing rates on bacteria: The significance of methodology and ecological factors». *Marine Ecology Progress Series*, vol. 109, p. 263-274.
- WINGET, D. M.; WOMMACK, K. E. (2008). «Randomly amplified polymorphic DNA PCR as a tool for assessment of marine viral richness». *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 74, p. 2612-2618.
- WOMMACK, K. E.; COLWELL, R. R. (2000). «Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems». *Microbial Molecular Biology Reviews*, vol. 64, p. 69-114.
- YOON, H. S.; PRICE, D. C.; STEPANAUSKAS, R.; RAJAH, V. D.; SIERACKI, M. E.; WILSON, W. H.; YANG, E. C.; DUFFY, S.; BHATTACHARYA, D. (2011). «Single-cell genomics reveals organismal interactions in uncultivated marine protists». *Science*, vol. 332, p. 714. DOI: 10.1126/science.1203163.
- ZOBELL, C. E. (1946). *Marine microbiology: A monograph on hydrobacteriology*. Waltham, MA: Chronica Botanica, p. 240.
- ZOBELL, C. E.; ANDERSON, D. Q. (1946). «Observations on the multiplication of bacteria in different volumes of stored sea water and the influence of oxygen tension and solid surfaces». *The Biological Bulletin*, vol. 71, p. 324-342. DOI: 10.2307/1537438.

