

Petits depredadors marins

Ramon Massana

Institut de Ciències del Mar (ICM-CSIC)

Correspondència: Ramon Massana. Institut de Ciències del Mar (ICM-CSIC). Passeig Marítim de la Barceloneta, 37-49. 08003 Barcelona. Adreça electrònica: ramonm@icm.csic.es.

DOI: 10.2436/20.1501.02.186

ISSN (ed. impresa): 0212-3037

ISSN (ed. digital): 2013-9802

<http://revistes.iec.cat/index.php/TSCB>

Rebut: 01/04/2019

Acceptat: 30/04/2019

Resum

Una de les grans transicions en l'evolució de la vida fou quan un organisme unicel·lular va aprendre a menjar-ne un altre, fet que va permetre l'establiment de les xarxes tròfiques i la formació d'organismes i ecosistemes més complexos. La majoria d'eucariotes unicel·lulars actuals han mantingut la capacitat depredadora ancestral i tenen un gran protagonisme en les xarxes tròfiques marines, on bona part de la producció primària i secundària és microbiana. Els depredadors més petits d'aquests ecosistemes, eucariotes unicel·lulars sense pigments i amb flagel, són els agents principals de la mortalitat de procariotes marins, són preses per a nivells tròfics superiors i tenen un paper clau en la remineralització de nutrients inorgànics. En aquest treball exposarem què sabem d'aquest grup de depredadors des d'un punt de vista ecològic i evolutiu: qui són, quants n'hi ha i què fan. Aquest component essencial dels sistemes marins comença a estar ben caracteritzat.

Paraules clau: depredació, diversitat, fagocitosi, flagel·lats heteròtrofs, estramenòpils marins.

Introducció

La depredació és un fenomen natural que sempre ens ha atret i fascinat (vegeu la figura 1). A grans trets, agrupem els organismes d'un ecosistema en productors primaris (les plantes), herbívors (que mengen plantes), depredadors (que mengen preses vives) i carronyaires (que s'alimenten de matèria orgànica no viva). La depredació seria doncs un animal menjant-se'n un altre per obtenir-ne els recursos per a viure, créixer i reproduir-se. El primer que ens ve al cap podria ser la sabana africana, on grups de lleones es preparen per a assetjar un ramat de zebres, en cacen alguna i se la mengen. Altres casos ben carismàtics serien l'àliga imperial, au rapinyaire que caça conills, o el tauró blanc caçant tonyines. En una altra escala menys vistosa hi trobaríem gripaus menjant cucs, o libèl·lules menjant insectes. A nivell històric, la depredació que ha dut a terme l'espècie humana ha estat la responsable de la desaparició de grans mamífers terrestres com els mamuts fa unes poques desenes de milers d'anys (Johnson, 2002) i de re-estruc-turar l'extinció també dels seus depredadors, com els dents de sabre. En els darrers segles, la pesca massiva d'animals marins ha provocat també l'extinció o gran davallada de les seves poblacions. Clarament, la depredació ha estat i

és una interacció biològica fonamental i estructuradora de la majoria d'ecosistemes i que ha generat molts estudis per a entendre'n els mecanismes, les relacions concretes entre depre-

dador i presa, i els costos i beneficis d'aquesta interacció tròfica (Dawkins i Krebs, 1979).

En paral·lel a aquesta realitat que percebem intuïtivament hi ha un món microbià que



.....
↑ Figura 1. Exemples de depredació per diferents classes d'animals (mamífer, au, amfibi i insecte) dins del món macroscòpic i observable. Imatges extretes de Wikimedia Commons (a dalt, esquerra); Free Range Stock (a dalt, dreta); Pixabay (a baix, esquerra), i FreelMG (a baix, dreta).
.....

Small marine predators

Summary

One of the major transitions in the evolution of life was when one unicellular organism learned to eat another, allowing the establishment of food webs and the formation of complex organisms and ecosystems. Most unicellular eukaryotes known today have maintained this ancestral predation capacity and are very important players in marine food webs, where a large share of primary and secondary production is due to microbes. The smallest predators in marine ecosystems, unicellular colorless flagellated eukaryotes, are the principal agents of prokaryotic mortality and potential prey for upper trophic levels, playing a key role in the remineralization of inorganic nutrients. Here we will review our knowledge of this assemblage of small predators from an ecological and evolutionary perspective, looking at who they are, their numbers and what they do. This essential component of marine systems is beginning to be well characterized in our times.

Keywords: predation, diversity, phagocytosis, heterotrophic flagellates, marine stramenopiles.

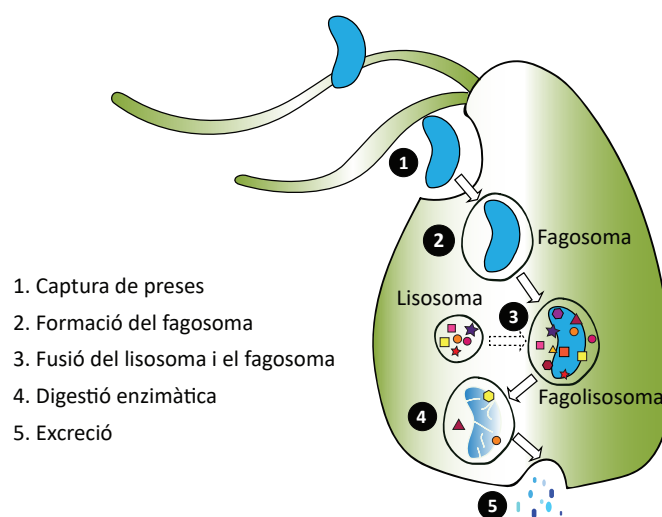
ens és invisible i que és fonamental en molts aspectes ecològics i evolutius. Efectivament, la vida aparegué i evolucionà majoritàriament en formes microbianes, i gran part de la biodiversitat existent avui dia és microscòpica. Els microorganismes també són essencials per a entendre la construcció i el funcionament dels ecosistemes: representen la majoria dels éssers vius de qualsevol hàbitat i sovint també n'expliquen la major part de la biomassa i activitat (Falkowski *et al.*, 2008). En concret, suspesos a l'aigua de mar hi viuen milions de microorganismes que, en termes de producció primària, respiració i cicles biogeoquímics, són molt més importants que les carismàtiques balenes, tonyines o posidònies (DeLong, 2009). Aquesta comunitat microbiana, molt heterogènia en mides, formes, estructures i modes tròfics, també amaga un munt d'interaccions biològiques, i d'entre elles la depredació és una de les més interessants d'analitzar. Els microorganismes són generalment unicel·lulars, així doncs, els seus mecanismes de depredació són totalment diferents dels mecanismes dels lleons, guineus, gripaus i libèl·lules. La depredació portada a terme per organismes unicel·lulars s'anomena *fagocitosi*, i és la capacitat d'una cèl·lula de menjar-se'n una altra.

La depredació, una funció eucariota

L'origen de la vida fou en forma de cèl·lula procariota, en aparèixer un organisme capaç d'emmagatzemar informació per a la seva conformació i activitat i de propagar aquesta informació a la seva descendència (Peretó, 2014). La cèl·lula procariota és petita (al voltant d'un micròmetre), té poca estructura interna i està generalment envoltada d'una coberta rígida. Durant més de la meitat de la història de la Terra, la vida va ser exclusivament procariota i es va diversificar en diferents maneres d'interaccionar amb l'entorn. Va aparèixer la capacitat d'utilitzar una gran varietat de compostos orgànics i inorgànics per a la nutrició i la respiració, es va inventar la fotosíntesi i van crear-se consorcis microbians en formes més o menys estables de simbiosi. En algun moment de l'evolució, fa uns mil vuit-cents milions d'anys (Parfrey *et al.*, 2011), va aparèixer la cèl·lula eucariota per la combinació d'un arqueu que va proveir l'estructura cel·lular i un bacteri que va esdevenir el mitocondri, la màquina energètica d'aquest nou organisme. Hi ha hagut molts esforços per a intentar explicar com es va formar aquesta associació i darrerament s'han presentat dues

hipòtesis contraposades (Martin *et al.*, 2017). Una diu que primer va aparèixer un arqueu que va aprendre a fagocitar i una de les preses es va escapar de la digestió per esdevenir el mitocondri (*mitochondria late*). L'altra parla d'una associació simbiòtica entre un arqueu i un bacteri (*mitochondria early*) que va aportar l'energia necessària per a les següents innovacions, incloent la capacitat de fagocitar. Sigui quina sigui la hipòtesi correcta, és clar que la depredació és un tret ancestral (fins i tot creador) de la cèl·lula eucariota. Els principals canvis cel·lulars que ho van permetre van ser la pèrdua de la coberta rígida externa, el desenvolupament d'un sistema d'endomembranes i la formació d'un citoesquelet de fibres proteiques capaç de promoure els vacúols digestius. El nou llinatge eucariòtic unicel·lular i depredador es va anar diversificant i, fruit d'un altre esdeveniment simbiòtic exitós fa uns mil dos-cents milions d'anys, va aparèixer el cloroplast, un cianobacteri també segregat. La vida unicel·lular va continuar evolucionant i no va ser fins fa uns sis-cents milions d'anys que van aparèixer els primers organismes multicel·lulars en forma d'animals. Els animals van mantenir la capacitat de depredació però desenvolupant mecanismes totalment diferents, basats en teixits especialitzats per a la captura i digestió de les preses. A més, van mantenir la fagocitosi dins del sistema immunitari, principalment a càrrec dels glòbuls blancs o fagòcits, com a mecanisme de defensa davant de microorganismes patògens invasors.

La fagocitosi té diferents fases ben diferenciades (vegeu la figura 2). Primerament hi ha el contacte del depredador amb la presa. En preses que viuen sobre substrats, aquest contacte pot donar-se per extrusions citoplasmàtiques del depredador, els pseudopodis, que acaben englobant les preses. En organismes que viuen suspesos a l'aigua, el contacte és afavorit pel moviment ondulatori d'un o més flagels que dirigeixen el depredador cap a la presa o bé que creen corrents d'alimentació per atraure les preses. En mecànica de fluids, l'escala microbiana es caracteritza per un predomini de la viscositat damunt les forces inercials, per la qual cosa el moviment de partícules i la seva captura és un fenomen poc intuïtiu i complicat de modelar (Fernandez *et al.*, 2019). Després del contacte, la segona fase és la formació d'un vacúol digestiu, on participen les fibres del citoesquelet que tiben per crear una invaginació de la membrana citoplasmàtica amb la presa dins. Un cop format, aquest vacúol primari o fagosoma es comença ja a acidificar. La tercera fase consisteix en la fusió del fagosoma amb el lisosoma, que conté els enzims digestius i acaba d'acidificar el compartiment. Aquesta fusió genera el fagolisosoma, que és on s'esdevé la digestió i on es dona el moviment dels nutrients digerits cap al citoplasma per difusió o per transport actiu. La darrera fase de la fagocitosi és el reciclatge dels enzims digestius, la fusió del fagolisosoma amb la membrana nuclear i l'excreció del material no digerit per exocitosi. El coneixement



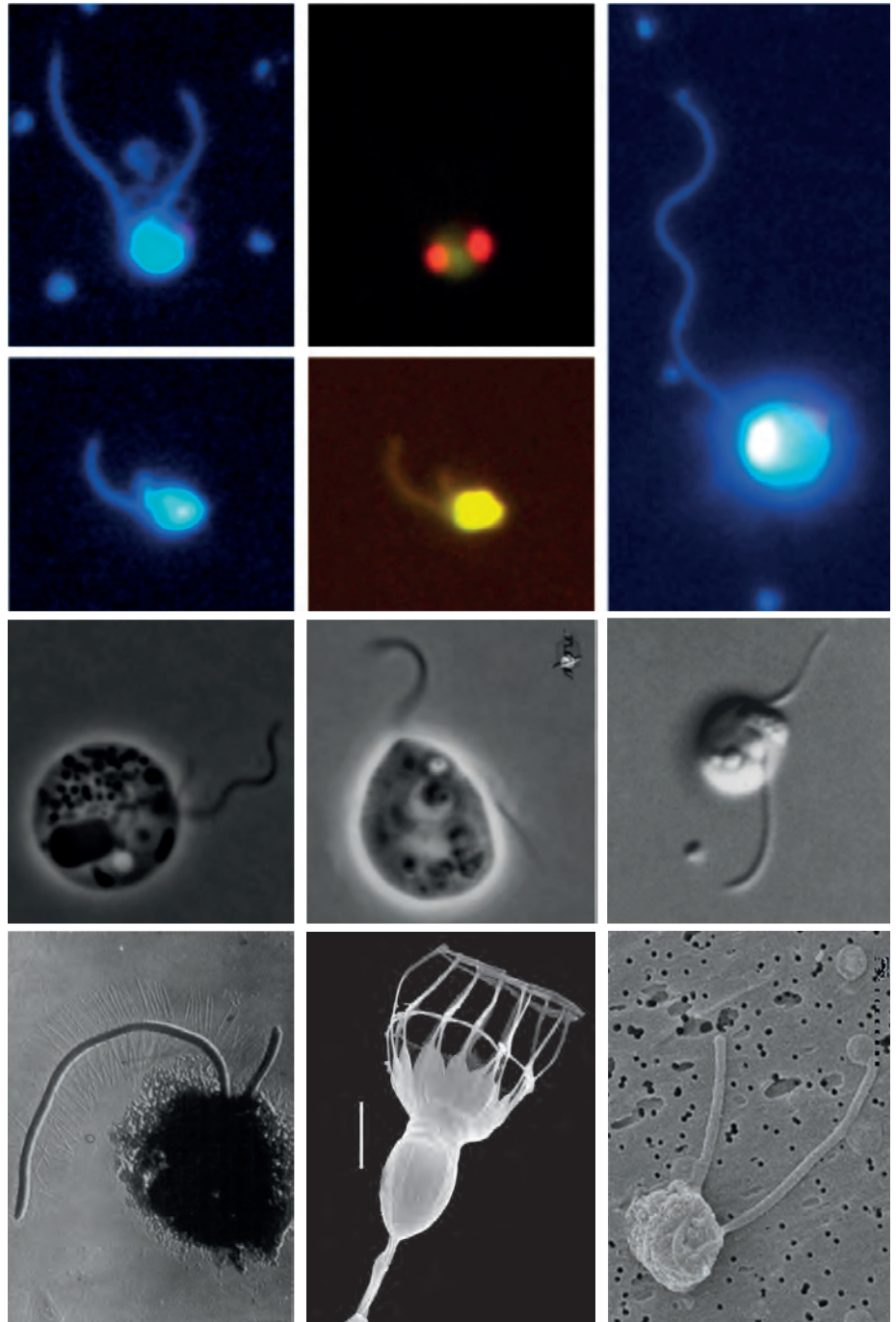
↑ Figura 2. Representació esquemàtica de les diferents fases de la fagocitosi a càrrec d'un flagel·lat heteròtrof model: 1) captura de preses, 2) formació del fagosoma amb les preses dins, 3) fusió del fagosoma amb el lisosoma carregat d'enzims digestius per a formar el fagolisosoma, 4) digestió enzimàtica de les preses i absorció dels nutrients digerits, i 5) excreció dels productes no digerits per exocitosi (Adela Massana i Ramon Massana).

de la maquinària estructural i enzimàtica que participa en la fagocitosis s'ha obtingut mitjançant la purificació i anàlisi de proteïnes de vacúols digestius en diferents fases de maduració (Boulais *et al.*, 2010). Molts estudis s'han fet amb cèl·lules del sistema immunitari d'animals, però també s'hi han inclòs eucariotes unicel·lulars. D'altra banda, la identificació dels gens responsables d'un mode de vida fagòtrof s'ha dut a terme mitjançant genòmica comparada entre espècies d'eucariotes amb diferents capacitats tròfiques (Burns *et al.*, 2018).

Depredació microbiana al mar, amb èmfasi en els més petits

Amb la invenció dels primers microscopis de grans augments al segle XVII, i sobretot amb els nous aparells del segle XIX, es va iniciar l'observació del món microbià i es va detectar una gran varietat de microorganismes eucariotes suspesos a l'aigua de mar. Junt amb les vistoses i intricades diatomees, component essencial del plàncton fotosintètic marí, s'observaren també una gran diversitat d'eucariotes no pigmentats i sovint se'ls veia depredar altres microorganismes. Aquestes observacions queden plasmades d'una manera molt elegant en els dibuixos del científic i naturalista alemany Ernst Haeckel, que en el seu llibre del 1904 *Kunstformen der Natur* («Formes artístiques de la natura») dedica una làmina sencera, de les cent del llibre, a diferents grups d'eucariotes unicel·lulars depredadors: ciliats, dinoflagel·lats, acantaris i policistinis. Els dibuixos d'aquestes làmines contenen espècies ben catalogades avui dia i queda clar que no hi ha cap grup important, dins del rang de mides que es podia observar, que s'escapés de la identificació per part d'aquests primers microbiòlegs. Tanmateix, aquestes observacions encara obviaven un component essencial dels ecosistemes marins, del que tot i que se'n coneixia la presència no se n'imaginava la importància.

Cap als anys setanta del segle XX, amb la utilització de microscopis d'epifluorescència, es van poder observar i quantificar bé els microorganismes marins més petits, en virtut de la seva fluorescència un cop tenyits i dipositats en filtres de membrana totalment plans. Aquesta fracció s'escapava de la microscòpia òptica estàndard, en part per no sedimentar bé i en part per ser transparents a la llum transmesa. Les primeres estimacions de l'abundància de procariotes (bacteris i arqueus) planctònics van ser sorprenents: al voltant de 10^6 cèl·lules per mil·lilitre d'aigua de mar. Això resultava



↑ Figura 3. Fotografies de flagel·lats heteròtrofs, els depredadors més petits dels ecosistemes marins, observats per microscòpia òptica d'epifluorescència (dalt) i de contrast de fases (mig), i per microscòpia electrònica (baix). L'epifluorescència permet visualitzar l'organisme (imatges en blau) i avaluar si és pigmentat o no (els cloroplasts apareixen com a taques vermelles). Tots els organismes tenen una mida d'entre 2 i 10 μm . Imatges extretes del web Micro*scope i de diversos col·laboradors (Irene Forn, Javier del Campo i Hartmut Arndt).

ser superior en diversos ordres de magnitud als valors que es consideraven fins aquell moment, basats en recomptes de procariotes que formaven colònies en placa (Hobbie *et al.*, 1977). Poc després, mitjançant experiments d'incorporació de precursors orgànics radio-

actius, es va demostrar que aquest component procariòtic, a més d'abundant, era també molt actiu (Fuhrman i Azam, 1980). Quedava doncs avaluar quin era el destí d'aquesta producció procariota tan important. Aviat es va trobar un altre component que havia passat desap-

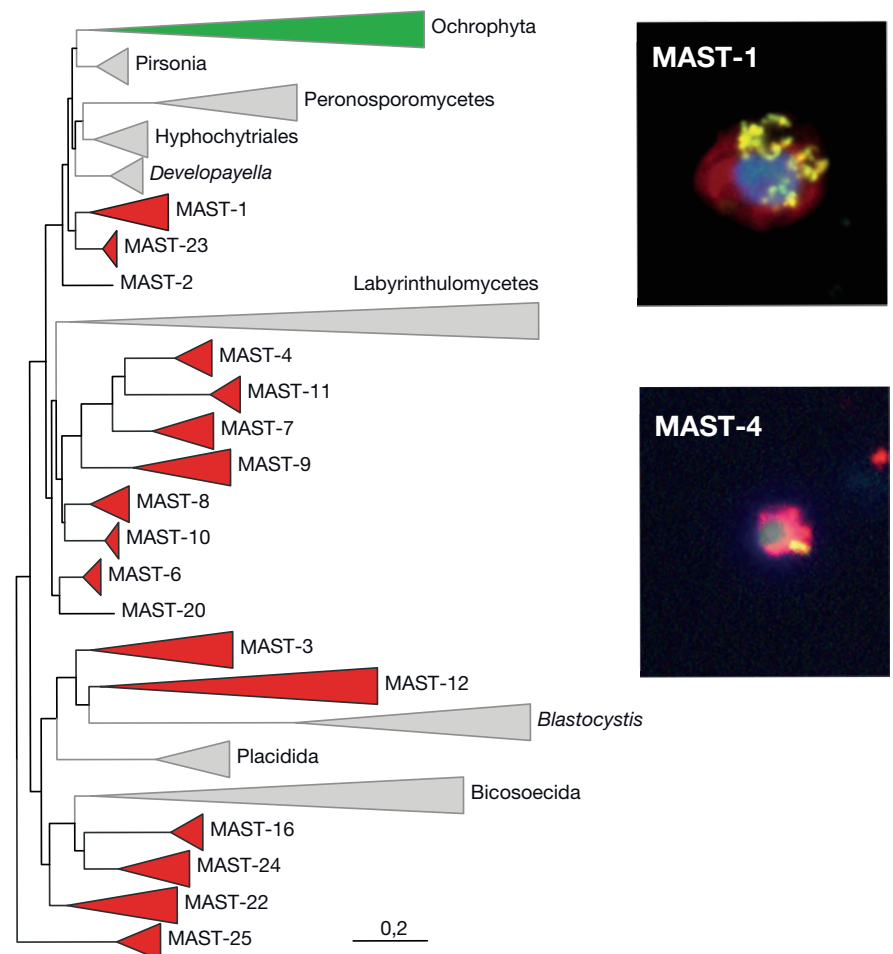
cebut: petits eucariotes no pigmentats, al voltant de 10^3 cèl·lules per mil·lilitre, que depredaven els procariotes (Fenchel, 1982). Es tractava d'organismes amb una estructura cel·lular molt senzilla i de 2 a 5 μm de mida, que s'anomenaren *flagel·lats heteròtrofs* (vegeu la figura 3). Avui sabem que hi ha altres actors que participen en la mortalitat procariota al mar, com els flagel·lats pigmentats i els virus, però els flagel·lats heteròtrofs romanen com elements centrals d'aquesta mortalitat.

La descoberta de la importància de procariotes i flagel·lats heteròtrofs en els ecosistemes marins va originar el concepte del *bucle microbià* (Azam *et al.*, 1983): els procariotes planctònics creixen consumint matèria orgànica dissolta i s'incorporen a les xarxes tròfiques marines en ser depredats pels flagel·lats heteròtrofs, que al seu torn són preses de nivells tròfics superiors. Durant les dues dècades posteriors a la proposta del bucle microbià es van estudiar els procariotes i els flagel·lats heteròtrofs com dues caixes negres que interactuaven, mirant la correlació de les seves abundàncies en sistemes contrastats i avaluant l'impacte de la depredació. Les taxes de depredació s'estimaven mesurant canvis d'abundància de procariotes en reduir l'impacte dels depredadors, o bé afegint preses marcades amb fluorescència i quantificant la seva ingestió dins dels depredadors per microscòpia. En general, els flagel·lats heteròtrofs marins mengen d'un a deu procariotes per hora i aquesta depredació és suficient per a compensar la producció procariota, amb desviacions clares en sistemes eutròfics on els virus són també importants (Jürgens i Massana, 2008). A més, aquesta depredació sembla exercir una forta pressió selectiva i pot condicionar la composició taxonòmica i fenotípica de les comunitats de procariotes (Pernthaler, 2005). Aquests treballs han estat essencials per a entendre el paper dels procariotes i els seus depredadors en l'ecosistema marí, però no tenen en compte el fet que cada caixa negra pot estar formada per espècies diferents, cada una d'elles amb la seva potencialitat funcional i per tant amb diferents impactes ecològics. Estudis fets amb flagel·lats heteròtrofs cultivats, on es mesuren les taxes i eficiències de creixement, les respostes funcionals i numèriques i l'espectre de preses, han evidenciat aquestes diferències funcionals entre espècies (Eccleston-Parry i Leadbeater, 1994). Tanmateix, no se sabia si aquests cultius representaven les espècies dominants al mar. Altre cop, es necessitaven noves aproximacions metodològiques per a continuar avançant.

Noves maneres d'estudiar els petits depredadors marins: qui són i que fan?

L'aplicació de tècniques moleculars ha representat una revolució en moltes disciplines científiques, també en el camp de l'ecologia microbiana, on ha permès obrir les caixes negres microbianes per descriure els seus components i estudiar-ne la funció. Això s'aconsegueix utilitzant gens marcadors de diversitat, el més popular dels quals és el gen que codifica l'rRNA de la subunitat petita del ribosoma (16S rDNA en procariotes i 18S rDNA en eucariotes), que es pot extreure i seqüenciar a partir de comunitats naturals. L'ús d'aquest gen permet a més dissenyar una sonda específica de la seqüència ambiental i utilitzar-la mitjançant FISH (*fluorescence in situ hybridization*) per a marcar el microorganisme portador d'aquesta seqüència (Amann *et al.*, 1995). Els estudis pioners que van adreçar la diversitat dels micro-

eucariotes més petits ja van revelar els dos trets distintius d'aquestes comunitats: són molt diverses ja que estan formades per moltes espècies distribuïdes arreu de l'arbre de la vida i contenen un alt grau de novetat taxonòmica (Moon-van der Staay *et al.*, 2001). Dins d'aquesta nova diversitat destacaven dos consorcis que eren molt rellevants en totes les mostres analitzades: els MAST (*marine stramenopiles*) i els MALV (*marine alveolates*). Estudis recents indiquen que moltes espècies de MALV són paràsits d'altres microeucariotes o de metazous marins (Chambouvet *et al.*, 2008), fet que atorga una rellevància sorprenent al parasitisme en els ecosistemes marins, mentre que els MAST són principalment flagel·lats heteròtrofs (Massana *et al.*, 2006). Hi ha divuit llinatges independents de MAST i d'alguns se'n coneix la distribució i la capacitat depredadora (vegeu la figura 4). Destaca el grup MAST-4, que té una distribució cosmo-



↑ Figura 4. Arbre filogenètic del supergrup estramenòpils on es troben els llinatges ambientals MAST enmig de grups heteròtrofs coneguts (triangles grisos). A la dreta, es mostren dues cèl·lules depredadores: en blau el nucli tenyit per DAPI, en carbassa el citoplasma tenyit per FISH i en groc els procariotes ingerits (uns vint en el MAST-1, només un en el MAST-4) (elaboració pròpia).

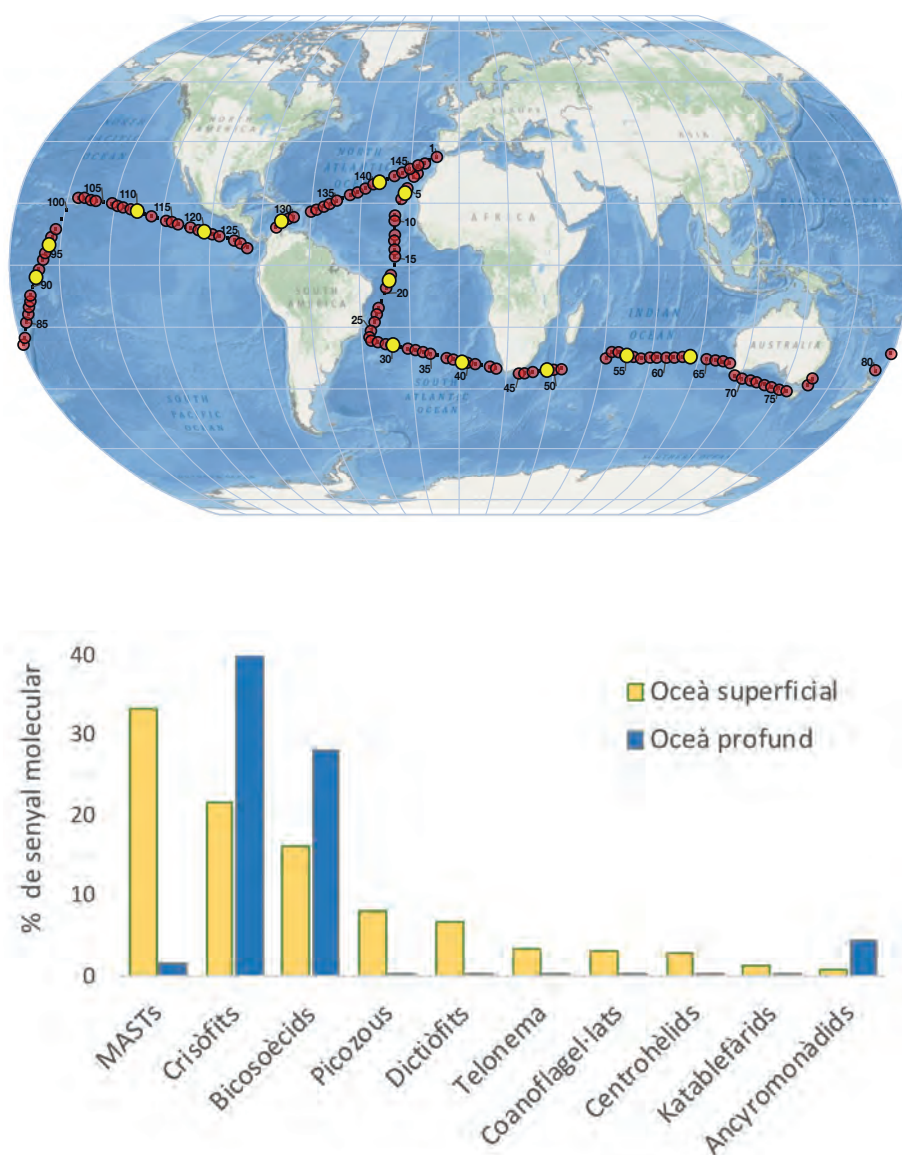
polita a la superfície dels oceans, on es troba amb una abundància mitjana de 50 cèl·lules ml⁻¹ i explica el 16% dels flagel·lats heteròtrofs (Mangot *et al.*, 2018). La seva taxa de depredació és de 3 procariotes h⁻¹ (Massana *et al.*, 2009) que junt amb la seva abundància i distribució global el situen com un dels depredadors de procariotes més importants dels sistemes marins.

Avui dia ens trobem enmig d'una segona revolució molecular deguda a l'increment extraordinari de la capacitat de seqüenciació del DNA. Així, mentre que els primers estudis de diversitat microbiana se centraven unes poques seqüències (potser centenars) en una sola mostra, amb les tècniques de seqüenciació massiva es poden estudiar milers de seqüències de centenars de mostres simultàniament. Això, combinat amb les nombroses mostres obtingudes de recents expedicions globals, ha permès analitzar amb molt detall quins grups i espècies dominen i quina és la seva distribució als oceans. Una d'aquestes grans expedicions és la campanya Malaspina (2009-2010) que va mostrejar prop de cent cinquanta estacions als oceans Atlàntic, Índic i Pacífic durant set mesos i mig. La seqüenciació massiva del 18S rDNA de microbis eucariotes de les mostres de superfície i d'uns quants perfils verticals fins a 4.000 m de fondària ha permès, entre altres coses (Giner *et al.*, 2020), identificar els grups principals de flagel·lats heteròtrofs i detectar diferències evidents entre la capa fòtica i l'oceà profund (vegeu la figura 5). En superfície dominen els MAST, que expliquen una tercera part del senyal molecular, seguits pels crisòfits (22%), bicosoècids (16%) i picrozous (8%). A l'oceà profund la situació canvia radicalment: la major part del senyal ve dels bicosoècids (63%) i crisòfits (28%), mentre que els MAST hi són poc presents (2%) i la resta de grups de superfície gairebé indetectables. Un cop identificats els grups taxonòmics que majoritàriament formen les comunitats de flagel·lats heteròtrofs, el pas següent és esbrinar quines espècies componen cada grup i determinar l'abundància, distribució, i preferència ecològica de cada una d'elles. Dades preliminars per a dos d'aquests grups, MAST-4 i bicosoècids, mostren que el senyal detectat es pot explicar per unes poques variants de 18S rDNA (que es podria suposar que són espècies). A les mostres de Malaspina el grup MAST-4 està format per vuit espècies i els bicosoècids per cinc espècies, quatre d'elles corresponents a organismes cultivats dels gèneres *Cafeteria* i *Caecitellus*. Aquestes tretze espècies estan àmpliament dis-

tribuïdes en els tres oceans investigats i sovint tenen tendència a ocupar una regió determinada de la columna d'aigua. A més, presenten alguns patrons de coocurrència i de coexclusió que són prometedors per a entendre la seva adaptació a l'ambient i possibles exclusions mútues per competència.

Un cop identificades les espècies més importants de flagel·lats heteròtrofs en el sistema marí, el pas següent és esbrinar quin és el seu paper ecològic. Les xarxes tròfiques microbianes presenten múltiples interaccions, fet que justifica el seu estudi des d'un punt de vista de sistemes complexos per a trobar les espècies que esdevenen nodes centrals i vertebradors

de l'ecosistema (Bascompte, 2009). De fet, un dels objectius finals és detectar les espècies més importants per al funcionament del sistema, tant com agents de la mortalitat de procariotes com en qualitat de preses per al nivell tròfic superior. Això implica primer saber si totes les espècies són depredadores i després, per a les que ho són, determinar l'espectre de preses, la taxa d'ingestió i la capacitat remineralitzadora. Està clar, doncs, que l'estudi funcional d'aquestes espècies passa sobretot per determinar les seves capacitats tròfiques, un repte de solució poc evident tenint en compte que moltes d'elles no han estat mai cultivades al laboratori. Una manera de fer-ho és combi-



↑ Figura 5. Localització de les estacions mostrejades durant la campanya global Malaspina on s'ha analitzat la diversitat de flagel·lats heteròtrofs a la superfície (punts vermells) i en perfils verticals (punts grocs). La figura inferior mostra l'abundància relativa mitjana dels grups taxonòmics dominants a la superfície (0 a 200 m) i a l'oceà profund (200 a 4.000 m) (elaboració pròpia).

nar la tècnica FISH per a les espècies dominants amb experiments de depredació (Massana *et al.*, 2009). Això, junt amb la realització d'incubacions de comunitats naturals, permet esbrinar les taxes de creixement i estudiar els gens expressats mitjançant metatranscriptòmica, la seqüenciació massiva de l'RNA misatger (transcrits) de la comunitat. Tot i que el metatranscriptoma d'una comunitat natural és complicat d'analitzar, es poden tenir resultats clars utilitzant genomes de referència per a pescar els transcrits d'aquesta espècie i obtenir

la seva expressió gènica creixent dins de la comunitat complexa. La genòmica de cèl·lules individuals és una aplicació recent que permet accedir al genoma d'espècies microbianes no cultivades (Mangot *et al.*, 2017). Combina mètodes sofisticats d'aïllament de microbis per citometria de flux o microfluidica i d'amplificació i seqüenciació del DNA a partir de les quantitats minúscules d'una sola cèl·lula. Aquests genomes es poden utilitzar per a estudiar la capacitat funcional d'espècies no cultivades mitjançant genòmica comparada, per a

deduir patrons evolutius entre diferents llinatges i per a pescar els seus transcrits dins d'un metatranscriptoma complex. Finalment, tècniques com el SIP (*stable isotope probing*) permeten identificar els depredadors d'una presa concreta, mitjançant el marcatge isotòpic de la presa i el seguiment del senyal en la comunitat de depredadors (Orsi *et al.*, 2018). En definitiva, avui dia tenim una completa i variada caixa d'eines per a avançar en el coneixement de la diversitat i funció dels depredadors marins més petits.

Bibliografia

- AMANN, R. I. [et al.] (1995). «Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation». *Microbiol. Rev.*, 59: 143-169.
- AZAM, F. [et al.] (1983). «The ecological role of water-column microbes in the sea». *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10: 257-263.
- BASCOMPTE, J. (2009). «Disentangling the web of life». *Science*, 325: 416-419.
- BOULAIS, J. [et al.] (2010). «Molecular characterization of the evolution of phagosomes». *Mol. Syst. Biol.*, 6: 423.
- BURNS, J. A. [et al.] (2018). «Gene-based predictive models of trophic modes suggest Asgard archaea are not phagocytic». *Nature Ecol. Evol.*, 2: 697-704.
- CHAMBOUVET, A. [et al.] (2008). «Control of toxic marine dinoflagellate blooms by serial parasitic killers». *Science*, 322: 1254-1257.
- DAWKINS, R.; KREBS, J. (1979). «Arms races between and within species». *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 205: 489-511.
- DELONG, E. F. (2009). «The microbial ocean from genomes to biomes». *Nature*, 459: 200-206.
- ECCLESTON-PARRY, J.; LEADBEATER, B. (1994). «A comparison of the growth kinetics of six marine heterotrophic nanoflagellates fed with one bacterial species». *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 105: 167-177.
- FALKOWSKI, P. [et al.] (2008). «The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles». *Science*, 320: 1034-1039.
- FENCHEL, T. (1982). «Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers». *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 9: 35-42.
- FERNANDEZ, V. I. [et al.] (2019). «A foraging mandala for aquatic microorganisms». *ISME J.*, 13: 563-575.
- FUHRMAN, J. A.; AZAM, F. (1980). «Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica, and California». *Appl. Environ. Microbiol.*, 39: 1085-1095.
- GINER, C. R. [et al.] (2020). «Marked changes in diversity and relative activity of picoeukaryotes with depth in the global ocean». *ISME J.*, 14: 437-449.
- HAECKEL, E. (1904). *Kunstformen der Natur*. Leipzig; Vienna: Bibliographisches Institut.
- HOBBI, J. E. [et al.] (1977). «Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy». *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 1225-1228.
- JOHNSON, C. N. (2002). «Determinants of loss of mammal species during the Late Quaternary 'megafauna' extinctions: Life history and ecology, but not body size». *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 269: 2221-2227.
- 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.
- MANGOT, J. F. [et al.] (2017). «Assessing the genomic information of unculturable oceanic picoeukaryotes by combining multiple single cells». *Sci. Rep.*, 7: 41498.
- (2018). «Constant abundances of ubiquitous uncultured protists in the open sea assessed by automated microscopy». *Environ. Microbiol.*, 20: 3876-3889.
- MARTIN, W. F. [et al.] (2017). «The physiology of phagocytosis in the context of mitochondrial origin». *Microb. Molec. Biol. Rev.*, 81: e00008-17.
- MASSANA, R. [et al.] (2006). «Distribution and abundance of uncultured heterotrophic flagellates in the world oceans». *Environ. Microbiol.*, 8: 1515-1522.
- (2009). «Grazing rates and functional diversity of uncultured heterotrophic flagellates». *ISME J.*, 3: 588-596.
- MOON-VAN DER STAAY, S. Y. [et al.] (2001). «Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity». *Nature*, 409: 607-610.
- ORSI, W. D. [et al.] (2018). «Identifying protist consumers of photosynthetic picoeukaryotes in the surface ocean using stable isotope probing». *Environ. Microbiol.* 20: 815-827.
- PARFREY, L. W. [et al.] (2011). «Estimating the timing of early eukaryotic diversification with multigene molecular clocks». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108: 13624-13629.
- PERETÓ, J. (2014). «La vida impura. Algunes visions sobre la vida que ens ha llegat Lynn Margulis». *Treb. Soc. Cat. Biol.*, 65: 56-59.
- PERNTHALER, J. (2005). «Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications». *Nature Rev. Microbiol.*, 3: 537-546.