

LA MICROBIOLOGIA MARINA EN LA DÉCADA DELS VUITANTA: PRESENT I FUTUR

Francesc Torrella i Mateu *

Rebut: agost 1984

SUMMARY

Marine microbiology in the eighties: present and future

In the broad fields of Marine Biology and Oceanography, Marine Microbiology has been an area that until recently has received little attention by microbiologists and marine biologists. Recent discoveries and the economic support that this branch of science has received during the past sixties and seventies, mainly in the Anglo-Saxon countries, have made it possible for marine microbiology to reach a place of honor in the world of biological research. By reason of the 50th anniversary of the Institució Catalana d'Història Natural the author presents the state of the research at the beginning of the eighties and the future necessities in the study of the microorganisms —bacteria and viruses mainly—, that live in the sea or end up in this habitat.

The subject reviewed is very broad and the text has been divided in a series of 21 parts, many of them subdivided, that cover both the applied aspects of the field and the basic problems of marine microbiology. The paper begins with an introduction and a synopsis of the areas of study in modern marine microbiology (Parts 1 and 2), and goes on by reviewing applied aspects like bacterial and viral pollution of the sea (Part 3), and the interrelationships between marine bacteria and chemical pollution, covering xenobiotic compounds, metals, metalloids and hydrocarbons (Part 4). Next, the paper reviews the present state of research on pathogenic bacteria autochthonous to the marine environment (ecology, taxonomy, toxigenicity) (Part 5) and ends up this section with a revision of the real and potential interrelationships between marine microbiology and industry (Part 6).

The basic aspects of marine microbial ecology are dealt with in a series of thirteen parts under the following titles: «Biomass and activity of procariotes in the marine habitats» (Part 7, subdivided in: «Biomass and productivity in the waters», «Biomass and activity in the sediments» and «Viable counting techniques and modern marine microbiology»). Part 8 covers topics more or less directly related to marine bacteria and secondary production and is subdivided into: «Dissolved organic matter and marine bacteria», «Marine bacteria and particulate matter», «Heterotrophic bacteria and excretion of organic compounds by photosynthetic organisms», «Marine bacteria and nutrient excretion by animals» and «Bacterivorous animals in the sea». Part 9 includes discussions on a few subjects that have recently received a considerable interest by marine microbiologists: «New fields of research of marine microbiology in the pico and nanoplankton». «Microbial life in deep sea vents» in the

* Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Murcia. Murcia.

title of Part 10, that covers this most interesting subject under the subheadings: «Discovery and characteristics of the habitat», «Bacteria as primary producers in the submarine deep sea oases», «Is there microbial life above 100 °C in the submarine oases?» and «Other areas colonized by thermophilic prokaryotes in the bottom of the seas». The classical subjects of barophily and psychrophily are covered in parts 11 and 12 under the headings: «Barophilism and marine microbiology» and «Psychrophily and marine microbiology». «Manganese nodules and marine bacteria» is the title of part 13, whereas «The microbiology of surfaces in the marine habitat» heads part 14 and reviews this most important area of research in nowadays general microbial ecology. The classical problem about the presence and activity of attached versus free living marine bacteria is reviewed in part 15: «Free living planktonic bacteria and attached bacteria». Marine habitats present a frequent nutrient challenge to the microscopic organisms because extensive areas of the sea are oligotrophic. The adaptation problems that this fact poses to bacteria and the research that is done to find the structural and biochemical adaptations of prokaryotes to a nutrient poor environment are covered in part 16: «Adaptations to starvation: oligotrophism and marine microbiology». Part 17, «Miscellaneous aspects of the research on the physiology and ecology of marine bacteria», includes study areas that have not been treated in the previous parts. Part 18, «The biogeochemical cycles of the elements. Marine microbiology in the sediments», comments on selected topics in the field of microbially based marine biogeochemistry, with a special mention to sedimentary related processes. Under «Other study areas of marine microbiology» (Part 19), the author presents a few topics that have escaped the previous classification.

The state of research on marine microbiology in the Catalans Countries is finally briefly reviewed (Part 20). The paper ends with a «Final words» section (Part 21) where the future and perspectives of the branch of microbiology that deals with marine microorganisms in the Catalan speaking countries is outlined.

1. INTRODUCCIÓ

En aquest article es pretén de donar al lector una visió de la microbiologia marina que tingui un caràcter ampli en el tema tractat i, per exigències d'espai, reduïda en cadascun dels temes concrets. Hom podrà trobar-hi informació suficient per a conèixer l'estat actual i les perspectives de futur d'aquesta branca de la microbiologia els primers anys de la dècada dels vuitanta. No s'hi trobaran tractats amb molta extensió aspectes com els de la història de la microbiologia marina o quins tipus de treball s'han dut o es porten a terme amb més o menys èxit a les universitats i als centres d'investigació del nostre país. Aquest article vol obrir camins i servir de base per a nous propòsits de treball més que no pas deturar-se en el passat o transcriure de nou la investigació que s'hagi pogut fer en el nostre país dins l'àrea de la microbiologia marina.

Encara que els temes de treball dels microbiòlegs marins s'estenen de vegades cap

a grups de microorganismes d'organització cel·lular superior, els comentaris que se segueixen tracten fonamentalment àrees d'estudi on el pes principal de la investigació recau en els bacteris. En algun cas es consideren també els virus. També es passa revista a alguns aspectes de la interrelació entre els bacteris i els organismes superiors.

Sens dubte que l'objectiu que integra conceptualment tots els estudis de la microbiologia marina és la comprensió del paper que juguen els microorganismes —principalment els bacteris—, en l'equilibri i la dinàmica de la vida en els mars, oceans i zones costaneres de transició. La naturalesa, distribució i activitat dels bacteris marins s'estudien avui dia des de molts punts de vista. Són menys freqüents els estudis sobre els virus propis dels microorganismes marins. D'altra banda, els treballs de virologia marina quasi sempre presenten resultats típics d'estudis bàsics de laboratori. Aquests treballs, tot i ésser molt interessants en ells mateixos, no aju-

den a clarir gaire el paper dels virus en la dinàmica de les poblacions microbianes en el medi marí. Recentment, els protozous són també objecte d'estudi dels microbiòlegs marins, no tant des del punt de vista de la seva taxonomia, sinó amb l'objectiu de copsar i mesurar la seva funció en la cadena tròfica. Cada vegada més, els protozous són considerats un esglaó importan-tíssim per al transvasament d'energia des del nivell dels bacteris fins a altres estrats de la piràmide alimentària: hi ha una gran varietat de protozous que consumeixen grans quantitats de bacteris. Els protozous constitueixen, doncs, un dels components més importants de la producció secundària en els ecosistemes, i el seu estudi no pot ésser oblidat per la microbiologia marina. També des de fa tres o quatre anys, diversos grups de microbiòlegs marins s'interessen per l'estudi d'un cert tipus de fitoplàncton: els petits cianobacteris crococcals que tanta transcendència semblen tenir a l'hora de mesurar la producció primària a certes àrees dels oceans.

Arreu del món, hi ha també actualment molts grups de microbiòlegs marins que s'interessen per allò que els passa als bacteris i virus —la majoria provinents de l'intestí d'animals de sang calenta—, que van a parar al medi marí fruit dels abocaments d'aigües residuals. Aquest aspecte de la microbiologia marina, d'un interès evident per a la higiene pública, potser és el que ha rebut més suport econòmic. Indirectament, això ha permès de sobreviure econòmicament molts laboratoris dedicats a l'estudi d'aspectes més bàsics de la biologia dels microorganismes marins.

2. SINOPSI D'ÀREES D'ESTUDI ACTUAL EN MICROBIOLOGIA MARINA

A continuació s'enuncien diferents temes d'estudi que poden considerar-se sota el paraigua conceptual de la microbiologia marina. Després es comentaran alguns aspectes escollits d'entre tots els temes esmentats, a la vegada que s'ofereix al lector interessat referències bibliogràfiques perquè pugui ampliar la informació. L'ordre de presentació dels temes no és indicatiu de la importància relativa de cadascun d'ells, ni tan sols de la intensitat en què són investigats en el moment present. Sense pretendre ésser exhaustiu, aquest

ventall d'àrees d'estudi és bastant ampli i pot donar una idea de les activitats de diferents investigadors i grups de treball arreu del món.

- A. Aspectes sanitaris que incideixen més o menys directament en les poblacions humanes.
 - A.1. Problemàtica relacionada amb els abocaments d'aigües residuals urbanes i industrials al mar.
 - Detecció en el medi marí de patògens vírics o bacterians d'origen fecal.
 - Avaluació del significat dels índexs clàssics microbiològics de contaminació fecal en el medi marí.
 - Estudi dels fenòmens de potenciació del creixement de patògens autòctons del medi marí com a conseqüència de l'enriquiment nutricional degut a la contaminació.
 - Estudis sobre la supervivència de patògens i indicadors de contaminació en el mar.
 - Efectes secundaris d'arrel microbiològica sobre la flora i fauna marines deguts a la contaminació.
 - Bioacumulació de contaminants orgànics deguda a microorganismes i la seva incorporació a la cadena tròfica després d'una transformació química o sense ella.
 - Transformació química i mobilització de metalls pesants i la seva incorporació a la cadena tròfica.
 - La resposta microbiana a la contaminació per hidrocarburs.
 - A.2. Estudi de bacteris patògens d'aigües marines o salabroses.
 - Distribució a l'espai i al temps, i evolució poblacional de *Vibrio cholerae* tipus clàssic i tipus NAG.
 - Altres membres del gènere *Vibrio* i gèneres emparentats.
- B. Microbiologia i cultius marins intensius.
 - B.1. Patologia de peixos, crustacis i bivalves marins. Aspectes descriptius, control antimicrobià, vacunes, etc.
 - B.2. Factors del medi que afavoreixen la proliferació de patògens d'espècies subjectes a cultiu intensiu, i a la infecció i susceptibilitat dels animals criats a les granges marines.

- C. Microbiologia marina i indústria.
- C.1. Noves substàncies antibiòtiques produïdes per microorganismes marins. Nous quimioteràpics.
 - C.2. Polímers d'interès industrial produïts per bacteris marins.
 - C.3. Assaig de productes preventius de la colonització biològica de superfícies artificials submergides.
- D. Biomassa i activitat dels bacteris a les aigües marines.
- D.1. Estat actual de les tècniques de mesura de biomassa i activitat i el seu millorament.
 - D.2. La producció secundària en els oceans. Relacions dels bacteris amb el fitoplàncton, el zooplàncton i d'altres grups amb membres consumidors de bacteris.
 - D.3. Els petits cianobacteris (cianofícies) planctònics.
- E. La vida microbiana a les surgències hidrotermals dels fons marins.
- E.1. Els bacteris com a base de la cadena tròfica als oasis submarins.
 - E.2. Fisiologia dels grups microbians que es troben en els oasis de vida submarina: formes de vida lliure i formes de vida simbiòtica.
 - E.3. Els límits superiors de temperatura compatibles amb la vida. Bacteris termòfils extrems i hipertermòfils.
- F. El barofilisme: Adaptacions dels bacteris a la pressió hidrostàtica. Activitat microbiana en els fons marins.
- G. El psicofilisme: Adaptacions de la vida microbiana a les baixes temperatures.
- H. Aspectes varis de l'estudi de la fisiologia dels bacteris marins: quimiostatàxia, sistemes de transport de diferents nutrients, adaptacions a la salinitat, energètica de membranes, fotosíntesi, bioluminiscència, etc.
- I. Els nòduls de manganès i el paper dels bacteris marins en la seva formació.
 - J. La colonització de superfícies en el medi marí:
 - J.1. Estratègies microbianes per a la subjecció als substrats. Aspectes físico-químics d'aquests processos.
 - J.2. Bacteris de vida lliure envers bacteris adherits. Importància relativa dels dos grups en el medi marí.
- K. Adaptacions a la depauperació nutritiva: L'oligotrofisme.
- K.1. Bacterioplàncton de les aigües lliures: morfologia, abundància, activitat metabòlica, ultranobacteris, etcètera.
 - K.2. Adaptacions morfològiques i fisiològiques de bacteris marins de ràpid creixement enfront de la pobresa nutritiva: Estudis de laboratori amb sistemes models.
- L. Microbiologia dels sediments, especialment en els estuaris i a les zones de maresmes. La biogeoquímica en aquests ambients: desnitrificació, metanogènesi, cicle del sofre, bacteris de l'hidrogen, etc. Les relacions dels microorganismes amb la meiofauna.
- M. Paper dels bacteris marins en l'origen del petroli i matèria orgànica de difícil degradació en el mar: gènesi de l'humus marí, el querogen, etc.
- N. Descripcions taxonòmiques i caracteritzacions fisiològiques de nous grups de bacteris marins. Afinament i ampliació de la taxonomia de grups ja coneguts.

En els apartats que segueixen es parla d'algunes de les àrees de recerca que s'han enumerat. Indubtablement, l'extensió amb què es tracten els temes és subjectiva i obeeix a les inquietuds de recerca del qui firma aquest treball. S'han escollit els temes dels quals, a criteri de l'autor, es parla més en els congressos actuals on es presenten treballs sobre la microbiologia del mar. Alguns temes són tractats de passada i amb l'únic objecte de recordar la seva vitalitat. S'ha procurat que la majoria de les referències bibliogràfiques siguin recents perquè, d'aquesta manera, el lector podrà obtenir molta més informació si consulta l'apartat bibliogràfic dels articles escollits.

3. CONTAMINACIÓ MICROBIANA DEL MEDI MARI

3.1. Bacteriologia

La detecció i control de la contaminació microbiana del mar va lligada a l'estudi de la presència dels indicadors clàssics de contaminació fecal (APHA, 1980; BORDNER & WINTER, 1978) tals com els coliformes i els estreptococos fecals. Aquests darrers bacteris semblen ser més resistents a les condicions adverses marines i per això la seva anàlisi no pot ésser oblidada (CARNEY *et al.*, 1975). El concepte clàssic que els microorganismes d'origen intestinal moren ràpidament quan entren en el medi marí (MITCHELL, 1968) no es pot generalitzar a tots els llocs de l'oceà, especialment a les zones on l'activitat biològica no és gaire important com passa en els fons marins (BAROSS *et al.*, 1975). Tanmateix, el nombre de formes bacterianes d'origen intestinal recuperables com a unitats viables en les anàlisis és molt migrat al cap d'un temps relativament curt després de l'abocament d'aigües residuals al mar. Estudis recents fets en models de laboratori i emprant càmeres de difusió directament a l'ambient, han posat de manifest que la supervivència dels coliformes i dels estreptococs fecals és molt variable d'un punt a l'altre (LESSARD & SIEBURTH, 1983). La supervivència dels bacteris està subjecta a les variacions de molts factors diferents del medi a cada lloc, en moments diferents del cicle diari, i segons l'època de l'any. Així doncs, els controls de la contaminació microbiana del medi marí s'han de fer amb un bon disseny previ de mostratge i coneixent, a més, les peculiaritats de la resposta fisiològica dels microorganismes indicadors de contaminació fecal quan són lliurats a les aigües marines. Per exemple, no s'ha d'oblidar mai de fer controls dels sediments, ja que moltes vegades —i per experiència pròpia— es detecta contaminació en els sediments i en canvi les anàlisis de les aigües són negatives. Això que pot semblar tan senzill és oblidat freqüentment pels «recollidors de mostres» d'organismes de la sanitat oficial.

Sortosament per a les poblacions humanes, l'aigua marina té un efecte depurador remarcable. Diversos factors són a la base d'aquest efecte autodepurador: dilució dels contaminants, floculació i sedimentació dels materials en entrar en un

medi d'elevada concentració iònica, competència pels nutrients entre els microorganismes autòctons i els estrangers a l'hàbitat, depredació per part de protozoos, insolació de les aigües superficials, etc. El treball de LESSARD & SIEBURTH (1983) és una bona font d'informació bibliogràfica sobre aquest tema. Les necessitats d'investigació actuals són encara les d'afinar en l'estudi dels factors que contribueixen a la mort dels indicadors de contaminació i patògens d'origen intestinal en el mar. Tanmateix, la recerca és també molt necessària per a copsar si els indicadors de contaminació que s'empren actualment són els millors, i si les anàlisis clàssiques permeten de recuperar tots els bacteris que en estat de vida latent són a l'ambient.

Relacionat amb el tema de la qualitat dels indicadors de contaminació hi ha un altre aspecte molt important. L'interès ha sorgit a causa del descobriment que hi ha bacteris que en unes condicions del medi adverses romanen vius des del punt de vista metabòlic i en canvi no són recuperables com a cèl·lules aptes per a reproduir-se en els medis de cultiu usats en les anàlisis clàssiques (HUAI-SHU *et al.*, 1982). Els medis de cultiu i protocols que es fan servir en les anomenades colimetries, i també altres mitjans que s'empren per detectar i comptar una gran varietat de microorganismes patògens, semblen massa dràstics per a les cèl·lules parcialment afectades en el seu metabolisme. Això és precisament el que passa als microorganismes intestinals quan entren en contacte amb l'aigua marina. Hi ha indicis experimentals evidents que, prenent les degudes precaucions, el nombre de microorganismes patògens i els indicadors de contaminació recuperats de l'ambient és més alt que si se segueixen els protocols clàssics d'anàlisi. S'imposa, doncs, l'ús de tècniques i mitjans per a «ressuscitar» cèl·lules perjudicades subletalment (McFETTERS *et al.*, 1982; CHEN & HICKEY, 1983). Sembla que la riquesa nutritiva, la temperatura massa elevada durant les primeres hores de cultiu, uns certs tipus de filtres emprats, etc., són alguns dels factors decisius en el fet que una part considerable de bacteris mori abans d'adaptar-se al medi i començar la multiplicació cel·lular per formar una colònia o produir terbolesa en un cultiu (RHODES *et al.*, 1983).

Els estudis moderns sobre l'efecte que tenen diferents factors del medi sobre la

supervivència dels coliformes i altres bacteris d'interès exigeixen l'ús de cambres de difusió que permetin fer experiments directament a l'ambient. Mitjançant l'ús de les cambres citades s'ha vist que *Escherichia coli* sobreviu més en llocs on hi ha un cert enriquiment orgànic com a les maresmes, mentre que els estreptococs són més resistents en zones pobres en matèria orgànica dissolta (LESSARD & SIEBURTH, 1983). També l'efecte de la llum, que solament es creia d'acció directa sobre molècules sensibles dels mateixos bacteris, no resta tan clar. Investigacions recents semblen demostrar l'acció perjudicial de compostos orgànics de l'ambient modificats per la llum (ANDERSON *et al.*, 1983; LESSARD, 1983).

En el context d'aquest apartat no es pot deixar de fer esment de l'efecte que tenen els enriquiments orgànic i inorgànic del medi sobre la proliferació de patògens autòctons de les aigües. El cas dels vibrions serà tractat específicament en un altre apartat; hi ha, però, altres microorganismes patogènics tant de l'home com dels animals que són afavorits per l'enriquiment nutritiu del medi natural. Això pot esdevenir la causa principal d'epizooties a poblacions de peixos i d'altres animals marins. Serveixi d'exemple el cas d'*Aeromonas hydrophila* (HAZEN & ESCH, 1983).

Com s'ha apuntat més amunt, hi ha un corrent d'investigació dins la microbiologia marina que dubta de la bondat dels indicadors de contaminació que s'usen en l'actualitat. S'ha comprovat que hi ha bacteris patògens —per exemple el vibrió del còlera—, que poden trobar-se en aigües d'estuari o riberenques i en canvi no es detecten al mateix temps indicadors de contaminació fecal (KAPER *et al.*, 1979; HOOD & NESS, 1982). Els virus són un cas a part, ja que és ben sabut que molts tipus de partícules virals persisteixen a l'ambient en estat viable molt més temps que els indicadors bacterians de contaminació (GERBA *et al.*, 1979). El tema dels virus es tracta més endavant. Recents estudis (ROBERTSON & TOBIN, 1983) permeten pensar que a més dels indicadors clàssics, podrien utilitzar-se altres microorganismes d'origen intestinal com a indicadors de contaminació. S'ha suggerit et llevat *Candida albicans* i el bacteri *Pseudomonas aeruginosa*. Encara manquen estudis per a defensar aquesta possibilitat de canvi de tècniques. D'altra banda, el problema que

plantegen els microorganismes patògens autòctons d'aigües més o menys salines com *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* i d'altres vibrions, podria ésser resolt mitjançant l'anàlisi de les aigües per a detectar, per exemple, *V. parahaemolyticus*. Aquest bacteri podria fer-se servir com a indicador de la possible proliferació d'altres vibrions o bacteris de gèneres afins com els *Aeromonas* (ROBERTSON & TOBIN, 1983). En aquest camp els problemes no són definitivament resolts i, fins i tot, aspectes tan bàsics com els de la composició dels medis de cultiu que s'han d'emperrar per a la identificació de bacteris patògens isolats del mar, s'han degut modificar en treballar amb aigües salines (MACDONELL *et al.*, 1982). També la vàlua dels indicadors de contaminació actuals quan s'analitzen animals pescats a zones contaminades és subjecte de crítica i estudi (HOOD *et al.*, 1983a).

3.2. Virologia

Els abocaments d'aigües residuals urbanes al mar són la causa de la presència de virus entèrics humans i d'altres virus patogènics de l'home en els estuaris i prop de les costes. Quan aquests virus són absorbits a material particulat i les partícules van a parar al sediment, la seva supervivència és més prolongada que la dels indicadors clàssics de contaminació fecal. La detecció i el recompte de les partícules virals exigeix l'alliberament dels virions dels materials on aquests s'han adsorbit. Per altra banda, és freqüent que s'hagin d'emperrar tècniques de concentració de virus entèrics per detectar-los, doncs llur concentració pot ser molt baixa en el medi natural. El recompte de partícules virals es fa mitjançant tècniques d'infecció de cultius cel·lulars escollits. Tots aquests aspectes són temes d'investigació actual de la virologia ambiental. El lector interessat pot trobar abundosa informació a les citacions que segueixen i a les referències bibliogràfiques d'aquests articles: BITTON *et al.* (1982); LABELLE & GERBA (1982); SHIOW-CHUAN *et al.* (1983); WAIT & SOBSEY (1983); LIPSON & STOTZKY (1983); TORANZO *et al.* (1983); LUCENA *et al.* (1982); FINANCE *et al.* (1982).

El refinament dels estudis de virologia ambiental al medi marí ha conduït a la investigació d'aspectes més concrets tals

com la importància del sediment com a reserva de virus infectius entèrics i d'altres tipus (hepatitis A, virus del grup Norwalk, etc.) (METCALF & MELNICK, 1983). També és tema d'estudi actual el paper dels bivalves subjectes a cultiu intensiu (ostres, musclos, etc.) i animals que s'alimenten de bivalves com els crancs, com a concentradors de virus de les aigües i sobretot, dels sediments contaminats (GOYAL *et al.*, 1979; LANDRY *et al.*, 1983; SEIDEL *et al.*, 1983).

És indubtable que el problema de la contaminació vírica de les aigües marines és greu en certes zones de la costa. Si no se'n sent a parlar més, és degut no tant al fet que el problema no existeixi com al fet que les tècniques de detecció vírica no són senzilles. Hi ha un camp obert al treball tant en els aspectes de la posada a punt de tècniques ja existents, com en el de la millora d'aquestes tècniques i també en l'àrea de la recerca de nous indicadors de contaminació vírica de més fàcil anàlisi a laboratoris poc dotats.

4. CONTAMINACIÓ QUÍMICA DEL MEDI MARI

4.1. Molècules orgàniques de nova síntesi

No cal dir que aquest és un dels aspectes més preocupants de la contaminació de les zones riberenques dels mars. El paper que els microorganismes juguen en la transformació, mobilització i acumulació de contaminants químics és fonamental. La recerca en aquest camp tracta tres àrees del problema: l'acció microbiana sobre molècules no usuals a la biosfera (compostos xenobiòtics), les transformacions de diverses classes d'elements químics (metalls i metalloides), i la biodegradació d'hidrocarburs i substàncies que els acompanyen.

En general no és rar que en el mar —igual que en el sòl o a les aigües dolces—, es trobin bacteris que, amb més o menys èxit, degraden o modifiquen un determinat compost químic (BOURQUIN & PRITCHARD, 1979). Els estudis de degradació de compostos fets al laboratori amb soques aïllades de l'ambient tenen, sens dubte, un interès des del punt de vista bioquímic i del metabolisme dels bacteris implicats. Tanmateix, el valor predictiu d'aquests estudis quant al que passa o pot

passar en l'ambient és menys segur. Revisions i treballs clàssics com els d'ALEXANDER (1968, 1980), i la de WARE & ROAN (1970), deixen ben patents les potencialitats degradadores dels bacteris enfront de compostos estranys (insecticides, plaguicides, herbicides, etc.). Pel gran ús que se'n fa, els compostos més estudiats des del punt de vista de la seva degradació són les substàncies orgàniques halogenades: el DDT fa uns anys i, més recentment, els bifenils policlorats (PCB). Molts d'aquests compostos són considerats persistents («recalcitrants») en el medi terrestre, però en el medi marí sembla que els microorganismes estan «acostumats a tractar» amb compostos orgànics halogenats. Així s'ha vist que molts microorganismes i algues marines tenen enzims —les haloperoxidases—, tant per a sintetitzar com per a degradar compostos halogenats (WOOD, 1983).

Encara que els estudis *in vitro* sobre la degradació de compostos xenobiòtics i els efectes d'aquests sobre el metabolisme de les cèl·lules són necessaris i actuals (MAHAFFEY *et al.*, 1982), la societat demana dels microbiòlegs respostes sobre el que passa o pot passar en l'ambient quan un cert tipus de contaminant orgànic és lliurat a les aigües. (El cert és que per a ésser una mica més precís hom hauria de dir: «... certes societats demanen dels microbiòlegs marins...» perquè és evident que ara per ara la nostra societat no es complica pas gaire la vida a l'hora de plantejar-se el control d'uns abocaments perillosos.) Per obtenir resultats experimentals que puguin reflectir què és el que pot passar en l'ambient es presenten tres tipus de metodologies: *a*) estudi de la degradació en el laboratori en condicions el més semblants possibles a l'ambient (microcosmos); *b*) anàlisis químiques de la desaparició de contaminants conjuntats amb el recompte de bacteris que els metabolitzen; *c*) mesures de la mineralització de contaminants amb les molècules marca-des amb isòtops radioactius. Aquest darrer mètode, que dona resultats molt acurats sobre la capacitat i velocitat de mineralització en condicions molt semblants a les naturals, és molt prometedor (BARTHOLOMEW & PFAENDER, 1983). Per més informació, vegeu PFAENDER & BARTHOLOMEW (1982) i LARSON (1984). Aspectes tan importants com l'adaptació de les comunitats naturals per degradar contaminants orgànics, els efectes de la concentració del

contaminant, temps d'exposició etc., poden consultar-se a SPAIN & VAN VOLD (1983).

Un aspecte a tenir en compte en el context de la contaminació per compostos orgànics no usuals a la biosfera és el de la bioacumulació. Alguns compostos no són degradats per complet pels bacteris marins, sinó que són modificats químicament i incorporats —sobretot els que són lipofílics—, a la fracció lipídica de les cèl·lules microbianes. D'aquesta manera, les molècules del contaminant passen a nivells superiors de la cadena tròfica en ésser consumits els bacteris per protozous i crustacis (ATLAS & BARTHA, 1981).

Així com es coneix bastant sobre la degradació de compostos estranys pels microorganismes del sòl i les aigües dolces, queda molt per fer respecte a la capacitat degradadora dels bacteris marins a les aigües i sobretot en els sediments. El fet que els microorganismes marins estiguin «naturalment» en contacte amb compostos halogenats, és un indicatiu del fruit que pot donar l'estudi dels bacteris del mar en el camp de la biodegradació.

4.2. Contaminació per metalls i metaHoides

En els medis naturals, molts metalls pesants quan es troben en petites concentracions són utilitzats pels éssers vius com a micronutrients, però en canvi aquests mateixos metalls són perillosos i tòxics en concentracions més grans. La contaminació industrial de la zona costanera ha determinat que les concentracions de metalls pesants siguin suficientment altes com per ser motiu d'alarma, especialment en els estuaris. Els microorganismes actuen de diferents maneres sobre els metalls pesants. Per una banda, acumulen metalls incorporant-los dins del citoplasma o fixant-los a la superfície de les cèl·lules. D'aquesta manera, els metalls pesants, a través dels protozous i els crustacis bacterívors van acumulant-se en esglaons superiors de la cadena tròfica. És la biomagnificació. Per l'altra, molts bacteris tenen capacitat per a modificar químicament els metalls i convertir-los en formes més solubles o, fins i tot, volàtils (SUMMERS & SILVER, 1978; ATLAS & BARTHA, 1981; ROBINSON & TUOVINEN, 1984). La mobilització dels metalls deguda a les transformacions

bioquímiques de les quals són subjecte té una gran transcendència per a la cadena tròfica. En general, els ions dels metalls pesants són les espècies més tòxiques. A la vegada aquests ions són subjecte de metil·lació per part dels microorganismes, la qual cosa contribueix a la seva toxicitat i bioacumulació.

Les transformacions microbianes dels metalls no són sempre perjudicials per al conjunt dels éssers vius. Així, la complexió per part de molècules de pes molecular elevat, com les proteïnes, polisacàrids, certes substàncies húmiques, o la formació de sulfurs metàl·lics insolubles, són processos de base biològica que contribueixen a immobilitzar metalls i a retardar la seva incorporació a la cadena tròfica (HALLAS *et al.*, 1982a). Aquest retard és evidentment temporal i està subjecte a la dinàmica biològica i química del sistema.

L'acció concreta dels bacteris marins sobre els metalls pesants ha estat estudiada en alguns casos, especialment pel que fa al mercuri i el cadmi (FENCHEL & BLACKBURN, 1979; RIDLEY *et al.*, 1977; DEVANAS *et al.*, 1980; WOOD, 1983). S'han trobat —especialment en els sediments—, moltes soques de bacteris resistents a altes concentracions de metalls pesants, i algunes d'elles responsables de la metil·lació del mercuri, estany i altres metalls (TIMONEY *et al.*, 1978; HALLAS *et al.*, 1982b). Més recentment ha merescut interès l'estudi de les relacions de l'estany i els bacteris marins, i s'ha trobat que la toxicitat d'aquest element depèn molt de les condicions físico-químiques del medi i el tipus de molècules orgàniques que hi ha en el mar o que es fan servir en els assaigs de laboratori (HALLAS *et al.*, 1982a).

L'estudi de l'acció dels contaminants metàl·lics del sediment sobre les activitats bacterianes de caire biogeoquímic, ha posat de manifest un efecte selectiu de diferents metalls sobre la metanogènesi i sobre la reducció de sulfats. El grup dels metanògens no sembla ésser tan afectat a llarg termini com ho són els reductors de sulfats per la contaminació metàl·lica (CAPONE *et al.*, 1983). Hi ha, però, uns certs compostos de mercuri o d'arsènic que afecten molt la metanogènesi en una fase inicial. A diferència dels metanògens, els bacteris reductors de sulfats en general són molt sensibles al mercuri, plom, cadmi, coure i, sobretot, al ió molibdat, entre altres. L'efecte inhibitori d'aquests metalls

s'allarga durant molt temps en el sediment. El ferro i el níquel són menys perjudicials que els altres metalls per als reductors de sulfats. És clar, doncs, que la contaminació per metalls i metalloïdes —molt freqüent avui dia en els estuaris i zones costaneres dels països industrialitzats—, entre altres efectes perjudicials per als ecosistemes, en té un de tipus inhibitori transcendental sobre dos grups de bacteris dels sediments. Aquests bacteris, els metanògens i els reductors de sulfats, tenen una activitat clau en el cicle del carbó en els sediments, cosa que repercuteix en el cicle global dels elements en els ecosistemes marins.

Un aspecte a tenir en compte en el paper que juguen els bacteris marins com a concentradors de metalls pesants, és el que es deriva de la capacitat filtradora dels bivalves com els musclos i les ostres. Aquests molluscs, tot i alimentant-se de bacteris contaminats per metalls duen a terme una biomagnificació considerable de la contaminació (FLATEU & GAUTHIER, 1982; SAYLER *et al.*, 1975). El camp d'estudi dels cicles biogeoquímics de metalls i metalloïdes com l'arsènic i el seleni és obert a la recerca tant de la microbiologia marina de camp com dels experiments controlats de laboratori.

4.3. Contaminació per hidrocarburs

El que s'ha dit més amunt referent a la necessitat d'investigació sobre la contaminació per insecticides i compostos similars, és vàlid per als hidrocarburs d'origen fòssil. En aquest camp de la microbiologia marina es fan estudis de laboratori sobre la capacitat degradadora de soques bacterianes escollides (FEDORAK *et al.*, 1982, 1983; SOLANAS *et al.*, 1984). Tanmateix, la necessitat d'estudis fets al camp és preemptòria ja que les companyies petrolíferes i la societat demanen estimacions dels impactes ambientals de les explotacions petrolíferes a la plataforma continental i dels vessaments de crus de petroli al mar. Encara que els estudis en les aigües lliures són necessaris, són imprescindibles els controls en el sediment. El fet de la utilització de substàncies dispersants en els casos de vessaments incontrolats de petroli és determinant en el control de la capacitat microbiana per a degradar hidrocarburs i els mateixos compostos tensioac-

tius, no sempre innocus per als bacteris (GRIFFITHS *et al.*, 1982a, b). ATLAS (1981) ha fet un bon recull d'informació referent als factors que són significatius en la degradació del petroli; BAKER & GRIFFITHS (1984) tracten el tema de la contaminació dels sediments marins per hidrocarburs.

El procés de la degradació microbiana dels hidrocarburs és afectat per diversos factors. En primer lloc, la concentració de nutrients en el medi —nitrogen i fòsfor, principalment—, és decisiu per a mantenir la biomassa dels microorganismes degradadors. Els hidrocarburs són una bona font de carbó i energia, però manquen altres nutrients essencials. L'oxigen és també molt important, ja que la degradació ràpida s'aconsegueix en ambients oxigenats mentre que la mineralització dels hidrocarburs és molt magra o desapareix en els sediments i les cubetes anaeròbies dels fons marins. L'acció del vent en general, i el trencament de les ones en particular, afavoreixen tant l'oxigenació de les aigües com l'emulsificació dels hidrocarburs.

També els animals que viuen en el sediment i el remouen i hi fan galeries, contribueixen a la degradació dels hidrocarburs en oxigenar el medi.

L'efecte de la salinitat com a factor a tenir en compte en la degradació dels hidrocarburs també s'ha estudiat. Sembla que per damunt d'un 20 % de sals dissoltes no hi ha degradació. Això vol dir que els hidrocarburs que queden atrapats a les salmorres de les vores dels mars o a les cubetes hipersalines del fons de certs mars no poden ésser fàcilment degradats. La pressió hidrostàtica també té un efecte negatiu sobre la mineralització d'hidrocarburs. Fins avui dia no s'ha isolat cap bacteri baròfil estricte o facultatiu que pugui metabolitzar hidrocarburs. Per tot el que s'ha dit es pot concloure que les fosses marines anòxiques i amb una elevada salinitat són llocs ideals per a conservar intactes les molècules d'hidrocarburs que hi van a parar. Aquests llocs, que fins ara s'han detectat al golf de Mèxic, la costa de Califòrnia, el mar Negre i l'est de la Mediterrània, tenen fangs sapropèlics molt rics en querogen i altres fraccions orgàniques hidrocarbonades. És de suposar que aquestes àrees són llocs localitzats de gènesis d'hidrocarburs (JONGSMA *et al.*, 1983; SHOKES *et al.*, 1977). L'estudi de la microbiologia de les cubetes marines anòxiques pot

donar molt fruit per a comprendre l'origen del petroli.

La temperatura té un efecte doble sobre la degradació dels hidrocarburs en el mar.

Per una banda, les baixes temperatures alenteixen el metabolisme dels bacteris degradadors, encara que s'ha comprovat que hi ha una successió de poblacions microbianes adaptades a diferents règims tèrmics. Per l'altra, les baixes temperatures actuen directament sobre els hidrocarburs en modificar el seu estat físic. Moltes molècules solidifiquen a baixa temperatura. Els hidrocarburs que estan en estat líquid o bé emulsificats, són degradats amb preferència per sobre les boles de quitrà o les escumes de petroli (*mousse*; ATLAS, 1981).

S'ha vist que els bacteris degradadors de petroli en el mar es disposen a l'entorn de microgotícules d'hidrocarburs no miscibles amb l'aigua, però no a dins. Per aquest motiu són molt interessants els estudis sobre microorganismes marins que sintetitzen substàncies emulsificants. Per afavorir la degradació de les taques de petroli en el mar, s'empren diferents classes de tensioactius artificials. Però s'ha de tenir molta cura que les substàncies emprades o uns certs compostos acompanyants dels detergents, no siguin antimicrobians com s'ha pogut detectar ja amb alguns dels additius usats actualment (GRIFFITHS *et al.*, 1981). Les substàncies de tipus tensioactiu sintetitzades pels mateixos microorganismes són fàcilment degradables i compleixen la mateixa funció que els compostos artificials. La investigació bàsica i aplicada en aquesta àrea promet molt (COOPER & ZAJIC, 1980; GOLDMAN *et al.*, 1982). Recentment s'ha descobert que hi ha uns certs tipus de fímbríes bacterianes que juguen un paper important en l'adherència dels bacteris als substrats hidrofòbics.

La microbiologia dels hidrocarburs i, en concret el treball amb microorganismes marins, pot ser sens dubte un punt de contacte fructífer entre la investigació microbiològica bàsica i la indústria petroquímica (SOLANAS *et al.*, 1983). Els contactes específics per a l'estudi de temes concrets tenen raó de ser en aquest camp i poden donar molt de joc a la col·laboració entre la indústria i els centres d'investigació.

5. BACTERIS PATÒGENS PROPIS D'AGÜES MARINES

5.1. Estudis ambientals i taxonòmics

L'interès per als microorganismes patogènics autòctons de les aigües salines va despertar-se fa uns deu anys amb motiu dels estudis sobre la distribució a les aigües costaneres del vibrió del còlera (*Vibrio cholerae*) i de *V. parahaemolyticus* que pot produir greus gastroenteritis i diarrees. De seguida es va veure que el coneixement de l'ecologia, el metabolisme, i sobretot, de la taxonomia dels vibrions halofílics era molt magre. Durant els darrers dos o tres anys s'ha produït una veritable explosió d'articles que tracten tots els aspectes de la biologia dels vibrions (COLWELL, 1984). Quasi cada any hi ha noves descripcions d'espècies que es poden isolar d'aigües salines i que produeixen algun tipus de patologia en l'home o en els animals de sang freda. Així, per exemple, noms com els de *Vibrio fluvialis*, *V. vulnificus*, *V. mimicus* i *V. tubiashi*, per esmentar només alguns dels patogènics, no eren coneguts fa pocs anys. A part de les espècies citades, s'han descrit una gran quantitat d'altres vibrions de tipus saprofític. Vegeu, per exemple, les revisions de BAUMAN *et al.* (1980, 1981, 1983) i les referències d'aquests articles.

A part dels aspectes taxonòmics, hi ha altres àrees d'interès actual en l'estudi dels vibrions com el millorament de les tècniques per a la detecció i identificació d'aquest grup de bacteris; estudis sobre la toxigenicitat; estudis sobre la supervivència en models de laboratori i a la natura, etcètera.

Respecte a les tècniques de detecció i aïllament de vibrions patogènics de l'ambient, d'aliments contaminats o d'excrements de malalts, les tècniques selectives han de resoldre un problema comú en el cas dels vibrions: la proliferació d'altres vibrions saprofítics de creixement ràpid que impedeixen la detecció dels bacteris buscats. En el cas de *V. parahaemolyticus*, tant la temperatura com la composició dels medis d'enriquiment i diferenciació són essencials (DUPRAY & CORNIER, 1983; KOVRANY, 1983). Si no es prenen les degudes precaucions, les espècies de diferents vibrions poden ésser confoses en una anàlisi taxonòmica ja que les proves bioquímiques emprades per a la identificació poden

donar resultats variables segons el contingut salí del medi diluent (MACDONALD *et al.*, 1982). També hi ha un interès acusat per a l'estudi dels anomenats vibrions del grup F, ara inclosos dins l'espècie *V. fluvialis* (NISHIBUCHI *et al.*, 1983a).

La presència del vibrió del còlera a les aigües d'estuari i en certes zones de la costa és ja ben establerta (HOOD & NESS, 1982). Tant els serotips O-1 com les soques NAG (que no aglutinen amb l'antisèrum O-1) han estat detectats en ambients amb més o menys influència marina (KENYON *et al.*, 1983; MOTES *et al.*, 1983). Els vibrions del grup *V. vulnificus* (halòfils, lactosa positius, sacarosa negatius), implicats en patologies humanes i animals, tenen una distribució clarament relacionada amb el medi marí (KELLY, 1982; OLIVER *et al.*, 1983). *Vibrio fluvialis*, un altre vibrió patogènic, es troba tant en aigües dolces com salines (NISHIBUCHI *et al.*, 1983a). La distribució marina d'altres vibrions com *V. parahaemolyticus* i la seva dependència de la temperatura (VARGA & HIRTLE, 1975) és coneguda des de ja fa temps. Tanmateix, els estudis ecològics continuen essent encara molt necessaris a zones que no han estat tant ben estudiades com les costes dels Estats Units (COLWELL *et al.*, 1977). Els estudis ecològics han estat molt relacionats amb els de la capacitat concentradora de patògens per part dels bivalves filtradors (HOOD *et al.*, 1983b; DUPRAY & CORNIER, 1983). Les larves de bivalves també poden ser perjudicades pels vibrions (HADA *et al.*, 1984), la qual cosa té importants repercussions en els cultius marins.

La distribució de la gran quantitat de vibrions marins, alguns d'ells amb capacitat per a degradar la quitina i fixar-se damunt dels crustacis del plàncton, és molt influïda per les oscil·lacions de les poblacions dels organismes del zooplàncton, i del fitoplàncton i, en general, per l'enriquiment nutricional del medi (KANEKO, 1975; HUO, 1983). Els estudis ecològics sobre els vibrions no es limiten a la seva distribució en l'espai i el temps, sinó que s'estenen també a la recerca de la capacitat de supervivència d'aquests bacteris en el medi. Especialment interessa l'anàlisi de les adaptacions de les cèl·lules bacterianes davant de la depauperació nutricional (HOOD & NESS, 1982; XU *et al.*, 1982; BAKER *et al.*, 1983).

A més dels bacteris del gènere *Vibrio*, els del gènere *Aeromonas*, en especial els que

es troben a les aigües salines, reben també l'interès dels microbiòlegs marins a causa de la seva capacitat patogènica (OLIVER *et al.*, 1981; HAZEN & ESCH, 1983).

5.2. Estudis de toxigenicitat

Un altre tipus de recerca que té com a material de treball els patògens del gènere *Vibrio* i els *Aeromonas* és l'estudi de la toxigenicitat d'aquests bacteris. Aquest estudi es fa tant des del punt de vista de la caracterització molecular de les toxines, com en el camp del millorament de les tècniques emprades per detectar els diferents tipus de toxines. La toxigenicitat del vibrió del còlera clàssic i del biotip ElTor ha estat molt estudiada i són nombrosos els treballs els darrers quinze anys (MEKALANOS *et al.*, 1978; EIDELS *et al.*, 1983). Els treballs sobre les toxines d'altres vibrions o sobre el mateix *V. cholerae* però els serotips no O-1, són molt necessaris. Darrerament, els vibrions no O-1, també anomenats soques NAG, s'han isolat de molts casos d'infeccions per aigües de riu contaminades i sobretot per aigües d'estuaris o similars que reben abocaments de residus.

Tant *Vibrio mimicus*, com *V. fluvialis* o moltes soques de *V. cholerae* no O-1, produeixen enterotoxines diferents de la toxina colèrica. Aquestes toxines es caracteritzen per portar factors de permeabilitat i hemorràgics, són substàncies tòxiques per a les cèl·lules adrenals Y-1 i les CHO, i en certs casos es poden detectar perquè indueixen acumulació de fluids a l'intestí de conills o de ratolins lactants. Els articles de LOCKWOOD *et al.* (1982), NISHIBUCHI *et al.* (1983b) i SPIRA & FEDORA-CRAY (1983) poden ésser bones fonts d'informació en aquests temes on hi ha molt de camp per a un treball conjuntat entre metges, microbiòlegs marins i bioquímics.

6. MICROBIOLOGIA MARINA I INDÚSTRIA

El conjunt dels bacteris marins es pot dir que ha estat molt poc aprofitat com a font de microorganismes en el camp de la microbiologia industrial. Quan el microbiòleg industrial ha tingut necessitat de buscar nous metabolismes microbians que satisfessin una demanda concreta d'un ti-

pus de substància o transformació bioquímica particular, quasi sempre ha anat a buscar microorganismes al sòl o a les aigües dolces. És evident que el que la indústria ha demanat dels microorganismes fins ara, ha estat satisfet pels bacteris edàfics en una gran majoria de casos i sobretot pel que fa a la indústria farmacèutica. D'altra banda, la manca d'aprofitament dels bacteris marins pot tenir raons metodològiques, històriques o la mateixa dificultat d'aconseguir mostres. També el fet que els microorganismes marins necessiten una gran concentració de sals en els medis de cultiu pot ser un inconvenient a l'hora de passar un sistema de la fase pilot al nivell industrial. Però davant d'una pressió de la societat moderna sobre la microbiologia industrial i la biotecnologia potser és hora d'anar a buscar microorganismes al mar quan es fan prospeccions microbianes per necessitats concretes. En els països més avançats es troben alguns exemples del que acabem de dir i que esmentem a continuació.

Els darrers anys, algunes noves tecnologies tals com la de la indústria petrolífera i la bioenginyeria, demanen un cert tipus de productes que sembla lògic que puguin ésser oferts pels microorganismes marins. En concret, els bioemulsificadors d'hidrocarburs (KAPLAN & ROSENBERG, 1982), les macromolècules polisacàridiques adaptades a medis salins (BOYLE & READE, 1983), els enzims necessaris per a la manipulació d'àcids nucleics i d'altres enzims que poden tenir una demanda concreta dins el món de la recerca bioquímica bàsica (DOUBET & QUATRANO, 1982; ONISHI *et al.*, 1983, etc.) són algunes de les substàncies d'interès per a la indústria.

En el món dels antibiòtics, els treballs de GAUTHIER (1976, 1979) i de TORANZO *et al.* (1982) demostren que el medi marí pot ser font de microorganismes que sintetitzen noves molècules antimicrobianes. Aquesta possibilitat s'ha vist concretada pels descobriments de l'aplasmonicina (antiparasitari que afecta el plasmodi de la malària) i les istamicines, que són molècules antibiòtiques amb futur en el tractament de diverses malalties infeccioses bacterianes (OKAMI, 1984). També s'ha descobert un polisacàrid potenciador del sistema immune, el marinactan, produït per una flavobactèria i que té efectes antitumorígens. D'altra banda, un enzim de tipus dextranas, produït per una soca marina

de *Bacillus circulans*, sembla tenir interès per al tractament i la prevenció de la càries dental ja que hidrolitza diversos polisacàrids càpsulars, entre ells el glucà tipus C de *Streptococcus mutans* (OKAMI, 1984). En totes aquestes investigacions, no és tan important el fet que els microorganismes siguin marins, com les modificacions que el medi de cultiu marí pot fer sobre el metabolisme microbià, induïnt d'aquesta manera la síntesi de noves molècules.

Des de fa ja molts anys la indústria naval i relacionada demana dels microbiòlegs marins l'assaig de noves substàncies per evitar la colonització microbiana de les parts submergides dels vaixells i les plataformes marines. Aquest és un aspecte molt important ja que l'anomenat *microfouling* o colonització biològica de les superfícies submergides és un dels factors decisius de la corrosió en crear condicions anaeròbiques reductores en contacte amb el metall. Els bacteris marins són microorganismes pioners en aquesta colonització i preparen les superfícies amb substàncies polisacàridiques i proteiques perquè puguin fixar-s'hi larves, propàguls d'algues, etc. Tot el que pugui retardar l'adsorció microbiana a les superfícies submergides és interessant per evitar la corrosió. Aquest i d'altres temes que relacionen la biotecnologia amb les ciències del mar són tractats en un recent treball de COLWELL (1983).

7. BIOMASSA I ACTIVITAT DELS PROCARIOTES EN EL MEDI MARÍ

Des dels començaments de la microbiologia marina moderna, els anys quaranta, amb la publicació del llibre de ZOBELL (1946), el càlcul de la biomassa i de l'activitat metabòlica dels bacteris marins, ha estat un objectiu constant de molts microbiòlegs. A finals dels anys seixanta i sobretot durant la dècada dels setanta, hi ha hagut molts grups de treball que s'han dedicat al desenvolupament i estudi crític de diferents tècniques per mesurar la biomassa bacteriana i la seva activitat. Tant és així que ja entrats en la dècada dels vuitanta, es disposa d'una sèrie de tècniques que permeten d'obtenir dades bastant significatives respecte de la situació real. Ja s'ha caminat molt des dels temps en què el recompte de bacteris viables (bacteris que

originen un creixement macroscòpic en un medi de cultiu), era l'única mesura a l'abast del microbiòleg marí. Moltes de les tècniques modernes, algunes de les quals s'anomenen més avall, necessiten encara ésser provades en moltes i diferents situacions naturals a fi i efecte de poder copsar la seva vàlua. Transcripció literalment un paràgraf d'un article de MORIARTY & POLLARD (1982) que reflecteix molt acuradament la situació de l'ecologia microbiana marina després dels avenços tecnològics dels darrers cinc anys: «... El nostre coneixement de l'ecologia dels bacteris marins depèn molt dels mètodes a l'abast de l'investigador. Les millores de la microscòpia i l'aplicació de tècniques bioquímiques han transformat els punts de vista sobre el paper dels bacteris en els sistemes marins. Els bacteris són molt més abundants i actius i ocupen una posició més important a la cadena alimentària del que abans es pensava (vegeu SIEBURTH, 1979). Ara és possible aconseguir mesures de confiança de les taxes de creixement i producció cel·lular dels bacteris sense destorbar molt l'ambient natural...».

7.1. Biomassa

La mesura de la biomassa bacteriana pot fer-se per mitjà de la microscòpia d'epifluorescència (HOBBIÉ, 1977; HAAS, 1982) per comptar el nombre de cèl·lules, combinada amb la mesura de mides cel·lulars obtingudes amb microscòpia òptica o millor encara amb la microscòpia d'escombratge (FUHRMAN, 1981). Després d'emprar els factors de correcció corresponents: *a*) nombre de bacteris i volum cel·lular, *b*) densitat de les cèl·lules microbianes, *c*) relació pes fresc/pes sec, i *d*) relació carboni/pes fresc, poden donar-se els resultats en unitats de pes de C bacterià per unitat de volum del medi estudiat. No fa falta, doncs, quedar-se en el nivell dels recomptes de bacteris com fins fa ben poc s'havia fet. A part del taronja d'acridina que és un colorant fluorescent clàssic emprat en els recomptes directes de bacteris, recentment se n'han introduït d'altres com el DAPI (4,6-diaminidino-2-fenilindol-2HCl) que són molt més selectius i específics per a les cèl·lules vives (PORTER & FEIG, 1980; COLEMAN, 1980).

Els anomenats recomptes de viables són encara útils sempre que no es pretengui

fer-los servir per a mesurar la biomassa microbiana total. Però sens dubte són imprescindibles quan es tracta de fer recomptes de grups de bacteris determinats o de seguir indirectament l'evolució de les poblacions microbianes en l'espai o el temps. Més endavant es parla amb més detall d'aquests aspectes.

Les determinacions químiques de la biomassa bacteriana són més ràpides que no pas les tècniques microscòpiques. Les mesures més clàssiques són les de l'ATP (HOLM-HANSEN & BOOTH, 1966; KARL, 1980), però més recentment han merescut força atenció les de l'àcid muràmic (MORIARTY, 1978) i sobretot les del lipopolisacàrid (LPS) (WATSON, 1979). Aquesta darrera tècnica ha ultrapassat l'àmbit de la microbiologia marina i ha trobat aplicació a d'altres camps de la microbiologia i la medicina. Les determinacions de tipus químic necessiten emprar factors de correcció per obtenir mesures de biomassa. Precísament és el valor d'aquests factors l'aspecte més criticable d'alguns d'aquests mètodes. Avui dia és clar que cal emprar diferents factors de correcció per a diferents hàbitats estudiats, ja que tant la mida com els complementos bioquímics del citoplasma i les parets dels bacteris canvien segons l'estat fisiològic de les cèl·lules. Vegeu, per exemple, STUART (1982) pel que fa referència a l'ATP, MORIARTY (1982) pel mètode de l'àcid muràmic i WATSON (1977) per la tècnica del LPS. El mètode de l'ATP o el seu cosí germà, el dels adenilats totals, sembla ésser útil sobretot per avaluar la biomassa microbiana total en el sentit més ampli del terme: és a dir, la biomassa de bacteris, fitoplàncton i microzooplàncton. Quan solament es vol mesurar la biomassa bacteriana, s'ha de fer un fraccionament previ per mides i això pot introduir errors molt significatius. Les revisions de VAN ES & MEYER REIL (1982) i d'ATLAS (1982) tracten més extensament tots aquests aspectes.

7.2. Productivitat

A més de la biomassa, el microbiòleg marí necessita tenir dades sobre la dinàmica productiva del sistema. Les tècniques per a mesurar l'activitat dels bacteris, les taxes de creixement i la producció de biomassa en el temps responen a aquest tipus de necessitat. Les mesures de l'activi-

tat heterotròfica d'una comunitat microbiana respecte de diferents substrats orgànics metabolitzables, donen una idea de la capacitat dels microorganismes per a degradar aquests substrats i fins un cert punt poden ésser útils per a caracteritzar aquesta comunitat. Aquest tipus de caracterització és sobretot vàlida des d'un punt de vista relatiu en comparar comunitats entre si.

Els mètodes que s'empren per mesurar l'activitat heterotròfica utilitzen substrats marcats radioactivament amb ^{14}C o ^3H , de manera que sols faci falta afegir al medi natural una petita quantitat de substrat. Així no es canvia significativament la concentració natural del substrat i els valors dels paràmetres que s'obtenen se suposa que són semblants als naturals. En aquest sentit, l'ús de molècules marcades amb triti té avantatges sobre el carbó catorze, perquè l'activitat específica dels substrats tritiats pot ésser més alta. Com a conseqüència, la quantitat de substrat a afegir al medi natural és més petita. L'inconvenient de l'ús dels substrats tritiats és que no es coneix ben bé la correcció que s'ha de fer per a les pèrdues de substrat en forma d'aigua de respiració. Ja s'està investigant aquest aspecte (KUPARINEN & TAMMINEN, 1982) i és necessari treballar-hi més.

Amb els mètodes de mesura de l'activitat heterotròfica s'obtenen paràmetres de comunitats bacterianes tals com la V_{max} (velocitat màxima d'utilització del substrat per a la comunitat microbiana natural), T (*turnover* o temps necessari per a metabolitzar la quantitat de substrat que hi ha en el medi), S_n (concentració natural de substrat) i K_t (constant de transport-afinitat de la comunitat envers el substrat). Aquests valors permeten caracteritzar des del punt de vista de l'heterotrofisme les comunitats microbianes naturals (LI, 1982, 1984; NEWELL, 1982; KIRCHMAN *et al.*, 1982b; KUPARINEN & TAMMINEN, 1982; WINN & KARL, 1984). Igual com passa amb els càlculs de la biomassa, molts dels factors de correcció emprats en les transformacions dels valors d'activitat heterotròfica, i uns certs conceptes que suposen una constància de les activitats microbianes a la natura, i dins de les botelles on es fan les anàlisis, són temes encara molt discutits i oberts a la investigació.

Per estimar la productivitat microbiana i en especial la dels bacteris, s'empren també tècniques que mesuren les taxes d'in-

corporació de nucleòtids marcats al RNA i al DNA, i les taxes d'assimilació de sulfat marcat amb ^{35}S a les proteïnes de la cèl·lula (NEWELL, 1982; KARL, 1982; KIRCHMAN *et al.*, 1982b; CUHEL *et al.*, 1982). Un recent treball de CUHEL *et al.* (1983) té interès perquè demostra la utilitat de l'ús de nutrients inorgànics marcats amb isòtops ($^{35}\text{SO}_4^{2-}$, $^{32}\text{PO}_4^{3-}$, $^{15}\text{NH}_4^+$) seguit de fraccionament subcel·lular. Compara també els resultats obtinguts amb aquests nutrients inorgànics amb altres mesures aconseguïdes amb nutrients orgànics marcats amb ^{14}C .

Una aportació molt valuosa a la mesura de la producció microbiana a les aigües naturals és el mètode anomenat de la freqüència de cèl·lules en divisió (NEWELL & CHRISTIAN, 1981). Aquest mètode —com tots els altres—, és encara subjecte de la revisió crítica, sobretot quant als factors de correcció emprats. Però, sens dubte, és una de les tècniques més prometedores (HANSON *et al.*, 1983).

Relacionat amb la mesura de l'activitat microbiana hi ha l'aspecte de quina és la proporció de cèl·lules bacterianes d'una comunitat metabòlicament actives en un moment donat. La tecnologia actual permet respondre aquesta pregunta amb la microautoradiografia pel que fa a nutrients específics, amb l'anàlisi de la reducció de les sals de tetrazoli per detectar cèl·lules que respiren, o la tècnica de l'àcid nalidíxic per comptar les cèl·lules que creixen. Els articles que se citen a continuació poden ésser una bona font d'informació per a l'interessat: MEYER-REIL (1978); ZIMMERMAN *et al.* (1978); KOGURE *et al.* (1979); TABOR & NEIHOFF (1982); NEWELL (1984).

No s'ha dit la darrera paraula sobre la utilitat de totes aquestes tècniques, i el treball de camp amb elles, per provar-les en diferents ambients, és molt necessari.

7.3. Biomassa i activitat en els sediments

La complexitat dels sediments és un factor determinant del fet que no hi hagi gaires dades relatives a la quantificació del nombre de bacteris o les seves biomassa i activitat en aquest hàbitat. Paradoxalment, el sediment marí és un dels llocs on l'activitat microbiana és més palesa, donat que els bacteris, per una banda, són un factor primordial en la mineralització de la matèria orgànica sedimentada i, per l'al-

tra, constitueixen una de les fonts més importants de carbó i energia per a les comunitats detritívores dels sediments (FENCHEL & JORGENSEN, 1977).

Els treballs de RUBLEE (1982) i de MONTAGNA (1982) tracten els aspectes de la quantificació de la biomassa microbiana en els sediments i alguns dels problemes inherents amb aquestes mesures. MORIARTY *et al.* (1981, 1982c) han estudiat tant la biomassa com l'activitat bacteriana en els sediments dels herbeis de fanerògames marines. NOVITSKY & KEPKAY (1981) han seguit les activitats heterotròfiques a diferents horitzons del sediment marí, i han detectat compartimentalització d'activitats de diversos grups fisiològics de bacteris. Aquests mateixos autors han detectat fets tan interessants com el que dins el sediment i a una considerable profunditat pot haver-hi producció de biomassa microbiana derivada de la fixació quimioautòtrofa de diòxid de carbó, un procés que hom esperaria trobar a la superfície dels sediments o a les aigües lliures.

Hi ha alguns estudis a tenir en compte sobre la proporció de bacteris gram positius i gram negatius en els sediments (MORIARTY *et al.*, 1982b). Aquest tipus de treball és molt necessari per a poder conèixer quins factors de correcció s'han d'emprar per transformar paràmetres bioquímics de tècniques de mesura de biomassa, tals com la concentració d'àcid muràmic en un sediment, en biomassa bacteriana.

La quantificació de les transformacions dels elements químics, en particular els nutrients, portades a terme pels bacteris en els sediments, és un tema més estudiat que no pas les mesures de biomassa total. En el sediment, interessa sobretot mesurar l'activitat dels bacteris del metà, reductors de sulfats i diferents grups responsables de les transformacions del cicle del nitrogen. A l'apartat 18 es comenta breument la recerca en alguns d'aquests aspectes.

7.4. Els recomptes de viables i la microbiologia marina moderna

Encara que la tècnica de recompte de bacteris viables en placa de cultiu no dona una mesura bona de la biomassa microbiana, pot ésser utilitzada amb molt de sentit si es coneixen les seves limitacions

i se li demanen resultats apropiats a allò que pot oferir. S'ha de recordar que els recomptes d'«heteròtrofs totals» en plaques de cultiu poden arribar a comptar solament entre un 1 i un 0,01 % de la població microbiana comptada amb tècniques microscòpiques (SIEBURTH, 1979). Estimacions clàssiques de concentracions bacterianes en el mar que no van més enllà d'ordres de valor de 10^2 o 10^3 bacteris viables per mil·lilitre (LEWIN, 1974), s'han vist incrementades fàcilment a ordres de valor de 10^5 o 10^6 bacteris per mil·lilitre emprant tècniques de microscòpia de fluorescència o microscòpia electrònica.

A part dels recomptes de microorganismes concrets com els coliformes, vibrions, estreptococs fecals, etc., obtinguts amb medis selectius, el recompte de viables és bo per a tenir una estima dels bacteris «saprofítics» capaços de créixer en una placa de cultiu. La correlació entre aquests bacteris i els sòls especialitzats a créixer sobre les partícules a les aigües sembla ésser clara (FUKAMI *et al.*, 1983). El recompte de viables especialitzats en algun substrat nutritiu específic que sigui abundant en determinades zones del mar, pot fer-se servir per a seguir el moviment de masses d'aigua (KOOP *et al.*, 1982).

S'han fet estudis interessants sobre la diversitat de les comunitats microbianes amb els recomptes de viables (BIANCHI & BIANCHI, 1982; HOROWITZ *et al.*, 1983; ATLAS, 1984). D'altra banda és evident que les estimacions de la concentració de microorganismes capaços de degradar qualsevol substrat específic (hidrats de carbó, proteïnes, hidrocarburs, etc.), requereix el recompte de viables, ja sigui fet sobre un medi solidificat en una placa o per la tècnica del nombre més probable en medi líquid (NMP). Una adaptació d'aquesta darrera tècnica per a la detecció de microorganismes capaços de degradar substrats específics consisteix en la utilització de molècules marcades amb carbó catorze o amb triti junt al mètode del NMP (LEHMICKE *et al.*, 1979; ISHIDA & KADOTA, 1979).

És clar, doncs, que el microbiòleg marí no pot deixar de costat aquesta tècnica pel sol fet d'ésser un procediment de treball clàssic una mica arraconat els darrers anys; cal saber utilitzar-lo de manera que doni resultats aprofitables.

8. ELS BACTERIS MARINS I LA PRODUCCIÓ SECUNDÀRIA

El concepte que els bacteris complien una funció poc important des del punt de vista productiu en els ecosistemes marins era molt comú fins fa pocs anys. Des del punt de vista de la producció, el pes de l'interès investigador se l'enduien els productors primaris i els diferents esglaons de consumidors. Els bacteris sols eren considerats com a importants agents mineralitzadors, molt difícils de comptar i de mesurar acuradament la seva activitat. Però els darrers anys, a causa de la millora de les tècniques per a comptar i evaluar la biomassa i l'activitat bacterianes, la importància dels bacteris en els ecosistemes marins ha estat entesa més clarament. Aspectes de l'ecologia microbiana que sols eren acceptats des d'un punt de vista conceptual teòric, passaren a ser corroborats per xifres d'abundància, temps de generació, biomasses i taxes d'activitat metabòlica. Alguns aspectes dels avenços de la química de les aigües i de la identificació i quantificació de la matèria orgànica excretada per les algues i el zooplàncton han contribuït a donar interès a l'estudi dels bacteris per part dels ecòlegs.

La visió que els bacteris compleixen fonamentalment un paper mineralitzador en els ecosistemes, a poc a poc s'estengué per incloure el fet que els petits microorganismes s'encarreguen de transformar matèria orgànica i inorgànica dissolta en matèria particulada subjecte a la depredació per part de protozous i d'altres animals bacterívors. També els mateixos bacteris poden fixar-se a partícules, millorar el seu creixement i a la vegada incrementar la qualitat alimentària de la partícula. Els treballs de VAN ES & MEYER-REIL (1982), WILLIAMS (1981) i de STOUT (1980) són bones fonts d'informació general.

8.1. Bacteris marins i matèria orgànica dissolta

Les aigües dels oceans generalment són molt pobres en carboni orgànic dissolt, 0,3-1 mg C/litre, del qual solament un 10 % sembla ser carboni «actiu» subjecte a la degradació pels microorganismes (MENZEL & RYTHER, 1970). Una gran part de la resta de carbó és constituït per materials de tipus húmich (*Gelbstoff*) que són refractaris

a l'atac microbià (HARVEY *et al.*, 1984). Per sota de la zona eufòtica, la matèria orgànica és encara més difícil de degradar (BARBER, 1968). Això no vol dir que en certs moments la mort d'uns animals, una massa de fitoplàncton o l'acció mecànica de les ones a la costa, produeixin un enriquiment important en matèria orgànica dissolta en un espai i temps concrets. Algunes estimacions més precises que fan referència als tipus de molècules que hi ha a l'aigua del mar, situen als carbohidrats de baix pes molecular en el nivell de concentració micromolar o inferior, i als aminoàcids a nivells entre 10 i 30 nanomolar a l'oceà. (LEE & BADA, 1975). A les zones d'aigües costaneres, la concentració d'aminoàcids pot ésser més elevada, arribant fins a 0,2-0,6 micromolar (GARRASI *et al.*, 1979).

Els bacteris marins estan especialment adaptats a les baixes concentracions de nutrients orgànics i són capaços d'anar a cercar nutrients mitjançant la quimiotaxis en nivells de concentració entre mil·limolar i micromolar. En aquest interval de concentracions intervenen uns transportadors d'una relativa baixa afinitat per incorporar els nutrients a les cèl·lules bacterianes (GEESEY & MORITA, 1979; TORRELLA & MORITA, 1982). Quan les concentracions d'uns certs nutrients orgànics baixen a nivells d'ordre entre micro i nanomolar—cosa molt freqüent a les aigües obertes de l'oceà—, els bacteris, que en aquestes situacions estan generalment en una fase adaptada a la depauperació nutritiva, encara són aptes per a capturar nutrients per mitjà de sistemes de transport d'alta afinitat (GEESEY & MORITA, 1979); FAQUIN & OLIVIER, 1984). El que acabem de dir posa de manifest la gran capacitat dels bacteris per a concentrar i aprofitar baixíssimes concentracions de matèria orgànica dissolta en el mar. Precisament és aquesta mateixa capacitat la que, en part, explica la pobresa del medi marí en molècules orgàniques de baix pes molecular que puguin ésser emprades pels bacteris heteròtrofs. Tan bon punt hi ha un enriquiment localitzat de nutrients orgànics, els bacteris, que són sempre en el lloc de forma més o menys activa, «empaqueten» aquestes fonts de carboni i energia dins la cèl·lula bacteriana. Com veurem després, els microflagel·lats són els primers que s'encarreguen de consumir els bacteris i d'incorporar així el carboni fixat heterotròficament a la cadena tròfica.

Els estudis de captura de substrats orgànics, la seva respiració o incorporació a vies biosintètiques segons l'estat de la cèl·lula, i d'altres aspectes relacionats, són una àrea de recerca on el microbiòleg marí i el bioquímic tenen molt a fer conjuntament.

8.2. Bacteris marins i material particulat

La capacitat dels bacteris marins per a adherir-se a substrats físics és ben coneguda i se'n parlarà en el context de les investigacions que tracten sobre l'adsorció dels microorganismes a les superfícies. Una ràpida ullada a llibres de microbiologia marina il·lustrats tals com els de SIEBIRTH (1975, 1979), posa de manifest el fet de la colonització microbiana de material particulat orgànic i inorgànic, i dels mateixos organismes vius en el mar. Això contribueix indubtablement a la millora de la qualitat alimentària de les partícules quan aquestes són consumides per organismes detritívors o filtradors.

La matèria orgànica particulada pot separar-se per mides en dues grans fraccions: les partícules de mida més gran o igual a 30-35 μm i la fracció més petita, especialment rica en partícules de mida inferior o igual als 2 μm . Els mateixos bacteris marins planctònics que absorbeixen matèria orgànica dissolta formen part d'aquesta darrera fracció. Les excretes del zooplàncton i dels més petits animals del nècton, junt amb les restes del fitoplàncton i del zooplàncton mort, formen part de la fracció de les partícules grans. Tots aquests materials particulats són agregats en una gran part formant partícules més grans que constitueixen el que se n'ha dit «neu marina». La colonització i degradació per bacteris del material particulat durant la seva caiguda cap al fons de l'oceà es creu que és un procés molt important en el reciclatge de la matèria orgànica en la columna d'aigua. Les partícules poden ésser ingerides pels animals planctònics aprofitant la vàlua nutritiva dels bacteris adherits. Fins fa poc es creia que la degradació de les partícules —especialment les fecals—, es produïa de fora cap a dins a causa d'una epiflora bacteriana que arribava a trencar la pel·lícula superficial de la partícula, tot donant pas a la disgregació dels materials. Recentment, GOWING & SILVER (1983) han vist

que els bacteris que són dins la mateixa partícula juguen un paper fonamental en la seva degradació.

Les partícules de la neu marina de mida més gran poden sedimentar fins a centenars de metres al dia (WAKEHAM *et al.*, 1984) i representen una font important de carbó i energia per a les comunitats del fons de l'oceà, sobretot en àrees on hi ha hagut una producció primària important en la zona eufòtica. La neu marina de mida més petita, entre 10 i 100 μm , sedimenta més lentament, i si l'estructura de la partícula ho permet, es creu que es manté en la columna d'aigua el temps suficient per a ésser substrat del creixement de bacteris i ser menjada per algun copròfag o detritívor (HOFFMANN *et al.*, 1981). Encara que no sempre, la microscòpia electrònica d'escombratge permet de veure xarxes de mucus que subjecten bacteris, restes de fitoplàncton, zooplàncton i altres materials particulats (POMEROY, 1984). Les observacions microscòpiques de la neu marina no sempre revelen una colonització microbiana important. Com a màxim es pot dir que la importància del component bacterià adherit a les partícules de les aigües marines, en el context de la transferència de carbó i energia a la cadena tròfica, encara s'ha d'avaluar amb exactitud. Recents investigacions (SILVER *et al.*, 1984) aporten dades molt valuoses per a la comprensió de la biologia de les partícules en el mar. S'han detectat quantitats molt importants de ciliats que acompanyen les partícules en el seu viatge al fons del mar. Aquests protozous, que se suposa que van acompanyats per altres tipus de protists, són actius consumidors de bacteris i en general de materials detrítics. Les avaluacions de biomassa fetes posen de manifest que en les comunitats pelàgiques profundes, la biomassa de protozous és molt més gran que la dels bacteris. D'altra banda, els tipus de protozous són diferents en diversos nivells de fondària, i indiquen l'existència de comunitats endèmiques. Tot això podria explicar el fet que la microscòpia electrònica reveli moltes vegades partícules tan «netes» pel que fa a la colonització bacteriana. Així doncs, els protists semblen controlar les taxes de mineralització en les partícules degudes als bacteris.

Hi ha un altre aspecte de la biologia del material particulat en els ambients pelàgics de l'oceà que s'ha descobert fa poc i que representa una petita revolució en

els conceptes de la xarxa tròfica de l'ecosistema pelàgic marí. Aquest és el descobriment de KARL *et al.* (1984) d'una activitat bacteriana quimiolitotòfica molt important a la zona mesopelàgica del nord de l'oceà Pacífic. A uns 700-900 metres de fondària s'han detectat comunitats de bacteris que fixen diòxid de carbó aprofitant l'energia de l'oxidació de l'amoni que arriba en aquesta fondària associat a les partícules grosses que van sedimentant des de la superfície.

En el mar hi ha una altra font de partícules densament colonitzades per bacteris i que s'originen en disgregar-se els cadàvers d'animals o plantes que havien sostingut sobre la seva superfície molt riques i diverses poblacions de microorganismes. Aquesta font de partícules riques en bacteris és sobretot important a les zones costaneres (les ones contribueixen molt al fraccionament de parts d'algues bentòniques moribundes) i a les maresmes. Els materials particulats van a parar al bentos on són la base de comunitats microbianes i detritívores. Com ja fa temps van posar de manifest FENCHEL & HARRISON (1976), els protozous —ciliats i amebes, sobretot—, juguen un paper molt important en aquestes situacions en la transferència de la producció heterotòfica des dels nivells bacterians a d'altres de superiors en la cadena alimentària.

8.3. Bacteris heteròtrofs i excreció de compostos orgànics per organismes fotosintètics

Els treballs que tracten les relacions entre els productors primaris i els bacteris heteròtrofs que viuen junt amb ells al mateix temps, són molt comuns els darrers anys. Això demostra l'interès d'aquest aspecte de l'ecologia microbiana (LARSSON & HAGSTRÖM, 1982; WOLTER, 1982; GRIFITHS *et al.*, 1982d; JENSEN, 1983). Segons sigui el seu estat fisiològic, les algues poden excretar quantitats importants de molècules de baix pes molecular. Es tracta de l'excreció de fotosintetats, és a dir, materials que han estat sintetitzats abans gràcies a la fotosíntesi. Segons alguns autors la pèrdua de material pot arribar fins al 62 % del carbó fixat (LANCELOT, 1979). Encara que en aquestes mesures pot haver-hi hagut exageracions, i encara que certs autors fins i tot han dubtat que l'excreció fos

un fenomen natural, el cas és que avui s'accepta que les cèl·lules sanes dels organismes fotosintètics aquàtics perden una part del carbó fixat per excreció (MAGUE *et al.*, 1980).

Les molècules detectades en aquest procés d'excreció són: l'àcid glicòlic, diversos sucres, entre ells la glucosa, varietat d'aminoàcids i d'altres molècules de baix pes molecular. D'altra banda, i encara que estrictament no poden ésser considerats dins la mateixa categoria dels materials excretats, els camps d'algues macrofítiques marines de la zona costanera (*Laminaria* spp., *Ecklonia* sp., etc.) alliberen grans quantitats de polisacàrids mucilaginosos que són utilitzats pels bacteris (LINLEY *et al.*, 1981). Totes aquestes substàncies poden ésser ràpidament aprofitades pels microorganismes heterotòfics, que les incorporen així a la fracció particulada de l'anomenat picoplàncton (0,2-2 µm). S'ha calculat que un mínim del 25-30 % i fins a un màxim del 90 % d'aquests fotosintetats excretats és recollit pels bacteris (JENSEN, 1983). La quantitat de matèria orgànica que és excretada pels organismes fotosintètics i utilitzada pels bacteris en un ambient planctònic, pot arribar a un 25-30 % de la producció primària (LARSSON & HAGSTRÖM, 1979; JENSEN, 1983). Aquests valors són prou importants per a comprendre la transcendència que els estudis dels microbiòlegs marins tenen en aquesta àrea. Per explicar el flux de carbó en els ecosistemes marins, s'ha de tenir en compte la transferència de matèria orgànica a través d'aquest curt circuit que representa el consum de fotosintetats excretats per part dels bacteris.

8.4. Bacteris marins i l'excreció de compostos nutritius pels animals

De la mateixa manera que des de fa uns anys el tema de la utilització de compostos orgànics alliberats pels organismes fotosintètics atrau l'interès dels ecòlegs, també és un aspecte important de la xarxa tròfica l'aprofitament que els bacteris fan dels nutrients orgànics i inorgànics que excreten els animals. Pel que fa referència al zooplàncton, els treballs d'EPPELLEY *et al.* (1981) i de LEHMAN & SCAVIA (1982), són ben clars. Aquests nutrients entre els quals es troba el fosfat i l'amoni, poden ésser

utilitzats pels bacteris ja sigui directament o bé després que les cèl·lules dels organismes fotosintètics se n'hagin aprofitat. En aquests tipus d'estudis s'ha de tenir en compte que les migracions de poblacions de zooplàncton poden enriquir temporalment una zona del mar. Els microorganismes que es troben a la zona enriquida aprofiten immediatament els nutrients alliberats. Aquest tipus de dispersió de microhàbitats enriquits en nutrients sembla ésser a la base de les diferències, a vegades molt importants, que s'obtenen en fer les mesures d'abundància o activitat microbiana en les aigües oceàniques.

En les aigües marines, les excretes del zooplàncton i altres animals, no són solament les fonts de matèria nutritiva. La mateixa acció del menjar del zooplàncton en trencar les cèl·lules del fitoplàncton, contribueix a l'alliberament de nutrients (DAGG, 1974).

8.5. Animals bacterívors en el mar

L'interès més recent dels ecòlegs marins en la investigació dels bacteris com a subjecte de depredació per part de diferents grups d'animals, prové en part de treballs ja clàssics com el de FENCHEL & HARRISON (1976) sobre la importància dels protozous bacterívors en les cadenes tròfiques detritívores. Sembla cada dia més evident que en el medi planctònic el reciclatge de nutrients degut al microzooplàncton (copèpodes i d'altres), no és suficient per a sostenir les taxes de producció del fitoplàncton. D'altra banda, la biomassa bacteriana, i en general la del picoplàncton tant autòtrof com heteròtrof, sembla mantenir en el mar uns nivells més o menys constants. Es veu, doncs, la necessitat que hi hagi quelcom en el mar que mantingui controlades les poblacions del pico- i del nanoplàncton des del punt de vista de la biomassa, però que, a la vegada, mantingui un nivell de recanvi (*turnover*) en els nutrients considerable i que posi a disposició dels productors primaris els materials necessaris per a sostenir la producció (WILLIAMS, 1981; AZAM *et al.*, 1983). Molts treballs recents suggereixen que el grup dels protozous és el responsable d'aquesta funció. El nombre considerable de treballs sobre el tema dels protozous com a consumidors de bacteris i algues (cianòfits) del picoplàncton que es presentaren en el Ter-

cer Congrés Internacional d'Ecologia Microbiana és una prova de l'interès d'aquest tema per als ecòlegs microbians (KLUG & REDDY, 1984).

El paper més important des del punt de vista del consum dels bacteris, semblen tenir-lo els microflagel·lats membres del nanoplàncton (2-20 μm). (L'estudi d'aquests petits protozous es tracta a l'apartat 9, ja que és una àrea de treball molt peculiar dins la microbiologia marina.) Segons han demostrat molts experiments de laboratori i observacions de camp, hi ha molts altres grups de protozous a part dels microflagel·lats que són capaços de consumir bacteris. Però les coses observades en el laboratori no es poden traslladar sense més ni més a la natura. Per exemple, la mida dels bacteris cultivats en el laboratori no és la mateixa que la que tenen els mateixos microorganismes en el mar. La depauperació nutritiva dels bacteris en el medi marí té un efecte decisiu sobre la seva mida (vegeu l'apartat 16). La mida de les partícules és directíssimament relacionada amb la capacitat filtradora o concentradora dels protozous i d'altres petits animallets que mengen bacteris. Per exemple, es pensa que en general, els ciliats mengen més aviat mides de partícula per damunt dels 5 μm . En canvi, la majoria dels bacteris planctònics marins tenen mides inferiors a 1 μm . La situació canvia quan són considerats els llocs que podrien anomenar-se «punts calents» de l'activitat microbiana, on la mida dels bacteris és més gran. Per exemple, el microneuston a la superfície de les aigües, els agregats orgànics i la neu marina, les restes de cossos dels apendicularis i d'altres animals, les partícules fecals del zooplàncton, etc. Molts d'aquests aspectes són tractats a les revisions de SHERR & SHERR (1984), POMEROY (1984), PORTER (1984) i CLARHOLM (1984), i també en els treballs de FENCHEL (1980a,b) i de CARON *et al.* (1982).

Ja s'ha dit més amunt que els flagel·lats semblen complir un paper molt important com a consumidors de bacteris en el medi marí (vegeu l'apartat 9). Els ciliats tintínids són un grup ben reconegut i important en el plàncton marí (CAPRIULO, 1982, 1983), però encara que aquests protozous poden consumir bacteris, prefereixen partícules més grans com en general ja s'ha dit que sembla passar amb els ciliats (FENCHEL, 1980b); no s'ha d'oblidar que les partícules menjades pels ciliats poden ser

colonitzades per bacteris. Els rizòpods del plàncton marí semblen ser menys importants que altres protozous com a consumidors de bacteris encara que és ben cert que poden menjar-ne. Es donen algunes situacions en les quals alguns rizòpodes marins poden ésser abundants. Així passa amb els acantaris, amebes, foraminífers i radiolaris pelàgics. Les amebes testàcies o nues juguen un paper molt important com a menjadors de bacteris en els sediments i sobre les superfícies de les algues (SHERR, 1984).

No són encara ben quantificats el carbó i l'energia de la matèria orgànica dissolta que són recuperats per la cadena tròfica pel que se'n podria dir el curt circuit representat per la sèrie: matèria orgànica → bacteris → microflagel·lats → ciliats → copèpodes i altres crustacis, etc. En canvi, se sap que la funció dels protozous no és solament la d'acumular biomassa que un cop consumida passa a altres nivells de la cadena tròfica, sinó la d'activar el reciclatge dels nutrients, especialment nitrogen i fòsfor, tan necessaris perquè els heteròtrofs i els autòtrofs puguin acumular carbó orgànic i inorgànic, respectivament (STOUT, 1980; SHERR & SHERR, 1984).

A més dels protozous, hi ha altres animals del microplànton i de mides més grans que poden consumir bacteris, almenys quan se'ls cria en el laboratori. Pel que fa als copèpodes, vegeu, per exemple, RIEPER & FLOTOW (1981), RIEPER (1982) i BOACK & GOULDER (1983). Molts crustacis del plàncton tenen una mida de porus en les xarxes dels seus apèndixs filtradors que en teoria no és prou petita per atrapar els bacteris de les aigües ($< 1 \mu\text{m}$). Sembla, però, que en la retenció de les partícules més petites hi juguen altres factors tals com les atraccions electrostàtiques o les interaccions hidrofòbiques de la partícula amb la superfície de l'apèndix filtrador. Vegeu, per exemple, PORTER (1984) i altres referències d'aquest treball.

Molts altres animals marins del plàncton, com són diferents tunicats (salpes, dolíolids, larvacis) i els filtradors amb xarxes de mucos com els molluscs pteròpodes, són capaços de capturar bacteris (POMEROY & DEIBEL, 1980; KING *et al.*, 1980). També les holotúries (MORIARTY, 1982c) i, fins i tot, molluscs gasteròpodes (STEIN, 1984), poden tenir una dieta fonamentada en bacteris. Són casos més coneguts de la microbiologia marina els de les esponges i

alguns bivalves com els musclos (BIRBECK & MCHENERY, 1982). A la costa de Xile, MORITA *et al.* (1981) han vist que per sota del contracorrent subsuperficial, les abundoses masses filamentoses del bacteri oxidador del metà *Thioploca* (vegeu l'apartat 18) són molt importants en l'alimentació de diversos crustacis, poliquets i molluscs gasteròpodes. Aquest fet té evidentment una incidència directa en la producció de les pesqueries de la zona.

Encara queda molta feina a fer en el tema del consum de bacteris i petits cianòfits per part dels animals marins. Ben segur que els propers anys portaran nous descobriments tant des del punt de vista de l'estratègia de captura dels animals bacterívors com pel que fa a la quantificació d'aquests processos.

9. NOVES AREES DE RECERCA DE LA MICROBIOLOGIA MARINA EN EL PICOPLANCTON I EL NANOPLANCTON

Les tècniques d'epifluorescència, microscòpia electrònica i la concentració curosa de les mostres de plàncton marí han posat de manifest la presència en el mar d'una quantitat considerable de petits cianobacteris crococccals de mides entre $0,5$ i $2 \mu\text{m}$ de diàmetre. Aquestes cianofícies formen part del picoplàncton de les aigües i constitueixen una fracció important dels productors primaris en moltes parts dels oceans (SIEBURTH, 1979; WATERBURY, 1979; CAMPBELL *et al.*, 1983). Alguns autors (PLATT *et al.*, 1983) han estimat que aquesta fracció del plàncton pot arribar a representar el 60 % de la producció primària total en l'ecosistema oceànic. L'aïllament de soques, la microscòpia electrònica i l'estudi fisiològic d'aquest grup de petits cianobacteris és a l'ordre del dia.

En la fracció del pico- i del nanoplàncton marí, gràcies a les tècniques que fa servir l'ecologia microbiana s'han detectat amb comoditat molts petits zooflagel·lats que s'alimenten de bacteris i de les petites cianofícies crococccals (SHERR & SHERR, 1983). La detecció, quantificació i identificació dels membres d'aquest grup de microorganismes planctònics és portada a terme majorment per microbiòlegs marins. Vegeu, com a font d'informació, SOROKIN (1977), HAAS & WEBB (1979), JOHNSON *et al.* (1982), CARON (1983). Alguns d'aquests tre-

balls tracten tant dels microzooflagel·lats com dels petits cianòfits esmentats més amunt. El paper de tots aquests microorganismes en la xarxa tròfica del plàncton marí sembla ser molt significatiu (POMEROY, 1979; WILLIAMS, 1981; SOROKIN, 1981).

La capacitat bacterívora dels microflagel·lats a les aigües marines és extraordinària. Serveixen com a exemple les mesures de Fenchel en el Limfjord de Dinamarca (FENCHEL, 1982). Aquest autor ha calculat que com a mitjana, els petits zooflagel·lats molts dels quals mesuren entre 2,5 i 5 µm, poden «filtrar» en un dia entre el 12 i el 67 % de l'aigua del Limfjord, que connecta el mar del Nord amb el Kattegat. És ben clar que el paper dels microprotozous, especialment els petits flagel·lats dels gèneres *Pseudobodo*, *Bodo*, *Monosiga*, *Paraphysomonas*, etc., és fonamental en la transmissió de matèria i energia des de l'esglaó dels productors heterotròfics i els més petits dels productors primaris, cap als protozous ciliats i petits crustacis del plàncton. Les perspectives de treball en aquesta àrea de la microbiologia marina són excel·lents.

10. LA VIDA MICROBIANA A LES SURGÈNCIES HIDROTÈRMALS DELS FONS MARINS

10.1. Descobriment i característiques de l'hàbitat

La vida microbiana en el fons dels oceans, molt per dessota de la zona eufòtica i de les capes mesopelàgiques que reben una quantitat considerable de la biomassa formada pels organismes fotosintètics, és generalment molt magra. La disminució de la biomassa s'accentua a les capes més fondes del mar on la vida depèn en una gran part de la producció secundària. Aquesta producció de matèria viva es basa en el consum de la pluja de matèria orgànica que cau des de les capes superiors de l'oceà. El valor nutritiu de la matèria orgànica que arriba al fons és relativament més pobre que el que tenia en el lloc on les partícules es van formar, a causa de la reutilització del material particulat durant la seva caiguda al fons. Això no vol dir que pugui haver-hi situacions excepcionals que enriqueixin el fons del

mar en un temps i lloc concrets. Per exemple, una abundosa producció fitoplànctònica a la superfície s'ha comprovat que es deixa sentir al cap d'un temps en el fons (SMITH, 1984). També la sedimentació de cadàvers d'animals o d'altres cossos morts, pot enriquir temporalment un lloc concret del fons marí. Però el concepte que les planes abissals dels oceans són essencialment pobres en nutrients orgànics és, en general, vàlid (MORITA, 1980b).

A més de la poca quantitat de matèria orgànica que arriba als fons marins, hi ha altres factors que fan més difícil encara l'activitat vital: la baixa temperatura (1-2 °C) i la pressió hidrostàtica. Aquests factors actuen conjuntament sobre el metabolisme de les formes microbianes alentint-lo en tots els casos i parant-lo en molts.

Encara que des de fa ja molts anys s'han anat identificant moltes espècies animals (peixos i cefalòpodes abissals, per exemple), adaptades a la vida de les profunditats, i des de la dècada dels anys cinquanta s'han isolat diferents soques bacterianes adaptades a la vida a alta pressió i baixa temperatura (vegeu l'apartat 11), el cert és que la idea que el fons de l'oceà és una zona amb activitat vital molt migrada, era la més comuna fins als darrers anys de la dècada dels setanta. L'any 1977 la situació va canviar radicalment gràcies al descobriment dels anomenats «oasis de vida» del fons dels oceans, en les zones d'escorça amb pocs sediments.

Els oasis submarins són formats per comunitats de bivalves, crancs, cucs del tipus pogonòfors i alguns altres animals marins que viuen a l'entorn d'esclatxes del bassalt de la crosta oceànica per on surt aigua calenta. Les temperatures de l'aigua surgent poden arribar fins als 380 °C. La barreja de les aigües calentes amb les fredes de l'oceà fa que la temperatura prop de les surgències sigui de 10 a 30 °C. Hi ha diferents tipus de surgències, les unes més carregades que les altres amb metalls i sulfurs. Totes, però, presenten unes comunitats satèl·lits d'animals marins que no es troben uns pocs metres més enllà de la zona d'aigües calentes. Des d'un primer moment es va comprendre que la gran quantitat de vida animal superior —sostinguda per bivalves filtradors en gran part—, no podia dependre sols de la magra pluja de matèria orgànica que arribava a un reduït espai del fons des de la super-

fície de l'oceà. La pregunta, doncs, era: quina és la base de la cadena tròfica de la vida en els oasis submarins?

Aquesta pregunta ha estat contestada en part gràcies als descobriments dels microbiòlegs marins, que han demostrat que els bacteris són els responsables principals del sosteniment de la vida en els oasis submarins. Les investigacions sobre aquests han portat una sèrie de descobriments molt interessants sobre la fisiologia i l'ecologia dels bacteris. Alguns d'aquests descobriments —com el de la vida a temperatures de 250 °C—, si són confirmats, representen una veritable revolució de molts conceptes quasi dogmàtics de la vida sobre la Terra. El lector interessat pot trobar informació general sobre la vida i la gequímica entorn de les surgències hidrotermals submarines en els treballs d'EDMON & VON DAMM (1983), SPIESS *et al.* (1983) i en les referències bibliogràfiques d'aquests treballs. Més avall es tracten alguns aspectes d'interès per a la microbiologia marina.

Hi ha evidències geològiques clares a Irlanda i Xipre que les surgències hidrotermals o xemeneies submarines han existit des que hi ha oceans en el planeta (BOYCE *et al.*, 1983; OUDIN & CONSTANTINOV, 1984). De fet, les fonts submarines han ajudat els geòlegs a explicar l'origen de molts dipòsits metàl·lics. La possibilitat que la vida microbiana en aquest lloc sigui de tipus molt primitiu és molt alta, perquè les formes de vida procariòtica ancestrals tingueren ocasions més que freqüents per especialitzar-se en l'aprofitament dels recursos energètics que ofereixen les fonts submarines.

10.2. Els bacteris com a productors primaris en els oasis de vida submarins

Després d'haver explorat zones diferents de la dorsal de l'est de l'oceà Pacífic (nord-est de les illes Galápagos i un lloc a 21° N, just a l'entrada del golf de Califòrnia), s'han detectat dos tipus de surgències termals submarines. Un tipus es caracteritza per escopir aigües tèbies i flux reduït (aproximadament 2 cm s⁻¹), que s'origina en petites fissures o esclatxes en el bassalt de la zona de fractura entre plaques tectòniques. Un altre tipus de surgència té forma de petits cons de 3 a 10 metres d'alçària (xemeneies) que escupen aigües sobrees-

calfades a temperatures que poden arribar a 380 °C. El flux d'aquestes xemeneies pot ser d'uns quants metres per segon. S'ha de tenir present que a la profunditat de 2.500 a 3.000 metres on es troben les surgències, l'aigua no bull fins a uns 460 °C. Hi ha xemeneies que escupen aigües negres a causa del seu contingut en sulfur de ferro, que precipita en entrar en contacte amb les aigües fredes oxigenades; se'n diuen «fumadors negres». Altres xemeneies escupen també aigua molt calenta però d'un color blanquinós; se'n diuen «fumadors blancs» (SPIESS, 1980). Prop d'ambdós tipus de surgències, però especialment de les aigües tèbies, es troben els oasis de vida submarina. Fins a l'any 1982, es creia que només hi havia bacteris a les superfícies de roques i altres sòlids prop de les xemeneies molt calentes i en les aigües de les surgències tèbies. Tanmateix, ara se sap que les aigües sobreescalfades dels fumadors porten una càrrega microbiana considerable.

Després de nombrosos isolaments i d'estudis fisiològics al laboratori, s'ha arribat a la conclusió que una part molt important (si no tota) de l'energia que sosté la vida animal dels oasis submarins prové de la matèria orgànica sintetitzada per bacteris quimiolitòtrofs que utilitzen compostos reduïts del sofre com a font d'energia. Mitjançant tècniques d'epifluorescència s'han pogut comptar concentracions molt altes de bacteris en mostres d'aigües tèbies: 10⁵ a 10⁶ unitats bacterianes per mil·lilitre. Aquestes concentracions representen les d'aigües de les surgències barrejades amb aigües marines que en aquesta fondària tenen molts pocs bacteris per mil·lilitre. En algun cas en què l'aigua va ésser recollida del flux principal sense barrejar amb aigua de mar freda, s'han comptat fins a 10⁹ bacteris per mil·lilitre. Això explica, en part, la terbolesa de les aigües ixents de certes fonts submarines.

Els animals filtradors que viuen prop de les surgències, tals com un tipus de musclos (*Mytilus* sp.) o els grans bivalves *Calyplogena pacifica* i *C. magnifica*, s'alimenten d'aquests bacteris. Altres animals, com un gasteròpode semblant a una pegellida, es pensa que s'alimenten dels bacteris que en nombre molt gran cobreixen la superfície de roques i conques de bivalves. Detalls sobre tots aquests aspectes poden trobar-se a TUTTLE *et al.* (1983b); FELBECK & SOMERO (1982); JANNASCH & WIRSEN

(1981); RUBY *et al.* (1981); KARL *et al.* (1980). Per a una revisió més recent sobre la microbiologia de les surgències, vegeu el treball de JANNASCH & NELSON (1984).

El cas dels pogonòfers vestimentífers, dels quals hi ha una espècie molt abundant en els oasis submarins, *Riftia pachyptila*, presenta un altre tipus de problema per explicar la seva nutrició. Aquests cucs no tenen boca ni anus. Durant un temps es va pensar que podrien alimentar-se absorbint per les brànquies —molt desenvolupades— les molècules orgàniques originades per la lisi dels bacteris que arrossega l'aigua calenta. Sense que aquesta possibilitat hagi estat descartada del tot, el descobriment que la part de l'animal dita trofosoma presentava una activitat molt alta d'enzims típics del cicle de Benson-Calvin, va fer canviar la direcció de les recerques. El trofosoma d'aquests cucs, a més dels enzims responsables de la fixació de diòxid de carbó, presenta activitats altes d'enzims lligats a l'oxidació de compostos reduïts del sofre i enzims per la reducció del nitrat. D'altra part, el trofosoma és ple de bacteris com posa de manifest la microscòpia electrònica. Tots aquests fets van fer pensar en una estranya i curiosíssima simbiosi que sembla real. En aquesta simbiosi, uns bacteris quimiolitòtrofs del sofre són protegits i convenientment nodrits amb CO_2 , SH_2 , O_2 i d'altres factors dins el trofosoma del pogonòfor. El cuc rep a canvi el carbó reduït que sintetitzen els bacteris. Aquesta relació simbiòtica, comprovada amb l'anàlisi de la distribució de l'isòtop ^{13}C , sembla que també és present a les brànquies d'alguns dels bivalves que rodeglen les fonts hidrotermals submarines (FELBECK *et al.*, 1981, 1982; WILLIAMS *et al.*, 1981; CAVANAUGH *et al.*, 1981). El coneixement d'aquest nou tipus de simbiosi en el fons del mar portà a un dels investigadors (CAVANAUGH, 1983) al descobriment que el mateix tipus de vida en comú es dona entre bacteris quimioautòtrofs del sofre i molts animals que viuen en els fangs negres de les zones costaneres o d'aigües poc fondes.

Un cop donades aquestes pinzellades sobre la vida en els oasis submarins, hom pot preguntar-se si els bacteris que viuen en aquest lloc són veritables productors primaris. Sembla que el paper dels bacteris oxidadors del sofre, i pot ser també de metalls reduïts, com a base de la cadena tròfica, és un fet comprovat. Les fonts d'e-

nergia que els bacteris fan servir són d'origen geoquímic i d'altra banda, la seva font de carbó és el CO_2 . Considerant-ho des d'aquest punt de vista aquests microorganismes són veritables productors primaris. Però no es pot passar per alt que el seu metabolisme necessita oxigen com a acceptor terminal d'electrons i l'aigua de les fonts submarines no porta oxigen entre els gasos dissolts. Les necessitats d'oxigen en els oasis submarins són cobertes amb el gas que està dissolt a les aigües marines fredes del fons, que a la vegada el tenen gràcies a la fotosíntesi que hi ha a les capes il·luminades de l'oceà. Es veu, doncs, com fins i tot la vida en els oasis submarins depèn en una gran part, encara que indirectament, de l'activitat fotosintètica de tipus superior. Recents descobriments fan pensar que la dependència envers l'oxigen no és tan exclusiva com es pensava fa pocs anys. BAROSS *et al.* (1982) han descrit la presència de formes microbianes termòfiles i anaeròbies en les aigües calentes dels fumadors submarines. Aquests bacteris serien responsables de l'enriquiment de les aigües de surgència en gas metà i hidrogen. La possibilitat de vida anaeròbia a les zones interiors de les fonts hidrotermals submarines ens porta a comentar un altre aspecte interessantíssim de la microbiologia marina actual: els límits tèrmics de la vida.

10.3. ¿Hi ha vida microbiana per damunt dels 100 °C en els oasis submarins?

El fet que les aigües surgents de les fonts submarines —en concret els fumadors negres—, tinguin temperatures per damunt els 100 °C, i la gran quantitat de bacteris que són emportats i barrejats amb les aigües fredes de l'oceà, va fer pensar si en aquests llocs no hi viurien bacteris hipertermòfils. Això portà a preguntar-se si els límits de la vida no són determinats tant per la temperatura com per l'estat líquid de l'aigua, com ja fa anys va postular BROCK (1978).

Encara que no s'han pogut recollir mostres de l'interior de les xemeneies calentes dels oasis submarins, es pensa que hi ha d'haver zones per sota del fons del mar on hi hagi creixement microbià abundant. Aquesta sembla ésser l'única possibilitat per explicar la gran quantitat de vida dels

oasis submarins, ja que s'ha comprovat que la vida microbiana s'alenteix o es detura de sobte quan els microorganismes entren en contacte amb les aigües fredes. La incògnita està a saber quina és la temperatura de les cambres subterrànies on creixen els bacteris i des d'on són arrossegats pel corrent hidrotermal.

L'any 1983, hom va fer un pas molt important per contestar aquesta pregunta. El grup de treball de la Universitat de l'Estat d'Oregon havia ja descobert el 1982 que a les surgències hidrotermals submarines hi havia comunitats de termòfils capaços de desprendre metà, hidrogen, monòxid de carbó i petites quantitats d'òxid nítrós a temperatures de $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (BAROSS *et al.*, 1982). Com que els inòculs per alguns dels experiments provenien de xemeneies on l'aigua brollava a més de $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, va plantejar-se l'estudi de la vida més enllà dels $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Els nombrosos problemes tècnics van poder ésser resoltos a la Institució Scripps d'Oceanografia, on mitjançant xeringues de titani i sistemes de pressió va poder-se comprovar el creixement de comunitats microbianes quimiolitòtrofes a la temperatura de $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ i pressió de 265 atmosferes (BAROSS & DEMING, 1983). Des de tots els punts de vista aquest fou un descobriment molt important per a la Biologia. En primer lloc, es tracta de vida quimiolitòtrofa, és a dir, fonamentada en fonts d'energia química mineral i en un hàbitat excepcional. Les possibilitats de vida a la Terra i a d'altres planetes s'estenen molt amb aquest descobriment. La bioquímica haurà d'explicar com es manté l'estabilitat dels àcids nucleics, com es repliquen, quins tipus d'enzims tenen els hipertermòfils, etc. Hi ha també molts aspectes temptadors per a la indústria de processos a altes temperatures que podrien ésser catalitzats pels enzims dels hipertermòfils. Però aquest important descobriment és actualment objecte de controvèrsia. Recentment, s'ha publicat una crítica al descobriment de Baross i col·laboradors (TRENT *et al.*, 1984). En el mateix centre de recerca, un grup comandat per A. Yayanos ha repetit els experiments que varen portar al descobriment dels hipertermòfils. Pel fet que no varen poder aconseguir soques del grup d'Oregon, els investigadors de Califòrnia varen repetir els assaigs de creixement sense inocular el medi de cultiu o inoculant-lo amb un bacteri comú de les aigües costaneres (un vibrió

mesofilic). El resultat va ser la descripció d'unes partícules de mida bacteriana que segons els autors es formen entre 200 i $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ i sota pressió a causa de la composició mineral del medi de cultiu. Com que aquestes partícules són autofluorescents, es pensa si no van poder ésser confoses amb bacteris per altres investigadors. D'altra banda sembla que a les altes temperatures i pressions emprades en aquests experiments es formen compostos no proteïnics que donen reacció positiva amb les anàlisis clàssiques de proteïnes. Per últim, es va comprovar que l'agar-agar que es fa servir per a preparar el material per a la microscòpia electrònica, freqüentment és molt contaminat per bacteris que conserven la seva estructura i morfologia procariontiques. Encara que hi va haver una rèplica a aquestes crítiques en el mateix article de TRENT *et al.* (1984), per part dels autors que defensen l'existència dels hipertermòfils, i hi ha un article més recent dels darrers autors (BAROSS *et al.*, 1984) defensant la realitat del descobriment, el cert és que l'existència dels bacteris termòfils extrems dels oasis submarins no és tan clara com a l'any 1983. Els experiments que es faran amb les mostres obtingudes a la primavera de 1984 seran decisius per a la confirmació d'aquest descobriment tan fonamental en la biologia moderna.

Cal dir encara que els oasis submarins més estudiats són els del nord-est de les illes Galápagos i els que es troben a 21° N sobre la dorsal del Pacífic oriental. Però s'han detectat altres zones del fons del mar on probablement es trobaran surgències hidrotermals amb oasis submarins. Aquestes zones poden ésser detectades per les anomalies en la distribució de l'isòtop ^3He de l'heli en les aigües oceàniques. Així, es pensa que a 15° S sobre la dorsal del Pacífic oriental hi ha un camp de surgències molt important (LUPTON & CRAIG, 1981). També hi ha un altre tipus d'hàbitat submarí on la vida és potenciada per les surgències hidrotermals. Es tracta de llocs com la conca de Guaymas, en el centre del golf de Califòrnia, on la zona de fractura entre plaques és coberta per sediments.

S'ha comprovat que en aquests llocs la vida microbiana (diversos bacteris del cicle del sofre) és molt abundant a la superfície dels sediments tous que deixen emergir aigües calentes carregades amb sulfurs i metalls reduïts. Es pensa que dins el sedi-

ment també deu haver-hi una gran activitat biològica deguda a bacteris.

10.4. Altres zones colonitzades per procariotes termofílics en el fons del mar

A la vegada que els investigadors —americans principalment—, portaven a terme aquests treballs tan interessants sobre la biologia dels oasis submarins en el Pacífic, diversos investigadors alemanys donaven a conèixer importants descobriments de microorganismes termofílics marins, tots ells del grup dels bacteris arcaics. Aquests microorganismes (*Thermodiscus maritimus*, *Pyrodictium occultum*), aïllats de camps de solfatares submarins prop de l'illa de Vulcano, són anaerobis com els que viuen dins les xemeneies hidrotermals del Pacífic, creixen òptimament a 105 °C i no es multipliquen per sota de 80 °C (STETTER, 1982, 1983; FISCHER *et al.*, 1983).

Alguns dels microorganismes dels camps de solfatares submarines, a part de la seva termofília, tenen aspectes del metabolisme molt interessants. S'ha vist que poden fixar CO₂ i emprar l'energia de l'hidrogen fent servir com a acceptor final d'electrons el sofre elemental que és reduït a sulfhídric. Aquest tipus de metabolisme, que també s'ha observat en altres microorganismes de zones volcàniques de la superfície dels continents, té un significat molt interessant quan es consideren les possibilitats de vida sobre la Terra primitiva.

Sens dubte que els propers mesos i anys, els descobriments de nous microorganismes de zones hidrotermals submarines o de les que tenen vulcanisme actiu seran molt nombrosos. Tant des del punt de vista de la sistemàtica com des del de la fisiologia i bioquímica, hi ha molt a fer en aquest camp de la microbiologia on són especialment cridats els microbiòlegs «naturalistes», o si es vol, i fent servir unes conegudes paraules de la microbiologia, «veritables caçadors de microbis contemporanis».

11. EL BAROFILISME I LA MICROBIOLOGIA MARINA

La recerca sobre l'adaptació dels bacteris marins a la pressió hidrostàtica ha estat un tema central de treball de la micro-

biologia marina des dels anys quaranta. ZOBELL & MORITA (1957) van comunicar el cultiu d'un microorganisme baròfil obligat capaç de créixer lentament a 700 bars (1 atm = 1,01325 bars). Aquest cultiu es va perdre i durant vint anys no es va poder aïllar cap més baròfil veritable. L'opinió generalitzada durant tot aquest temps (JANNASCH & WIRSEN, 1977; MORITA, 1980), i fins fa ben poc, era que en els oceans, sobretot en zones sotmeses a una pressió hidrostàtica de 300 bars o superior, l'activitat microbiana era molt lenta i els temps de generació dels bacteris es podien mesurar en dies. Durant els anys de la dècada dels seixanta i setanta, va ésser demostrada la més o menys barotolerància d'alguns bacteris, però el veritable barofilisme (barofilisme obligat) no va poder ésser comprovat.

La poca activitat dels microorganismes en el fons del mar no es deu solament a la pressió sinó també a les baixes temperatures (1-3 °C). Els problemes més greus per a l'estudi dels baròfils sempre han estat els mitjans tècnics emprats per a la recollida de mostres. Es necessiten mostres que arribin a la superfície conservant la pressió hidrostàtica que hi ha en el lloc original. Durant la dècada dels setanta, tant a la Institució Scripps d'Oceanografia com a Woods Hole es varen construir aparells per a la recollida de mostres no subjectes a la descompressió un cop hissades al vaixell oceanogràfic (JANNASCH & WIRSEN, 1977; YAYANOS, 1978).

La idea de la poca activitat microbiana en els fons marins que s'ha esmentat més amunt, a poc a poc ha anat canviant i encara que avui dia no es pensa que el fons del mar és un lloc amb una producció gran, se sap que hi ha més vida del que es creia fins fa poc. Certes fotografies obtingudes amb cambres fotogràfiques submarines que revelen la presència de poblacions importants de crustacis (crancs) i peixos abissals (JANNASCH & WIRSEN, 1977; YAYANOS, 1978) feien sospitar que les fonts d'energia per mantenir aquestes comunitats de consumidors no podien ser insignificants. Aquesta sospita s'ha vist corroborada amb els descobriments relatius a la sedimentació de matèria orgànica des de la zona eufòtica al fons del mar. Aquesta sedimentació de matèria orgànica es creia lenta i constant, i es pensava que representava un aportament molt magre de carbó i energia per a les comunitats

abissals (vegeu l'apartat 8.2). Això no obstant, s'ha vist que la sedimentació de materials al fons del mar és important. També s'ha comprovat una periodicitat en l'arribada d'aquesta matèria orgànica al fons seguint les fluctuacions estacionals de la producció primària a les capes superiors del mar (SMITH & BALDWIN, 1984; BILLET *et al.*, 1983). Tot això ha contribuït a considerar el fons marí com un lloc relativament actiu des del punt de vista de l'activitat biològica. D'altra banda, la tranquil·litat de les aigües de les planes abissals que fins fa poc s'acceptava com una cosa certa i només es creia pertorbada pels corrents termohalins, s'ha vist que no es tal, ja que les tormentes abissals remouen amb una certa freqüència els fangs del fons (HOLLISTER & McCAVE, 1984). Tots aquests factors que s'han esmentat tenen, evidentment, una acció directa i potenciadora de l'activitat bacteriana en els fons marins.

L'any 1979, hom publicà el descobriment d'un veritable bacteri baròfil (YAYANOS *et al.*, 1979), és a dir, un bacteri marí que funciona millor a pressions hidrostàtiques elevades que no pas a la pressió atmosfèrica. Aquest descobriment va ésser seguit per estudis sobre la fisiologia de la soca aïllada en primer lloc i d'altres isolades posteriorment. L'any 1981, el mateix grup d'investigadors descriviren les característiques d'un bacteri baròfil obligat (YAYANOS *et al.*, 1981). Aquest bacteri no sols creix millor a pressió hidrostàtica alta sinó que mor a la pressió de les aigües superficials (YAYANOS & DIETZ, 1983). Els darrers anys, diversos treballs sobre la fisiologia dels bacteris baròfils que són a la vegada psicròfils extrems (moren a temperatures superiors als 10 °C), han posat de manifest que hi ha bacteris baròfils especialitzats a metabolitzar a profunditats diferents (YAYANOS *et al.*, 1982b). Aquests bacteris són molt sensibles als increments de la temperatura i no tan sensibles a la descompressió, almenys en un període de temps curt (YAYANOS *et al.*, 1981, 1982a).

Els descobriments de bacteris marins baròfils i baròfils obligats han donat nova vida als estudis de la microbiologia de les aigües profundes, i sobretot als estudis de la microflora dels tubs digestius d'animals que viuen a les zones més fondes dels oceans (TABOR *et al.*, 1982a; DEMING & COLWELL, 1982). Així doncs, la idea que els bacteris tenien un metabolisme molt lent en les zones de l'oceà sotmeses a una pressió

hidrostàtica alta sembla canviar. Tanmateix, alguns treballs no permeten generalitzar gaire en totes les zones dels fons marins (JANNASCH & WIRSEN, 1982). Les bases bioquímiques del barofilisme, així com l'aïllament de noves soques de bacteris baròfils són un repte per als microbiòlegs marins.

12. EL PSICROFILISME I LA MICROBIOLOGIA MARINA

El fet que una gran part de les aigües oceàniques (un 90 % segons alguns autors) tinguin una temperatura inferior als 5 °C, i encara en aquestes aigües fredes la temperatura habitual no passi dels 3 °C, portà els microbiòlegs marins; des de fa molts anys, a estudiar els bacteris adaptats a créixer a les baixes temperatures. Els psicròfils veritables, que tenen temperatures òptimes de creixement inferiors o iguals a 15 °C i màximes no superiors a 20 °C, foren descoberts i estudiats intensament durant la dècada dels seixanta i començaments dels setanta (MORITA, 1975).

A part de la capacitat per funcionar a baixes temperatures i de les adaptacions bioquímiques corresponents, no hi ha cap aspecte morfològic o estructural que caracteritzi els psicròfils d'una manera especial. En el grup es troben tota mena de morfologies i de fisiologies, això sí, en tots els casos, aptes per a metabolitzar a baixes temperatures. Precisament, les adaptacions bioquímiques que són a la base del psicrofilisme constitueixen l'aspecte més interessant dels estudis *in vitro* d'aquests microorganismes: adaptacions dels enzims, tipus de lípids de les membranes, etc. Vegeu, per exemple, OLIVER & STRINGER (1984), que relaciona la composició lipídica de les membranes dels psicròfils amb la depauperació i la pressió hidrostàtica. El mar és una font inesgotable de moltes classes diferents de microorganismes psicròfils per als estudis de laboratori.

La revisió de MORITA (1975) inclou informació tant de tipus ecològic com sobre el metabolisme i la bioquímica dels bacteris psicròfils. Els aspectes ecològics són tractats amb més extensió a BAROSS & MORITA (1978). Alguns treballs més recents que inclouen microorganismes d'aigua dolça i que poden donar idees sobre investigacions del psicrofilisme en bacteris marins, tracten sobre l'aplicació de l'equa-

ció d'Arrhenius a les corbes de creixement dels psicròfils (REICHARDT & MORITA, 1982b), o sobre les adaptacions metabòliques dels bacteris psicròtrofs quan creixen a baixes temperatures o a les seves òptimes de creixement que són dins l'interval dels mesòfils (REICHARDT & MORITA, 1982a).

Un cop sabut que els bacteris marins en general són capaços de créixer a baixes temperatures i molts d'ells no poden multiplicar-se més que en aquestes baixes temperatures, la lliçó més útil per al microbiòleg marí és no oblidar mai aquest fet. Especialment, això és important quan es plantegen treballs de laboratori on la temperatura és controlada. Molts experiments de fisiologia microbiana i recomptes fets a temperatures de 25 a 37 °C (temperatures habituals als laboratoris «clàssics» de microbiologia), no tenen cap mena de vàlua quan els seus resultats pretenen ésser aplicats a situacions naturals on les temperatures són inferiors als 20 °C. Això és especialment greu quan es tracta d'extrapolar taxes de degradació de substrats, transformacions dels elements implicats en els principals cicles biogeoquímics, supervivència de microorganismes, etc. Vegeu, per exemple, el treball de RÜGER (1982) pel que fa a la temperatura emprada en els recomptes.

Des d'un punt de vista ampli de l'ecologia microbiana marina i les característiques globals de comunitats bacterianes, hi ha treballs recents sobre la caracterització tèrmica d'aquestes comunitats en diferents èpoques de l'any (KANEKO *et al.*, 1979; GOW & MILLS, 1984).

MORITA (1980a) tracta els aspectes de fons del que representa l'adaptació bacteriana a les baixes temperatures de l'hàbitat marí, l'energia a disposició dels bacteris en el mar i la supervivència dels microorganismes.

Els bacteris psicròfils juguen també un paper molt important en els gels de les zones polars. El glaç que sura damunt les aigües àrtiques o antàrtiques, guarda molts bacteris atrapats, tants com pot haver-hi a les aigües marines veïnes. Aquests bacteris són lliurats a les aigües en fondre's el gel i contribueixen a la producció secundària de la zona de contacte aigua-gel. En el gel que cada any es forma en congelar-se el mar queden molts canals i petites cubetes hipersalines. Aquestes salmorres poden assolir fins a cinc vegades la salinitat de l'ai-

gua del mar. La temperatura en aquests llocs és inferior a 1,9 °C sota zero i, a causa de les sals, l'aigua no es gela. S'ha descobert que en aquests microhàbitats viuen una gran quantitat d'algues microscòpiques i moltes i variades classes de bacteris psicròfils (SULLIVAN & PALMISANO, 1984).

En els estudis de psicrofilisme és evident que hi ha un camp obert per als bioquímics que vulguin interessar-se per les adaptacions moleculars dels bacteris psicròfils aïllats del mar. En aquest sentit, els treballs fets amb *Escherichia coli* referents a la composició lipídica de membranes, no són, ni de bon tros, suficients per al microbiòleg marí que necessita dades concretes sobre els bacteris propis del mar.

13. NODULS DE MANGANES I BACTERIS MARINS

L'origen dels anomenats nòduls de manganès del fons dels llacs i del mar, ha estat i encara és objecte de discussió per part dels geoquímics i biogeoquímics. El recent descobriment de les fonts hidrotermals del fons del mar ha portat un altre factor per comprendre l'origen oceànic de la forma reduïda del manganès (Mn^{II}) en les aigües marines. Ja s'han aïllat bacteris oxidadors de manganès de les aigües que brollen en els oasis submarins (EHRlich, 1983). Queda per veure si l'activitat d'aquests bacteris és transcendent en el context del cicle global del manganès en el mar.

Les sospites sobre l'origen biològic de les concrecions minerals riques en ferro i manganès —entre altres elements—, són fonamentades en la capacitat de molts bacteris per oxidar Mn^{II} a Mn^{IV} (TYLER & MARSHALL, 1967; EHRlich, 1966, 1981). Durant la passada dècada i els començaments dels vuitanta, l'interès per a la mineria oceànica va promoure l'estudi de l'origen dels nòduls (SCHWEISSFURTH *et al.*, 1978; MCKELVEY, 1980). L'opinió més generalitzada actualment és que en la formació dels nòduls de manganès col·laboren factors físico-químics i també biològics. Aquests darrers tenen com a responsables alguns tipus de bacteris marins i d'aigua dolça. Els treballs que descriuen la presència de bacteris marins —especialment formes filamentoses capaces de gemmació—, en la superfície dels nòduls de manganès són nombrosos (LAROCK & EHRlich, 1975; GJORSE, 1980). De la superfície

dels nòduls han estat aïllades bastants soques oxidadores de manganès. Els estudis sobre la morfologia i estructura d'aquests bacteris posen de manifest formes filamentosos capaces de gemmació (GIORSE *et al.*, 1979, 1982) i altres bacteris de morfologies vibrillars, espirillars o bacillars (EHRlich, 1982). Molts dels microorganismes amb capacitat per a precipitar el catió mangànic són recoberts per materials capsulars de naturalesa polianiónica que acumulen òxids fèrrics i mangànics. La presència d'aquests bacteris en la superfície dels nòduls és una prova del fet que, si més no d'una forma passiva, els bacteris contribueixen al creixement del nòdul un cop s'ha format el seu nucli a l'entorn d'un material particular adient.

Però sembla que la col·laboració dels bacteris en la formació dels nòduls de manganès va més enllà d'una acció passiva: molts bacteris aïllats de la superfície dels nòduls són oxidadors actius del catió manganós. Aquesta oxidació depèn del metabolisme actiu del bacteri i hi són implicades proteïnes enzimàtiques del tipus de la catalasa (GHIOSE *et al.*, 1982; EHRlich, 1982). A més, s'ha comprovat que l'oxidació biològica pot tenir lloc a les temperatures i pressions del fons de l'oceà (EHRlich, 1974). Sembla que el catió manganós ha de romandre adsorbit sobre un substrat adient —argiles del tipus montmorillonita i caolinita activades pel catió fèrric, per exemple—, per a ésser oxidat biològicament (EHRlich, 1982). En un recent estudi de l'oxidació del catió Mn^{II} en la zona de les quimioclines de l'oxigen i el sulfhidric d'un fiord de la Columbia Britànica en el Canadà (Rosson *et al.*, 1984), s'ha comprovat que com a mínim un 50 % del Mn^{IV} originat en el lloc es deu a l'activitat bacteriana, ja que els processos químics d'autooxidació no poden explicar tot el procés.

Els aspectes metabòlics de l'oxidació del manganès per part dels bacteris, la possibilitat d'obtenir energia metabòlica del procés i el paper dels sediments i altres materials particulats en l'oxidació, són àrees obertes a la investigació.

14. LA MICROBIOLOGIA DE LES SUPERFÍCIES EN EL MEDI MARÍ

L'interès per a l'estudi de la colonització

microbiana de les superfícies en el mar té la seva arrel en la necessitat de comprendre les bases biològiques de la formació de la pel·lícula orgànica a les parts submergides dels vaixells, plataformes, discs surants i altres obres d'enginyeria en contacte amb les aigües marines. Aquests estudis de tipus aplicat, comuns a les darreries de la dècada dels seixanta i començaments dels setanta (CORPE, 1972) varen continuar (ROMANOWSKY, 1976; DUGGER, 1979) i donaren pas d'una manera progressiva a l'estudi de problemes bàsics de l'ecologia microbiana marina. Aquests estudis tenen per objectiu comprendre la interacció entre els bacteris i les interfases sòlid-líquid i líquid-gas. Diversos llibres publicats recentment són una prova de la vitalitat d'aquest camp (BITTON & MARSHAL, 1980; BERKELEY *et al.*, 1980; ELLWOOD *et al.*, 1979; MARSHALL, 1976). Els aspectes físico-químics de l'adhesió dels microorganismes a les superfícies i la microbiologia de les interfases són tractats amb extensió en les revisions de FLETCHER & MARSHALL (1983) i de NORRANS (1980).

Des del punt de vista de l'ecologia microbiana, un dels aspectes que atrau l'interès dels investigadors en el camp de les relacions dels bacteris i les superfícies, és el de la quantificació de la biomassa i activitat bacterianes a les superfícies envers els mateixos paràmetres dels bacteris no adherits. Altres qüestions que interessa respondre i que han donat vitalitat als treballs els darrers anys són les següents: Hi ha selecció de diferents tipus de bacteris segons quina sigui la naturalesa del substrat físic? Quines són les adaptacions morfològiques i fisiològiques que permeten als bacteris competir i conviure dins les comunitats microbianes de les interfases? Per què hi ha superfícies d'animals o de plantes que són poc colonitzades i en canvi n'hi ha d'altres que de seguida acullen quantitats nombroses de microorganismes? Quan els bacteris estan adherits en una superfície, ¿són més o menys actius metabòlicament que quan estan lliures a les aigües? ¿Hi ha una relació entre la supervivència dels bacteris marins i les interfases? Les respostes actuals a totes aquestes qüestions són només parcials i els treballs que s'han fet per contestar-les han obert camins de recerca més que no pas han donat com a resolts problemes molt actuals de la microbiologia marina. A continuació es comenten alguns treballs

relacionats amb les preguntes que s'han formulat. El lector interessat pot trobar un tractament ampli d'aquestes qüestions a FLETCHER & MARSHALL (1982).

La capacitat concentradora de nutrients a les interfases és ben coneguda i aquestes representen un lloc favorable per als bacteris marins acostumats a un hàbitat on les concentracions de matèria orgànica dissolta són generalment molt baixes. Per als bacteris copiotrofs, que necessiten concentracions de substrats orgànics relativament altes per multiplicar-se, les interfases semblen ésser llocs de refugi molt favorables per a assegurar la seva supervivència (KJELLBERG, 1982). L'acumulació de bacteris a les microcapes del nèuston de la superfície dels oceans és molt evident i s'ha comprovat en diferents llocs (NORRKRANS, 1980; DAHLBÄCK *et al.*, 1982). L'enriquiment bacterià en el nèuston, pot arribar fins a mil vegades més bacteris per unitat de volum que a les aigües superficials. És evident que l'enriquiment orgànic i bacterià de la superfície de l'oceà ve en part determinat per les comunitats neustoniques de fitoplàncton de vegades molt abundants (CARLSON, 1982). Les especialitzacions estructurals i morfològiques dels bacteris marins del nèuston representen un tema de treball poc explorat de la microbiologia marina.

L'adhesió de bacteris marins a les superfícies sòlides porta a l'estudi de les substàncies, generalment polisacàridiques o glucoproteïques, que constitueixen l'anomenat glicocalze (*glycocalyx*). Aquesta estructura subjecta els bacteris al substrat físic (CORPE, 1980; BERK *et al.*, 1981). A part dels estudis descriptius de la microscòpia electrònica (SIEBURTH, 1974, 1975; DEMPSEY, 1981) o les tècniques de mesura de la quantitat de material capsular (FAZIO *et al.*, 1982), interessa conèixer els factors ambientals que tot i actuant sobre la fisiologia dels bacteris, afavoreixen o perjudiquen la formació dels glicocalzes (UHLINGER & WHITE, 1983).

Un altre aspecte de l'estudi dels microorganismes i les superfícies és la mesura de l'activitat i les taxes de creixement dels bacteris adherits. En els medis pobres en nutrients, la presència de superfícies contribueix significativament al creixement i a l'activitat respiratòria dels bacteris (SHILO, 1980; KIRCHMAN & MITCHELL, 1982a). Però no sempre sembla que hagi

d'ésser així, com han comprovat GORDON *et al.* (1983) en un sistema model on s'estudiava el metabolisme d'un bacteri perifític en medis amb partícules i sense. En aquest sistema model de laboratori, els bacteris lliures metabolitzaven més activament que no pas els associats a les partícules. Hi ha encara altres casos (BRIGHT & FLETCHNER, 1983) en els quals s'ha comprovat que no es detecta un efecte accelerador del metabolisme pel sol fet que un bacteri estigui adherit al substrat. Tot depèn del tipus de substrat físic, el nutrient que es consideri i la concentració d'aquest. El problema està relacionat, sens dubte, amb un tema que es tractarà més avall i que és el de la major o menor activitat dels bacteris aquàtics adherits a substrats envers els de vida lliure. El treball de SHIMP & PFAENDER (1982) incideix en la idea apuntada fa un moment que la superfície que sosté la comunitat bacteriana i que adsorbeix les molècules de nutrients és sens dubte un factor fonamental que determina el nivell d'activitat dels bacteris adherits.

El progrés en l'estudi de la biologia dels crustacis, bivalves i equinoderms —entre altres grups d'animals marins—, ha conduït a descobrir una relació entre aquests animals i els bacteris. Aquesta relació no sempre és de tipus patològic o de trofisme com es veurà tot seguit. S'ha comprovat que les pel·lícules orgàniques formades pels bacteris i les substàncies per ells excretades sobre la superfície dels medis sòlids, són decisives per al reconeixement i la implantació en el substrat de les fases larvàries de molts animals marins (COLWELL, 1983). L'aplicació pràctica dels coneixements que puguin aconseguir-se en aquest camp en els pròxims anys pot ser molt útil en la millora de les tècniques d'aqüicultura.

Un tema que no s'ha tractat fins ara és el de l'adherència dels bacteris marins a la superfície de les cèl·lules del fitoplàncton i a la superfície d'altres algues. Les molècules excretades per les algues poden seleccionar grups particulars de bacteris (vegeu, per exemple, KOGURE *et al.*, 1982).

El mateix fenomen de reconeixement bacteri-cèl·lula de l'alga té un component d'interès bioquímic indubtable ja que entrem en el món de la recerca del reconeixement cèl·lula-cèl·lula, àrea de treball molt viva de la biologia moderna.

15. BACTERIS PLANCTÒNICS DE VIDA LLIURE I BACTERIS ADHERITS

El coneixement de la concentració i activitat heterotròfica dels bacteris adherits i dels no fixats a partícules en les aigües marines, és fonamental per a valorar la contribució d'ambdós grups bacterians en la producció heterotròfica. Diferents autors donen resultats contradictoris sobre la importància dels bacteris adherits a partícules (epibacteris) en el medi planctònic marí. Gràcies als treballs dels darrers anys sembla que la situació és una mica més clara. Hi ha llocs especialment rics en partícules on els epibacteris constitueixen la majoria del bacterioplàncton. Així passa a les maresmes (WILSON & STEVENSON, 1980), llacunes i tolls prop de la costa on les aigües no són renovades regularment per les mareas (KIRCHMAN & MITCELL, 1982a), i alguns estuaris rics en material particulat (GOULDER, 1977; BENT & GOULDER, 1981).

D'altra banda, hi ha nombrosos treballs que reflecteixen el fet que en les aigües marines els bacteris lliures són majoria i la seva activitat ultrapassa la dels epibacteris (AZAM & HODSON, 1977; FUHRMAN, 1980; HODSON *et al.*, 1981), confirmant així les idees més clàssiques en aquest sentit. En un treball recent molt complet on s'han estudiat 44 tipus d'hàbitats aquàtics entre aigües dolces i marines, BELL & ALBRIGHT (1982) confirmen una major abundància de bacteris lliures en les aigües marines. En el medi planctònic de les aigües dolces la situació és més variable, però és freqüent de trobar llocs on els epibacteris són molt abundants (PEDRÓS & BROCK, 1982).

Sembla que la salinitat de les aigües marines és un factor de molt pes a l'hora de seleccionar els epibacteris en favor dels bacteris lliures. Experiments de laboratori com els de GORDON & MILLERO (1984) confirmen l'efecte negatiu d'una salinitat elevada sobre l'afinitat dels bacteris envers els substrats sòlids. Els epibacteris semblen estar més ben preparats que els bacteris lliures per a degradar compostos orgànics complexos. Això queda reflectit en el fet que els epibacteris «naturals» (no cultivats encara en el laboratori), tenen una major capacitat per a incorporar una barreja d'aminoàcids marcats amb triti que no pas els bacteris lliures en el plàncton. Aquests darrers transporten i meta-

bolitzen glucosa (^{14}C) més ràpidament que no pas els epibacteris (BELL & ALBRIGHT, 1982).

Cada vegada sembla fer-se més evident que els bacteris copiotrofs (anomenats abans zimògens, oportunistes, sapròfits de ràpid creixement, etc.) prefereixen les superfícies o l'interior de les partícules orgàniques del plàncton (vegeu l'apartat 8). En canvi, els oligòtrofs, sobretot els de mida més petita, poden subsistir sols en suspensió a les aigües sense colonitzar cap superfície. De totes maneres en aquest camp manquen encara molts estudis per a poder arribar a generalitzacions vàlides en el context de la microbiologia marina.

16. ADAPTACIONS A LA DEPAUPERACIÓ NUTRITIVA: L'OLIGOTROFISME I LA MICROBIOLOGIA MARINA

Com ja s'ha dit en un altre apartat d'aquest treball, les aigües oceàniques són molt pobres en matèria orgànica dissolta. (Vegeu l'apartat 8.1.) D'altra banda, la fracció que clàssicament s'anomena matèria orgànica dissolta (< 1 a $1,2 \mu\text{m}$) que es troba en concentracions de fraccions de mil·ligram o, a tot estirar, mil·ligrams per litre, inclou una gran part del més petit bacterioplàncton (ultranobacteris) molt abundant a les aigües marines (SIEBURTH, 1978). Aquests bacteris, que no formen colònies visibles en els medis de cultiu (TORRELLA & MORITA, 1981), travessen fàcilment els filtres d' $1,2 \mu\text{m}$ de porus.

Tant la matèria orgànica particulada com la dissolta de les aigües oceàniques és difícil de degradar a menys que sigui hidrolitzada artificialment (BARBER, 1968; GORDON, 1970; HARVEY *et al.*, 1984). Això contribueix al fet que, en general, les aigües marines són de tipus oligotròfic per als heteròtrofs bacterians. L'oligotrofisme marí és especialment evident per al microbiòleg acostumat a cultivar bacteris en el laboratori emprant concentracions de més d'un gram de matèria orgànica per litre.

El fet que la quantitat de matèria orgànica dissolta o particulada sigui escassa en les aigües lliures de l'oceà no vol dir que no se'n produeixi. Probablement, el fet és un indicatiu més de l'extraordinària capacitat recicladora dels bacteris en el medi marí. En el mar hi ha lloc també per als

bacteris heteròtrofs de ràpid creixement (copiòtrofs). Es troben hàbitats localitzats on la riquesa de vida vegetal (fitoplàncton, algues del bentos, fanerògames marines) o animal (zooplàncton, animals moribunds o cadàvers) fa que siguin molt rics en matèria orgànica i allotgin comunitats microbianes molt nombroses i actives.

L'oligotrófia de les aigües marines ha donat lloc a un corrent de recerca molt important de la microbiologia marina moderna. Fins i tot a les aigües més pobres dels oceans, el nombre de bacteris que poden comptar-se amb epifluorescència no baixa d'uns quants milers per mil·lilitre i, freqüentment, s'acosta al milió de cèl·lules per mil·lilitre. Un noranta-nou per cent d'aquests bacteris, si no més, no formen colònies visibles sobre els medis de cultiu i, per tant, les seves característiques no han pogut ésser estudiades en el laboratori. Els microbiòlegs marins s'han adonat de dues l·lacunes importants en el coneixement de la biologia dels bacteris marins. Per una banda, no es coneix quasi res sobre els bacteris que són majoria en el plàncton marí i que no poden ésser cultivats amb les tècniques clàssiques de laboratori (ultranobacteris, ultramicrobacteris, minibacteris, etc.). Per altra banda, se sap encara molt poc sobre les adaptacions metabòliques i estructurals dels bacteris que fins fa pocs anys s'han estudiat en unes condicions de cultiu clarament artificials si es comparen amb les condicions que aquests mateixos bacteris troben en el seu hàbitat natural.

En microbiologia marina l'estudi de l'oligotrófia va lligat a la recerca sobre els mecanismes de supervivència dels bacteris. La formació de petites cèl·lules per part dels bacteris copiòtrofs i la fisiologia d'aquestes cèl·lules és un aspecte que comença a ser ben documentat (NOVITSKY & MORITA, 1978; AMY & MORITA, 1983a,b). S'han estudiat també altres adaptacions relatives als mecanismes de la quimiotaxis i motilitat en una situació de pobresa nutritiva (TORRELLA & MORITA, 1982), el metabolisme endogen (KURATH, 1983), i els canvis que es produeixen en les quantitats de macromolècules de les cèl·lules com a conseqüència de l'adaptació a la pobresa nutritiva o per efecte del retorn de cèl·lules depauperades en una situació d'eutròfia (AMY & MORITA, 1983c,d).

Els canvis que es produeixen en els bacteris marins com a resposta al fet de tan-

car una mostra en un flascó, és un tema clàssic d'estudi de la microbiologia marina. Es el que se n'ha dit «efecte botella», que promou el creixement d'uns certs tipus de bacteris poc després de recollir una mostra d'aigua del mar. Alguns treballs recents, estudien amb tècniques modernes certs aspectes de la fisiologia dels bacteris marins que poden donar molta llum sobre la resposta adaptativa dels microorganismes depauperats enfront d'una situació d'enriquiment nutritiu (FERGUSON *et al.*, 1984; BAXTER & SIEBURTH, 1984).

La majoria dels estudis sobre la fisiologia i el metabolisme dels bacteris marins s'han fet emprant soques de bacteris copiòtrofs —vibrions i *Pseudomonas* de ràpid creixement, principalment—. Però com s'ha dit abans, la majoria del bacterioplàncton marí és constituït per ultranobacteris que encara no s'han pogut cultivar axènicament i que se suposa que constitueixen la població oligotrófica bacteriana del mar (TORRELLA & MORITA, 1981; FERGUSON *et al.*, 1984). El principal problema que hi ha per a l'aïllament, i en general per a l'estudi d'aquests bacteris de mida petita i multiplicació molt lenta, és l'efecte botella esmentat unes ratlles més amunt. Aquest efecte determina un canvi ràpid dels tipus de bacteris més abundants un cop una mostra d'aigua és tancada en un flascó de mostratge. Alguns autors pensen que no hi ha veritables ultranobacteris oligòtrofs i que tots els bacteris són capaços de passar a un estat de ràpid creixement si se'ls tracta amb les degudes precaucions nutricionals a l'hora de fer els cultius. La controvèrsia no és tancada i s'estén també a les aigües dolces, on alguns autors (ISHIDA & KADOTA, 1981) han presentat evidències de l'existència de bacteris oligòtrofs estrictes. El treball entorn d'aquest problema té un interès general dins l'ecologia dels microorganismes marins ja que porta al camp de la bacteriologia marina els conceptes d'organisme oportunista, organisme autòcton, etcètera, que són patrimoni de la teoria ecològica general.

El lector interessat en el tema de l'oligotrofisme i la bacteriologia, pot trobar més informació a les revisions de HARDER & DIJKHUIZEN (1983), MORITA (1982), POINDEXTER (1981) i KUZNETSOV *et al.* (1979).

17. ASPECTES DIVERSOS DE LA RECERCA SOBRE LA FISIOLOGIA I L'ECOLOGIA DELS BACTERIS MARINS

El progrés de l'ecologia microbiana marina depèn en una gran part del coneixement detallat del metabolisme i la fisiologia dels bacteris marins. Hi ha molts aspectes d'aquest coneixement que són imprescindibles per al disseny d'experiments de camp, per una part, i per a mesurar el veritable potencial metabòlic de les poblacions microbianes, per l'altra. Així passa sobretot amb els bacteris implicats en els principals cicles biogeoquímics. A més dels estudis que tracten de les bases del psicofilisme, termofilisme, barofilisme, oligotrofisme, etc., que s'han esmentat en apartats anteriors, hi ha altres aspectes que són d'interès per al microbiòleg marí. Una curta selecció d'aspectes diversos de la fisiologia de bacteris marins no tractats en altres apartats d'aquest article i que són objecte d'estudi actual pot ser la que segueix.

— Estudi de sistemes de transport de diferents substrats nutritius, la seva caracterització bioquímica i la seva expressió en diferents estats metabòlics de la cèl·lula, especialment en les situacions més semblants a l'hàbitat marí. Molt relacionat amb aquest camp de recerca hi ha l'estudi de l'energètica de membranes en bacteris adaptats a viure en un medi on la concentració salina és elevada. Vegeu, per exemple, TOKUDA *et al.* (1982), GEESEY & MORITA (1979).

— Estudi dels mecanismes de la quimiotaxis bacteriana respecte de diferents substàncies orgàniques i inorgàniques. Relacions d'aquests mecanismes amb els de la motilitat i la colonització de superfícies. Vegeu la bibliografia de l'apartat 8.1.

— Estudi de les bases bioquímiques i fisiològiques de la bioluminiscència en els bacteris marins. Coadaptacions metabòliques que són a la base de la simbiosi entre diferents animals marins i bacteris luminescents (HAYGOOD & NEALSON, 1984, i bibliografia d'aquest article). Aplicacions pràctiques de tipus analític de la bioluminiscència de bacteris marins (LLOYD *et al.*, 1981). Paper de la bioluminiscència en la dinàmica del material particulat de la zona mesopelàgica (ANDREWS *et al.*, 1984).

18. ELS CICLES BIOGEOQUÍMICS DELS ELEMENTS. MICROBIOLOGIA MARINA EN ELS SEDIMENTS

La biogeoquímica marina té majoritàriament una base microbiana. Com a conseqüència, l'estudi de les diferents transformacions bacterianes dels compostos carbonats, molècules nitrogenades, fòsfor, sofre, metalls diversos i, en general, els elements químics que componen la matèria viva, és molt necessari per a comprendre les taxes de renovació dels elements en els diferents hàbitats del sistema marí. A causa de la concentració de matèria orgànica —viva i morta— en els sediments, l'estudi de les transformacions microbianes dels elements en aquest hàbitat és primordial. Per aquest motiu, s'han ajuntat en aquest apartat ambdós temes: biogeoquímica i microbiologia dels sediments. De fet, els treballs de biogeoquímica en el mar són molt abundosos en els sediments i menys a les aigües lliures, encara que en aquest darrer hàbitat les transformacions dels elements deuen ésser molt significatives, si més no degut a l'immens volum de les aigües oceàniques (vegeu l'apartat 8.2).

Al microbiòleg marí interessat en la biogeoquímica se li ofereixen dues possibilitats de treball molt necessàries actualment. Per una part, hi ha molt a fer en els aspectes més clàssics de l'aïllament, caracterització fisiològica i quantificació dels bacteris responsables de diferents transformacions químiques del nitrogen, sofre, carboni, etc. Aquest tema, que podria pensar-se esgotat des de fa anys, ha sorgit amb nova força amb motiu del descobriment de noves fisiologies en bacteris marins. Alguns d'aquests descobriments es tracten més avall. En el camp de la quantificació de bacteris implicats en transformacions particulars dels elements en alguns cicles biogeoquímics, s'han fet alguns intents lloables emprant la tècnica de la immunofluorescència. Així s'ha fet amb els bacteris oxidadors de compostos reduïts de nitrogen (WARD & PERRY, 1980) i amb soques escollides de determinats heteròtrofs (DAHLE & LAKE, 1982).

D'altra banda, un altre camp de treball que s'ofereix al microbiòleg és la mesura de l'activitat microbiana en certs aspectes dels cicles biogeoquímics. Aquest

treball és imprescindible per a l'estimació global del moviment dels elements en els ecosistemes marins. L'article de FOGG (1982a) posa de manifest la manca de coneixements precisos sobre els fluxos en el cicle del nitrogen en el mar. Les dades de què es disposa no permeten explicar les quantitats de nitrogen en el mar i les pèrdues per desnitrificació. Amb les dades actuals, sembla haver-hi una descompensació entre els guanys de nitrogen i les pèrdues per desnitrificació. Si això fos veritat, l'oceà perdria el nitrogen combinat en el termini d'uns pocs milers d'anys. Ben segur que com diu l'autor del treball citat, hi ha factors que no s'han tingut en compte. Així sembla confirmar-ho el treball de KASPAR (1982), que demostra en un cas concret que la desnitrificació mesurada *in situ* en un sediment de la zona entre mares és només 0,1 a 2,5 % de la capacitat desnitrificant del mateix sediment mesurada després de pertorbar la mostra en el laboratori. Aquesta situació que s'ha posat com a exemple en el cas del nitrogen es troba més o menys igual en el cas dels cicles biogeoquímics dels altres elements.

Alguns aspectes dels treballs actuals sobre el cicle del nitrogen en el mar inclouen la mesura de la fixació de nitrogen molecular (N_2) en els rizomes i la superfície de les fulles de fanerògames marines (SMITH & HAYASAKA, 1982), a les arrels de les gramínies de maresme (*Spartina alterniflora*; ROBERTSON *et al.*, 1983) on s'han descobert bacteris fixadors de N_2 tant a la superfície de les arrels com en el teixit radicular, i el paper de *Trichodesmium* i altres cianofícies planctòniques en la fixació de nitrogen a les aigües tropicals i subtropicals (FOGG, 1982b; SAINO & HATTORI, 1982). A l'hora de fer el balanç global del nitrogen en el mar cal considerar la possibilitat de fixació de nitrogen molecular per part de les comunitats microbianes de les surgències hidrotermals dels fons marins (RAU, 1981). Si es confirma aquesta font de nitrogen combinat en el fons del mar, la seva importància no pot ésser menyspreada a l'hora de calcular les entrades de nitrogen a l'ecosistema marí.

La mesura de la nitrificació i la desnitrificació en els sediments marins i a les aigües d'estuari pot fer-se amb molècules marcades amb ^{15}N . Això ha permès d'obtenir estimacions dels fluxos de transformació del nitrogen en condicions molt semblants a les naturals (NISHIO *et al.*, 1982,

1983; KOIKE, 1984). També la quantificació de l'amoni originat com a fruit de la reducció desassimilatòria del nitrat —un procés que és important en certes àrees del mar—, s'ha beneficiat de l'ús de l'espectròmetre de masses per a la detecció de ^{15}N (SAMUELSON *et al.*, 1982). El cicle del nitrogen en els sediments està directament relacionat amb els processos respiratoris de les comunitats microbianes, que inclouen, a més de la reducció de nitrats i nitrits, la reducció de sulfats i la de l'oxigen on aquest és present. La interrelació entre aquests processos respiratoris és un tema central de la microbiologia dels sediments. El tema ha estat revisat en un recent treball de SORENSEN (1984).

L'acció dels bacteris marins en el cicle del fòsfor es fa gràcies a les fosfatases que separen fosfat inorgànic de les molècules orgàniques. Però també la reserva de fosfat inorgànic del sediment —principalment fosfat de calç en forma d'hidroxiapatita—, pot ésser mobilitzada pels àcids orgànics lliurats al medi fruit del metabolisme microbià. Aquest procés, que deu ésser comú en els sediments marins, sembla tenir una gran transcendència en el cas de les praderies de fanerògames marines. En aquests llocs pot haver-hi fins a 400 milions de bacteris amb capacitat potencial de solubilitzar fosfat per gram de pes sec de rizoma (CRAVEN & HAYASAKA, 1982).

Reducció de sulfats i metanogènesi són dos aspectes molt estudiats de la biogeoquímica dels sediments marins. L'oxidació anaeròbica de molècules orgàniques de baix pes molecular per part dels bacteris reductors de sulfats i la formació de gas metà a càrrec dels bacteris metanogènics, són dos processos a la vegada complementaris quant a la mineralització de matèria orgànica, però també exloents a causa de la competència per determinats nutrients. En aquesta interacció hi juga també un factor decisiu el sulfur d'hidrogen lliurat per un grup i perjudicial per a l'altre. Actualment es fa molta recerca sobre la interrelació d'aquests dos grups microbians (GUNNARSSON & RÖNNOW, 1982; OREMLAND & POLCIN, 1982; LAAMBROECK, 1982; WINFREY & WARD, 1983). Per exemple, s'ha vist que quan l'activitat metanogènica depèn de substrats tals com l'acetat i l'hidrogen gas, i en el medi hi ha una quantitat suficient de sulfat, els bacteris reductors de sulfat impedeixen l'activitat dels metanògens donat que els primers guanyen en la compe-

tència pels substrats esmentats. En canvi, quan el metà prové de molècules tals com el metanol, la metilamina o la trimetilamina, l'activitat dels metanògens és normal. En els nivells del sediment on la concentració de sulfat és baixa o aquesta forma de sofre combinat ha desaparegut, s'expressa amb tota la seva capacitat la meta-nogènesi.

Els darrers anys s'han descobert nous tipus de bacteris amb metabolismes diferents implicats en el cicle anaeròbic del sofre. La complexitat de les interrelacions entre els diferents bacteris reductors de sulfats i entre aquests i els metanògens, queda ben palesa en els treballs de Veldkamp (LAANBROECK & VELDKAMP, 1982) i, en concret, en una recent publicació on s'estudia la competència per al sulfat i l'etanol entre tres bacteris propis de sediments marins: *Desulfobacter postgatei*, *Desulfobulbus propionicus* i *Desulfovibrio baculatus* (LAANBROECK *et al.*, 1984).

En el medi marí és freqüent que l'activitat metabòlica de molts tipus de microorganismes sigui màxima a les interfases de tipus químic o físico-químic on s'estableixen gradients superposats de fonts de carbó i energia, i nutrients, per un costat, i oxigen o altres acceptors d'electrons, per l'altre. Generalment aquestes interfases tenen un suport més o menys definit de tipus físic. La superfície dels sediments és un exemple típic de zona de transició química. Grups bacterians tals com els de les *Beggiatoa*, *Thioploca* i els *Thiovulum*, sempre han cridat l'atenció dels microbiòlegs marins a causa de la seva mida gran i de la seva aparença sota el microscopi. Aquests microorganismes ocupen un lloc molt significatiu com a oxidadors de compostos reduïts del sofre que difonen des del sediment i com a suport alimentari de cadenes tròfiques detritivores que comencen amb els protozous. L'estudi de la fisiologia dels bacteris esmentats ha estat difícil ja que l'aïllament en cultiu axènic no és senzill i, en general, no s'ha aconseguit. Uns certs aspectes del metabolisme d'aquests bacteris s'han deduït de trets morfològics sense poder contrastar les suposicions amb experiments de laboratori emprant cultius axènics. Això ha conduït a suposicions falses que s'han mantingut durant molts anys, com la de pensar que *Thioploca* era un bacteri oxidador de sofre perquè acumulava grans de sofre elemental en els seus filaments. S'ha vist recentment que aquest

bacteri és un oxidador de metà i que no obté energia del pas sulfhídric-sofre elemental (MORITA *et al.*, 1981).

Els comentaris sobre les interfases en els llocs on hi ha gradients de compostos reduïts del sofre ens porten a esmentar una tecnologia que des de fa uns anys dóna molt de fruit en l'estudi de l'ecologia microbiana. Es tracta dels microelectrodes que poden fer-se servir per a mesurar gradients de concentracions de compostos químics en espais de poques desenes de micrometres. La utilització d'aquests microelectrodes ha posat de manifest fins a quin punt les *Beggiatoa*, *Thiovulum* i d'altres bacteris són adaptats a la colonització de microgradients a la superfície dels sediments. També s'ha pogut demostrar com l'oxidació del sulfhídric deguda als microorganismes pot competir amb èxit en les interfases amb l'autooxidació química d'aquest gas en presència d'oxigen (JØRGENSEN & REVSBECH, 1983).

Un altre aspecte que mereix l'interès dels microbiòlegs marins és el metabolisme dels bacteris heteròtrofs oxidadors de tiosulfat fins a tetratióat (TUTTLE *et al.*, 1983). El significat d'aquest metabolisme en el cicle del sofre i del carboni en els sediments no s'ha pogut avaluar encara, però sens dubte representa un nou aspecte en les transformacions microbianes del cicle del sofre en el mar.

Un punt d'interacció molt interessant entre els cicles del nitrogen i del carboni és un cert aspecte del metabolisme dels bacteris nitrosificants marins. S'ha descobert que un fet conegut des de fa temps pels estudiosos del metabolisme microbià com és la possibilitat que els bacteris oxidadors d'amoni puguin també oxidar metà i assimilar una part del carboni metànic, pot jugar un paper important en el cicle del carboni en les aigües marines. La capacitat oxidadora de metà per part de bacteris tals com *Nitrosococcus oceanus* (JONES & MORITA, 1983) és considerable i sorprenent, ja que els oxidadors de compostos reduïts del nitrogen són considerats microorganismes superspecialitzats quant a la font de carboni i energia. Aquest aspecte és un tema obert a la investigació i el seu estudi és necessari per a poder copsar quina pot ésser la transcendència de l'oxidació del metà com a factor potenciador del desenvolupament de les poblacions nitrosificants de bacteris marins; i viceversa, interessa conèixer fins a quin punt la pre-

sència d'amoni és un suport energètic temporal per als bacteris oxidadors de metà. En aquesta mateixa àrea d'investigació poden situar-se treballs com els de GRIFFITHS *et al.* (1982c), que mesuren la capacitat oxidadora de metà per part de les poblacions naturals de bacteris marins. Aquests investigadors han trobat que la capacitat oxidadora de metà és correlacionada amb la capacitat heteròtrofa de la població mesurada amb ^{14}C -glutamat. El fet sembla indicar que, en general, una gran part d'heteròtrofs poden utilitzar el metà, i no tan sols els metilòtrofs que tenen un metabolisme més restrictiu quant a la font de carboni i energia. Encara que la recerca en aquesta àrea necessita molt de treball, podria també donar-se el cas que l'oxidació de metà estigues correlacionada no tant amb l'heterotrofisme com amb la presència d'amoni a les aigües. L'amoni és un nutrient que com se sap és més abundant en zones riques en matèria orgànica i, per tant, també en bacteris heteròtrofs.

La visió simplista dels sediments marins com a hàbitats perfectament estratificats des del punt de vista físico-químic, amb una zona bruna a la superfície on hi ha oxigen i una zona negra per sota on falta aquest gas i, en canvi, hi ha formació de sulfur d'hidrogen, no s'ajusta a la realitat de moltes situacions naturals. S'ha de tenir en compte el paper de la meiofauna en el sediment i sobretot els animals excavadors del bentos que airegen zones rodejades d'un ambient anaerobi. Però a banda d'aquest fet, els estudis de microbiologia marina en els sediments han posat de manifest que hi ha zones aeròbies molt més cap al fons del que normalment podria pensar-se (NOVITSKY & KEPKAY, 1980). A profunditats considerables dins uns certs sediments marins s'han trobat estrats oxigenats on es detecta activitat oxidadora de compostos de sofre reduïts. Aquest fet té importància per a la vida de molts microorganismes propis dels sediments. Per posar només un exemple, s'ha de pensar que molts reductors de sulfats (anaerobis) són molt sensibles als requeriments de ferro. La manca de ferro assimilable pot ésser real en un sediment anaerobi on el ferro precipita en forma de sulfur ferrós. L'activitat dels bacteris oxidadors del sulfur i el corresponent alliberament d'àcid és un factor solubilitzador del ferro.

S'ha vist que el cicle del ferro en els sediments no està subjecte solament a les

transformacions químiques, principalment la reacció amb el sulfur d'hidrogen per a donar sulfur de ferro, sinó que hi ha molts bacteris reductors de nitrats anaerobis facultatius que poden fer servir el ió ferric com a acceptor terminal d'electrons reduint-lo a ió ferrós. Això s'ha comprovat indirectament parant l'activitat dels reductors de sulfat amb el molibdat. En deixar-se de produir sulfur, fóra lògic esperar que el ferro no fos reduït tampoc en no formar-se sulfur de ferro. En canvi s'ha comprovat que la reducció del ferro continua per acció d'altres bacteris i només es detura un cop el sediment és pasteuritzat (SORENSEN, 1982).

Encara que el tema no es tracta en aquest apartat, un aspecte fonamental per la millor comprensió de la biogeoquímica marina serà la identificació i quantificació de les transformacions microbianes dels elements en les surgències hidrotermals dels fons marins, doncs s'han descobert metabolismes «rars» en aquests llocs que també són presents en els hàbitats sedimentaris (vegeu l'apartat 10).

19. ALTRES ÀREES D'ESTUDI DE LA MICROBIOLOGIA MARINA

En els apartats que precedeixen s'han tractat alguns aspectes actuals de la recerca en microbiologia marina, a la vegada que s'han subratllat àrees obertes a futures investigacions. Sens dubte, han quedat per tractar altres aspectes de la recerca real o potencial sobre els microorganismes marins. A continuació s'ofereixen alguns comentaris sobre uns quants aspectes no discutits fins ara.

El coneixement morfològic i estructural de molts microorganismes procariòtics marins és bastant complet. Sobretot això és cert en el cas dels bacteris que poden ésser fàcilment cultivats en el laboratori. Per exemple, els gèneres *Vibrio* i *Pseudomonas*, per citar-ne dos de comuns. Però hi ha un veritable exèrcit de formes microbianes que no s'han estudiat amb detall. Per exemple, els bacteris que llisquen sobre un substrat físic, els bacteris amb prolongacions citoplasmàtiques (prostèques), bacteris adherits a vegetals i animals, formes filamentosos multicel·lulars, etc.

La necessitat de recerca pel que fa a la morfologia i estructura cel·lular és també certa en el camp de la sistemàtica. Grups

com els *Vibrio* són relativament ben estudiats, encara que la taxonomia de les soques no directament implicades en processos patològics és molt incompleta. La resta de grups microbians, incloent-hi no solament les «formes rares» sinó també gèneres tan comuns com els *Pseudomonas*, té una sistemàtica molt poc treballada.

En el camp de l'aqüicultura marina, la microbiologia hi té molt a dir, ja que un dels majors problemes de la maricultura són les malalties, especialment de les formes larvàries. Bacteris marins com els *Vibrio* i els *Aeromonas*, i virus com el de la necrosi pancreàtica infecciosa, són la causa d'estralls importants en les granges de peixos i crustacis. Hi ha encara moltes causes de malaltia que afecten els maricultius que són desconegudes. Dins l'apartat on s'han discutit les relacions dels bacteris amb les superfícies ja s'ha recordat la importància de la colonització microbiana dels substrats físics per a la fixació de les fases larvàries sedentàries d'alguns animals marins. És lògic de pensar que el coneixement de la interacció dels bacteris amb els animals marins donarà lloc a descobriments aprofitables per a la indústria de l'aqüicultura.

Dins la microbiologia marina hi ha també un corrent de recerca que prové de l'escola de MacLeod, al Canadà, i que s'interessa per les relacions entre l'estructura de les parets dels bacteris marins, la lisi de les cèl·lules i els ions més comuns en l'aigua del mar (LADDAGA & MACLEOD, 1982a,b; LADDAGA, 1983). En el fons d'aquestes investigacions hi ha una vella controvèrsia de la microbiologia marina entorn de l'existència de veritables bacteris marins i de si se'ls podia distingir segons els seus requeriments dels ions clorur, sodi, etcètera.

20. MICROBIOLOGIA MARINA ALS PAISOS CATALANS

Dins l'àrea de parla catalana de l'Estat Espanyol, hi ha pocs llocs on pot dir-se que es fa d'una manera plena i quasi exclusiva recerca en microbiologia marina. L'Institut d'Investigacions Pesqueres a Barcelona és lloc de treball d'alguns bacteriòlegs que des de ja fa anys s'interessen per alguns aspectes de la biologia dels microorganismes marins. En aquest Institut s'han

fet o es fan treballs sobre la mesura de les activitats dels bacteris marins en els cicles del sofre, del nitrògen, la degradació de la matèria orgànica, l'acumulació de metalls per part dels microorganismes i certs càlculs de base termodinàmica sobre el metabolisme dels bacteris marins. El lector interessat pot trobar publicacions recents sobre aquests temes a la revista *Investigación Pesquera* (CASTELL *et al.*, 1981; CASTELLVÍ, 1981, i bibliografia d'aquest article), a publicacions especials de projectes o informes concrets (CASTELLVÍ, 1983; AMENGUAL & CASTELLVÍ, 1983, i bibliografia d'aquest article), o a resums de ponències o comunicacions a simposis.

A l'Universitat Central de Barcelona, i concretament al Departament de Microbiologia, es fa recerca que, directa o indirectament, té que veure amb la microbiologia marina. Vegis, per exemple, l'apartat 3.2 pel que respecta a la virologia del medi marí, i l'apartat 4.3 pel que pertoca a la degradació dels hidrocarburs. També en aquesta universitat i a les de València i Múrcia es fan treballs relacionats amb projectes d'investigació concrets sobre la presència i distribució de bacteris patògens i virus a les aigües marines, supervivència d'aquests microorganismes, microflora de peixos, bacteriologia de llacunes costaneres, etc.

A les terres franceses de parla catalana, concretament al laboratori Aragó de Banyuls de la Marenda, es porten a terme estudis sobre la biogeoquímica microbiana emprant isòtops radiactius, i sobre tècniques de detecció dels efectes perjudicials dels hidrocarburs sobre l'activitat dels bacteris marins, entre d'altres.

PARAULES FINALS

Quan en un article com el present es tanca l'escrit amb una frase més o menys semblant a: «... queda molt a fer en aquesta àrea de la ciència», la idea de l'autor és donar una visió optimista del camp de treball per atraure interessos humans i pecuniaris cap a la parcel·la de la ciència considerada. Al llarg d'aquest escrit això s'ha dit repetidament i en aquest moment l'autor es pregunta si té gaire sentit demanar atenció per a l'estudi de la microbiologia marina en el nostre país l'any 1984. És evident que de mar i de zones costaneres no ens en manquen. Potser tampoc no man-

quen edificis per a allotjar persones o necessitats de recerca per a resoldre problemes concrets. Però, ben mirat, ¿quants grups de treball nous o persones formades plenament com a microbiòlegs marins s'han pogut incorporar durant els darrers anys al treball de recerca a la nostra terra per donar nova saba i activitat en aquesta àrea de la ciència microbiològica? Hi ha, com sempre, individualitats o petits grups de persones que treballen sobretot a l'àrea de Barcelona en uns certs aspectes molt concrets de la microbiologia marina (vegeu l'apartat 20). Els seus esforços són dignes d'encomi però en absolut es pot extrapolar i dir que la microbiologia marina és un parcel·la de les ciències biològiques molt treballada en el nostre país. Una ràpida ullada a les revistes de prestigi internacional on surten a la llum els treballs de microbiologia marina, demostra que rarament són publicats treballs d'investigació en aquest camp provinents de llocs de la geografia on es parla el català.

Després de tot el que ha escrit, l'autor veu que la potenciació de la microbiologia marina en el nostre país donaria fruits indubtables, tant des del punt de vista aplicat com acadèmic, i més encara, en donaria a curt termini. ¿Hi haurà alguna persona amb capacitat de decisió que llegirà aquest treball o haurem d'esperar encara uns anys més per a poder cridar l'atenció (qui sap des d'on?) dels planificadors i gestors de la ciència en el nostre país? Ja fa més de vint anys que els grups de treball de microbiòlegs marins s'han multiplicat extraordinàriament en els països occidentals i a l'orient. ¿Què esperem, nosaltres?

BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER, M. 1968. Degradation of pesticides by soil bacteria. In: *Ecology of soil bacteria*. F. R. Grai & D. Parkinson, eds., 270-284. Univ. Toronto Press, Toronto.
- ALEXANDER, M. 1980. Biodegradation of chemicals of environmental concern. *Science*, 211: 132-138.
- AMENGUAL, P. & CASTELLVÍ, J. 1983. Ciclo del azufre en la plataforma continental mediterránea. In: *Estudio oceanográfico de la plataforma continental*, proy. 793020. Sem. Cient. Cádiz.
- AMY, P. S. & MORITA, R. Y. 1983a. Starvation-survival patters of sixteen freshly isolated open ocean bacteria. *Ibid.*, 45: 1109-1115.
- AMY, P. S. & MORITA, R. Y. 1983b. Protein patterns of growing and starved cells of a marine *Vibrio* sp. *Ibid.*, 45: 1748-1752.
- AMY, P. S., PAULING, C. & MORITA, R. Y. 1983. Recovery from nutrient starvation from a marine *Vibrio* sp. *Ibid.*, 45: 1685-1690.
- AMY, P. S., PAULING, C. & MORITA, R. Y. 1983. Starvation-survival processes of a marine *Vibrio*. *Applied Environ. Microbiol.*, 45: 1041-1048.
- ANDERSON, I. C., RHOSE, M. W. & KATOR, H. I. 1983. Seasonal variation in survival of *E. coli* exposed in situ in membrane diffusion chambers containing filtered and non-filtered water. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 1877-1883.
- ANDREWS, C. C., KARL, D. M., SMALL, L. F. & FOWLER, S. W. 1984. Metabolic activity and bioluminescence of oceanic faecal pellets and sediment trap particles. *Nature*, 307: 539-541.
- APHA. 1980. *Standard methods for the examination of water and wastewater* 15th ed. APHA, Inc., Washington, D. C.
- ATLAS, R. M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol. Rev.*, 45: 180-209.
- ATLAS, R. M. 1982. Enumeration and estimation of microbial biomass. In: *Experimental microbial ecology* (P. G. Burns & J. H. Slater, eds.): 84-102. Blackwell, Oxford.
- ATLAS, R. M. 1984. Use of microbial diversity measurements to assess environmental stress. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Keugg & C. A. Reddy, eds.): 186-195. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- ATLAS, R. M. & BARTHA, R. 1981. Microorganisms and some novel pollution problems. In: *Microbial ecology. Fundamentals and applications*. Addison-Wesley, London.
- AZAM, F. & HODSON, R. E. 1977. Size distribution and activity of marine microheterotrophs. *Limnol. Oceanogr.*, 22: 492-501.
- AZAM, F., FENCHEL, T., FIELD, J. G., MEYER-REI, L. A. & THINGSTAD, F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10: 257-263.
- BAKER, R. M., SINGLETON, F. L. & HOOD, M. A. 1983. Effects of nutrient deprivation on *Vibrio cholerae*. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 930-940.
- BAKER, J. H. & GRIFFITHS, R. P. 1984. Effects of oil on bacterial activity in marine and freshwater sediments. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 546-551. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- BARBER, R. T. 1968. Dissolved organic carbon from deep waters resists microbial oxidation. *Nature*, 220: 274-275.
- BAROSS, J. A. & DEMING, J. W. 1983. Growth of black smoker bacteria at temperatures of at least 250 °C. *Nature*, 303: 423-426.
- BAROSS, J. A., DEMING, J. D. & BECKER, R. R. 1984. Evidence for microbial growth in high pressure, high temperature environments. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 186-195. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- BAROSS, J., HANUS, F. J. & MORITA, R. Y. 1975. Survival of human enteric and other sewage microorganisms under simulated deep sea conditions. *Appl. Microbiol.*, 30: 309-318.
- BAROSS, J. A., LILLEY, M. D. & GORDON, L. I. 1982. Is the CH₄, H₂ and CO venting from submarine hydrothermal systems produced by thermophilic bacteria? *Nature*, 298: 366-368.
- BAROSS, J. A. & MORITA, R. Y. 1978. Microbial life at low temperatures: ecological aspects. In:

- Microbial life in extreme environments* (D. J. Kushner, ed.): 9-71. Academic Press, London.
- BARTHOLOMEW, G. W. & PFAENDER, F. K. 1983. Influence of spatial and temporal variations on organic pollutant biodegradation rates in a estuarine environment. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 103-109.
- BAUMANN, P. & BAUMANN, L. 1981. The marine gram-negative eubacteria: Genera *Photobacterium*, *Beneckea*, *Alteromonas*, *Pseudomonas* and *Alcaligenes*. In: *The prokaryotes: A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria* (M. P. Starr, et al., eds.): 1302-1331. Springer, Berlin.
- BAUMANN, P., BAUMANN, L., BANG, S. S. & WOOLKALIS, M. J. 1980. Reevaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckea* and *Photobacterium*: abolition of the genus *Beneckea*. *Curr. Microbiol.*, 4: 127-132.
- BAUMANN, P., BAUMANN, L., WOOLKALIS, M. J. & BANG, S. S. 1983. Evolutionary relationships in *Vibrio* and *Photobacterium*: a basis for a natural classification. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37: 369-398.
- BAXTER, M. & SIEBURTH, J. M. 1984. Metabolic and ultrastructural response to glucose of two eurytrophic bacteria isolated from seawater at different enriching conditions. *Applied Environm. Microbiol.*, 47: 31-38.
- BELL, C. R. & ALBRIGHT, L. J. 1982. Attached and free-floating bacteria in a diverse selection of water bodies. *Ibid.*, 43: 1227-1237.
- BENT, E. J. & GOULDER, R. 1981. Planktonic bacteria in the Humber Estuary: seasonal variation in population density and heterotrophic activity. *Mar. Biol.*, 62: 35-45.
- BERK, S. G., MITCHELL, R., BOBBIE, R. J., NICKELS, J. S. & WHITE, D. C. 1981. Microfouling on metal surfaces exposed to seawater. *Int. Biodeterior. Bull.*, 17: 29-37.
- BERKELEY, R. C. W., LYNCH, J. M., MELLING, J., RUTNER, P. R. & VINCENT, B. (eds.). 1980. *Microbial adhesion to surface*. Chichester-Ellis Horwood.
- BIANCHI, M. A. G. & BIANCHI, A. J. M. 1982. Statistical sampling of bacterial strains and its use in bacterial diversity measurement. *Microb. Ecol.*, 8: 61-69.
- BILLET, D. S. M., LAMPITT, R. S., RICE, A. L. & MANTOURA, R. F. C. 1983. Seasonal sedimentation of phytoplankton to the deep sea benthos. *Nature*, 302: 520-522.
- BIRKBECK, T. H. & MCHENERY, J. G. 1982. Degradation of bacteria by *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.*, 72: 7-15.
- BITTON, G., CHOU, J. J. & FARRAH, S. R. 1982. Techniques for virus detection in aquatic sediments. *J. Virol. Methods.*, 4: 1-8.
- BITTON, G. & MARSHALL, K. C. (eds.). 1980. *Adsorption of microorganisms to surfaces*. John Wiley, New York.
- BOACK, A. C. & GOULDER, R. 1983. Bacterioplankton in the diet of the calanoid copepod *Eurytemora* sp. in the Humber estuary. *Mar. Biol.*, 73: 139-149.
- BORDNER, R. & WINTER, J. (eds.). 1978. *Microbiological methods for monitoring the environment*. EPA 600/8-78-017, USEPA, Cincinnati.
- BOURQUIN, A. W. & PRITCHARD, P. H. (eds.). 1979. *Microbiological degradation of pollutants in marine environments*. USEPA, Gulf Breeze, Fla.
- BOYCE, A. J., COLEMAN, M. L. & RUSSELL, M. J. 1983. Formation of fossil hydrothermal chimneys and mounds from silvermines, Ireland. *Nature*, 306: 545-550.
- BOYLE, C. D. & READE, A. E. 1983. Characterization of two extracellular polysaccharides from marine bacteria. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 392-399.
- BRIGHT, J. J. & FLETCHER, M. 1983. Aminoacid assimilation and electron transport system activity in attached and free-living marine bacteria. *Ibid.*, 45: 818-825.
- BURNEY, C. M., DAVIS, P. G., JOHNSON, K. M. & SIEBURTH, J. M. 1982. Diel relationships of microbial trophic groups and in situ dissolved carbohydrate dynamics in the Caribbean Sea. *Mar. Biol.*, 67: 311-322.
- CAMPBELL, L., CARPENTER, E. J. & IACONO, V. J. 1983. Identification and enumeration of marine chroococcoid cyanobacteria by immunofluorescence. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 553-559.
- CAPONE, D. G., REESE, D. D. & KIENE, R. P. 1983. Effects of metals on methanogenesis, sulfate reduction, carbon dioxide evolution and microbial biomass in anoxic salt marsh sediments. *Ibid.*, 45: 1586-1591.
- CAPRIULO, G. M. 1982. Feeding of field collected tintinnid micro-zooplankton on natural food. *Mar. Biol.*, 71: 73-86.
- CAPRIULO, G. M. & CARPENTER, E. J. 1983. Abundance, species composition and feeding impact of tintinnid micro-zooplankton in Central Long Island Sound. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10: 277-288.
- CARLSON, D. J. 1982. Phytoplankton in marine surface microlayers. *Can. J. Microbiol.*, 28: 1226-1234.
- CARNEY, J. F., CARTY, C. & COLWELL, R. R. 1975. Seasonal occurrence and distribution of microbial indicators and pathogens in the Rhode River of Chesapeake Bay. *Applied Environm. Microbiol.*, 30: 771-780.
- CARON, D. A. 1983. Technique for enumeration of heterotrophic and phototrophic nannoplankton, using epifluorescence microscopy, and comparison with other procedures. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 491-498.
- CARON, D. A., DAVIS, P. G., MADIN, L. P. & SIEBURTH, J. M. 1982. Heterotrophic bacteria and bacteriivorous protozoa in oceanic macroaggregates. *Science*, 218: 795-797.
- CASTELL, C., WAGENSBERG, J., TEJERO, A. & VALLESPINÓS, F. 1981. Identificación de las fases metabólicas en tecnogramas de cultivos bacterianos. *Inv. Pesq.*, 45: 291-296.
- CASTELLVÍ, J. 1981. Aspectos microbiológicos del estudio oceanográfico de la plataforma continental. I. Planteamiento general. *Ibid.*, 45: 345-357.
- CASTELLVÍ, J. 1983. Nitrificación autótrofa y heterótrofa en la plataforma continental del Mediterráneo español. In: *Estudio oceanográfico de la plataforma continental*. Proyecto 793020. Sem. Cient. Cádiz.
- CAVANAUGH, C. M. 1983. Symbiotic chemoautotrophic bacteria in marine invertebrates from sulphide-rich habitats. *Nature*, 302: 58-61.
- CAVANAUGH, C. M., GARDINER, S. L., JONES, M. L., JANNASCH, H. W. & WATERBURY, J. B. 1981. Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila*: possible chemoautotrophic symbionts. *Science*, 213: 340-342.
- CHEN, M. & HICKEY, P. J. 1983. Modification of delayed-incubation procedure for detection of faecal coliforms in water. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 889-893.

- CLARHOLM, M. 1984. Heterotrophic free-living protozoa: neglected microorganisms with an important task in regulating bacterial populations. In: *Current perspectives in Microbial Ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 321-326. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- COLEMAN, A. 1980. Enhanced detection of bacteria in natural environments by fluorochrome staining of DNA. *Limnol. Oceanogr.*, 25: 948-951.
- COLWELL, R. R. 1983. Biotechnology in the marine sciences. *Science*, 222: 19-24.
- COLWELL, R. R. (ed.). 1984. *Vibrios in the environment*. John Wiley, New York.
- COLWELL, R. R., KAPER, J. & JOSEPH, S. W. 1977. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* and other vibrios: occurrence and distribution in Chesapeake Bay. *Science*, 198: 394-396.
- COOPER, D. G. & ZAJIC, J. E. 1980. Surface-active compounds from microorganisms. *Adv. Appl. Microbiol.*, 26: 229-253.
- CORPE, W. A. 1972. Microfouling: the role of primary film forming marine bacteria. In: *Proc. 3rd Int. Cong. of Marine Corrosion and Microfouling* (R. F. Acker, ed.): 598-609. Northwestern University Press, Evanston.
- CORPE, W. A. 1980. Microbial surface components involved in adsorption of microorganisms to surfaces. In: *Adsorption of microorganisms to surfaces* (G. Bitton & K. C. Marshall, eds.): 105-144. John Wiley, New York.
- CRAVEN, P. A. & HAYASAKA, S. S. 1982. Inorganic phosphate solubilization by rizosphere bacteria in a *Zostera marina* community. *Can. J. Microbiology*, 28: 605-610.
- CUHEL, R. L., JANNASCH, H. W., TAYLOR, C. D. & LEAN, D. R. S. 1983. Microbial growth and macromolecular synthesis in the southwestern Atlantic Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 28: 1-18.
- CUHEL, R. L., TAYLOR, C. D. & JANNASCH, H. W. 1982. Assimilatory sulfur metabolism in marine microorganisms: considerations for the application of sulfate incorporation into protein as a measurement of natural protein synthesis. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 160-168.
- DAHLBÄCK, D., GUNNARSSON, L. A. H., HERMANSSON, M. & KJELLEBERG, S. 1982. Microbial investigations of surface microlayers, water column, ice and sediment in the Arctic Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 9: 101-109.
- DAGG, M. J. 1974. Loss of prey body contents during feeding by an aquatic predator. *Ecology*, 55: 903-906.
- DAHLES, A. B. & LAAKE, M. 1982. Diversity dynamics of marine bacteria studied by immunofluorescent staining on membrane filters. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 169-176.
- DEMING, J. W. & COLWELL, R. R. 1982. Barophilic bacteria associated with digestive tracts of abyssal holothurians. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 1222-1230.
- DEMPSEY, M. J. 1981. Marine bacterial fouling: a scanning electron microscopy study. *Mar. Biol.*, 61: 305-315.
- DEVANAS, M. A., LITCHFIELD, C. D., MCLEAN, C. & GIANNI, J. 1980. Coincidence of cadmium and antibiotic resistance in New York Bight apex benthic microorganisms. *Mar. Pollut. Bull.*, 11: 264-269.
- DOUBET, R. S. & QUATRANO, R. S. 1982. Isolation of marine bacteria capable of producing specific lyases for alginate degradation. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 754-756.
- DUGGER, G. 1979. *Proceedings of the 6th OTEC Conference, Washington, D. C.* National Technical Information Service, USA.
- DUPRAY, E. & CORMIER, M. 1983. Optimal enrichment time for isolation of *Vibrio parahaemolyticus* from seafood. *Applied Environm. Microbiology*, 46: 1234-1235.
- EDMOND, J. M. & VON DAMM, K. 1983. Fuentes termales en el fondo del océano. *Investigación y Ciencia*, 83: 52-56.
- EHRlich, H. L. 1966. Reactions with manganese by bacteria from marine ferromanganese nodules. *Dev. Ind. Microbiol.*, 7: 279-286.
- EHRlich, H. L. 1974. Response of some activities of ferromanganese nodule bacteria to hydrostatic pressure. In: *Effect of the Ocean Environment on Microbial Activities* (R. R. Colwell & R. Y. Morita, eds.): 208-211. University Park Press, Baltimore.
- EHRlich, H. L. 1981. *Geomicrobiology* (pàgs. 203-249). Marcel Dekker, New York.
- EHRlich, H. L. 1982. Enhanced removal of Mn²⁺ from sea water by marine sediments and clay minerals in the presence of bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 28: 1389-1395.
- EHRlich, H. L. 1983. Manganese oxidizing bacteria from a hydrothermally active area on the Galapagos Rift. In: *Environmental Biogeochemistry* Ecol. Bull. 35 (R. Hallberg, ed.). Swedish Research Council, Stockholm.
- EIDELS, L., PROIA, R. L. & HART, D. A. 1983. Membrane receptors for bacterial toxins. *Microbiol. Rev.*, 47: 596-620.
- ELLWOOD, D. C., MELLING, J. & RUTTER, P. (eds.). 1979. *Adhesion of microorganisms to surfaces*. Academic Press, London.
- EPPLEY, R. W., HARRISON, S. G., FUHRMAN, J. A., BROOKS, E. R., PRICE, C. C. & SELNER, K. 1981. Origins of dissolved organic matter in southern California coastal waters: experiments on the role of zooplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 6: 149-159.
- FAQUIN, W. C. & OLIVER, J. D. 1984. Arginine uptake by a psychophilic marine *Vibrio* sp. during starvation-induced morphogenesis. *J. Gen. Microbiology*, 130: 1331-1335.
- FAZIO, S. A., UHLINGER, D. J., PARKER, J. H. & WHITE, D. C. 1982. Estimations of uronic acids as quantitative measures of extracellular and cell wall polysaccharide polymers from environmental samples. *Applied Environm. Microbiology*, 43: 1151-1159.
- FEDORAK, P. M. & WESTLAKE, D. W. S. 1982. Microbial degradation of organic sulfur compounds in Prudhoe Bay crude oil. *Can. J. Microbiol.*, 29: 291-296.
- FEDORAK, P. M. & WESTLAKE, D. W. S. 1983. Selective degradation of biphenyls in crude oil by two strains of marine bacteria. *Ibid.*, 29: 497-503.
- FELBECK, H., CHILDRESS, J. J. & SOMERO, G. N. 1981. Calvin-Benson cycle and sulphide oxidation enzymes in animals from sulphide-rich habitats. *Nature*, 293: 291-293.
- FELBECK, H. & SOMERO, G. N. 1982. Primary production in deep sea hydrothermal vent organisms: roles of sulphide oxidizing bacteria. *Tren. in Biochem. Sci.* (June): 201-204.
- FENCHEL, T. 1980a. Suspension feeding in ciliated protozoa: functional response and particle size selection. *Microb. Ecol.*, 6: 1-11.
- FENCHEL, T. 1980b. Suspension feeding in ciliated protozoa: feeding rates and their ecological significance. *Ibid.*, 6: 13-25.

- FENCHEL, T. 1982a. Ecology of heterotrophic microflagellates. II. Bioenergetics and growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 8: 225-231.
- FENCHEL, T. 1982b. Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. *Ibid.*, 9: 35-42.
- FENCHEL, T. & BLACKBURN, T. H. 1979. *Bacteria and mineral cycling*. Academic Press. New York.
- FENCHEL, T. & HARRISON, P. 1976. The significance of bacterial grazing and mineral cycling for the decomposition of particulate detritus. In: *The role of terrestrial and aquatic organisms in decomposition processes* (J. M. Anderson & A. MacFadian, eds.): 285-299. Blackwell. Oxford.
- FENCHEL, T. & JØRGENSEN, B. B. 1977. Detritus food chains of aquatic ecosystems: the role of bacteria. *Adv. Microbial Ecology*, 1: 1-58.
- FERGUSON, R. L., BUCKLEY, E. N. & PALUMBO, A. V. 1984. Response of marine bacterioplankton to differential filtration and confinement. *Applied Environm. Microbiol.*, 47: 49-55.
- FINANCE, C., BRIGAUD, M., LUCENA, F., AYMARD, M., BOSCH, A. & SCHWARTZ-BROD, L. 1982. Viral pollution of seawater at Barcelona. *Zbl. Bakt. Hyg.*, B. 176: 530-536.
- FISCHER, S., ZILLING, W., SIETTER, K. O. & SCHREIBER, G. 1983. Chemoautotrophic metabolism of anaerobic extremely thermophilic archaeobacteria. *Nature*, 301: 511-513.
- FLATAU, G. N. & GAUTHIER, M. J. 1982. Accumulation du cadmium par *Mytilus edulis* en présence de souches bactériennes sensibles ou résistantes à ce métal. *Can. J. Microbiol.*, 29: 210-217.
- FLETCHER, M. & MARSHALL, K. C. 1982. Are solid surfaces of ecological significance to aquatic bacteria? *Adv. Microb. Ecol.*, 6: 199-236.
- FOGG, G. E. 1982a. Nitrogen cycling in sea waters. *Phil Trans. R. Soc. Lond. B.*, 296: 511-520.
- FOGG, G. E. 1982b. Marine plankton. In: *The biology of cyanobacteria* (N. G. Carr & B. A. Whitton, eds.): 491-513. Blackwell. Oxford.
- FOGHT, J. M. & WESTLAKE, D. W. S. 1982. Effect of the dispersant Corexit 9527 on the microbial degradation of Prudhoe Bay oil. *Can. J. Microbiol.*, 28: 117-122.
- FUHRMAN, J. A. 1981. Influence of method on the apparent size distribution of bacterioplankton cells: epifluorescence microscopy compared to electron microscopy. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 5: 103-106.
- FUHRMAN, J. A. & AZAM, F. 1980. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Anctarctic and California. *Applied Environm. Microbiol.*, 39: 1085-1095.
- FUKAMI, K., SIMIDU, U. & TAGA, N. 1983. Distribution of heterotrophic bacteria in relation to the concentration of particulate organic matter in seawater. *Can. J. Microbiol.*, 29: 570-575.
- FURNISS, A. L., LEE, J. V. & DONOVAN, T. J. 1978. *The vibrios*. Public Health Laboratory Service, Monograph Series 11. London.
- GARRASI, C., DEGENS, E. T. & MOPPER, K. 1979. The free aminoacid composition of sea water obtained without desalting and preconcentration. *Mar. Chem.*, 8: 71-85.
- GAUTHIER, M. J. 1976. Modification of bacterial respiration by a polyanionic antibiotic produced by a marine *Alteromonas*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 9: 361-366.
- GAUTHIER, M. J. & BREITTMAYER, V. A. 1979. A new antibiotic producing bacterium from seawater: *Alteromonas aurantia* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 29: 366-372.
- GEESEY, G. G. & MORITA, R. Y. 1979. Capture of arginine at low concentrations by a marine psychrophilic bacterium. *Applied Environm. Microbiol.*, 38: 1092-1097.
- GERBA, C. P., GOYAL, S. M., LABELLE, R. L., CECH, I. & BODGAN, G. F. 1979. Failure of indicator bacteria to reflect the occurrence of enteroviruses in marine waters. *Am. J. Public Health*, 69: 1116-1119.
- GHIORSE, W. C. 1980. Electron microscopic analyses of metal-depositing microorganisms in surface layers of Baltic Sea ferromanganese concretions. In: *Biogeochemistry of ancient and modern environments* (P. A. Trudinger, M. R. Walter & B. J. Ralph, eds.): 345-354. Aust. Acad. Sci. Canberra. Springer Verlag. New York.
- GHIORSE, W. C. & HIRSCH, P. 1979. An ultrastructural study of iron and manganese deposition associated with extracellular polymers of *Pedomicrobium*-like budding bacteria. *Arch. Microbiol.*, 123: 213-226.
- GHIORSE, W. C. & HIRSCH, P. 1982. Isolation and properties of ferromanganese-depositing budding bacteria from Baltic Sea ferromanganese concretions. *Appl. Environm. Microbiol.*, 43: 1464-1472.
- GOLDMAN, S., SHABTAL, Y., RUBINOVITZ, C., ROSENBERG, E. & GÜTNICK, D. L. 1982. Emulsin in *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1: distribution of cell free and cell associated cross-reacting material. *Ibid.*, 44: 165-170.
- GORDON, D. C. 1970. Some studies on the distribution and composition of particulate organic carbon in the North Atlantic Ocean. *Deep Sea Res.*, 17: 233-243.
- GORDON, A. S., GERCHAKOV, S. M. & MILLERO, F. 1983. Effects of inorganic particles on metabolism by a periphytic marine bacterium. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 411-417.
- GORDON, A. S. & MILLERO, F. J. 1984. Electrolyte effects on attachment of an estuarine bacterium. *Ibid.*, 47: 495-499.
- GOULDER, R. 1977. Attached and free bacteria in an estuary with abundant suspended solids. *J. Appl. Bacteriol.*, 43: 399-405.
- GOW, J. A. & MILLS, F. H. J. 1984. Pragmatic criteria to distinguish psychrophiles and psychrotrophs in ecological systems. *Applied Environm. Microbiol.*, 47: 213-215.
- GOWING, M. M. & SILVER, M. W. 1983. Origins and microenvironments of bacteria mediating fecal pellet decomposition in the sea. *Mar. Biol.*, 73: 7-16.
- GOYAL, S. M., GERBA, C. P. & MELNICK, J. L. 1979. Human enteroviruses in oysters and their overlying waters. *Applied Environm. Microbiol.*, 37: 572-581.
- GRIFFITHS, R. P., CALDWELL, B. A., BROICH, W. A. & MORITA, R. Y. 1982a. The long term effects of crude oil on microbial processes in subarctic marine sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 15: 183-198.
- GRIFFITHS, R. P., CALDWELL, B. A., BROICH, W. A. & MORITA, R. Y. 1982b. Long term effect of crude oil on microbial processes in subarctic marine sediments amended with organic nutrients. *Marine Pollution Bull.*, 13: 273-278.
- GRIFFITHS, R. P., CALDWELL, B. A., CLINE, J. D., BROICH, W. A. & MORITA, R. Y. 1982. Field observations of methane concentrations and ox-

- dation rates in the southern Bering Sea. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 435-446.
- GRIFFITHS, R. P., CALDWELL, B. A. & MORITA, R. Y. 1982. Seasonal changes in microbial heterotrophic activity in subarctic marine waters as related to phytoplankton primary productivity. *Mar. Biol.*, 71: 121-127.
- GRIFFITHS, R. P., McNAMARA, T. M., CALDWELL, B. A. & MORITA, R. Y. 1981. A field study of the acute effects of the dispersant Corexit 9527 on glucose uptake by marine microorganisms. *Mar. Environm. Res.*, 5: 83-91.
- GUNNARSSON, L. A. H. & RÖNNÖW, P. H. 1982. Interrelationships between sulfate reducing and methane producing bacteria in coastal sediments with intense sulphide production. *Mar. Biol.*, 69: 121-128.
- HAAS, L. W. 1982. Improved epifluorescent microscopic technique for observing planktonic microorganisms. *Ann. Inst. Oceanogr.*, 58 (Suppl.): 261-266.
- HAAS, L. W. & WEBB, K. L. 1979. Nutritional modes of several non-pigmented microflagellates from the York river estuary, Virginia. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 39: 125-134.
- HADA, H. S., WEST, P. A., LEE, J. V., STEMLER, J. S. & COLWELL, R. R. 1984. *Vibrio tubiashi* sp. nov. a pathogen of bivalve mollusks. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 34: 1-4.
- HALLAS, L. E., MEANS, J. C. & COONEY, J. J. 1982a. Methylation of tin by estuarine microorganisms. *Science*, 215: 1505-1507.
- HALLAS, L. E., THAYER, J. S. & COONEY, J. J. 1982b. Factors affecting the toxic effects of tin on estuarine microorganisms. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 193-197.
- HANSON, R. B., SHAFER, D., RYAN, T., POPE, D. H. & LOWERY, H. K. 1983. Bacterioplankton in Antarctic ocean waters during late Austral winter: abundance, frequency of dividing cells and estimates of production. *Ibid.*, 45: 1622-1632.
- HARDER, W. & DIJKHUIZEN, L. 1983. Physiological responses of nutrient limitation. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37: 1-24.
- HARVEY, G. R., BORAN, D. A., PIOTROWICZ, S. R. & WEISEL, C. P. 1984. Synthesis of marine humic substances from unsaturated lipids. *Nature*, 309: 244-246.
- HAYGOOD, M. G. & NEALSON, K. H. 1984. Effects of iron on bacterial growth and bioluminescence: ecological implications. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 56-61. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- HAZEN, T. C. & ESCII, G. W. 1983. Effect of effluent from a nitrogen fertilizer factory and a pulp mill on the distribution and abundance of *Aeromonas hydrophila* in Albemarle sound, North Carolina. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 31-42.
- HOBBIE, J. E., DALEY, R. J. & JASPER, S. 1977. A method for counting bacteria in Nuclepore filters. *Ibid.*, 33: 1225-1228.
- HODSON, R. E., AZAN, F., CARLUCCI, A. F., FUHRMAN, J. A., KARL, D. M. & HOLM-HANSEN, O. 1981. Microbial uptake of dissolved organic matter in McMurdo Sound, Antarctic. *Mar. Biol.*, 61: 89-94.
- HOFMANN, E. E., KLINCK, J. M. & PAFFENHÖFER, G. A. 1981. Concentrations and vertical fluxes of zooplankton fecal pellets on a continental shelf. *Ibid.*, 61: 327-335.
- HOLLISTER, C. D. & McCAVE, I. N. 1984. Sedimentation under deep sea storms. *Nature*, 309: 220-225.
- HOLM-HANSEN, O. & BOOTH, C. R. 1966. The measurement of adenosine triphosphate in the ocean and its ecological significance. *Limnol. Oceanogr.*, 11: 510-519.
- HOOD, M. A. & NESS, G. E. 1982. Survival of *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli* in estuarine waters and sediments. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 578-584.
- HOOD, M. A., NESS, G. E. & BLAKE, H. J. 1983a. Relationships among fecal coliforms, *Escherichia coli*, and *Salmonella* spp. in shellfish. *Ibid.*, 45: 122-126.
- HOOD, M. A., NESS, G. E., RODRICK, G. E. & BLAKE, M. J. 1983b. Effects of storage on microbial loads of two commercially important shellfish species, *Crassostrea virginica* and *Mercenaria campachiensis*. *Ibid.*, 45: 1221-1228.
- HOROWITZ, A., KRICHEVSKY, M. I. & ATLAS, R. M. 1983. Characteristics and diversity of subarctic marine oligotrophic, stenoheterotrophic and euryheterotrophic bacterial populations. *Can J. Microbiol.*, 29: 527-535.
- HUAI-SHU, X., ROBERTS, N., SINGLETON, F. L., ATTWELL, R. W., GRIMES, D. J. & COLWELL, R. R. 1982. Survival and viability of nonculturable *E. coli* and *V. cholerae* in the estuarine and marine environment. *Microb. Ecol.*, 8: 313-323.
- HUO, A., SMALL, E. B., WEST, P. A., IMBADUL HUO, M., RAHMAN, R. & COLWELL, R. R. 1983. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 275-283.
- ISHIDA, Y. & KADOTA, H. 1979. A new method for enumeration of oligotrophic bacteria in lake water. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, 12: 77-85.
- ISHIDA, Y. & KADOTA, H. 1981. Growth patterns and substrate requirements of naturally occurring obligate oligotrophs. *Microb. Ecol.*, 7: 123-130.
- JANNASCH, H. W. 1979. Microbial turnover of organic matter in the deep sea. *Bioscience*, 29: 228-232.
- JANNASCH, H. W. & NELSON, D. C. 1984. Recent progress in the microbiology of hydrothermal vents. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds): 170-175. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- JANNASCH, H. W. & WIRSEN, C. O. 1977. Microbial life in the deep sea. *Sci. Am.*, 236: 42-52.
- JANNASCH, H. W. & WIRSEN, C. O. 1981. Morphological survey of microbial mats near deep sea thermal vents. *Applied Environm. Microbiol.*, 41: 528-538.
- JANNASCH, H. W. & WIRSEN, C. O. 1982. Microbial activities in undecompressed deep-sea water samples. *Ibid.*, 43: 1116-1124.
- JENSEN, L. M. 1983. Phytoplankton release of extracellular organic carbon, molecular weight composition and bacterial assimilation. *Mar. Ecol., Prog. Ser.* 11: 39-48.
- JOHNSON, P. W., XU, H. & SIEBURTH, J. M. 1982. The utilization of chroococcoid cyanobacteria by marine protozooplankton but not by calanoid copepods. *Ann. Inst. Océanogr. Paris*, 58 (Suppl.): 297-308.
- JONES, R. D. & MORITA, R. Y. 1983. Methane oxidation by *Nitrosococcus oceanus* and *Nitrosomonas europaea*. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 401-410.
- JONGSMA, D., FORTAIN, A. R., HUSON, W., TOELSTRA, S. R., KLAVER, G. T., PETERS, J. M., VAN HARTEN, D., DE LANGE, G. J. & TEN HAVEN, L. 1983. Disco-

- very of an axenic basin within the Strabo Trench in the eastern Mediterranean. *Nature*, 305: 795-797.
- JØRGENSEN, B. B. & REVSBECH, N. P. 1983. Colorless sulfur bacteria *Beggiatoa* spp. and *Thiovulum* spp. in O₂ and H₂S microgradients. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 1261-1270.
- KANEKO, T. & COLWELL, R. R. 1975. Adsorption of *Vibrio parahaemolyticus* onto chitin and copepods. *Applied Microbiol.*, 29: 269-274.
- KANEKO, T., KRICHIEVSKY, M. I. & ATLAS, R. M. 1979. Numerical taxonomy of bacteria from the Beaufort Sea. *J. Gen. Microbiol.*, 110: 111-125.
- KAPER, J., LOCKMAN, H., COLWELL, R. R. & JOSEPH, S. W. 1979. Ecology, serology and enterotoxin production of *Vibrio cholerae* in Chesapeake Bay. *Applied Environm. Microbiol.*, 37: 91-103.
- KAPLAN, N. & ROSENBERG, E. 1982. Exopolysaccharide distribution of and bioemulsifier production by *Acinetobacter calcoaceticus* BD4 and BD413. *Ibid.*, 44: 1335-1341.
- KARL, D. M. 1980. Cellular nucleotide measurements and applications in microbial ecology. *Microbiol. Rev.*, 44: 739-796.
- KARL, D. M. 1982. Selected nucleic acid precursors in studies of aquatic microbial ecology. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 821-912.
- KARL, D. M., KNAUER, G. A., MARTIN, J. & WARO, B. B. 1984. Bacterial chemolithotrophy in the ocean is associated with sinking particles. *Nature*, 309: 54-56.
- KARL, D. M., WIRSEN, C. O. & JANNASCH, H. W. 1980. Deep sea primary production at the Galapagos hydrothermal vents. *Science*, 207: 1345-1347.
- KASPAR, H. F. 1982. Denitrification in marine sediment: measurement of capacity and estimation of in situ rate. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 522-527.
- KELLY, M. T. 1982. Effect of temperature and salinity on *Vibrio (Beneckea) vulnificus* occurrence in a Gulf Coast environment. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 820-824.
- KENYON, J. E., GILLIES, D. C., PEIXOTO, D. R. & AUSTIN, B. 1983. *Vibrio cholerae* non O-1 isolated from California Coastal waters. *Ibid.*, 46: 1232-1233.
- KING, K. R., HOLLIBAUGH, J. T. & AZAM, F. 1980. Predator-prey interactions between the Larvacean *Oikopleura dioica* and bacterioplankton in enclosed water columns. *Mar. Biol.*, 56: 49-67.
- KIRCHMAN, D. & MITCHELL, R. 1982a. Contribution of particle-bound bacteria to total microheterotrophic activity in five ponds and two marshes. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 200-209.
- KIRCHMAN, D., DUCKLOW, H. & MITCHELL, R. 1982b. Estimates of bacterial growth from changes in uptake rates and biomass. *Ibid.*, 44: 1296-1307.
- KJELLEBERG, S., HUMPHREY, B. A. & MARSHALL, K. C. 1982. Effect of interfaces on small, starved marine bacteria. *Ibid.*, 43: 1166-1172.
- KLUGG, M. Y. & REDDY, C. A. (eds.). 1984. *Current perspectives in microbial ecology*. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- KOGURE, K., SIMIDU, U. & TAGA, M. 1979. A tentative direct microscopic method for counting living marine bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 25: 415-420.
- KOGURE, K., SIMIDU, U. & TAGA, N. 1982. Bacterial attachment to phytoplankton in sea water. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 56: 197-204.
- KOIKE, Y., NISHIO, T. & HATTORI, A. 1984. Denitrification and nitrification in coastal and estuarine sediments. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 454-459. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- KOOP, K., CARTER, R. A. & NEWELL, R. C. 1982. Mannitol-fermenting bacteria as evidence for export from kelp beds. *Limnol. Oceanogr.*, 27: 950-954.
- KOURANY, M. 1983. Medium for isolation and differentiation of *Vibrio parahaemolyticus* and *V. alginolyticus*. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 310-312.
- KUPARINEN, J. & TAMMINEN, T. 1982. Respiration of tritiated substrates in heterotrophic activity assays. *Ibid.*, 43: 806-809.
- KURATH, G. & MORITA, R. Y. 1983. Starvation-survival physiological studies of a marine *Pseudomonas* sp. *Ibid.*, 45: 1206-1211.
- KUZNETSOV, S. I., DUBININA, G. A. & LAPTEVA, N. A. 1979. Biology of oligotrophic bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.*, 33: 377-387.
- LAANBROECK, H. J., GEERLIGS, H. J., SYTSMAN, L. & VELDKAMP, H. 1984. Competition for sulfate and ethanol among *Desulfobacter*, *Desulfobulbus* and *Desulfovibrio* species isolated from intertidal sediments. *Applied Environm. Microbiol.*, 47: 329-334.
- LAANBROECK, H. J. & VELDKAMP, H. 1982. Microbial interactions in sediment communities. *Phil. Trans. R. Soc. London B.*, 297: 533-550.
- LABELLE, R. & GERBA, C. P. 1982. Investigations into the protective effects of estuarine sediment on virus survival. *Water Res.*, 16: 469-478.
- LADDAGA, R. 1983. Factors affecting the release of outer membrane from a gram-negative marine bacterium. *Can. J. Microbiol.*, 29: 659-663.
- LADDAGA, R. A. & MACLEOD, R. A. 1982a. Effects of wash treatments on the ultrastructure and lysozyme penetrability of the outer membrane of various marine and two terrestrial gram-negative bacteria. *Ibid.*, 28: 318-324.
- LADDAGA, R. & MACLEOD, R. A. 1982b. Factors affecting the lytic susceptibility of some marine and terrestrial bacteria. *Ibid.*, 28: 414-434.
- LANCELLOT, C. 1979. Gross excretion rates of natural marine phytoplankton and heterotrophic uptake of excreted products in the southern North Sea, as determined by short term kinetics. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1: 179-186.
- LANDRY, E. F., VAUGHN, J. M., VICALI, T. J. & MANN, R. 1983. Accumulation of sediment associated viruses in shellfish. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 238-247.
- LAROCK, P. A. & EHRLICH, H. L. 1975. Observations on bacterial microorganisms on the surface of ferromanganese nodules from Black Plateau by scanning electron microscopy. *Microbial Ecol.*, 2: 84-96.
- LARSON, R. J. 1984. Kinetic and ecological approaches for predicting biodegradation rates of xenobiotic organic chemicals in natural ecosystems. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 677-686. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- LARSSON, U. & HAGSTRÖM, A. 1979. Phytoplankton exudate release as an energy source for the growth of pelagic bacteria. *Mar. Biol.*, 52: 199-206.
- LARSSON, U. & HAGSTRÖM, A. 1982. Fractionated phytoplankton primary production, exudate release and bacterial production in a Baltic eutrophication gradient. *Ibid.*, 67: 57-70.
- LEE, C. & BADA, L. 1975. Aminoacids in equatorial ocean water. *Earth Pla. Sci. Lett.*, 26: 61-68.

- LEHMAN, J. T. & SCAVIA, D. 1982. Microscale nutrient patches produced by zooplankton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79: 5001-5005.
- LEHMICKE, L. G., WILLIAMS, R. T. & CRAWFORD, R. L. 1979. ¹⁴C-Most-Probable-Number method for enumeration of active heterotrophic microorganisms in natural waters. *Appl. Environm. Microbiol.*, 38: 644-649.
- LESSARD, E. J. & SIEBURTH, J. M. 1983. Survival of natural sewage populations of enteric bacteria in diffusion and batch chambers in the marine environment. *Ibid.*, 45: 950-959.
- LEWIN, A. R. 1974. Enumeration of bacteria in seawater. *Int. Rev. ges. Hydrobiol.*, 59: 611-619.
- LI, W. K. W. 1982. Estimating heterotrophic bacterial productivity by inorganic radiocarbon uptake: importance of establishing time courses of uptake. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 8: 167-172.
- LI, W. K. W. 1984. Microbial uptake of radiolabeled substrates: estimates of growth rates from time course measurements. *Applied Environm. Microbiol.*, 47: 184-192.
- LIPSON, S. M. & STOTZKY, G. 1983. Adsorption of reoviruses to clay materials: effects of cation exchange capacity, cation saturation and surface area. *Ibid.*, 46: 673-682.
- LINKEY, E. A., NEWELL, R. C. & BOSMA, S. 1981. Heterotrophic utilization of mucilage released during fragmentation of kelp (*Ecklonia maxima* and *Laminaria pallida*). I. Development of microbial communities associated with the degradation of kelp mucilage. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 4: 31-41.
- LOYD, D., JAMES, K., WILLIAMS, J. & WILLIAMS, N. 1981. A membrane covered *Photobacterium* probe for oxygen measurements in the nanomolar range. *Analyt. Biochem.*, 116: 17-21.
- LOCKWOOD, D. E., KREGER, A. S. & RICHARDSON, S. H. 1982. Detection of toxins produced by *Vibrio fluvialis*. *Infect. Immun.*, 35: 702-708.
- LUCENA, F., FINANCE, C., JOFRE, J., SANCHEZ, J. & SCHWARTZBROD, L. 1982. Viral pollution determination of superficial waters (river water and sea-water) from the urban area of Barcelona (Spain). *Water Res.*, 16: 173-177.
- LUPTON, J. E. & CRAIG, H. 1981. A major helium-3 source at 15°S on the East Pacific Rise. *Science*, 214: 13-18.
- MACDONALD, M. T., SINGLETON, F. L. & HOOD, M. A. 1982. Diluent composition for use of API 20E in the characterizing marine and estuarine bacteria. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 423-427.
- MAGUE, T. H., FRIDBERG, E., HUGHES, D. J. & MORRIS, I. 1980. Extracellular release of carbon by marine phytoplankton; a physiological approach. *Limnol. Oceanogr.*, 25: 262-279.
- MAHAFFEY, W. R., PRITCHARD, P. H. & BOURQUIN, A. W. 1982. Effects of kepone on growth and respiration of several estuarine bacteria. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 1419-1424.
- MARSHALL, K. C. 1976. *Interfaces in microbial ecology*. Harvard University Press. Cambridge, Mass.
- MCFITTERS, G. A., CAMERON, S. C. & LECHEVALIER, M. W. 1982. Influence of diluents, media, and membranes filters on detection of injured water-borne coliform bacteria. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 97-103.
- MCKELVEY, V. E. 1980. Seabed minerals and the law of the sea. *Science*, 209: 464-472.
- MEKALANOS, J., COLLIER, R. J. & ROMIG, W. R. 1978. Purification of cholera toxin and its subunits: new methods of preparation and the use of hypertoxic mutants. *Infect. Immun.*, 20: 552-558.
- MENZEL, D. W. & RYTHER, J. H. 1970. Distribution and cycling of organic matter in the oceans. In: *Organic matter in natural waters* (D. W. Hood, ed.): 31-54. Institute of Marine Science Pollution, College, Alaska.
- METCALF, T. G. & MELNICK, 1983. Simple apparatus for collecting estuarine sediments and suspended solids to detect solids-associated virus. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 323-327.
- MEYER-REIL, L. A. 1978. Autoradiography and epifluorescence microscopy combined for the determination of number and spectrum of actively metabolizing bacteria in natural waters. *Ibid.*, 36: 506-512.
- MITCHELL, R. 1968. Factors affecting the decline of normarine microorganisms in sea water. *Water Res.*, 2: 534-543.
- MONTAGNA, P. A. 1982. Sample design and enumeration statistics for bacteria extracted from marine sediments. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 1366-1372.
- MORIARTY, D. J. W. 1978. Estimation of microbial biomass in water and sediments using muramic acid. In: *Microbial Ecology* (M. W. Loutit & J. A. R. Miles, eds.): 31-33. Springer, Berlin.
- MORIARTY, D. J. W. 1981. DNA synthesis as a measure of bacterial productivity in seagrass sediments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 5: 151-156.
- MORIARTY, D. J. W. 1982. Feeding of holoturians on bacteria, organic carbon and organic nitrogen in sediments of the Great Barrier Reef. *Aust. J. Mar. Fresh. Res.*, 33: 255-263.
- MORIARTY, D. J. W. & HAYWARD, 1982a. Ultrastructure of bacteria and the proportion of gram-negative bacteria in marine sediments. *Microb. Ecol.*, 8: 1-14.
- MORIARTY, D. J. W. & POLLARD, P. C. 1982b. Diel variation of bacterial productivity in seagrass (*Zostera capricornii*) beds measured by rates of thymidine incorporation into DNA. *Mar. Biol.*, 72: 165-173.
- MORITA, R. Y. 1975. Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 39: 144-167.
- MORITA, R. Y. 1980a. Low temperature, energy, survival and time in microbial ecology. In: *Microbiology-1980* (Schlessinger et al., eds.): 323-324. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- MORITA, R. Y. 1980b. Microbial life in the deep sea. *Can. J. Microbiol.*, 26: 1375-1385.
- MORITA, R. Y. 1982. Starvation-survival of heterotrophs in the marine environment. *Adv. Microb. Ecology*, 6: 171-198.
- MORITA, R. Y., ITURRIAGA, R. & GALLARDO, V. A. 1981. *Thioploca*: Methyloph and significance in the food chain. *Kieler Meeresforsch. Sonderh.*, 5: 384-389.
- MOTES, JR. M. L., ZYWNO, S. R., DE PAOLA, A., BECKER, R. E. & PRESNELL, M. W. 1983. Isolation of *Vibrio cholerae* serotype Ogawa from a Florida estuary. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 321-322.
- NEWELL, S. Y. 1984. Modification of the gelatin matrix method for enumeration of respiring bacterial cells for use with salt marsh water samples. *Ibid.*, 47: 873-875.
- NEWELL, S. Y. & CHRISTIAN, R. R. 1981. Frequency of dividing cells as an estimator of bacterial productivity. *Ibid.*, 42: 23-31.
- NEWELL, S. Y. & FALLON, R. D. 1982. Bacterial productivity in the water column and sediments of the Georgia (USA) coastal zone: estimates

- via direct counting and parallel measurement of thymidine incorporation. *Microb. Ecol.*, 8: 33-46.
- NISHIBUCHI, M., ROBERTS, N. C., BRADFORD, Jr. H. B. & SEIDLER, R. J. 1983a. Broth medium for enrichment of *Vibrio fluvialis* from the environment. *Ibid.*, 46: 425-429.
- NISHIBUCHI, M. & SEIDLER, R. J. 1983b. Medium dependent production of extracellular enterotoxins by non O-1 *Vibrio cholerae*, *V. mimicus* and *V. fluvialis*. *Ibid.*, 45: 228-231.
- NISHIO, T., KOIKE, I. & HATTORI, A. 1982. Denitrification, nitrate reduction and oxygen consumption in coastal and estuarine sediments. *Ibid.*, 43: 648-653.
- NISHIO, T., KOIKE, I. & HATTORI, A. 1983. Estimates of denitrification and nitrification in coastal and estuarine sediments. *Ibid.*, 45: 444-450.
- NORRKRANS, B. 1980. Surface microlayers in aquatic environments. *Adv. Microb. Ecology*, 4: 51-85.
- NOVITSKY, J. E. & KEPKAY, P. E. 1981. Patterns of microbial heterotrophy through changing environments in a marine sediment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 4: 00-00.
- NOVITSKY, J. A., SCOTT, I. R. & KEPKAY, P. E. 1980. Effects of iron, sulfur, and microbial activity on aerobic to anaerobic transition in marine sediments. *Geomicrobiology J.*, 2: 211-223.
- NOVITSKY, J. A. & MORITA, R. Y. 1978. Possible strategy for the survival of marine bacteria under starvation conditions. *Mar. Biol.*, 48: 289-295.
- OKAMI, Y. 1984. Marine microorganisms as a source of bioactive substances. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 651-656. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- OLIVIER, G., LAILIER, R. & LARIVIÈRE, S. 1981. A toxigenic profile of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* isolated from fish. *Can. J. Microbiol.*, 27: 330-333.
- OLIVER, J. D. & STRINGER, W. F. 1984. Lipid composition of a psychrophilic marine *Vibrio* sp. during starvation induced morphogenesis. *Applied Environm. Microbiol.*, 47: 461-466.
- OLIVER, J. D., WARNER, R. A. & CLELAND, D. 1983. Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose fermenting vibrios in the marine environment. *Ibid.*, 45: 985-998.
- ONISHI, H., MORI, T., TAKEUCHI, S., TONI, K., KOBAYASHI, T. & KAMEMURA, M. 1983. Halophilic nuclease of a moderately halophilic *Bacillus* sp.: production, purification, and characterization. *Ibid.*, 45: 24-30.
- OREMLAND, R. S. & POLCIN, S. 1982. Methanogenesis and sulfate reduction: competitive and non-competitive substrates in estuarine sediments. *Ibid.*, 44: 1270-1276.
- OUJIN, E. & CONSTANTINOÛ, G. 1984. Black smoker chimney fragments in Cyprus sulphide deposits. *Nature*, 308: 349-353.
- PEDRÓS-ALÍO, C. & BROCK, T. D. 1982. Assessing biomass and production of bacteria in eutrophic lake Mendota, Wisconsin. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 203-218.
- PFAENDER, F. K. & BARTHOLOMEW, G. W. 1982. Measurement of aquatic biodegradation by determining heterotrophic uptake of radiolabeled pollutants. *Ibid.*, 44: 159-164.
- PLATT, T., SUBBA RAO, D. V. & IRWIN, B. 1983. Photosynthesis of picoplankton in the oligotrophic ocean. *Nature*, 301: 702-704.
- POINDEXTER, J. S. 1981. Oligotrophy: Fast and famine existence. *Adv. Microb. Ecology.*, 5: 63-89.
- POMEROY, L. R. 1979. Secondary production mechanisms of continental shelf communities. In: *Ecological processes in coastal and marine systems* (R. J. Livingston, ed.): 163-186. Plenum Press, New York.
- POMEROY, L. R. 1984. Significance of microorganisms in carbon and energy flow in marine ecosystems. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 405-411. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- POMEROY, L. R. & DEIBEL, D. 1980. Aggregation of organic matter by pelagic tunicates. *Limnol. Oceanogr.*, 25: 643-652.
- PORTER, K. G. & FEIG, Y. S. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Ibid.*, 25: 943-948.
- PORTER, K. G. 1984. Natural bacteria as food resources for zooplankton. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 340-345. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- RAU, G. H. 1981. Low ¹⁵N/¹⁴N in hydrothermal vent animals: ecological implication. *Nature*, 289: 484-485.
- REICHARDT, W. & MORITA, R. Y. 1982a. Survival stages of a psychrotrophic *Cytophaga johnsonae* strain. *Can. J. Microbiol.*, 28: 841-850.
- REICHARDT, W. & MORITA, R. Y. 1982b. Temperature characteristics of psychrotrophic and psychrophilic bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 128: 565-568.
- RHODES, M. W., ANDERSON, I. C. & KATOR, H. I. 1983. In situ development of sublethal stress in *E. coli*: effects on enumeration. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 1870-1876.
- RIDLEY, W. P., DIZIKES, L. J. & WOOD, J. M. 1977. Biomethylation of toxic elements in the environment. *Science*, 197: 329-332.
- RIEPER, M. 1982. Feeding preferences of marine harpacticoid copepods for various species of bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 7: 303-307.
- RIEPER, M. & FLOTOW, C. 1981. Feeding experiments with bacteria, ciliates and harpacticoid copepods. *Kieler Meeresforsch.*, 5: 370-375.
- ROBERTSON, McCLUNG, C., VAN BERKUM, P., DAVIS, R. E. & SLOGER, C. 1983. Enumeration and localization of N₂-fixing bacteria associated with roots of *Spartina alterniflora* Loisel. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 1914-1920.
- ROBERTSON, W. J. & TOBIN, R. S. 1983. Relationship between three potential pathogens and pollution indicator microorganisms in Nova Scotia coastal waters. *Can. J. Microbiol.*, 29: 1261-1269.
- ROBINSON, J. B. & TUOVINEN, O. H. 1984. Mechanisms of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds: physiological, biochemical and genetic analysis. *Microbiol. Rev.*, 48: 95-124.
- ROMANOVSKY, V. (ed.). 1976. *Fourth International Congress on Marine Corrosion and Fouling*. Antibes, France.
- ROSENBERG, M., BAYER, E. A., DELAREA, J. & ROSENBERG, E. 1982. Role of thin fimbriae in adherence and growth of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 on hexadecane. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 929-937.
- ROSSON, R. A., TEBB, B. M. & NEALSON, K. H. 1984. Use of poisons in determination of microbial manganese binding rates in sea water. *Ibid.*, 47: 740-745.
- RUBBLEE, P. A. 1982. Seasonal distribution of bacteria in salt marsh sediments in North Carolina. *Est. Coastal Shelf Science*, 15: 67-74.

- RUBY, E. G., WIRSEN, C. O. & JANNASCH, H. W. 1981. Chemolithotrophic sulfur-oxidizing bacteria from the Galapagos Rift hydrothermal vents. *Applied Environm. Microbiol.*, 42: 317-324.
- RÜGER, H. J. 1982. Psychrophilic sediment bacteria in the upwelling area off NW-Africa. *Naturwissenschaften*, 69: 448-449.
- SAINO, T. & HATTORI, A. 1982. Aerobic nitrogen fixation by the marine nonheterocystous cyanobacterium *Trichodesmium (Oscillatoria)* spp.: Its protective mechanism against oxygen. *Mar. Biol.*, 70: 251-254.
- SAMUELSSON, M. & RÖNNER, U. 1982. Ammonium production by dissimilatory nitrate reducers isolated from the Baltic Sea water as indicated by a ¹⁵N study. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 1241-1243.
- SAYLER, G. S., NELSON, J. D. & COLWELL, R. R. 1975. Role of bacteria on bioaccumulation of mercury in the oyster *Crassostrea virginica*. *Appl. Microbiol.*, 30: 91-96.
- SCHWEISFURTH, R. D., ELEFThERiADIS, D., GUNDLACH, H., JACOBS, M. & JUNG, W. 1978. Microbiology of the precipitation of manganese. In: *Environmental biogeochemistry and microbiology*, Vol. 3 (W. E. Krumbein, ed.): 923-928. Ann Arbor Science, Ann Arbor, Mich.
- SEIDEL, K. M., GOYAL, S. M., CHALAPATI RAO, V. & MELNICK, J. L. 1983. Concentration of rotavirus and enteroviruses from blue crabs (*Callinectes sapidus*). *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 1293-1296.
- SHERR, B. & SHERR, E. 1983. Enumeration of heterotrophic microprotozoa by epifluorescence microscopy. *Est. Coast. Shelf. Sci.*, 16: 1-17.
- SHERR, B. F. & SHERR, E. B. 1984. Role of heterotrophic protozoa in carbon and energy flow in aquatic ecosystems. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 412-423. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- SHILO, M. 1980. Factors that affect distribution patterns of aquatic microorganisms. In: *Microbiology-1980* (D. Schlessinger, ed.): 311-313. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- SHIMP, R. J. & PFAENDER, F. K. 1982. Effects of surface area and flow rates on marine bacterial growth in activated carbon columns. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 471-477.
- SHIOW-CHUAN, T., ELLENDER, R. D., JOHNSON, R. A. & HOWELL, F. G. 1983. Elution of viruses from coastal sediments. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 797-804.
- SHOKES, R. F., TRABAUT, P. K., PRESTLEY, B. J. & REID, D. F. 1977. Anoxic, hypersaline basin in the northern Gulf of Mexico. *Science*, 196: 1443-1446.
- SIEBURTH, J. M. 1975. *Microbial seascapes*. University Park Press, Baltimore.
- SIEBURTH, J. M. 1978. About bacterioplankton. In: *Monographs on oceanographic methodology, 6 Phytoplankton manual* (A. Sournia, ed.). UNESCO, Paris.
- SIEBURTH, J. M. 1979. *Sea microbes*. Oxford University Press, New York.
- SIEBURTH, J. M., BROOKS, R. D., GESSNER, R. V., THOMAS, C. D. & TOOTLE, J. L. 1974. Microbial colonization of marine plant surfaces as observed by scanning electron microscopy. In: *Effect of the ocean environment on microbial activities* (R. R. Colwell & R. Y. Morita, eds.): 418-432. University Park Press, Baltimore.
- SILVER, M. W., GOWING, M. M., BROWNLEE, D. C. & CORLISS, J. O. 1984. Ciliated protozoa associated with oceanic sinking detritus. *Nature*, 309: 246-248.
- SMITH, G. W. & HAYASAKA, S. S. 1982. Nitrogenase activity associated with *Zostera marina* from a North Carolina estuary. *Can. J. Microbiol.*, 28: 448-451.
- SMITH, K. L., Jr. & BALDWIN, R. J. 1984. Seasonal fluctuations in deep sea sediment community oxygen consumption: central and eastern North Pacific. *Nature*, 307: 624-626.
- SOLANAS, A. M., PARÉS, R., BAYONA, J. M. & ALBAIGÉS, J. 1984. Degradation of aromatic petroleum hydrocarbons by pure microbial cultures. *Chemosphere*, 13: 593-601.
- SOLANAS, A. M., PARÉS, R., MARFIL, C. & ALBAIGÉS, J. 1983. A comparative study of chemical and microbiological monitoring of pollutant hydrocarbons in urban aquatic environments. In: *Chemistry and Analysis of hydrocarbons in the environment* (J. Albaigés, R. W. Frei & E. Merian, eds.): 77-87. Gordon & Breach, London.
- SORENSEN, J. 1982. Reduction of ferric iron in anaerobic marine sediment and interaction with reduction of nitrate and sulfate. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 319-324.
- SORENSEN, J. 1984. Seasonal variation and control of oxygen, nitrate and sulfate respiration in coastal marine sediments. In: *Current perspectives in microbial ecology* (M. J. Klugg & C. A. Reddy, eds.): 447-453. American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- SOROKIN, Y. I. 1977. The heterotrophic phase of plankton succession in the Japan Sea. *Mar. Biol.*, 41: 107-117.
- SOROKIN, Y. I. 1981. Microheterotrophic organisms in marine ecosystems. In: *Analysis of marine ecosystems* (A. R. Longhurst, ed.): 293-342. Academic Press, London.
- SPAIN, J. C. & VANVOLD, P. A. 1983. Adaptation of natural microbial communities to degradation of xenobiotic compounds: effects of concentration, exposure time, inoculum and chemical structure. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 428-435.
- SPIESS, F. N., MACDONALD, K. C., ATWATER, T., BELLARD, R., CARRANZA, A., CÓRDOBA, D., COX, C., DÍAZ GARCÍA, V. M., FRANCHETEAU, J., GUERREIRO, J., HAWKINS, J., HAYMAN, R., HESSLER, R., JUTEAU, T., KASTNER, M., LARSON, R., LUYENDYCK, B., MACDOUGALL, J. D., MILLER, S., NORMARK, W., ORCUTT, J. & RANGUIN, R. 1980. East Pacific Rise: Hot springs and geophysical experiments. *Science*, 207: 1421-1433.
- SPIRA, W. M. & FEDORA-CRAY, P. J. 1983. Enterotoxin production by *Vibrio cholerae* and *V. mimicus* grown in continuous culture with microbial cell recycle. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 704-709.
- STEIN, J. L. 1984. Subtidal gastropods consume sulfur-oxidizing bacteria: evidence from coastal hydrothermal vents. *Science*, 223: 696-698.
- STETTER, K. O. 1982. Ultrathin mycelia-forming organisms from submarine volcanic areas having an optimal growth temperature of 105 °C. *Nature*, 300: 258-260.
- STETTER, K. O. & GANG, G. 1983. Reduction of molecular sulfur by methanogenic bacteria. *Nature*, 305: 309-311.
- STEVENSON, L. H., CHRASANOVSKI, T. H. & ERKENBRECHER, C. W. 1979. The adenosine triphosphate assay; conceptions and misconceptions. In: *Native aquatic bacteria: Enumeration, activity and ecology* (J. W. Costerton & R. R. Colwell, eds.): 99-116. ASTM Special Technical Pub. No. 695.

- American Society for Testing and Materials, Philadelphia.
- STOUT, J. D. 1980. The role of protozoa in nutrient cycling and energy flow. *Adv. Microb. Ecology*, 4: 1-50.
- STUART, V. 1982. Limitations of ATP as a measure of microbial biomass. *S. Afr. J. Zool.*, 17: 93-95.
- SULLIVAN, C. W. & PALMISANO, A. C. 1984. Sea ice microbial communities: distribution, abundance and diversity of ice bacteria in McMurdo Sound, Antarctica in 1980. *Applied Environm. Microbiol.*, 47: 788-795.
- SUMMERS, A. O. & SILVER, S. 1978. Microbial transformation of metals. *Ann. Rev. Microbiol.*, 32: 637-672.
- TABOR, P. S., DEMING, J. W., OHWADA, K. & COLWELL, R. R. 1982. Activity and growth of microbial populations in pressurized deep sea sediment and animal gut samples. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 413-422.
- TABOR, P. S. & NEIHOF, R. A. 1982. Improved microradioautographic method to determine individual microorganisms active in substrate uptake in natural waters. *Ibid.*, 44: 945-953.
- TIMONEY, J. F., PORT, J., GILES, J. & SPANIEN, J. 1978. Heavy metal and antibiotic resistance in the bacterial flora of sediments of New York Bight. *Ibid.*, 36: 465-472.
- TOKUDA, H., SUGASAWA, M. & UNEMOTO, T. 1982. Roles of Na and K in α -aminoisobutyric acid transport by the marine bacterium *Vibrio alginolyticus*. *J. Biol. Chem.*, 257: 788-794.
- TORANZO, A. E., BARJA, J. L. & HETRICK, F. M. 1982. Antiviral activity of antibiotic-producing marine bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 28: 231-238.
- TORANZO, A. E., BARJA, J. L. & HETRICK, F. M. 1983. Mechanism of poliovirus inactivation by cell-free filtrates of marine bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 29: 1481-1486.
- TORRELLA, F. & MORITA, R. Y. 1981. Microcultural studies of bacterial size changes and microcolony and ultramicrocolony formation by heterotrophic bacteria in sea water. *Applied Environm. Microbiol.*, 41: 518-527.
- TORRELLA, F. & MORITA, R. Y. 1982. Starvation induced morphological changes, motility and chemotaxis patterns in a psychrophilic marine *Vibrio*. *Publ. CNEXCO (Actes Colloq.)*, 13: 45-60.
- TRENT, J. D., CHASTAIN, R. A. & YAYANOS, A. A. 1984. Possible artefactual basis for apparent bacterial growth at 250°C. *Nature*, 307: 737-740.
- TUTTLE, J. H., SCHWARTZ, J. H. & WHITED, G. M. 1983a. Some properties of thiosulfate oxidizing enzyme from marine heterotroph 16B. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 438-445.
- TUTTLE, J. H., WIRSEN, C. O. & JANNASCH, H. W. 1983b. Microbial activities in the emitted hydrothermal waters of the Galapagos Rift vents. *Mar. Biol.*, 73: 293-299.
- TYLER, P. A. & MARSHALL, K. C. 1967. Form and function in manganese oxidizing bacteria. *Arch. Microbiol.*, 56: 344-353.
- UHLINGER, D. J. & WHITE, D. C. 1983. Relationship between physiological status and formation of extracellular polysaccharide glyco-calyx in *Pseudomonas atlantica*. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 64-70.
- VAN ES, J. & MEYER-REIL, L. A. 1982. Biomass and metabolic activity of heterotrophic marine bacteria. *Adv. Microb. Ecology*, 6: 111-117.
- VARGA, S. & HIRTLE, W. A. 1975. Incidence of *Vibrio parahaemolyticus* in fish, shellfish, mud, water and fish products in the Canadian Maritime Region. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32: 541-544.
- WAIT, D. A. & SOBSEY, M. D. 1983. Method for recovery of estuarine viruses from estuarine sediments with chaotropic agents. *Applied Environm. Microbiol.*, 46: 374-385.
- WAKEHAM, S. G., GAGOSIAN, R. B., FARRINGTON, J. W. & CANVEL, E. A. 1984. Sterenes in suspended particulate matter in the eastern tropical North Pacific. *Nature*, 308: 840-843.
- WARD, B. B. & PERRY, M. J. 1980. An immunofluorescent assay for the marine ammonium-oxidizing bacterium *Nitrosococcus oceanus*. *Applied Environm. Microbiol.*, 39: 913-918.
- WARE, C. W. & ROAN, C. C. 1970. Interactions of pesticides with aquatic microorganisms. *Residue Rev.*, 33: 15-45.
- WATERBURY, J. B., EATSON, S. W., GUILLARD, R. R. L. & BRAND, L. E. 1979. Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic cyanobacterium. *Nature*, 277: 293-294.
- WATSON, S. W. & HOBBS, J. E. 1979. Measurement of bacterial biomass as lipopolysaccharide. In: *Native aquatic bacteria: enumeration, activity and ecology* (J. W. Costerton & R. R. Colwell, eds.): 82-88. ASTM Special Pub. N. 695. American Society for Testing and Material, Philadelphia.
- WATSON, S. W., NOVIITSKY, T. J., QUINBY, H. L. & VALOIS, F. W. 1977. Determination of bacterial number and biomass in the marine environment. *Applied Environm. Microbiol.*, 33: 940-946.
- WIEBKE, W. J. & POMEROY, L. R. 1972. Microorganisms and their association with aggregates and detritus in the sea: a microscopic study. *Mem. Ins. Ital. Idrobiol. Dott. Marco de Marchi*, 29 (Suppl.): 325-352.
- WILSON, C. A. & STEVENSON, L. H. 1980. The dynamics of the bacterial population associated with a salt marsh. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 48: 123-135.
- WILLIAMS, P. J. LeB. 1981. Incorporation of microheterotrophic processes into the classical paradigm of the planktonic food web. *Kieler Meeresforsch.*, 5: 1-28.
- WILLIAMS, P. M., SMITH, K. L., DRUFFEL, E. M. & LINICK, T. W. 1981. Dietary carbon sources of mussels and tubeworms from Galapagos hydrothermal vents determined from tissue ¹⁴C activity. *Nature*, 292: 448-449.
- WINFREY, M. R. & WARD, D. W. 1983. Substrates for sulfate reduction and methane production in intertidal sediments. *Applied Environm. Microbiol.*, 45: 193-199.
- WINN, C. D. & KARL, D. M. 1984. Laboratory calibrations of the (³H) adenine techniques for measuring rates of RNA and DNA synthesis in marine microorganisms. *Ibid.*, 47: 835-842.
- WOLTER, K. 1982. Bacterial incorporation of organic substances released by natural phytoplankton populations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 7: 287-295.
- WOOD, J. M. 1983. Molecular processes in the marine environment. In: *Oceanography. The present and future* (P. G. Brewer, ed.): 3-15. Springer-New York.
- XU, HUAI-SHU, ROBERTS, N., SINGLETON, F. L., ATTWELL, R. W., GRIMES, D. J. & COLWELL, R. R. 1982. Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment. *Microb. Ecol.*, 8: 313-323.
- YAYANOS, A. A. 1978. Recovery and maintenance of

- live amphipods at a pressure of 580 bars from an ocean depth of 5700 meters. *Science*, 220: 1056-1059.
- YAYANOS, A. A., DIETZ, A. S. & VAN BOXTEL, R. 1979. Isolation of a deep sea barophilic bacterium and some of its growth characteristics. *Science*, 205: 808-810.
- YAYANOS, A. A. & DIETZ, A. S. 1982. Thermal inactivation of a deep sea barophilic bacterium isolate CNPT-3. *Applied Environm. Microbiol.*, 43: 1481-1489.
- YAYANOS, A. A. & DIETZ, A. S. 1983. Death of a hadal deep sea bacterium after decompression. *Science*, 220: 497-498.
- YAYANOS, A. A., DIETZ, A. S. & VAN BOXTEL, R. 1981. Oligately barophilic bacterium from the Mariana Trench. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 78: 5212-5215.
- YAYANOS, A. A., DIETZ, A. S. & VAN BOXTEL, R. 1982. Dependence of reproduction rate on pressure as a hallmark of deep sea bacteria. *Applied Environm. Microbiol.*, 44: 1356-1361.
- ZIMMERMAN, R., ITURRIAGA, R. & BECKER-BIRCK, Jr. J. 1978. Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. *Ibid.*, 36: 926-935.
- ZOBELL, C. E. 1946. *Marine microbiology*. Chronica Botanica, Waltham, Mass.
- ZOBELL, C. E. & MORITA, R. Y. 1957. Barophilic bacteria in some deep sea sediments. *J. Bacteriol.*, 73: 563-568.