

Inv. Pesq.	49 (4)	págs. 607-616	diciembre 1985
------------	--------	---------------	----------------

## Efecto de la descarga del río Besós (Barcelona, España) en la población bacteriana de las aguas receptoras del mar Mediterráneo \*

M. D. VAQUÉ, J. MARTÍNEZ y J. VIVES-REGO\*\*

Departamento de Microbiología. Facultad de Biología  
Universidad de Barcelona Av. Diagonal, 645 08071 Barcelona

*Palabras clave:* Biodegradación, autodepuración, materia orgánica biodegradable, incorporación de timidina, enumeración de bacterias, mar Mediterráneo.  
*Key words:* Biodegradation, selfdeputation, biodegradable organic matter, thymidine incorporation, bacterial counts, Mediterranean Sea.

**RESUMEN:** El río Besós es el principal foco de contaminación de la zona costera comprendida entre Barcelona y Montgat (España). Se ha estudiado el impacto de estos vertidos en la población bacteriana marina, por incorporación de timidina y enumeración bacteriana por epifluorescencia. A partir de la disminución de la DQO y de las variaciones de la producción bacteriana, se propone la existencia de dos tipos de materia orgánica, en función del crecimiento obtenido. Al añadir la carga orgánica del río Besós al agua costera, se observa un crecimiento rápido e inmediato, que finaliza antes de 48 h y corresponde a un 3-30 % de la DQO total. A esta fracción de materia orgánica se la considera rápidamente biodegradable. El resto de la materia orgánica consume mucho más lentamente, indicando que presenta características químicas diferentes que la hacen más difícil de biodegradar.

**SUMMARY:** EFFECT OF THE BESÓS RIVER DISCHARGE (BARCELONA, SPAIN) ON THE BACTERIAL POPULATION OF THE RECEIVING WATER FROM MEDITERRANEAN SEA — The Besós River is the main wastewater discharge in the coastal area between Barcelona and Montgat (Spain). The impact of this waste dumping on the sea bacterial populations was studied by means of thymidine incorporation and epifluorescence bacterial counts. The decrease of CDO and the variations in bacterial production, indicate the existence of two types of organic matter, which support different kinetics of bacterial growth. A fraction consumed before 48 h which constitute a 3-30 % of the total CDO is considered to be easily biodegradable. The rest of the organic matter is slowly consumed, indicating that it is chemically different and being more difficult its biodegradation.

### INTRODUCCIÓN

En la mayoría de los modelos ecológicos se admite que la actividad heterotrófica bacteriana es directamente proporcional a la carga orgánica total (SAUNDERS *et al.*, 1980; FENCHEL y JORGENSEN, 1977). La mayor parte de esta materia orgánica (75 %-99 %) se encuentra disuelta en el caso de las aguas marinas (SHARP, 1973). Sin embargo, por dialización y ultrafiltración se pone de manifiesto que el porcentaje más elevado de materia orgánica corresponde a pesos moleculares superiores a 400-500 daltons (MIRKINA 1977; WHEELER, 1976; OGURA,

\* Recibido el 31 de mayo de 1985. Aceptado el 9 de octubre de 1985.

\*\* Autor al que debe dirigirse la correspondencia.

1974). La entrada de una molécula orgánica a través de las envolturas bacterianas tiene lugar por intervención de permeasas (BILLEN *et al.*, 1980). Sólo las moléculas de bajo peso molecular pueden ser directamente incorporadas, mientras que las moléculas de mayor tamaño deben hidrolizarse antes de ser utilizadas por las bacterias. Consecuentemente la materia orgánica utilizable por las bacterias, y por tanto biodegradable, representa una fracción variable de la materia orgánica total (WILLIAMS, 1975; OGURA, 1975; BADA y LEE, 1977).

El río Besós es el principal foco de contaminación de la zona costera Barcelona-San Adrián-Montgat (caudal:  $3 \text{ m}^3 \text{ seg}^{-1}$ , DQO:  $386 \text{ mg O}_2 \text{ l}^{-1}$ ; SUÁREZ y TRILLO, 1977). La descarga final del río Besós es un acúmulo de sustancias orgánicas e inorgánicas de origen doméstico urbano, industrial e incluso agrícola. Este tipo de materia orgánica puede o no presentar una toxicidad directa para el bacterioplancton marino que será fundamentalmente el responsable de su posterior degradación o mineralización.

La biodegradación de muchos productos de origen industrial genera en otros casos subproductos difíciles de biodegradar, como por ejemplo los compuestos incluidos bajo la denominación de xenobióticos (tensioactivos, hidrocarburos, pesticidas, herbicidas, insecticidas, etc. (LEISINGER, 1983). La degradación, reciclaje o mineralización de estos vertidos puede generar desequilibrios importantes en estas zonas de recepción que globalmente se caracterizan por una disminución del oxígeno disuelto, e incluso producción de amoníaco y sulfhídrico. Estos dos factores son intrínsecamente tóxicos para el sistema vivo que soporta esta zona costera. Este tipo de vertidos contiene habitualmente cantidades variables de materia orgánica difícil o lentamente biodegradable. Es evidente la importancia fundamental tanto cuantitativa como cualitativa del bacterioplancton en la rápida degradación de este tipo de residuos y en su incorporación al ciclo de la materia orgánica del ecosistema marino (PARIS *et al.*, 1981; LAD *et al.*, 1982; GHISALBA, 1983).

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la descarga del río Besós en la población bacteriana de las aguas receptoras de la costa mediterránea. Por el momento no existe una metodología válida para valorar la cantidad de carbono directamente utilizable por la población bacteriana autóctona, en los hábitats acuáticos. Se propone un cálculo de la materia orgánica biodegradable, basado en la incorporación de timidina que tiene lugar como respuesta inmediata a la adición de una fracción de agua del río Besós en agua de mar costera.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Puntos de muestreo*

Las muestras se tomaron en bidones de plástico de 10 litros, siendo transportadas al laboratorio y procesadas inmediatamente. Todas las muestras fueron tomadas en el período comprendido entre mayo y julio de 1984. Las del río Besós corresponden al punto del río situado a 500 m de la desembocadura

(estación *BES*), dentro del término municipal de San Adrián del Besós. Las muestras de agua de mar provienen de la zona de San Adrián del Besós a nivel de playa (estación *SA*) o a una distancia de la playa de 800 a 1000 m.

#### *Ensayos de autodepuración*

Los ensayos de autodepuración se efectuaron en el laboratorio a partir de 2-4 horas, como máximo, de la toma de muestras. Fueron utilizados erlenmeyers (2 litros de volumen, con hendiduras laterales) que contenían 1 litro de agua de mar y un 5 % del vertido del río Besós o bien de la zona costera de San Adrián del Besós. Se utilizó como blanco-testigo un ensayo de las mismas características, al que no se añadió agua de las estaciones *BES* o *SA*. Se agitaron orbitalmente a 110-120 oscilaciones por minuto, a temperatura de 22°C, y se mantuvieron al resguardo de la luz durante el periodo de ensayo, que fue de 8-9 días.

#### *Actividad heterotrófica*

La actividad heterotrófica del bacterioplancton se determinó mediante la incorporación de timidina tritiada en la fracción insoluble al ácido tricloroacético frío, de acuerdo con la metodología de FUHRMAN y AZAN (1980, 1982). Se utilizó 20 nM de metil-<sup>3</sup>H-timidina (80-90 Ci/mmol, Amersham, Inglaterra). La incubación se efectuó en el laboratorio a temperatura ambiente (18-22°C), durante 30 minutos.

#### *Enumeración de bacterias por epifluorescencia*

Se efectuó de acuerdo con el método de HOBIE *et al.* (1977).

#### *Determinación de la materia orgánica*

Las estimaciones de materia orgánica se efectuaron por la demanda química de oxígeno (DQO), determinada siguiendo la modificación de GÖCKE y HOPPE (1977), en la que se utiliza permanganato potásico en vez de dicromato potásico para oxidar la materia orgánica.

## RESULTADOS

Las observaciones microscópicas de las experiencias representadas en la figura 1, los blancos y en especial el tiempo cero, ponen de manifiesto un predominio de formas pequeñas con fluorescencia verde. A partir del segundo y tercer día empiezan a aparecer formas filamentosas más decoloradas, aunque se continúan observando formas pequeñas que tampoco presentan una fluorescencia muy acusada. En los ensayos con agua proveniente de *BES* o *SA*, hay una gran heterogeneidad morfológica desde el tiempo cero hasta el segundo

día. Aparecen formas bacilares de tamaño mucho mayor que las observadas en el blanco, así como cadenas de bacilos con una marcada fluorescencia roja. A partir del segundo día aparecen abundantes formas filamentosas, muchas de ellas septadas, con fluorescencia verde débil, y formas bacilares anaranjadas. En el tiempo cero de la figura 1, A (con 5 % agua de *BES*), se observan formas pequeñas con una marcada fluorescencia verde y roja, así como bacilos grandes con fluorescencia roja. Hasta el tercer día no aparece una gran heterogeneidad de formas con predominio de fluorescencia roja. A partir del cuarto día se empiezan a detectar formas alargadas y filamentosas además de las bacilares con fluorescencia de coloración variable, indicando actividades variables o bajas.

En todos los casos estudiados se observa un incremento en los valores de incorporación de timidina a las pocas horas de haber iniciado el ensayo que contiene agua de *BES* o *SA*. El aumento inmediato de la incorporación de timidina como respuesta a la adición de materia orgánica implica la existencia de sustratos utilizables por las bacterias y que su utilización implicaría un crecimiento bacteriano inmediato. La incorporación de timidina sería proporcional a la concentración del sustrato utilizable, de acuerdo con la expresión de MONOD (1950), que relaciona tasa de crecimiento y concentración de sustrato

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

donde  $\mu$  = tasa de crecimiento;  $S$  = concentración del sustrato limitante;  $K_s$  = constante de saturación, que numéricamente equivale a la concentración de nutrientes que limita el crecimiento a  $0,5 \mu_{\max}$ ;  $\mu_{\max}$  = máxima tasa de crecimiento.

La respuesta a la adición de agua de *SA* es inmediata, pero cuantitativamente inferior a la obtenida con agua de *BES* (fig. 1, A, B, C). Este resultado indica que la concentración de materia orgánica biodegradable es menor en la estación *SA* que en la *BES*, ya sea por la dilución que ha tenido lugar al mezclarse el agua de *BES* en la playa o por haberse degradado una parte de ella en el período de dilución. La evolución del número de bacterias no siempre adopta un comportamiento similar al de la incorporación de timidina. En unos casos el número de bacterias disminuye en los inicios del ensayo (fig. 1, B, C,) y en otros aumenta (fig. 1, A), siendo similar a la evolución de la incorporación de timidina. El descenso del número de bacterias al poco tiempo de haberse iniciado el ensayo, puede atribuirse a la muerte y desaparición de la población bacteriana que ha llegado con la muestra *BES* o *SA*, en su contacto con el agua de mar. En los casos en que aumenta el número de bacterias en el inicio del ensayo cabe pensar que es debido a la presencia de sustratos inmediatamente utilizables por las bacterias. El número máximo de bacterias obtenido en los ensayos efectuados con agua de las estaciones *BES* o *SA* oscilan entre  $9,5 \times 10^6$  y  $30,1 \times 10^6$  bacterias por ml. Estos valores son claramente

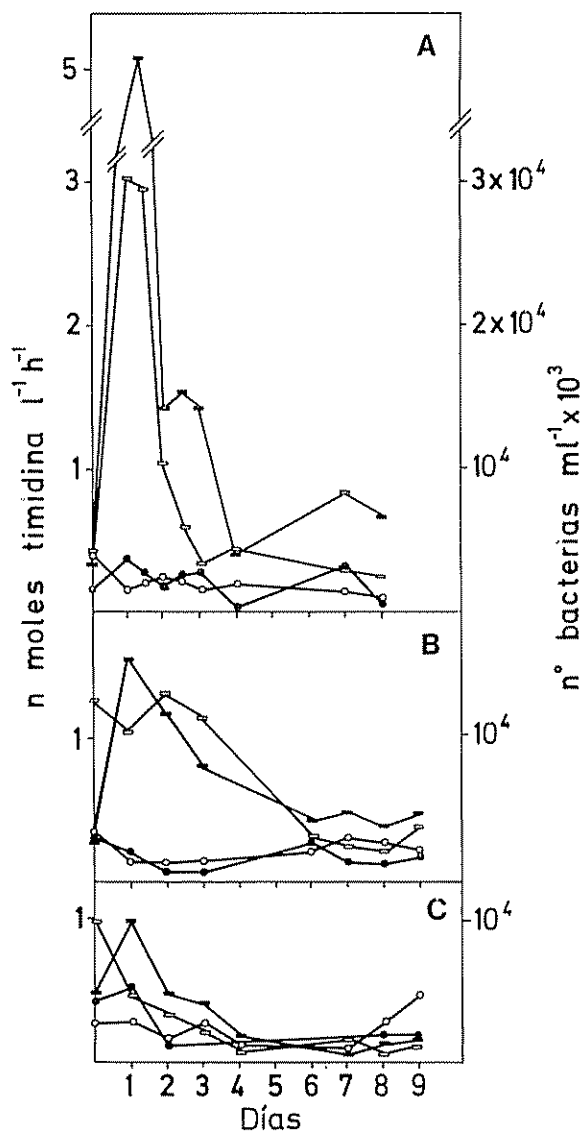


FIG. 1 — A y B: Ensayos de autodepuración con agua costera (500-1000 m de distancia) y la descarga del río Besós (al 5 %). A: muestreo efectuado el 17 de julio de 1984; B: muestreo efectuado el 23 de julio de 1984; (□): incorporación de timidina en el agua de mar (testigo). (■): incorporación de timidina en el agua de mar más un 5 % de la descarga del río Besós. (○): número de bacterias en agua de mar (testigo). (●) número de bacterias en el agua de mar más un 5 % de la descarga del río Besós C: Ensayo de autodepuración con agua costera (500-1000 m de distancia) y un 5 % de agua de playa (receptora de la descarga del río Besós, correspondiente a San Adrián). Muestreo efectuado el 16 de julio de 1984. (□): incorporación de timidina en el agua de mar (testigo). (■): incorporación de timidina en el agua de mar más un 5 % de agua de playa correspondiente a la estación SA. (○): número de bacterias en aguas de mar (testigo). (●): número de bacterias en el agua de mar más un 5 % de agua de playa correspondiente a la estación SA.

superiores a los descritos para aguas naturales y poco contaminadas (VAATANEN, 1980; WRIGHT y COFFIN 1984). Cuando la densidad bacteriana desciende después de haber llegado a sus valores máximos, se estabiliza el cabo de 2-4 días. Los valores mínimos oscilan entre  $2,9 \times 10^6$  y  $6,1 \times 10^6$  bacterias por ml, siendo estos valores más próximos a los habituales en agua de mar.

A partir de la actividad heterotrófica se puede hacer una estimación de la producción bacteriana. Para ello se calcula el área de la incorporación de timidina por triangulación simplificada, y se aplica el factor de conversión de  $1,7 \times 10^{18}$  células por mol de timidina incorporada (FUHRMAN y AZAM, 1982). La producción bacteriana así calculada se transforma en gramos de carbono aplicando el factor de conversión  $1,7 \times 10^{-15}$  g C por célula bacteriana en aguas marinas (WATSON *et al.*, 1977) y se corrige por el coeficiente de la producción  $Y = \text{biomasa producida/sustrato consumido}$ . La eficiencia de la producción en medios naturales es objeto de controversia. Existe una variabilidad de valores que van de 0,6 según PAYNE (1970), a 0,1 según NEWELL *et al.* (1981), mientras que BILLEN *et al.* (1983), obtienen valores comprendidos entre 0,1-0,4. En este trabajo hemos optado por aplicar  $Y = 0,3$  que es el valor medio de los referidos.

En el cuadro I se expresan los resultados de estos cálculos referidos a los experimentos de la figura 1, A, B, C. La comparación entre los valores de carbono consumido y los correspondientes a la desaparición de materia orgánica en nueve días, permite a su vez hacer una estimación del porcentaje de materia orgánica utilizada por la población costera objeto de estudio. El por-

CUADRO I

Estimación de la materia orgánica biodegradable en agua de mar.

Experimentos (1)	Carbono rápidamente consumido mg C l <sup>-1</sup> (2)	Días (3)	Materia orgánica consumida en 9 días mg C l <sup>-1</sup>	Porcentaje de materia orgánica rápidamente consumida (4)
A	2,2	4	7,5	29,3
B	0,5	3	5,6	8,9
C	0,2	2	6,5	3,07

(1) A, B y C: ver figura 1.

(2) Conversión de timidina en número de células por aplicación del coeficiente  $1,7 \times 10^{18}$  (FUHRMAN y AZAM, 1982); conversión de células en gramos de carbono por aplicación del coeficiente  $1,7 \times 10^{-15}$  (WATSON *et al.*, 1977). Coeficiente de la producción  $Y = 0,3$ .

(3) Días en los que ha tenido lugar la respuesta incorporación de timidina utilizada para el cálculo de la biomasa.

(4) Referida a los períodos expresados en (3) y de acuerdo con lo observado en la figura 1.

centaje de materia biodegradable calculado en el experimento *A* es superior a los calculados para los ensayos *B* y *C*. Sin embargo, la cantidad de materia orgánica que desaparece al cabo de nueve días es similar en los tres casos. El menor porcentaje de materia rápidamente biodegradable del experimento *C*, quizás sea debido a que una parte de la materia orgánica ya ha sido utilizada por la población bacteriana marina durante el periodo de dilución, aunque no puede descartarse la posibilidad de que exista una fracción resistente a la biodegradación.

En todos los experimentos queda reflejado que una fracción de la materia orgánica se consume en un primer periodo de dos-cuatro días, generando gran actividad y biomasa bacterianas. Otra fracción se utiliza y por tanto biodegrada más lentamente, generando menor actividad y biomasa. Estos dos tipos de comportamiento de la población bacteriana marina, indican que la descarga del río Besós contiene, al menos dos tipos de materia orgánica. Una fracción es directamente asimilable por las bacterias, es decir, de características moleculares que permiten su inmediato transporte al citoplasma bacteriano. La segunda fracción sería utilizable más lentamente, posiblemente por requerir una hidrólisis exocelular que generase productos utilizables por las permeasas bacterianas.

## DISCUSIÓN

La materia orgánica determinada por métodos químicos tradicionales (DQO) no puede considerarse como un todo homogéneo, desde el punto de vista de su utilización, degradación y mineralización por los microorganismos. En general se parte de la existencia de dos tipos diferentes de materia orgánica: materia orgánica disuelta (*DOM*) y materia orgánica particulada (*POM*), que se degradan según una cinética de primer orden, distinta según los casos. La materia orgánica disuelta se degrada rápidamente, mientras que la particulada lo hace más lentamente, existiendo, en ambos casos, una fracción refractaria a la oxidación. Sin embargo, no toda la materia orgánica disuelta tiene un peso molecular que permita su directa utilización por las bacterias, ni toda la que se encuentra disuelta es biodegradable, o al menos fácilmente biodegradable (OGURA, 1975; BADA y LEE, 1977). Sólo pueden utilizarse directamente para el crecimiento bacteriano las pequeñas moléculas que son reconocidas por las permeasas (BILLEN *et al.*, 1980). Hemos de tener en cuenta que en las aguas marinas la materia orgánica particulada (*POM*) representa, como máximo entre el 10 % y el 20 % de la materia orgánica disuelta (*DOM*), y que el 70 %-90 % de la *DOM* posee un peso molecular superior a 1000 daltons (WHEELER, 1976; OGURA, 1974). En nuestros experimentos hemos de tener en cuenta que tanto la mayoría de la materia orgánica disuelta (*DOM*) como la particulada (*POM*) son de origen exógeno, debido a las descargas industriales, agrícolas y urbanas que llegan a estas aguas. Esta afirmación queda corrobora-

rada cuando se evalúa el contenido de materia orgánica de estas aguas por el método del permanganato (DQO). Los valores obtenidos oscilan entre 7 y 13,6 mg C l<sup>-1</sup>, mientras que en aguas poco polucionadas, utilizando métodos mucho más precisos que el anterior, se obtienen valores entre 0,5 y 5 mg C l<sup>-1</sup> (WILLIAMS, 1975). Por todo ello, el comportamiento de la comunidad bacteriana no es siempre el mismo, puesto que además de aportar un contenido en materia orgánica (que presenta una gran variabilidad), al añadir la fracción de agua del Besós, aportamos una flora bacteriana que en su mayoría no será autóctona del propio río y que tendrá en muchos casos origen fecal.

La evolución del número de bacterias y la actividad heterotrófica son una buena medida de las posibles perturbaciones de una comunidad natural. El incremento de la incorporación de timidina tritiada refleja, en la mayoría de los casos, un aumento de la actividad heterotrófica bacteriana debido a la captación de los sustratos utilizables que llegan con el vertido. BILLEN *et al.* (1980) han descrito un modelo de utilización de sustratos por las bacterias, en el que el crecimiento de la población bacteriana no depende tanto de la concentración de sustratos utilizables, como de las características fisiológicas de estas bacterias. Este modelo no estaría en contradicción con nuestros estudios, en los que la población bacteriana no siempre responde de la misma manera. Esto puede interpretarse en el sentido de que la población inicial (mezcla de la aportada por el mar y la del río) no es una población total y uniformemente activa, produciéndose cambios relacionados con la desaparición de bacterias alóctonas y también con la desaparición y selección de determinados grupos autóctonos. Un caso en el que se observa eliminación de una parte de la población bacteriana es el representado en la figura 1, C. El valor máximo del número de bacterias se debe, casi exclusivamente, al aporte del 5 por ciento de agua de SA y se observa en el tiempo cero. La población bacteriana se reduce a la mitad al cabo de 24 horas, y, a partir de las 48 horas, se mantiene dentro de unos niveles bajos y estables hasta el final del período de estudio. El aumento de la actividad heterotrófica detectado al cabo de 24 horas posiblemente sea debido a la utilización de materia orgánica biodegradable por parte de la población bacteriana marina receptora y de la que se haya adaptado y seleccionado proveniente del aporte de agua de SA.

El conteo y observación de las bacterias (previa tinción con el anaranjado de acridina) mediante el microscopio de fluorescencia, nos da una idea de los cambios morfológicos y fisiológicos que experimentan las bacterias. El anaranjado de acridina (a bajas concentraciones y pH básico) tiene la propiedad de interactuar con los ácidos nucleicos ARN y ADN, dando lugar a una fluorescencia roja y verde respectivamente (HOBBIÉ *et al.*, 1977). Se considera que la tasa de crecimiento bacteriano en aguas marinas con reducidos niveles de materia orgánica es baja, siendo entonces predominante el ADN con respecto al ARN, manifestándose una fluorescencia verde debida al primero. En las bacterias con una tasa de crecimiento alta predominará el ARN, lo que dará lugar a una fluorescencia roja.



El cálculo de la producción bacteriana a partir de la actividad heterotrófica se ha adoptado, fundamentalmente, por dos razones: 1) en la enumeración bacteriana no se tienen en cuenta las células lisadas ni las depredadas por los bacterióvoros, y si las que se encuentran en estado de prelisis, las inactivas y las autóctonas; 2) porque las células sedimentarias y agregadas en partículas no se pueden evaluar con precisión en nuestro ensayo. Por todo ello el cálculo a partir de la incorporación de timidina tritiada se ha considerado más crítico que el de la enumeración de bacterias.

La variabilidad en la concentración de sustratos utilizables detectada en nuestros ensayos de autodepuración podrían explicarse en función de:

- 1) Variabilidad de compuestos orgánicos existentes en las aguas del río Besós.
- 2) Variabilidad en el contenido de materiales biodegradables de bajo peso molecular.
- 3) No puede descartarse una variabilidad en los valores de incorporación de timidina tritiada y en el número de células, debido a la presencia de tóxicos en este río; así como la presencia de bacterias autóctonas, no tan sólo marinas, sino del propio Besós.
- 4) Estado fisiológico de las bacterias presentes, que sean o no capaces de utilizar los sustratos aportados.

En cualquier caso, nuestros resultados indican que la materia orgánica existente en las descargas del río Besós es utilizada según criterios diferentes desde el punto de vista bacteriológico. Las heterogéneas características moleculares que exigen en ciertos casos degradaciones enzimáticas extracelulares y adaptación de los sistemas de transporte específicos, son los mecanismos bioquímicos sugeridos para comprender este fenómeno.

## BIBLIOGRAFÍA

- BADA, J y C. LEE — 1977. Decomposition and alteration of organic compounds dissolved in seawater. *Mar. Chem.*, 5: 523-534.
- BILLEN, G., C. JOIRIS, J. WILNANT y G. GILLAIN. — 1980. Concentration and microbiological utilization of small organic molecules in the Scheldt Estuary, the Belgian Coastal Zone of the North Sea and the English Channel. *Est. Coast. Mar. Sci.*, II: 279-294.
- BILLEN, G., C. LANCELOT, P. SERVAIS, M. SOMVILLE y J. VIVES-REGO. — 1983. *Établissement d'un modèle prédictif de la qualité de l'eau de l'estuaire de l'Escaut*. Université Libre de Bruxelles, págs 15-22.
- FENCHEL, T. y B. JORGENSEN — 1977. Detritus food chains of aquatic ecosystems: the role of bacteria. *Adv. Microbial. Ecol.*, 1: 1-58.
- FUHRMAN, J. y F. AZAM — 1980. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica, and California. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39: 1085-1095.
- 1982. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. *Mar. Biol.*, 66: 109-120.

- GHISALBA, O. — 1983. Chemical wastes and their biodegradation—an overview. *Experientia*, 39: 1247-1257.
- GÖCKE, K. y H. HOPPE — 1977. Determination of organic substances and respiration potential. *Microbial ecology of a brackish water environment*. Rheinheimer (eds). Ecological studies 25, págs. 61-64. New York.
- HOBBIE, J., R. DALEY y S. JASPER — 1977. Use of Nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 1225-1228.
- KOBAYASHI, Y. y D. MAUDSLEY. — 1974. Basic principles of the application radiotracers. *Biological applications of liquid scintillation country*, págs. 123-189. Academic Press, London.
- LADD, T., R. VENTULLO, P. WALLIS y J. COSTERTON. — 1982. Heterotrophic activity and biodegradation of labile and refractory compounds by groundwater and stream microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44 (2): 321-329.
- LEISINGER, T. — 1983. Microorganisms and xenobiotic compounds. *Experientia*, 39: 1183-1191.
- MIRKINA, E. — 1977. Separation and biological characteristics of dissolved organic matter of natural waters. *Oceanology*, 17: 412-417.
- MONOD, J. — 1950. La technique de culture continue; théorie et applications. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, 79: 390-410.
- NEWELL, R., M. LUCAS y E. LINLEY. — 1981. Rate of degradation and efficiency of conversion of phytoplankton debris by marine microorganisms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 6: 123-136.
- OGURA, N. — 1974. Molecular weight fractionation of dissolved organic matter in coastal seawater by ultrafiltration. *Mar. Biol.*, 24: 305-312.
- 1975. Further studies on decomposition of dissolved organic matter in coastal seawater. *Ibidem*, 31: 101-111.
- PARIS, D., W. STEEN, G. BAUGHMAN y J. BARNET. — 1981. Second-order model to predict microbial degradation of organic compounds in natural waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, (3): 603-609.
- PAYNE, W. — 1970. Energy yields and growth heterotrophs 1541. *Ann. Rev. Microbiol.*, 24: 17-52.
- SAUNDERS, G., K. CUMMINS, D. GAK, E. PIECZYŃKA, V. STRASKRABOVA y R. NETZEL. — 1980. Organic matter and decomposers, págs. 341-392. En E. O. La Creu and R. H. Lowe-McConnell (ed.): *The functioning of freshwater ecosystems*. Cambridge University Press, London.
- SHARP, J. — 1973. Size classes of organic carbon in seawater. *Limnol. Oceanog.*, 18: 441-447.
- SUÁREZ, M. y J. TRILLO. — 1977. Plan de saneamiento y reutilización de los vertidos de aguas de Barcelona. C.I.M.A. *Area agua*, 189-201.
- VAAATANEN, P. — 1980. Microbiological parameters for differentiating between coastal and open waters in Northern Baltic proper and the Gulf of Finland. *J. Appl. Bacteriol.*, 49: 455-462.
- WATSON, S., I. NOVITSKY, I. QUINBY y F. VALOIS. — 1977. Determination of bacterial number and biomass in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33: 940-946.
- WHEELER, J. — 1976. Fractionation by molecular weight of organic substances in Georgia coastal water. *Limnol. Oceanog.*, 21: 846-852.
- WILLIAMS, P. — 1975. Biological and chemical aspects of dissolved organic material in sea water, págs. 301-303. *Chemical Oceanography*. Ed. by J. P. Riley and G. Skirrow, vol 2, 2nd ed., 1975. Academic Press, London, New York, San Francisco.
- WRIGHT, R. y R. COFFIN. — 1984. Factors affecting bacterioplankton density and productivity in salt marsh estuaries, págs. 485-493. In *Current Perspectives in Microbial Ecology*. M. J. Klug and C.A. Reddy. American Society for Microbiology, Washington.