



SECRETARIA  
DE  
EDUCACION PUBLICA

INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

BIBLIOTECA  
I.P.N.  
DONATIVO



CICIMAR

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA MARINA

VARIACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE  
LA ESPONJA *Aplysina fistularis* (PORIFERA:APLYSINIDAE)  
Y SU RELACION CON LA FAUNA ASOCIADA

TESIS

que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

presenta:

MIGUEL BETANCOURT LOZANO

La Paz, B.C.S., 1992

Resumen	_____	
Abstract	_____	2
Introducción	_____	3
Productos naturales marinos	_____	3
Ecología química	_____	4
Los poríferos	_____	8
Antecedentes	_____	10
Farmacología de organismos marinos	_____	10
Antimicrobianos en esponjas y su relación con microorganismos	_____	10
Variación de los metabolitos secundarios	_____	14
Organismos asociados a las esponjas	_____	17
Justificación	_____	20
Objetivo	_____	22
Material y métodos	_____	23
Objeto de estudio	_____	23
Colecta y medición de la temperatura	_____	24
Pruebas de antibiosis	_____	26
Relación materia orgánica / minerales	_____	29
Determinación del elenco taxonómico	_____	30
Resultados	_____	33
Temperatura	_____	33
Relación materia orgánica / minerales	_____	33
Actividad antimicrobiana	_____	35
Controles con antibióticos comerciales	_____	40
Elenco taxonómico	_____	44

Relación peso seco y volúmen _____	47
Selección de los grupos principales _____	47
Selección del índice de importancia _____	50
Inquilinismo _____	50
Eventos reproductivos _____	52
Relación entre antibiosis y organismos asociados _____	55
Discusión _____	59
Conclusiones _____	73
Recomendaciones _____	74
Sugerencias para trabajos futuros _____	75
Glosario _____	76
Bibliografía _____	79

#### RELACION DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Area de estudio _____	25
Figura 2. Variación de la temperatura con respecto al tiempo _____	34
Figura 3. Relación materia orgánica minerales _____	34
Figura 4. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Vibrio</i> sp. _____	36
Figura 5. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Pseudomonas vesicularis</i> _____	37
Figura 6. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Pseudomonas cepacia</i> _____	37
Figura 7. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Flavobacterium</i> sp. _____	38
Figura 8. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Paracoccus</i> sp. _____	39

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE  
 CIENCIAS Y ARTES  
**BIBLIOTECA**  
 I.P.N.  
 DONATIVO

Figura 9.	Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Bacillus megaterium</i>	40
Figura 10.	Sensibilidad de la cepa <i>Vibrio</i> sp a los sensidiscos con antibióticos comerciales	41
Figura 11.	Sensibilidad de la cepa <i>Pseudomonas vesicularis</i> a los sensidiscos con antibióticos comerciales	41
Figura 12.	Sensibilidad de la cepa <i>Pseudomonas cepacia</i> a los sensidiscos con antibióticos comerciales	42
Figura 13.	Sensibilidad de la cepa <i>Flavobacterium</i> sp a los sensidiscos con antibióticos comerciales	42
Figura 14.	Sensibilidad de la cepa <i>Paracoccus</i> sp a los sensidiscos con antibióticos comerciales	43
Figura 15.	Sensibilidad de la cepa <i>Bacillus megaterium</i> a los sensidiscos con antibióticos comerciales	43
Figura 16.	Relación lineal entre el volumen y el peso seco de fragmentos de esponja	48
Figura 17.	Valores de importancia de los grupos de organismos asociados a las esponjas	48
Figura 18.	Grupos principales de organismos asociados a las esponjas en relación a la abundancia total	49
Figura 19.	Relación lineal entre los valores de importancia	51
Figura 20.	Variación temporal del inguulinismo	51
Figura 21.	Frecuencias de aparición de los grupos incidentales durante el periodo de estudio	53
Figura 22.	Frecuencias de aparición de los eventos reproductivos en los grupos principales durante el periodo de estudio	53
Figura 23.	Frecuencias de aparición de los eventos reproductivos en los grupos incidentales durante el periodo de estudio	55

CENTRO DE INVESTIGACIONES MARINAS  
**BIBLIOTECA**  
 I.P.N.  
 DONATIVO

Figura 24.	Correlación lineal entre la sensibilidad registrada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Vibrio</i> sp. y el nivel de inquilinismo presentado por los grupos principales _____	56
Figura 25.	Correlación lineal entre la sensibilidad registrada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Pseudomonas vesicularis</i> y el nivel de inquilinismo presentado por los grupos principales _____	57
Figura 26.	Correlación lineal entre la sensibilidad registrada por los fragmentos de esponja sobre la cepa <i>Pseudomonas cepacia</i> y el nivel de inquilinismo presentado por los grupos principales _____	57
Figura 27.	Variación en la actividad antibiótica global de la esponja <i>Aplysina fistularis</i> y del nivel de inquilinismo presentado durante el periodo de estudio _____	58
Figura 28.	Correlación lineal entre la actividad antibiótica global de la esponja <i>Aplysina fistularis</i> y el inquilinismo presente en la esponja _____	58
Figura 29.	Esquema simplificado de la producción de antibióticos en la esponja _____	70
Tabla 1.	Cepas de bacterias utilizadas _____	26
Tabla II.	Eventos reproductivos _____	54
Tabla III.	Correlaciones entre antibiosis e inquilinismo _____	56

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE  
 CIENCIAS MARINAS  
**BIBLIOTECA**  
 I.P.N.  
 DONATIVO

VARIACION DE LA ACTIVIDAD **ANTIMICROBIANA** DE LA ESPONJA *Aplysina fistularis* (PORIFERA: APLYSINIDAE) Y SU RELACION CON LA FAUNA ASOCIADA.

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE  
CIENCIAS MARINAS

**RESUMEN**

**BIBLIOTECA**

**I.P.N.**

**DONATIVO**

Se realizó un estudio con la esponja *Aplysina fistularis* para conocer si ésta es capaz de generar diferentes niveles de bioactividad a través de un ciclo anual, tratando de establecer alguna relación ecológica del fenómeno.

Se conoce que la esponja *Aplysina fistularis* produce sustancias con propiedades antibióticas, por lo que se estableció una metodología en la cual se realizaron colectas mensuales de individuos de esta especie en la Isla Espiritu Santo B. C. S., de mayo de 1989 a junio de 1990, registrandose la temperatura del ambiente. De esta manera se practicaron bioensayos de susceptibilidad antimicrobiana a partir de las esponjas colectadas y se evaluaron al mismo tiempo las densidades de los organismos asociados a las esponjas.

Los resultados de este estudio señalan correspondencia entre los niveles de actividad antibiótica que produce la esponja y el grado de inquilinismo (organismos que viven dentro o sobre la esponja). La esponja produce metabolitos de manera continua, pues siempre se encontró que poseía actividad antibiótica. Existe la probabilidad de que la esponja pueda modificar los mecanismos de producción de estas sustancias ante estímulos particulares. Se discute que la reproducción excesiva de los organismos asociados y la llegada de numerosos organismos a la esponja en un corto periodo de tiempo, puede ser un factor importante de estrés para la esponja, y representar a su vez un estímulo que desencadene la utilización de compuestos exclusivos que le permitan librar con éxito este tipo de situaciones ecológicas especiales.

VARIATION OF **THE** ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF **THE** SPONGE *Aplysina fistularis* (PORIFERA: APLYSINIDAE) AND ITS RELATIONSHIP WITH ASSOCIATED FAUNA.

**ABSTRACT**

A study of the sponge *Aplysina fistularis* was made to determine if it is able to produce different levels of bioactivity during an annual cycle, and to try to establish some ecological relations about this phenomenon.

It is known that the sponge *Aplysina fistularis* produces substances with antibiotic properties. Monthly collections of sponges was made at Isla Espiritu Santo, B. C. S. from May 1989 to June 1990. Water temperature measurements were made during the collecting. Bioassays of antimicrobial susceptibility were done with the specimens. The densities of the associated organisms were also recorded.

The results from this study show correspondence between antibiotic activity levels produced by the sponge and the inquilinism level (organisms that live on or in the sponge). Because antimicrobial activity was always found, I suggest that the sponge produces metabolites continuously. There exists the probability that the sponge is able to change the substance production mechanisms in the presence of a particular stimulus. I believe that excessive reproduction of the associated organisms and the arrival of large quantities of organisms at the sponge in a short time can be important stress factors for the sponge and a stimulus that starts the production of exclusive compounds that allows it to survive in this kind of special ecological situation.

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE  
CIENCIAS MARINAS  
**BIBLIOTECA**  
**I. P. N.**  
DONATIVO

## INTRODUCCION

### **Productos naturales marinos**

A pesar de que la investigación sobre productos naturales de origen marino ha tenido gran auge (Faulkner, 1977; Rinehart, 1988) y de que existen evidencias que indican la gran cantidad de organismos marinos que producen sustancias interesantes, tanto por su estructura química como por su actividad fisiológica (Premuzic, 1971; Baslow, 1977; Braekman y Dalozze, 1983), el conocimiento de productos bioactivos procede casi totalmente de los obtenidos a partir de organismos terrestres, debido tal vez a su disponibilidad (Faulkner y Andersen, 1974; Grant y Mackie, 1977; Tucker, 1985). Sin embargo, recientemente la biotecnología de organismos marinos ha hecho factible el aprovechamiento de grandes cantidades de productos alimenticios, fármacos, químicos industriales, materiales y combustibles (Riegle, 1982; Tucker, 1985; Rinehart, 1988).

Debido a que los organismos marinos habitan en un ambiente totalmente diferente al terrestre, sus metabolitos secundarios difieren en estructura (Cruz, 1984). Probablemente la mayor divergencia entre los dos ambientes radique en las altas concentraciones de compuestos iónicos en el mar, manifestándose con claridad cuando se toma en cuenta la gran cantidad de productos marinos halogenados que han sido encontrados (Faulkner, 1977; Cruz, 1984; Christophersen, 1985). A diferencia de los organismos terrestres, los organismos marinos soportan en general una presión mayor, variaciones menos drásticas de temperatura y



menor intensidad luminosa, lo que probablemente ocasione que ciertos compuestos considerados como inestables o raros en el ambiente terrestre, puedan existir en los organismos marinos (Faulkner y Andersen, 1974; Cruz, 1984).

### Ecología química

Anteriormente sólo se consideraba a los metabolitos secundarios como productos terminales del metabolismo (de deshecho o sin utilidad aparente), sin embargo actualmente se tienen las bases para atribuirles funciones adaptativas específicas y se sabe que pueden expresar la especificidad biológica en términos químicos (Cruz, 1988; Mieres, 1989).

Las interacciones entre los organismos y la caracterización de los agentes químicos que en ellas intervienen, es la base del estudio para el desarrollo de la ecología química. Así, un concepto introducido en ecología química es el de aleloquímico (Kittredge et al., 1974; Jackson y Buss, 1975; Buss, 1976). Este término ha sido subdividido básicamente en dos tipos funcionales (Whittaker y Feeny, *Cit. pos* Kittredge et al., 1973):

- Alomonas, las cuales confieren ventajas adaptativas al organismo que las produce, y:
- Kairomonas que proporcionan ventajas adaptativas al organismos que las percibe o recibe.

Al respecto, Grant y Mackie (1974) retornan también el concepto en dos categorías:

- Quimiorrecepción interespecífica, en la cual está involucrada la detección del alimento por los herbívoros, carroñeros y depredadores, reconocimiento de

depredadores y detección del hospedero por comensales y parásitos, y:

- Quimiorrecepción intraespecífica, donde se utiliza el término feromona para definir a la sustancia secretada al exterior por un individuo y captada por un segundo de la misma especie, en el cual se produce una reacción específica.

Kittredge et al., (1974) consideran que la comunicación química es la forma más primitiva de comunicación, fungiendo como la predecesora de la transmisión sináptica y recepción hormonal. De esta forma, proponen que la quimiorrecepción es el sistema estímulo-respuesta homólogo de la transmisión sináptica.

Desde el punto de vista evolutivo, sería poco probable la síntesis y almacenamiento de una sustancia con gasto energético y que ésta no le sea útil al organismo productor, por lo cual, es de esperarse que estos metabolitos proporcionen ventajas adaptativas a los organismos que las sintetizan (Thompson et al., 1983; Mieres, 1989). Por otro lado, la transferencia de compuestos bioactivos a través de la vía trófica también ha sido tema de interés (Kittredge et al., 1974), como sucede con la caulerpicina, compuesto tóxico (para vertebrados) del alga *Caulerpa*, que también se concentra en algunos herbívoros que inciden sobre ella y los protege contra depredadores (Doty y Aguilar, 1970). Este fenómeno también se da en ciertos invertebrados herbívoros que se alimentan de las algas *Laurencia* y *Dictyota*, los cuales adquieren las correspondientes defensas químicas al consumirlas (Hay et al., 1987a; Hay et al., 1987b). Otro ejemplo es el de ciertas especies de nudibranquios que son

microdepredadores de esponjas y que de alguna manera incorporan las toxinas de éstas en su pared corporal, adquiriendo así las mencionadas defensas químicas (Elvin, 1977; Faulkner y Ghiselin, 1983; Pawlik et *al.*, 1988).

En términos ecológico-evolutivos, la aparición de compuestos bioactivos no es un suceso raro en la naturaleza, sino una estrategia biológica que favorece la supervivencia ante un medio con múltiples interacciones, lo que provee a los individuos una ventaja selectiva en sus genes para transmitir dicha capacidad (Kittredge et *al.*, 1974; Mieres, 1989). La presencia y concentración de este tipo de sustancias en los organismos depende de varios factores como el modo de vida (móvil o sésil), su hábitat, el tipo de alimentación, los depredadores naturales, los parásitos, la presencia de estructuras esqueléticas protectoras, entre otras (Green, 1977b; Bakus et *al.*, 1986; Mieres, 1989). Sin embargo, en eventos evolutivos posteriores (coadaptación), pueden aparecer depredadores tolerantes a estas sustancias tóxicas, con lo cual la función de inhibidor de la alimentación por cierto tóxico, pasa a ser estimulante de la misma (por reconocimiento químico de la presa), por lo que esta tolerancia favorece a dichos depredadores con una gran cantidad de alimento disponible y sin competencia por el recurso (Grant y Mackie, 1974; Kittredge et *al.*, 1974).

Las estrategias contra la depredación, protectoras y defensivas, se presentan en distintas formas. Se tiene por ejemplo que hay especies de esponjas que secretan sustancias capaces de disolver el  $\text{CaCO}_3$  de sustratos coralinos y hacen

huecos dentro de los cuales resultan ser menos aparentes a sus depredadores. Cabe mencionar que esta estrategia, utilizada por esponjas del género *Cliona* para perforar conchas de moluscos, representa un problema para el ostricultivo en algunas regiones del mundo (Wells, 1959).

Otro mecanismo que evita la depredación sobre numerosas especies de organismos marinos es la producción de sustancias tóxicas. Las toxinas que intervienen son de distinta naturaleza química (proteínas, terpenos, alcaloides, etc.) y por ende son responsables de distintas bioactividades, y pueden incidir sobre el sistema nervioso, muscular, respiratorio y tegumentario de los posibles depredadores. En este aspecto, la conexión con la farmacología marina resulta ser de gran interés.

A diferencia de los ambientes terrestres, la coloración de advertencia (aposematismo) no parece ser una estrategia tan común, pues aunque a veces los colores son muy llamativos, como sucede en algunos peces venenosos, existen esponjas que demuestran una gran diversidad de coloraciones sin relación aparente con el contenido de toxinas (Bakus et al., 1986). Este campo está poco estudiado.

Para aquellos interesados en la ecología química marina, las observaciones de campo pueden ser un factor importante en el descubrimiento de las bioactividades de los organismos con los que trata y una segura guía en la búsqueda de productos químicos farmacológicamente interesantes (Clerezko, 1977). Si se analiza un poco este aspecto, un concepto ecológico que puede ayudar es el de la apariencia, definido como la vulnerabilidad de un organismo a ser descubierto por sus enemigos (Feeny, 1975, *Cit.*

pos Mieres, 1989). Hay ejemplos de invertebrados marinos que existen de manera conspicua en su medio, pareciendo accesibles a sus depredadores potenciales. Esto puede ser evidencia de que durante el tiempo que han evolucionado sus defensas químicas, los depredadores han "aprendido" mediante el ensayo-error a no alimentarse de ellos (Bakus, 1981). Como apoyo a lo anterior, se sabe que ciertas esponjas son capaces de mantener una tasa constante de liberación de sustancias tóxicas, e incrementar del 10 al 100 % esta actividad, si se produce una lesión de manera artificial (Koschmann, 1969; Walker et al., 1985).

#### Los poríferos

Las esponjas son consideradas como los animales multicelulares más primitivos (aunque alguna vez se llegó a proponer que eran colonias de organismos unicelulares altamente especializados). No presentan órganos definidos y sus procesos fisiológicos son llevados a cabo por las células en conjunto, las cuales a su vez presentan distintos grados de especialización (De Laubenfels, 1957; Bergquist, 1978). Sus propiedades ecológicas van desde la habilidad de resistir estrés medioambiental extremo (Kinne, 1977; Guido, 1985; Alcolado, 1986), una alta capacidad de regeneración de tejidos (Bergquist, 1978), la presentación de mecanismos de defensa químicos y/o estructurales (Kinne, 1977; Bergquist, 1978) y su alta eficiencia metabólica debida a los bajos requerimientos energéticos junto con una excepcional capacidad de retención de partículas suspendidas (Kinne, 1977).

El diseño biológico que estos organismos poseen es sumamente eficiente. Este consiste básicamente en el bombeo, a bajas presiones, de grandes volúmenes de agua a través de sus tejidos, contando con una intrincada red de poros, ostiolos, canales y cámaras que conducen el agua desde la superficie inhalante hasta la abertura exhalante denominada ósculo, favoreciendo así los mecanismos de toma de alimento y de eliminación de desechos (Bergquist, 1978). Para dar una idea del éxito evolutivo de este Phylum, basta mencionar que el primer registro paleontológico de los poríferos data de la primera parte del período Cámbrico de la Era Paleozoica (hace aproximadamente 550 millones de años), y existen evidencias de que han desempeñado desde entonces un importante papel en la energética de los ambientes marinos bénticos (Alcolado, 1986; Wood, 1990).

## ANTECEDENTES

### Farmacología de organismos marinos

En estudios recientes de farmacología marina, se ha encontrado un amplio espectro de bioactividades específicas a partir de las sustancias generadas por organismos marinos. Estas pueden funcionar como agentes que inhiben la movilidad del esperma, antiinflamatorios, anticancerígenos, antivirales, antifúngicos, cardiotónicos, antitumorales, anticoagulantes, antihelmínticos, hipoténsicos, citotóxicos y componentes inmunoreguladores. Actualmente ya se encuentran en uso algunos fármacos de origen marino (Cruz, 1984; Tucker, 1985; Marderosian y Liberti, 1988).

Dentro de este campo, la búsqueda de antimicrobianos de origen marino se perfila como una de las prioridades, debido al surgimiento de cepas microbianas resistentes a los antibióticos tradicionales, conformándose como un problema en medicina (Orduña, 1980; Cruz, 1984; Green et al., 1985).

### Antimicrobianos en esponjas y su relación con microorganismos

El Phylum Porifera se ha caracterizado, dentro de los invertebrados marinos, por poseer actividades antibióticas de interés. Se la atribuye a Nigrelli et al., (1959) el inicio del estudio químico y farmacológico de esponjas marinas, cuando separan un compuesto antibiótico del extracto crudo en éter de la esponja *Microciona prolifera*, al que denominaron "ectionina". La actividad del extracto resultó ser efectiva contra bacterias Gram positivas, Gram negativas, *Mycobacterium* sp. y *Candida albicans*. Con este antecedente se marcó la pauta para que

numerosos investigadores continuaran con la búsqueda de antimicrobianos a partir de esponjas marinas (Burkholder, 1973; Green, 1977a; 1977b; Bergquist y Bedford, 1978; Orduña, 1980; Rinehart et al., 1981; King, 1982; Bolaños y Garduño, 1984; McCaffrey y Endean, 1985; Lozano, 1988; Bakus et al., 1985; Green et al., 1985). Aunado a esto, se calcula que existen aproximadamente 5,000 especies de esponjas (Bergquist, 1978), lo que indica el enorme potencial que ofrecen estos organismos en investigaciones de este tipo.

El papel que desempeñan los antimicrobianos en las esponjas da lugar a diversas opiniones y preguntas: ¿Son los agentes antimicrobianos resultado de la actividad metabólica de la esponja, o su origen es debido a las bacterias asociadas que presenta? Jakowska y Nigrelli (1960), con base en estudios experimentales concluyen que las esponjas producen por si solas las sustancias antibióticas, descartando la idea de que el fenómeno se deba a las bacterias que tienen asociadas. Wilkinson (1978 a,b) encuentra que hay una estrecha relación entre las esponjas y bacterias endosimbiontes, las cuales son diferentes de las bacterias del medio circundante. Sin embargo Thompson et al., (1983) aunque no eliminan del todo la posibilidad de que los metabolitos bromados presentes en *Aplysina fistularis* tengan un origen bacteriano, al realizar experimentación sobre cultivos de bacterias aisladas de la esponja no encontraron dichos metabolitos.

Se ha reportado que la eficiencia de ciertas esponjas en la filtración de bacterias suspendidas puede ser hasta del 90 %



(Reiswig, 1975; Wilkinson, 1978), mientras que Reiswig (1971, *Cit. pos* Wilkinson y Garrone, 1980) considera que la retención de materia orgánica particulada es insuficiente para mantener el metabolismo de una especie de *Verongia* (= *Aplysina*; Bergquist, 1978), y sugiere que las bacterias asociadas son intermediarias para la asimilación del carbón orgánico particulado retenido en la esponja. Retornando esta idea, Wilkinson y Garrone (1980), proponen que la esponja *Chondrosia reniformis* tiene bacterias simbiotes que toman carbono orgánico disuelto y lo transfieren al hospedero, lo cual puede explicar la sobrevivencia de ciertas esponjas en áreas con bajos niveles de carbón orgánico particulado.

A primera vista parece contradictorio que por un lado se reporten para las esponjas altas tasas de filtración de bacterias y por otro lado se proponga que hay simbiosis especializadas de bacterias con esponjas, como las que se dan entre corales y zooxantelas. Frost (1980) encuentra una diferencia en las tasas de filtración de la esponja dulceacuícola *Spongilla lacustris*, cuando se le proporcionan levaduras y bacterias; indica una notable habilidad para seleccionar células bacterianas de *Aerobacter aerogenes* en altas concentraciones de la levadura *Rhodotorula glutinis*. Wilkinson et al., (1984) realizan experimentación, donde con microscopía electrónica y células bacterianas marcadas con tritio, determinan un mecanismo específico de discriminación entre las bacterias simbiotes y otras bacterias. Proponen que a nivel de las células del pinacodermo hay un reconocimiento químico de las bacterias simbiotes (generalmente encapsuladas), las cuales pueden pasar a

través de la esponja y salir por la corriente exhalante, mientras que otro tipo de bacterias son retenidas por la esponja en grandes proporciones (cerca del 90 %) y presumiblemente fagocitadas por los coanocitos y pinacocitos. Se menciona que las células algales "blindadas" con celulosa o pared silicea posiblemente pueden pasar sin ser digeridas por algunas esponjas (Reiswig, 1971, *Cit. pos* Wilkinson et al., 1984).

Wilkinson (1978a) propone que el número de bacterias asociadas con las esponjas es proporcional a la densidad del mesohilo de las mismas. Wilkinson (1978b) estudiando tres especies de esponjas taxonómicamente distantes, encuentra en ellas bacterias simbioses fenotípicamente similares, que difieren de las bacterias que encuentra en el agua circundante. Propone que estos simbioses son anaerobios facultativos, que metabolizan productos de deshecho y ayudan a las esponjas a eliminarlos, además de que dichas bacterias se agregan en colonias mucoides alrededor de los canales inhalantes y probablemente facilitan la captación de materia orgánica disuelta y oxígeno del agua.

También Wilkinson (1978c) describe la manera en que se dan *in situ* las asociaciones de ciertas esponjas con cianobacterias y encuentra que la mayoría de estos simbioses presentan vida libre en el mesohilo, encontrándose agregados importantes de estos microorganismos en los cianocitos (vacuolas especializadas de los arqueocitos), mientras que otras pocas cianobacterias están presentes en las vacuolas digestivas. Dicho autor considera que la digestión de estos simbioses es un fenómeno raro y en caso de

darse no contribuye significativamente como nutrimento. Al respecto, Alcolado (1986) sugiere que algunas esponjas que presentan simbiosis con algunas bacterias y/o microalgas, aprovechan a las células que se mueren o a las que se reproducen en exceso, mediante la fagocitosis por los amebocitos.

El papel de los antimicrobianos en las esponjas ha sido tema de interés. Burkholder (1973) expone que las sustancias antibióticas inactivan los microorganismos retenidos por los sistemas de filtración de las esponjas, para su posterior fagocitosis y digestión. Por otra parte, Mieres (1989) propone que el uso de aglutininas les sirve para incrementar la eficiencia en el consumo de los filtrados microbianos. Green (1977a) propone que los antibióticos encontrados en las esponjas pueden ser usados como mecanismos ofensivos y/o defensivos, ofensivos cuando intervienen en la alimentación de la esponja y defensivos al suponer que dichas sustancias previenen a las esponjas de infecciones causadas por microorganismos patógenos.

#### Variación de los metabolitos secundarios

Se conoce que ciertos organismos marinos pueden presentar variaciones espaciales y temporales, cualitativa y cuantitativamente en sus diversos metabolitos secundarios. Almodovar (1964) al estudiar el alga *Laurencia obtusa* encuentra un máximo de actividad antibiótica contra *Escherichia coli* en los meses de invierno, mientras que durante algunos meses de verano no encuentra actividad. Por otro lado Yasumoto et al. (1966) encuentran una marcada variación estacional en el contenido de saponinas en la estrella de mar *Asterias amurensis*, se conoce que

las saponinas en equinodermos presentan actividad antibiótica debido a sus propiedades tensoactivas.

Diversos investigadores han intentado conocer si existe una variación temporal en la actividad antibiótica de las esponjas. Es a partir de estas propuestas que se han formulado hipótesis que implican a la temperatura como la causa directa o indirecta de esta variación.

Nigrelli et *al.*, (1959) estudiando a la esponja *Microciona* prolifera encuentran que la producción del metabolito cctionina puede decrecer en los meses fríos, proponen que este compuesto ejerce algún papel en la ecología bioquímica de la esponja y que su variación puede ser debida a su ciclo metabólico natural o a las condiciones ambientales. Bajo esta perspectiva Bakus et al. (1985) y Green et al., (1985) en estudios realizados con esponjas de aguas mexicanas (Pacífico, Golfo de México y Caribe), proponen que existe una variación estacional en los niveles de actividad de las propiedades antimicrobianas, dado que encontraron que un alto porcentaje de esponjas colectadas en la época cálida del año presentó actividad antibiótica, mientras que las esponjas obtenidas en la época templada no presentaron gran frecuencia de antibiosis. Lozano (1988) realizó pruebas de selección antimicrobiana en esponjas del Golfo de California y del Caribe, aportando datos que apoyan los trabajos anteriormente citados, donde encontró que en el Caribe el porcentaje promedio de especies con actividad antimicrobiana disminuyó 1.55 veces de la temporada cálida a la templada.

La variación en la actividad registrada puede tener varias explicaciones. Las diferencias pueden deberse a que los

compuestos son extraídos de distinta manera, con diferentes solventes o bajo distintas condiciones (Bergquist y Bedford, 1978; Thompson et *al.*, 1983). La utilización de un limitado número de solventes puede dar como resultado el que no se abarque el espectro de polaridades que puedan tener los compuestos bioactivos de las esponjas y, como consecuencia, no se registre su actividad. También puede influir en los resultados, el hecho de que las esponjas provengan de distintas profundidades (Thompson, 1985); así como también la manipulación y conservación de las muestras colectadas puede ocasionar degradación biológica y fotoquímica o alterar la composición de los compuestos (Rinehart, 1988). Otra explicación es que los compuestos estén presentes en cantidades tan pequeñas que no puedan ser detectados por la sensibilidad de los bioensayos de prueba, o que la misma naturaleza química de los compuestos no permita detectar su actividad por los métodos convencionales. Se desconoce la aportación que puedan tener los microorganismos asociados en la producción de metabolitos (Thompson et *al.*, 1983; McCaffrey y Endean, 1985). Sin embargo Green et *al.*, (1985) consideran que parte de esta variación pueda ser debida a diferencias estacionales en la producción de metabolitos y discuten que el incremento de agentes antimicrobianos en la temporada cálida puede tener distintas explicaciones. Una de ellas propone que el incremento en la temperatura tiene un efecto indirecto, pues ocasiona un aumento de las bacterias en el medio (como resultado de la alta producción primaria), así la incidencia de antibacterianos surge como una respuesta selectiva al incremento

de bacterias potencialmente patógenas para las esponjas. No descartan el efecto directo de la temperatura sobre las esponjas, ya que se conoce que altas temperaturas incrementan las tasas metabólicas de los organismos, lo cual puede desencadenar un incremento en la producción de metabolitos antimicrobianos, lo que se conoce como efecto  $Q_{10}$ . Michel-Reynoso (1986) al estudiar la variación estacional de la actividad antimicrobiana en esponjas del Pacífico mexicano, encuentra semejanzas en el comportamiento de los índices de actividad entre *Aplysina* sp. y *Zygomycete parishii*, y propone que los factores del medio o el ciclo metabólico, intervienen de igual manera en las dos especies, en la producción de sustancias bioactivas.

Por otro lado, se han realizado comparaciones de los porcentajes de esponjas activas en distintas localidades estudiadas (Green et al., 1985; Lozano, 1988) y se ha propuesto que hay una mayor proporción de esponjas activas en latitudes cercanas al Ecuador que hacia los polos (Bakus y Green, 1974). Sin embargo Bergquist y Bedford (1978) encuentran que especies de zonas templadas presentan un mayor porcentaje de extractos con actividad, en comparación con especies tropicales y manifiestan que la actividad antimicrobiana de las esponjas es común, sin estar relacionada directamente con la latitud o el hábitat de los organismos.

#### Organismos asociados a las esponjas

Diversos investigadores han estudiado a los organismos que viven en relación con las esponjas, los cuales pueden llegar a constituir una comunidad ecológica (Westinga y Hoetjes, 1981).

Pearse (1934) realizó un estudio en cinco especies de esponjas reportando los animales que en ellas se encontraban y menciona que cada esponja parecía estar ocupada en toda su capacidad, siendo su densidad aparentemente influenciada por la profundidad y por el tamaño de la esponja. Dauer (1974) estudió la fauna de poliquetos asociados con las esponjas en el Golfo de México, encontrando que la abundancia de aproximadamente el 80% de las especies de poliquetos era baja y rara vez se encontraban en varias especies de esponjas. También se han encontrado interacciones depredador-presa entre cangrejos y ofiúridos que ocupan a las esponjas como sustratos comunes (Wurzian, 1977). Amoureux et al., (1980) reporta 58 especies de poliquetos que habitan en la esponja *Fasciospongia cavernosa*. Por otro lado, Biernbaum (1981) estudió los anfípodos asociados a cuatro especies de esponjas, encontrando variaciones estacionales en la abundancia de éstos. Por su parte, Westinga y Hoetjes (1981) compararon la fauna encontrada en esponjas de la especie *Spherospongia vesparia* en diferentes sitios y profundidades, encontrando que la composición fue constante y proponen la presencia de diversas interacciones entre el hospedero y sus habitantes y entre los mismos habitantes.

También se ha encontrado que las esponjas presentan distintos tipos de asociaciones ecológicas específicas, donde la relación puede ir desde una asociación casual hasta la búsqueda activa del hospedero (Dales, 1971), y en donde el simbiote ha desarrollado respuestas altamente especializadas y específicas a estímulos físicos y químicos, lo cual sirve para mantener la asociación (Davenport, 1955). Forbes (1966) reporta un

comensalismo entre la ostra *Ostrea permollis* y la esponja *Stelletta grubii*, demostrando que la ostra depende de la esponja para sustrato y protección, además que el agrupamiento de las ostras favorece su reproducción y las larvas se fijan en mayor cantidad sobre la esponja que sobre otros sustratos. Se ha reportado que diversos organismos pueden localizar a las esponjas hospederas por medio de quimiotaxis: Elvin (1977) experimentó con un nudibranquio que se alimenta de esponjas, estableciendo que en la localización de la presa intervienen agentes químicos; Frith (1977) propone que ciertas esponjas producen un factor químico que actúa como atrayente sobre ciertas especies de anfípodos; Peattie y Hoare (1981) encuentran evidencias que sugieren la atracción química de una especie de caprélido por parte de la esponja *Halichondria panicea*; Crocker y Reiswig (1981) reportan que ciertas especies de zoántidos están restringidas a vivir sobre la superficie de esponjas, proponiendo que el reconocimiento del hospedero por las larvas involucra respuestas táctiles y quimiosensoriales, y Pawlik (1983) quien demuestra que el poliqueto *Branchiosyllis oculata* es capaz de alimentarse de esponjas, sugiriendo que la colonización de las esponjas es por medio de larvas quimiosensitivas, y que los poliquetos que se desarrollan en la esponja están protegidos de potenciales predadores debido a la naturaleza tóxica de las esponjas que colonizan.



## JUSTIFICACION

El uso de los productos naturales es tan antiguo como el hombre mismo (Der Marderosian y Liberti, 1988) y se calcula que cerca de la mitad de los medicamentos modernos tienen origen natural o son derivados de moléculas naturales (Braekman y Dalozze, 1983). Sin embargo, el acervo genético que el mar ofrece ha sido poco explotado en este aspecto, enfocándose la mayor parte de la búsqueda hacia los metabolitos secundarios aislados de microorganismos y plantas terrestres (Der Marderosian, 1969; Faulkner y Andersen, 1974; Riegle, 1982; Dixon, 1985; Der Marderosian y Liberti, 1988). Aunado a esto, existen evidencias que señalan una importante disminución en el descubrimiento de nuevas sustancias activas, a pesar de la intensa búsqueda (Braekman y Dalozze, 1983).

La exploración y utilización de los recursos marinos es actualmente una realidad. De esta manera, la farmacología y la biotecnología marina tienen la oportunidad de desarrollarse ampliamente debido a que la diversidad biológica de los mares incrementa la posibilidad de encontrar nuevos productos de interés para el hombre. Son numerosas las publicaciones que ponen de manifiesto este hecho (Der Marderosian, 1969; Scheuer, 1973; Grant y Makie, 1974; Baslow, 1977; Chapman, 1979; Hashimoto, 1979, Tucker, 1985).

La ecología química es el medio adecuado para vincular el estudio biológico con el desarrollo de las tendencias actuales de investigación, como son la farmacología y la biotecnología marina. Se propone al mar como una fuente alternativa de

fármacos, entre otras razones, debido a que la mayoría de las enfermedades actuales aún esperan tratamiento satisfactorio y al surgimiento de cepas microbianas resistentes (Braekman y Dalozé, 1983). Por otro lado, la investigación biotecnológica se basa principalmente en sustancias de alto valor agregado, como pueden ser los insecticidas, repelentes de tiburones o productos antiepibióticos de origen natural. En este nivel los estudios de las propiedades específicas de los metabolitos encontrados en los organismos marinos, pueden dar indicios de la factibilidad de su aprovechamiento como productos de interés comercial y el hecho de que aproximadamente el 90% de las especies vivientes se encuentren en el mar, sostiene la promesa de obtener una gran cantidad de estructuras químicas novedosas, con lo cual los estudios encaminados en este sentido están ampliamente justificados.

Un aspecto no menos importante es el de estudiar la relación ecológico-evolutiva en la producción de metabolitos secundarios presentes en los organismos marinos, los cuales tienen funciones específicas debido a sus propiedades bioactivas.

## OBJETIVO

El presente trabajo es una contribución al conocimiento de la Ecología Química en la esponja *Aplysina fistularis* para inferir si ésta es capaz de generar diferentes niveles de bioactividad a través de un ciclo anual (1989-1990), discutiendo algunas relaciones ecológicas del fenómeno.

El objetivo es conocer si la actividad antimicrobiana que presenta la esponja *Aplysina fistularis*, sobre bacterias marinas, tiene relación directa con la variación de la temperatura ambiental. Asimismo, se pretende evaluar si los niveles de antibiosis presentados por la mencionada esponja tienen alguna relación con el grado de inquilinismo.

## MATERIAL Y METODOS

### Objeto de estudio

El material biológico se obtuvo efectuando colectas mensuales de individuos de la esponja *Aplysina fistularis*, en una estación permanente. Es conocido que esta especie tiene actividad antibiótica. Asimismo, se efectuaron bioensayos de susceptibilidad antimicrobiana con fragmentos de los individuos colectados (Michel-Reynoso, 1986; Lozano, 1988) y se evaluaron las densidades de los organismos asociados a las esponjas. Mediante este proceso se pudieron obtener datos comparativos de los niveles de bioactividad que presentó la esponja y de las densidades de organismos asociados.

La selección de la especie de esponja con la que se trabajó fue hecha tomando en cuenta lo establecido por Clerezco (1977), quien considera de importancia las observaciones ecológicas de campo como son la depredación, asociaciones y hábitat específico que pueden ser indicadores de la naturaleza química de los organismos. La esponja en cuestión presenta evidentes características antidepredatorias, antiepibióticas y antimicrobianas. Además es conocido que las especies del género *Aplysina* producen sustancias que tienen propiedades bioactivas de interés (Faulkner, 1977; Walker et al., 1985; Michel, 1986; Cruz, 1988; Keer, 1988; Mieres, 1989).

Las características diagnósticas de la esponja son las siguientes: Su forma es lobulada y masiva hacia la base; los lóbulos se encuentran fuertemente unidos hacia la base y son generalmente cilíndricos, localizándose un ósculo en la parte

superior de cada lóbulo. Su consistencia es firme o compacta, muy poco compresible, mientras que la superficie es fuertemente conulosa (no hispida). El ectosoma se desprende fácilmente y presenta una coloración morada en vivo, oscureciéndose cuando se fija en alcohol y siendo su grosor no mayor de 100  $\mu\text{m}$ . El endosoma presenta numerosos canales y tiene un color amarillo mostaza en vivo, mientras que en alcohol es ligeramente menos pigmentado que el ectosoma. La malla es irregular, principalmente poligonal a rectangular. Las fibras son color ámbar y están compuestas aproximadamente por 50-70 % por la médula. Malla (0.5-1.5 mm), médula (50-117  $\mu\text{m}$ ) y fibras (74-210  $\mu\text{m}$ ).

#### Colecta y medición de la temperatura

La colecta de las esponjas se realizó en el complejo Insular Espíritu Santo - La Partida en la Bahía de La Paz, B.C.S., área localizada entre los 24° 24' y 24° 36' Latitud Norte y los 110° 17' y 110° 25' Longitud Oeste. El sitio de muestreo denominado Ensenada Grande está indicado en la Figura 1. La elección del sitio de muestreo fue hecha en base a prospecciones en la zona, a través de las cuales se cercioró que la abundancia de esponjas, de la especie propuesta, era adecuada para soportar muestreos mensuales y que los organismos estuvieran en buenas condiciones, tales como turgencia, color y no tener sus fibras expuestas (observaciones personales).

Las colectas se realizaron mensualmente de mayo de 1989 a junio de 1990 mediante buceo autónomo. En cada colecta se midió la temperatura del agua. El sitio de muestreo siempre fué el mismo, con una profundidad aproximada de 5 m, y siempre se trató

de coleccionar individuos de tamaño similar (entre 10 y 15 cm de altura), procurando que las condiciones de exposici3n a la luz y sustrato, fueran parecidas. Una vez localizado el organismo deseado, se procedia a desprenderlo entero del sustrato, tratando de no daaararlo, pues esto podria ocasionar que la esponja liberara sustancias bioactivas (Koschmann, 1969; Walker et al., 1985), lo que afectaria los resultados de las pruebas de antibiosis.

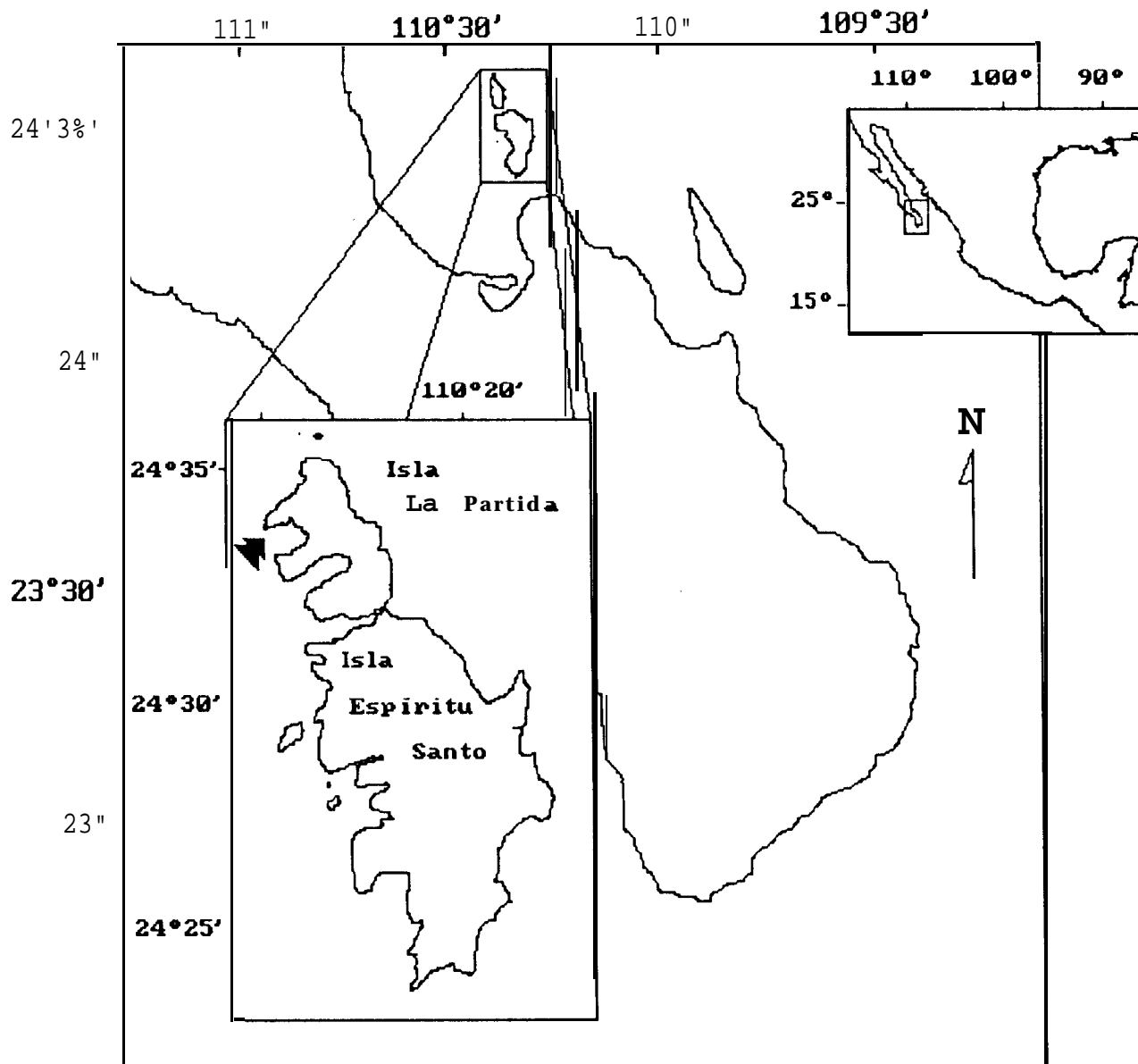


Figura 1. Localizaci3n del sitio de estudio.

Una vez en la embarcación, se eliminó por escurrimiento (sin exprimir) la mayor cantidad posible de agua a las esponjas. Para tratar de asegurar que las bioactividades registradas en las pruebas de antibiósisis provinieran de las esponjas, éstas se limpiaron de todos los macroorganismos que suelen acompañarlas. Posteriormente se guardaban en bolsas plásticas. Las esponjas se transportaron al laboratorio sobre hielo, donde se congelaban.

Es conveniente mencionar que los lotes de esponjas utilizadas para las pruebas de antibiosis y las de determinación del elenco taxonómico, fueron distintos.

#### Pruebas de antibiosis

Se utilizaron seis cepas de bacterias marinas (Tabla 1). Cuatro de ellas provinieron del cepario del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) y las restantes se aislaron en el laboratorio de Biología Experimental del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). Las cepas se mantuvieron en tubos de ensaye con agar marino 2216 inclinado y en refrigeración (4° C), con resiembras cada tres meses.

Tabla 1. Cepas de bacterias utilizadas.

	CLAVE	GRAU
<i>Pseudomonas vesicularis</i>	AL	(-)
<i>Bacillus megaterium</i>	M4P1	(+)
<i>Flavobacterium</i> sp	M5P4	(-)
<i>Vibrio</i> sp	MMP6	(-)
<i>Paracoccus</i> sp	CRA2c	(-)
<i>Pseudomonas cepacia</i>	MAG	(-)

El medio de cultivo utilizado en todos los bioensayos fué Agar Marino 2216 (Zobell, 1941) (Nota: El medio líquido se prepara de la misma forma pero no se le agrega agar). La fórmula se indica a continuación :

PEPTONA	5.0 g
EXTRACTO DE LEVADURA	1.0 g
AGAR	15.0 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.8 g
KCl	0.55 g
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	1.8 g
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3.24 g
NaHCO <sub>3</sub>	0.16 g
NaCl	35.1 g
AGUA DESTILADA	1.0 l

Al inicio de la serie de bioensayos se preparó un preinóculo en medio líquido para cada cepa y se incubó por 24 h a 35°C (temperatura que permitía el mejor crecimiento de las cepas).

Por otro lado se esterilizaban 10 ml de agar marino 2216 en tubos de ensaye y se vaciaban en cajas de Petri de 10 cm de diámetro. Esto permitió estandarizar, para los bioensayos de susceptibilidad, una capa de agar de un mismo espesor ya que se sabe que éste es uno de los factores que pueden modificar la difusión de las sustancias sobre el agar (Bradshaw, 1979; Koneman et al., 1983; Rios et al., 1988; Washington, 1988).



De las esponjas congeladas, se obtuvieron fragmentos cilíndricos de 1 cm de diámetro y 0.5 cm de altura. Con la finalidad de que los fragmentos siempre fueran de la misma forma y tamaño, este procedimiento fue realizado con la ayuda de una jeringa cortada de su parte anterior y utilizada a manera de nucleador. Se utilizaron cuatro esponjas por mes, extrayéndose dos fragmentos de cada organismo los que se probaron con cada una de las seis cepas de bacterias mencionadas.

Posteriormente se inoculó 1 ml del preinóculo en las cajas de Petri con medio sólido (aproximadamente  $1 \times 10^8$  cel/ml), esparciéndose la suspensión bacteriana con un hisopo estéril.

Los fragmentos de la esponja se colocaron sobre el agar marino, calculándose que no se presentaran sobreposiciones en los halos de inhibición y se procuró que éstos quedaran bien adheridos al agar. Dichos fragmentos siempre se colocaron de manera que el exopinacodermo (superficie de la esponja), estuviera en contacto con el agar.

Las cajas de Petri se colocaron en el refrigerador durante 40 min, con el fin de retardar el crecimiento microbiano mientras la sustancia antibiótica se difundía sobre el agar. Acto seguido, las cajas de Petri se introdujeron en la incubadora a una temperatura de 35 °C. El registro de los resultados se obtuvo a las 24 h.

Se midieron los diámetros de los halos de inhibición (en cm) y debido a que algunas veces dichos halos presentaron formas elípticas, se registraron dos medidas por cada uno, diámetro mayor y diámetro menor, y se calculó la media.

Después de medir los halos de inhibición, los fragmentos de esponja se sacaron de las cajas de Petri y fueron secados en una estufa a 70 - 80 °C, hasta obtener peso constante (peso seco), registrando el peso individual para cada fragmento.

Por otro lado, se registraron zonas de inhibición del crecimiento microbiano de sensidiscos con antibióticos comerciales. Los antibióticos comerciales utilizados (marca DIFCO) fueron Cloranfenicol (30 µg), Nitrofurantoina (300 µg), Novobiocina (30 µg) y Estreptomina (10 µg). Dichos controles permitieron evaluar si existía variación en la susceptibilidad de los microorganismos prueba ante la acción antibiótica.

#### Relación materia orgánica / minerales

De manera separada se procedió a obtener otros fragmentos de las mismas esponjas, los cuales también fueron secados y pesados individualmente. Posteriormente los fragmentos se calcinaron en una mufla (550-600°C) para determinar el contenido de minerales, y por diferencia con el peso seco, calcular el peso seco libre de cenizas, que corresponde a la materia orgánica del fragmento. Estos datos permitieron hacer un seguimiento mensual de la relación materia orgánica / minerales. Asimismo, una regresión lineal simple entre peso seco y materia orgánica de estos fragmentos, puede ayudar a calcular la materia orgánica presente en los fragmentos que son utilizados en las pruebas microbiológicas. Estos datos son de utilidad en caso de considerar el índice de inhibición propuesto por Jakowska y Nigrelli (1960).

## Determinación del elenco taxonómico

La colecta de las esponjas para la determinación taxonómica de los inquilinos asociados, se realizó con las mismas consideraciones establecidas para aquellas que se utilizaron en las pruebas de antibiosis. Sin embargo, en este caso se tuvo especial cuidado en que todos los organismos asociados con la esponja fueran colectados con la muestra. Con este propósito, las esponjas se dispusieron individualmente en bolsas de plástico en el momento de su colecta.

Una vez fuera del agua, las esponjas se colocaron por separado en frascos de vidrio y se les agregó alcohol etílico al 70 % para su conservación.

En el laboratorio cada esponja se cortó en láminas delgadas (0.5-1 cm), las cuales se examinaron en un microscopio estereoscópico con la finalidad de separar los organismos asociados, que estaban presentes dentro y sobre la superficie de la esponja (este proceso fue aplicado a dos esponjas por mes). Todos los organismos encontrados se pasaron al alcohol en el que estaba inmersa la esponja y se procedió a filtrar la totalidad del líquido con un tamiz de 500  $\mu\text{m}$  de luz, en donde solamente quedaba retenida la macrofauna que se utilizó para la identificación (McIntyre, 1969 *Cit. pos* Parsons et al., 1984).

Se determinó el peso húmedo de todos los individuos obtenidos en cada esponja y posteriormente se separaron en grupos según su categoría taxonómica. El nivel al cual se llegó en la identificación de los organismos fue determinado hasta lo que se consideró como grupos funcionales, es decir, aquellos que presentan características ecológicas similares al incidir sobre

las esponjas y fueran cuantificables. Por otro lado, también se registraron los meses en que cada uno de los grupos presentaba incidencia de hembras ovígeras o de estructuras reproductoras.

En cada uno de los grupos obtenidos se contó el número de individuos y se calculó su peso húmedo; éste último fue calculado en base al porcentaje de cobertura, obtenido en una caja de Petri con papel milimétrico ( $\text{mm}^2$ ), en relación al peso húmedo de la muestra total.

Por otro lado, los cortes de esponja se secaron en una estufa ( $90\text{ }^\circ\text{C}$ ) hasta obtener el peso constante. También se midió el volumen de la esponja por el método de desplazamiento de agua.

Con esta información se pudieron obtener las siguientes relaciones de densidad:

$$\text{a) Abundancia} = \frac{\text{Numero de organismos}}{\text{Peso (o volumen) de esponja}}$$

$$\text{b) Biomasa} = \frac{\text{Peso de organismos}}{\text{Peso (o volumen) de esponja}}$$

Estos atributos permitieron estandarizar los grados de inquilinismo que se presentaron a lo largo del año de muestreo, sin importar el tamaño relativo de las esponjas. Se utilizaron los índices ecológicos  $IV_o$  y  $IV_B$  propuestos por Zabi (1984), para comunidades bénticas (valores de importancia) :

$$\sum_{i=1}^n \text{I.Vo} = A + F + D$$

$$\sum_{i=1}^n \text{I.V}_B = A + F + D + B$$

Donde :

A = Abundancia relativa (%)

F = Frecuencia relativa (%)

D = Dominancia relativa (%)

B = Biomasa relativa (%)

La literatura empleada en la identificación de los grupos, fue la siguiente: Caso (1961), Gosner (1971), Smith y Carlton (1975), Brusca (1980), De León-González et al. (1989), Bastida-Zavala (1991) y García-Madrigal (1991).

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE  
CIENCIAS MARINAS  
**BIBLIOTECA**  
**I. P. N.**  
DONATIVO

## RESULTADOS

### Temperatura

El registro de la temperatura superficial del agua en el sitio de muestreo presentó una variación definida por aguas cálidas en los meses de julio a noviembre de 1989, con un máximo en septiembre (30 °C). En noviembre y diciembre la temperatura fue de 26 y 20 °C respectivamente, resultando este cambio el más pronunciado a lo largo del estudio. Las temperaturas más bajas se presentaron a partir de diciembre de 1989, hasta marzo de 1990, donde el menor registro se obtuvo en febrero (18 °C). A partir de esta fecha se observó nuevamente un incremento en la temperatura (**Fig. 2**). Debido a que la profundidad a la que se colectaron las esponjas fue somera (5 m), no se observaron diferencias entre la temperatura superficial y la del fondo. Cabe señalar que durante el periodo de estudio, el año de 1990 fue más cálido que el anterior; basta mencionar que en mayo de 1989 la temperatura fué de 21 °C, mientras que en el mismo mes de 1990 se registraron 24.5 °C.

### Relación materia orgánica / minerales

No se observó durante el periodo de estudio una variación significativa en la relación materia orgánica / minerales (**Fig. 3**). En general, los promedios mensuales de esta relación se presentaron entre los valores de 4 y 5, mientras que las desviaciones estándar no permiten diferenciar un mes con respecto a otro.

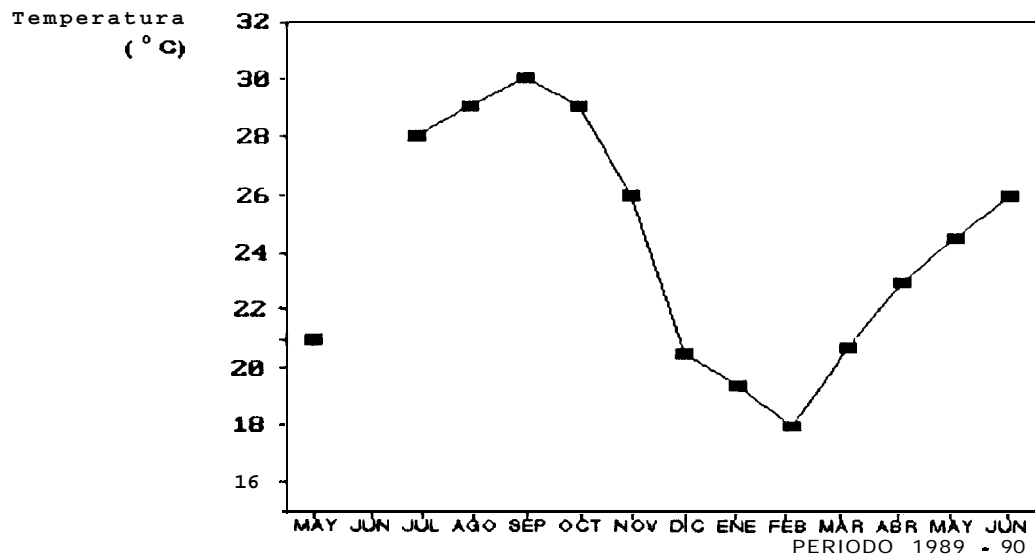


Figura 2. Variación de la temperatura, con respecto al tiempo, en el sitio de estudio.

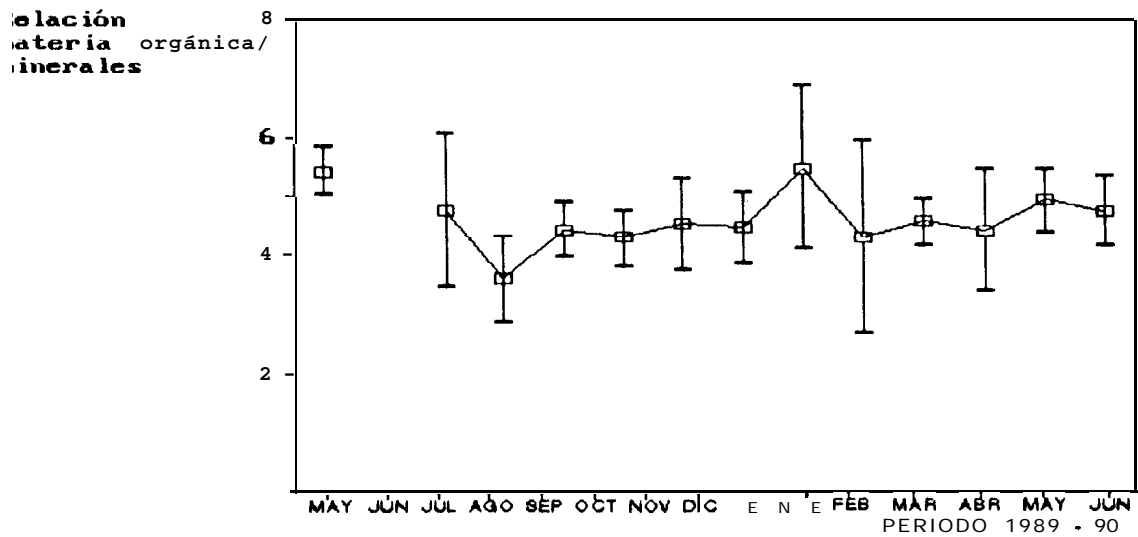


Figura 3. Relación materia orgánica / minerales en las esponjas durante el periodo de estudio. Se presenta media y desviación estandar.

Con base a estos resultados, se decidió utilizar únicamente el diámetro de los halos de inhibición de las pruebas de susceptibilidad como la medida de inhibición y no se consideró el índice propuesto por Jakowska y Nigrelli (1960) que relaciona las sustancias activas de la esponja en términos del contenido de materia orgánica. La pequeña variación en el contenido de materia orgánica es debida a que *Aplysina fistularis* pertenece al Orden Verongia, cuya principal característica es la ausencia de espiculación mineral y la presencia de una estructura esquelética de naturaleza proteica; esto explica el por qué no se observó variación temporal en la relación materia orgánica / minerales.

#### Actividad antimicrobiana

Los resultados de los bioensayos microbiológicos se presentan en valores del diámetro de los halos de inhibición (cm) producidos por los fragmentos de esponja sobre las cepas bacterianas de prueba.

La cepa *Vibrio* sp. (MMF6) (Fig. 4), mostró los valores más altos de sensibilidad para aquellas muestras de esponjas provenientes del mes de mayo de 1990, donde el promedio de los halos de inhibición se eleva hasta 3.7 cm, presentándose su desviación estándar en un intervalo que permite separar este mes de los demás. En los demás meses se presentó una respuesta uniforme de inhibición en donde los promedios de los halos de inhibición variaron entre 2 y 3 cm.



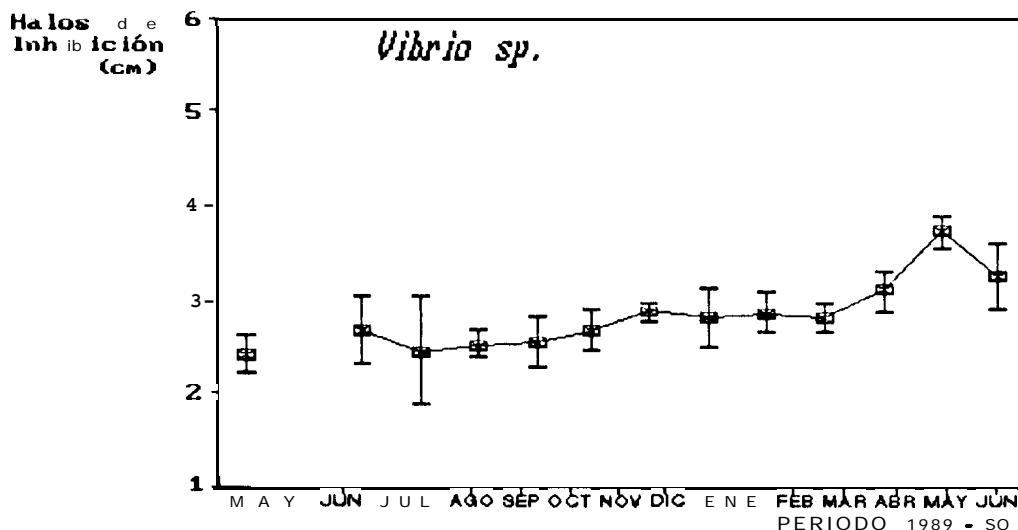


Figura 4. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa *Vibrio sp.* (MMF6). Se presenta media y desviación estándar.

La sensibilidad que presentó la cepa *Pseudomonas vesicularis* (AL) a los fragmentos de esponja, aunque más baja, fue similar a la cepa anterior (Fig. 5). Los valores promedio variaron cerca de los 2 cm de inhibición y los meses que se separan del resto del grupo son abril y mayo de 1990, alcanzando valores promedio de 2.8 y 3.4 cm respectivamente.

Otra cepa en la que también se observó un comportamiento parecido a las dos cepas anteriores fue *Pseudomonas cepacia* (MAG), donde en todos los meses, la inhibición producida por los fragmentos de esponja fluctuó entre 1.5 y 2 cm, exceptuando el mes de mayo de 1990 en el cual el valor promedio registrado fue de 3.2 cm (Fig. 6). Esta cepa resultó ser la que presentó menores halos de inhibición a las sustancias bioactivas presentes en la esponja.

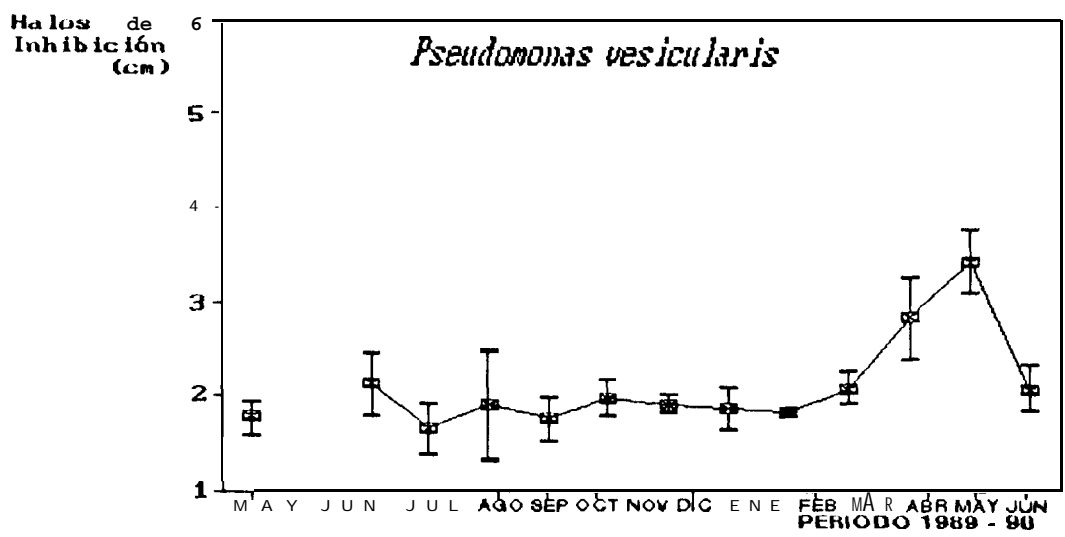


Figura 5. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa *Pseudomonas vesicularis* (AL). Se presenta media y desviación estándar.

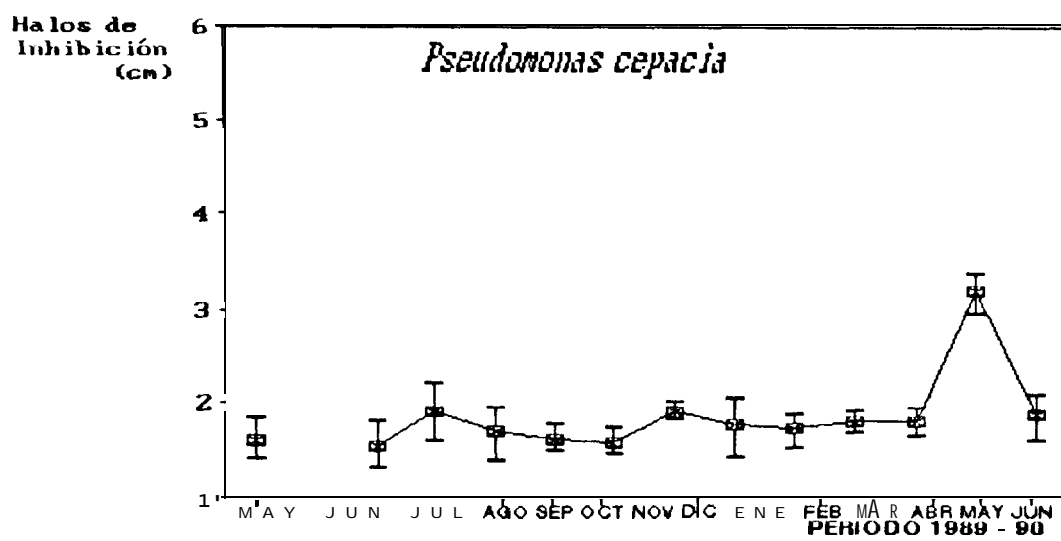
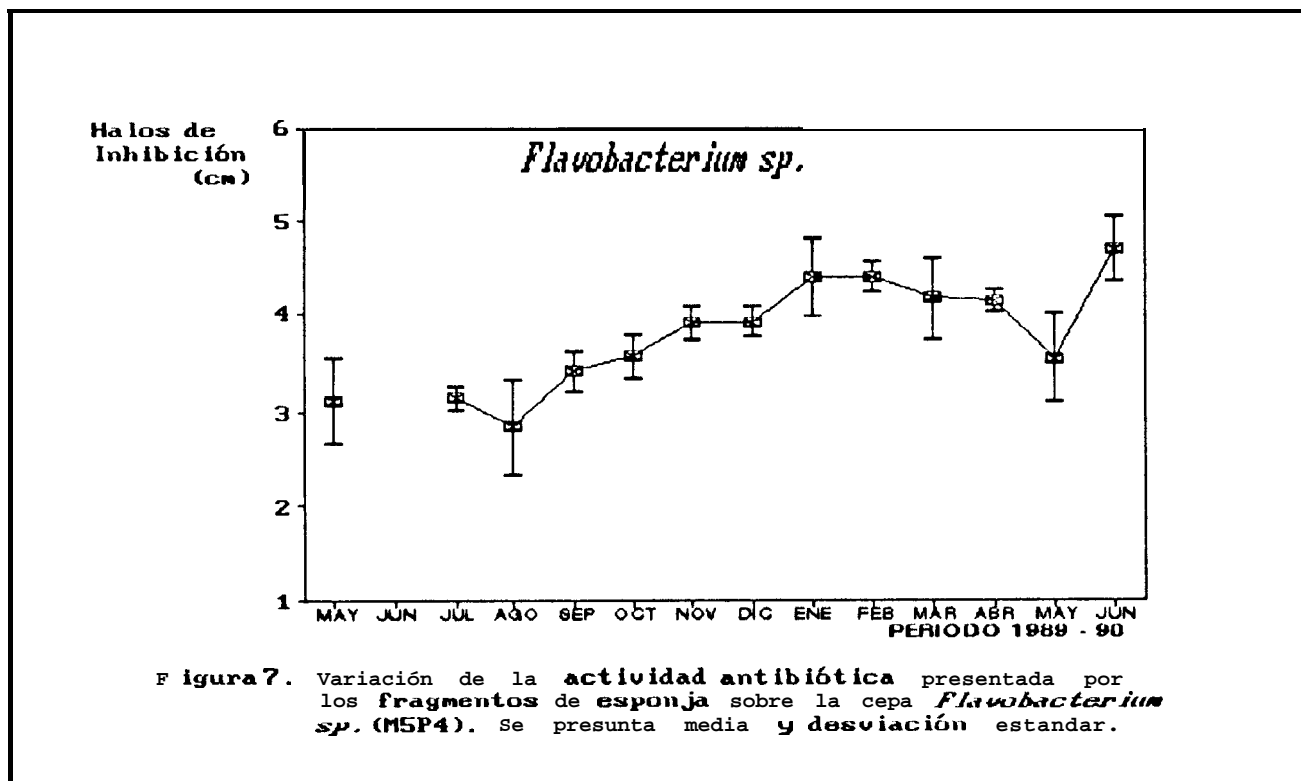
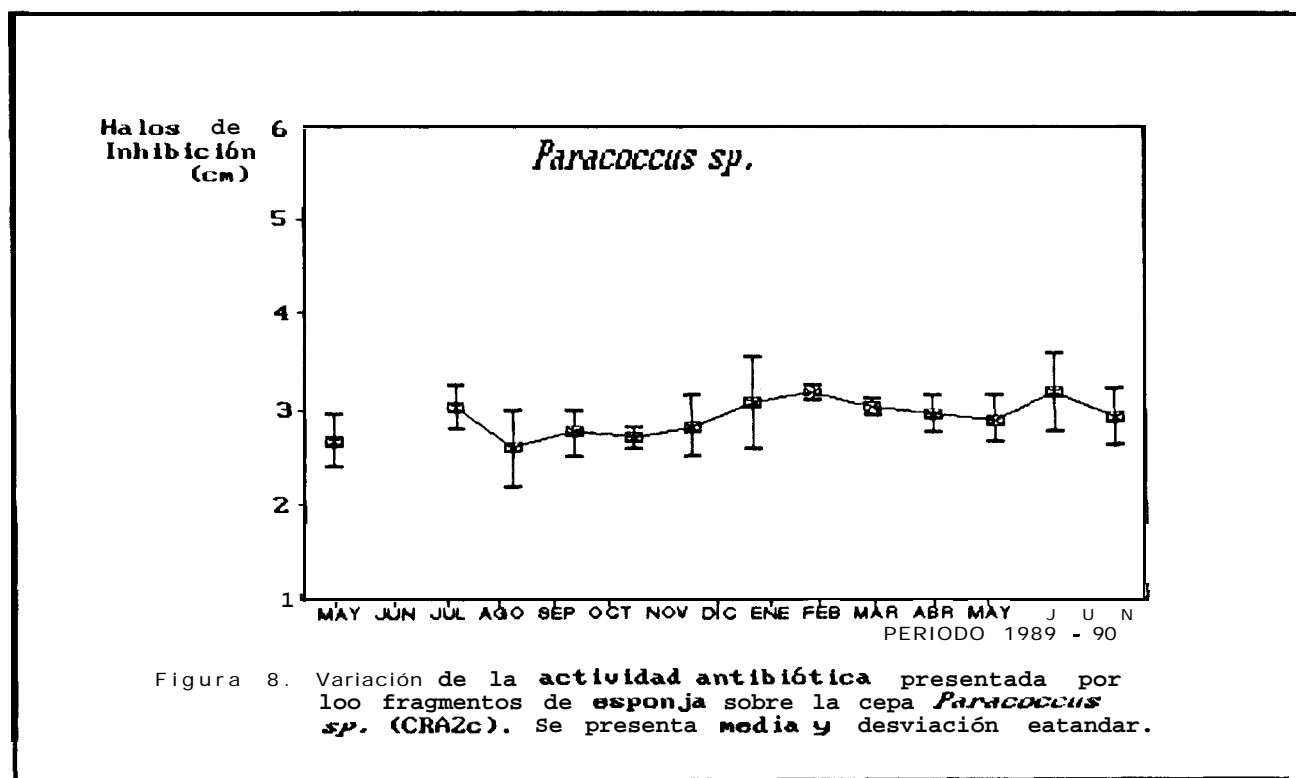


Figura 6. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa *Pseudomonas cepacia* (MAG). Se presenta media y desviación estándar.

Por otro lado la cepa *Flavobacterium* sp (M5P4) fue la más sensible a la acción antibiótica de la esponja (Fig. 7). A excepción de agosto de 1989 (2.8 cm de inhibición promedio), todos los demás valores promedio de los halos estuvieron arriba de los 3 cm. En mayo, julio y agosto de 1989 los valores no se alejaron de los 3 cm, sin embargo a partir de septiembre los valores presentaron una tendencia gradual a subir hasta alcanzar alrededor de 4.4 cm en los meses de enero y febrero de 1990. A partir de ese momento la tendencia observada cambia, notándose una disminución a través de los meses de marzo y abril hasta llegar a un valor promedio de inhibición de 3.5 cm en mayo de 1990. Posteriormente, el valor se eleva drásticamente en junio alcanzando el nivel más alto (4.7 cm).



Las cepas *Paracoccus* sp. (CRA2c) (Fig. 8) y *Bacillus megaterium* (M4P1) (Fig. 9) presentaron un comportamiento similar entre sí, en ambas cepas la sensibilidad observada puede ser considerada como intermedia con respecto a las demás cepas. Además, sus valores promedio de inhibición se presentaron siempre alrededor de los 3 cm y no se observaron meses en los que se modificara este patrón.



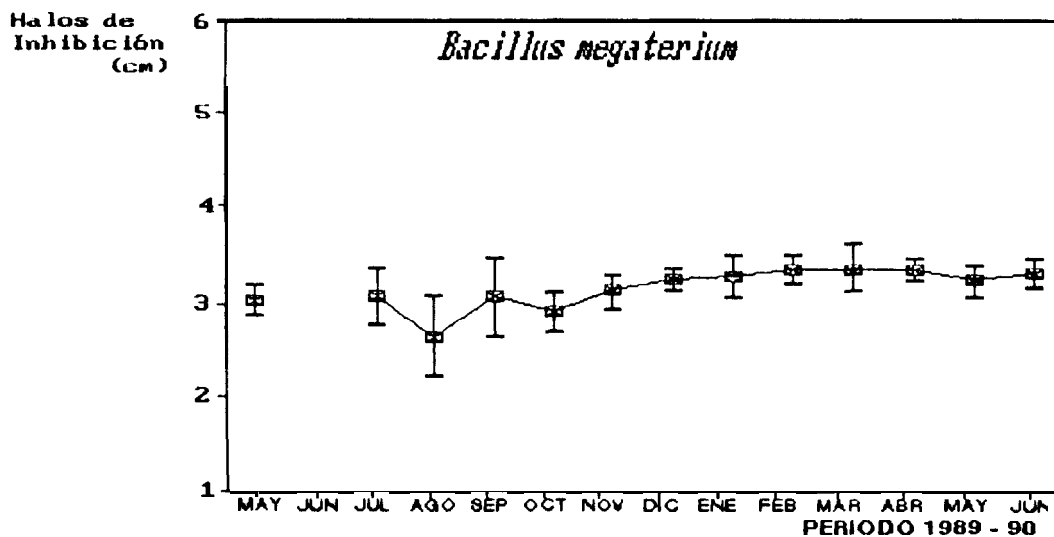


Figura 9. Variación de la actividad antibiótica presentada por los fragmentos de esponja sobre la cepa *Bacillus megaterium* (MAP1). Se presenta media y desviación estandar.

#### Controles con antibióticos comerciales

En términos generales, la sensibilidad de las cepas de prueba no presentó variaciones importantes ante la acción de los antibióticos comerciales utilizados (Fig. 10 a la 15), siendo el cloranfenicol el antibiótico al que todas las cepas presentaron una mayor sensibilidad.

Es importante hacer notar que las cepas *Pseudomonas vesicularis* (AL) (Fig. 11) y *Pseudomonas cepacia* (MAG) (Fig. 12), fueron las más resistentes a la mayoría de los antibióticos probados.

Halos de Inhibición (cm)

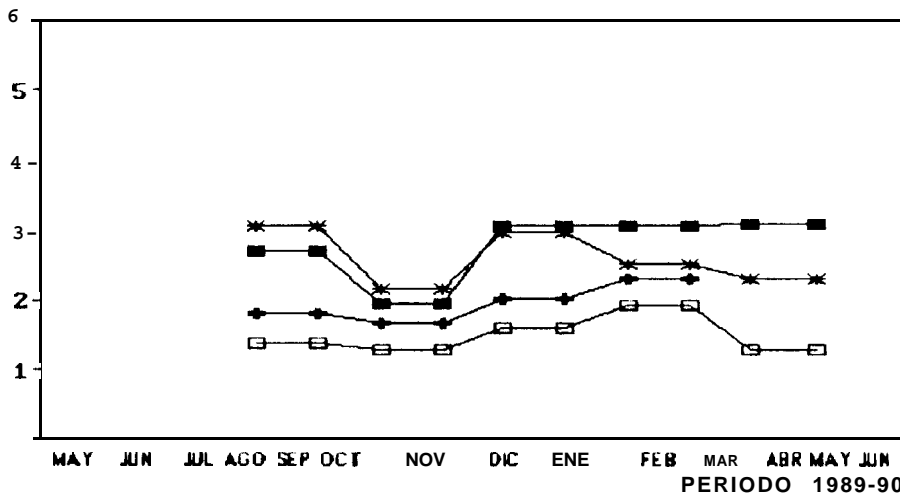


Figura 10. Sensibilidad de la cepa *Vibrio sp* a los sensidiscos con antibióticos comerciales, durante el período de estudio. Antibióticos: —■— cloranfenicol (30 µg), —\*— novobiocina (30 µg), —□— estreptomicina (10 µg) y —●— nitrofurantoina (300 µg).

Halos de Inhibición <cm>

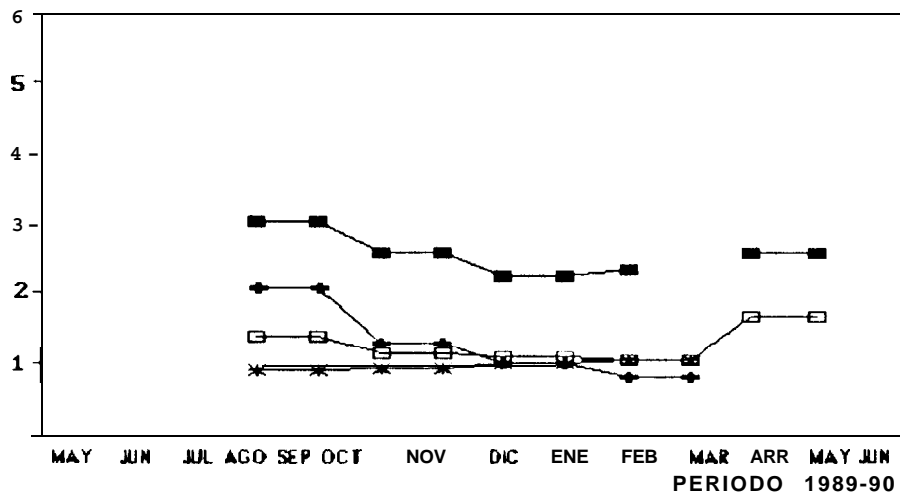
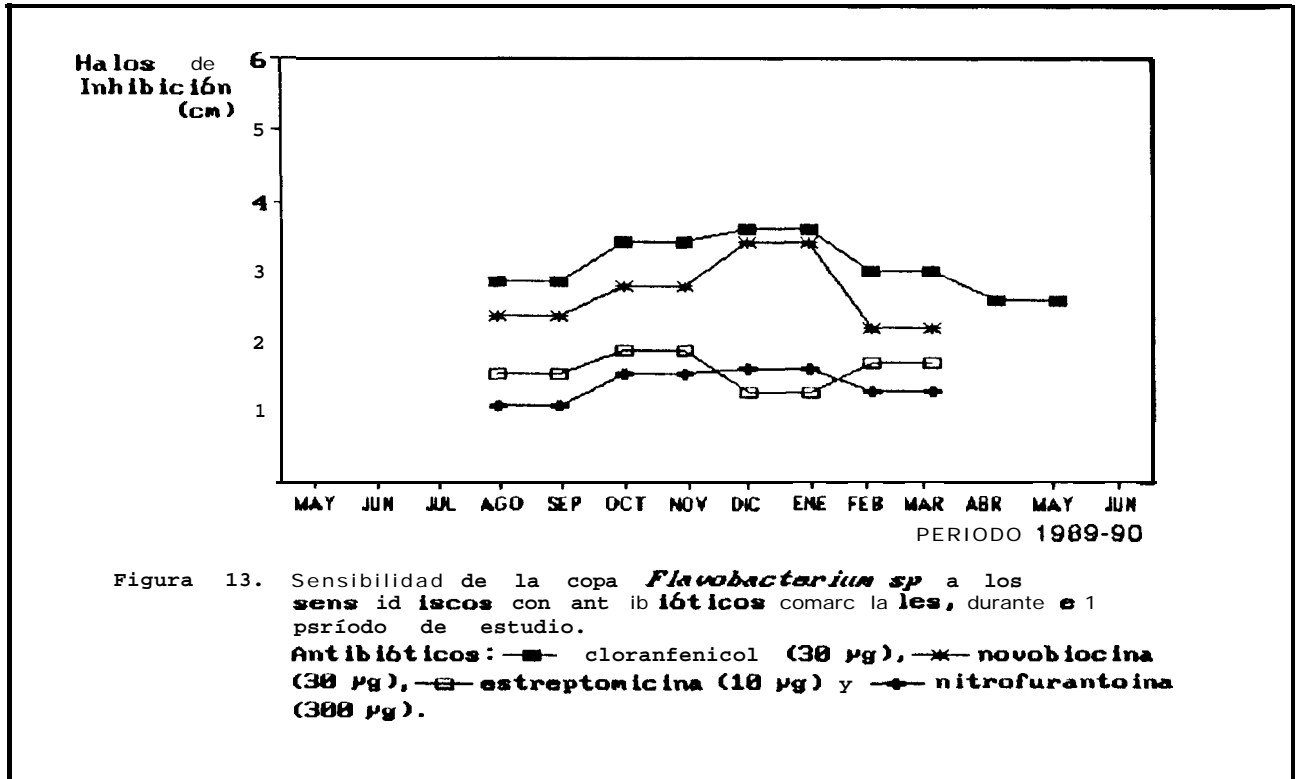
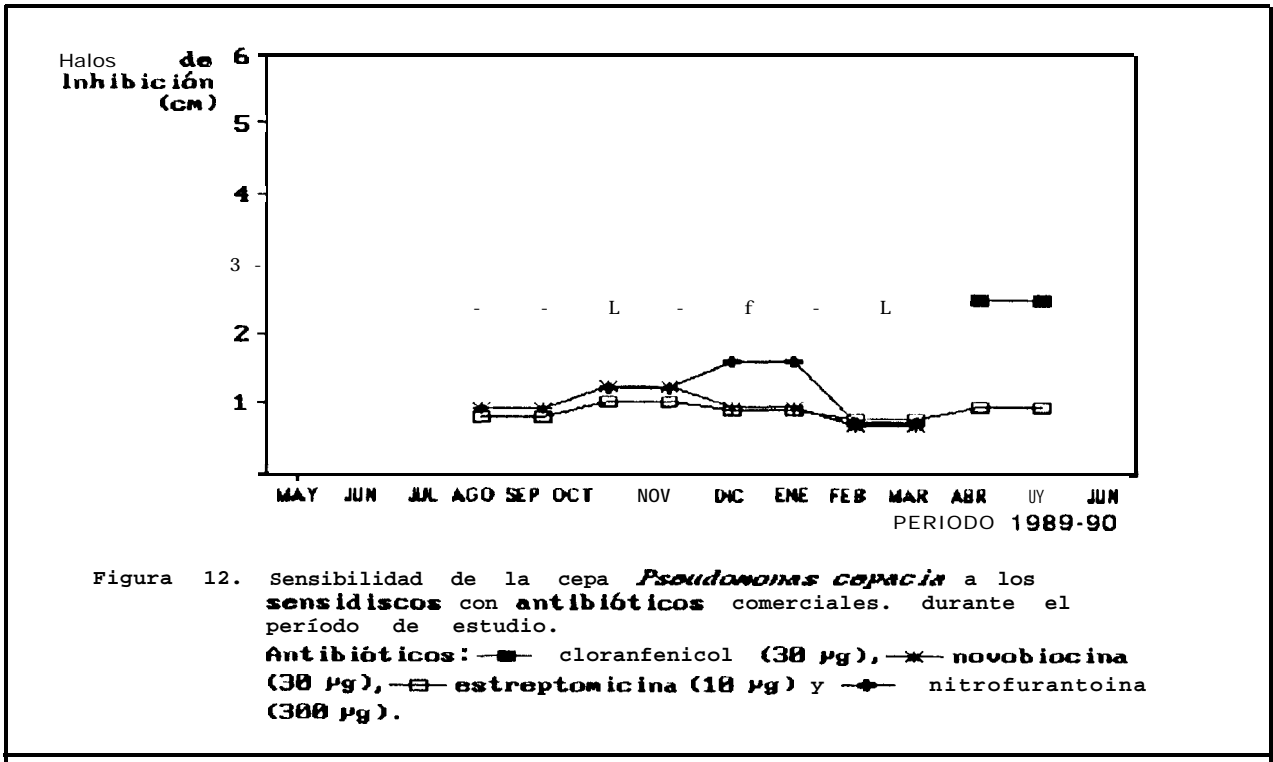


Figura 11. Sensibilidad de la cepa *Pseudomonas vesicularis* a los sensidiscos con antibióticos comerciales, durante el período de estudio. Antibióticos: —■— cloranfenicol (30 µg), —\*— novobiocina (30 µg), —□— estreptomicina (10 µg) y —●— nitrofurantoina (300 µg).



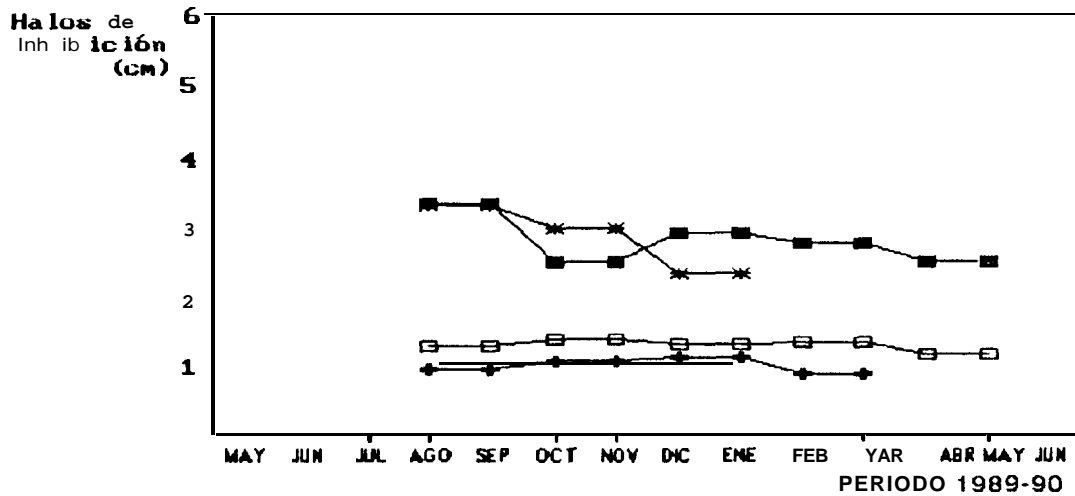


Figura 14. Sensibilidad de la cepa *Paracoccus sp.* a los sensibiliscos con antibióticos comerciales, durante el periodo de estudio. Antibióticos: —■— cloranfenicol (30 µg), —\*— novobiocina (30 µg), —□— estreptomicina (10 µg) y —◆— nitrofurantoina (300 µg).

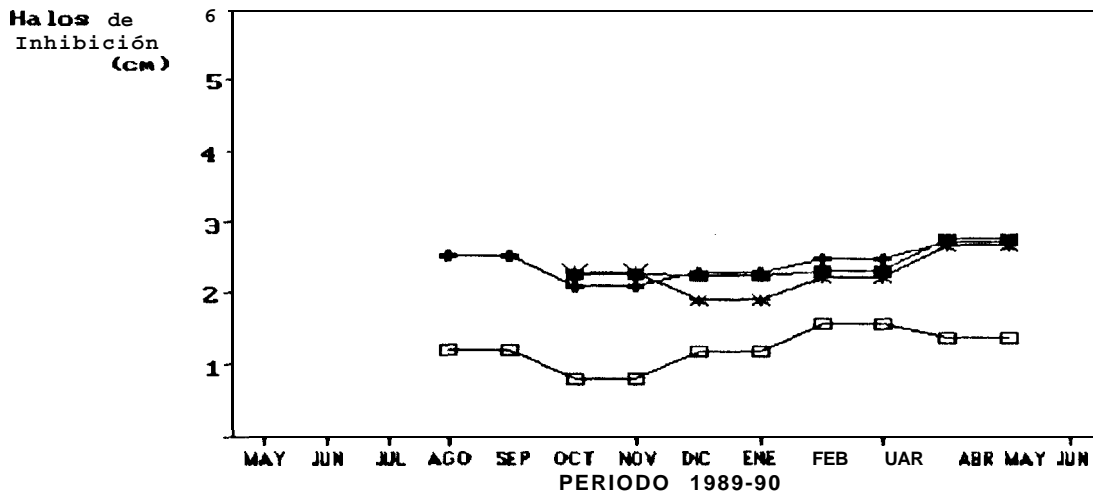


Figura 15. Sensibilidad de la cepa *Bacillus megaterium* a los sensibiliscos con antibióticos comerciales, durante el periodo de estudio. Antibióticos: —■— cloranfenicol (30 µg), —\*— novobiocina (30 µg), —□— estreptomicina (10 µg) y —◆— nitrofurantoina (300 µg).



Elenco taxonómico

A continuación se presenta la lista sistemática de los grupos de organismos presentes en las esponjas analizadas.

**CLAVE**

**Phylum CNIDARIA (ANEMONAS)**

Clase **ANTHOZOA (=HEXACORALLIA)**

Orden **ACTINARIA** \_\_\_\_\_ **AN**

**Phylum MOLLUSCA (MOLUSCOS)**

Clase **GASTROPODA**

Subclase **OPISTHOBRANCHIA**

Orden **NOTASPIDEA (Tylodina)** \_\_\_\_\_ **TY**

Clase **BIVALVIA** \_\_\_\_\_ **BI**

**Phylum ANNELIDA (POLIQUETOS)**

Clase **POLYCHAETA**

Orden **ORBINIIDA**

Familia **ORBINIIDAE** \_\_\_\_\_ **OR**

Orden **SPIONIDA**

Familia **SPIONIDAE** \_\_\_\_\_ **SP**

Familia **CIRRATULIDAE** \_\_\_\_\_ **CI**

Orden **CAPITELLIDA**

Familia **CAPITELLIDAE** \_\_\_\_\_ **CP**

Familia **MALDANIDAE** \_\_\_\_\_ **MA**

Orden **PHYLLODOCIDA**

Familia **PHYLLODOCIDAE** \_\_\_\_\_ **PH**

Familia **POLYNOIDAE** \_\_\_\_\_ **PO**

Familia **CHRYSOPETALIDAE** \_\_\_\_\_ **CE**

CENTRO DE INVESTIGACIONES  
BIBLIOTECA  
I.P.N.  
DONATIVO  
MARIANO

**Familia HESIONIDAE**----- **HE**

Familia PILARGIDAR----- PI

**Familia SYLLIDAE**----- **SY**

**Familia NEREIDIDAE**----- **NE**

orden **EUNICIDA**

Familia **EUNICIDAE**----- **EU**

**Familia LUMBRINERIDAE**----- **LU**

Familia **OENONIDAE**----- **OE**

Familia **DORVILLEIDAE**----- **DO**

Orden **FLABELLIGERIDA**

Familia **FLABELLIGERIDAE**----- **FL**

**Orden TERESELLIDA**

Familia **TERESELLIDAE**----- **TE**

**Orden SABELLIDA**

**Familia SABELLIDAE**----- **SA**

**Familia SERPULIDAE**----- **SE**

**Familia SPIROBIDAE**----- **SR**

**Phylum ARTHROPODA (ARTROPODOS)**

**Subphylum CHELICERATA**

Clase **PYNGOGONIDA**----- **PY**

**Subphylum MANDIBULATA**

Clase **CRUSTACEA**

Subclase **COPBPOM**

Orden **RARPACTICOIM**----- **CO**

Subclase **CIRRIPIEDIA**

orden **THORACICA**

**Suborden BALANOMORPHA**----- **BA**

Subclase **MALACOSTRACA**

**Orden CUMACEA** ..... **CD**

**Orden TANAIIDACEA**

suborden **MONOKONOPHORA** ..... **MO**

Suborden **DIKONOPHORA** ..... **DI**

orden **ISOPODA**

**Suborden FLABELLIFERA** ..... **FA**

**Suborden ASELLOTA** ..... **AS**

**Orden AMPHIPODA**

S u b o r d e n - D - G A

**Suborden CAPRELLIDEA** ..... **CA**

**Orden DECAPODA**

**Suborden NATANTIA**

Familia **PALEOMONIDAE** ..... **PA**

Familia **ALPHEIDAE** ..... **AL**

**Suborden REPTANTIA**

Sección **BRACHYURA**

**Familia MAJIDAE** ..... **MJ**

Familia **XANTIDAE** ..... **XA**

Familia **GRAPSIDAE** ..... **GR**

**Sección ANOMURA**

Familia **PORCELLANIDAE** ..... **PR**

**Phylum ECHINODERMATA (EQUINODERMOS)**

Clase **ESTELLEROIDEA**

Subclase **OPHIUROIDEA**

Orden **OPHIURIDA**

Familia **OPHIOCHITONIDAE** ..... **OP**

**Familia OPHIOCOMIDAE** ..... **01**

## Relación del peso seco y volumen de las esponjas

Se realizó un análisis de regresión lineal para determinar si hay correspondencia entre peso seco y volumen de las esponjas. De esta manera se pudo escoger una sola de estas medidas para calcular las relaciones de densidad descritas en la metodología (abundancia y biomasa) (Fig. 16). En base a los resultados de la regresión ( $R^2 = 98.9\%$ ), se decidió trabajar con el peso seco de las esponjas. Al respecto Bierbaum (1981), especifica que trabajar con el peso seco no es una medida de la densidad del tejido de la esponja, ya que no se está incluyendo el agua adherida y contenida; sin embargo esto permite una conversión de la masa de la colonia de esponjas a volumen.

## Selección de los grupos principales

A partir de la abundancia y la biomasa calculadas para todos los grupos de organismos asociados a las esponjas, y en cada uno de los meses de estudio, se obtuvieron los valores de importancia  $IV_o$  e  $IV_B$ . Debido a que la cantidad de grupos de organismos determinados fué considerable (Fig. 17), se hizo necesario identificar a los grupos principales. Estos se pueden definir por sus mayores frecuencias de aparición, biomasa y abundancias, bajo la suposición de que estos organismos juegan un papel importante dentro de la comunidad, en comparación con los que se

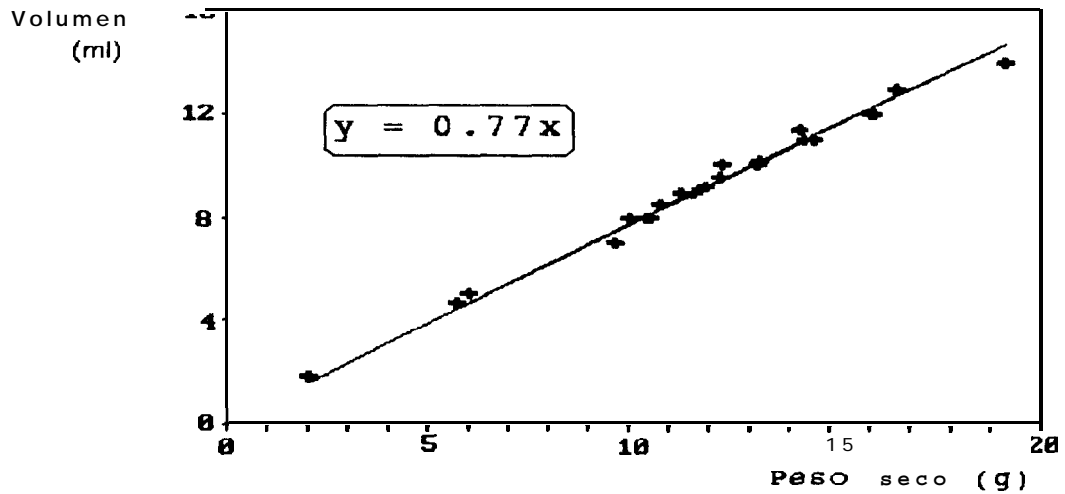


Figura 16. Relación lineal entre el volumen (Y) y el peso seco (X) de fragmentos de esponja;  $n = 22$  y  $R^2 = 98.9\%$ .

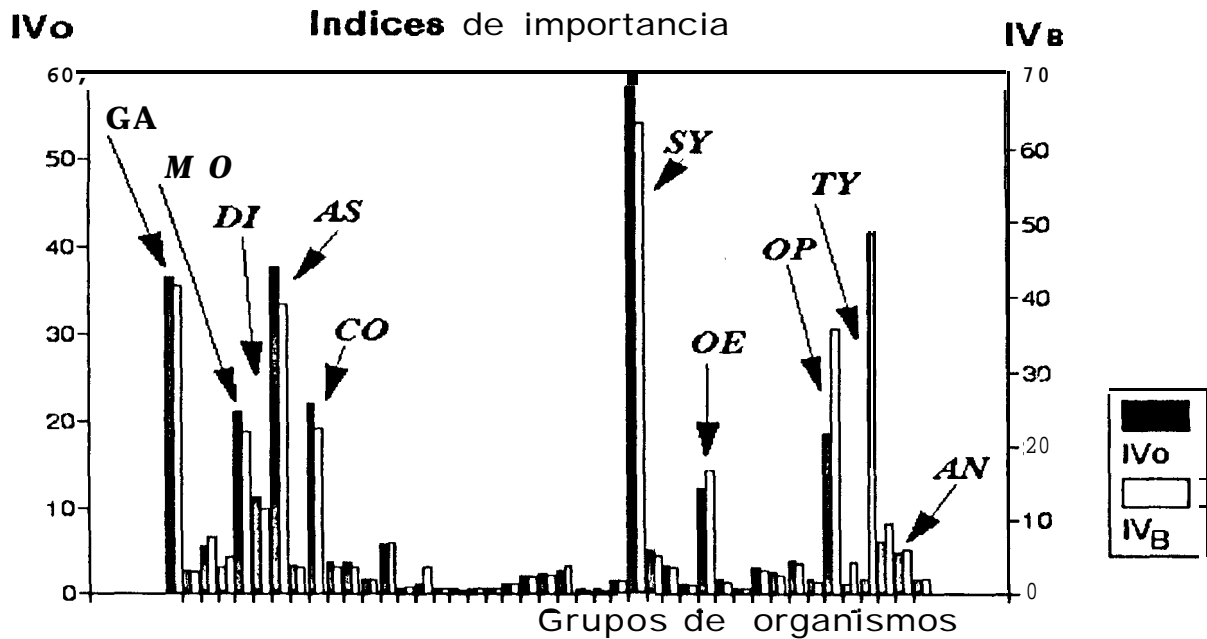


Figura 17. Valores de importancia,  $IV_o$  e  $IV_B$ , de los grupos de organismos asociados a las esponjas. GA=gamáridos, MO=monokonóforos, DI=dikonóforos, AS=asélidos, CO=copéodos, SY=sílidos, OE=oenónidos, OP=ofioquitónidos, TY=Tylodina y AN=actinarios.

presentan en menores proporciones (incidentales). Para efectos de este trabajo se consideró a la esponja y a sus habitantes como una microcomunidad.

Se determinaron los grupos principales en base a la exclusión de aquellos que estuvieron presentes en menos del 10 % de la abundancia total (Fig. 18) (ver Escobar, 1983). Así, de 43 grupos que constituyen la composición faunística de la esponja, se eligieron 9 como principales. Este método de selección, aunque sencillo y arbitrario resultó ser práctico, pues al aplicar análisis de componentes principales y análisis de "clusters" a los valores de importancia ( $IV_o$  e  $IV_B$ ), se llegó a los mismos resultados en la separación de grupos.

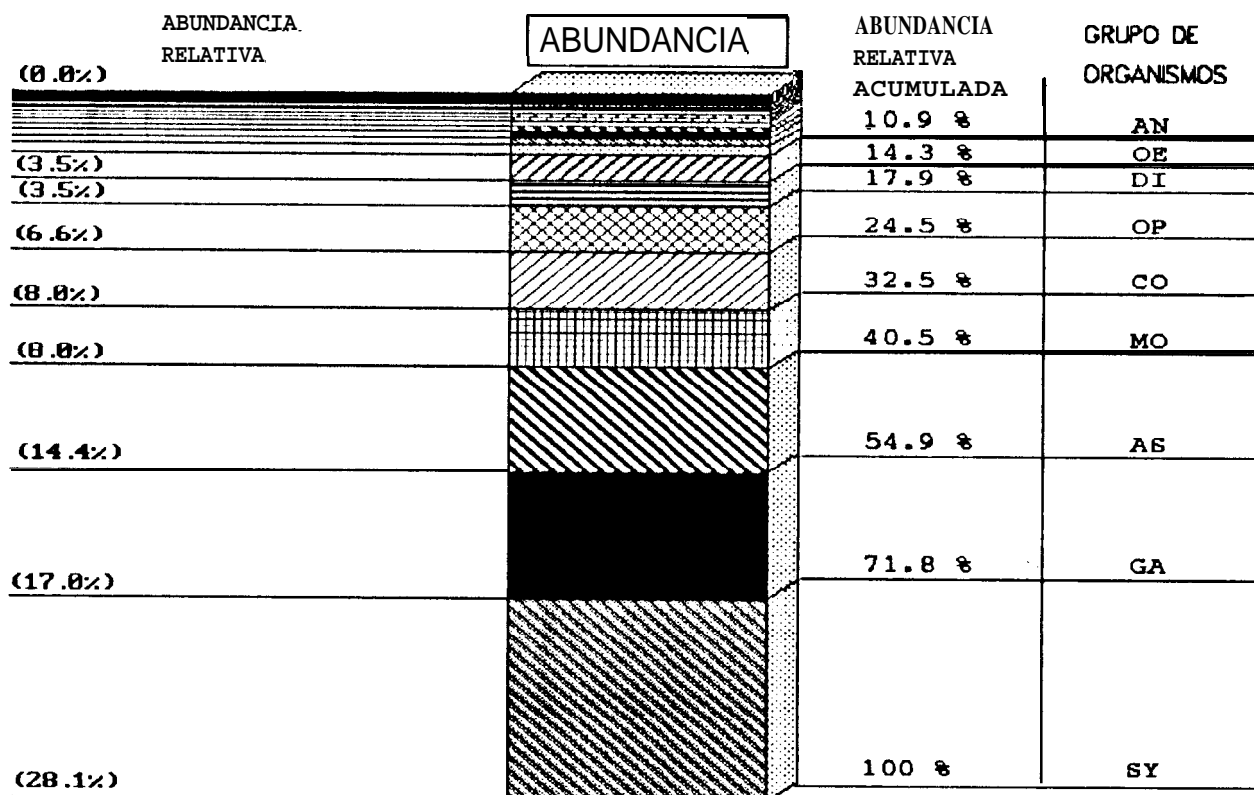


Figura 18. Grupos principales de organismos asociados a las esponjas, en relación a la abundancia total. SY=sílicos, GA=gamáridos, AS=asélidos, MO=monokonóforos, CO=copépodos, OP=ofioquitónidos, DI=dikonóforos, OE=oenónidos y AN=actinarios.

Selección del **índice** de importancia.

Utilizando la totalidad de los grupos, se realizó una regresión lineal entre los valores de importancia **IV<sub>o</sub>** e **IV<sub>B</sub>**, con la finalidad de determinar si existe correspondencia entre ellos (Fig. 19), esto permitió utilizar solamente uno de estos **índices** para los análisis posteriores (Zabi, 1984). Se decidió eliminar de este análisis al grupo de *Tylodina* (*TY*), debido a que el tamaño de estos organismos es considerablemente mayor que todos los demás y, aunado a su baja frecuencia de aparición, es el único que no muestra una reciprocidad entre los valores de importancia (Fig. 17).

Los resultados de la regresión muestran un buen ajuste entre **IV<sub>o</sub>** e **IV<sub>B</sub>** ( $R^2 = 96\%$ ) (Fig. 19), con lo cual se decidió utilizar solamente el valor de importancia **IV<sub>B</sub>** debido a que este considera conjuntamente los atributos de abundancia y biomasa.

### **Inquilinismo**

Para evaluar el grado de inquilinismo que presentó la esponja a través del tiempo, se realizó una sumatoria mensual de los valores de importancia **IV<sub>B</sub>** de los grupos principales determinados anteriormente (Fig. 20). Se consideró que estos grupos de organismos son los que pasan más tiempo o son residentes permanentes en la esponja.

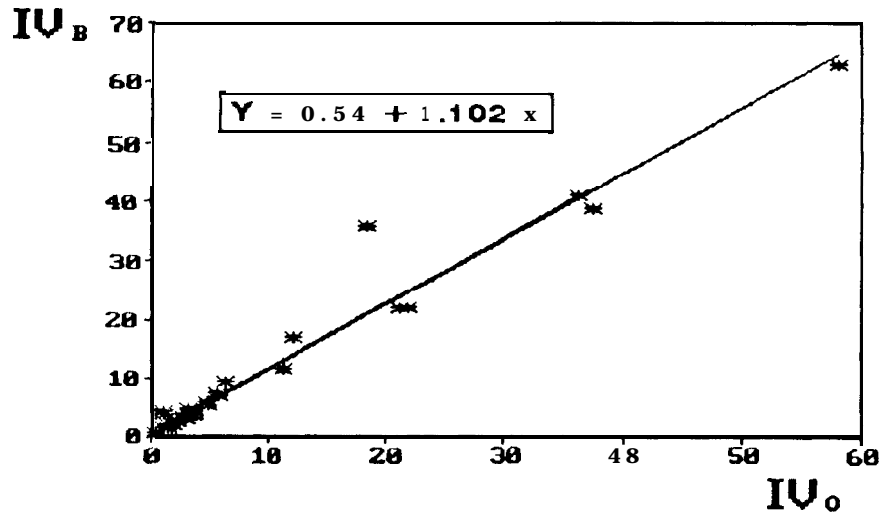


Figura 19. Relación lineal **entre los** ualores de importancia  $IU$ , (X) e  $IU_B$  (Y);  $n = 42$  y  $R^2 = 96\%$ .

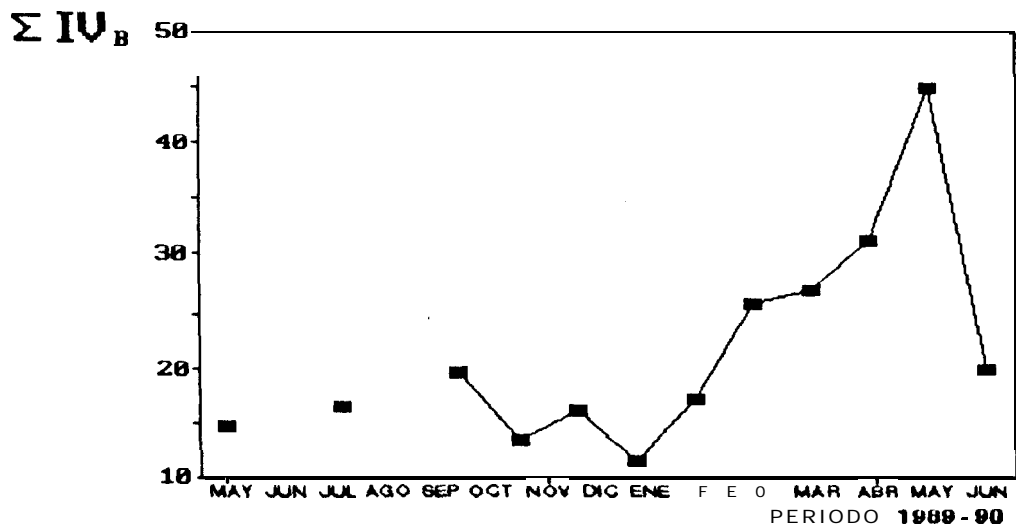


Figura 20. Variación **temporal** del **inquilinismo**. Los **valores** presentados son **obtenidos** a partir de la **sumatoria** mensual de los **valores** importancia ( $\Sigma IU_B$ ) para los **grupos** principales.



Se encontró que los niveles de inquilinismo ( $\Sigma IV_B$ ) presentados en mayo y julio de 1989 y de septiembre de 1989 a enero de 1990, fueron bajos, oscilando entre valores de 13 a 20. Es a partir de febrero de 1990 que se nota un claro aumento en el nivel de inquilinismo, que se incrementa gradualmente hasta abril, para después presentarse el valor más alto en mayo de 1990 ( $\Sigma IV_B = 44$ ). Posteriormente este valor baja repentinamente en junio de 1990, hasta los niveles de los primeros meses (Fig. 20).

Por otro lado, se registraron las ocasiones en que aparecieron los grupos considerados como incidentales (frecuencias de aparición), que si bien las abundancias y biomasa de estos grupos no son importantes, y probablemente utilizan a las esponjas como refugios temporales, su aparición en conjunto si pudiera tener relevancia en el fenómeno simbiótico. En la Figura 21 se puede observar que hay un pico de frecuencia en septiembre de 1989, con valores intermedios en julio y noviembre de 1989, así como también en febrero y marzo de 1990. El valor mas alto se presentó en mayo de 1990.

Eventos reproductivos.

En la Tabla II se presentan los resultados de los registros de aparición de hembras ovigeras y/o estructuras de reproducción (que se consideran como eventos reproductivos), en los grupos principales e incidentales.

La mayor incidencia de eventos reproductivos, para los grupos principales, se presentó en los meses de marzo, abril y mayo de 1990 (Fig. 22), con una frecuencia de 5. Meses en los que se observa una frecuencia de 4 son junio y febrero del mismo año, así como septiembre de 1989.

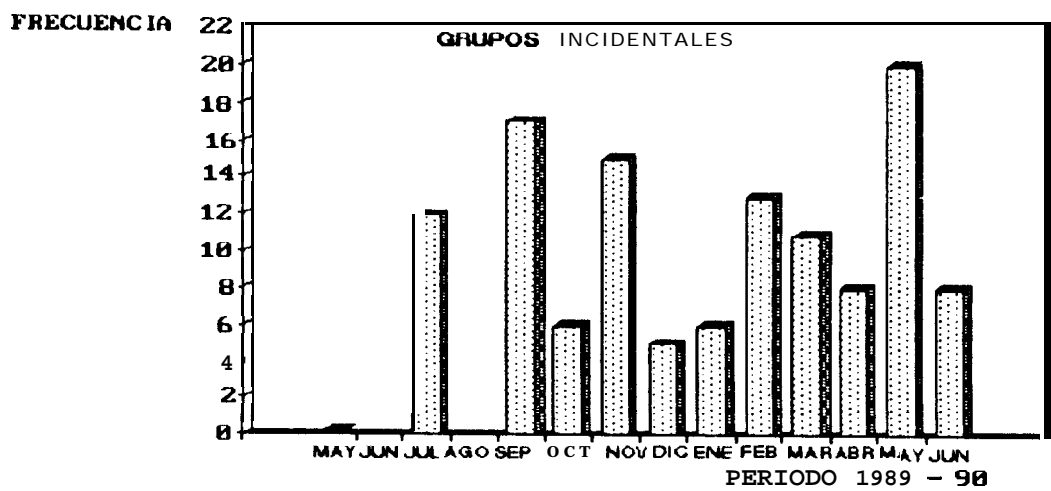


Figura 21. Frecuencias de aparición de los grupos incidentales durante el período de estudio.

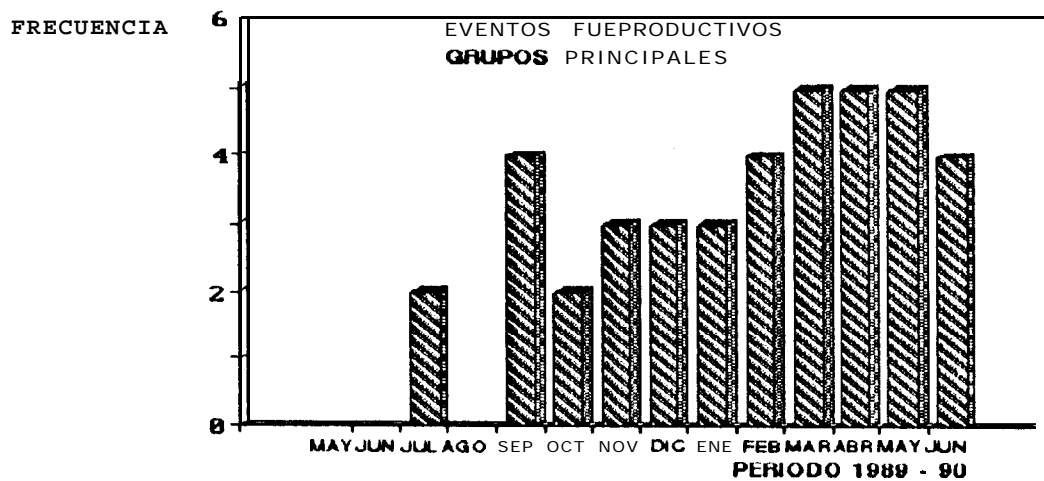


Figura 22. Frecuencias de aparición de los eventos reproductivos en los grupos principales, durante el período de estudio.

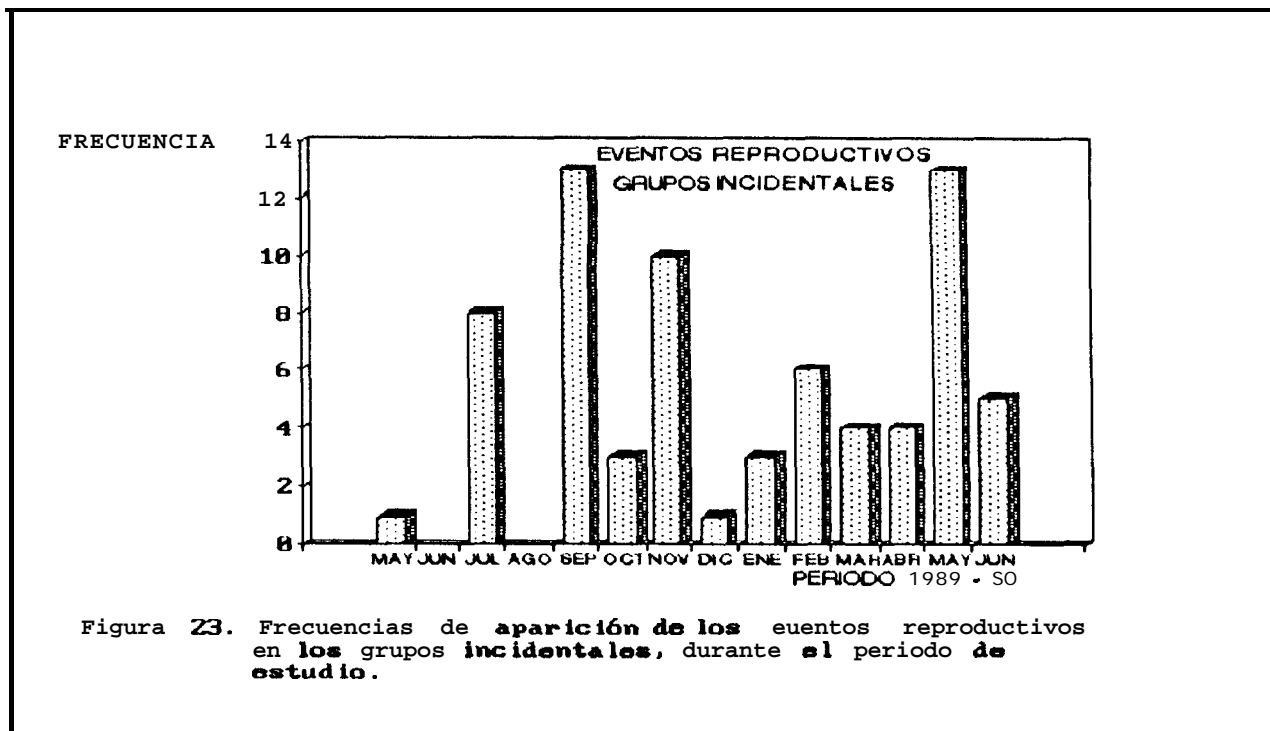
Tabla I I . EVENTOS REPRODUCTIVOS EN LOS GRUPOS (PERIODO 1989 - 90).

GRUPOS PRINCIPALES														
CLAVE	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEO	MAR	ABR	MAY	JUN
AN			X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
SY					X		X		X	X	X	X	X	X
OE					X		X		X	X	X	X	X	X
CO			X	-	X		X	X		X				X
MO					X						X	X		
DI					X						X	X		
AS						X		X	X	X	X		X	
GA								X				X	X	
OP														
TOTAL	0		2		4	2	3	3	3	4	5	6	6	4

GRUPOS INCIDENTALES														
CLAVE	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN
OR											X			
SP					X									
CI					X									X
CP										X			X	X
MA					X									
PH					X		X		X				X	
PO			X	-			X					X	X	X
CH							X							
HE							X							
PI					X		X						X	
NE			X	-	X	X	X	X		X		X	X	
EU			X	-	X					X		X	X	
LU			X	-			X							
DD					X					X			X	
FL					X									
TE						X	X			X	X			
SA			X	-	X		X		X					
SE					X				X		X	X	X	X
SR			X	-							X		X	
PY														
BA														
CU							X							
FA														
CA													X	
PA			X	-									X	X
AL					X	X							X	
MJ					X									
XA														
OR														
PR														
TY	X	-	X	-						X			X	
BI														
OI														
NO DET														
TOTAL	1		6		13	3	10	1	3	6	4	4	13	6

Para los grupos incidentales tenemos que septiembre de 1989 y mayo de 1990 representan los valores más altos de frecuencias de eventos reproductivos (13) (Fig. 23).



#### Relación entre antibiosis y organismos asociados.

En base a los resultados obtenidos, se estableció que existe una correlación significativa entre la antibiosis determinada para ciertas cepas de bacterias y el nivel de inquilinismo de los grupos principales de organismos asociados a las esponjas (Tabla III). Mediante el análisis de correlación lineal se estableció que los niveles de antibiosis de la esponja sobre la cepa *Vibrio* sp. (MMF6) presentaron correspondencia significativa con los valores de importancia  $IV_B$  ( $R = 0.79$ ) (Fig. 24). De la misma manera, se obtuvieron correlaciones significativas para la cepa *Pseudomonas vesicularis* (AL) ( $R = 0.89$ ) (Fig. 25) y para la cepa *Pseudomonas cepacia* (MAG) ( $R = 0.80$ ) (Fig. 26).

Tabla III. Correlaciones entre ANTIBIOSIS e INQUILINISMO.  
 [  $Y = A + BX$  ]

X	Y	PARAMETROS		COEF. CORR. *
		A	B	R
ANTIBIOSIS PRODUCIDA SOBRE LA CEPA (cm):	INDICE DE IMPORTANCIA			
MMF6	$\Sigma IU_B$	-38.14	20.89	0.79
AL	$\Sigma IU_B$	-14.35	16.80	0.89
MAG	$\Sigma IU_B$	-10.29	17.31	0.80
MMF6 + AL + MAG	$\Sigma IU_B$	-24.84	6.79	0.88
MSP4	$\Sigma IU_B$	12.27	2.37	0.13
CRA20	$\Sigma IU_B$	-45.16	22.68	0.41
M4P1	$\Sigma IU_R$	-73.83	29.79	0.49

\* Nivel de significancia  $\alpha = 0.05$

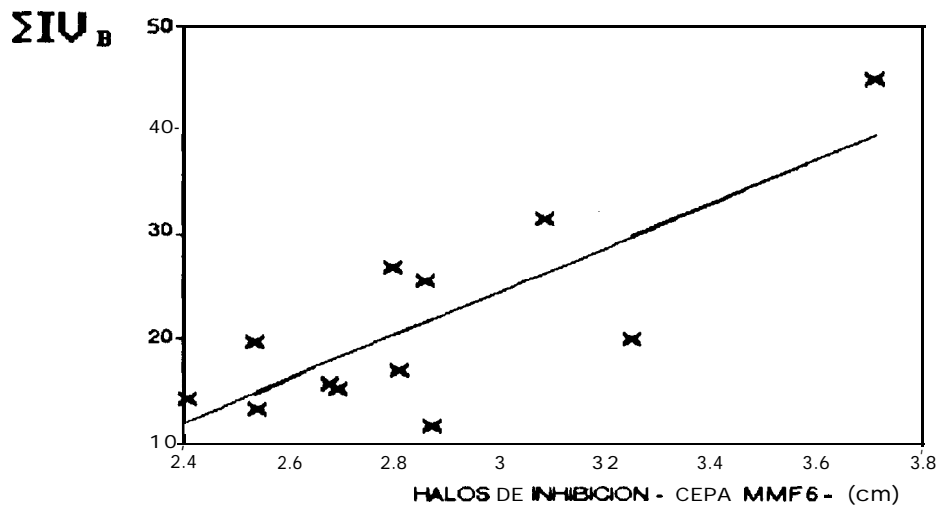
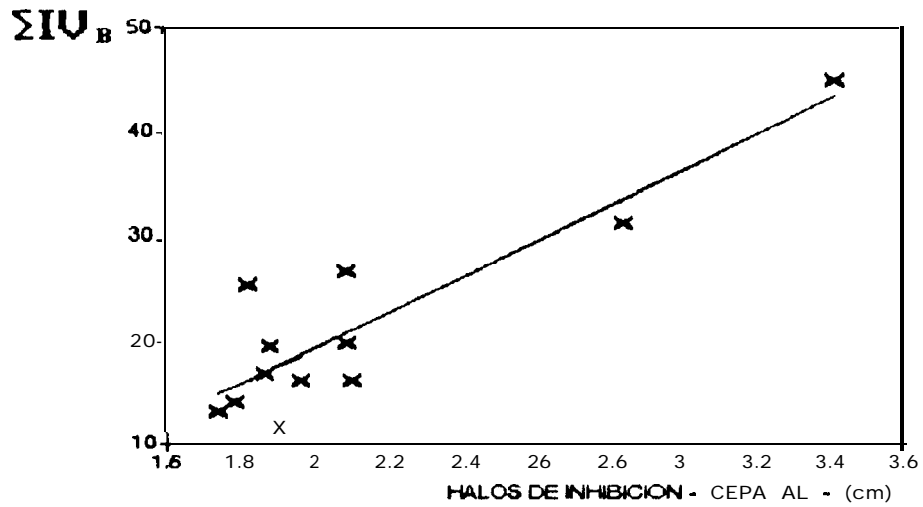
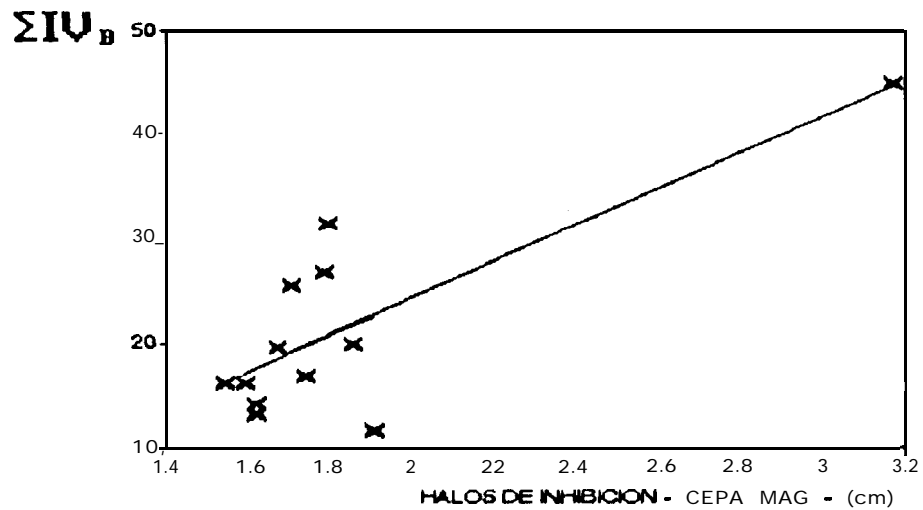


Figura 24. Correlación lineal entre la sensibilidad registrada por los fragmentos de esponja sobre la cepa *Vibrio sp.* (MMF6) y el nivel de inquilinismo presentado por los grupos principales ( $\Sigma IU_B$ );  $n = 12$  y  $R = 0.879$ .

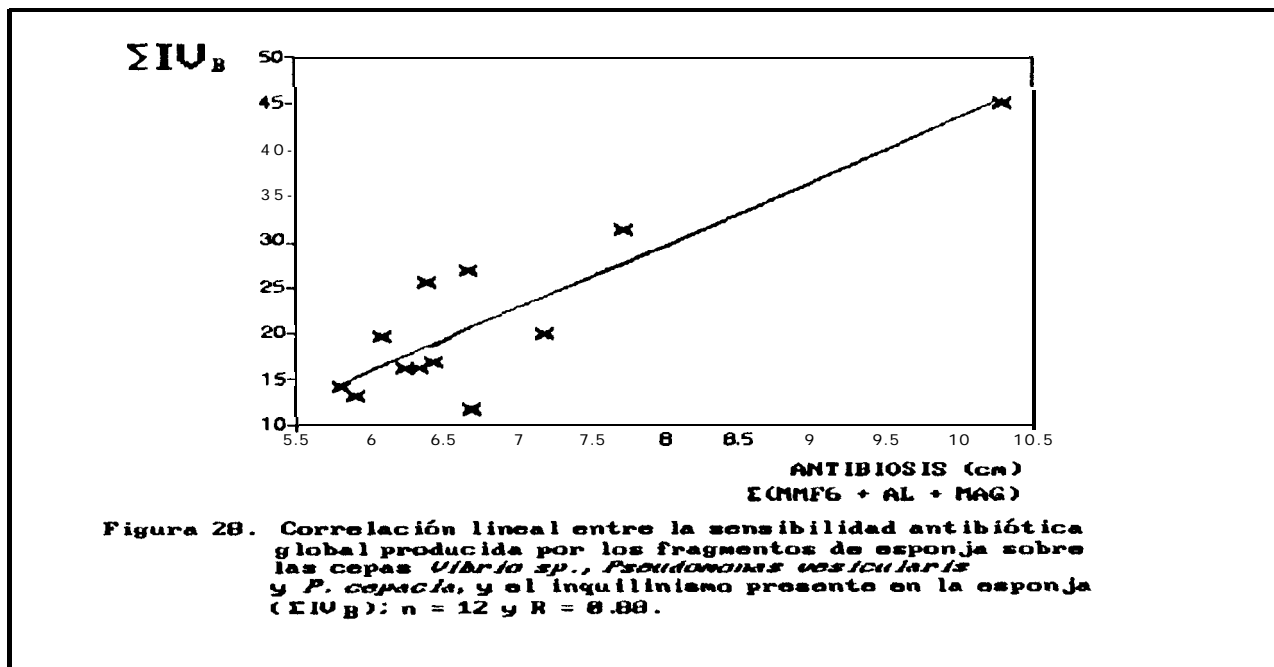
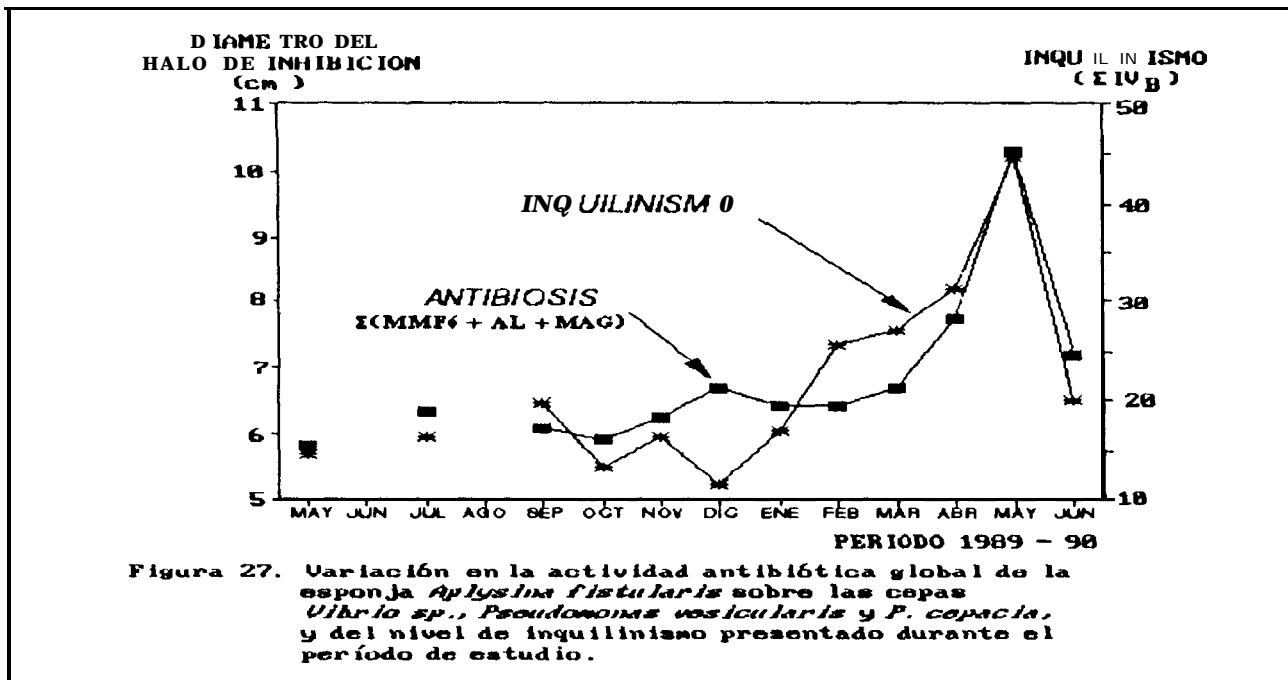


**Figura 25.** Correlación lineal entre la sensibilidad registrada por los fragmentos de esponja sobre la cepa *Pseudomonas vesicularis* (AI) y el nivel de inquilinismo presentado por los grupos principales (ΣIU<sub>B</sub>); n = 12 y R = 0.89.



**Figura 26.** Correlación lineal entre la sensibilidad registrada por los fragmentos de esponja sobre la cepa *Pseudomonas cepacia* (MAG) y el nivel de inquilinismo presentado por los grupos principales (ΣIU<sub>B</sub>); n = 12 y R = 0.80.

En base a estos resultados, se determinó que las tres cepas arriba mencionadas presentaron el mismo comportamiento, de manera que se sumaron sus valores mensuales promedio de inhibición (Fig. 27) y se realizó el análisis de regresión, obteniéndose una correspondencia significativa ( $R = 0.88$ ) (Fig. 28).



## DISCUSION

El seguimiento de la actividad antimicrobiana realizado en este estudio, no presentó una relación directa con la temperatura. Es preciso hacer notar que los resultados obtenidos únicamente se aplican a las esponjas de la Isla Espiritu Santo y a la profundidad a la que fueron colectadas. Sin embargo es probable que la temperatura se encuentre relacionada con los niveles de incidencia de organismos asociados a las esponjas, y como se observó en los resultados, el inquilinismo si tiene correspondencia significativa con la antibiosis. Por lo tanto se puede proponer que la temperatura podría presentar algún tipo de relación indirecta con la producción de metabolitos bioactivos en la esponja.

En el presente estudio se nota claramente que los niveles de inquilinismo aumentan gradualmente a partir de febrero de 1990, alcanzando el máximo en mayo de 1990 (Fig. 20), lo que puede explicarse por el incremento de la temperatura del agua en las mismas fechas. Es evidente que los eventos reproductivos de la mayoría de los organismos de la microcomunidad que viven en las esponjas, tienen una sincronización que puede estar relacionada con la temperatura. Además, tomando en cuenta a los grupos considerados como incidentales o a los residentes temporales, se puede observar que también presentan sus mayores frecuencias de aparición y eventos reproductivos cuando la temperatura es alta o se está incrementando.



Al respecto McCaffrey y Endean (1985) relacionan las propiedades antibióticas de las esponjas con el antiepibiontismo, y sugieren que el hecho de que ciertas especies crezcan en ausencia casi total de organismos sobre su superficie, indica que de alguna manera impiden la fijación de larvas sobre ellos. Thompson (1985) demostró que exudados de la esponja *Aplysina fistularis* reducen la fijación de larvas, inhibiendo la metamorfosis de las larvas veliger en gasterópodos y además causando modificaciones del comportamiento de adultos. Es factible proponer que la relación de sustancias antiepibióticas con los antimicrobianos podría ser porque estos últimos inhiben el microepibiontismo (i.e. bacterias), y no permiten que se dé la sucesión de organismos colonizadores; aunque al parecer algunos compuestos antiepibióticos no poseen propiedades antimicrobianas (Bakus, et al., 1985). Otra explicación a las variaciones en los niveles de bioactividad de las esponjas, puede darse cuando los compuestos antimicrobianos son de amplio espectro y presentan actividades adicionales, tales como antidepredatorias y antiepibióticas, lo cual explica que un incremento en la depredación y/o epibiontismo en la temporada cálida, puede también favorecer respuestas preadaptativas en las esponjas (Green et al., 1985).

Se conoce que las sustancias antimicrobianas de las esponjas pueden afectar específicamente a ciertos microorganismos con los que tienen contacto (Burkholder, 1973; Lozano, 1988). Por otro lado se sabe que las bacterias Gram positivas presentan una mayor sensibilidad a los agentes antibióticos en comparación con las bacterias Gram negativas (Doetsch y Cook, 1973; Cota-Robles y

Ringo, 1982). Esta diferencia de sensibilidad se atribuye a que las bacterias Gram positivas no poseen la segunda membrana exterior que presentan las bacterias Gram negativas, la cual actúa como una barrera adicional que controla el paso de moléculas hacia dentro y fuera de la célula (Pelczar et al., 1977; Cota-Robles y Ringo, 1982) y que explica el que las Gram negativas puedan vivir en un amplio rango de condiciones ambientales (Sieburth, 1979) y sean las bacterias marinas más abundantes (Bakus et al., 1985). En el presente estudio la única bacteria Gram (+) utilizada para los bioensayos fue *Bacillus megaterium* (M4P1), la cual no mostró una sensibilidad marcadamente diferente a la acción antibiótica de la esponja, en relación a los niveles de sensibilidad que presentaron las demás cepas bacterianas (Fig. 4 a la 9), pero sí registró sensibilidad a la mayoría de los antibióticos comerciales que sirvieron como control (Fig. 15).

Los tipos de asociación que se pueden presentar entre la esponja y sus huéspedes son muy variados. Estas pueden ir desde el contacto temporal hasta la dependencia metabólica, siempre considerando que el hospedero representa el medio ambiente del simbiote (Venberg, 1974), y en el cual se pueden dar las interacciones que constituirán una comunidad ecológica (Westinga y Hoetjes, 1981).

A ciertos organismos se les puede atribuir una relación de comensalismo, como a los alfeidos (AL) y palaemónidos (PA), que aunque no se encuentran en grandes cantidades, siempre hay alguno de estos crustáceos en los canales de la esponja (incluyendo

hembras ovígeras) y muchas veces la superficie interna de la esponja presenta impresa la morfología del simbiote (obs. pers.), lo cual podría indicar que el hospedero funciona como refugio permanente. Otros organismos que pueden utilizar a la esponja como refugio son los ofiúridos (OP y OI), que se presentaron durante todo el periodo de estudio entre los intersticios de la esponja, y fue notable su presencia en abril y mayo de 1990, donde se aglomeraron unos sobre otros en densidades muy altas, lo que probablemente sea un comportamiento reproductivo.

También pueden presentarse relaciones mutualistas entre esponjas y ofiúridos, como el registrado para *Callyspongia vaginalis* y *Ophiothrix lineata*, donde el simbiote es un consumidor no selectivo de detritus adherido a la superficie de la esponja, que al ser eliminado pueden mejorar la capacidad de filtración del hospedero (Hendler, 1984). Esta misma forma de asociación se puede presentar con crustáceos pequeños, como con ciertos gamáridos (GA), copépodos (CO), isópodos (FA y AG), tanaidáceos (MO y DI) y algunos poliquetos, que tienen hábitos detritívoros y capturan partículas que pueden obstruir los conductos inhalantes de la esponja (obs. pers.).

Por otro lado, se ha determinado que existe una microdepredación de ciertos crustáceos, como en el caso del anfípodo *Paraaphithoe hystrix* que incide sobre la esponja *Ealiclona ventilabrum* (Oshel y Steele, 1985). Los cangrejos májidos (MJ), xántidos (XA), grápsidos (GR) y porcelánidos (PR) son comensales que funcionan como los mayores depredadores de la microcomunidad. Se ha observado que algunos de estos cangrejos

presentan un camuflaje que les permite ocultarse en cavidades de la esponja (obs. pers.) y dedicarse a esperar alguna presa (Wicksten, 1980; Sánchez-Vargas y Hendrickx, 1987). No se descarta que ciertos organismos puedan utilizar a la esponja sólo como refugio temporal, para protegerse de depredadores y hallan sido incluidas incidentalmente en el registro.

Existen registros que indican que los poliquetos están frecuentemente asociados a esponjas (Dauer, 1974). Poliquetos errantes como el sílido (**SY**) *Branchiosyllis oculata* pueden llegar a consumir partes blandas de ciertas esponjas (Pawlik, 1983), los cuales aparentemente utilizan el diente de la probóscide para perforar la pared corporal de su presa (Day, 1967 Cit. pos Bastida-Zavala, 1991). En el presente estudio se encontraron en abundancia organismos de este mismo género.

El grupo de los sílidos (**SY**) presenta características en común como es el cuidado parental de huevos (externos) que posteriormente tendrán desarrollo directo, así como una gran diversidad de formas reproductivas asexuales, como son los estolones, gemaciones o fenómenos de epitoquia (Wilson, 1991). Esto puede explicar la gran explosión demográfica que presentó este grupo en el mes de mayo de 1990. Con excepción de la alimentación suspensivora, los sílidos pueden ser caníbales, parásitos, detritívoros y herbívoros. Generalmente se les encuentra en los intersticios de la esponja, gracias a su pequeño tamaño (Fauchald y Jumars, 1977). Es probable que las especies de este grupo no sean necesariamente simbioses obligados, pero utilizan a la esponja como refugio y como área de reproducción, y

en el caso de *Branchiosyllis*, como una fuente de alimento (Bastida-Zavala, 1991).

Otro grupo importante de poliquetos es el de los oenónidos (OE), los cuales presentan un cuerpo alargado y flexible, con pocos apéndices y parapodios muy pequeños (Colbalth, 1989). Estas características corresponden a sus hábitos excavadores, además de que presentan un prostomio cónico (a modo de cuña) y un aparato mandibular robusto de naturaleza quitino-calcárea, que funciona cortando por fricción. En las muestras analizadas, se observó que horadan galerías para penetrar en el tejido de la esponja, pero no se presentan en todos los meses del estudio; por lo que se puede proponer que son parásitos o microdepredadores facultativos. Además es posible que utilicen a las esponjas como zonas de agregación para la reproducción (posiblemente relacionada con la temperatura). A diferencia de los sílidos, en los oenónidos la reproducción sexual es por desarrollo indirecto, donde las larvas salen de la esponja para cumplir con un estadio planctónico (Cobalth, 1989).

En este trabajo se observó que ninguno de los grupos, considerados como epibiontes incrustantes, tuvieron éxito en colonizar la superficie de la esponja. Así, los serpúlidos (SE) que poseen larvas oportunistas y que son constructores de tubos de carbonato de calcio, no presentaron una incidencia importante. Esto concuerda con lo reportado por Thompson (1985), quien establece que exudados de *Aplysina fistularis* reducen la fijación y causan la muerte de juveniles del poliqueto serpúlido *Salmacina tribranchiata*. Por otro lado, se encontró un sólo organismo del grupo de los balanos (BA), mientras que de moluscos bivalvos (BI)

solamente se encontraron juveniles.

Es notable que mientras las larvas de algunos comensales puedan reconocer a la esponja por quimiorrecepción de los metabolitos (Crisp, 1974), las larvas de otros organismos no sean viables al intentar establecerse en el mismo lugar. Considerando que la producción de un compuesto tóxico puede proveer de protección a un organismo, se presentan fenómenos de especialización que favorecen que en otros organismos surjan adaptaciones que les permitan asociarse al hospedero potencial (comensalismo, mutualismo y parasitismo). Las asociaciones resultantes involucran la búsqueda activa de los hospederos, donde los simbiosomas presentan respuestas altamente específicas a estímulos físicos y químicos, las cuales ayudan a mantener esta asociación (Davenport, 1955; Grant y Mackie, 1974). Al respecto Dimock y Davenport (1971) en estudios de comportamiento, encuentran que hay un reconocimiento químico específico de distintos hospederos por parte del poliqueto *Arctonoe pulchra*. Frith (1977) encuentra que dos especies de esponjas producen un factor químico que funciona como un atrayente específico para ciertas especies de anfipodos y cangrejos (comensales), mientras que Peattie y Hoare (1981) proponen que una especie de caprellidos *Caprella linearis* es químicamente atraída por la esponja *Halichondria panicea*. Por otro lado Crocker y Reiswig (1981) reportan un comportamiento similar en larvas de zoantidos para detectar a sus hospederos. Hamond y Wilkinson (1985) proponen un modelo para las interacciones de esponjas-comensales, basado en la observación del holotúrido *Synaptula lamperti* que es capaz de

ingerir y asimilar los exudados de la esponja *Iantella basta*.

Una posible explicación de como la esponja logra evitar que "huespedes indeseables" se desarrollen sobre de ella podria ser la alelopatía (ver Jackson y Buss, 1975). Así los aleloquímicos pueden ser utilizados de manera específica contra probables competidores por espacio y/o alimento, dentro de los cuales podemos citar a las anémonas (AN), bivalvos (BI), balanos (BA) y poliquetos (filtradores y suspensivos) como serpúlidos (SB), espiónidos (SP) y terebélidos (TB).

Un caso aparte es el opistobranquio *Tyrodina* sp. (TY), el cual se ha observado que es el único que ejerce una microdepredación directa sobre la superficie de *Aplysina fistularis* (Thompson, 1985), y puede llegar a poner su puesta de huevos directamente sobre la misma (obs. pers.). En experimentos con estos animales en el laboratorio se observó que las puestas dan origen a larvas véliger planctónicas (datos no publicados). Este molusco presenta un color amarillo intenso que se presume proviene de su dieta sobre las esponjas del género *Aplysina* (homocromía alimentaria), las cuales poseen el pigmento amarillo en su interior (Faulkner y Ghiselin, 1983) y la pigmentación puede tener una función de advertencia (aposemática) hacia posibles depredadores que asocien la coloración con cierto carácter defensivo o sabor desagradable (Ros, 1977). La adquisición de dichas defensas químicas en opistobranquios y nudibranquios también puede provenir de su dieta sobre las esponjas (Faulkner y Ghiselin, 1983; Pawlik et al., 1988). Al respecto, se observó que fragmentos de *Tyrodina* sp. pueden producir halos de inhibición en las pruebas de antibiosis (datos

no publicados) y que este organismo es capaz de tener vida libre lejos de la esponja (obs. pers.). Asimismo, en experimentos de laboratorio se observó que *Tylodina* sp. era atraída por los exudados de la esponja *Aplysina fistularis* (datos no publicados), lo que coincide con lo registrado por Elvin (1977), quien establece que existe una atracción química de la esponja *Ealiclona permolis* sobre el nudibranquio *Diaulula sandiegensis*.

En relación al tipo de compuestos que se pueden encontrar, se sabe que la mayoría de los compuestos bromados se han obtenido de esponjas del género *Aplysina*, en comparación con otros géneros (Cruz, 1988; Arrieta-Guzmán, 1990). Se ha propuesto que estos compuestos tienen un origen biosintético común relacionado con la 3,5-dibromotirosina (Tymiak y Rinehart, 1981). Cruz (1988) realiza una revisión química del género y encuentra que además de los compuestos halogenados derivados de la tirosina, se han aislado esteroides, carotenoides y derivados nitrogenados, algunos de ellos con propiedades bioactivas.

Dos de los compuestos que más han sido estudiados en esponjas del género *Aplysina* son la aerothionina y la homoaerothionina (Moody et al., 1972), que se encuentran en una proporción aproximada de 9.8 a 1, tanto en los exudados como en el organismo, aunque se han registrado variaciones individuales (Walker et al., 1985). Se ha demostrado que estas esponjas logran exudar de forma natural dichos compuestos, de esta manera se protegen del crecimiento de otros organismos sobre su superficie y del daño al tejido causado por animales móviles (Thompson, 1985). Se sabe también que en condiciones de estrés,



natural o artificial, estos organismos pueden incrementar sus tasas de liberación de exudados de 10 a 100 veces, y pueden mantener estos niveles durante un período considerable (Walker et al., 1985). Este fenómeno ha sido relacionado con la localización de estos compuestos en las células globulares, concentradas justo debajo del exopinacodermo y del endopinacodermo de los canales excurrentes de *Aplysina fistularis*, y se ha observado que algunas de estas células degeneran, liberando su contenido de sustancias bioactivas, las cuales, dependiendo de las condiciones, pueden ejercer actividades antimicrobianas, antiepibióticas o antidepredatorias (Thompson et al., 1983).

Los resultados de este estudio indican que la esponja *Aplysina fistularis* produce metabolitos de manera continua, pues siempre se encontró que poseía actividad antibiótica. También existe la probabilidad de que la esponja pueda modificar los mecanismos de producción de estas sustancias ante estímulos particulares. Es evidente que mientras los niveles de inquinilismo permanecieron bajos, la antibiosis registrada en la mayoría de las cepas no tuvo variaciones importantes. Es en los meses de marzo, abril y mayo de 1990, donde los organismos asociados incrementan sus densidades en las esponjas y en los que se obtienen los niveles más altos de antibiosis sobre las cepas *Vibrio* sp. (MMF6), *Pseudomonas vesicularis* (AL) y *Pseudomonas cepacia* (MAG). El incremento en el número de organismos puede responder a la utilización de las esponjas como áreas de reproducción y como consecuencia de esto, la atracción de organismos que funcionan como depredadores en esas

microcomunidades. Esto concuerda con lo propuesto por Christophersen (1991), quien señala que los metabolitos son expresados como resultado de un estímulo que interacciona con sistemas receptores específicos y remarca que cierto organismo puede producir distintos patrones de metabolitos (cuantitativa o cualitativamente) dependiendo de las situaciones en las que se encuentre en un momento dado. El hecho de que la cepa *Flavobacterium* sp. (M5P4) presente una baja en sus niveles de sensibilidad, precisamente en el mes donde se registró el valor máximo de antibiosis señalado anteriormente, hace suponer que probablemente exista un cambio tanto en la concentración de compuestos activos, como en el tipo de ellos.

De esta manera es factible proponer que cuando la esponja se enfrenta a condiciones de estrés ambiental relativamente bajas y estables, puede mantenerse sin problemas con las defensas químicas indispensables, como la liberación continua de compuestos de amplio espectro bioactivo y/o de aquellos compuestos que le resulten energéticamente económicos. Sin embargo la reproducción excesiva de los simbioses y la llegada de numerosos organismos a la esponja en un corto período de tiempo, puede ser un factor importante de estrés para la esponja, y representar a su vez un estímulo que desencadene la utilización de compuestos exclusivos que le permitan librar con éxito este tipo de situaciones ecológicas especiales, lo que concuerda con lo propuesto por Christophersen (1991) acerca del mecanismo de estímulo-respuesta y del carácter dinámico del patrón de metabolitos secundarios que pueden llegar a presentar organismos

con defensas químicas.

Con esta información se puede proponer un esquema simplificado que explique como una esponja puede responder, ante situaciones ecológicas distintas, mediante la liberación diferencial de dos compuestos que presenten características bioactivas específicas (Fig. 29).

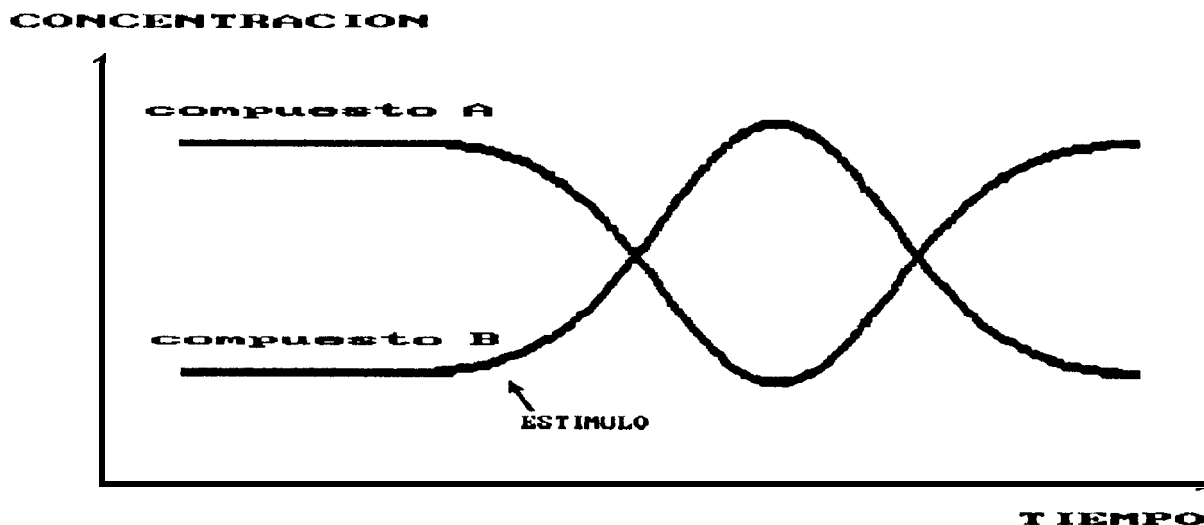
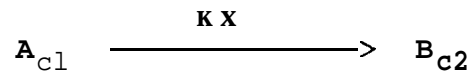


Figura 29. Esquema simplificado de la producción de **antibióticos** en la esponja.

Este esquema está basado en la suposición de que las posibles bioactividades de las esponjas sean debidas a la producción de dos o más compuestos y que la concentración de los mismos está directamente relacionada con la sensibilidad que muestre una cepa bacteriana determinada. Bajo estas consideraciones, la esponja puede responder a un estímulo dado con las posibilidades siguientes:

a) Cambio en las proporciones de los compuestos A y B en el tiempo, siendo estos de distinto origen biosintético; por lo que las distintas concentraciones serán debidas a respuestas metabólicas.

b) El compuesto A es precursor biosintético de B, presentandose que:



donde:  $A_{c1}$  = Concentración del compuesto A.

$B_{c2}$  = Concentración del compuesto B.

$Kx$  = Constante enzimática.

entonces dado que:  $Kx = B_{c2} / A_{c1}$

tenemos que:

- Si  $Kx$  decrece  $c1 \gg c2$  (A se acumulará)

- Si  $Kx$  se incrementa  $c1 \ll c2$  (A tenderá a transformarse en B)

c) Otra posibilidad es cuando el compuesto A presenta características fisicoquímicas, tales que pueda ser liberado la mayor parte del tiempo (compuestos polares); mientras que B, únicamente es liberado bajo ciertas condiciones, y se almacena en células especializadas (compuestos no polares).

Se ha propuesto que peces depredadores y raspadores, pudieron generar intensas presiones de selección que favorecieron la aparición y permanencia de defensas químicas en ciertos

invertebrados bénticos de los trópicos (Bakus, 1964; Bakus y Creen, 1974). Esta consideración puede ser aplicada a la especie de esponja utilizada en el estudio, pues nunca se observaron lesiones que pudieran haber sido ocasionadas por peces, los cuales también rechazan fragmentos de esponja en experimentos de alimentación (obs. pers.).

Por otro lado, es ampliamente conocida la tolerancia que pueden llegar a generar las poblaciones de insectos sobre cultivos agrícolas, cuando se les aplica un mismo insecticida en cada uno de los ciclos de siembra; o el surgimiento de cepas microbianas patógenas resistentes ante el uso indiscriminado de antibióticos, siendo de los grandes problemas en medicina. Análogamente, las esponjas no se pueden dar el lujo de presentar las mismas defensas químicas, para ejercer un control químico-biológico sobre las poblaciones de simbiontes, debido a la gran variedad de condiciones ecológicas que pueden sucitarse; de esta manera es probable que evolutivamente se hayan presentado los mecanismos que favorecieron la adquisición de un repertorio de armas químicas para la supervivencia.

## CONCLUSIONES

No se observó relación directa entre la temperatura del ambiente y los niveles de actividad antibiótica de la esponja *Aplysina fistularis*.

La actividad antibiótica de la esponja se presentó durante todo el período de estudio sobre las seis cepas de bacterias utilizadas.

Las cepas *Vibrio* sp. (MMF6), *Pseudomonas vesicularis* (AL) y *Psuedomonas cepacia* (MAG), presentaron mayores niveles de sensibilidad a los fragmentos de esponja en mayo de 1990, con respecto al resto de los meses.

Los organismos asociados a las esponjas (inquilinizismo) se encontraron presentes durante todo el año, incrementando sus densidades en febrero, marzo y abril de 1990, alcanzando el máximo en mayo de 1990.

Se encontró una correspondencia significativa entre la antibiosis de la esponja sobre las cepas *Vibrio* sp. (MMF6), *Pseudomonas vesicularis* (AL) y *Psuedomonas cepacia* (MAG), y los niveles de inquilinizismo ( $\Sigma IV_B$ ).

El aumento en la incidencia de los organismos asociados y de los eventos reproductivos registrados, está explicado por el incremento de la temperatura del ambiente.

## RECOMENDACIONES

Los resultados de este estudio indican la probabilidad de que la esponja *Aplysina fistularis*, presente cambios en el tipo y/o concentración de metabolitos secundarios, en relación a situaciones ecológicas específicas. Se puede recomendar que para investigaciones encaminadas a la búsqueda de sustancias bioactivas en organismos marinos, se consideren los aspectos de ecología química que ayuden a determinar las condiciones ambientales que incrementen las posibilidades de encontrar estructuras químicas de interés.

Es recomendable vincular estudios de este tipo con investigaciones en Farmacología y Biotecnología Marina, con la finalidad de optimizar esfuerzos y buscar la rentabilidad de estas disciplinas.

## SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS

Se sugiere hacer un seguimiento en el tiempo de los distintos metabolitos que presenta la esponja *Aplysina fistularis*, evaluando por medio de bioensayos sus posibles propiedades como son las bactericidas o bacterioestáticas, anticancerígenas, antiepibióticas, insecticidas y otras.

Realizar más trabajos encaminados al estudio de las propiedades ecológicas específicas presentadas por las sustancias químicas que se encuentran en los organismos marinos y que se sabe pueden presentar metabolitos de interés.

Estudiar la posible relación en la producción de sustancias antibióticas con el ciclo reproductivo de la esponja. Por otro lado, debido a que las esponjas son recursos potenciales, también son necesarios estudios de distribución y abundancia, así como de edad y crecimiento.



## GLOSARIO

**Antibiosis:** Capacidad de destruir o de inhibir el crecimiento de microorganismos.

**Alelopatía:** Efecto nocivo de un organismo sobre otro, provocado por la formación de productos metabólicos secundarios en el medio.

**Aleloquímico:** Perteneciente a una sustancia que actúa como agente interespecifico de comunicación.

**Amibocito:** Célula con movimiento ameboide.

**Apariencia:** Vulnerabilidad de un organismo a ser descubierto por sus enemigos.

**Aposematismo:** Mecanismo por el cual los animales adquieren una coloración brillante que los hace muy evidentes y conspicuos; coloración preventiva.

**Arqueocito:** Células amiboides en las esponjas que tienen una función variada.

**Bioactividad:** Acción de algunas sustancias sobre un ente biológico.

**Bioensayo:** Método para determinar la concentración de una sustancia por su efecto en el crecimiento de algún animal, planta o microorganismo bajo condiciones controladas.

**Biotecnología:** Conjunto de los conocimientos técnicos y científicos aplicados a la biología.

**Cianocitos:** Vacuolas especializadas de los arqueocitos.

**Coanocitos:** Tipo de célula única que tiene un flagelo rodeado de un delgado collar citoplásmico, característico de esponjas y de un grupo de protozoos.

**Comensalismo:** Es un tipo de relación simbiótica en el que una especie se beneficia mientras que la otra (huésped) ni se beneficia ni se perjudica.

**Ecología química:** Estudio de las propiedades ecológicas específicas, presentadas por las sustancias químicas que se encuentran en los organismos como respuesta selectiva al medio y a las relaciones inter e intraespecíficas.

**Epibiontes:** Organismos que viven en la superficie de plantas o animales.

**Espiculación:** Secreción mineral de las células de las esponjas que frecuentemente tienen forma de aguja y que sirve generalmente de soporte esquelético.

**Estrés:** Situación de agotamiento físico general de un individuo, producida por una alteración a su estado normal.

**Farmacología:** Tratado de los medicamentos y de su empleo.

**Feromona:** Sustancia producida por un animal que provoca una respuesta etológica específica en otro individuo generalmente de la misma especie.

**Homocromía alimenticia:** Fenómeno adaptativo en el cual los organismos reproducen en la superficie de su cuerpo la coloración del individuo del que se alimentan.

**Inquilinos:** Animales que habitan en otras especies.

**Mesohilo:** Capa situada debajo del pinacodermo que consta de una matriz de proteína gelatinosa que contiene el material esquelético y células amiboides.

**Metabolito:** Sustancias que intervienen en los procesos metabólicos como intermediarios en las vías de degradación y biosíntesis; en ocasiones establecen nexos entre diversas vías.

**Mutualismo:** Tipo de relación simbiótica en la ambas especies se benefician.

**Parasitismo:** Tipo de relación simbiótica en la que una especie (parásito) se beneficia de la relación, mientras que la otra (huésped) sufre ciertos daños.

**Pinacocito:** Tipo de célula aplanada y poligonal que se encuentra en la superficie epitelial de las esponjas y rodea los canales exhalantes.

**Pinacodermo:** Epitelio externo de las esponjas.

**Quimiorrecepción:** Capacidad de un individuo para ser estimulado por ciertas sustancias químicas, a través de receptores.

**Simbiosis:** Relación entre dos especies que puede ir desde una asociación casual hasta la búsqueda activa del hospedero y en donde el simbiote ha desarrollado respuestas altamente especializadas y específicas a estímulos físicos y químicos, lo cual sirve para mantener la asociación

## BIBLIOGRAFIA

- ALCOLADO, M.P., 1986. Las Esponjas. Editorial Científico Técnica. La Habana, Cuba. 56 pp.
- ALMODOVAR, L.R., 1964. Ecological Aspects of Some Antibiotic Algae in Puerto Rico. *Botánica Marina*, 6: 143-147.
- AMOUREUX, L., G. JOSEF y B. O'CONNOR. 1980. Annélides Polychètes de l'éponge *Fasciospongia cavernosa* Schmidt. *Cahiers de Biologie Marine*, Tome XXI. 387-392.
- ARRIETA-GUZMAN, J.J. 1990. Aislamiento y Determinación de la Estructura de un Metabolito Secundario con Actividad Antibacterial de la Esponja Marina *Aplysina* sp. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Baja California. 51 pp.
- BAKUS, G.J., 1964. The Effects of Fish-Grazing on Invertebrate Evolution in Shallow Tropicals Waters. Allan Hancock Foundation *Occ. Pap.*, 27: 1-29.
- BAKUS, G.J., 1981. Chemical Defense Mechanisms and Fish Feeding Behavior on the Great Barrier Reef, Australia. *Science*, 211: 497-499.
- BAKUS, G.J. y G. GRENN, 1974. Toxicity in Sponges and Holothurians: A Geographic Pattern. *Science*, 185: 951-953.
- BAKUS, G. B., B. SHULTE, S. JHU, M. WRIGHT, G. GREEN y P. GOMEZ, 1985. Antibiosis and Antifouling in Marine Sponges : Laboratory vs Field Studies. En: Rützler K. (ed.), **New Perspectives in** Sponge Siology. 3d Int. Sponge Conf. Smithsonian Institution Press. Washington, D.C. 102-107.
- BAKUS, G. J., N. M. TARGETT y B. SCHULTE. 1986. Chemical Ecology of Marine Organism : An Overview. *J. Chem. Ecol.*, 12 (5): 951-987.
- BASLOW, M. H., 1977. Marine Pharmacology. R. E. Kreiger Publishing Company. Huntinton, Nueva York. 327 pp.
- BASTIDA-ZAVALA, J.R., 1991. Poliguetos (Annelida: Polychaeta) del Sureste de la Bahía de La Paz, B.C.S., México: Taxonomía y Aspectos Biogeográficos. Tesis Profesional. Univ. Auton. de Baja California Sur. 158 pp.
- BERGQUIST, P. R., 1978. Sponges. Ed. Hutchinson & Co. (Publishers) Ltd. London. 268 pp.
- BERGQUIST, P. R. y J. J. BEDFORD., 1978. The Incidens of Antibacterial Activity in Marine Demospongiae; Systematic and Geographic Considerations. *Mar. Biol.*, 46. 215-221.

- BIERNBAUM, C.K., 1981. Seasonal Changes in the Amphipod Fauna of *Microciona* prolifera (Ellis and Solander) (Porifera: Demospongia) and Associated Sponges in a Shallow Salt-Marsh Creek. **Estuaries**, 4(2): 85-96.
- BOLAÑOS M. U. y A. A. GARDUNO, 1984. Estudio de las Sustancias con Actividad Antimicrobiana, Antifúngica e Ictiotóxica Extraídas de Organismos Marinos. Tesis Profesional, Fac. de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. 116 pp.
- BRADSHAW, L.J., 1979. Laboratory Microbiology. 3d. Ed. W. B. Saunders Company. Filadelfia. 343 pp.
- BRAEKMAN, J.C. y D. DALOZE., 1983. Los medicamentos del Mar. Mundo Científico, 26: 600-609.
- BRUSCA, R.C., 1980. **Common** Intertidal Invertebrates of the Gulf of California. 2nd ed. University of Arizona Press. Tucson. 422 pp.
- BURKHOLDER. P. R., 1973. Ecology of Marine Antibiotics and Coral Reefs. En: Biology and Geology of Coral Reefs. **Vol.II**. Academic Press, Londres. 117-183.
- BUSS, L., 1976. Better Living Through Chemistry: The Relationship Between Allelochemical Interactions and Competitive Networks. En: Harrison, F. y Cowden, R. (Ed.). **Aspects** of Sponge- Biology. Academic Press. Nueva York. 315-327.
- CASO, M.E., 1961. Los Equinodermos de México. Tesis Doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. 388 pp.
- CHAPMAN, U. J., 1979. Organic Chemicals from the Sea. **Chem. Tech.**, 484-450.
- CHRISTOPHERSEN, C., 1985. Secondary Metabolites from Marine Bryozoans. A Review. Acta **Chem. Scan.**, B39: 517-529.
- CHRISTOPHERSEN, C., 1991. Evolution in Molecular Structure and Adaptative Variance in Metabolism. Comp. Biocher. Physiol., **98B**(4): 427-432.
- CLEREZKO, L. J., 1977. Field Observation - Prelude to Discovery of Marine Natural Products. En: Marine Natural **Products** Chemistry.
- CRISP, D.J., 1974. Factors Influencing the Settlement of Marine Invertebrate Larvae. En: Chenoreception **in** Marine **Organisms**. Academic Press. Londres. 177-253.

- COLBALTH, G.K., 1989. Revision of the Family Lysaretidae, and Recognition of the Family Oeonidae Kinberg, 1865 (Eunicida: Polychaeta). **Proc. Biol. Soc. Wash.**, **102(1)**: 116-123.
- COTA-ROBLES, E.H. y D.L. RINGO. 1982. The Structure of the Bacterial Cell. En: Microbiology. Braude, A.I. (Ed.). W.B. Saunders Co. Filadelfia, PA. 1-8.
- CROCKER, L.A. y H.M. REISWIG., 1981. Host Specificity in Sponge-Encrusting Zoanthidea (Anthozoa: Zoantharia) of Barbados, West Indies. **Mar. Biol.**, **65**: 231-236.
- CRUZ, F. S., 1984. Sustancias Antimicrobianas de la Esponja *Ealiclona* sp. Tesis de Maestria. Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado del Colegio de Ciencias y Humanidades. Universidad Nacional Autónoma de México. 60 pp.
- CRUZ, F.S., 1988. Aislamiento y Elucidación de las Estructuras Moleculares de Metabolitos Secundarios de la Esponja *Aplysina* sp (Porifera: Aplysinidae) de Puerto Escondido, Oaxaca. Tesis de Doctorado. Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado del Colegio de Ciencias y Humanidades. Universidad Nacional Autónoma de México. 74 pp.
- DAUER, D.M., 1974. Polychaete Fauna Associated with Gulf of Mexico Sponges. **Florida Scientist**, **36(2-4)**: 193-197.
- DALES, R.P. 1971. Interrelations of Organisms. En: Treatise **ON Marine Ecology and Paleoecology**. Vol. 1. J.W. Hedgraph, ed. U.S.A. 391-412.
- DAVENPORT, D., 1955. Specificity and Behavior in Symbiosis. **Quart. Rev. Biol.**, **30(1)**: 29-46.
- DE LAUBENFELS, M.W., 1957. Marine Sponges. **Geol. Soc. America**, **1**: 1083-1086.
- DE LEON-GONZALEZ, J.A., S.J. SALAZAR-VALLEJO y H. SALAICES-POLANCO, 1989. Claves ilustradas para Familias y Géneros. En: Poliquetos (Annelida: Polichaeta) de **México**. Libros Univesitarios, Universidad Autónoma de Baja California Sur. 34-131.
- DER MARDEROSIAN, A. H., 1969. Current Status of Marine Biomedicinals. **Lloydia**, **32(4)**: 439-465.
- DER MARDEROSIAN, A. y LIBERTI., 1988. Marine Pharmacology: Drugs from the Sea. En: **Natural Products Medicine**. George F. Stickeley Co. Filadelfia. 185-231.

- DTMOCK, Jr. R.V. y D. DAVENPORT., 1971. Behavioral Specificity and the Induction of Host Recognition in a Symbiotic Polychaete. *Biol. Bull.*, 141: 472-484.
- DIXON, S.E., 1985. Discovering Cures from the Sea. *Sea Technology*, 26(12): 19.
- DOETSCH, R.N. y T.M. COOK. 1973. Introduction to Bacteria and their Kcobiology. University Park Press. Maryland, U.S.A. 371 pp.
- DOTY, M.S. y G.S. AGUILAR., 1970. Transfer of Toxic Substances in Marine Food Chains. *Pacific Science*, 24: 351-355.
- ELVIN, D.W., 1977. Feeding of a Dorid Nudibranch, *Diaulula sandiegensis* on the Sponge *Haliclona permollis*. *The Veliger*, 19(2): 194-198.
- ESCOBAR, E.G., 1983. Comunidades de Macroinvertebrados Bentónicos en Laguna de Términos, Campeche: Composición y Estructura. Tesis de Maestría. Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado del Colegio de Ciencias y Humanidades. Universidad Nacional Autónoma de México. 190 pp.
- FAUCHALD, K. y P.A. JUMARS., 1979. The Diets of Worms: A Study of Polychaete Feeding Guilds. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 17: 193-284.
- FAULKNER, J.D., 1977. Interesting Aspects of Marine Natural Products Chemistry. *Tetrahedron*, 33.: 1421-1443.
- FAULKNER, D.J. y M.T. GHISELIN, 1983. Chemical defense and Evolutionary Ecology of Dorid Nudibranchs and some Opisthobranch Gastropods. *Mar. Kcol. Prog. Ser.*, 13: 295-301.
- FAULKNER, J. D. y R. J. ANDERSEN, 1974. Natural Products Chemistry of the Marine Enviroment. *En: The Sea. Vol. V.* Ed. John Wiley & Sons. Nueva York. 679-714.
- FORBES, M.L. 1966. Life Cycle of *Ostrea permollis* and its Relationship to the Host Sponge *Stelletta grubii*. *Bulletin of Marine Science*. 16(2): 274-301.
- FRITH, D.W., 1977. A preliminary Analysis of the Associations of Amphipods *Microdeutopus damnoniensis* (Bate), *M. anomalus* (Rathke) and *Corophium sextoni* Crawford with Sponges *Halichondria panicea* (Pallas) and *Eymeniacion perleve* (Montagu). *Crustaceana*, 32(2): 113-118.
- FROST, T.M., 1980. Clearance rate determinations for the freshwater sponge *Spongilla lacustris*: Effects of temperature, particle type and concentration, and sponge size. *Arch Hydrobiol.*, 90(3): 330-356.

- GARCIA-MADRIGAL, M.S., 1991. Los Brachyura "Cangrejos **Verdaderos**" (Crustacea: Decapoda) de la Bahía de Maruata, Michoacaa, **México**. Tesis Profesional. Univ. Mich. de San Nicolás de Hidalgo. 92 pp.
- GOSNER, K.L., 1971. Guide to identification of **Marine** and Estuarine Invertebrates. John Wiley and Sons, Inc. Nueva York. 693 pp.
- GRANT, P.T. y A.M. MACKIE (Eds.), 1974. Chemoreception in Marine Organisms. Academic Press Inc. Londres LTD. 295 pp.
- GRANT, P.T. y A.M. MACKIE., 1977. Drugs from the Sea- Fact or Fantasy? *Natura*, 267: 786-787.
- GREEN G., 1977a. Antibiosis in Marine Sponges. FAO Fisheries Report. No. 200: 199-205.
- GREEN, G., 1977b. Ecology of Toxicity in Marine Sponges. *Mar. Biol.*, 40. 207-215.
- GREEN, G., P. GOMEZ y G. BAKUS, 1985. Antimicrobial and Ictiotoxic Properties of Marine Sponges from Mexican Waters. En: Rützler K. (Ed.). **New Perspectives in Sponge Biology**. 3d Int. Sponge Conf., Smithsonian Institution Press. Washington, D.C. 109-114.
- GUIDO, S., 1985. Aspectos Ecológicos de la Comunidad de Esponjas de la Bahía de **Mazatlán**, Sinaloa. Tesis Profesional, Universidad Autónoma de Guadalajara. 103 pp.
- HAMMOND, L.S. y C.R. WILKINSON, 1985. Exploitation of Sponge Exudates by Coral Reef Holothuroids. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 94: 1-9.
- HASHIMOTO, Y., 1979. Marine Toxins and Other Bioactive **Marine** Xetabolites. Japan Scientific Societies Press, Tokio, Japan. 369 pp.
- HAY, M E., J.F. DUFFY, C.A. PFISTER y W. FENICAL., 1987b. Chemical Defense against Different Marine Herbivores: Are Amphipods Insect Equivalents? *Ecology*, 68(6): 1567-1580.
- HAY, M.E., W. FENICAL y K. GUSTAFSON, 1987b. Chemical Defense Against Diverse Coral-Reef Herbivores. *Ecology*, 68(6): 1581-1591.
- HENDLER, G., 1984. The Association of *Ophiothrix lineata* and *Callyspongia vaginalis*: A Brittlestar-Sponge Cleaning Symbiosis? *Marine Ecology*, 5(1): 9-27.
- JACKSON, J.B.C. y L. BUSS, 1975. Allelopathy and Spatial Competition among Coral Reef Invertebrates. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, 72(12): 5160-5163.



- JAKOWSKA, S. y R.F. NIGRELLI, 1960. Antimicrobial Substances from Sponges. **Ann. N. Y. Ac. Soc.**, 90: 913-918.
- KEER, G. S., 1988. Selección antiricribiana de Esponjas, Cnidarios y Equinodermos Marinos, y Detección de Saponinas. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 63 pp.
- KING, R. D., 1982. Estudio sobre la Actividad Tóxica y Antimicrobiana de algunas Esponjas Marinas. Tesis Profesional, Universidad Nacional Autónoma de México. 40 pp.
- KINNE, O. (Ed), 1977. Marine Biology Vol. III. John Wiley & Sons. Londres. 627-640.
- KITTREDGE, J.S., F.T. TAKAHASHI, J. LINDSEY y R. LASKER, 1974. Chemical Signals on the Sea: Marine Allelochemicals and Evolution. **Fish. Bull. U.S.**, 74: 1-11.
- KONEMAN, E.W., S.T. ALLEN, V.R. DOWELL Jr. y H.M. SOMMERS, 1983. Color Atlas and Textbook of **Diagnostic Microbiology**. 2nd Edition. J.B. Lippincott Company.
- KOSCHMANN, J. R., 1969. Toxins as a Protective Mechanisms in Large West Indian Sponges. Organization for Tropical Studies. **Tropical Marine Biology**.
- LOZANO, C. R., 1988. Determinación de las Propiedades Antimicrobianas e Ictiotóxicas de Esponjas y Ascidas del Golfo de California y Caribe Mexicano. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 76 pp.
- MCCAFFREY, E. J. Y R. ENDEAN., 1985. Antimicrobial Activity of Tropical and Subtropical Sponges. **Mar. Biol.**, 89.: 1-8.
- MICHEL-REYNOSO, I.L., 1986. Variación Estacional de la Actividad **antibiótica**, del contenido de Materia Orgánica y Minerales de cuatro Esponjas de la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Guadalajara. 86 pp.
- MIERES, A.M., 1989. Estudio del significado Ecológico de los Heterocitos Secundarios de la esponja Marina *Aplysina fistularis* (antibiosis y aglutinación). Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. 65 pp.
- MOODY, K., R.H. THOMPSON, E. FATTORUSO, L. MINALE y G. SODANO, 1972. Aerothionin and Homo-aerothionin: Two Tetrabromo Spirocyclohexadienylisoxazoles from *Verongia* Sponges. **J. Chem. Soc. Perkin**, 1: 18-24.

- NIGRELLI, F.R., S. JAKOWSKA, I. CALVENTI, 1959. Ectionin an Antimicrobial Agent from the Sponje *Hicrociona prolifera*. Verril. 4001. Boa., 44: 173-176.
- ORDUÑA, O. C., 1980. Separación de las Sustancias Tóxicas de las Sustancias con Actividad **Antibiótica** en Dos Esponjas Marinas. Tesis Profesional. Universidad Femenina de México. 51 pp.
- OSHEL, P.E. y D.H. STEELE, 1985. Amphipod *Paramphithoe hystrix*: a Micropredator on the Sponge *Haliclona ventilabrum*. Marine Ecology, 23: 307-309.
- PARSONS, T.R., M. TAKAHASHI y B. HARGRAVE, 1984. Biological Oceanographio **Processes**. 3d Edition. Pergamon Press. Oxford, Inglaterra. 330 pp.
- PAWLIK, J.R., 1983. A Sponge-Eating Worm from Bermuda: *Branchiosyllis oculata* (Polichaeta, Syllidae). Marine Ecology, 4(1): 65-79.
- PAWLIK, J.R., M.R. KERNAN, T.F. MOLINSKI, M.H. HARPER y D.J. FAULKNER, 1988. Defensive Chemicals of the Spanish Dancer Nudibranch *Hexabranhus sanguineus* and its Egg Ribbons: Macrolides Derived from a Sponge Diet. J. Exp. Mar. Biol. **Ecol.**, 119: 99-109.
- PEARSE, A.S. 1934. Inhabitants of certain Sponges at Dry Tortugas. Papera fror Tortugas Laboratory of Carnegie Institution of Washington. 28(435): 119-124.
- PEATTIE, M.E. y R. HOARE, 1981. The Sublittoral Ecology of the Menai Strait II. The Sponge *Balichondria panicea* (Pallas) and its Associated Fauna. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 13: 621-635.
- PELCZAR, Jr., M.J., R.D. REID y E.C.S. CHAN. 1977. **Microbiology**. 4th ed. Mc Graw-Hill Book Co. Nueva York. 952 pp.
- PREMUZIC, E., 1971. Chemistry of Natural Products Derived from Marine Sources. Fortschr. Chem. Org. Naturst., 29: 417-488.
- REISWIG, H. M., 1975. Bacteria as Food for Temperate-Water Marine Sponges. Can. J. Zool., 53: 582-589.
- RIEGLE, N.E., 1982. (Pharmaceuticals, Antibiofoulants, Ripe for Exploitation) Marine Natural Products and their Application. Sea **Technology**, 23(4): 57.
- RIOS, J.L., M.C. RECIO y A. VILLAR, 1988. Screening Methods for Natural Products with Antimicrobial Activity: A Review of the Literature. Journal of Bthnopharmacology, 23: 127-149.

- RINEHART, K.L., 1988. Successes and Failures of Previous Efforts to Develop New Drug Lead from the Sea. En: Jefford, C.W., K.L. Rinehart y L.S. Shield (Eds.) Proceedings, Pharmaceuticals and the Sea. Fort Pierce, Florida. October 24-25. 1985. Technomic Publishing A.G. Lancaster, Pa. 3-15.
- RINEHART, K. L., Jr., P. D. SHAW. L. SHIELD, J. B. GLOER, G. C. HARBOUR, H. E. S. KOKER, D. SAMAIN, R. E. SWARTZ, A. A. TYMIAK, D. E. WELLER, G. T. CARTER, H. H. G. MUNROE, R. G. HUGES, Jr., R. E. RENIS, E. B. SWYEMBERG, D. A. STRINGFELLOW, J. J. VAVRA, J. H. CORTES, G. E. ZURENKO, S. L. KUENTZEL, L. H. LI, G. J. BAKUS, R. C. BRUSCA, L. L. CRAFT, D. N. YOUNG Y J. L. CONNOR, 1981. Marine Natural products as Sources of Antiviral, Antimicrobial and Antineoplastic Agents. **Pure Appl. Chem.**, 53: 795-815.
- ROS, J., 1977. La Defensa en los Opistobranquios. *Investigación y Ciencia*, 12: 48-60.
- SANCHEZ-VARGAS, D.P. y M.E. HENDRICKX, 1987. Utilization of Algae and Sponges by Tropical Decorating Crabs (Majidae) in the Southeastern Gulf of California. *Rev. Biol. Trop.*, 35(1): 161-164.
- SCHEUER, P. J., 1973. **Chemistry of Marine Natural Products**. Academic Press, Nueva York. 201 pp.
- SIEBURTH, J.M. 1979. **Sea Microbes**. Oxford University Press. Nueva York. 491 pp.
- SMITH, R.I. y J.T. CARLTON (Eds.), 1975. **Light's Manual: Intertidal Invertebrates of the Central California Coast**. 3d ed. University of California Press. San Diego 721 pp.
- THOMPSON, J.E., 1985. Exudation of Biologically-Active Metabolites in a Sponge (*Aplysina fistularis*). 1. Biological Evidence. *Mar. Biol.*, 88: 23-26.
- THOMPSON, J.E., K.D. BARROW y D.J. FAULKNER, 1983. Localization of Two Brominated Metabolites, Aerothionin and Homoaerothionin, in Spherulous Cells of the Marine Sponge *Aplysina fistularis* (= *Verongia thiona*). *Acta Zoologica* (Stockh.), 64(4): 199-210.
- TUCKER, J. B., 1985. Biotechnology Goes to the Sea. *High Technology*. 34-44.
- TYMIAK, A.A. y K.L. RINEHART, Jr., 1981. Biosynthesis of Dibromotyrosine-Derived Antimicrobial Compounds by the Marine Sponge *Aplysina fistularis* (*Verongia aurea*). *J. Am. Chem. Soc.*, 103(22): 6763-6765.

- VENBERG, W.B. (Ed.), 1974. **Symbiosis in the Sea**. University of South Carolina Press. Columbia, Carolina del Sur. 276 pp.
- WALKER, R.P., J.E. THOMPSON y D.J. FAULKNER, 1985. Exudation of Biologically-Active Metabolites in the Sponge *Aplysina fistularis* II. Chemical Evidence. **Mar. Biol.**, 88: 27-32.
- WASHINGTON II, J.A., 1988. Current Problems in Antimicrobial Susceptibility Testing. **Diag. Microbiol. Infect. Dis.**, 9: 135-138.
- WELLS, H.W., 1959. Boring Sponges (Clionidae) of Newport River, North Carolina. **J. of the Blisha Mitchell Scientific Society**, 75(2): 168-173.
- WESTINGA, E. y P.C. HOETJES, 1981. The Intrasponge Fauna of *Sphaciospongia vesparia* (Porifera, Demospongiae) at Curacao and Bonaire. **Marine Biology**, 62: 139-150.
- WICKSTEN, M.K., 1980. Cangrejos Decoradores. **Invest. y Ciencia**, 43: 102-108.
- WILKINSON, C.R., 1978a. Microbial associations in sponges. 1. Ecology, physiology and microbial populations of coral reef sponges. **Marine Biology**, 49: 161-167.
- WILKINSON, C.R., 1978b. Microbial associations in sponges. II. Numerical analysis of sponge and water bacterial populations. **Marine Biology**, 49: 169-176.
- WILKINSON, C.R., 1978c. Microbial associations in sponges. III. Ultraestructure of the *in situ* associations in coral reef sponges. **Marine Biology**, 49: 177-185.
- WILKINSON, C.R. y R. GARRONE. 1980. Nutrition of marine sponges. Involvement of symbiotic bacteria in the uptake of dissolved carbon. **En**: Smith D.C. y Y. Tiffon (Eds.) **Nutrition in the lower Metazoa**. Oxford, Pergamon Press. 157-161.
- WILKINSON, C.R, R. GARRONE y J. VACELET, 1984. Marine Sponges discriminate between Food Bacteria and Bacterial Symbionts: Electron Microscope Radioautography and *in situ* evidence. **Proc. R. Soc. Lond.**, 220.: 519-528.
- WILSON, W.H., 1991. Sexual Reproductive modes in Polychaetes: Classification and Diversity. **Bull. Mar. Sci.**, 48(2): 500-516.
- WOOD, R., 1990. Reef-Building Sponges. **American Scientist**, 78(3): 224-235.

- WURZIAN, R.S. 1977. Predator-Prey Interaction between the Crab *Pilumnus hirtellus* (Leach) and the Brittle Star *Ophiothrix quinquemaculata* (D. Chiaje) on a Mutual Sponge Substrate. *Proc. 11th Europ. Mar. Biol. Symp.* Oxford. 613-620.
- YASUMOTO, T., M. TANAKA y Y. HASHIMOTO, 1966. Distribution of Saponin in Echinoderms. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 32(8): 673-676.
- ZABI, S.G., 1984. Role de la Biomasse dans la Determination de l'"Importance Value" pour la Mise en Evidence des Unites de Peuplements Benthiques en Lagune Ebrie (Cote D'Ivoire). *Doc. Sc. Cent. Rech. Océanog.* Abidjan, 15(1): 55-87.
- ZOBELL, C.E. 1941. Studies on Marine Bacteria. 1. The Cultural Requirements of Heterotropic Aerobes. *J. Marine Research*. 4: 42-75.

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE  
CIENCIAS MARINAS  
**BIBLIOTECA**  
**I.P.N.**  
DONATIVO