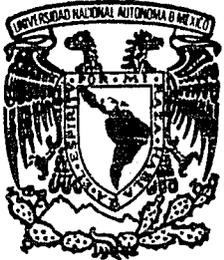


107  
lej



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

## FACULTAD DE CIENCIAS

DETERMINACION DE LAS PROPIEDADES  
ANTIMICROBIANA E ICTIOTOXICA DE  
ESPONJAS Y ASCIDIAS DEL GOLFO DE  
CALIFORNIA Y CARIBE MEXICANO

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**B I O L O G O**  
P R E S E N T A :  
**CRUZ LOZANO RAMIREZ**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Objetivos.....	10
Antecedentes.....	11
Areas de Colecta.....	13
Material y Método.....	20
Resultados.....	24
Discusión.....	47
Conclusiones.....	65
Literatura Citada.....	66

## RESUMEN

Se efectuó la determinación de las propiedades bactericidas, antifúngicas e ictiotóxicas de 123 especies de organismos que comprendieron 99 especies de esponjas y 15 de ascidias.

Los organismos fueron recolectadas en el Golfo de California y en el Mar Caribe Mexicano. En cada una de estas localidades se efectuaron 2 recolectas, una en la estación cálida y otra en la estación fría, con el propósito de evaluar el impacto de factores ambientales como la latitud y la oscilación térmica anual en la producción de semioquímicos.

Se observó que la actividad ictiotóxica fué menor en promedio en el Golfo de California (43.3%) que en el Mar Caribe (52.7%) y en ambas zonas estos fueron mayores durante la temporada cálida.

La actividad bactericida se comportó en forma similar a la ictiotoxicidad, presentando una relación directa con la temperatura en ambas zonas de colecta. La actividad fué mayor contra las bacterias patógenas Gram-positivas que contra las bacterias patógenas Gram-negativas.

Los microorganismos más resistentes a los semioquímicos producidos por las esponjas y por las ascidias fueron los hongos.

## ABSTRACT

The following investigation was a determination of bactericide, antifungic and ichthyotoxic properties of 123 organisms that included 99 species of sponges and 15 species of ascidians.

The organisms were collected from the Gulf of California and the Mexican Caribbean Sea with the aim of evaluating the influence of latitude in relation to semiochemical production. Two collections were made in each of these areas, one collection during the winter and another during the summer, in order to evaluate the impact of environmental factors like annual thermic oscillation on semiochemical production.

It was determined that the ichthyotoxic activity was less in average in the Gulf of California (43.3%) than the Caribbean Sea (52.7%), and in both areas the averages were highest during the warm season.

The bactericide activity was similar to the ichthyotoxicity, showing a direct relation with temperature. The activity was highest in pathogenic Gram-positive bacteria than pathogenic Gram-negative bacteria, in each collection area.

The most resistant microorganism to the semiochemicals were the pathogenic fungi.

## INTRODUCCION

El mar es un constituyente de importancia fundamental en la dinámica que hace posible la vida en la Tierra, la superficie total de esta es de 510 millones de Km<sup>2</sup>, los océanos corresponden a un 71%, lo que equivale a un volumen de 1322 millones de Km<sup>3</sup> (Margalef, 1981). Esta relación da una idea de la magnitud del mar respecto a las tierras emergidas. Pero no es sólo por su gran tamaño que el mar es importante, sino porque en él se llevan a cabo una miríada de ciclos biogeoquímicos, mantiene una cantidad enorme de biomasa, además de muchos otros aspectos de suma importancia (Bolin, 1976; Penman, 1976; Deevey, 1982; Hutchinson, 1982; Oort, 1982; Woodwell, 1982). La diversidad del mundo viviente es sorprendente, se estima que actualmente existen alrededor de 10 millones de especies (Margulis, 1981) de las cuales Wyatt (1976) estima que unas 200,000 especies diferentes de plantas y animales habitan en el medio marino, estas cifras nos dan una aproximación de la diversidad del mar respecto a la tierra.

A lo largo de su evolución algunas especies han desarrollado sustancias con propiedades tóxicas, antimicrobianas o con alguna otra actividad biológica (Ehrlich y Raven, 1967; Brower, 1969; Bakus, 1971, 1981; Bakus y Green, 1974; Green, 1977a) lo que ha originado un área de estudio muy importante, la biofarmacología. Así, desde tiempos muy remotos el hombre ha usado principalmente plantas terrestres para aliviar algunas de sus enfermedades o bien en ceremonias religiosas debido a que tales plantas presentan sustancias alucinógenas o con alguna otra actividad biológica considerada útil (Schultes, 1982). La biofarmacología terrestre ha provisto a la humanidad de muchas drogas capaces de controlar infecciones y tumores neoplásicos, de promover regeneración celular, de ayudar en el tratamiento de procesos cardiovasculares degenerativos o de ayudar a restaurar las funciones del sistema nervioso (Baslow, 1977).

Ahora el mar surge también como una enorme fuente potencial de sustancias con actividad biológica como son los antimicrobianos y otros tipos de fármacos. En comparación con los más de 1,100 productos quimioterapéuticos obtenidos de organismos terrestres (Baslow, 1977) los obtenidos de organismos marinos que tienen una amplia distribución médica no pasan de una docena (Youngken y Shimizu, 1975). Esto se debe principalmente a que la investigación en biofarmacología marina es aún incipiente.

Dentro de los Phyla y Divisiones marinos en los que se ha estudiado la presencia de sustancias con actividad biológica, tenemos desde los relativamente simples procariontes, hasta los complejos vertebrados. Los microorganismos terrestres, principalmente bacterias y hongos son los principales productores de antibióticos y es probable que los microorganismos marinos cumplan un papel similar (MacLeod, 1965 vide Baslow, 1977). Algunas bacterias marinas que han sido estudiadas por poseer alguna sustancia con actividad biológica interesante son Pseudomonas bromoutulis de la que se aisló el 2-(3,5-dibromofenil)-3,4,5 tribromopirrol, un pirrol con 5 átomos de bromo; P. piscida que mostró actividad neurotrópica; Vibrio marinus con actividad antiviral (Baslow, 1977); Flavobacterium spp con actividad bactericida y antifúngica; Anabaena cylindrica de la que se han aislado promotores del crecimiento como vitamina B 12, etc. (Youngken y Shimizu, 1975).

Otro grupo farmacológicamente importante es el de los Protista y tal vez el ejemplo más espectacular de las toxinas que producen está dado por las mareas rojas, que no son más que el crecimiento explosivo de poblaciones de dinoflagelados, principalmente de los géneros Gonyaulax, Gymnodinium y Pycnodinium (Halstead, 1978). Este fenómeno es particularmente notorio en Gymnodinium brevis que prolifera periódicamente y es causa de mortandad de peces. En este organismo parece que existe más de un tóxico. Dentro de la especie Gonyaulax tamarensis existen razas geográficas de diferente toxicidad (Margalef, 1982). La saxitoxina que se ha identificado como una de las sustancias tóxicas en G. tamarensis actúa a nivel del sistema nervioso central, produciendo parálisis parcial o total provocando la muerte por falla respiratoria (Halstead, 1978, 1980).

El Phylum Porifera también posee una multitud de sustancias tóxicas y/o antimicrobianas, siendo la mayoría de estos productos ciclohexadienos bromados y fenoles polihidroxibromados; algunos son derivados de acetamidas y dihidroxiindoles (Youngken y Shimizu, 1975). Algunas esponjas producen dermatitis en los humanos, causadas probablemente por el efecto mecánico de las espículas o por las sustancias que contienen, como sucede con las especies Tedania ignis y Fibula nolitangere (Halstead, 1978). El mismo autor enlista algunas especies de esponjas reportadas como tóxicas:

Clase Demospongiae  
 Familia Callyspongiidae: Callyspongia vaginalis  
 Familia Desmacidonidae: Fibula nolitangere;  
 Microciona prolifera  
 Familia Dysideidae: Dysidea etheria  
 Familia Halicionidae: Haliciona viridis;

Hemectyon ferox

Familia Spirastrellidae: Spheciospongia vesparia

Familia Spongiidae: Ircinia fasciculata

Familia Suberitidae: Pseudosuberites      pseudos;

Suberites dumunculus

Familia Tedaniidae:      Tedania      ignis;

Tedania toxicalis

Los Cnidarios son otro grupo que llama la atención ya que a el pertenecen los organismos probablemente más tóxicos del mar. Algunos de los géneros de corales que han sido reportados como tóxicos son Lemnalia, Nephtea, Sarcophyton, Cespitularia etc., (Coll, 1982); también las anémonas producen sustancias tóxicas como Stoichactis helianthus (Bernheimer y Aviged, 1976), así como todas las medusas (Baxter y Marr, 1969; Crone y Keen, 1971; Calton y Burnett, 1973) y son precisamente estas últimas las más tóxicas del grupo, considerándose a los géneros Chironex, Chiroopsalmus, Carybdea y Chirodropus como los más peligrosos (Halstead, 1978). Se han aislado los nematocistos de Chironex fleckeri y determinado la toxina, la cual corresponde a proteínas y péptidos (Youngken y Shimizu, 1975).

Existen moluscos venenosos, especialmente los gasterópodos de las familias Conidae, Muricidae, Trachidae, Aplysiidae y Haliotidae (Baslow, 1977). Los cefalópodos también presentan toxinas como el pulpo de anillos azules Hapalochlaena maculosa cuya picadura es capaz de producir la muerte (Croft y Howden, 1972). Los pelecípodos Crassostrea gigas, Iridacnias gigas y otros han sido reportados como tóxicos (Halstead, 1978).

Otro Phylum farmacologicamente importante es el de los Equinodermos de cuyos representantes tóxicos están la estrella de mar Acanthaster planci, el erizo Diadema antillarum, la holoturia Holothuria tubulosa, etc., (Halstead, 1978).

Finalmente otro grupo de importancia por poseer sustancias biologicamente activas son los vertebrados. Los peces poseen diversos tipos de toxinas, como la tetradotoxina que es producida por los peces de la familia Tetraodontidae. Entre los peces más conocidos por producir la ciguatera están la morena Symnothorax flavimarginatus; los escombridos Acanthocybium solandri (peto), Scomberomorus cavalla (sierra); los clupeidos Harengula humeralis (sardina de ley o de oreja roja), H. ovalis (sardina); los caránjidos Caranx latus (jurel), C. lugubris (cavalla); el lutjánido Lutjanus aya (pargo dorado); el mugílido Mugil cephalus (liza cabezuda); los serránidos Epinephelus guttatus (mero),

Myxeroperca venenosa (cabrilla), etc. Entre los peces venenosos están los peces escorpión Brachirus zebra, Scorpaena porcus; las rayas Dasvatis longus, Urolophus halleri; las quimeras o peces bruja Chimaera monstrosa e Hidrolagus colliei; los peces sapo Opsanus tau, Thalassophryne dowi, etc., (Halstead, 1978). Otro grupo de vertebrados marinos venenosos son las serpientes como Hydrophis obscuris, Lapemis hardwicki y Pelamis platurus, entre otras (Pickwell et al., 1972; Halstead, 1978).

Existen otros grupos de invertebrados marinos que han desarrollado sustancias biologicamente activas, pero no son tan numerosos o importantes.

Algunos de los organismos mencionados constituyen un problema de salud pública, sobre todo en países tropicales costeros donde una alta tasa de peces potencialmente ciguatóxicos son consumidos.

La tabla 1 señala algunas de las toxinas más poderosas que el hombre conoce.

La toxicidad de los organismos marinos no es la única razón por la que se les estudia, precisamente estas sustancias son causa de interés farmacológico hoy día, ya que la aparición de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos convencionales conjuntamente al surgimiento de enfermedades totalmente nuevas, refuerzan la necesidad de encontrar sustancias antimicrobianas o con alguna otra actividad biológica que complementen o substituyan a los fármacos ortodoxos (Arehart, 1969; Cairns y Olmsted, 1973; Biedebach et al., 1978; Kaul, 1979).

La tabla 2 señala algunas de las sustancias de origen marino en actual uso farmacológico.

Un aspecto nuevo y todavía poco conocido es el papel ecológico que tienen estas sustancias, ¿qué función tienen?, ¿cómo y a qué nivel actúan?, ¿qué fuerzas las han seleccionado? son preguntas contestadas sólo parcialmente. Bakus (1971) sugiere que estas sustancias tienen una función defensiva y que aparecieron por presiones de selección del tipo depredador-presa en los organismos sésiles marinos. También se ha estudiado la transferencia de sustancias tóxicas de un organismo a otro a través de la trama trófica (Doty y Aguilar, 1970), como sucede en el caso del peleleópodo Mya arenaria que al alimentarse de dinoflagelados incorpora la saxitoxina (Buckley et al., 1976).

El conocimiento de la función ecológica de estas sustancias ofrece diversos usos potenciales como la fabricación de repelentes contra tiburones (Bakus, 1983; Bakus et al., 1983), de pinturas que eviten el crecimiento de epibiontes en los cascos de los barcos o en los pilotes de los muelles. También son una herramienta poderosa en la determinación taxonómica a nivel de especie, disciplina conocida como quimiotaxonomía (Lee y Gilchrist, 1985).

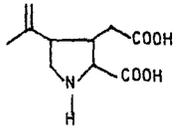
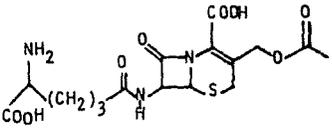
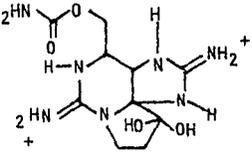
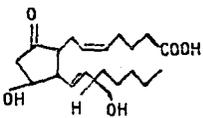
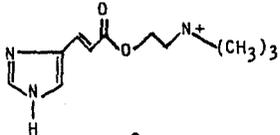
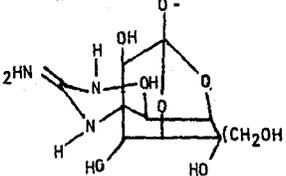
TABLA 1: TOXICIDADES RELATIVAS DE LAS TOXINAS MAS PODEROSAS QUE SE CONOCEN  
(Halstead, 1978)

TOXINA	DOSIS LETAL MINIMA (mg/Kg).	FUENTE	PESO MOLECULAR
•Botulinotoxina	0.00003	bacteria: <u>Clostridium botulinum</u>	900,000
•Tetanotoxina	0.00010	bacteria: <u>Clostridium tetani</u>	100,000
•Ricino	0.02000	fanerógama: <u>Ricinus communis</u>	-----
•Paliotoxina	0.15000	anémona: <u>Palythoa spp</u>	33,000
•Crotalotoxina	0.20000	serpiente: <u>Crotalus atrox</u>	-----
•Cobraneurotoxina	0.30000	serpiente: <u>Naja naia</u>	-----
•Difteriotoxina	0.30000	bacteria: <u>Corynebacterium diptheridae</u>	72,000
Veneno Kokoi	2.70000	sapo: <u>Phyllobates bicolor</u>	400
Taricatoxina	8.00000	lagartija: <u>Taricha torosa</u>	319
Tetrodotoxina	8-20.00000	pez: <u>Sphaeroides rubripes</u>	319
Saxitoxina	9.00000	dinoflagelado: <u>Gonyaulax catenella</u>	372
Bufotoxina	390.00000	sapo: <u>Bufo vulgaris</u>	757
Strichnina	500.00000	fanerógama: <u>Strychnos nux-vomica</u>	334
Curare	500.00000	fanerógama: <u>Chendodendron tomentosum</u>	696
Muscarina	1,100.00000	hongo: <u>Amanita muscaria</u>	210
Samandarina	1,500.00000	salamandra: <u>Salamandra maculosa</u>	397
Dilsopropil- fluorurofosfato	3,000.00000	gas sintético de guerra	34
Cianuro de sodio	10,000.00000	veneno inorgánico	49

• = protefna

TABLA 2: SUSTANCIAS MARINAS EN ACTUAL USO FARMACOLOGICO.

(Modificado de Baslow 1977 y Cruz 1984).

ESTRUCTURA	NOMBRE	FUENTE	BIOACTIVIDAD
	Acido kainico	platelminto: <u>Digenea</u> <u>herbacea</u>	antihelmfntico
	Cefalosporina C	hongo: <u>Cephalosporium</u> <u>acremonium</u>	antibacteriano
	Saxitoxina	dinoflagelado: <u>Gonyaulax</u> <u>catenella</u>	tóxico, paralizante, hipoténsico.
	prostaglandina (15 S)-PGE <sub>2</sub>	coral: <u>Plexaura</u> <u>homomalla</u>	hipoténsico cardiovas cular, estimulante del músculo liso.
	murexina	molusco: <u>Murex</u> <u>trunculus</u>	relajante muscular
	tetrodotoxina	pez: <u>Sphoeroides</u> <u>rubripes</u>	neurotóxico, hipoténsico.
$CH_3(CH_2)_{14}CH_2OH$	alcohol cetílico	pez: <u>Ruvettus</u>	purgantes
$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7CH_2OH$	alcohol oleílico	<u>pretiosus</u>	
Proteína de alto peso molecular	insulina	ballena de esperma <u>Physeter catodon</u>	hipoglicémico.

## OBJETIVOS

México es un país afortunado que cuenta con 10,000 Km de litorales. Debido a esto el mar debe ser un factor decisivo en el desarrollo de nuestro país. Además la aparición de nuevas cepas de microorganismos resistentes a los antibióticos tradicionales hace imperiosa la necesidad de encontrar nuevas sustancias que nos ayuden a controlar estas nuevas enfermedades. Lo anteriormente citado justifica los objetivos perseguidos en este trabajo:

1.- Determinar la presencia de sustancias con actividad bactericida y antifúngica en esponjas y ascidias.

2.- Determinar el grado de ictiotoxicidad de las sustancias anteriormente citadas, usando para esto peces de agua dulce del genero Lebistes.

3.- Evaluar la importancia de factores abióticos como la temperatura y/o la estacionalidad anual en la biosíntesis de estos metabolitos.

4.- Ayudar a entender el papel ecológico que dichas sustancias desempeñan en los organismos que las poseen y en su comunidad.

5.- Proporcionar un estudio preliminar que oriente nuevos proyectos enfocados al aprovechamiento pleno y racional de estos recursos.

## ANTECEDENTES

A pesar de que desde tiempos remotos el hombre ha conocido las propiedades tóxicas y/o venenosas de algunos organismos marinos, la investigación química, farmacológica y ecológica relacionada con estas es relativamente reciente. Richet (1906) *vide* Halstead (1978) fué el primero en demostrar que el extracto alcohólico de la esponja marina Suberites domunculus produce efectos deletéreos cuando es inyectado a animales de laboratorio. En 1932 De Laubenfels observó que la esponja Tedania toxicalis causa efectos nocivos en otros organismos marinos cuando ambos elementos conviven en un mismo estanque. El mismo autor en 1936 encontró que Tedania ignis y Fibula nolitangere producen una dermatitis severa casi instantaneamente después de tener contacto con la piel humana (Halstead, 1965).

Posteriormente se ratificó que las esponjas producen sustancias que causan dermatitis, así como otros tipos de toxinas y sustancias olorosas (Yaffee y Stargardter, 1963 *vide* Baslow, 1977).

Los análisis científicos referentes a sustancias bioactivas producidas por esponjas se remonta a principios del siglo XX. Uno de los campos que actualmente está siendo desarrollado se refiere a la dilucidación de la estructura química de estos compuestos, encontrándose algunos tan sencillos como la Aeroplysina 1 (Cosulich y Lovell, 1971) hasta complicadas proteínas como la Suberitina (Cariello y Zanetti, 1979; Cariello *et al.*, 1980). Los grupos químicos a los que pertenecen algunas de las sustancias hasta ahora analizadas son derivados de pirroles (Chib, 1977), acetamidas (Chib *et al.*, 1978), ciclohexadienos (Cosulich y Lovell, 1971; Youngken y Shimizu, 1975), esteroides (Minale, 1976), fenoles (Youngken y Shimizu, 1975), lípidos (Youngken y Shimizu, 1975; Higgs y Faulkner, 1978), lectinas (Bretting *et al.*, 1981), alcaloides (Sharma y Burkholder, 1971), terpenos (Minale, 1976), etc. Estos compuestos poseen en muchas ocasiones uno o mas átomos de bromo (Youngken y Shimizu, 1975; Minale, 1976).

La composición química de estas sustancias es muy variada, al igual que su bioactividad. Ruggieri, *et al.* (1961) encontraron que los extractos de algunas esponjas son capaces de producir aberraciones en el desarrollo de huevos del erizo Arbacia punctulata, Carter y Rinehart (1978) notaron que el extracto de la esponja Acarus erithacus inhibe la proliferación del virus Herpes simplex tipo 1,

Baldo et al. (1977) encontraron que la esponja Axinella polyoides contiene sustancias hemoaglutinantes. Se han encontrado compuestos citotóxicos en gran variedad de esponjas (Chib, 1977; Lad et al., 1978; Yasuda y Tada, 1980), así como hemolíticos (Lad et al., 1978). También se han detectado sustancias antineoplásicas (Hollenbeak y Schmitz, 1978). En la esponja Dysidea avara se localizó un compuesto con propiedades citoestabilizantes (Muller et al., 1985).

Otro aspecto recientemente desarrollado es la detección de la actividad antimicrobiana de estas sustancias. Se considera pionero al trabajo de Nigrelli et al. (1959) quién observó que el extracto crudo de la esponja Microciona prolifera inhibe el crecimiento de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas así como del hongo Candida albicans. Después de este trabajo aparecieron otros donde las pruebas antimicrobianas fueron más sofisticadas usando en algunos casos una gran variedad de microorganismos e implementando también pruebas de toxicidad (Burkholder y Ruetzler, 1969; Andersen y Faulkner, 1973; Green, 1977 b; Higgs y Faulkner, 1978; Sullivan et al., 1981; Sokoloff et al., 1982).

Recientemente las investigaciones realizadas pretenden encontrar la función ecológica que tienen estas sustancias. Se ha planteado la hipótesis de que la latitud, la temperatura, la diversidad biológica, etc. son factores importantes en la producción de compuestos bioactivos en algunos organismos marinos (Bakus y Green, 1974; Green, 1977 a; Bergquist y Bedford, 1978). También se ha postulado que estas sustancias pueden tener una función antiepidemiológica o facilitar el establecimiento de una simbiosis en las esponjas que las producen (Bergquist y Bedford, 1978; Wilkinson, 1978 a, b; Bakus et al., 1983; McCaffrey y Endean, 1985; Thompson et al., 1985). Otros trabajos han abordado el problema de como aparecieron y como se seleccionaron tales sustancias (Bakus y Green, 1974; Green, 1977 a; Bakus y Thun, 1978).

Existen trabajos relacionados con la producción de sustancias bioactivas con una posible función ecológica en otros organismos marinos sésiles como las ascidias. La mayoría de las evidencias encontradas en estas investigaciones concuerdan en atribuir una función defensiva para estas sustancias en estos cordados (Stoecker, 1978, 1980 a, b).

## AREAS DE COLECTA

Golfo de California: se encuentra al extremo noroeste de México, al este colinda con el macizo continental y al oeste con la Península de Baja California. La boca del golfo está localizada a los 23° N. Representa un volumen total de aproximadamente 123,000 Km<sup>3</sup> y una superficie de 150,000 Km<sup>2</sup> (Roden y Emilson, 1980).

El clima del Golfo de California es predominantemente continental en virtud del efecto aislante de montañas de hasta 3 Km de altura en la península (Brusca, 1980). El Golfo de California es una provincia con un patrón de temperaturas y de corrientes marinas extremadamente dinámico que varía estacionalmente. Del mes de octubre a junio la temperatura de la zona sur del golfo es más cálida que en el norte; de junio a septiembre la temperatura más alta se registra en las costas de Sonora y Sinaloa. En octubre la situación se invierte siendo más cálidas las aguas de la costa de la península (Alvarez-Borrego, 1983). El golfo ha sido dividido en secciones, cada una de las cuales tiene un comportamiento propio y particular, así en el mes de octubre las temperaturas de las aguas superficiales en el norte del golfo son de 21-24°C, en el centro son de 23-27°C y en la boca del golfo pueden llegar a 30°C; en abril las temperaturas superficiales registradas son de 17-20°C, de 16-20°C y de 20-23°C respectivamente. De forma general en el invierno se registran temperaturas superficiales de 15°C en el norte incrementándose hasta 23-24°C en la boca del golfo; en el verano se encuentran temperaturas superficiales de 29°C en el norte, de 30°C en el centro y de 27-29°C en la boca (Alvarez-Borrego, 1983).

La circulación de las corrientes marinas aún no está bien descrita y varios factores influyen en esta, como el clima y el patrón de vientos, la topografía sumamente irregular del fondo del golfo y el intercambio intenso de aguas entre el golfo y el océano Pacífico. Las principales corrientes del Pacífico Tropical del este incluyen a la corriente de California y a la corriente Norecuatorial que son las que establecen contacto con las aguas del Golfo de California. En enero la corriente de California penetra al golfo originándose una corriente del golfo hacia el exterior llamada la corriente del Golfo de California, para marzo esta corriente sale con gran fuerza hacia el océano Pacífico, detectándose su influencia hasta el golfo de Tehuantepec, para abril este flujo disminuye, pero no hay entrada de aguas al golfo. En agosto la corriente Norecuatorial crece en magnitud y desplaza a otras corrientes, situación que se

incrementa hasta alcanzar su climax en septiembre y octubre (Wyrтки, 1965).

Como generalmente sucede la temperatura promedio anual disminuye conforme la profundidad aumenta, en los 100m más superficiales la temperatura decrece en un 50% y a los 150m disminuye en un 75% en relación a la temperatura superficial (Alvarez-Borrogo, 1983).

El Golfo de California está considerado como una provincia biológica subtropical, poblada principalmente por especies tropicales euritermas en el norte, que van siendo substituidas por especies netamente tropicales hacia el sur (Brusca, 1980).

Mar Caribe: está formado por una cadena de islas conocidas como "El Arco de las Antillas" y por la costa este del continente americano. Está localizado de los 10°N a los 23° N y de los 61° O a los 88°O, tiene una superficie de 1,870,000 Km<sup>2</sup>. Las zonas de colecta incluyeron la interfase más septentrional del Caribe y el sureste del Golfo de México, zona conocida como el canal de Yucatán.

El clima en esta zona es muy estable a lo largo de todo el año. En invierno la temperatura promedio es de 26-27°C, esto debido a la presencia de frentes polares y vientos fríos conocidos como "nortes". En el verano la temperatura promedio es de 29-30°C (Sria. de Marina, 1985).

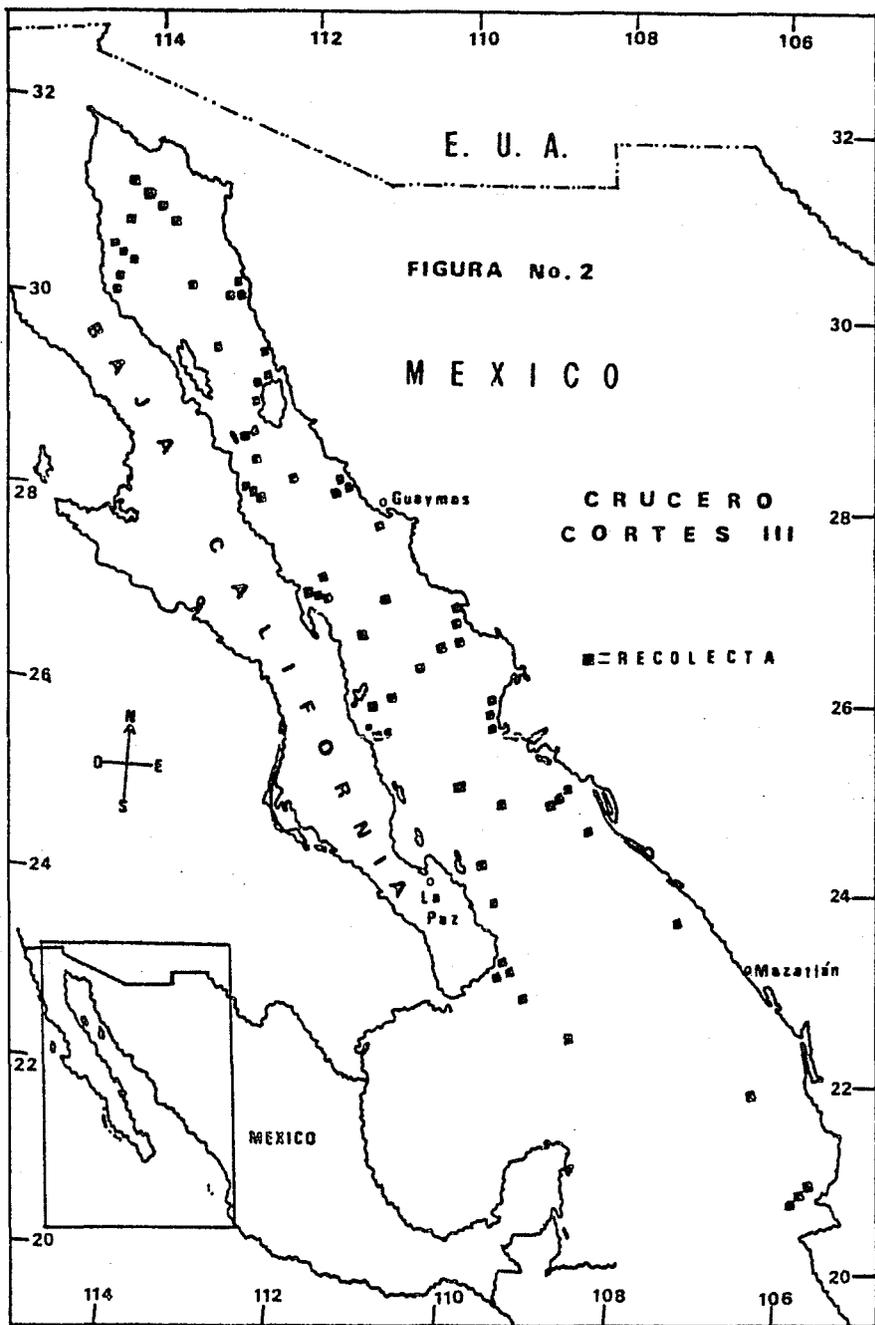
La circulación del Golfo de México está relacionada con las aguas cálidas y salinas que entran a él a través del estrecho de Yucatán y que salen por el estrecho de Florida. Un factor importante en esta dinámica es "La Corriente del Lazo", esta es un flujo de agua con temperaturas superficiales durante el verano de 28-29°C reduciéndose en el invierno a 25-26° C y que llega a formar anillos que se desplazan al interior del golfo con circulación anticiclónica e influyen en las aguas adyacentes generando movimientos en sentido opuesto constituyéndose remolinos ciclónicos (Cochrane, 1972). La intensidad de la corriente varía estacionalmente alcanzando su intromisión máxima en el golfo en los meses de abril, mayo, junio y agosto alcanzando los 27° N (Nowlin y Hubertz, 1972; Schoroeder et al., 1974; Molinari, 1978).

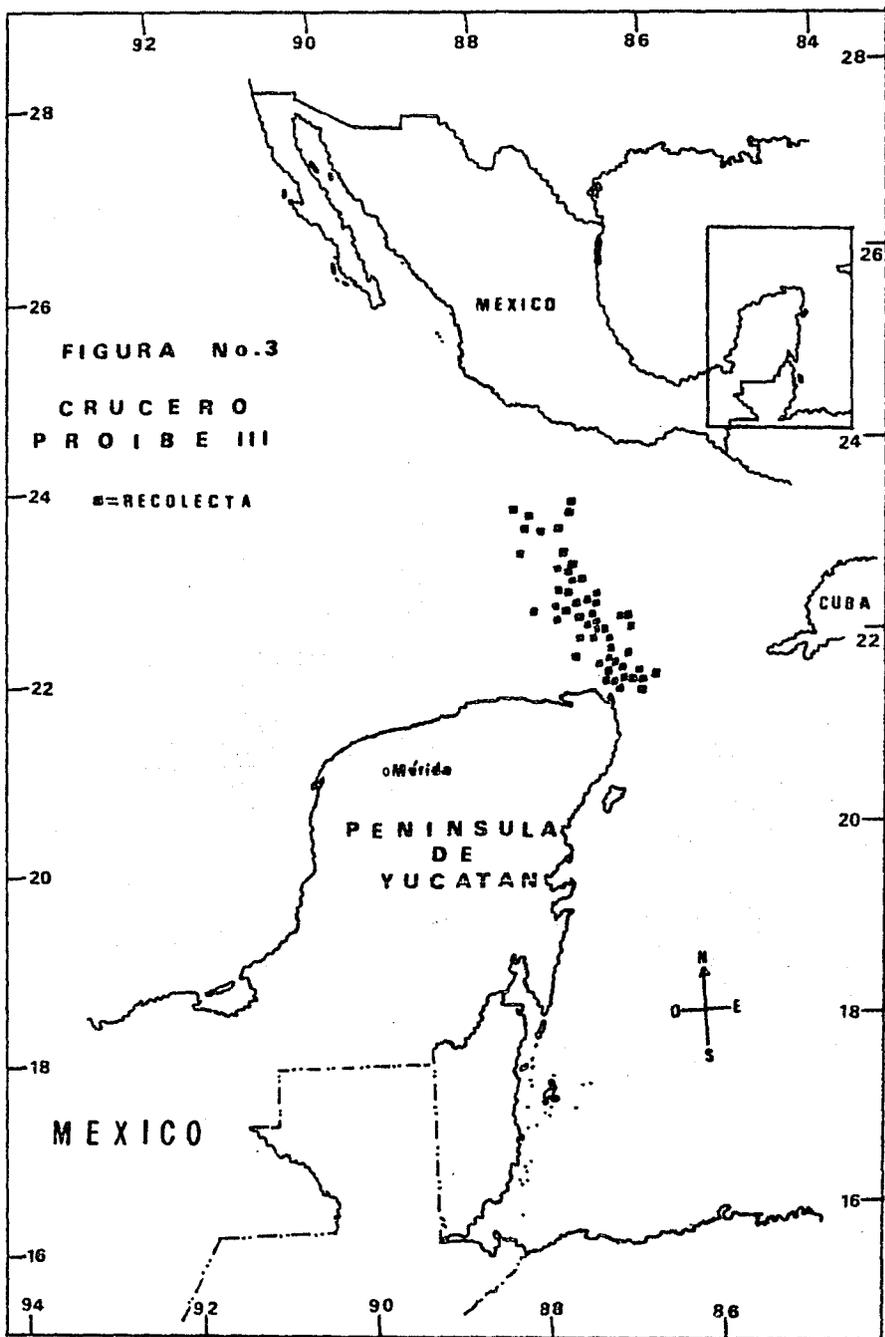
El Caribe está considerado como una zona tropical de alta diversidad biológica (Bergquist y Bedford, 1978). Esta

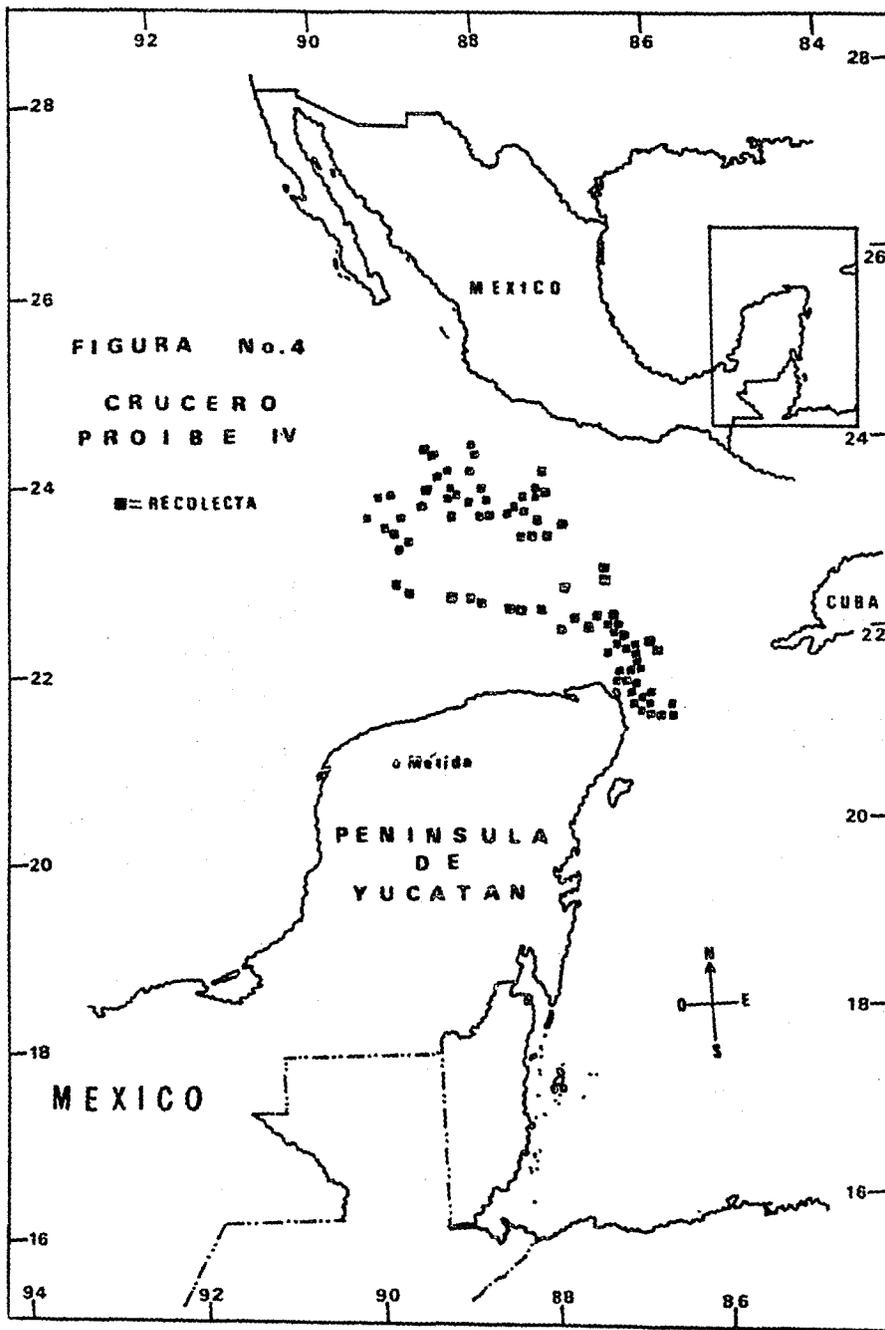
diversidad puede tener su origen en el posible origen geológico del Caribe que favoreció la especiación biológica al fragmentarse una biota ancestral que quedó aislada del resto del océano Atlántico por la barrera geográfica que constituye el Arco de las Antillas (Rosen, 1975 vide Pielou, 1979).

Las figuras 1 y 2 señalan las estaciones de colecta para los cruceros Cortes II y Cortes III, respectivamente. Las figuras 3 y 4 señalan las estaciones de colecta para los cruceros PROIBE III y PROIBE IV, respectivamente.









## MATERIAL Y METODO

### 1.- Recolecta de los organismos

La recolecta de los organismos se efectuó en el Golfo de California y en el Mar Caribe de México.

En cada una de las localidades muestreadas la recolecta se realizó en dos etapas. Cada una de éstas se llevó a cabo en diferente época del año, a fin de comparar la posible relación que existe entre la temperatura ambiental con la tasa de toxicidad y actividad antimicrobiana de los organismos recolectados.

Las recolectas en el Golfo de California se efectuaron a bordo del B/D "El Puma", durante las campañas oceanográficas "Cortés II" y "Cortés III", realizadas del 9 al 24 de marzo y del 3 al 27 de agosto de 1985, respectivamente.

En el Mar Caribe las recolectas se realizaron a bordo del B/D "Justo Sierra" durante las campañas oceanográficas "PROIBE III" y "PROIBE IV", que se llevaron a cabo del 22 de abril al 4 de mayo y del 16 de octubre al 3 de noviembre de 1985, respectivamente.

Los organismos recolectados comprendieron esponjas y ascidias, que fueron obtenidas mediante la draga biológica del barco. Una vez que los organismos se encontraron en la cubierta del buque, se tomó nota de su color e inmediatamente después fueron congelados a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Al llegar a muelle, los organismos fueron colocados en hieleras con hielo seco y transportados al laboratorio donde fueron colocados en congeladores a  $-10^{\circ}\text{C}$ .

El procedimiento de recolecta y traslado de los especímenes del barco al laboratorio fue el mismo en ambos buques, excepto que en el B/D "El Puma" no se recolectaron ascidias.

### 2.- Trabajo de laboratorio

#### A).-Mantenimiento de las cepas de microorganismos:

Las pruebas de actividad antimicrobiana se realizaron con 6 cepas puras de microorganismos que proporcionó el cepario de la Facultad de Química de la U.N.A.M. Se emplearon 2 especies de bacterias Gram-positivas: Streptococcus pyogenes y Staphylococcus aureus; 2 especies de bacterias Gram-negativas: Shigella sonni y Salmonella typhi así como 2 especies de hongos: Candida albicans y Cryptococcus neoformans.

Se mantuvieron cepas de reserva de todos los microorganismos en diferentes medios de cultivo sólido de acuerdo a los requerimientos de cada microorganismo. Así S. aureus, S. sonni y S. typhi se mantuvieron en tubos de ensaye con agar nutritivo; S. pyogenes en agar de cerebro-corazón; C. albicans en agar de malta-levadura y C. neoformans en agar de dextrosa-Sabouraud. Todas las cepas se resebraron cada mes para mantener la viabilidad de los microorganismos.

cada Una de estas cepas también fué sembrada en el medio de cultivo correspondiente, es decir, caldo nutritivo para S. aureus, S. sonni y S. typhi; caldo de cerebro-corazón para S. pyogenes; caldo de malta-levadura para C. albicans y caldo de dextrosa-Sabouraud para C. neoformans. Caldos nuevos fueron inoculados cada mes a partir de las cepas en medio de cultivo sólido y fueron los utilizados en las pruebas de actividad antimicrobiana.

#### B).- Obtención de los extractos crudos para esponjas y ascidias:

A un volumen de 20 ml de esponja o ascidia se le agregaron 30 ml de metanol, esta mezcla se homogenizó en un mortero de porcelana. A continuación se procedió a centrifugar el homogenizado a 2000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante obtenido se filtró en papel Whatman número 41. Con este filtrado se realizaron las pruebas de actividad antimicrobiana e ictiotóxica.

#### C).- Pruebas de actividad antimicrobiana:

Las pruebas de actividad antimicrobiana se realizaron en placas de agar con el propósito de observar el efecto producido por el extracto crudo en el crecimiento de los microorganismos al difundirse este sobre la placa de agar, en caso de que la prueba resultara positiva.

La técnica para efectuar las pruebas fué la siguiente:

Del extracto crudo obtenido, se concentraron 12 gotas en un disco de papel filtro Whatman número 41 de 0.5 cm de diámetro, permitiendo que el disco se secase al ambiente. En otro disco de papel filtro con las mismas características se repitió la operación concentrando únicamente 6 gotas de extracto. Finalmente se agregaron 6 gotas de metanol en otro disco de papel filtro que funcionó como testigo. Esta operación se repitió 6 veces por cada extracto ya que la prueba se efectuó para cada una de las 6 cepas de microorganismos.

Se prepararon 6 cajas de Petri con medio de cultivo sólido acorde a los requerimientos de cada microorganismo.

Posteriormente se inocularon 2 gotas del caldo de cultivo correspondiente a cada caja de Petri, las cuales fueron dispersadas de manera uniforme sobre el agar, usando una asa de vidrio.

Se colocaron los discos de papel previamente concentrados con 12 y 6 gotas de extracto, así como el disco testigo, en cada una de las cajas de Petri. Los discos se colocaron de tal manera que en caso de haber inhibición los halos no se traslaparan. A cada uno de los discos de papel filtro usados en las pruebas de actividad antimicrobiana se les agregó una gota de metanol con el fin de eliminar a los microorganismos que pudieran contener. Esta gota de metanol fue evaporada antes de colocar el disco en la caja de Petri.

El proceso de inoculación, así como la colocación de los sensidiscos se realizó en un medio estéril.

Las cajas de Petri ya preparadas, se refrigeraron durante una hora, con el propósito de retardar el crecimiento de los microorganismos durante la difusión del extracto sobre la placa de agar. Finalmente las cajas de Petri sembradas con bacterias fueron incubadas a 37° C durante 24 horas y las cajas de Petri sembradas con hongos se incubaron a 27° C durante el mismo lapso de tiempo. Al término del período de incubación se midieron los diámetros de los halos de inhibición y se tomó nota de las características de los mismos.

#### D).- Pruebas de ictiotoxicidad:

La prueba ictiotóxica se realizó con la porción restante del extracto obtenido de la manera descrita en la sección

2-B, el cual fué evaporado a sequedad en un vaso de precipitado. La evaporación del extracto se efectuó mediante el uso de un ventilador y a temperatura ambiente. Posteriormente, el extracto fué disuelto en 200 ml de agua del acuario donde se mantenía a los peces (Lebistes sp) con los que se efectuó la prueba. En este vaso de precipitado se colocó un pez al cual se le observó por 90 minutos, tomándose nota de su comportamiento. La prueba ictiotóxica fué acompañada por un pez testigo, el cual fué colocado en otro vaso de precipitado con 200 ml de agua del mismo acuario y en el que previamente se habían evaporado 30 ml de metanol.

Los peces que sobrevivieron a la prueba, fueron observados en una maternidad dentro de su pecera durante 24 horas, posteriormente fueron transferidos a una segunda pecera donde se conservaron indefinidamente.

Los peces dulceacuícolas fueron elegidos en virtud de haberse demostrado que responden de una manera semejante a los marinos frente a estas toxinas (Bakus y Green, 1974).

Las claves usadas en este trabajo para los cruceros Cortés significan por ejemplo: 4CII= organismo no. 4 del crucero Cortés II. Para los cruceros PROIBE significan por ejemplo: E-17#6PIII= estación 17, organismo no. 6 del crucero PROIBE III.

## RESULTADOS

Se trabajaron un total de 123 especies de organismos de los cuales 107 corresponden al Phylum Porifera y 16 al Phylum Chordata.

Las esponjas analizadas corresponden a 79 especies de Demospongiae de las cuales 57 fueron determinadas más allá de clase. Se distribuyeron en 2 subclases, en 10 órdenes, 26 familias y 35 géneros, según el siguiente esquema taxonómico:

### Phylum Porifera

#### Clase Demospongiae

##### Subclase Tetractinomorpha

##### Orden Choristida

##### Familia Geodiidae

*Erylus* sp 16CII

*Geodia* sp E-3#9PIII

*Geodia gibberosa* E-16#3PIV

*Geodia neptuni* E-53#1PIV

##### Familia Jaspidae

*Jaspis* sp E-1#1PIV

##### Orden Spirophorida

5CII

15CII (La misma especie)

##### Familia Tetillidae

*Cinachyra alloclada* E-5#4PIII

*Cinachyra cavernosa* E-12#1PIV

##### Orden Hadromerida

##### Familia Spirastrellidae

*Spirastrella cunctatrix* E-41#9PIV

*Sphaciospongia vesparia* E-28#1PIII  
E-52#1PIV

*Anthosigmella varians* E-2#2PIII

##### Familia Clionidae

*Cliona caribboea* E-17#1PIII

E-47#1PIV

##### Familia Placospongiidae

*Placospongia carinata* E-41#7PIV

##### Familia Suberitidae

*Suberites ficus* 3CII

*Suberites dumunculus* E-10#1PIV

##### Orden Axinellida

##### Familia Axinellidae

*Axinella* sp 1 19CII

*Axinella* sp 2 E-2#1PIII

*Axinella erecta* E-33#1PIII

*Pseudaxinella lunaecharta* E-3#3PIII

*Homaxinella* sp E-17#4PIII

*Homaxinella walltonsmithi* E-17#2PIII

Phakellia sp E-23#1PIII  
 Familia Agelasidae  
Agelas sp E-21#5PIV  
Agelas sparsus E-21#4PIV  
 Familia Desmoxiidae  
Higginsia strigilata E-17#5PIII  
 Orden Astrophorida  
 Familia Calthropellidae  
Pachastrissa sp E-1#4PIV  
 Familia Stellidae  
Stellata sp E-1#2PIV  
Stellata grubbi E-17#8PIII  
Penares sp E-16#4PIV  
 Familia Thrombidae  
Thrombus sp E-21#11PIV  
 Orden Lithistida  
 Familia Siphonidiidae  
Gastrophanella sp E-17#1PIV  
 Subclase Ceractinomorpha  
 Orden Poecilosclerida  
 10CII  
 E-3#7PIII (Especies diferentes)  
 Familia Esperlopsidae  
 E-53#5PIV  
 Familia Mycalidae  
Mycala angulosa E-37#2PIII  
 E-21#6PIV  
 Familia Biemnidae  
Biemna sp E-42#5PIV  
 Familia Myxillidae  
Lissodendoryx sp 1CIII  
Tadania nigrescens 21CII  
 9CIII  
Phorbis amaranthus E-41#8PIV  
 Familia Microcionidae  
Clathria prolifera E-5#1PIII  
 Ultima PIV  
 Orden Haplosclerida  
 Familia Nepheliospongiidae  
 E-16#2PIV  
 E-1#3PIV (Especies diferentes)  
 Familia Halicionidae  
Haliciona permollis 7CIII  
Rizochalina oleracea E-30#1PIII  
 Familia Niphatidae  
Amphimedon compressa E-6#4PIII  
Niphates areolata E-6#5PIII  
 Familia Callyspongiidae  
Callyspongia sp 12CII  
Callyspongia vaginalis E-28#2PIII  
 E-21#10PIV  
Callyspongia vaginalis armigera E-17#10PIV

Orden Dictyoceratida  
  Familia Spongiidae  
    Hyattella intestinalis E-1#5PIV  
  Familia Thorectidae  
    Ircinia sp E-21#1PIV  
    Ircinia campana E-6#3PIII  
      E-40#3PIV  
    Ircinia strobilina E-21#2PIV  
Orden Verongida  
  Familia Aplysinidae  
    Aplysina sp E-23#2PIII  
    Aplysina fistularis fulva E-17#6PIII  
    Aplysina fistularis insularis E-21#9PIV  
    Aplysina lacunosa E-37#1PIII

Clase Demospongiae:

4CII  
7CII  
10CII  
11CII  
13CII  
14CII  
15CII  
17CII  
18CII

3CIII  
4CIII  
11CIII  
12CIII  
13CIII  
14CIII  
16CIII  
18CIII  
25CIII  
26CIII

E-3#8PIII  
E-6#2PIII  
E-16#1PIII  
E-17#9PIII  
E-23#3PIII  
E-23#4PIII  
E-37#3PIII  
E-42#1PIII

E-16#1PIV  
E-21#7PIV  
E-21#8PIV

E-21#12PIV  
E-22#1PIV  
E-40#1PIV  
E-40#2PIV  
E-41#1PIV  
E-41#2PIV  
E-41#3PIV  
E-41#4PIV  
E-41#6PIV  
E-52#2PIV  
E-53#2PIV  
E-53#4PIV

Todas las esponjas señaladas como Clase Demospongiae son de especies diferentes entre ellas así como en relación a las determinadas a especie.

En la determinación taxonómica del Phylum Porifera se usaron los criterios de De Laubenfels, 1930, 1935; Grasse, 1973; Wiedenmayer, 1977 y Van Soest, 1978, 1980, 1981, 1984.

Las ascidias analizadas corresponden a 15 especies distribuidas en una clase, 2 órdenes, 5 familias y 7 géneros, determinados según el siguiente esquema taxonómico:

Phylum Chordata

Subphylum Urochordata

Clase Ascidacea

Orden Aplousobranchia

Familia Polyclinidae

E-5#5PIII

Amaroucium stellatum ? E-3#5PIII

Polyclinum ? sp 1 E-3#6PIII

E-67#1PIV

Polyclinum ? sp 2 E-53#3PIV

Polyclinum ? sp 3 E-67#2PIV

Familia Didemnidae

Didemnum ? sp E-3#2PIII

Familia Polycitoridae

E-6#6PIII

E-10#2PIV

E-47#2PIV (Especies diferentes)

Eudistoma ? sp 1 E-3#4PIII

Eudistoma ? sp 2 E-3#11PIII

Distaplia ? sp E-3#12PIII

Clavelina ? sp E-3#10PIII

Orden Stolidobranchia

Familia Botryllidae

E-2#3PIII

Familia Styelidae

Polycarpa ? sp E-31#1PIV

En la determinación taxonómica de la Clase Ascidacea se usó el criterio de Van Name, 1945.

Las pruebas de actividad antimicrobiana e ictiotóxica fueron efectuadas para todos los organismos colectados. Las tablas de actividad ictiotóxica sólo muestran datos de organismos que presentaron extractos activos.

El índice de ictiotoxicidad (ii) fué obtenido dividiendo el peso del pez (g) entre el tiempo de muerte (min). Entre más grande sea este índice, más tóxica es la esponja (Green, 1986 comunicación personal). Cuando el pez murió en el lapso de 24 h. de observación no fué obtenido el índice de ictiotoxicidad en virtud de la incertidumbre del tiempo exacto para la muerte del pez probado.

Los resultados de la actividad antimicrobiana están presentados en cm e incluyen el diámetro del sensidisco. Inhibición parcial (p) significa que hubo crecimiento de algunas colonias de microorganismos dentro del halo de inhibición, tablas 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

Las tablas 14 y 15 señalan porcentajes tomados a partir del número total de especies que fueron probadas, sin excluir a ningún organismo que haya presentado 2 actividades diferentes, es decir, si un organismo presentó 2 diferentes tipos de actividad, fué tomado en cuenta las mismas veces, para diferentes tipos de análisis.

Las tablas 16 y 17 indican promedios de ii por crucero y de diámetros de halos de inhibición, estos últimos fueron efectuados tomando en cuenta el diámetro de los sensidiscos, ya que de no haberse tomado en cuenta se hubiera introducido un factor de error puesto que anteriormente se había tomado en cuenta para contabilizar el diámetro de la inhibición.

Los ii registrados para el crucero Cortés II van desde 0.00959 g/min a 0.05333 g/min siendo la esponja más ictiotóxica *Erylus* sp (16CII), tabla 9. Para el crucero Cortés III los ii van desde 0.00735 g/min a 0.11628 g/min donde la esponja más ictiotóxica fué la Demospongia 14CIII, tabla 10.

En el crucero PROIBE III los ii van desde 0.00538 g/min

hasta 0.05200 g/min, este último en la esponja Iccinia campana (E-6#3PIII), tabla 11. En el crucero PROIBE IV los ii se registran desde 0.00568 g/min hasta 0.05882 g/min en Spirastrella cunctatrix (E-41#9PIV), tabla 13. Las ascidias del crucero PROIBE III mostraron ii desde 0.01034 g/min hasta 0.03000 g/min en tanto que las ascidias del crucero PROIBE IV no resultaron ictiotóxicas, debido a esto no se muestra ninguna tabla.

Se observa que el porcentaje más alto de especies ictiotóxicas está registrado para el crucero PROIBE III seguido por el crucero PROIBE IV, Cortés II y Cortés III. Se observa también que el porcentaje de actividad antimicrobiana es más grande para cada uno de los cruceros contra las bacterias Gram-positivas seguido por el de las Gram-negativas y finalmente el de los hongos, tabla 14. La misma tendencia se observa en las ascidias, tabla 15.

No sólo en relación al número de especies se nota esta tendencia, sino también en cuanto a la calidad de esta actividad, siendo el promedio de ii más alto el del crucero PROIBE III, seguido por PROIBE IV, Cortés III y Cortés II. Así como en los promedios de los diámetros de los halos de inhibición de los microorganismos, tablas 16 y 17.

Estos datos apoyan de manera clara la hipótesis de que la temperatura, así como la latitud influyen de manera importante en la producción de semioquímicos en estos organismos.

La figura 5 muestra una prueba de antibiosis positiva y otra negativa.

**FIGURA NO. 5**

TABLA 3 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS ESPONJAS DEL CRUCERO CORTES II

CLAVE	TAXON	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA (cm)											
		<i>S. aureus</i>		<i>S. pyogenes</i>		<i>S. typhi</i>		<i>S. sonni</i>		<i>C. albicans</i>		<i>C. neoformans</i>	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
3 CII	<u>Suberites ficus</u>	----	----	----	0.8t	0.8p	1.3p	----	----	0.7p	0.7p	0.7p	0.7t
4 CII	Demospongia	----	----	----	2.5t	----	----	1.0p	1.2p	----	1.0p	1.0t	1.2t
5 CII	Spirophorida	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
7 CII	Demospongia	1.2t	1.2t	1.7t	1.7t	----	----	----	----	----	----	0.9t	1.0t
10 CII	Demospongia	0.9p	0.9p	1.2p	1.3p	1.4p	2.2p	1.7p	1.7p	----	----	----	----
11 CII	Demospongia	1.3p	1.4p	2.2p	2.5t	0.7p	1.2p	----	1.8p	----	----	----	1.2p
12 CII	<u>Callyspongia</u> sp	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
13 CII	Demospongia	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
14 CII	Demospongia	1.2t	1.2t	1.1t	1.3t	----	----	----	----	----	----	----	----
15 CII	Demospongia	1.8t	2.2t	1.5p	2.0p	1.3p	2.0p	1.5p	1.8p	----	----	----	----
16 CII	<u>Erylus</u> sp	1.6t	1.6t	2.2t	2.8t	----	----	0.9p	1.5p	----	----	1.6t	3.0t
17 CII	Demospongia	----	----	1.8p	2.2p	----	----	----	----	----	----	----	----
18 CII	Demospongia	----	----	1.3t	1.3t	----	----	----	----	----	----	----	----
19 CII	<u>Axinnella</u> sp 1	2.0t	2.1t	----	----	----	----	----	----	2.3p	2.5p	2.5t	2.5t
21 CII	<u>Tedania nigrescens</u>	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

(1)=Sensidisco con 6 gotas de extracto  
 (2)=Sensidisco con 12 gotas de extracto

p=Inhibición parcial  
 t=Inhibición total

TABLA 4 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS ESPONJAS DEL CRUCERO CORTES III

CLAVE	TAXON	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA (cm)											
		<i>S. aureus</i>		<i>S. pyogenes</i>		<i>S. typhi</i>		<i>S. sonnei</i>		<i>C. albicans</i>		<i>C. neoformans</i>	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
1 CIII	<i>Lissodendoryx</i> sp	0.8p	0.8p	0.8p	1.1p	----	----	----	----	----	----	----	----
3 CIII	Demospongia	0.8p	1.1p	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
4 CIII	Demospongia	1.0p	2.4p	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
7 CIII	<i>Haliciona permollis</i>	1.0t	1.5t	1.3t	1.5t	----	0.8t	0.8t	1.0t	----	----	1.0t	1.2t
9 CIII	<i>Tedania nigrescens</i>	1.0p	1.1p	0.8p	1.1p	----	----	----	----	----	----	----	----
10 CIII	<i>Poecilosclerida</i>	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
11 CIII	Demospongia	0.9t	1.1t	1.4t	1.7t	----	----	----	----	----	----	1.3t	1.5t
12 CIII	Demospongia	----	----	1.2p	1.5p	----	----	----	----	----	----	----	----
13 CIII	Demospongia	0.8t	0.9t	1.0p	1.6p	----	----	----	----	----	----	----	----
14 CIII	Demospongia	0.9t	1.2t	1.3t	1.7t	----	0.8t	0.9t	1.0t	----	----	1.1t	1.3t
15 CIII	Spirophorida	----	----	1.0p	1.1p	----	----	----	----	----	----	----	----
16 CIII	Demospongia	----	----	1.2t	1.9t	----	----	----	----	----	----	----	----
18 CIII	Demospongia	0.8t	0.9t	1.5t	2.0t	----	----	----	----	----	----	----	----
25 CIII	Demospongia	1.0t	1.1t	1.1t	1.5t	0.8t	0.9t	0.9t	1.0t	----	----	0.9t	1.4t
26 CIII	Demospongia	3.3t	3.9t	2.1t	2.8t	3.0t	3.7t	2.9t	3.2t	----	----	----	----

(1)= Sensidisco con 6 gotas de extracto

p= inhibición parcial

(2)= Sensidisco con 12 gotas de extracto

t= inhibición total

TABLA 5 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS ESPONJAS DEL CRUCERO PROIBE III

E-23#1P111	<u>Phakellia</u> sp	----	0.9p	2.2t	3.0t	----	----	----	----	----	----	----	----
E-23#2P111	<u>Aplysina</u> sp 1	1.5t	1.8t	1.0t	1.1t	----	----	1.1p	1.6t	----	----	----	----
E-23#3P111	<u>Demospongia</u>	1.0p	1.3p	1.3p	1.6p	0.9p	1.5p	1.0p	1.1p	----	----	----	----
E-23#4P111	<u>Demospongia</u>	1.0p	1.8p	1.2p	2.8p	1.0t	1.8t	1.1p	1.5p	0.8p	1.1p	3.0t	3.5t
E-28#1P111	<u>Sphaerospongia</u> <u>vesparia</u>	----	----	----	----	----	----	----	----	0.9p	1.1p	2.5t	3.3t
E-28#2P111	<u>Callispongia</u> <u>vaginallis</u>	----	----	0.9p	1.1p	----	----	----	----	----	----	----	----
E-30#1P111	<u>Rizochalina</u> <u>oleracea</u>	1.3t	1.4t	1.9t	3.1t	----	----	1.0t	1.1t	----	----	----	----
E-33#1P111	<u>Axinella</u> <u>erecta</u>	----	0.9t	0.8t	1.0t	----	0.9t	----	----	----	1.1t	0.9t	1.3t
E-37#1P111	<u>Aplysina</u> <u>lacunosa</u>	2.9t	2.9t	1.4p	2.4t	2.3t	3.4t	2.6t	3.0t	----	----	----	----
E-37#2P111	<u>Mycale</u> <u>angulosa</u>	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
E-37#3P111	<u>Demospongia</u>	----	----	----	1.0p	1.1p	1.2t	----	0.9p	----	----	1.9p	2.2p
E-42#1P111	<u>Demospongia</u>	----	1.0p	2.0p	2.0p	----	1.1p	----	----	----	----	1.1t	1.4t

(1) = Sensidisco con 6 gotas de extracto

p = Inhibición parcial

(2) = Sensidisco con 12 gotas de extracto

t = Inhibición total

TABLA 6 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANIMICROBIANA DE LAS ASCIDIAS DEL CRUCERO PROIBE III

CLAVE	TAXON	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA (cm)											
		<i>S. aureus</i>		<i>S. pyogenes</i>		<i>S. typhi</i>		<i>S. sonni</i>		<i>C. albicans</i>		<i>C. neoformans</i>	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
E-2#3P111	Botryllidae	----	----	1.5t	1.6t	----	----	----	----	1.1p	1.3p	----	----
E-3#2P111	<i>Didemnum</i> ? sp	----	----	1.8p	1.8t	3.2p	3.3t	----	----	----	----	1.4t	1.6t
E-3#4P111	<i>Eudistoma</i> ? sp1	1.1t	1.5t	1.5t	2.2t	----	----	----	1.0p	1.0t	1.4t	----	1.1t
E-3#5P111	<i>Amaroucium stellatum</i> ?	1.0t	1.1t	1.2t	1.5t	----	----	----	1.0p	----	----	----	----
E-3#6P111	<i>Polyclinum</i> ? sp 1	----	0.8p	----	0.8p	----	----	----	----	----	----	----	----
E-3#10P111	<i>Clavelina</i> ?sp	1.3t	1.6t	1.2t	1.9t	----	----	----	----	1.1t	1.4t	1.6t	2.1t
E-3#11P111	<i>Eudistoma</i> ? sp2	----	----	1.2p	1.3p	1.2p	1.4p	1.0p	1.0p	----	----	1.8p	1.8p
E-3#12P111	<i>Distaplia</i> ?	0.9t	1.1t	1.5t	1.8t	----	----	----	----	----	----	0.9t	0.9t
E-5#5P111	Polyclinidae	1.1p	1.3p	1.3t	1.7t	1.2p	1.5p	----	----	----	1.1p	----	----
E-6#6P111	Polycitoridae sp 1	1.1t	1.1t	1.8t	2.5t	1.1p	1.3t	1.3t	1.6t	----	----	----	----

(1)= Sensidisco con 6 gotas de extracto

(2)= Sensidisco con 12 gotas de extracto

p= inhibición parcial

t= inhibición total

TABLA 7 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS ESPONJAS DEL CRUCERO PROIBE IV

CLAVE	TAXON	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA (cm)											
		<i>S. aureus</i>		<i>S. pyogenes</i>		<i>S. typhi</i>		<i>S. sonni</i>		<i>C. albicans</i>		<i>C. neoformans</i>	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
E-41#1PIV	<i>Demospongia</i>	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
E-41#2PIV	<i>Demospongia</i>	----	----	----	1.0p	----	----	----	----	----	----	----	----
E-41#3PIV	<i>Demospongia</i>	1.0t	1.2t	2.4t	3.1t	----	----	----	----	----	----	----	----
E-41#4PIV	<i>Demospongia</i>	1.0t	1.2t	1.0t	1.2t	----	----	0.8t	0.9t	----	0.8t	1.4t	1.7t
E-41#5PIV	<i>Biemna</i> sp	2.5t	2.8t	2.2t	2.4t	1.6t	2.0t	1.6t	2.5t	1.4t	1.9t	1.4t	3.2t
E-41#6PIV	<i>Demospongia</i>	----	----	1.3p	1.8p	----	----	----	----	----	----	----	----
E-41#7PIV	<i>Placospongia</i> <i>carinata</i>	----	----	1.4t	1.6t	----	----	----	----	----	----	0.9t	1.1t
E-41#8PIV	<i>Phorbos</i> <i>amaranthus</i>	0.8t	0.9t	1.2t	1.4t	0.9t	1.0t	----	----	----	----	0.9t	1.0t
E-41#9PIV	<i>Spirastrella</i> <i>cunctatrix</i>	----	----	0.8t	1.1t	----	----	----	----	----	----	----	----
E-47#1PIV	<i>Cliona</i> <i>carilboea</i>	----	----	----	----	----	----	----	----	0.8t	0.9t	1.5t	1.7t
E-52#1PIV	<i>Spheciospongia</i> <i>vesparia</i>	----	0.8t	1.1t	1.5t	0.9t	1.2t	----	0.8t	----	----	3.0t	3.4t
E-52#2PIV	<i>Demospongia</i>	----	----	1.1t	1.3t	----	----	----	----	----	----	----	0.8t
E-53#1PIV	<i>Geodia neptuni</i>	----	----	0.9t	1.2t	----	----	----	----	----	----	----	----
E-53#2PIV	<i>Demospongia</i>	1.1t	1.4t	2.0t	2.4t	----	----	0.8t	1.0t	----	----	----	----
E-53#4PIV	<i>Demospongia</i>	0.8t	0.9t	1.3t	1.5t	----	----	----	----	----	----	----	----
E-53#5PIV	Esperlopsidae	1.5t	1.7t	1.2t	1.5t	----	----	----	----	----	----	----	----
UltimaPIV	<i>Clathria</i> <i>prolifera</i>	0.8t	0.9t	1.3t	1.5t	----	----	----	----	----	----	----	----

(1)= Sensidisco con 6 gotas de extracto

(2)= Sensidisco con 12 gotas de extracto

p= inhibición parcial

t= inhibición total

TABLA 8. : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS ASCIDIAS DEL CRUCERO PROIBE IV

CLAVE	TAXON	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA (cm)											
		<u>S. aureus</u>		<u>S. pyogenes</u>		<u>S. typhi</u>		<u>S. sonnei</u>		<u>C. albicans</u>		<u>C. neoformans</u>	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
E-10#2PIV	Polycitoridae sp 2	----	----	----	----	----	----	----	0.9t	----	----	----	----
E-31#1PIV	<u>Polycarpa</u> ? sp	----	0.8t	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
E-47#2PIV	Polycitoridae sp 3	0.9t	1.0t	1.1t	1.3t	----	----	----	----	----	----	----	0.8t
E-53#3PIV	<u>Polyclinum</u> sp 2	----	----	0.9t	1.0t	----	----	----	0.8t	----	----	----	----
E-67#1PIV	<u>Polyclinum</u> sp 1	0.8t	0.9t	0.8t	0.9t	0.8t	1.0t	0.8t	1.0t	----	----	----	----
E-67#2PIV	<u>Polyclinum</u> sp 3	----	----	2.0t	2.5t	----	----	----	----	----	----	----	----

(1)= Sensidisco con 6 gotas de extracto

p= Inhibición parcial

(2)= Sensidisco con 12 gotas de extracto

t= Inhibición total

TABLA 9 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ICTIOTOXICAS DE LAS ESPONJAS DEL CRUCERO CORTES II

CLAVE	TAXON	MUERTE DEL PEZ (min)	PESO DEL PEZ (g)	INDICE DE ICTIOTOXICIDAD (g/min)
3 CII	<u>Suberites ficus</u>	H	0.5	-----
4 CII	Demospongia	H	0.7	-----
11CII	Demospongia	73	0.7	0.00959
16CII	<u>Erylus</u> sp	15	0.8	0.05333
17CII	Demospongia	64	0.8	0.01250
18CII	Demospongia	80	0.8	0.01000
19CII	<u>Axinella</u> sp 1	56	0.9	0.01607

H = Pez muerto durante las 24 h. de observación

TABLA 10 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ICTIOTOXICAS DE LAS ESPONJAS DEL CRUCERO CORTES III

CLAVE	TAXON	MUERTE DEL PEZ (min)	PESO DEL PEZ (g)	INDICE DE ICTIOTOXICIDAD (g/min)
7 CIII	<u>Haliclona permollis</u>	75	0.8	0.01066
11CIII	Demospongia	68	0.5	0.00735
14CIII	Demospongia	43	0.5	0.11628
15CIII	Spirophorida	90	1.0	0.01111
18CIII	Demospongia	58	1.2	0.02069
25CIII	Demospongia	H	0.6	-----

H = Pez muerto durante las 24 h. de observación

TABLA 11 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ICTIOTOXICAS DE LAS ESPONJAS DEL CRUCERO PROIBE III

CLAVE	TAXON	MUERTE DEL PEZ (min)	PESO DEL PEZ (g)	INDICE DE ICTIOTOXICIDAD (g/min)
E-2#2P111	<u>Anthosigmella varians</u>	83	1.2	0.01446
E-3#3P111	<u>Pseudaxinella lunaecharta</u>	H	0.7	-----
E-3#7P111	Poecilosclerida sp 2	39	1.15	0.02949
E-3#8P111	Demospongia	H	0.8	-----
E-3#9P111	<u>Geodia</u> sp	20	0.8	0.04400
E-5#1P111	<u>Clathria prolifera</u>	H	0.9	-----
E-6#3P111	<u>Ircinia campana</u>	25	1.3	0.05200
E-6#5P111	<u>Niphates areolata</u>	37	1.25	0.03378
E-17#2P111	<u>Homaxinella wallonsmithi</u>	48	0.65	0.01354
E-17#6P111	<u>Aplysina fistularis fulva</u>	H	0.4	-----
E-17#9P111	Demospongia	H	0.35	-----
E-23#1P111	<u>Phakellia</u> sp	83	0.5	0.00602
E-23#2P111	<u>Aplysina</u> sp 1	H	0.7	-----
E-23#4P111	Demospongia	59	0.7	0.01186
E-28#1P111	<u>Sphaciospongia vesparia</u>	89	0.7	0.00786
E-30#1P111	<u>Rizochalina oleracea</u>	65	0.6	0.00923
E-33#1P111	<u>Axinella erecta</u>	H	0.5	-----
E-42#1P111	Demospongia	65	0.35	0.00538

H = Pez muerto durante las 24 h. de observación

TABLA 12: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ICTIOTOXICAS DE LAS ASCIDIAS DEL CRUCERO PROIBE III

CLAVE	TAXON	MUERTE DEL PEZ (min)	PESO DEL PEZ (g)	INDICE DE ICTIOTOXICIDAD (g/min)
E-3#2P111	<u>Didemnum</u> ? sp	58	0.60	0.01034
E-3#4P111	<u>Eudistoma</u> ? sp 1	20	0.60	0.03000
E-3#5P111	<u>Amaroucium stellatum</u> ?	89	1.75	0.01966
E-3#10P111	<u>Clavelina</u> ? sp	31	0.75	0.02419
E-5#5P111	Polyclinidae	H	0.40	-----
E-6#6P111	Polycitoridae sp 1	H	1.00	-----

H = Pez muerto durante las 24 h. de observación

TABLA 13 : RESULTADOS DE LAS PRUEBAS ICTIOTOXICAS DE LAS ESPONJAS DEL CRUCERO PROIBE IV

CLAVE	TAXON	MUERTE DEL PEZ (min)	PESO DEL PEZ (g)	INDICE DE ICTIOTOXICIDAD (g/min)
E-1#3PIV	Nepheliospongiae sp 2	47	0.70	0.01489
E-1#5PIV	<u>Hyattella intestinalis</u>	71	0.70	0.00986
E-10#1PIV	<u>Suberites dumunculus</u>	77	1.00	0.01299
E-16#2PIV	Nepheliospongiae sp 1	67	0.70	0.01045
E-21#1PIV	<u>Ircinia</u> sp 1	55	0.80	0.01454
E-21#2PIV	<u>Ircinia strobilina</u>	49	1.10	0.02245
E-21#7PIV	Demospongia	46	1.10	0.02391
E-21#8PIV	Demospongia	53	0.80	0.01509
E-21#12PIV	Demospongia	73	0.65	0.00890
E-41#3PIV	Demospongia	52	0.90	0.01731
E-41#4PIV	Demospongia	16	0.50	0.03125
E-41#5PIV	<u>Biemna</u> sp	17	0.50	0.02941
E-41#7PIV	<u>Placospongia carinata</u>	88	0.50	0.00568
E-41#8PIV	<u>Phorbas amaranthus</u>	29	0.50	0.01724
E-41#9PIV	<u>Spirastrella cunctatrix</u>	17	1.00	0.05882
E-47#1PIV	<u>Cliona caribboca</u>	54	0.40	0.00741
E-52#1PIV	<u>Spheciospongia vesparia</u>	23	0.80	0.03478
E-53#2PIV	Demospongia	58	0.80	0.01379
E-53#4PIV	Demospongia	63	0.40	0.00635
E-53#5PIV	Esperiopsidae	30	0.90	0.03000
Ultima PIV	<u>Clathria prolifera</u>	H	1.20	-----

H = Pez muerto durante las 24 h. de observación

TABLA 14 : PORCENTAJES DE LAS DIFERENTES ACTIVIDADES MOSTRADAS POR LOS EXTRACTOS CRUDOS DE LAS ESPONJAS EN CADA UNO DE LOS CRUCEROS .

CRUCERO	NO.E	%E.I.	%A.G+	%A.G-	%A.F.	%E.s.A.
CORTES II	15	46.6	56.6	30.0	30.0	26.7
CORTES III	15	40.0	76.6	26.6	13.3	6.7
PROIBE III	33	57.6	84.8	57.6	42.4	3.0
PROIBE IV	44	47.7	71.6	27.3	19.3	9.1

NO.E = Número de especies de esponjas probadas

%E.I. = Porcentaje de especies ictiotóxicas

%A.G+ = Porcentaje de especies con actividad bactericida contra Gram-positivas

%A.G- = Porcentaje de especies con actividad bactericida contra Gram-negativas

%A.F. = Porcentaje de especies con actividad fungicida

%E.s.A. = Porcentaje de especies de esponjas sin actividad

TABLA 15 : PORCENTAJES DE LAS DIFERENTES ACTIVIDADES MOSTRADAS POR  
 LOS EXTRACTOS CRUDOS DE LAS ASCIDIAS DE LOS CRUCEROS PROIBE III Y  
 PROIBE IV.

CRUCERO	NO.E	%E.I.	%A.G+	%A.G-	%A.F.	%E.s.A.
PROIBE III	10	60.0	85.0	40.0	45.0	----
PROIBE IV	6	----	58.3	33.3	8.3	----

NO.E = Número de especies de ascidias probadas

%E.I. = Porcentaje de especies ictiotóxicas

%A.G+ = Porcentaje de especies con actividad bactericida contra Gram-positivas

%A.G- = Porcentaje de especies con actividad bactericida contra Gram-negativas

%A.F. = Porcentaje de especies con actividad fungicida

%E.s.A. = Porcentaje de especies de ascidias sin actividad

44

TABLA 16: COMPARACION DE LOS PROMEDIOS ( $\bar{x}$ ) DE LOS INDICES DE ICTIOTOXICIDAD Y DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION PRODUCIDOS POR LOS EXTRACTOS CRUDOS DE LAS ESPONJAS EN CADA UNO DE LOS CRUCEROS.

CRUCERO	$\bar{x}$ INDICE I.T. (g/min).	S.a. $\bar{x}$ act		S.p. $\bar{x}$ act		S.t. $\bar{x}$ act		S.s. $\bar{x}$ act		C.a. $\bar{x}$ act		C.n. $\bar{x}$ act	
		vidad (cm) (1)	vidad (cm) (2)										
CORTES II	0.02030	1.4	1.5	1.4	1.8	1.0	1.7	1.1	1.6	1.2	1.4	1.2	1.6
CORTES III	0.03322	1.1	1.4	1.2	1.6	1.3	1.5	1.4	1.5	---	---	1.1	1.4
PROIBE III	0.02031	1.3	1.6	1.3	1.8	1.2	1.7	1.3	1.6	0.9	1.2	1.5	1.9
PROIBE IV	0.01926	1.1	1.4	1.2	1.5	1.3	1.5	1.1	1.3	1.2	1.5	1.4	1.8

I.T. = Ictiotoxicidad

S.a. = S. aureus  
 S.p. = S. pyogenes  
 S.t. = S. typhi  
 S.s. = S. sonnei

C.a. = C. albicans  
 C.n. = C. neoformans  
 (1) = Sensidisco concentrado con 6 gotas de extracto  
 (2) = Sensidisco concentrado con 12 gotas de extracto

TABLA 17 : COMPARACION DE LOS PROMEDIOS ( $\bar{X}$ ) DE LOS INDICES DE ICTIOTOXICIDAD Y DE LOS DIAMETROS DE LOS HALOS DE INHIBICION PRODUCIDOS POR LOS EXTRACTOS CRUDOS DE LAS ASCIDIAS DE LOS CRUCEROS PROIBE III Y IV

CRUCERO	$\bar{X}$ INDICE I.T. (g/mln).	S.a $\bar{x}$ acti		S.p $\bar{x}$ acti		S.t $\bar{x}$ acti		S.s. $\bar{x}$ acti		C.a $\bar{x}$ acti		C.n. $\bar{x}$ acti	
		vidad (cm) (1)	vidad (cm) (2)	vidad (cm) (1)	vidad (cm) (2)	vidad (cm) (1)	vidad (cm) (2)	vidad (cm) (1)	vidad (cm) (2)	vidad (cm) (1)	vidad (cm) (2)	vidad (cm) (1)	vidad (cm) (2)
PROIBE III	0.02105	1.0	1.2	1.3	1.7	1.7	1.9	0.9	1.1	1.0	1.3	1.3	1.5
ProIbe IV	-----	0.8	0.9	1.2	1.4	0.8	1.0	0.7	0.9	---	---	---	0.8

I.T. = Ictiotoxicidad

S.a. = S. aureus  
 S.p. = S. pyogenes  
 S.t. = S. typhi  
 S.s. = S. sonnei

C.a. = C. albicans  
 C.n. = C. neoformans  
 (1) = Sensidisco concentrado con 6 gotas de extracto  
 (2) = Sensidisco concentrado con 12 gotas de extracto

TABLA 18 : PORCENTAJES PROMEDIO DEL NUMERO DE ESPECIES ICTIOTOXICAS Y DE LAS DIFERENTES ACTIVIDADES ANTIMICROBIANAS DE LOS CRUCEROS CORTES Y PROIBE.

CRUCERO	$\overline{\%E.I.}$	$\overline{\%A.G+}$	$\overline{\%A.G.-}$	$\overline{\%}$ Hongos
CORTES II y III	43.3	66.6	28.3	21.7
PROIBE III y IV	52.7	78.2	42.5	30.9

$\overline{\%E.I.}$  = Porcentaje promedio de especies ictiotóxicas

$\overline{\%A.G+}$  = Porcentaje promedio de la actividad bactericida contra Gram-positivas

$\overline{\%A.G-}$  = Porcentaje promedio de la actividad bactericida contra Gram-negativas

$\overline{\%}$  Hongos = Porcentaje promedio de la actividad fungicida.

## DISCUSION

Existe un número cada vez mayor de trabajos ecológicos relacionados con la producción de semioquímicos. Este aspecto se encuentra mejor estudiado en el medio terrestre, principalmente en vegetales y artrópodos (Whittaker y Feeny, 1971).

La finalidad del presente trabajo fue en parte determinar el grado de toxicidad y antibiosis en esponjas y ascidias de diferentes latitudes y en dos diferentes épocas del año, a fin de evaluar la posible influencia de los factores ambientales en la producción de semioquímicos.

### Actividad antimicrobiana en relación a la latitud:

Un aspecto de suma importancia para los organismos son los factores físicos del ambiente, uno de ellos es la temperatura que influye en la fisiología y/o la conducta en multitud de especies (Uda, 1957; Wells *et al.*, 1961; Saunders, 1976).

Desde 1959 en que Nigrelli *et al.* descubrieron que algunas esponjas poseen una fuerte actividad antimicrobiana han aparecido varios trabajos sobre este tema en diferentes regiones del mundo. Se ha encontrado una actividad antimicrobiana similar en esponjas del Mar Caribe y de la Gran Barrera de Coral en Australia (Bergquist y Bedford, 1978). Hay que recordar que ambas zonas geográficas están entre los 10° y 25° latitud norte y sur respectivamente. McCaffrey y Edean (1985) encontraron un elevado porcentaje de actividad antimicrobiana en Queensland, Australia. Bergquist y Bedford (1978) también encontraron un porcentaje alto de actividad antimicrobiana en Polinesia; asimismo Thompson *et al.* (1985) observaron el mismo fenómeno en San Diego, California. Todas estas zonas son cálidas, aunque Bergquist y Bedford (1978) observaron altos porcentajes de actividad antimicrobiana en zonas no cálidas.

La tabla 19 muestra los porcentajes de actividad antimicrobiana reportada para esponjas en diferentes latitudes. En esta tabla se observa una relación entre la actividad antimicrobiana y la latitud, conforme las zonas de estudio se localizan más cerca del cinturón ecuatorial aumentar, las propiedades antimicrobianas de los organismos.

TABLA 19: PORCENTAJE DE ANTIBIOSIS DE ESPONJAS COLECTADAS EN  
DIFERENTES ZONAS DEL MUNDO.

(Modificada de Green *et al.*, en prensa).

LOCALIDAD	LATITUD	NO. DE ORGANISMOS	% DE ANTI-BIOSIS	REFERENCIA
Mediterraneo	30 <sup>0</sup> -45 <sup>0</sup> N	31	58	Burkholder y Ruetzler, 1969
Puerto Rico	18 <sup>0</sup> N	20	20-75	" "
Caribe	12 <sup>0</sup> -22 <sup>0</sup> N	777	60	" "
La Gran Barrera, Australia	20 <sup>0</sup> S	24	79	McCaffrey y Endean, 1985
Nueva Zelanda	35 <sup>0</sup> -46 <sup>0</sup> S	30	87	Bergquist y Bedford, 1978
Polinesia	17 <sup>0</sup> S	15	47	Amade <i>et al.</i> , 1982
Bretaña	48 <sup>0</sup> -51 <sup>0</sup> N	7	29	" "
Sur de California	33 <sup>0</sup> N	9	55	Green, 1977
Sur de California	32 <sup>0</sup> N	40	70	Thompson <i>et al.</i> , 1985
Mazatlán, México	23 <sup>0</sup> N	9	67	Green <i>et al.</i> , en prensa
Zihuatanejo, México	17 <sup>0</sup> N	5	80	" "
Veracruz, México	19 <sup>0</sup> N	12	67	Green, 1977
Veracruz, México	19 <sup>0</sup> N	19	36	Green, <i>et al.</i> , en prensa
Puerto Morelos, México	20 <sup>0</sup> N	22	50	" "
Puerto Morelos, México	20 <sup>0</sup> N	19	26	Bakus <i>et al.</i> , en prensa
Golfo de California, México	23 <sup>0</sup> -32 <sup>0</sup> N	15	38.8	este estudio
Golfo de California, México	23 <sup>0</sup> -32 <sup>0</sup> N	15	38.8	" "
Mar Caribe, México	21 <sup>0</sup> -24 <sup>0</sup> N	33	61.6	" "
Mar Caribe, México	21 <sup>0</sup> -24 <sup>0</sup> N	44	39.4	" "

Los resultados de actividad antimicrobiana obtenidos en el presente trabajo se comportan de manera muy semejante a los de ictiotoxicidad. Se observó un mayor porcentaje promedio de actividad antimicrobiana en el Mar Caribe (50.5%) que en el Golfo de California (38.8%), tabla 14, 18 y 20. Además se observa que en estas regiones existe una estacionalidad en la producción de antimicrobianos. En el Golfo de California el porcentaje promedio de actividad antimicrobiana no cambió en ningún crucero, la situación fue diferente en el Caribe donde el porcentaje promedio de la actividad antimicrobiana disminuyó de 61.1% en abril-mayo a 39.4% en octubre-noviembre, es decir 1.55 veces, tabla 14. En la zona de Puerto Morelos, Quintana Roo, se han encontrado variaciones en las especies reportadas como antimicrobianas, así como en su grado de actividad. Esto puede deberse a que han sido colectadas en diferente época del año y reflejan una oscilación estacional en la producción de semioquímicos, encontrándose la menor tasa de producción en la estación "fría" de enero (Bakus *et al.*, en prensa; Green *et al.*, en prensa).

A lo largo de muchas observaciones ha sido posible notar que los antimicrobianos producidos por las esponjas, en muchos casos, son específicos en relación a los microorganismos que van a afectar. De manera general se ha encontrado que las bacterias Gram-positivas son más sensibles a estos antimicrobianos que las bacterias Gram-negativas (Nigrelli *et al.*, 1959; Burkholder y Ruetzler, 1969, Burkholder, 1973; Green, 1977 b; McCaffrey y Edean, 1985; Thompson *et al.*, 1985) y que los hongos son menos sensibles que las bacterias.

La tabla 20 muestra la actividad antimicrobiana de esponjas en diferentes latitudes contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y microhongos.

En contraposición a la observación general, Amade *et al.* (1982) encontraron que para esponjas de la Polinesia la actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas fue prácticamente de la misma magnitud. Bergquist y Bedford (1978) encontraron que las bacterias Gram-negativas eran más sensibles a estos semioquímicos.

Los datos obtenidos en el crucero Cortés II señalan una mayor actividad contra bacterias Gram-positivas (56.6%), seguida por la actividad contra Gram-negativas y microhongos (30% para ambos). Una situación similar se observa para el crucero Cortés III con un porcentaje de actividad de 76.6%, 26.6% y 13.3% respectivamente, tabla 14.

TABLA 20 : PORCENTAJES DE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA DIFERENTES TIPOS DE MICROORGANISMOS PRODUCIDOS POR ESPONJAS DE DIFERENTES PARTES DEL MUNDO.

LOCALIDAD	NO.ESPECIES	ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA %			REFERENCIA
		GRAM(+)	GRAM(-)	HONGOS	
Mar Caribe	777	35	15	10	Burkholder y Ruetzler, 1969
Gran Barrera, Australia	464	39	12	11	" "
Mediterraneo	18	55	33	5.6	" "
Queensland, Australia	24	20.8	5.6	2.4	McCaffrey <u>et al.</u> , 1985
San Diego, California	40	61.2	11.5	11.5	Thompson <u>et al.</u> , 1985
Polinesia	15	14.5	15.1	13.7	Amade <u>et al.</u> , 1982
Mediterraneo	2	10	17.5	8	" "
Bretaña	7	7.4	2.8	14.3	" "
Veracruz, México y California, U.S.A.	24	62.5	50	----	Green, 1977
Nueva Zelanda	30	6.5	46.5	----	Bergquist y Bedford, 1978
Golfo de California, México	15	56.6	30	30	este estudio
" "	15	76.6	26.6	13.3	" "
Mar Caribe, México	33	84.8	57.6	42.4	" "
" "	44	71.6	27.3	19.3	" "

Estos resultados no muestran claramente un aumento de la actividad antimicrobiana hacia los meses cálidos, lo mismo sucede si se observan los datos de promedios de diámetros de halos de inhibición y se comparan entre ambos cruceros. En las especies que se repitieron en los dos cruceros Cortés tenemos el caso de *Tedania nigrescens* con claves 21CII y 9CIII en que se nota que la actividad antimicrobiana aumentó contra bacterias Gram-positivas en la temporada cálida, tablas 3 y 4. La misma situación existe con la esponja del orden Spirophorida con claves SCII y 15CIII (Tablas 3 y 4). Además el porcentaje de esponjas sin ningún tipo de actividad fue más alto en la temporada fría (Tabla 14).

En los cruceros PROIBE III y IV los promedios de actividad antimicrobiana fueron superiores a los registrados para los cruceros Cortés (Tabla 14). En el Mar Caribe la actividad contra bacterias Gram-positivas fue la más evidente, seguida por la actividad contra Gram-negativas y finalmente por la fungicida (Tabla 14). Los promedios del diámetro de los halos de inhibición señalan de forma general un incremento de la intensidad de la actividad antimicrobiana en la estación cálida (PROIBE III) en relación a la estación fría (PROIBE IV) (Tabla 16).

En todos los cruceros las esponjas que tuvieron actividad fungicida fueron en alguna proporción bactericidas. Sólo *Sphaciospongia* (E-28#1PIII) y *Cliona caribbea* (E-47#1PIV) fueron antifúngicas sin ser antibacterianas, esto puede tener implicaciones ecológicas importantes.

La actividad antimicrobiana de las ascidias también muestra mayor intensidad contra las bacterias Gram-positivas, seguida por la actividad contra las Gram-negativas y finalmente por la actividad antifúngica. Esta actividad también se incrementa en la temporada cálida, tablas 6 y 8.

#### Toxicidad en relación a la latitud:

Hasta ahora sólo se ha efectuado una pequeña discusión de como la temperatura puede influir en la producción de sustancias antimicrobianas, pero esta no es la única manifestación metabólica que pueden expresar los organismos marinos, las sustancias tóxicas son otra.

En relación a la toxicidad que presentan algunos organismos, la creencia general es que esta aumenta en forma directa con la temperatura (Amade et al., 1982).

Evidentemente la temperatura se incrementa conforme la latitud decrece y además se sabe que la mayoría de los organismos venenosos habitan en los trópicos (Russell, 1965; Halstead, 1967), aunque esto no implica que sólo los organismos tropicales sean venenosos (Bakus, 1971).

McAlister (1968) menciona que sólo el 1.6% de 770 especies de peces dulceacuicolas y marinos de Canadá son tóxicos y el 0.9% son venenosos. Conforme se avanza hacia los trópicos la toxicidad aumenta pudiendo alcanzar el 100% para holoturias en zonas cálidas de alta diversidad (Bakus, 1974; Bakus y Green, 1974; Bakus, 1975).

Existen otras investigaciones donde se relaciona la toxicidad de los organismos con la latitud. La tabla 21 compara la toxicidad de diversos organismos de aguas someras a diferentes latitudes. Los datos de esta tabla muestran una clara tendencia que apoya la creencia de que la toxicidad en los organismos aumenta hacia los trópicos. Si se analiza cuidadosamente la tabla se nota que la toxicidad observada por Yamanouchi (1955) en holoturias del Japón es muy alta para latitudes de 38°N y 55°N, aunque esto podría deberse a la corriente Norecuatorial que transporta aguas cálidas a la parte sur del Japón (Bakus y Green, 1974).

En el presente estudio el porcentaje promedio de las especies de esponjas ictiotóxicas en el Golfo de California fue de 43.3%, que es menor que el porcentaje promedio de especies de esponjas ictiotóxicas en el Mar Caribe que fue de 52.7% (Tabla 18). El Mar Caribe situado a menor latitud y bajo la influencia de corrientes cálidas la mayor parte del año parece ser más propicio para la existencia de especies tóxicas.

Hay un aspecto hasta hoy poco conocido: la estacionalidad en la producción de semioquímicos. En aquellas zonas del mundo donde se observa una estacionalidad muy marcada con un verano cálido y un invierno frío y teniendo en cuenta los argumentos presentados debería esperarse un aumento en la toxicidad en el verano, pero, realmente sucede esto?. En holoturias, la presencia de holoturias (esteroides del tipo saponinas) se incrementan estacionalmente, esto sucede durante los meses cálidos (Yasumoto *et al.*, 1966). Bakus y Green (1974) observaron que la toxicidad en holoturias y esponjas es mayor durante los meses de verano. Green *et al.*, (en prensa) notaron que las esponjas colectadas en Puerto Morelos, Quintana Roo fueron poco tóxicas durante el mes frío de enero y lo atribuyeron a la posible oscilación estacional en la producción de semioquímicos.

TABLA 21 : TOXICIDAD DE ORGANISMOS DE AGUAS SOMERAS COLECTADOS EN DIFERENTES LATITUDES

LOCALIDAD	LATITUD	GRUPO DE ORGANISMOS	NO. DE ESPECIES.		% ESPECIES	REFERENCIA
			PROBADAS	TOXICAS		
Canada	48°N-78°N	Peces dulceacuícolas y marinos	770	12	1.6	McAllister, 1968.
Islas San Juan, Washington	48°N	Esponjas	34	3	9	Bakus y Green, 1974; Green, 1977.
Islas San Juan, Washington		Holoturias	12	3	25	Bakus, 1974; Bakus y Green, 1974.
Zonas no tropicales	menor a 20°N y S	diversos organismos marinos.	937	262	28	Varios autores en Bakus, 1969.
Onagawa, Japón	38°N	Holoturias	5	4	80	Yamanouchi, 1955.
Seto, Japón	35°N	Holoturias	9	7	78	" "
Isla Santa Catalina, California	33°N	Esponjas	44	9	21	Bakus y Green, 1974; Green, 1977.
Isla Santa Catalina, California	33°N	Holoturias	2	1	50	Bakus, 1974; Bakus y Green, 1974
Guaymas, México	28°N	Holoturias	6	5	83	" "
Zihuatanejo, México	17°N	Esponjas	11	7	64	Bakus y Green, 1974; Green, 1977.
Arrecife La Blanquilla, Veracruz, México	19°N	Esponjas	36	27	75	" "
Tropicos	aprox. 20°N y S.	diversos organismos marinos.	937	675	72	Varios autores en Bakus, 1969.
Cozumel, México	20°N-17°N	Esponjas	54	31	57	Bakus y Thun, 1979
Islas Marshall	12°N	Holoturias	4	4	100	Bakus, 1968.
Islas Palau, Océano Pacífico	7°N	Holoturias	11	11	100	Yamanouchi, 1955.
Isla Cocos, Océano Pacífico Oriental	6°N	Holoturias	7	6	86	Bakus, 1974.
Isla Lagartija, norte de la Gran Barrera de Coral, Australia	14°S	Esponjas, gorgónidos, asteroideos, crinoideos, holoturias, ascidias.	42	25	60	Bakus, 1981.
Isla Orfeo, arrecifes Britomart, Davies, etc. Gran Barrera, Australia	18°-19°S	Corales blandos.	136	51	52	Coll, 1982.
Bahía Monterey, California	36°-37°N	nudibranquios	10	5	50	Furthman <i>et al.</i> , 1979
Golfo de California México	23°-32°N	Esponjas	15	7	46.6	este estudio.
" "	" "	" "	15	6	40	" "
Mar Caribe, México	21°-24°N	Esponjas y ascidias	43	24	55.9	" "
" "	" "	" "	50	21	42	" "

Los resultados de este estudio indican una variación de la ictiotoxicidad relacionada a la estación del año. En el crucero Cortés II efectuado en marzo (1985) se encontró un porcentaje de ictiotoxicidad del 46.6%, en tanto que la registrada en el crucero Cortés III efectuado en agosto (1985) fue de 40%, tabla 14. Esto aparentemente es una contradicción, ya que en agosto la temperatura superficial promedio es más alta, pero en el Golfo de California las diferencias de temperatura en una misma época son muy grandes. Otro factor importante en la explicación de estos resultados es la disminución de la temperatura conforme la profundidad aumenta, situación que combinada con las muy diferentes profundidades del Golfo permite comprender el porque de estos resultados. Además el tamaño de la muestra (15 especies por crucero) es importante ya que la aparición de una especie ictiotóxica altera el porcentaje de ictiotoxicidad en un 6.7%, en cada uno de estos cruceros. En este caso el trabajar con especies diferentes introduce "ruido" en una muestra estadísticamente pequeña.

Estos resultados unicamente se refieren al número de esponjas ictiotóxicas en una muestra, pero, ¿varía la intensidad de esta toxicidad?. En el crucero Cortés II el promedio de los li fue de 0.02030 g/min, que es menor que el promedio de los li del crucero Cortés III que fue de 0.03322 g/min, tabla 16. Estos datos indican una ictiotoxicidad de 1.64 veces mayor en el crucero Cortés III. Resultados acordes a la hipótesis de la temperatura y la toxicidad.

Para efectuar este tipo de estudios lo ideal es coleccionar la misma especie a lo largo del año, esto permite hacer una comparación más real y formular una ecuación que prediga (con las reservas del caso) el comportamiento ictiotóxico de nuestra esponja a lo largo del año. En ambos cruceros Cortés se colectó la misma especie de esponja del orden Spirophorida con claves SCII y 15CIII, siendo esta última ictiotóxica. Esto sugiere una oscilación en la producción de semioquímicos durante el año. Lo cual es acorde al aumento de la toxicidad con el incremento de la temperatura.

En el caso de los cruceros PROIBE III y IV se notó en esponjas un porcentaje promedio de ictiotoxicidad superior al del Golfo de California (tabla 18). La relación de los porcentajes promedio entre el crucero PROIBE III y IV fue de 57.6% y 47.7% respectivamente, es decir 1.21 veces mayor en el crucero PROIBE III, tabla 14. Estos resultados son de esperarse ya que en abril-mayo la temperatura es más alta que en octubre-noviembre, fechas en las que se acerca el invierno además de la influencia de los "nortes" que se producen en

esta época y que enfrían el ambiente.

El índice promedio de ictiotoxicidad para el crucero PROIBE III fue de 0.02031 g/min y de 0.01926 g/min para el PROIBE IV, es decir, 1.05 veces mayor en abril-mayo, tabla 16. Existen especies de esponjas que se repiten en ambos cruceros como la esponja *Cliona caribbea* con claves E-47#1PIV y E-17#1PIII que es el único ejemplo de una esponja que aumentó su toxicidad hacia la estación fría. Los datos de la esponja *Ircinia campana* con claves E-40#3PIV y E-6#3PIII aumentó en forma importante en la temporada cálida convirtiéndose en la esponja más tóxica del crucero PROIBE III; la esponja *Spherospongia vesparia* con claves E-52#1PIV y E-28#1PIII la cual disminuyó su toxicidad en 14.4 veces! en la estación fría, tablas 11 y 13.

Referente a la ictiotoxicidad en las ascidias la diferencia es aun más clara ya que en la época cálida hubo 6 ascidias ictiotóxicas, en tanto que en la época fría no hubo ictiotoxicidad. Hubo una especie de ascidia que se repitió en ambos cruceros (*Polyclinum* sp 1 E-3#6PIII; E-67#1PIV), pero en ninguna ocasión fue ictiotóxica, esta situación se observó también en algunas esponjas, tabla 12.

De manera general, puede decirse que en el Golfo de México la temperatura de las aguas decrece en una relación inversa a la profundidad (Ichiye, 1962) y lo mismo sucede en el Golfo de California. Se podría esperar que los organismos colectados en aguas superficiales sean más tóxicos que los colectados en aguas profundas.

#### Origen, evolución y ecología de toxinas en organismos sésiles:

Estas argumentaciones indican una importancia muy grande de los factores físicos, en este caso la temperatura sobre la fisiología de los organismos. Pero éstos no viven aislados, viven sumergidos en un mar de intrincadas relaciones con su ambiente físico y con otros organismos. Además se debe recordar que las características de un organismo son el resultado de toda una historia evolutiva y bajo este punto de vista deben ser analizados.

Bakus (1974) sugiere que la toxicidad está relacionada con el habitat sésil o de movimientos lentos. Es posible que las sustancias tóxicas de los invertebrados sésiles se hayan originado como respuesta a la presión de selección que ejercen los peces raspadores, pasedores y depredadores en

organismos tropicales de aguas someras (Bakus, 1964; Koschman, 1969; Green, 1977a). Una gran cantidad de organismos bentónicos como algas, balanos, corales, esponjas, erizos y multitud de organismos más son activamente depredados por peces lo cual repercute en su abundancia (Newman, 1960; Bakus, 1964).

En el análisis del contenido estomacal de 212 especies de peces de aguas someras en las Indias Occidentales, se encontró que 21 de ellas tenían restos de esponjas, en 11 de éstas las esponjas comprendieron el 6% o más del contenido estomacal, se asume que los peces se alimentaban intencionalmente de esponjas; los peces angel de los generos Holocanthus, Pomacanthus y Cantherhines son ejemplos de una alimentación casi exclusiva de esponjas (Randall y Hartman, 1968). En el Golfo de California existe una situación similar (Reynolds y Reynolds, 1976). En las islas Marshall se encontró que los peces balón Acrothron mappa se alimentan en gran medida de esponjas (Hiatt y Strasburg, 1960).

La intensidad de la depredación de los peces sobre el bentos es mayor en los trópicos (Green, 1977; Bakus et al., 1986). Evidentemente debe existir una respuesta adaptativa frente a tal presión de selección. Algunas estrategias de defensa que siguen los invertebrados bentónicos son: a) defensas mecánicas como paquetes de espículas, esqueletos calcáreos, túnicas correosas, etc.; b) coloración protectora; c) gran tamaño; d) rapidez de movimientos; e) toxicidad, incluyendo sabor y olor desagradables; f) producción de antimicrobianos (Bakus, 1964).

Organismos de movimientos lentos como los moluscos Neptunea arthritica, Conus de diferentes especies, etc., poseen poderosos venenos capaces de matar animales de gran tamaño produciéndoles generalmente fallas respiratorias (Cruz et al., 1976). Se ha encontrado que varios peces marinos son sensibles a ciertas saponinas de las holoturias y que rehusan alimentarse de estos organismos tóxicos, pero rápidamente aceptan a los no tóxicos (Bakus y Green, 1974). La holoturia Psolus chitingoides en las islas San Juan, Washington, es poco atractiva a los peces por su alta concentración de saponinas (Bakus et al., 1986). En algunos corales blandos, las toxinas son secretadas más o menos continuamente (Coll, 1982) y para algunas esponjas se ha propuesto el mismo mecanismo (Green, 1977 a; Thompson et al., 1985). La esponja Iotrochota birotulata no es muy tóxica pero libera un exudado fuertemente oloroso que es evitado por los peces (Green, 1977 a). Los tiburones rara vez consumen invertebrados bentónicos cuando éstos son tóxicos (Bakus et al., 1983).

Las ascidias representan un caso de defensa química muy interesante ya que poseen células vejiga que contienen ácido sulfúrico a un pH menor de 2 (Swinehart *et al.*, 1974; Stoecker, 1978). La superficie externa de la testa de las ascidias libera este ácido fuerte cuando apenas se le toca (Stoecker, 1978). El mismo autor (1980 a) menciona que el ácido evita en gran medida la depredación por peces; así como el reclutamiento epizoico (Stoecker, 1980 b). Las ascidias almacenan una gran cantidad de vanadio en sus tejidos, este metal en cantidades traza es un veneno metabólico; experimentos de laboratorio han demostrado que la presencia de vanadio evita que los peces y crustáceos se alimenten de ascidias (Stoecker, 1978, 1980 a).

En este trabajo la actitud de los peces del género *Lebistes* cuando fueron colocados en un extracto tóxico fue sucesivamente un intento desesperado por escapar, pérdida del equilibrio, movimientos oscilantes y erráticos, natación con el vientre hacia arriba, rápidos movimientos operculares, convulsiones y finalmente la muerte. El comportamiento de los peces frente a estas toxinas, sugiere una interferencia en el transporte de oxígeno a través de las membranas de las branquias y/o que está ocurriendo una fuerte respuesta quimiorreceptiva (Bakus *et al.*, 1986).

Teniendo en cuenta el principio del gasto mínimo de energía en los seres vivos y si la toxicidad actúa como un medio de defensa eficaz, es lógico suponer que no se utilice energía en dos mecanismos defensivos, si con uno es suficiente, aunque esto no implica que no pueda haber dos o más mecanismos de defensa en un organismo. Green (1977 a) reportó que la mayoría de las esponjas no crípticas en México fueron altamente tóxicas a los peces; en el laboratorio los peces rehusaron alimentarse de pedazos de estas esponjas y morían si eran forzados a ingerirlas. En la Gran Barrera de Coral, Australia, las esponjas muestran una alta incidencia de sustancias tóxicas; de 10 especies de esponjas no miméticas, 4 no fueron tóxicas, pero tuvieron fuertes paquetes de espículas o fueron muy correosas, lo que representa una protección mecánica contra la depredación (Bakus, 1981). La mayoría de los corales blandos y no crípticos que representan una tentación muy grande para los peces, son tóxicos, lo que evita su depredación (Coll, 1982).

Pocas familias de peces se logran alimentar de esponjas, esto sugiere que las defensas de las esponjas como son las espículas, fibras correosas y sustancias tóxicas, son altamente eficientes en disminuir la depredación y estos peces han tenido que especializarse durante mucho tiempo para colonizar a las esponjas como fuente de alimento (Randall y Hartman, 1968).

El comportamiento de sustancias químicas como las toxinas en el ambiente es complicado, un aspecto interesante es que algunos organismos no producen toxinas de novo, sino que los adquieren de su dieta. Los aparentemente indefensos nudibranquios poseen en algunos casos defensas químicas. Se ha encontrado que muchas de estas sustancias derivan del alimento (Hochlowski y Faulkner, 1981). Algunos nudibranquios dóridos se alimentan de esponjas que se sabe son tóxicas, estos metabolitos que sirven de defensa a los nudibranquios se han podido rastrear hasta estas esponjas, como en el caso del nudibranquio Phyllidia pulitzeri con la esponja Hymeniacion sp (Cimino et al., 1982; Thompson et al., 1985). Se cree que la pérdida de la concha en algunos nudibranquios y otros opistobranquios fue gradual al tiempo en que se iba adquiriendo la defensa química (Faulkner y Ghiselin, 1983). Se ha demostrado que algas como Caulerpa también pueden ser fuente de metabolitos tóxicos que otros organismos incorporan (Doty y Aguilar-Santos, 1970).

#### Ecología de antimicrobianos en esponjas:

Otra manifestación fisiológica que pueden tener los organismos bentónicos, especialmente los sésiles, es la producción de sustancias antimicrobianas. Burkholder (1973) sugiere que la actividad antimicrobiana que presentan algunas esponjas es un mecanismo ofensivo que inactiva a los microorganismos que la esponja filtra para después ser digeridos. Pero, ¿qué tan importantes son las bacterias en la dieta de las esponjas?. Evidencia preliminar de laboratorio sugiere que algunos invertebrados filtradores pueden retener, ingerir y probablemente asimilar bacterias que existen en aguas en movimiento (Di Salvo, 1971; Sorokin, 1971). Reisswig (1975) reporta que las esponjas Haliciona permollis y Suberites ficus filtran con gran eficiencia a bacterias y que esta dieta es suficiente para satisfacer sus requerimientos alimenticios. Aunque Wilkinson (1978 b) opina que las cantidades de energía que las esponjas pueden obtener de la digestión de bacterias no es suficiente para mantener su metabolismo.

Al parecer la alimentación heterótrofa no es la única relación que existe entre las esponjas y las bacterias. En las esponjas Pericharax heteroraphis, Jaspis stelifera y Neofibularia irata existen poblaciones de bacterias anaerobias facultativas que son específicas a las esponjas y que son diferentes a las del entorno marino. Se asume que son simbioses (Wilkinson, 1978 a). Vacelet (1971) determinó que las cianobacterias pueden convivir con la esponja Verongia aereophoba. La simbiosis entre las cianobacterias y las

esponjas puede ser muy íntima. En algunas esponjas se han detectado estructuras especializadas en albergar cianobacterias, que reciben el nombre de cianocitos (Wilkinson, 1978 b). Pero, ¿qué presión de selección podría haber favorecido una simbiosis entre cianobacterias y esponjas? Grandes sistemas coralinos que viven en aguas tropicales deben su existencia a la simbiosis entre corales y zooxantelas; éstas constituyen una enorme biomasa no conspicua (Nybakken, 1982). Las esponjas constituyen el segundo grupo en biomasa más importante en la fauna bentónica de los arrecifes de coral (Vacelet, 1971; Wilkinson, 1978 b), pero el mecanismo por el cual se nutren tamañas poblaciones todavía es desconocido (Stewart *et al.*, 1967 *vide* Wilkinson y Fay, 1979). Este tipo de simbiosis puede producir una gran cantidad de nutrientes para el organismo hospedero (Johanes *et al.*, 1970; Carpenter y Culliney, 1975). Las esponjas asociadas con cianobacterias constituyen un 80% en la Gran Barrera (Vacelet, 1971). No sólo las esponjas tienen asociaciones con endosimbiontes fotosintéticos; la tabla 22 muestra otros organismos que poseen este mismo tipo de relación.

En las esponjas las cianobacterias se encuentran distribuidas en un gradiente de máxima densidad en la zona iluminada del tejido del hospedero a una densidad mínima en las zonas profundas y oscuras del tejido (Wilkinson, 1978 b, 1983). Evidentemente esto apoya la idea de que las cianobacterias fotosintetizan dentro de la esponja. Esponjas asociadas con cianobacterias presentan una gran actividad de nitrogenasas, lo que implica grandes cantidades de nitrógeno fijado por estos microsimbiontes; esta actividad no se observa en esponjas sin cianobacterias como *Inodes erecta*. En las esponjas con cianobacterias la actividad de nitrogenasas es más alta en la zona iluminada del tejido (Wilkinson y Fay, 1979).

Algunas preguntas lógicas que surgen son, ¿como pueden mantenerse grandes poblaciones de bacterias en una esponja si ésta produce sustancias antimicrobianas?, ¿o es qué en realidad los antimicrobianos no los producen las esponjas sino las mismas bacterias?, ¿o las bacterias que viven en las esponjas se han adaptado a los antimicrobianos que éstas producen?. Durante mucho tiempo ha habido gran incertidumbre con respecto a este tipo de preguntas. Se sabe que existen cianobacterias de vida libre que pueden producir compuestos tóxicos (Stewart y Daft, 1977). En algunas esponjas de la misma especie se ha encontrado diferencia en la actividad antimicrobiana, posiblemente se deba a que algunas poseían microsimbionte y otras no (Amade *et al.*, 1982). Después de una serie de experimentos Jakowska y Nigrelli (1960)

TABLA 22: ORGANISMOS CON ENDOSIMBIOTES FOTOSINTETICOS.

REINO DEL HOSPEDERO	PHYLUM DEL HOSPEDERO	MIEMBROS FOTO SINTETICOS DEL PHYLUM	SIMBIOTES (CLA SIFICADOS DESPUES DE LA LIBERACION DEL HOSPEDERO)	REINO DE LOS SIMBIOTES.	
Protoctista		muchos radiolarios	(X) <u>Gymnodinium</u> ( <u>Symbiodinium</u> ) diniflagelados	P	
		<u>Globigerinoides ruber</u>	(X) probablemente dinoflagelados	P	
	Ciliophora	<u>Paramecium bursaria</u>	(C) alga semejante a <u>Chlorella</u>	P	
	Bacillariophyta (Rhizoselania)	<u>Richelia intracellularis</u>	(BG) <u>Richelia</u>	M (?)	
Animalia	Cnidaria	<u>Paulinella</u> , <u>Cladocora</u> , <u>Acropora</u> , anémóna de la costa del Pacífico	(BG) "Cyanelas" (X) <u>Gymnodinium</u> desconocido (X) dinoflagelados semejantes a <u>Peridinium</u> (X) flagelados semejantes a desmononadidos	M P P P	
		Platyhelminthes (Turbelarios)	<u>Convoluta</u> , <u>Ophioqlypha</u>	(C) <u>Platymonas</u> (mastigotes) alga no identificada en placas epidermales	P P
			Mollusca	<u>Tridacna</u> , <u>Tridachia</u> , <u>Elysia</u> , <u>Plachobranchia</u>	(X) <u>Gymnodinium</u> (C) cloroplastos, organelos extraños retenidos (C) cloroplastos, organelos extraños retenidos (C) cloroplastos, organelos extraños retenidos
		Chordata		Didemnídos (Ascídias)	(C) <u>Prochloron</u>
	Plantae	Cycadophyta		Todas	<u>Nostoc</u> y <u>Anabaena</u> cianobacterias en raíces

(X)= zooxantelas  
(C)= zooclorelas  
(BG)= organismos azul-verdes  
(M)= monera  
(P)= protoctista

Margulis, 1981.

concluyeron que la sustancia antimicrobiana con la que ellos trabajaron era producida por las esponjas y no por las bacterias asociadas. Aunque este puede ser no siempre el caso.

En las pruebas realizadas los mayores efectos antimicrobianos se han registrado contra bacterias marinas más que contra bacterias terrestres (Bergquist y Bedford, 1978). Como mecanismo defensivo es posible que los antimicrobianos de la esponja la protejan contra infecciones (Green, 1977 b).

La mayoría de las bacterias marinas son Gram-negativas (McNeill, 1979; Bakus *et al.*, en prensa) y las especies aisladas a partir de esponjas son también Gram-negativas (Wilkinson, 1978 b) ¿por qué?, en el mar las bacterias Gram-negativas son más cosmopolitas porque están bien adaptadas a vivir con pocos nutrientes (Costerton *et al.*, 1974), poseen gran cantidad de enzimas y son capaces de usar gran cantidad de sustratos como alimento además de que un número importante de ellas posee una capa externa a la membrana que les sirve como protección. La diferencia entre estos dos tipos de bacterias se da principalmente en la pared celular (Wolfe, 1977), las bacterias Gram-positivas son más sensibles a los antimicrobianos de las esponjas que las Gram-negativas, la razón de esta diferencia debe encontrarse en la membrana citoplasmática o en la pared celular de las bacterias que permite o no la acción del antimicrobiano, pero aun no hay una respuesta a este problema.

Los resultados de actividad antimicrobiana presentados en este trabajo y en los de otros autores indican que existe una estacionalidad. En la Gran Barrera de Coral la población bacteriana se incrementa en un orden de magnitud durante la estación cálida; al aumentar la intensidad de la radiación solar la fotosíntesis se incrementa, así como el número de algas y de cianobacterias ya que disponen de gran cantidad de energía. Las esponjas rotas o dañadas están más expuestas a sufrir enfermedades bacterianas o fúngicas en la estación cálida. El aumento en la producción de antimicrobianos puede ser una respuesta adaptativa al incremento de patógenos en el medio. Otra opción es que el aumento de bacterias en la estación cálida las force a competir por el sustrato y el alimento y produzcan más metabolitos antimicrobianos o que simplemente se trate de un efecto Q 10 (Green *et al.*, en prensa).

Bergquist y Bedford (1978) opinan que estos antimicrobianos son una respuesta frente al medio y que si

una esponja los produce otra esponja relacionada filogenéticamente podría producirlos con mayor probabilidad que una no relacionada filogenéticamente y que la actividad contra bacterias terrestres es puramente accidental. Es evidente que las sustancias antimicrobianas pueden ser una respuesta al medio, pero es poco probable que la actividad bactericida sea puramente accidental contra bacterias terrestres. Recordemos que los organismos provienen de un antepasado común, debemos esperar que las bacterias Gram-negativas terrestres estén más emparentadas filogenéticamente con las bacterias Gram-negativas marinas que con las Gram-positivas terrestres. Debemos suponer que la pared celular otorga cierta protección a las bacterias Gram-negativas contra estos antimicrobianos y que esta resistencia la comparten con las bacterias Gram-negativas terrestres.

Wilkinson (1978 b) piensa que las esponjas tal vez puedan reconocer a sus bacterias simbioses de los materiales alimenticios, pero esto implica un "sistema inmune". Se han observado reacciones de rechazo en injertos alogénicos entre esponjas, ascidias y otros invertebrados. Esto es una respuesta de histocompatibilidad a un nivel filogenéticamente temprano (Kaye y Ortiz, 1981).

#### Actividad antiepibiontica:

El espacio es un factor limitante en la mayoría de los ambientes marinos y los organismos desarrollan diferentes estrategias para aumentar su competitividad por el espacio, una de ellas es el epibiontismo. Contra esto algunos organismos como las esponjas y las ascidias producen aleloquímicos que impiden sean epibiontizadas (Jackson y Buss, 1975; Jackson, 1977). Se ha demostrado que sustancias producidas por algunos organismos inhiben el crecimiento de sus vecinos o los matan directamente (Kittredge et al., 1974; Sheppard, 1979; Branch, 1984).

Coll (1982) ha sugerido que las sustancias producidas por algunos corales inhiben el epibiontismo. Se ha demostrado experimentalmente en *Ascidia nigra* que la acidez y la alta concentración de vanadio pueden ser importantes para evitar el reclutamiento epizoico (Stoecker, 1978, 1980 a). La misma autora (1980 b) menciona que algunas especies que carecen de acidez o de una buena concentración de vanadio superficial están libres de epibiontes, esto puede deberse a altas tasas de crecimiento como ocurre en *Symploegma* o a otro tipo de aleloquímicos, quizá orgánicos. El epibiontismo podría afectar de múltiples formas al organismo colonizado debilitando su probabilidad de sobrevivir (Stoecker, 1978).

Nakutsu et al., (1983) notaron una relación negativa entre la presencia de actividad antimicrobiana y la superficie ocupada por epibiontes y sugirieron un posible papel antiepibiótico para estas sustancias. Bakus et al., (en prensa) en experimentos en el campo usando tablas de madera impregnadas con extracto de esponja y tablas control observaron que ninguna de las esponjas antimicrobianas inhibieron la fijación de larvas de poliquetos ni de briozoarios, sugieren que tal vez no todas las sustancias antimicrobianas sean antiepibióticas.

¿De que manera podrían actuar estas sustancias antiepibióticas? Ruggieri et al., (1961) reportaron que extractos de algunas esponjas producían citólisis y aberraciones en los huevos del erizo de mar Arbacia punctulata, además de malformaciones en la larva. Esto también ha sido reportado por otros autores (Nakutsu, et al., 1983; Capon y Faulkner, 1984). Thompson (1985) encontró que el exudado de Aplysina fistularis inhibió la metamorfosis de la larva veliger de un gasterópodo, redujo su capacidad de fijación y produjo cambios conductuales en 5 invertebrados adultos. La evidencia preliminar indica que los organismos tropicales son productores más activos de sustancias antiepibióticas que los de aguas templadas (Bakus, et al., 1986).

En Jamaica se ha observado que los espacios que se producen en el sustrato son ocupados rápidamente por las esponjas que impiden que éste sea ocupado por otros organismos debido a la posible acción de sustancias tóxicas (Goodbody, 1961). La esponja Siphonodictyon coralliphagum produce antimicrobianos que además son capaces de destruir al coral vecino, lo que la provee de una zona muerta alrededor, situación que evita el epibiontismo y favorece su capacidad de competencia por el espacio (Sullivan et al., 1983).

Los aleloquímicos liberados por algunos organismos pueden ser importantes en mantener la estructura de la comunidad al influir en la formación de redes competitivas (Jackson y Buss, 1975; Jackson, 1977).

Haldane (1955 vide Kittredge et al., 1974) sugirió que la comunicación química es la forma más primitiva de intercambio de información en organismos unicelulares. Entonces este tipo de interacciones deben de haber existido desde hace mucho tiempo. Además se sabe que la diversidad puede producir especialización. En los trópicos encontramos habitats que han evolucionado en condiciones estables durante mucho tiempo, esto aunado a la alta diversidad que encontramos en los trópicos hacen un medio favorable para la aparición de

estrategias ofensivas y defensivas tan sofisticadas y eficientes como las químicas. Bakus *et al.*, (1986) mencionan que los organismos con defensas químicas en los trópicos son comunes y dominantes por biomasa y/o número.

La importancia que anteriormente se les daba a los productos naturales del mar era mínima. En la actualidad la situación está cambiando debido a los enormes beneficios que en muchos sentidos puede traernos este conocimiento. Biológicamente se tienen aun muchas interrogantes, ¿cómo funcionan los semioquímicos para mantener la estructura de una comunidad? ¿se debe a un proceso de coevolución la capacidad que tienen algunos organismos como los nudibranchios de aceptar y acumular toxinas de esponjas?, han surgido estas sustancias por casualidad o por selección natural?, ¿qué tanto influye la diversidad en su aparición y evolución?, ¿qué factores favorecen la estacionalidad en la producción de semioquímicos?, ¿existen mecanismos semejantes en el mar y en la tierra que favorezcan la aparición de semioquímicos?, etc., son preguntas que hasta el momento no podemos responder del todo.

Este tipo de investigaciones aparte de despejar grandes dudas científicas posibilita el obtener grandes beneficios económicos y sociales. Únicamente el aspecto farmacológico podría producir beneficios por cantidades millonarias, muchas fuentes de trabajo, aliviar cuando menos en parte el dolor y la enfermedad humanas, etc.

## CONCLUSIONES

La ictiotoxicidad así como la actividad antimicrobiana tiene un relación inversa con la latitud. Esta es mayor en el Mar Caribe que en el Golfo de California.

La ictiotoxicidad así como la actividad antimicrobiana presentan una relación directa con la temperatura.

Se presenta una variación estacional en la producción de semioquímicos en esponjas y ascidias, ésta se incrementa durante la estación cálida.

Las bacterias Gram-negativas presentan una mayor tolerancia a estos semioquímicos que las Gram-positivas. Siendo los microhongos los más resistentes.

Casi cualquier esponja o ascidia con actividad antifúngica fue también bactericida en algún grado, no observándose comunmente lo contrario.

El Phylum Porifera presenta en forma común la producción de semioquímicos con alguna función ecológica.

Los organismos sésiles presentan ambas propiedades como mecanismos de defensa y/o de competencia.

Los organismos tropicales de aguas someras, que viven en ambientes de alta diversidad deben presentar con mayor frecuencia defensas químicas.

La importancia ecológica de estos semioquímicos puede ser importante en la sucesión, abundancia y distribución de organismos sésiles, así como en mantener la estructura de la comunidad.

El potencial farmacológico de estas sustancias es muy amplio y con repercusiones sociales y económicas importantes.

## LITERATURA CITADA

- Alvarez-Borrego. 1983. Gulf of California. En: Estuaries and Enclosed Seas. Ed. B. H. Ketchum. U.S.A. 427-449.
- Amade, Ph, D. Pesando y L. Chevolot. 1982. Antimicrobial Activities of Marine Sponges from French Polynesia and Brittany. Mar. Biol. 70. 223-228.
- Andersen, R. J. y J. Faulkner. 1973. A Novel Antibiotic from a Sponge of the Genus Verongia. Isthahedron Letters. No. 14. 1175-1178.
- Arehart, J. L. 1969. Oceanic Drugs Chest. Sea Frontiers-Magazine of the International Oceanographic Foundation. 15. No. 2.
- Bakus, G. J. 1964. The Effects of Fish-grazing on Invertebrate Evolution in Shallow Tropical Waters. Allan Hancock Foundation Publications. No. 27.
- Bakus, G. J. 1968. Defensive Mechanisms and Ecology of some Tropical Holothurians. Mar. Biol. 2. 23-32.
- Bakus, G. J. 1971. An Ecological Hypothesis for the Evolution of Toxicity in Marine Organisms. En: Toxins of Animal and Plant Origin. Ed. A. de Vries. y E. Kochva, Gordon y Breach. Londres, G. B. 57-62.
- Bakus, G. J. 1974. Toxicity in Holothurians: A Geographic Pattern. Biotropica. 6. 229-236.
- Bakus, G. J. 1975. Marine Zonation and Ecology of Cocos Island, off Central America. Atoll. Res. Bull. 179. 1-9.
- Bakus, G. J. 1981. Chemical Defense Mechanisms on the Great Barrier Reef, Australia. Science. 211. 479-499.
- Bakus, G. J. 1983. Toxicity in Shallow Marine Waters: Potential for Developing Shark Repellents. En: Shark Repellents from the Sea. New Perspectives. Ed. Bernard J. Zahuranec. Colorado, U.S.A.
- Bakus, G. J., B. Shulte, S. Jhu, M. Weight, G. Green y P. Gomez. En Prensa. Antibiosis and Atifouling in Marine Sponges: Laboratory vs Field Studies.
- Bakus, G. J. y G. Green. 1974. Toxicity in Sponges and Holothurians: A Geographic Pattern. Science. 185. 951-953.

- Bakus, G. J. y M. A. Thun. 1978. Bioassays on the Toxicity of Caribbean Sponges. De los Colloques Internationaux de C.N.R.S. No. 291. Biologie des Spongiaires. 417-422.
- Bakus, G. J., N. M. Targett y B. Shulte. 1986. Chemical Ecology of Marine Organisms: An Overview. J. Chem. Ecol. 12. 951-987.
- Bakus, G. J., T. Evans, B. Mading y Ph. Kourus. 1983. The Use of Natural and Synthetic Toxins as Shark Repellents and Antifouling Agents. Toxicon Suppl. 3. 25-27.
- Baldo, B. A., G. Uhlenbruck y G. Steinhausen. 1977. Anti-Galactan Agglutinins from the Marine Sponge Axinella polypoides (Schmidt). Biologisches Zentralblatt. 96. 723-733.
- Baslow, M. H. 1977. Marine Pharmacology. Ed. Robert E. Krieger Publishing Company. Huntington, New York.
- Baxter, E. H. y A. G. M. Marr. 1969. Sea Wasp (Chironex fleckeri) Venom: Lethal Haemolytic and Dermonecrotic Properties. Toxicon. 7. 195-210.
- Bergquist, P. R. y J. J. Bedford. 1978. The Incidence of Antibacterial Activity in Marine Demospongiae; Systematic and Geographic Consideration. Mar. Biol. 46. 215-221.
- Bernheimer W. y L. S. Avigad. 1976. Properties of a Toxin from the Sea Anemone Stoichactis helianthus, Including Specific Binding to Sphingomyelin. Proc. Nat. Acad. Sci. 73. 467-471.
- Biedebach, M. C., G. P. Jacobs y S. W. Langjahr. 1978. Muscle Membrane Potential Effects of a Toxin Extract from the Sea Urchin Lytechinus pictus (Verrill). Comp. Biochem. Physiol. C. 59. 11-12.
- Bolin, B. 1976. El Ciclo del Carbono. En: Química y Ecosfera, Selecciones de Scientific American. Ed. Hermann Blume. Madrid.
- Branch, G. M. 1984. Competition between Marine Organisms: Ecological and Evolutionary Implications. Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev. 22. 429-593.
- Bretting, H. et al. 1981. Investigations on the Occurrence of Lectins in Marine Sponges with Special Regard to some Species of the Family Axinellidae. Comp. Biochem. Physiol. B. 70. 69-76.
- Brower, L. P. 1969. Química Ecológica. En: Ecología. Evolución y Biología de Poblaciones. Ed. Omega S. A.

- Barcelona, España. 1978. 155-162.
- Brusca, R. C. 1980. Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of California. The University of Arizona Press. Tucson, Arizona.
- Buckley, L. J., M. Ikawa y J. J. Sasner. 1976. Isolation of Gonyaulax tamarensis Toxins from Soft Shells Clams (Mya arenaria) and a Thin Layer Chromatographic-Fluorometric Method for their Detection. J. Agric. Food. Chem. 24. 107-111.
- Burkholder, P. R. y K. Ruetzler. 1969. Antimicrobial Activity of some Marine Sponges. Nature. 222. 983-984.
- Burkholder, P. R. 1973. Ecology of Marine Antibiotics and Coral Reefs. En: Biology and Geology of Coral Reefs. Vol. II. Academic Press N. Y. London. 117-182.
- Cairns, S. D. y C. A. Olmsted. 1973. Effect of Holothurin on Sarcoma 180 and B-16 Melanoma Tumors in Mice. Gulf. Res. Repts. 4. 205-213.
- Calton, G. J. y J. W. Burnett. 1973. The Purification of Portuguese Man-of-War Nematocyst Toxins by Gel Diffusion. Comp. Gen. Pharmac. 4. 267-270.
- Capon, R. J. y D. J. Faulkner. 1984. Antimicrobial Metabolites from a Pacific Sponge, Agelas sp. J. Am. Chem. Soc. 106. 1819-1822.
- Cariello, L., Benedetto S. y Giulio J. 1980. Partial Characterization of Suberitine, the Neurotoxic Protein Purified from Suberites dumuncula. Comp. Biochem. Physiol. B. 67. 337-344.
- Cariello, L., L. Zanetti, V. Cuomo y F. Vanzanella. 1979. Antimicrobial Activity of Avarol A Sesquiterpenoid Hydroquinone from the Marine Sponge, Dysidea avara. Comp. Biochem. Physiol. B. 71. 281-283.
- Carpenter, E. J. y Culliney, J. L. 1975. Nitrogen Fixation in Marine Shipworms. Science. 197. 551-552.
- Carter, G. T. y K. L. Rinehart, Jr. 1978. Acarnidines, Novel Antiviral and Antimicrobial Compounds from the Sponge Acarinus erithacus (De Laubenfels). J. Am. Chem. Soc. 100. 4302-4304.
- Chib, J. S. 1977. Physiologically Active Substances from Marine Sponges IV: Heterocyclic Compounds. Journal of Pharmaceutical Sciences. 66. 1052-1054.
- Chib, J. S., M. F. Stempien, Jr., R. A. Mierzwa, G. D.

- Ruggieri y R. F. Nigrelli. 1978. Physiologically Active Substances from Marine Sponges V: Isolation of Physiologically Active Compounds from the Sponge *Verongia archeri*. J. Pharm. Sci. 67. 264-265.
- Cimino, G., S. de Rosa, S. de Stefano y G. Sodano. 1982. The Chemical Defense of Four Mediterranean Nudibranchs. Comp. Biochem. Physiol. B. 73. 471-474.
- Cochrane, J. D. 1972. Separation of Anticyclone and Subsequent Developments in the Loop Current (1969). En: Contributions on the Physical Oceanography of the Gulf of Mexico. Ed. L. R. A. Capurro y J. L. Reid., Gulf. Publ. Co., Houston, Texas. 91-106.
- Coll, John C. 1982. Chemical Defenses in Soft Corals (Coelenterata: Octocorallia) of the Great Barrier Reef: A Study of Comparative Toxicities. Mar. Ecol. Prog. Ser. 8. 271-278.
- Costerton, J. W., J. W. Ingram y K. J. Cheng. 1974. Structure and Function of the Cell Envelope of Gram-negative Bacteria. Bacteriol Rev. 38. 87-110.
- Cosulich, D. B. y F. M. Lovell. 1971. An X-Ray Determination of the Structure of an Antibacterial Compound from the Sponge, *Ianthella ardis*. Chem. Comm. No. 8. 397-398.
- Croft, J. A. y M. H. E. Howden. 1972. Chemistry of Maculotoxin: A Potent Neurotoxin Isolated from *Hapalochlaena maculosa*. Toxicon. 10. 645-651.
- Crone, H. D. y T. E. B. Keen. 1971. Further Studies on the Biochemistry of the Toxins from the Sea Wasp *Chironex fleckeri*. Toxicon. 9. 145-151.
- Cruz, F. S. 1984. Sustancias Antimicrobianas de la Esponja *Haliciona* sp. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cruz, L. J., G. Corpus y B. M. Olivera. 1971. A Preliminary Study of *Conus* Venom Protein. The Veliger. 18. 302-308.
- DiSalvo, L. H. 1971. Regenerative Functions and Microbial Ecology of Coral Reefs: Labelled Bacteria in a Coral Reef Microcosm. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 7. 123-136.
- Doty, M. S. y G. Aguilar Santos. 1970. Transfer of Toxic Algal Substances in Marine Food Chains. Paq. Sci. 24. 351-355.
- Ehrlich, P. R. y P. H. Raven. 1967. Butterflies and Plants. En: The Insects, Readings from Scientific American 1977.

- Ed. W. H. Freeman and Company, San Francisco. 195-202.
- Faulkner, D. J. y Ghiselin, M. T. 1983. Chemical Defense and Evolutionary Ecology of Dorid Nudibranchs and some other Opisthobranch Gastropods. Mar. Ecol. Prog. Ser. 13. 295-301.
- Fuhrman, F. A., Geraldine, J. Fuhrman y Kathryn DeRiemer. 1979. Toxicity and Pharmacology of Extracts from Dorid Nudibranchs. Biol. Bull. 156. 289-299.
- Goodbody, I. 1961. Inhibition of the Development of a Marine Sessile Community. Nature. 190. 282-283.
- Grassé, P. P. 1973. Traite de Zoologie, Anatomie, Systematique, Biologie. Tome III. Spongiaires. Ed. Masson et Editeurs Libraires de l'Academie de Medicine.
- Green, G. 1977 a. Ecology of Toxicity in Marine Sponges. Mar. Biol. 40. 207-215.
- Green, G. 1977 b. Antibiosis in Marine Sponges. F.A.O. Fisheries Report. No. 200. 199-205.
- Green, G., P. Gómez y G. Bakus. En Prensa. Antimicrobial and Ichthyotoxic Properties of Marine Sponges from Mexican Waters.
- Haldane, J. B. S. 1955. Animal Communication and the Origin of the Human Language. Sci. Progr. 43. 385-401.
- Halstead, B. W. 1965. Poisonous and Venemous Marine Animals of the World. Vol. 1. Invertebrates. Government Printing Office Washington D. C.
- Halstead, B. W. 1967. Poisonous and Venemous Marine Animals of the World. Vol. 2. Vertebrates. Government Printing Office. Washington D. C.
- Halstead, B. W. 1978. Poisonous and Venemous Marine Animals of the World. Darwin Press, Inc. Princeton.
- Halstead, B. W. 1980. Dangerous Marine Animals. Cornell Maritime Press. Centreville, Maryland.
- Hiatt, R. W. y D. W. Strasburg. 1960. Ecological Relationships of the Fish Fauna on Coral Reefs of the Marshall Islands. Ecol. Monogr. 30. 65-127.
- Higgs, M. D. y Faulkner D. J. 1978. Plakortin, an Antibiotic from Plakortis halichondrioides. J. Org. Chem. 43. 3454-3457.
- Hochlowski, J. E. y Faulkner D. J. 1981. Chemical

- Constituents of the Nudibranch Chromodoris marislae. Tetrahedron Letters. 22, 271-274.
- Hollenbeak, K. H. y Schitz, F. J. 1978. Aplysinopsin: Antineoplastic Tryptophan Derivative from the Marine Sponge Verongia spengellii. Lloydia. 40, 479-481.
- Hutchinson, E. G. 1982. Los Ciclos Minerales. En: La Biosfera. Selecciones de Scientific American. Alianza Editorial. Madrid.
- Ichiye, T. 1962. Circulation and Water Mass Distribution in the Gulf of Mexico. Geofis. Int. 2, 47-76.
- Jackson, J. B. C. 1977. Competition on Marine Hard Substrata: The Adaptative Significance of Solitary and Colonial Strategies. The American Naturalist. 111, 743-767.
- Jackson, J. B. C. y L. Buss. 1975. Allelopathy and Spatial Competition among Coral Reef Invertebrates. Proc. Nat. Acad. Sci. 72, 5160-5163.
- Jakowska, S. y R. F. Nigrelli. 1960. Antimicrobial Substances from Sponges. Ann. N. Y. Acad. Sci. 90, 913-916.
- Johanes, R. E., Coles S. L. y Kuenzel N. T. 1970. The Role of Zooplankton in the Nutrition of some Scleractinian Corals. Limnol. Oceanogr. 15, 579-586.
- Kaul, P. N. 1979. Le Potentiel Biomedical de la Mer. Impact Science et Societe. 29, 127-139.
- Kaye, H. y T. Ortiz. 1981. Strain Specificity in a Tropical Marine Sponge. Mar. Biol. 63, 165-173.
- Kittredge, J. S., F. T. Takahashi, J. Lindsey y R. Lasker. 1974. Chemical Signals in the Sea: Marine Allelochemicals and Evolution. Fish. Bull. 72, 1-11.
- Koschman, J. R. 1969. Toxins as a Protective Mechanism in Large West Indian Sponges. Organization for Tropical Studies. Tropical Marine Biology.
- Lad, P. J., J. W. Brown y T. Shier. 1978. Activation of Guanylate Cyclase and Inhibition of Adenylate Cyclase by Cytotoxic Preparations from Marine Sponges of Haliciona Genus. Biochemical and Biophysical Research Communications. 85, 1472-1479.
- Lee, W. L. y B. M., Gilrischt. 1985. Carotenoid Patterns in Twenty-nine Species of Sponges in the Order Poecilosclerida (Porifera: Demospongiae) a Possible Tool for Chemosystematics. Mar. Biol. 86, 21-35.

- MacLeod, R. A. 1965. The Question of the Existence of Specific Marine Bacteria. Bacteriol. Rev. 29. 9-23.
- Margalef, R. 1981. Ecología. Ed. Planeta. Barcelona, España.
- Margalef, R. 1982. Ecología. Ed. Omega, Barcelona, España.
- Margulis, L. 1981. Symbiosis in Cell Evolution. Ed. W. H. Freeman and Company. San Francisco, U.S.A.
- McAlister, D. E. 1968. Poisonous and Venemous Fishes of Canada. Natl. Museum Can. Nat. Hist. Paper. 42. 1-11.
- McNeill, J. . 1979. Sea Microbes. Oxford University Press. U.S.A.
- McCaffrey, E. J. y R. Endean. 1985. Antimicrobial Activity of Tropical and Subtropical Sponges. Mar. Biol. 89. 1-8.
- Minale, L. 1976. Natural Product Chemistry of the Marine Sponges. Pure & Appl. Chem. 48. 7-23.
- Molinari, R. L., J. F. Festa y D. W. Behringer. 1978. The Circulation in the Gulf of Mexico Derived from Estimated Dynamic Height Fields. J. Phys. Oceanogr. 8. 987-966.
- Muller, W. E. G., R. K. Zahan, M.J. Gasic, N. Dogovic, A. Maidhof, C. Becker, B. Diehl-Seifert y E. Eich. 1985. Avarol, a Cytostatically Active Compound from the Marine Sponge Dysidea avara. Comp. Biochem. Physiol. C. 80. 47-52.
- Nakutsu, T., Walker R. P., Thompson J. E. y Faulkner D. J. 1983. Biologically Active Sterol Sulfates from the Marine Sponge Toxadocia zumi. Experientia. 39. 759-761.
- Newman, W. A. 1960. The Paucity of Intertidal Barnacles in the Tropical Western Pacific. Veliger. 2. 89-94.
- Nibakken, J. W. 1982. Marine Biology. An Ecological Approach. Harper & Row, Publishers, New York, U.S.A. 321.
- Nigrelli, R. F., Sophie Jakowska y Idelisa Calventi. 1959. Ectyonin, an Antimicrobial Agent from the Sponge, Microciona prolifera Verril. Zoologica. 44. 173-176.
- Nowlin, W. D. y J. M. Hubertz. 1972. Contrasting Summer Circulation Patterns for the Eastern Gulf. En: Contributions on the Physical Oceanography of the Gulf of Mexico, Ed. L. R. A. Capurro and J. L. Reid., Gulf. Publ. Co., Houston, Texas. 119-137.
- Oort, A. H. 1982. El Ciclo de la Energía en la Tierra. En: La

Biosfera, Selecciones de Scientific American. Alianza Editorial. Madrid España.

- Penman, H. L. 1976. El Ciclo del Agua. En: Química y Ecosfera, Selecciones de Scientific American. Ed. Hermann Blume. Madrid, España.
- Pickwell, G. V., J. A. Vick, W. H. Shipman y M. M. Grenan. 1972. Production Toxicity and Preliminary Pharmacology of Venom from the Sea Snake, Pelamis platurus. Reimpreso de: Marine Technology Society Food. Drugs from the Sea Proceedings.
- Pielou, J. E. C. 1979. Biogeography. A Wiley-Interscience Publication. U.S.A.
- Randall, J. E. y W. D. Hartman. 1968. Sponge-Feeding Fishes of the West Indies. Mar. Biol. 1, 216-225.
- Reiswig, H. M. 1975. Bacteria as Food for Temperate-Water Marine Sponges. Can. J. Zool. 53, 582-589.
- Reynolds, W. W. y L. J. Reynolds. 1976. Observations on Food Habits of the Angelfishes Pomacanthus zonipectus and Holocanthus passer in the Gulf of California. Calif. Fish. Game. 63, 123-125.
- Richet, C. 1906. De l' action toxique de la Suberitine (Extrait aqueux de Suberites domuncula) Compt. Rend. Soc. Biol. 61, 598-600.
- Roden, G. I. y F. Emilsson. 1980. Oceanografía Física del Golfo de California. An. Cen. Cien. del Mar Limnol. Univ. Nal. Autón. México. Contribución No. 290.
- Rosen, D. E. 1975. The Vicariance Model of Caribbean Biogeography. Sist. Zool. 24, 431-464.
- Ruggieri, G. D., M. H. Baslow, S. Jakowska y R. F. Nigrelli. 1961. "Comentario". Amer. Zool. 1, 384-385.
- Rusell, F. E. 1965. Marine Toxins and Venemous ad Poisonous Marine Animals. Advan. Mar. Biol. 3, 256-384.
- Saunders, D. S. 1976. The Biologically Clock of Insects. En: The Insects, Readings from Scientific American. Ed. W. H. Freeman and Company, San Francisco, U.S.A. 63-70.
- Schoroeder, W. W., L. Berner y W. D. Nowlin. 1974. The Oceanic Waters of the Gulf of Mexico and Yucatan Strait During July 1969. Bull. Mar. Sci. 24, 119.
- Schultes, R. E. 1982. Plantas Alucinógenas. Ed. La Prensa Medica Mexicana S. A. Mexico.

- Sharma, G. M. y Burkholder, P. R. 1971. Structure of Dibromophakellin, a New Bromine Containing Alkaloid from the Marine Sponge *Phakellia flabellata*. Chem. Comm. No. 3 . 151-152.
- Sheppard, C. R. C. 1979. Interspecific Aggression between Reef Corals with References to their Distribution. Mar. Ecol. Prog. Ser. 1. 237-247.
- Sokoloff, S., S. Halevy, V. Usieli, A. Colorni y S. Sarel. 1982. Pranicin A and B nor-sterpenoid Peroxide Antibiotics from Red Sea Sponges. Experientia. 38. 337-338.
- Sorokin, Y. I. 1971. Bacterial Populations as Components of Oceanic Ecosystems. Mar. Biol. 2. 101-105.
- Sría. Marina. 1985. Aspectos Meteorológicos Severos que Anualmente Afectan al Golfo de México. Informe Técnico de la Sría. de Marina. México.
- Stewart, W. D. P., Fitzgerald, G. P. y Burris, R. H. 1967. In Situ Studies on N<sub>2</sub> Fixation Using the Acetylene Reduction Technique. Proc. Natl. Acad. Sci. 58. 2071-2078.
- Stewart, W. P. D. y M. J. Daft. 1977. Microbial Pathogens of Cyanophycean Blooms. En: Advances in Aquatic Microbiology. Vol. 1. 177-218. Ed. M. R. Droop y W. H. Jannasch. Londres. Academic Press.
- Stoecker, D. 1978. Resistance of a Tunicate to Fouling. Biol. Bull. 155. 615-626.
- Stoecker, D. 1980 a. Chemical Defenses of Ascidians against Predators. Ecology 61. 1327-1334.
- Stoecker, D. 1980 b. Relationships between Chemical Defense and Ecology in Benthic Ascidians. Mar. Ecol. Prog. Ser. 3. 257-265.
- Sullivan, B., P. Djura, D. E. McIntyre y D. J. Faulkner. 1981. Antimicrobial Constituents of the Sponge *Siphonodictyon coralliphagum*. Intrahedron. 37. 979-982.
- Sullivan, B., D. J. Faulkner y L. Weeb. 1983. Siphonodictidine, a Metabolite of the Burrowing Sponge *Siphonodictyon* sp that Inhibits Coral Growth. Science. 221. 1175-1176.
- Swinehart, J. H., W. R. Biggs, D. J. Halko y N. C. Schoroder. 1974. The Vanadium and Selected Metal Contents of some Ascidians. Biol. Bull. 146. 302-312.

- Thompson, J. E. 1985 a. Exudation of Biologically-Active Metabolites in the Sponge Aplysina fistularis I Biological Evidence. Mar. Biol. 88, 23-26.
- Thompson, J. E., R. P. Walker y D. J. Faulkner. 1985. Screening and Bioassays for Biologically-Active Substances from Forty Marine Sponge Species from San Diego, California, U.S.A. Mar. Biol. 88, 11-21.
- Uda, M. 1957. A Consideration on the Long Years Trend of Fisheries Fluctuations in Relation to Sea Conditions. Nippon Suisan Gakkaishi. 23, 7-8.
- Vacelet, J. 1971. Etude en Microscopie Electronique de l' Association entre une Cyanophycee Chroococcale et une Eponge du Genre Verongia. J. Microscopie. 12, 365-380.
- Van Name, W. G. 1945. The North and South American Ascidians. Bulletin of the American Museum of Natural History. Vol. 84.
- Van Soest, R. W. M. 1981. A Checklist of the Curacao Sponges (Porifera Demospongia) Including a Pictorial Key to the more Common Reef-Forms. Ed. Instituut voor Taxonomische Zoologie (Zoologisch Museum). Universiteit van Amsterdam.
- Wells, H. W., M. J. Wells y I. E. Gray. 1961. Winter Fish Mortality in Pamlico Sound, North Carolina. Ecology 42, 217-219.
- Whittaker, R. H. y P. P. Feeny. 1971. Allelochemicals; Chemical Interactions between Species. Science. 171, 757-770.
- Wiedenmayer, F. 1977. Shallow-Water Sponges of the Western Bahamas. Ed. F. Hoffman - La Roche & Co. AG, Basel, Switzerland.
- Wilkinson C. R. 1978 a. Microbial Associations in Sponges. II, Numerical Analysis of Sponge and Water Bacterial Populations. Mar. Biol. 49, 169-176.
- Wilkinson, C. R. 1978 b. Microbial Associations in Sponges. III, Ultrastructure of the in situ Associations in Coral Reef Sponges. Mar. Biol. 49, 177-185.
- Wilkinson, C. R. 1983. Net Primary Productivity in Coral Reef Sponges. Science. 219, 410-412.
- Wilkinson, C. R. y P. Fay. 1979. Nitrogen Fixation in Coral Reef Sponges with Symbiotic Cyanobacteria. Nature. 279, 527-529.

- Wolfe, S. L. 1977. Biología de la Célula. Ed. Omega, S.A. Barcelona, España.
- Woodwell, G. M. 1982. El Ciclo de la Energía en la Biosfera. En: La Biosfera, Selecciones de Scientific American. Alianza Editorial. Madrid, España.
- Wyatt, T. 1976. Plants and Animals of the Sea. En: The Ecology of the Seas. Ed. Cushing, D. J. y Walsh J. J.. Blackwell Scientific Publications. Oxford, London, Edimburgh, Melbourne. 59-77.
- Wyrcki, K. 1965. Surface Currents of the Eastern Tropical Pacific Ocean. Inetr. Amer. Trop. Tuna Comm. Bull. 7. 269-304.
- Yaffee, H. S. y Stargardter, F. 1963. Erythema Multiforme from Tedania ignis. Arch. Dermatol. 87. 601-604.
- Yamanouchi, T. 1955. On the Poisonous Substances Contained in Holothurians. Publ. Seto. Mar. Biol. Lab. 4. 183-202.
- Yasuda, F. y H. Tada. 1980. Desacetylscalaradial, a Cytotoxic Metabolite from the Sponge Cacospongia scalaris. Experientia. 37. 110-111.
- Yasumoto, T., Tanaka M. y Hashimoto Y. 1966. Distribution of Saponin in Echinoderms. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 32. 673-682.
- Youngken, H. W. Jr. y Y. Shimizu. 1975. Marine Drugs: Chemical and Pharmacological Aspects. En: Chemical Oceanography Vol. 4. Ed. J. P. Riley y G. Skirrow. Academic Press London. New York, San Francisco.