



POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(Unidad Académica Mazatlán)
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



VARIACIÓN ESTACIONAL DE LA BIOACTIVIDAD DE LA
ESPONJA *Mycale parishii*: RELACIÓN CON PROCESOS
BIOLÓGICOS Y FACTORES AMBIENTALES

T E S I S

PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

(BIOLOGÍA MARINA)

P R E S E N T A

CRISTINA VEGA JUÁREZ

DIRECTOR DE TESIS

Dr. JUAN JOSE LUIS CARBALLO CENIZO

CODIRECTOR

Dra. MARÍA JESÚS URIZ LESPE

Mazatlán, Sinaloa; Diciembre de 2002.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

COMITÉ ASESOR DE TESIS

Director: Dr. Juan José Luis Carballo Cenizo
Codirectora: Dra. María Jesús Uriz Lespe
Tutor: Dra. María Nuria Méndez Ubach
Tutor: Dr. Roberto Arreguín Espinosa

JURADO DE EXAMEN

Presidente: Dra. María Ester de la Rosa Duque
Secretario: Dr. Juan José Luis Carballo Cenizo
Vocal: Dr. Roberto Arreguín Espinosa
Suplente: Dra. María Nuria Méndez Ubach
Suplente: Dra. María Jesús Uriz Lespe

Autorizo a la p.
UNAM a difu
contenid

NOMBRE

FECHA:

FIRMA:

General de Bibliotecas a k
eto electrónico e impreso e
trabajo recepciona'

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por el apoyo incondicional y la gran confianza que siempre he recibido de ellos durante todos los días de mi vida.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por medio del Instituto de Ciencias del Mar Y Limnología, Unidad Académica Mazatlán, Sinaloa y a todo el personal que aquí labora ya que sin su ayuda, el trabajo hubiera sido más difícil.

Quiero agradecer especialmente al Dr. Juan José Luis Carballo Cenizo, director de esta tesis, por confiar en mi y compartir todos sus conocimientos y entusiasmo conmigo. Por todo el tiempo que me ha dedicado con paciencia y cariño. Ya son dos tesis..... y vamos por la tercera.

A la Dra. Maria Jesús Uriz Lespe, codirectora de esta tesis, por la disposición que siempre tubo para compartir sus conocimientos y por guiarme a pesar de la distancia.

A mi comité tutorial comprendido por el Dr. Roberto Arreguín Espinosa, Dra. M. Nuria Méndez Ubach y Dra. M. Esther de la Rosa Duque, por su colaboración en la revisión de esta tesis.

A todos los maestros de este instituto que con dedicación y profesionalismo estuvieron siempre dispuestos a compartir sus conocimientos y a resolver cualquier duda.

A mis compañeros de laboratorio que siempre estuvieron justo ahí, para ayudarme en el momento más preciso. Gracias también por compartir conmigo momentos tan agradables y otros no tanto. Gracias por ser el mejor Laboratorio de Ecología de Ebentos. Ellos son: José Antonio Cruz, mi amigo M. en C. casi Dr. Enrique Ávila, Benjamín Yáñez, Leonardo Camacho, Zaira Hernández, Pilar Pérez, Claudia Padilla.

A mis compañeros de maestría, Rebeca Garay, Enrique Ávila y Miroslava Wilson, por los momentos que juntos compartimos.

A Angie , Zoritzza, Natalia y Lázaro, que estuvieron un tiempo haciendo sus prácticas profesionales, por sus atenciones y colaboración en el trabajo de laboratorio.

Al Centro de Estudios Avanzados de Blanes, Girona, España, por las facilidades proporcionadas durante mi estancia en dicho centro.

A la M. en C. Gemma Agel, por su colaboración en una parte fundamental de este trabajo, a pesar de la distancia.

Al capitán Juan Toto Fiscal, por su gran ayuda en el traslado hacia las estaciones de muestreo y por su amabilidad que lo caracteriza. Gracias capitán por sus exquisitas comidas a bordo y por hacer del trabajo algo placentero.

A la Sra. Margarita Cordero, secretaria de este posgrado, por su paciencia y dedicación hacia nosotros los estudiantes.

A la Sra. M. Clara Ramírez y Pedro Allende, responsables de la Biblioteca "Dra. Maria Elena Caso" por su admirable desempeño y eficiencia para conseguir material bibliográfico.

Al Mat. Germán Ramírez y al Lic. Carlos Suárez, responsables del Centro de Computo de este instituto, por su colaboración en todo lo relacionado a programas, equipo, etc. Gracias por su apoyo y amistad.

Al Dr. Felipe Amescua, al Ing. Alberto Castro, al M. en C. José Salgado, al M. en C. Sergio Rendón, al M. en C. Arturo Núñez, por su gran disposición en las salidas al campo.

A mis queridos amigos Érika, Mirna, Rebe, Tomas, Julio, Alejandro y Bety, por su cariño y amistad de tanto tiempo.

Agradezco a CONACyT, así como también a Becas Nacionales, por su gran ayuda económica durante los dos años de maestría.

Al Centro de Ciencia y Tecnología (CECyT), por su apoyo económico durante la terminación de esta tesis.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Por ultimo, agradezco a todas aquellas personas que de alguna manera tuvieron algo que ver en esta tesis y con mis estudios.

Dedicatoria

A mis padres, Rafael y Sofía, por el amor, el soporte y la confianza que siempre me han brindado. Y por dejarme navegar mi propio rumbo.

A mis hermanos, Rafael, Mónica y Rudy, por estar siempre dispuestos a ayudarme, sea lo que sea.

A mis sobrinos, Jessica, Bruno y Ricardo, por darme la alegría de tenerlos.

...y a ti.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

| | |
|--|----|
| Resumen | |
| 1. Introducción..... | 1 |
| 2. Antecedentes..... | 3 |
| 3. Hipótesis y Objetivos..... | 5 |
| 4. Área de Estudio..... | 6 |
| 4.1. Descripción del área de estudio..... | 6 |
| 4.2. Características climatológicas y oceanográficas de la zona..... | 6 |
| 4.3. Sinopsis taxonómica de <i>Mycale parishii</i> (Bowerbank 1875)..... | 8 |
| 5. Material y Métodos..... | 10 |
| 5.1. Selección del área de estudio..... | 10 |
| 5.2. Parámetros ambientales..... | 10 |
| 5.2.1. Temperatura..... | 10 |
| 5.3. Parámetros bióticos..... | 10 |
| 5.3.1. Cálculo de la variación en el contenido de sílice: relación materia orgánica/inorgánica..... | 10 |
| 5.3.2. Periodo de reproducción..... | 10 |
| 5.3.3. Abundancia y biomasa de la fauna asociada..... | 11 |
| 5.4. Preparación de los extractos..... | 11 |
| 5.5. Evaluación de la toxicidad..... | 12 |
| 5.5.1. Bioensayo 1: Inhibición del desarrollo embrionario del erizo <i>Echinometra vanbrunti</i> | 12 |
| 5.5.2. Bioensayo 2: Inhibición del crecimiento bacteriano (MICROTOX)..... | 13 |
| 5.6. Tratamiento de la información..... | 14 |
| 6. Resultados..... | 16 |
| 6.1. Recolección..... | 16 |
| 6.2. Parámetros ambientales..... | 16 |
| 6.2.1. Temperatura del agua..... | 16 |
| 6.2.2. Precipitación..... | 17 |
| 6.3. Procesos bióticos..... | 17 |
| 6.3.1. Inversión en reproducción..... | 17 |

| | |
|--|----|
| 6.3.2. Variación en el contenido de sílice..... | 21 |
| 6.3.3. Abundancia y biomasa de la fauna asociada..... | 22 |
| 6.4. Correlación entre los parámetros ambientales y los procesos biológicos..... | 28 |
| 6.5. Bioactividad de la esponja..... | 29 |
| 6.5.1. Inhibición del desarrollo embrionario..... | 29 |
| 6.5.2. Inhibición del crecimiento bacteriano (MICROTOX)..... | 32 |
| 6.6. Relación de la bioactividad con los parámetros ambientales y procesos bióticos..... | 33 |
| 6.7. Comparación de los bioensayos..... | 34 |
| 7. Discusión..... | 36 |
| 8. Conclusiones..... | 43 |
| 9. Bibliografía..... | 44 |

RESUMEN

Las esponjas son miembros importantes de las comunidades bentónicas marinas y, constituyen un recurso rico en productos naturales activos. El objetivo de esta trabajo fue determinar la relación de la actividad de la esponja *Mycale parishii* con algunos parámetros abióticos (temperatura del agua) y procesos biológicos. Para ello, mensualmente desde marzo de 2001 hasta junio de 2002, se recolectaron 7 ejemplares en la bahía de Mazatlán (Sinaloa), y en cada uno de ellos se estudió el estado de reproducción (porcentaje de ejemplares en reproducción, y número de elementos reproductores por volumen de esponja), el contenido de sílice por peso de esponja, la abundancia y biomasa de la fauna asociada y la actividad. La variación en la bioactividad se detectó y cuantificó mediante la inhibición del desarrollo embrionario del erizo "*Echinometra vanbrunti*" fecundados *in vitro* y mediante el bioensayo de inhibición del crecimiento bacteriano (MICROTOX). La producción de embriones/larvas en la esponja es continua a lo largo de todo el periodo de estudio, alcanzando un máximo en julio y un mínimo en marzo de 2002, guardando un patrón estacional. El contenido de sílice fue muy variable a lo largo del estudio, a pesar de que el mayor porcentaje se registró a principios de verano, no guardó relación con la temperatura del agua. Se encontraron 4 phyla, en la fauna asociada, siendo las ofiuras los organismos más abundantes. La abundancia y biomasa de la fauna siguió una tendencia de aumento en el verano. Además, se obtuvo una correlación negativa entre el contenido de sílice y la reproducción indicando que la esponja invierte energía en el proceso que más lo requiera. La variación anual de la bioactividad siguió un patrón estacional, con valores máximos en primavera-verano y mínimos en otoño-invierno. La bioactividad en el bioensayo de inhibición del desarrollo embrionario estuvo correlacionado positivamente con la abundancia de la fauna asociada indicando que el bioensayo pudiera servir como indicador de inhibición del desarrollo embrionario o metamorfosis de organismos que llegaran a depositarse sobre la esponja. En cuanto a la inhibición del crecimiento bacteriano, se pudo observar una correlación con el

número de embriones-larvas, debido tal vez a un mecanismo de defensa empleado por la esponja para asegurar la reproducción.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace décadas se han aislado compuestos orgánicos producidos por organismos marinos que presentan un amplio rango de aplicaciones la agricultura, acuicultura e industrias farmacológicas (Fautin 1988; Hall y Strichartz 1990; Caprioli et al. 1992; Willemsen y Ferrari 1993). Sin embargo, solo en las dos últimas décadas se ha despertado un interés generalizado por entender el verdadero papel de estos compuestos en los procesos ecológicos en los que las diferentes especies se ven envueltos. La ecología química es una disciplina que se desarrolló de la mano de los productos naturales y surge precisamente para intentar explicar el papel ecológico de estos compuestos. Los principales aspectos que contempla se relacionan con fenómenos tan diversos como el mutualismo, la simbiosis, la comunicación química, el asentamiento larvario, la detección de depredadores, el reconocimiento del alimento, la bioluminiscencia, la competencia por el espacio, etc. (Bergquist y Sinclair 1973; Bakus et al. 1985; Pawlik et al. 1995; Chanas et al. 1996; Wulff 1997).

Por otra parte, la bioactividad de una especie puede verse influenciada tanto por factores externos como por las condiciones ambientales, la presencia de depredadores, la infección por parásitos, la temperatura del agua, la profundidad, el nivel de nutrientes, etc., como por factores internos como por ejemplo el genotipo, el estado fisiológico, etc. (Sennett et al. 1992; Paul 199; Pawlik 1993; Unson et al. 1994; Pennings et al. 1994; Chanas y Pawlik 1995; Rueda et al. 1997). Debido a ello, la bioactividad de una especie frecuentemente varía dependiendo de dónde, cuándo y cómo ha sido recolectado el organismo (Sennett et al. 1992; Wright et al. 1997). Incluso, se ha logrado inducir cambios en la actividad de la esponja *Cambre cambre* tanto experimentalmente en el laboratorio, como transplantando individuos de ambientes limpios a zonas contaminadas (Agell et al. 2001). En este último caso, se demostró que los ejemplares de la zona control mostraron un nivel de toxicidad significativamente más alto que los transplantados a la zona contaminada que, por el contrario, producían más proteínas de estrés para reparar el posible daño celular producido por la contaminación (Agell et al. 2001).

Las esponjas son miembros importantes de las comunidades bentónicas marinas y, en general, constituyen un recurso rico en productos naturales activos (e.g. Uriz et al. 1991). La frecuente aparición de estos compuestos bioactivos en esponjas se

interpreta, en algunos casos, como un sistema de defensa química frente a factores externos causantes de estrés como la depredación, el exceso de recubrimiento por organismos epibiontes ("fouling") (Becerro et al. 1994), o la fuerte competencia por el espacio (Norris y Fenical 1982; Davis et al. 1989; Scheuer 1990; Faulkner 1992, Pawlik 1993; Proksch 1994). En el caso concreto de actividad antimicrobiana se sugirió que ésta podría aumentar la capacidad de retención de bacterias por los coanocitos incrementando, por consiguiente, la eficiencia del proceso alimenticio (Bergquist y Bedford 1978), aunque esta teoría generalmente no es aceptada. Además, estudios recientes sugieren que las bacterias asociadas a la esponja *Aplysina aerophoba* residen permanentemente en ella, apuntando a una interacción altamente integrada entre la esponja y los microorganismos asociados a ella (Friedrich 2001). Sin embargo, solo en años recientes se han hecho estudios para evaluar las funciones ecológicas de estos compuestos a lo largo del tiempo, o en función de diferentes condiciones ambientales (Turon et al. 1996; Chanas et al. 1996; Swearingen y Pawlik 1998; Waddell y Pawlik 2000a y 2000b).

Los antecedentes indican que la especie *Mycale parishii*, objeto de este estudio, presenta actividad antimicrobiana (Michel Reynoso 1986), e ictiotóxica (Green et al. 1990), y es una de las especies más abundantes y características del ecosistema rocoso de la Bahía de Mazatlán (Carballo, com. pers.).

El principal objetivo de nuestro trabajo fue el de determinar los niveles de actividad natural de la especie *Mycale parishii* durante un ciclo anual, y relacionar estos niveles con procesos biológicos (reproducción, cantidad de sílice) o parámetros físicos (temperatura del agua). Pensamos que con estudios adecuados se podría determinar qué afecta la variación natural de esta bioactividad, así como la influencia de procesos biológicos o del ambiente sobre la misma.

2. ANTECEDENTES

De todos los invertebrados marinos, las esponjas parecen ser uno de los grupos donde se han descrito más especies bioactivas (Faulkner 1994). Son organismos sésiles y, por tanto, de fácil acceso para sus depredadores, aunque muchas especies han desarrollado substancias tóxicas o disuasorias frente a depredadores potenciales (Bakus 1968). Sin embargo, esta toxicidad es muy variable y, aunque su estudio desde el punto de vista ecológico es reciente, hay indicios que apuntan que factores como la exposición a la luz (Paul 1992; Aiello et al. 1993; Becerro et al. 1995), la estacionalidad (Turon et al. 1996), la presencia de simbioses o endosimbioses (Betancourt et al. 1998), o incluso la latitud (con todos los factores asociados que implica) podrían explicar la variación de la toxicidad en las esponjas marinas (Green 1977; McClintock 1987).

Existen diferentes causas por las que puede variar la toxicidad de las esponjas; el método de extracción y los solventes usados (Bergquist y Beaford 1978; Thompson et al. 1983), así como el manejo y preservación de las mismas (Rinehart 1988).

Paralelamente a los estudios de la variación de la toxicidad natural o de los metabolitos secundarios en las esponjas, se han desarrollado metodologías que valoran la actividad de sus extractos orgánicos como agentes antimicrobianos (Martin y Uriz 1993; Pesando et al. 1996; Becerro et al. 1997), y disuasorios frente a depredadores como erizos, estrellas de mar, peces, crustáceos etc. (Pennings et al. 1994; Wulff 1994; 1995, 1997; Chanas et al. 1996; Uriz et al. 1996; Wright et al. 1997; Swearingen y Pawlik 1998; Waddell y Pawlik 2000a y 2000b). Incluso, se ha logrado inducir experimentalmente cambios en el contenido de diterpenos en la esponja *Rhopaloeides odorabile* (Spongiidae) transplantando fragmentos genéticamente iguales bajo diferentes grados de irradiación. Los ejemplares en aguas someras, y bajo iluminación directa del sol mostraron más alto contenido en diterpenos que los que estaban en la misma profundidad pero en la sombra. El estudio sugiere que las variaciones no son debidas a diferencias genéticas, sino a condiciones ambientales, y la luz podría ser el factor responsable de estas diferencias (Thompson et al. 1987).

En las costas mexicanas se conocen algunos antecedentes relacionados con la ecología química de las esponjas. En este sentido, se han descrito especies con actividad antimicrobiana, ictiotóxica y anti-asentamiento (Green 1977; Bakus et al. 1985;

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Green et al. 1990) que indican diferencias en la bioactividad entre localidades (Cárdenas et al. 1999, Montiel et al. 1999, Soria et al. 1999), o entre épocas del año (Fernández et al. 1999, Kelly et al. 1999). Por otra parte, es poco lo que se conoce de la variación potencial de otros parámetros biológicos o bioquímicos de las esponjas en relación con la variación de la toxicidad. Aunque se han encontrado diferencias intra- anuales en el contenido de la materia orgánica e inversión en esqueleto en función de diversos parámetros ambientales de algunas especies (Michel Reynoso 1986, Pérez 2001), se desconoce si estas variaciones están, en alguna medida, relacionadas con posibles variaciones en la producción de sustancias bioactivas.

El género *Mycale* se caracteriza por ser megadiverso (Carballo y Hajdu 1998), y por poseer un gran número de especies que presentan bioactividad (Zubía et al. 1997).

Con respecto a la esponja *Mycale parishii*, se ha estudiado la abundancia de endo/epibiontes (Duarte y Morgado 1983; Duarte y Nalesso 1996), y se sabe que presentan cierta actividad antimicrobiana y citotóxica (Michel Reynoso 1986, Green et al. 1990; Pérez 2001).

3. HIPÓTESIS y OBJETIVOS

Hipótesis

Si la bioactividad de una esponja tiene una función ecológica y partiendo de la base que la producción de las sustancias bioactivas es costosa (teoría de la optimización de las defensas), deberíamos encontrar que su variación se relaciona con factores como la temperatura del agua, o con otros procesos que requieren una inversión energética como la reproducción, la producción de esqueleto, o el control de endobiontes o simbioses.

Objetivo general

Estudiar los patrones de variación natural de la bioactividad, y relacionar la actividad con factores ambientales (temperatura), y/o procesos biológicos (producción de esqueleto, reproducción, presencia de fauna asociada, etc.) a lo largo de un año.

Objetivos específicos

1. Estudiar el ciclo de reproducción sexual de la esponja *Mycale parishii*.
2. Estudiar la variación de la relación materia orgánica/inorgánica como indicador del proceso de espiculogénesis.
3. Cuantificar la abundancia de la fauna asociada a la esponja.
4. Estudiar la bioactividad de la esponja mediante dos métodos: 1) Inhibición del desarrollo embrionario del erizo *Echinometra vanbrunti*, 2) Inhibición del crecimiento bacteriano (MICROTOX).
5. Comparar los parámetros ambientales, y procesos bióticos con los niveles de bioactividad de la esponja.

4. Área de estudio

4.1. Descripción del área de estudio

El área de estudio está ubicada en la Bahía de Mazatlán, Sinaloa. Las estaciones de muestreo se localizan en las Islas Lobos, Venados y Pájaros, comprendidas entre los 23° 13' 49" N y 106° 27' 43" W. Estas Islas se encuentran al NW del puerto de Mazatlán, y las áreas de muestreo se localizan en la cara continental de cada una de ellas. En general, son zonas rocosas protegidas, con escasa pendiente, y fondo rocoso-arenoso, de 2 a 5 m de profundidad (Fig. 1).

4.2. Características climatológicas y oceanográficas de la zona

El clima de Mazatlán es uno de los más cálidos de los subhúmedos (García 1973). La época ciclónica se registra desde los meses de julio y octubre, prevaleciendo durante el invierno vientos variables del noroeste. Durante el verano soplan vientos fuertes del sur y sureste de corta duración. El tipo de marea es mixta y en la bahía prevalecen corrientes de mareas (Secretaría de Marina, Dirección General de Oceanografía y Señalamiento. Marítimo 1974).

El período de precipitación va de verano a otoño con un promedio anual de 52.35 mm, con un marcado incremento de junio a octubre (Comisión Nacional del Agua, Servicio Meteorológico Nacional 1998).

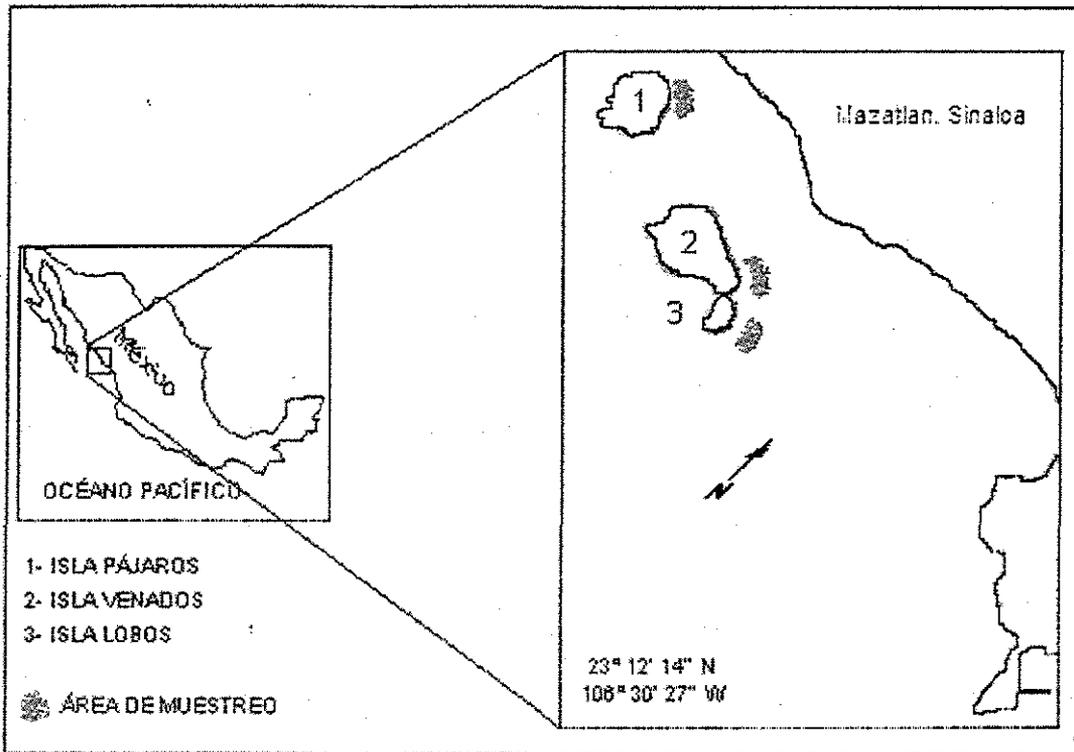


Fig. 1. Localización de las áreas de muestreo.

4.3. Sinopsis taxonómica de la especie *Mycale parishii* (Bowerbank 1875)

Descripción

Esponja generalmente masiva, o masiva arborescente. Puede llegar a tener hasta 42 cm de alto y 30 cm de ancho. Las ramas pueden tener hasta 3.4 cm de diámetro. La consistencia es firme, ligeramente compresible. La superficie es lisa al tacto. Los ósculos de 0.5 a 4.5 mm de diámetro son de forma circular u oval. Presenta espacios subectosómicos de 0.4-(1.3)-3.5 mm de diámetro. El ectosoma es fácil de desprender. Su color en vida es púrpura grisáceo, azul grisáceo, en ocasiones algo naranja y preservada en alcohol toma un color amarillo pálido o beige (Cruz 2001).

Espiculación

Presenta espículas de tipo subtilostilos con el cuerpo un poco ensanchado, toxas, dos categorías de sigmas, anisoquelas palmeadas, isoquelas palmeadas y ráfides (Cruz 2001) (Fig. 2).

Disposición esquelética

En el ectosoma se observa una reticulación tangencial, formando mallas triangulares y rectangulares, constituida por haces de subtilostilos de 2 a 18 espículas, con diámetros de 22.5-(42.8)-60 μm y una abertura de malla de 180-(278)-450 μm . En las uniones de las mallas, sobresalen penachos que vienen del coanosoma. El coanosoma está constituido por haces espiculares que ascienden hasta la superficie (Cruz 2001) (Fig. 2).

Distribución

Océano Indo-Pacífico (Lévi et al. 1998). Crecen en sustratos rocosos naturales y artificiales de la bahía de Mazatlán (Cruz 2001).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

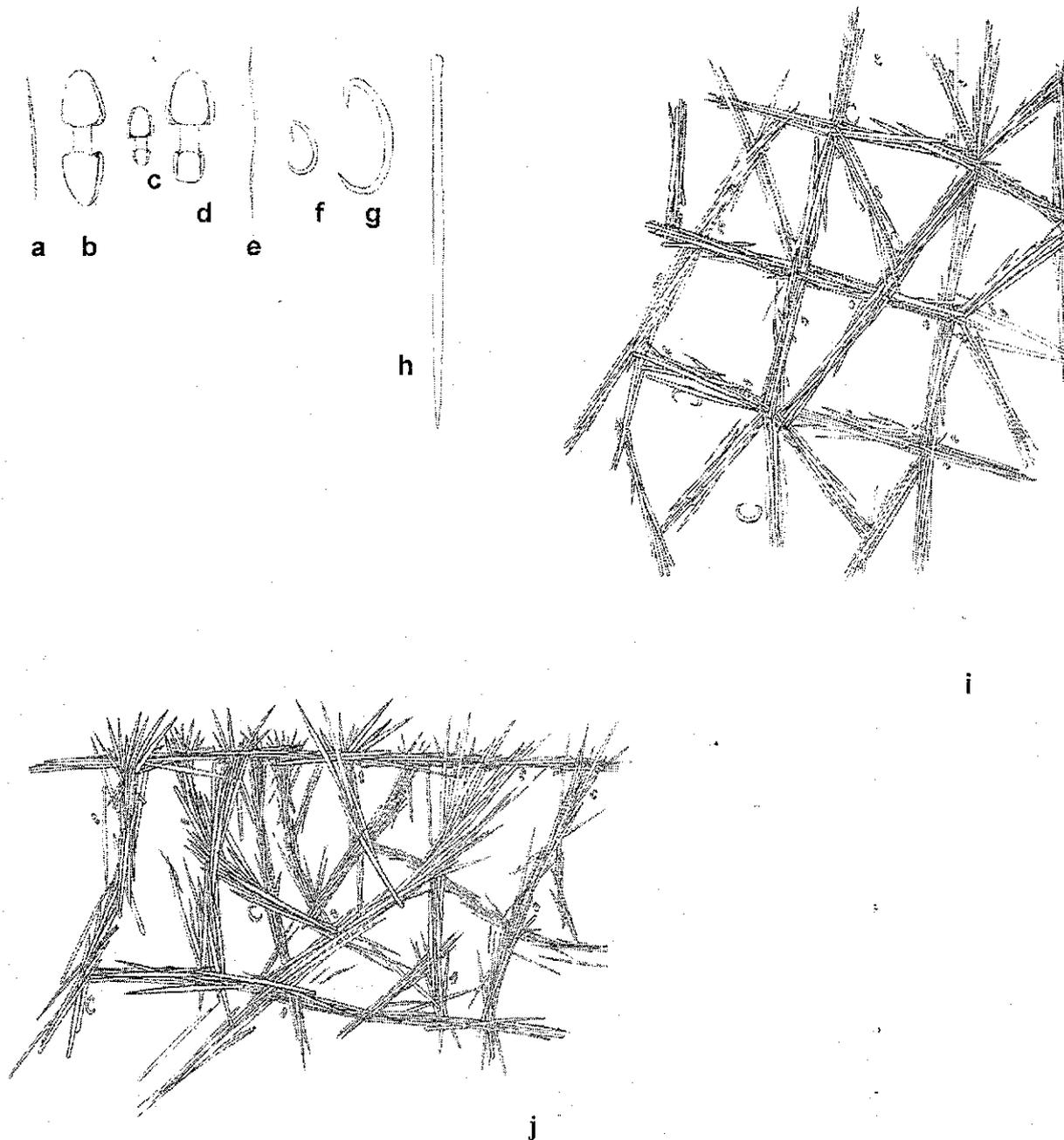


Fig. 2. Tipos y tallas de espículas (μm ; menor-(promedio)-mayor) de la esponja *Mycale parishii*. a) Ráfide (20-(30)-42.5); b) Isoquela (10-(11.9)-12.5); c) Anisoquela II (16.3-(20)-25); d) Anisoquela I (38.8-(44.6)-51.3); e) Toxa (27.5-(57.2)-97); f) Sigmas II (812.5-(46.1)-45); g) Sigmas I (62.5-(78.7)-97.5); h) Subtiloestilo (157.5-(127.3)-340); i) Disposición esquelética del ectosoma; j) Disposición esquelética del coanosoma (Cruz 2001).

5. MATERIAL Y METODOS

5.1. Selección del área de estudio

El área de estudio se determinó realizando muestreos preliminares que sirvieron para localizar la presencia de poblaciones importantes de *Mycale parishii* en la cara continental de las islas Lobos, Venados y Pájaros. La prospección se llevó a cabo en inmersión con escafandra autónoma en un intervalo de profundidad comprendido entre los 5 y los 8 m. Mensualmente, y al azar, se extrajeron 7 individuos que se utilizaron para el seguimiento de los parámetros poblacionales (reproducción, espiculogénesis, etc.), así como para evaluar la bioactividad de los extractos orgánicos. Las muestras se guardaron en bolsas debidamente etiquetadas, se conservaron en hielo, y se trasladaron al laboratorio para su congelación a $-20^{\circ}\text{C}/25^{\circ}\text{C}$ hasta su posterior estudio.

5.2. Parámetros ambientales

5.2.1. Temperatura del agua

La temperatura del agua se midió mensualmente por medio de un termómetro de máxima y mínima, que se mantuvo fijo en el fondo a una profundidad de 5 m.

5.3. Parámetros bióticos

5.3.1. Cálculo de la variación en el contenido de sílice: relación materia orgánica/inorgánica

Para estimar la relación materia orgánica/inorgánica se determinó el peso seco de la muestra a 100°C durante 24 h. Posteriormente, para calcular la proporción de materia orgánica/inorgánica, se calcinó la muestra durante 24 h en una mufla a $500-550^{\circ}\text{C}$ (Barthel 1995). Todo el material ajeno (piedras, algas calcáreas, arena, etc.) se retiró cuidadosamente antes de la determinación del peso seco, de manera que el peso de la muestra tras la combustión en la mufla es el sílice. Es decir, las cenizas representan la fracción inorgánica, y se usa comúnmente para describir la cantidad de sílice en la esponja.

5.3.2. Período de reproducción

La reproducción de la esponja se estimó cortando pequeños fragmentos de cada ejemplar, y observándolos bajo el microscopio estereoscopio para detectar la presencia

de embriones y/o larvas. Los resultados se expresaron como embriones y/o larvas por unidad de volumen de la esponja (Ayling 1980). También se calculó el porcentaje de esponjas en reproducción contabilizando el número de ejemplares que estuvieran en reproducción (presencia de embriones-larvas), del total de ejemplares muestreados.

5.3.3. Abundancia y biomasa de la fauna asociada

Existen antecedentes que demuestran la relación de la fauna asociada con la actividad de esponjas (Betancourt et al 1998). Una vez separados los organismos con la ayuda de un microscopio estereoscópico, se procedió a separarlos por grupos, contarlos y finalmente se calculó la abundancia y su peso fresco (Betancourt et al 1998). Cabe mencionar que solo se tomaron en cuenta los organismos mayores de 1 mm. Para poder identificar a la fauna asociada se utilizó la siguiente bibliografía: Keen 1971 (Moluscos); Fauchald 1977 (Poliquetos); Young et al. 2000 (Cirripedios); Hendrickx 1995 (Camarones y cangrejos); Caso 1992 (Equinodermos).

5.4. Preparación de los extractos

Para la preparación de los extractos se utilizó 1g (peso liofilizado) por cada ejemplar, el cual se extrajo con diclorometano:metanol (DCM:MeOH 1:1). Una vez limpios de epibiontes, restos de algas, conchas, etc., los fragmentos se extrajeron sucesivamente tres veces en 30 ml de DCM:MeOH 1:1, en una proporción de 1:10 peso/volumen (w/v), durante 15, 30 y 60 minutos. Posteriormente, las tres fracciones se homogeneizaron, y el conjunto se centrifugó a 2500-3000 rpm. El disolvente se evaporó a temperatura ambiente (20°C, 48 h) hasta sequedad total. Posteriormente se calculó el peso del extracto seco.

Una vez obtenido el extracto seco, se redisolvió por separado en agua de mar filtrada y esterilizada por rayos UV para obtener una concentración inicial (mg/ml) adecuada para hacer las diferentes concentraciones que se probaron en los bioensayos: 1000, 100 y 10 µg/ml. La redisolución de los extractos se realizó en un sonicador durante 15 min.

Los extractos (en sus diferentes concentraciones) se colocaron en los diferentes pozos de las placas multipocillos.

5.5. Evaluación de la toxicidad

5.5.1 Inhibición del desarrollo embrionario del erizo *Echinometra vanbrunti* (Kobayashi 1969)

Con este bioensayo se valora la capacidad de los huevos fertilizados del erizo para desarrollarse normalmente después de haberse expuesto a diferentes concentraciones de compuestos tóxicos. Los huevos fertilizados se dividen en dos células en condiciones normales, pero en presencia de sustancias tóxicas hay muerte, o inhibición de la división celular.

Los ejemplares de *Echinometra vanbrunti* se recolectaron con cuidado para no dañarlos en el proceso y se mantuvieron en acuarios con aireación forzada y agua de mar filtrada (0.45 μ m) y desinfectada por rayos UV. Los ovocitos y el esperma se obtuvieron inyectando una solución de cloruro de potasio (KCl 0.5 M) en la membrana aboral de los especímenes adultos (Kobayashi 1971) y se recolectaron por separado. Los ovocitos se recogieron y conservaron en cristalizadores con agua de mar filtrada y esterilizada a temperatura ambiente. El esperma se recolectó directamente desde el gonoporo mediante una pipeta y se almacenó en vasos de precipitado que se mantuvieron en frío (4° C) hasta su utilización. La fertilización se hizo a una proporción de 1500 espermatozoides por cada huevo a una temperatura de 26°C (Pérez 2001). La fertilización se detectó con un microscopio estereoscópico mediante la presencia de la membrana de fertilización. Posteriormente, los huevos se concentraron para que 1 ml de agua marina contuviera 1000 huevos con un porcentaje de fertilización próximo al 100% (huevos de menos de 15 minutos de edad). A continuación, 1 ml de agua marina con los huevos fertilizados se añadió a cada uno de los pocillos de 5 ml, donde previamente se depositaron los extractos disueltos en 1 ml de agua de mar filtrada y pasada por rayos UV, de tal manera que cada pocillo contuviera una concentración final de 500 huevos/ml. En los testigos se puso únicamente agua de mar. El proceso se mantuvo hasta que la mayoría de los embriones fertilizados en el control alcanzaron al menos el estado de dos-cuatro células (2 a 3 hrs. aproximadamente). En ese momento el proceso se detuvo añadiendo unas gotas de formol al 4% (Martin y Uriz 1993).

El diseño experimental contempló tres réplicas por cada concentración probada para cada ejemplar de esponja, más otras tres para el testigo.

5.4.2. Inhibición del crecimiento bacteriano (MICROTOX)

El método MICROTOX® se basa en la medida de la bioluminiscencia de bacterias en suspensión de la especie *Vibrio fischeri*. Un vial de bacterias deshidratadas (aproximadamente 10⁶ células) se rehidrata en 1 ml de solución reconstituyente a 4 °C. Esta suspensión se añade a 50 ml de solución salina 0.2M. La solución que contiene la sustancia a probar se prepara añadiendo 20 ml de agua destilada al extracto de 1 gr de la esponja liofilizada, resultando en una concentración de 500 ppm. La molaridad se ajusta por medio de una solución de ajuste (MOAS) añadida en la proporción de 250 µl de MOAS por 2500 µl de solución tóxica. En su procedimiento básico, MICROTOX analiza cuatro concentraciones decrecientes y un testigo por muestra. Los experimentos se llevan a cabo durante 5 minutos a temperatura de 15°C añadiendo 500 µl de cada concentración a 500 µl de la suspensión bacteriana. La luz producida por las bacterias se mide antes y después de la adición, en unidades gamma (GU).

donde; $GU = Rt \cdot I_0 / I_t - 1$; R_t =factor de corrección, I_0 = luz en el momento 0, I_t =luz en el tiempo t

La unidad gamma es una medida de toxicidad dada por el MICROTOX, y que es calculada con la bioluminiscencia de la bacteria en cada muestra y concentración.

Finalmente, la concentración a la que GU es igual a 1 (50% de la reducción de la luz o concentración efectiva media estimada, EC50) se calcula ajustando el logaritmo de los valores a la ecuación de una regresión lineal. Las unidades de toxicidad (TU) se calculan como 100/EC50 (Ribo y Kaiser 1987).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.6. Tratamiento de la información

De acuerdo a lo mencionado por Margalef (1989), la diversidad se puede calcular siempre y cuando no se mezclen especies con familias o con géneros. En este sentido, se calculó el índice de diversidad de Shannon y Wiener para determinar la variación mensual de la diversidad y de la equitatividad de la fauna asociada a la esponja. El índice de Shannon y Wiener es especialmente sensible a cambios en las especies (en este estudio se consideraron las familias) más raras de la comunidad en términos de abundancia (Shannon y Wiener 1963).

$$H' = -\sum_{i=1}^S (p_i)(\log_2 p_i)$$

donde:

H' = índice de diversidad

S = número de familias

p_i = proporción del total de la muestra que corresponde a la familia i .

Índice de Pielou (J') indica la uniformidad de la abundancia (u otra medida) de los individuos entre las diferentes especies. Una equitatividad alta indica una baja dominancia (Pielou 1969)

$$J' = H'/H'_{\max}$$

donde:

H' = es el valor de diversidad obtenido

H'_{\max} = es el valor de la diversidad máxima que podría darse con S familias y N individuos y esta definida como $\log s$,

S = número de familias.

Se utilizaron ANOVAS de dos vías para determinar si existe variación significativa de la bioactividad media a lo largo del tiempo y con respecto al testigo; factor 1: tiempo, factor 2: concentración de los extractos. Para cumplir con los criterios de normalidad y homocedasticidad (test de Cochran's), se hizo la transformación mediante el arco seno de la raíz cuadrada de la proporción (Krebs 1989, Underwood 1997)

Aunque los datos para realizar el ANOVA de dos vías no cumplieron con el criterio de homocedasticidad, se consideró adecuado utilizar el análisis de varianza, ya que cuando los datos son balanceados y cuando las muestras son relativamente grandes como en nuestro caso, la validez del análisis y las probabilidades asociadas con la

distribución F no se ven afectadas del todo por el incumplimiento de alguna de esas premisas (Underwood 1997).

El análisis de varianza de dos vías se llevó a cabo con el programa estadístico STATISTICA. Este programa tiene la característica de dar como resultado el valor de la distribución de Rao R cuando el análisis está basado en: 1) cualquier número de grupos con dos variables dependientes; 2) dos grupos con cualquier número de variables dependientes, o, 3) tres grupos con cualquier número de variables. La distribución de Rao R (transformación de lambda de Wilks) sigue una distribución exacta F con los grados de libertad dados en la tabla de resultados. Bajo otras circunstancias, la transformación usada para calcular Rao R (Rao 1952, Tatsuoka 1971, Lindeman et al 1980) sigue la distribución F aproximada con los grados de libertad dados en la tabla de resultados. En este trabajo, los datos utilizados para llevar a cabo el estadístico, cumplieron con la condición número 1, por lo cual los resultados se expresan como la distribución Rao R , que se usa para determinar la significancia del efecto dado.

Lambda Wilks: puede asumir valores dentro de un rango de 0 a 1.

Rao R : es el valor transformado de Lambda Wilks, el cual se usa para determinar el nivel de significación del efecto dado.

Se realizó la prueba de Newman y Keuls para determinar a partir de que concentración se encontraban diferencias significativas con respecto al testigo.

Para poder determinar si existe relación entre la bioactividad y alguna de las variables y/o procesos medidos, se hicieron correlaciones no paramétricas (correlación de rango de Spearman) entre la bioactividad mensual de la esponja y los parámetros bióticos y abióticos.

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con los programas de computación Statistica, Statgraphics y Excel.

6. RESULTADOS

6.1. Recolección.

El estudio comenzó en enero de 2001, sin embargo, durante los meses de enero y febrero de ese mismo año, no se pudo recolectar ningún ejemplar debido a que eran demasiado pequeños para obtener la biomasa necesaria para el estudio. Se decidió esperar hasta marzo, cuando se produjo un rápido incremento de la densidad y del tamaño de los ejemplares. Posteriormente, durante mayo de 2001 no se encontraron ejemplares en ninguna de las zonas seleccionadas, ni en otras áreas próximas. Se asume que fue debido a circunstancias naturales como el cambio de temperatura y el cambio de corrientes que a su vez origina grandes deposiciones de arena, material particulado en suspensión, etc. (Ávila 2002, Wilson 2002). Por estas razones, no fue posible realizar el muestreo de las poblaciones naturales correspondiente a mayo. Durante el mes de diciembre no fue posible muestrear ya que las condiciones naturales no lo permitieron. Por estas circunstancias, y para cubrir un ciclo anual, se decidió terminar el estudio en junio de 2002.

6.2. Parámetros ambientales

6.2.1. Temperatura del agua

La temperatura más alta se registró en julio y agosto (32°C), y la más baja en marzo y mayo de 2001 (16°C). El promedio máximo de la temperatura en el ciclo de muestreo fue de 26°C , y el mínimo fue de 22°C (Fig. 3). Los resultados muestran un claro aumento en la temperatura máxima de enero a agosto, y una disminución de octubre de 2001 a marzo de 2002. La temperatura mínima fue disminuyendo hacia mayo, aumentando de nuevo en junio y descendiendo a partir de octubre a febrero. De marzo a junio de 2002 la temperatura aumentó. Lo más destacado es la gran amplitud en el rango de temperaturas en mayo de 2001 (casi 10°C de diferencia entre la mínima y la máxima), registrándose de nuevo este rango pero menos marcado en mayo de 2002 (8°C de diferencia).

6.2.2. Precipitación

Para poder determinar las épocas de lluvias y de secas se consultaron los datos históricos de lluvias en la bahía de Mazatlán desde 1997 hasta 2002. La época de secas se extiende desde enero a mayo y la de lluvias desde julio a noviembre. Los meses de junio y diciembre se consideraron como meses de transición para cada época (Fig. 4).

6.3. Parámetros bióticos

6.3.1. Inversión en reproducción

Durante el ciclo de muestreo se observó una gran variación en el número de embriones-larvas por volumen de esponja. Los embriones fueron visibles desde junio hasta octubre, y nuevamente desde enero hasta junio de 2002. El mayor porcentaje de individuos en reproducción (100%), así como el mayor promedio de embriones-larvas/L (2990) se detectó en julio. En marzo de 2002 se registró el menor porcentaje de organismos en reproducción (solamente el 14%), registrándose también el menor promedio de elementos reproductores (9 embriones-larvas/L). En el mes de junio de 2001 y 2002, se registró casi el mismo número de embriones-larva/L (1416 y 1940, respectivamente) (Fig. 5). Por otra parte, se observan grandes diferencias en el número de embriones-larvas/L por individuo (Tabla 1). En julio, septiembre de 2001 y abril de 2002 todos los ejemplares estaban en reproducción (100%); en mayo de 2002 se registraron 5 organismos en reproducción (71%); en agosto y octubre de 2001, 4 individuos presentaron embriones (57%); en junio (2001-02) y febrero 3 individuos (43%); en enero 2 individuos (29%) mientras que para marzo de 2002 solo se registró un individuo en reproducción (14%). En los meses de marzo y noviembre de 2001 no se presentó reproducción en ninguno de los individuos estudiados. El ejemplar que presentó mayor número de embriones se registró en junio de 2002 (6380 embriones-larvas/L) y el menor en octubre (13 embriones-larvas/L) (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros bióticos y bioactividad de los individuos estudiados durante los meses de muestreo.

| Mes | Número de Ejemplar | Número de embriones-larvas/L | Contenido de sílice (%) | Fauna asociada (número/cm ³) | Fauna asociada (g/cm ³) | Porcentaje promedio de inhibición citotóxica | Valor gamma antimicrobiano (1000µg/ml) |
|------------|--------------------|------------------------------|-------------------------|--|-------------------------------------|--|--|
| Marzo/2001 | 1 | 0 | 66.68 | 2.40 | 227.55 | 34 | 0.77 |
| | 2 | 0 | 71.44 | 2.48 | 28.88 | 53 | 0.314 |
| | 3 | 0 | 63.64 | 2.78 | 86.97 | 59 | 0.717 |
| | 4 | 0 | 69.53 | 0.64 | 22.76 | 38 | 0.291 |
| | 5 | 0 | 67.88 | 0.82 | 25.58 | 36 | 0.521 |
| | 6 | 0 | 61.67 | 2.05 | 52.06 | | 0.098 |
| | 7 | 0 | 67.42 | 3.07 | 45.14 | | 0.2 |
| Junio | 1 | 0 | 63.50 | 0.7 | 15.83 | 54 | |
| | 2 | 6267 | 67.59 | 2.02 | 27.81 | 45 | 0.886 |
| | 3 | 0 | 77.16 | 2.85 | 7.80 | 40 | |
| | 4 | 890 | 71.10 | 0.76 | 41.47 | 39 | 0.325 |
| | 5 | 0 | 71.10 | 0.24 | 13.49 | 43 | 1.205 |
| | 6 | 2760 | 60.81 | 0.07 | 2.09 | | 0.586 |
| | 7 | 0 | 63.30 | 0.56 | 36.76 | | 0.95 |
| Julio | 1 | 5000 | 58.55 | 0.39 | 7.29 | 59 | 0.424 |
| | 2 | 150 | 72.32 | 0.34 | 15.91 | 45 | 0.396 |
| | 3 | 1690 | 68.33 | 0.87 | 22.97 | 55 | 1.044 |
| | 4 | 1840 | 73.74 | 1.35 | 33.72 | 53 | |
| | 5 | 1387 | 63.94 | 1.85 | 44.44 | 51 | 1.179 |
| | 6 | 4570 | 60.78 | 1.46 | 40.19 | | 0.549 |
| | 7 | 318 | 65.55 | 0.97 | 55.70 | | 0.556 |
| Agosto | 1 | 1020 | 63.27 | 0.99 | 57.31 | 62 | 0.51 |
| | 2 | 250 | 65.92 | 0.70 | 23.98 | 42 | 0.613 |
| | 3 | 197 | 65.69 | 2.05 | 37.42 | 42 | 0.467 |
| | 4 | 1514 | 71.09 | 0.32 | 4.92 | 49 | 0.299 |
| | 5 | 0 | 58.25 | 0.56 | 18.74 | 57 | 0.348 |
| | 6 | 0 | 68.75 | 2.85 | 82.97 | | |
| | 7 | 0 | 69.95 | 0.40 | 6.26 | | 0.538 |
| Septiembre | 1 | 1067 | 65.22 | 2.27 | 69.93 | 45 | 0.918 |
| | 2 | 370 | 62.29 | 0.54 | 14.77 | 35 | 0.489 |
| | 3 | 1960 | 57.59 | 2.96 | 65.81 | 37 | 0.371 |
| | 4 | 3600 | 62.22 | 2.63 | 53.11 | 52 | 0.456 |
| | 5 | 1300 | 64.16 | 0.60 | 52.22 | 45 | 0.811 |
| | 6 | 3617 | 60 | 1.33 | 46.76 | | 0.367 |
| | 7 | 2460 | 50.97 | 2.07 | 86.05 | | 0.574 |
| Octubre | 1 | 0 | 62.80 | 0.03 | 3.05 | 12 | |
| | 2 | 5240 | 62.90 | 0.12 | 17.05 | 9 | 0.463 |
| | 3 | 0 | 62.69 | 0.15 | 20.61 | 27 | 0.452 |
| | 4 | 1360 | 65.93 | 0.05 | 2.08 | 26 | 0.231 |
| | 5 | 13 | 67.35 | 0.21 | 8.99 | 16 | 0.699 |
| | 6 | 4240 | 62.23 | 0.13 | 6.45 | | 0.908 |
| | 7 | 1480 | 66.67 | 0.13 | 7.41 | | 0.262 |
| Noviembre | 1 | 0 | 65.73 | 0.35 | 11.87 | 10 | 0.211 |
| | 2 | 0 | 62.41 | 0.88 | 88.38 | 26 | 0.443 |
| | 3 | 0 | 68.29 | 1.32 | 62.65 | 17 | 0.144 |
| | 4 | 0 | 67.66 | 3.26 | 84.78 | 11 | 0.319 |
| | 5 | 0 | 68.21 | 1.97 | 125.15 | 14 | 0.448 |
| | 6 | 0 | 62.48 | 1.01 | 29.23 | | 0.166 |
| | 7 | 0 | 66.41 | 1.42 | 18.71 | | 0.161 |

Tabla 1. Continuación

| Mes | Número de Ejemplar | Número de embriones-larvas/L | Contenido de sílice (%) | Fauna asociada (número/cm ³) | Fauna asociada (g/cm ³) | Porcentaje promedio de inhibición citotóxica | Valor gamma antimicrobiano (1000µg/ml) |
|------------|--------------------|------------------------------|-------------------------|--|-------------------------------------|--|--|
| Enero/2002 | 1 | 0 | 58.45 | 0.62 | 34.31 | 9 | 0.284 |
| | 2 | 0 | 56.46 | 0.51 | 23.26 | 8 | 0.316 |
| | 3 | 700 | 55.80 | 1.76 | 37.08 | 26 | 0.339 |
| | 4 | 0 | 58.29 | 0.45 | 61.80 | 7 | 0.573 |
| | 5 | 2360 | 56.86 | 0.09 | 12.36 | 13 | 0.342 |
| | 6 | 0 | 51.38 | 0.74 | 129.83 | | 0.319 |
| | 7 | 0 | 65.89 | 0.52 | 30.51 | | 0.286 |
| Febrero | 1 | 0 | 68.77 | 0.42 | 8.27 | 41 | 0.306 |
| | 2 | 1736 | 61.42 | 0.07 | 8.25 | 12 | |
| | 3 | 3480 | 55.66 | 4.55 | 63.77 | 14 | |
| | 4 | 0 | 60.63 | 1.53 | 43.59 | 22 | 0.594 |
| | 5 | 1010 | 66.17 | 4.49 | 135.78 | 33 | |
| | 6 | 333 | 61.39 | 6.48 | 154.66 | | 0.67 |
| | 7 | 0 | 56.88 | 0.58 | 38.58 | | 1.193 |
| Marzo | 1 | 0 | 60.64 | 0.00 | 0.00 | 37 | |
| | 2 | 0 | 61.63 | 0.08 | 9.38 | 42 | |
| | 3 | 0 | 53.98 | 2.05 | 201.30 | 37 | 0.455 |
| | 4 | 0 | 55.92 | 0.83 | 44.63 | 43 | |
| | 5 | 60 | 57.53 | 0.22 | 36.34 | 46 | 0.41 |
| | 6 | 0 | 61.71 | 0.18 | 25.48 | | |
| | 7 | 0 | 59.11 | 0.96 | 161.72 | | 0.394 |
| Abril | 1 | 3580 | 50.13 | 0.99 | 44.84 | 35 | |
| | 2 | 140 | 51.58 | 0.19 | 33.94 | 41 | |
| | 3 | 447 | 55.96 | 1.97 | 22.64 | 38 | |
| | 4 | 3347 | 60.80 | 0.95 | 15.37 | 35 | 0.86 |
| | 5 | 250 | 57.34 | 0.44 | 36.11 | 37 | 0.417 |
| | 6 | 727 | 56.56 | 1.71 | 28.97 | | |
| | 7 | 67 | 61.83 | 0.37 | 9.43 | | |
| Mayo | 1 | 360 | 59.32 | 0.70 | 26.81 | 12 | |
| | 2 | 2033 | 57.27 | 0.37 | 8.98 | 46 | 0.777 |
| | 3 | 2050 | 56.24 | 2.68 | 49.02 | 19 | |
| | 4 | 440 | 59.03 | 0.20 | 19.83 | 37 | 0.41 |
| | 5 | 1060 | 60.62 | 2.49 | 22.00 | 14 | |
| | 6 | 0 | 63.38 | 0.12 | 3.01 | | |
| | 7 | 0 | 65.77 | 0.10 | 3.75 | | |
| Junio | 1 | 0 | 58.66 | 0.05 | 1.05 | 11 | |
| | 2 | 0 | 58.91 | 0.03 | 2.53 | 9 | |
| | 3 | 6380 | 61.85 | 0.22 | 3.71 | 14 | 0.725 |
| | 4 | 0 | 63.97 | 0.17 | 12.95 | 11 | |
| | 5 | 3020 | 51.00 | 0.56 | 9.32 | 22 | |
| | 6 | 1030 | 53.57 | 0.44 | 25.26 | | 0.471 |
| | 7 | 0 | 57.91 | 0.68 | 13.31 | | |

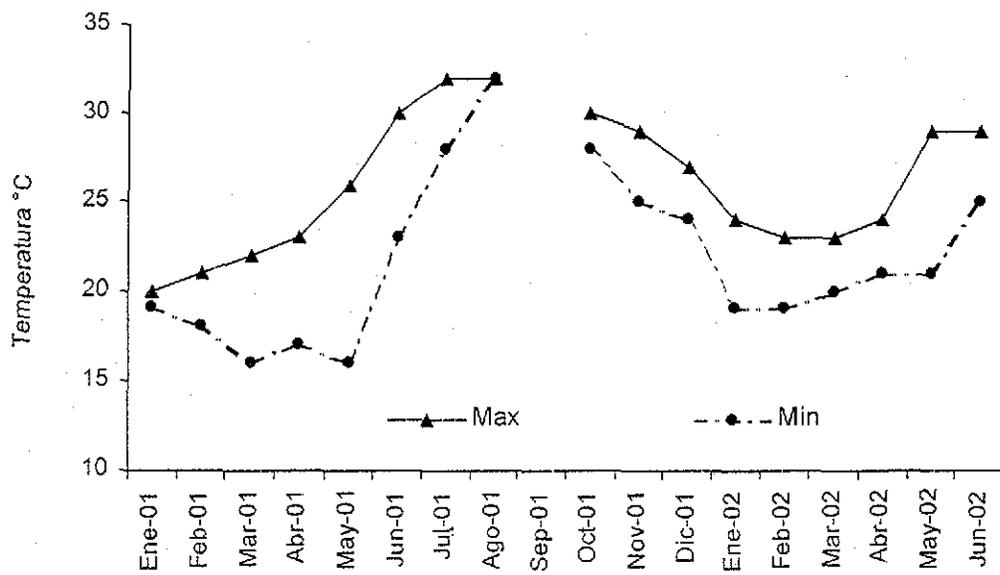


Fig. 3. Variación en la temperatura máxima (línea continua) y mínima (línea discontinua) en la Bahía de Mazatlán durante los meses de muestreo

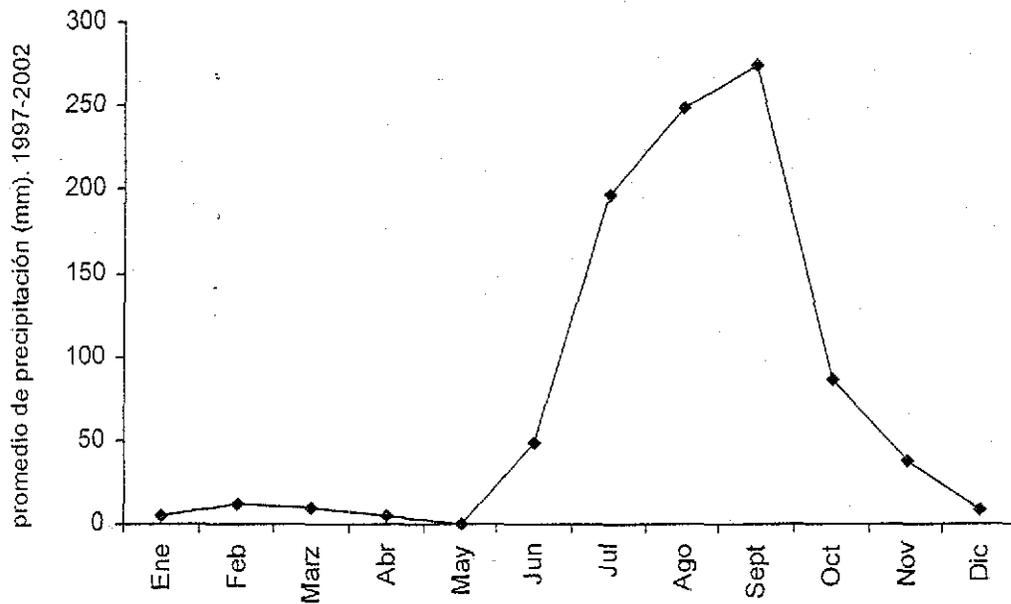


Fig. 4. Precipitación promedio (mm) en la bahía de Mazatlán desde 1997 hasta 2002.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

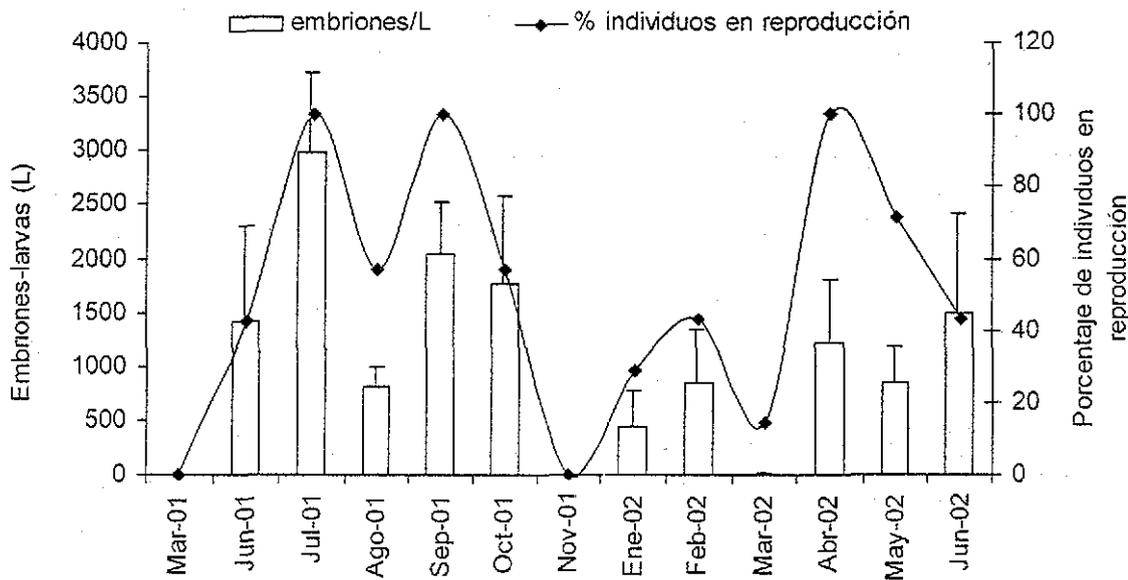


Fig. 5. Variación promedio mensual en el número de embriones-larvas/L (barras y eje primario), y porcentaje de ejemplares en reproducción (línea y eje secundario). Las barras de error representan el error estándar de la muestra.

6.3.2. Variación en el contenido de sílice.

Durante los meses de marzo a agosto no se observó mucha diferencia en el contenido de sílice (Fig. 6). De marzo a junio aumentó ligeramente (del 67 al 68%) mientras que en julio disminuyó y se mantuvo así hasta agosto (66%). Posteriormente, se observó una disminución muy marcada en el porcentaje de sílice en septiembre (60%), aumentando de nuevo en octubre (64%) y en noviembre (66%). En enero de 2002 se observó otra disminución en el contenido de sílice (58%), registrándose también para este mes la menor proporción de sílice. En febrero aumenta nuevamente (62%), para disminuir en marzo y abril (59 y 56% respectivamente), siendo abril el mes que menor contenido de sílice presentó durante todo el estudio. Esta tendencia se repite en mayo y junio (60 y 58% respectivamente). De forma individual, el ejemplar con mayor proporción en sílice (77%) se registró en junio, y en septiembre de 2001 y junio de 2002 se detectó el ejemplar con menor proporción (51%). En noviembre los ejemplares presentaron muy poca variación en el contenido de sílice (62% a 66%). En julio y enero los 7 ejemplares estudiados presentaron el rango de variación más amplio (58 a 73% y 51 a 66% respectivamente) (Tabla 1).

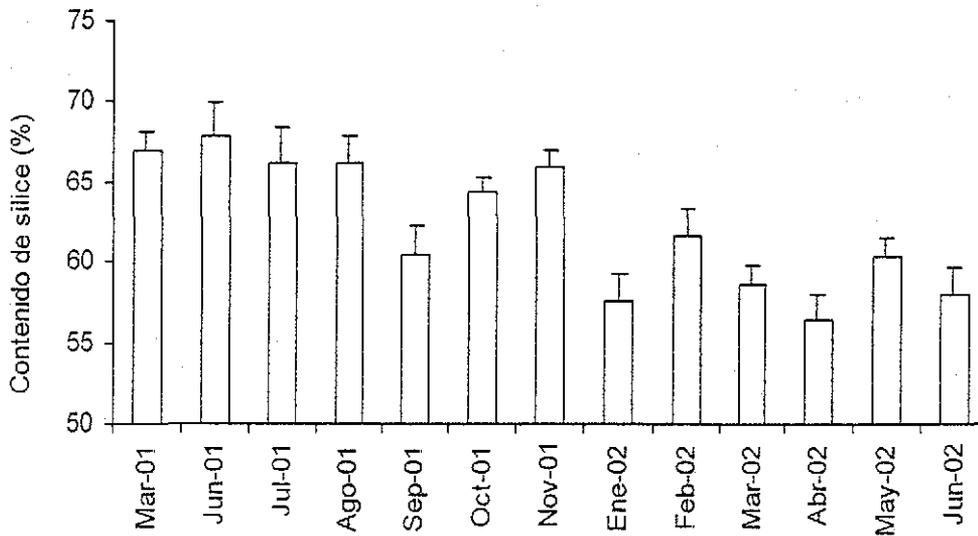


Fig. 6. Variación mensual del porcentaje de sílice en la esponja *Mycale parishii*. Las barras de error representan el error estándar de la muestra.

6.3.3. Abundancia y biomasa de la fauna asociada.

Se encontraron representantes de 4 Phyla, 7 Clases, 15 Órdenes y 23 Familias (Tabla 2). El Phylum Echinodermata fue el más representativo y se encontró en todos los ejemplares durante todos los meses de muestreo, ocupando el 93% del total de los organismos. Le siguió el Phylum Artropoda con 4%, Mollusca con 2%, y por último Annelida con 1% (Fig. 7). A nivel de familia se observó que la familia Ophiactidae (Ofiuras, Phylum Echinodermata) apareció en todos los ejemplares recolectados, obteniendo el mayor porcentaje en abril con 98%, y el menor en marzo de 2002 con 0.37%. Las demás familias aparecieron en mínimas cantidades (Tabla 3).

Se obtuvo el número de familias y de individuos promedio mensual y se pudo observar una gran variación a lo largo del estudio (Fig. 8). En junio y agosto se encontró el mayor número de familias (16 y 14, respectivamente), mientras que en enero de 2002 solo se registraron 4 familias. Por otro lado, en el número de individuos se observaron las mismas variaciones que en el número de familias. Sin embargo, el mayor número de individuos se presentó en el mes de febrero de 2002 (1698), mientras que el menor se registró en junio de 2002 (178 individuos).

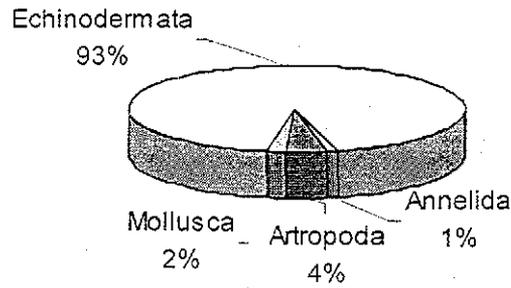


Fig. 7. Porcentaje total de organismos pertenecientes a los 4 Phyla encontrados en *Mycale parishii*.

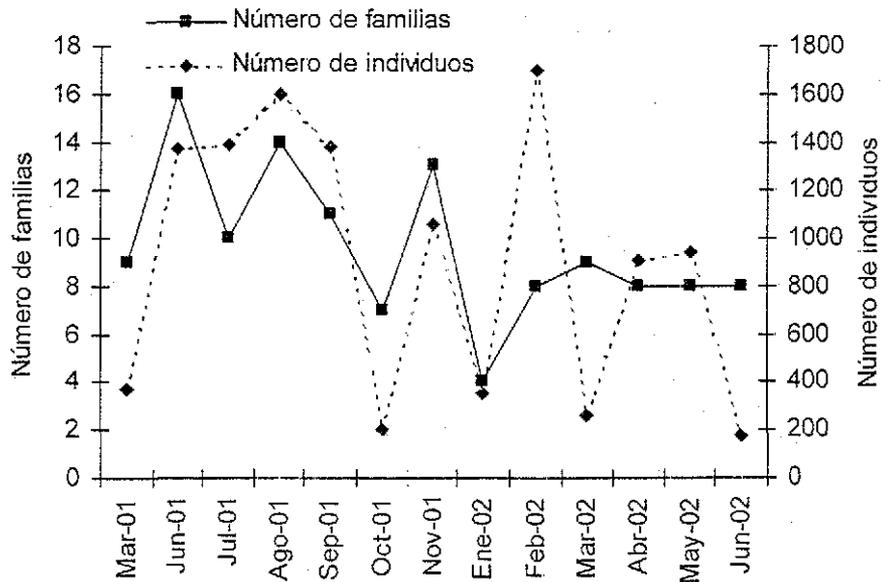


Fig. 8. Variación promedio mensual del número de familias (línea discontinua y eje primario) y número de individuos (línea continua y eje secundario) a lo largo del tiempo.

Tabla 2. Calcificación taxonómica de la fauna asociada a la esponja *Mycale parishii* durante el año de muestreo

| | |
|-----------------------|-------------------------|
| Phylum Annelidae | Clase Holoturoidea |
| Clase Polychaeta | Orden Holothurida |
| Orden Phyllodocida | Familia HOLOTHURIDAE |
| Familia PHYLLODOCIDAE | Phylum Mollusca |
| POLYNOIDAE | Clase Gastropoda |
| NEREIDAE | Orden Patellogastropoda |
| Orden Eunicida | Familia FISSURELLIDAE |
| Familia EUNICIDAE | Orden Neogastropoda |
| ARABELLIDAE | Familia CALYPTREIDAE |
| Orden Terebellida | COLUMBELLIDAE |
| Familia TEREPELLIDAE | Orden Basommatophora |
| Orden Sabellida | Familia TRIMUSCULIDAE |
| Familia SERPULIDAE | Clase Bivalvia |
| Phylum Arthropoda | Orden Veneroida |
| Calse Maxillipoda | Familia CARDITIDAE |
| Orden Thoracica | Orden Mytiloida |
| Familia BALANIDAE | Familia MYTILIDAE |
| MEGABALANIDAE | |
| Clase Malacostraca | |
| Orden Decapoda | |
| Familia HIPPOLYTIDAE | |
| ALPHEIDAE | |
| XANTIDAE | |
| MAJIDAE | |
| INACHIDAE | |
| PORCELLANIDAE | |
| Orden Isopoda | |
| Familia PHAEROMATIDA | |
| Orden Amphipoda | |
| Familia GAMMARIDAE | |
| Phylum Echinodermata | |
| Clase Stelleroidea | |
| Orden Ophiurida | |
| Familia OPHIACTIDEA | |

Tabla 3. Porcentaje total de las familias encontradas en la fauna asociada a la esponja.

| Familia | Promedio total (%) | Familia | Promedio total (%) |
|---------------|--------------------|---------------|--------------------|
| Nereidae | 0.0256 | Inachidae | 0.2023 |
| Polynicidae | 0.0170 | Porcelanidae | 0.3693 |
| Terebellidae | 0.5455 | Gammaridae | 0.3166 |
| Serpulidae | 0.0511 | Ophiactidae | 96.2188 |
| Phyllodocidae | 0.0341 | Holoturidae | 0.0088 |
| Arabellidae | 0.0170 | Fissurellidae | 0.0264 |
| Eunicidae | 0.0938 | Calyptridae | 1.6268 |
| Balanidae | 1.5002 | Columbellidae | 0.0879 |
| Hippolytidae | 0.0170 | Trimusculidae | 0.0088 |
| Alpheidae | 0.7075 | Carditidae | 0.2462 |
| Xantidae | 0.6155 | Mytilidae | 0.0264 |
| Majidae | 0.0791 | | |

Se observó una disminución considerable en el número y en la biomasa de la fauna asociada desde marzo a junio. Posteriormente, de junio a septiembre hubo un aumento en el número y en la biomasa de los epibiontes (1.03 a 1.77 organismos/cm³ y 20.75 a 55.52 g/cm³ respectivamente) (Fig. 9). Sin embargo, en octubre hubo una disminución muy marcada (0.12 organismos/cm³; 9.38 g/cm³). A partir de noviembre de 2001 hasta marzo de 2002, se observaron variaciones muy marcadas en la abundancia de la fauna asociada a la esponja. El número y la biomasa se mantuvieron casi constantes en abril (0.94 organismos/cm³ y 27 g/cm³) y mayo (0.95 organismos/cm³ y 27 g/cm³), mientras que en junio la abundancia y la biomasa bajaron (0.3 organismos/cm³ y 9.7 g/cm³). La mayor abundancia de organismos se encontró en febrero con 2.58 organismos/cm³, y la menor en octubre con 0.12 organismos/cm³. Por otro lado, la mayor biomasa se encontró en marzo de 2001, y la menor en octubre (69.85 g/cm³ y 9.38 g/cm³ respectivamente), es decir, el mayor promedio mensual se encontró en febrero, pero la mayor biomasa en marzo de 2002. Tanto el número de organismos como la biomasa de estos variaron fuertemente entre cada ejemplar. El ejemplar con menor número de organismos se presentó en octubre y junio de 2002 con 0.03 organismos/cm³, y el mayor en febrero con 6.5 organismos/cm³, mientras que el ejemplar con la menor biomasa se encontró en junio de 2002 con 1.05 g/cm³ y en marzo de 2002 se registró la mayor con 201.30 g/cm³ (Tabla 1).

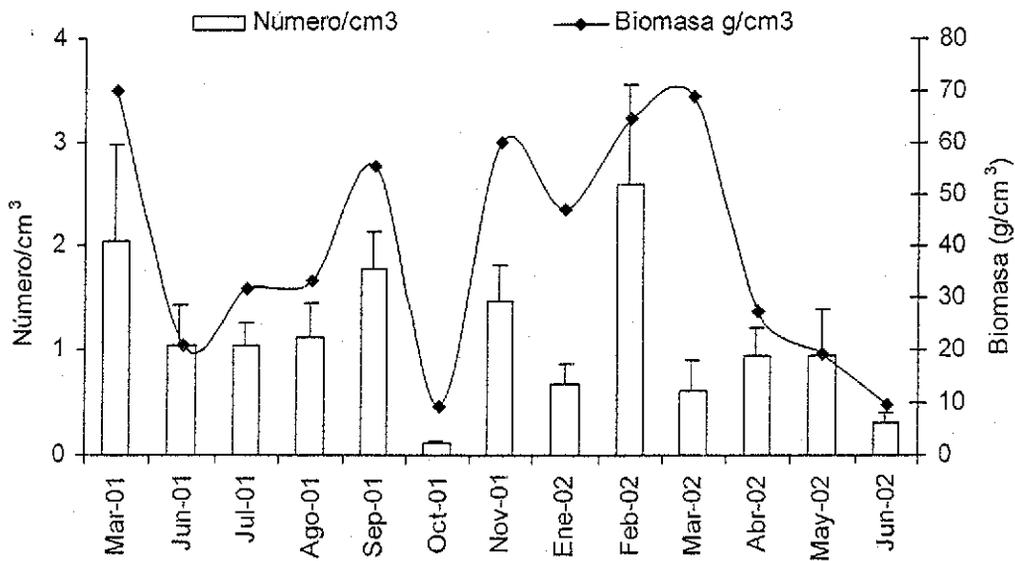


Fig. 9. Variación promedio mensual en el número (cm^3) (barras y eje primario) y en la biomasa (g/cm^3) (líneas y eje secundario) de la fauna asociada a la esponja *Mycale parishii*. Las barras de error representan el error estándar.

La diversidad presentó una gran variación a lo largo de los meses de estudio (Fig. 10). El mes con mayor diversidad fue marzo de 2002 (1.25) y el de menor fue febrero (0.116). Esto indica que en marzo el número de organismos para cada familia estuvo mejor repartido, mientras que en febrero, el número de organismos fue mucho mayor para una sola familia. De marzo de 2001 a agosto, los valores de diversidad disminuyeron de 0.80 a 0.34. La diversidad presentó muchas fluctuaciones en el periodo de septiembre a marzo de 2002, observándose una variación de 0.116 a 1.25. Posteriormente, la diversidad disminuyó hasta 0.214 y continuó aumentando paulatinamente hasta llegar a 0.499 en junio de 2002.

La equitatividad (J') varió de la misma forma que la diversidad (Fig. 10). Presentó su valor máximo en marzo de 2002 (0.349) y el mínimo en abril (0.039). Disminuyó de 0.25 en marzo de 2001 a 0.089 en agosto. Después, la equitatividad fluctuó de 0.121 en septiembre a 0.039 en febrero, para luego aumentar en marzo de 2002 con 0.34 y

volver a disminuir en abril con 0.07. Posteriormente, aumentó ligeramente en junio de 2002 con 0.116.

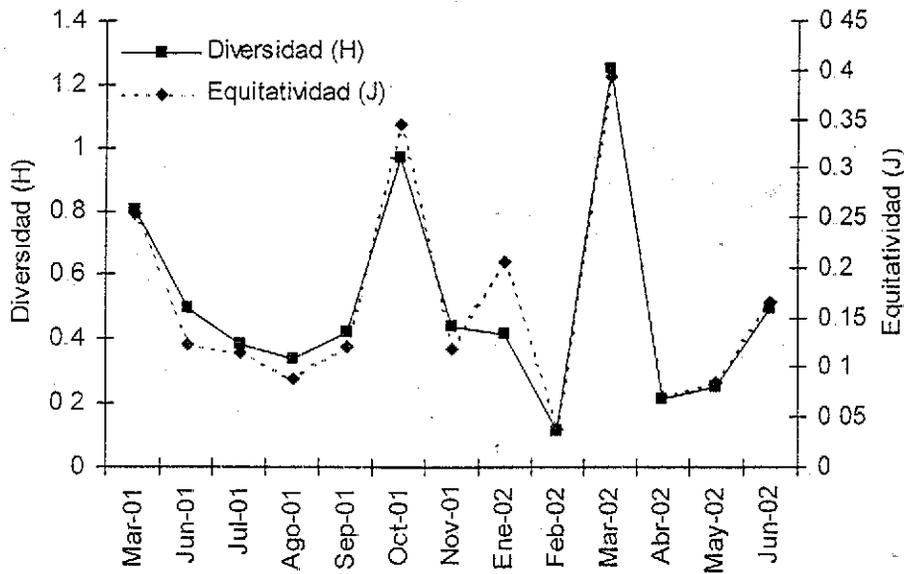


Fig. 10. Variación de la diversidad (H') (línea continua y eje primario) y equitatividad (J') (línea discontinua y eje secundario) promedio durante los meses de muestreo.

El análisis de clasificación basado en la abundancia de las familias nos permite observar tendencias generales en la distribución de la fauna asociada entre meses (Fig. 11). Los meses de marzo y octubre de 2001 y junio de 2002 se separaron de los dos grupos principales, debido tal vez a que en estos meses se encontraron los valores menores de individuos por familia, variando de 178 a 372 individuos. Marzo de 2002 también se separó de los grupos principales ya que en este mes el número de individuos por familia estuvo mejor repartido que en los otros meses. El primer grupo estuvo representado por los meses de junio a septiembre y noviembre de 2001, donde el número de familias e individuos varió de 10 a 16 y de 1057 a 1601, respectivamente. El segundo grupo estuvo representado por los meses de enero, febrero, abril y mayo de 2002, debido a que en estos meses se presentaron valores iguales de familias (8), exceptuando a enero, donde se encontró un valor bajo de familias y de número de individuos (4 y 350, respectivamente).

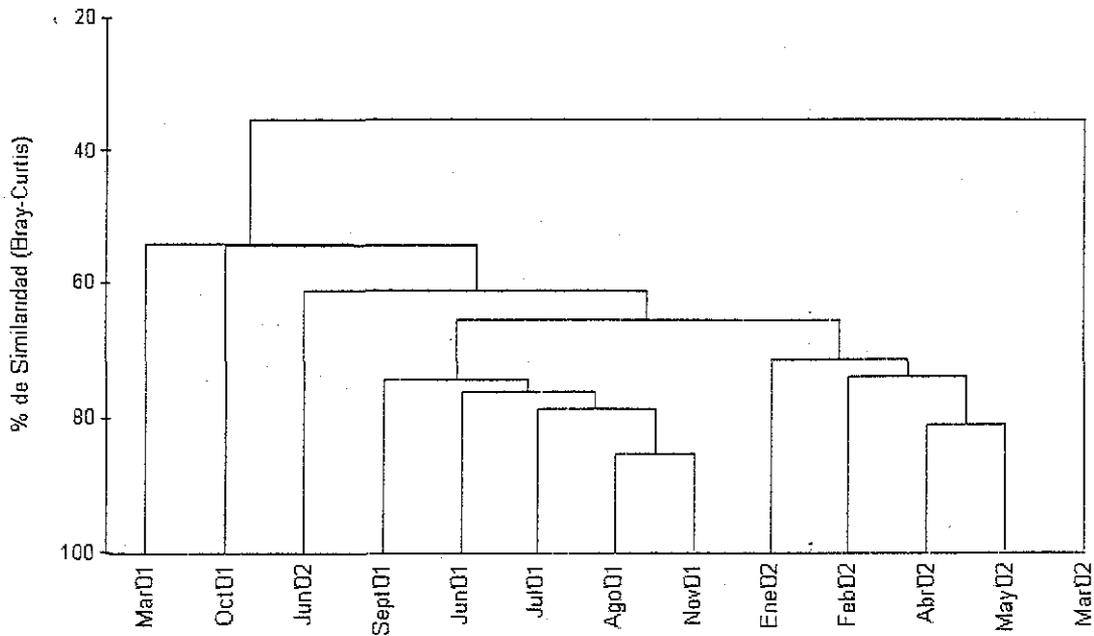


Fig. 11. Análisis de clasificación de los meses de muestreo basado en la abundancia media de la fauna asociada a nivel familia. En el eje y se expresa el porcentaje de similitud.

6.4. Correlación entre los parámetros ambientales y los procesos biológicos

Se obtuvo una correlación positiva entre el número de embriones-larvas/L y la temperatura máxima y mínima del agua ($p < 0.011$, $p < 0.034$ respectivamente). Además, se obtuvo una correlación negativa entre el número de embriones-larvas/L y el contenido de sílice ($p < 0.014$), es decir, que cuanto mayor número de embriones-larvas, menor proporción en el contenido de sílice (Tabla 4).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4. Resultados de la correlación de *Spearman* (r) entre los parámetros ambientales y procesos bióticos. Solo se presentan las correlaciones significativas ($p < 0.05$). Los resultados se expresan como r y p .

| | Número de embriones-larvas/L | Contenido de sílice |
|------------------------------|------------------------------|------------------------|
| Temperatura Máxima | 0.3112, 0.0116 | |
| Temperatura Mínima | 0.2621, 0.0349 | |
| Número de embriones-larvas/L | | -0.3022, 0.0143 |

6.5. Bioactividad de la esponja

6.5.1 Inhibición del desarrollo embrionario del erizo de mar *Echinometra Vanbrunti*

El resultado del análisis de varianza de dos vías determinó que el porcentaje de inhibición promedio varió significativamente con respecto al tiempo y a la concentración (Tabla 5).

La variación de la inhibición con respecto al tiempo fue significativa ($F=3.78$; $p=0.000038$), y se pudieron distinguir tres períodos. El primero de marzo a septiembre con valores entre 43.60 y 56.85 %; el segundo abarcó de octubre a enero, en el cual se registraron los porcentajes de inhibición más bajos y variaron de 11.32 a 16.95%; y el tercero, similar al primero, de febrero a junio de 2002 con porcentajes entre 12.87 y 42.09 % (Fig. 12). El mayor porcentaje de inhibición se registró en julio y el menor en enero (56.85 y 11.32 %, respectivamente).

Con respecto a las concentraciones, el mayor porcentaje promedio de inhibición se registró a 1000 $\mu\text{g/ml}$ (71.88 %), mientras que a las concentraciones de 100 y 10 $\mu\text{g/ml}$ el porcentaje promedio fue muy bajo (17.88 y 11.98 %, respectivamente) (Fig. 13).

Además, se obtuvo una relación tiempo-concentración significativa ($p < 0.0001$) que indicaba que hubo meses en los que no se encontraron diferencias entre las distintas concentraciones probadas y el testigo (Fig. 14).

Tabla 5. Resultado del análisis de varianza de dos vías de la variación de la actividad con respecto al tiempo (Factor 1; 13 niveles), y a la concentración (Factor 2; 3 niveles). df1, df2: grados de libertad del estadístico F (Rao R), usados para determinar el nivel de significancia del efecto; p niveles de p asociados con el estadístico Rao R para cada efecto.

| Factores | Lambda de Wilks | Rao R | df 1 | df 2 | p |
|----------------------|-----------------|----------|------|------|----------|
| Tiempo | 0.2240 | 14.3728 | 24 | 310 | 0.000000 |
| Concentración | 0.1395 | 129.9534 | 4 | 310 | 0.000000 |
| Tiempo-concentración | 0.3260 | 4.8522 | 48 | 310 | 0.000000 |

La prueba de Newman-Keuls (Fig. 14) demostró que en la concentración de 10 $\mu\text{g/ml}$ se detectaron diferencias significativas con respecto al testigo en los meses de julio y agosto y de abril a junio de 2002. En julio se presentó el mayor porcentaje de inhibición a esta concentración (25.86%; $p < 0.027$) y el menor en enero (6.71%). A partir de la concentración de 100 $\mu\text{g/ml}$ se encontraron diferencias significativas de junio a octubre y de febrero a junio de 2002. En julio se presentó el mayor porcentaje de inhibición significativo (39.35%; $p < 0.003$) y el menor porcentaje se registró en enero (9.3%). En la concentración de 1000 $\mu\text{g/ml}$. Se encontraron diferencias significativas en todos los meses de muestreo, con el mayor porcentaje de inhibición en junio de 2001 (100%; $p < 0.000001$) y el menor en junio del 2002 (19.20%; $p < 0.006$)

De forma individualizada se observó que en marzo de 2001 se registró el ejemplar con mayor porcentaje de inhibición (61.33%); mientras que en noviembre se registró el menor (4.67%) (Tabla 1).

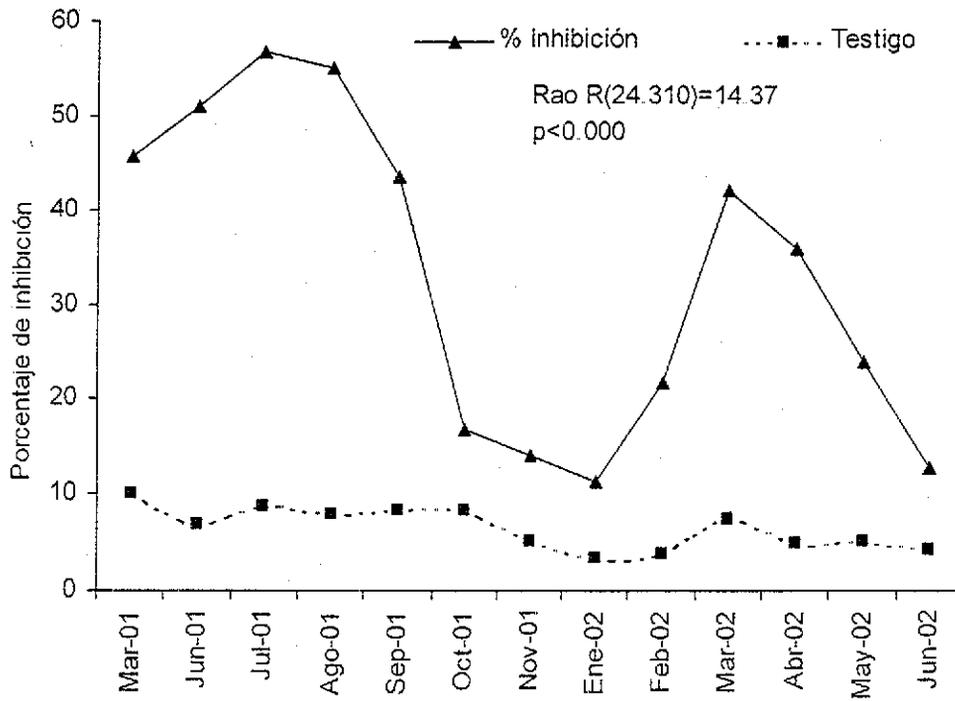


Fig. 12. Porcentaje promedio mensual de la inhibición (línea continua) con respecto al testigo (línea discontinua) a lo largo del tiempo. El valor de Rao R y significancia p se muestra en la gráfica.

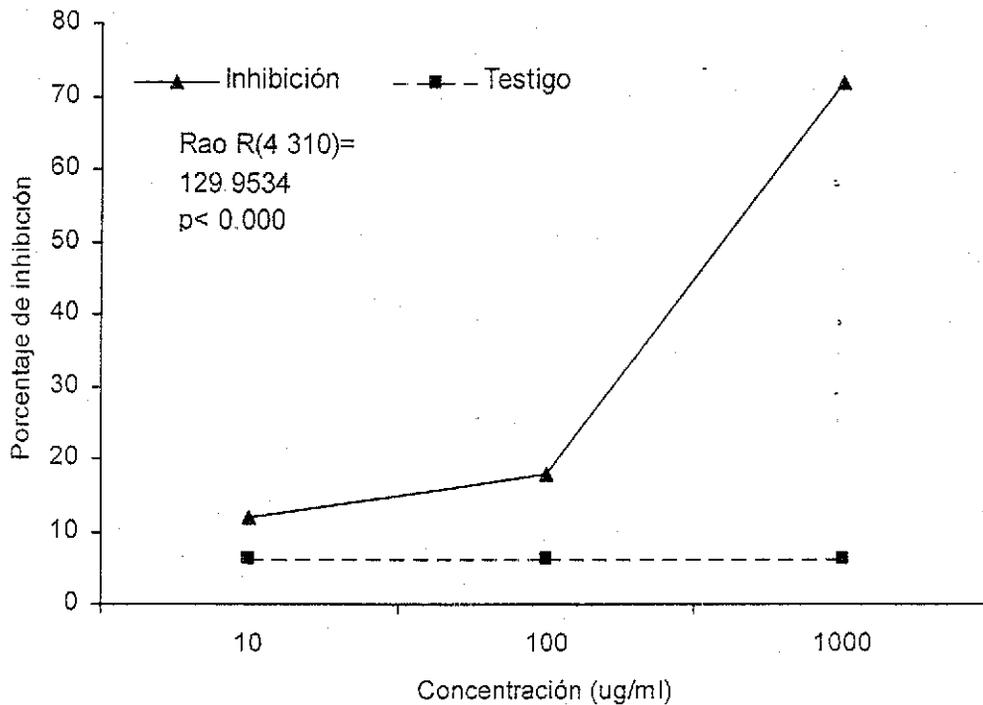


Fig. 13 Porcentaje promedio total de la inhibición de las tres concentraciones estudiadas (línea continua) con respecto al testigo (línea discontinua).

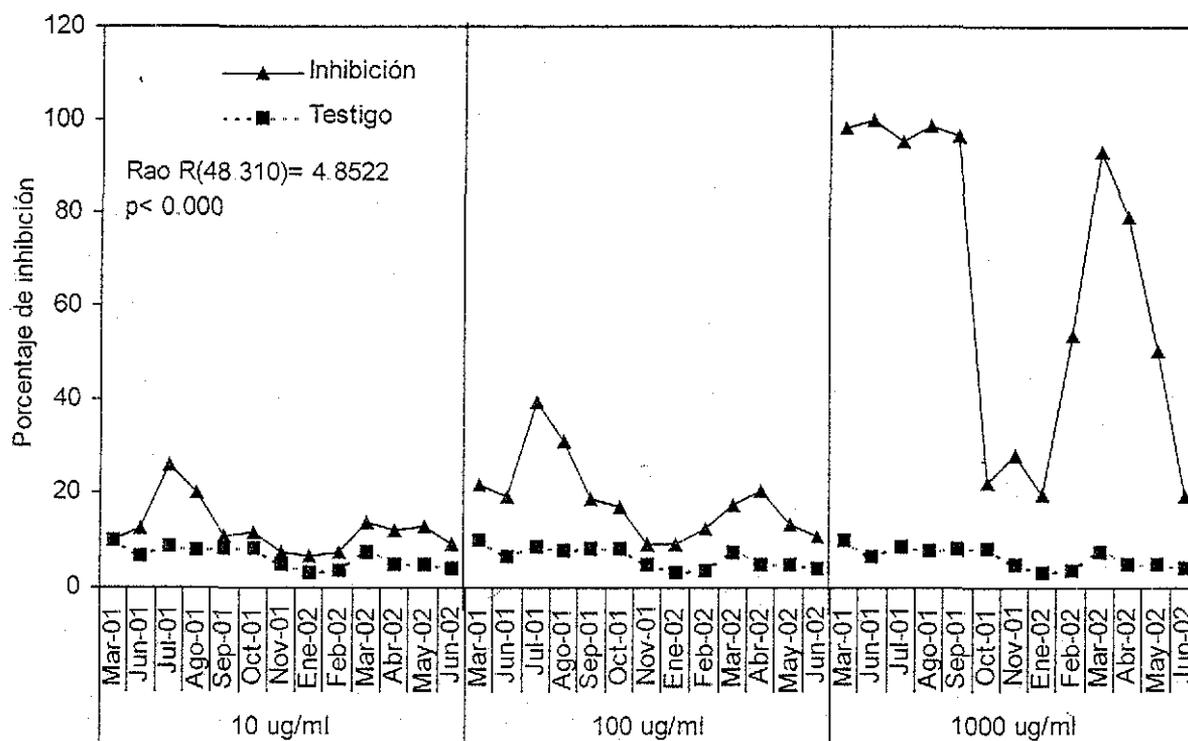


Fig. 14. Interacción tiempo-concentración del porcentaje promedio mensual de la inhibición en las tres concentraciones estudiadas (línea continua) con respecto al testigo (línea discontinua).

6.5.2. Inhibición del crecimiento bacteriano (MICROTOX)

En este bioensayo, la bioactividad registrada a las concentraciones probadas no permitió calcular la EC50, por lo que se utilizaron los valores gamma de toxicidad a la 1000 µg/ml (Fig. 15). El valor gamma promedio mensual más alto se registró en junio de 2001 (0.7904) y el más bajo en noviembre (0.2702). De marzo de 2001 a junio el valor de gamma aumentó de 0.4688 a 0.7904. Posteriormente, se registró una disminución de 0.6913 a 0.4625 en junio y agosto respectivamente. En septiembre y octubre se presentaron valores de gamma muy similares disminuyendo de 0.5689 a 0.5025. De noviembre a febrero se registró un aumento de 0.2702 a 0.6907, para después disminuir hasta 0.4196 en marzo de 2002. De abril a junio de 2002, el valor de gamma disminuyó de 0.6385 a 0.598. Analizando los datos por ejemplar, se registró una gran

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

variabilidad en la actividad, presentándose el valor gamma mayor en junio (1.205) y el menor en marzo de 2001 (0.098), (Tabla 1).

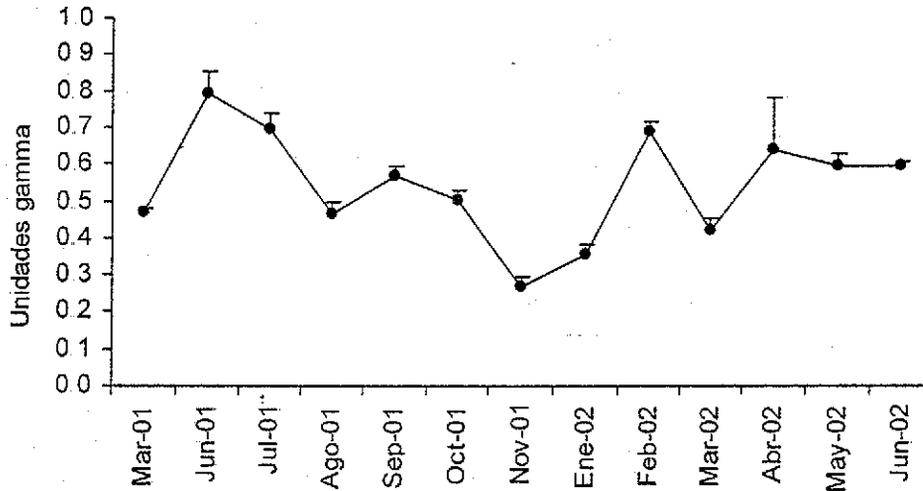


Fig. 15. Variación promedio mensual de la actividad antimicrobiana ($1000 \mu\text{g/ml}$) de la esponja *Mycale parishii*. Las barras de error representan el error estándar de la muestra del 95%.

6.6. Relación de la bioactividad con los parámetros ambientales y procesos bióticos.

Se obtuvo una correlación significativa entre la actividad inhibitoria del desarrollo embrionario y algunos de los parámetros bióticos y ambientales estudiados. Se encontró una correlación significativa entre el porcentaje de inhibición y la temperatura máxima del agua ($p < 0.0123$) (Tabla 6). Esto indica que la bioactividad varió con la temperatura del agua en forma positiva, es decir que, al aumentar la temperatura, aumentó la bioactividad de la esponja. La actividad también estuvo correlacionada con el número de organismos de la fauna asociada a la esponja ($p < 0.0255$).

La correlación entre el grado de inhibición del crecimiento bacteriano, y algunos de los parámetros bióticos y abióticos fue significativa ($p < 0.05$). Por ejemplo, se pudo observar que la inhibición antimicrobiana estuvo correlacionada significativamente con

la temperatura máxima del agua ($p < 0.0454$) y con el número de embriones-larvas ($p < 0.0086$), (Tabla 6).

6.7. Comparación entre los bioensayos

Los resultados de los bioensayos no estuvieron correlacionados, aunque manifestaron tendencias similares en ciertos momentos del año (Fig. 16). A partir de marzo y junio los dos bioensayos presentan un aumento en la inhibición. Posteriormente, la inhibición del desarrollo embrionario aumentó nuevamente en julio, cuando alcanzó el máximo valor. En agosto y septiembre disminuyó ligeramente, y de octubre a enero la disminución en la actividad fue muy marcada. En febrero y marzo de 2002 la actividad volvió a aumentar y de ahí hasta junio de 2002 disminuyó paulatinamente. La inhibición del crecimiento bacteriano disminuyó desde julio hasta noviembre, aunque en septiembre y octubre aumentó ligeramente. Posteriormente, de enero a febrero aumentó considerablemente disminuyendo nuevamente en marzo de 2002. Durante los meses de abril a junio de 2002, la actividad se mantuvo casi constante. Los dos bioensayos empezaron con un aumento en la actividad, solo que en el bioensayo de la inhibición del crecimiento bacteriano se presentó antes que en el de inhibición del desarrollo embrionario.

Tabla 6. Resultado de la correlación de Spearman (r) entre la bioactividad de los extractos y los parámetros ambientales y procesos bióticos. Solo se presentan las correlaciones significativas ($p < 0.05$). Los resultados se expresan como r y p .

| | Número de embriones-larvas/L | Contenido de sílice | Fauna asociada (#/cm ³) | Temperatura Máxima (C) | Temperatura Mínima (C) |
|-------------------------|------------------------------|---------------------|-------------------------------------|------------------------|------------------------|
| % Inhibición promedio | | | 0.27,0.02 | 0.30,0.01 | 0.23,0.05 |
| % Inhibición 100 µg/ml | | | | 0.34,0.00 | 0.29,0.01 |
| % Inhibición 1000 µg/ml | | 0.30,0.01 | 0.36,0.00 | | |
| MICROTOX (1000 µg/ml) | 0.32,0.00 | | | 0.25,0.04 | |

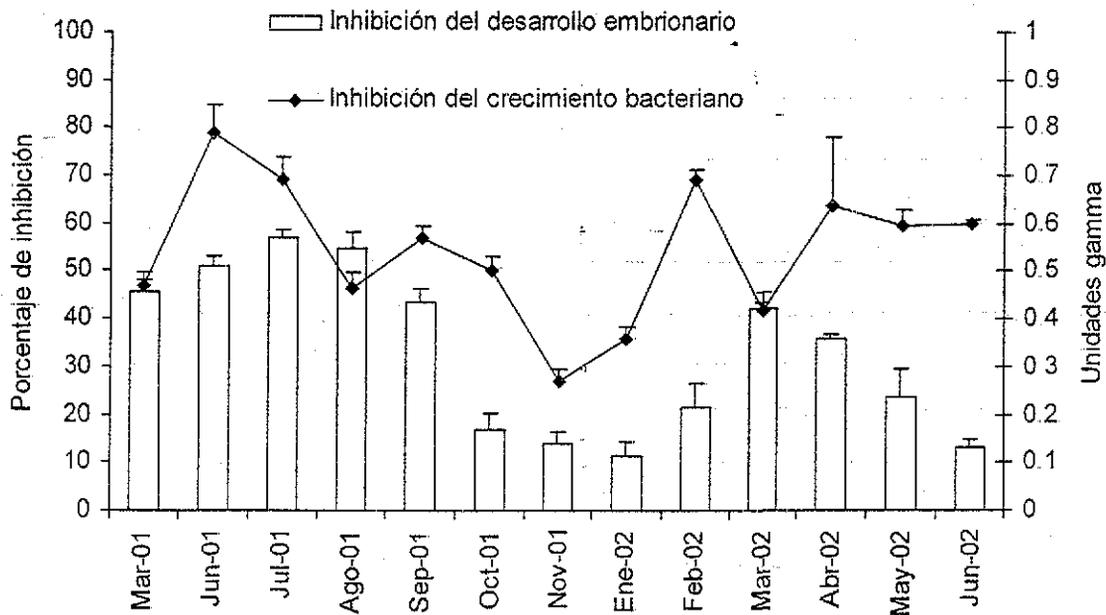


Fig. 16. Comparación entre la inhibición del desarrollo embrionario (porcentaje de inhibición; barras y eje primario) y la inhibición del crecimiento bacteriano (unidades gamma; líneas y eje secundario), en la actividad de la esponja *Mycale parishii*. Las barras de error representan el error estándar de la muestra del 95%.

7. DISCUSIÓN

La relación entre la bioactividad de ambos bioensayos y la temperatura del agua, sugiere una variación estacional con valores mínimos en otoño-invierno coincidiendo con las temperaturas más bajas y máximos en primavera-verano cuando la temperatura del agua es más alta. Los primeros investigadores en sugerir un patrón estacional en la variación de la toxicidad en esponjas fueron Green et al. (1990), quienes también encontraron un aumento en la actividad antimicrobiana de algunas especies de esponjas de la Bahía de Mazatlán durante los meses más cálidos del año. En otras latitudes también se demostró que la toxicidad de la especie *Cambre cambre* presentaba un comportamiento cíclico anual (Turón et al. 1996). Estos trabajos sugieren la hipótesis de que la producción de sustancias bioactivas en algunas especies se ve mediada por las fluctuaciones ambientales generales del medio.

Para el caso concreto de la esponja *Mycale parishii*, los antecedentes indicaban que existía cierta relación entre la actividad antimicrobiana, y la temperatura del agua (Green et al. 1990). Sin embargo, en este trabajo se estudiaron esponjas recolectadas en diferentes épocas del año, en diferentes años, y en diferentes localidades, con lo que la diferencia se podría deber a cualquiera de estas variables (época, año, localidad).

Michel-Reynoso (1986) estudió la variación mensual de la actividad antimicrobiana de la esponja *Mycale parishii* en la Bahía de Mazatlán durante un año natural, y no encontró relación entre la actividad y la temperatura del agua. La falta de estacionalidad se podría deber al hecho de que Michel-Reynoso utilizó la actividad promedio de ejemplares recolectados en seis localidades diferentes, por lo que el posible efecto estacional se pudo ver enmascarado por la variación espacial.

Green et al. (1990) y Michel Reynoso (1986) utilizaron como disolvente metanol, y la extracción la hicieron a partir de fragmentos de la esponja fresca. En nuestro caso, utilizamos como disolvente DCM:MeOH y la extracción se hizo a partir de fragmentos de esponja liofilizada. Aunque el DCM parece extraer a todas las sustancias tóxicas en diferentes especies de esponjas del Mediterráneo (Becerro 1994), los diferentes resultados encontrados también se pueden deber al hecho de que Michel Reynoso utilizó fragmentos de la esponja fresca como sensidiscos en los ensayos

antimicrobiológicos, y nosotros utilizamos extractos disueltos en una solución acuosa donde se ponen las bacterias a crecer.

En otro estudio más reciente, realizado en aguas del Mar de Cortés, Betancourt et al. (1998) no encontraron relación entre la actividad antimicrobiana de la esponja *Aplysina fistularis* y la temperatura del agua. Sin embargo, encontraron una estrecha relación entre el nivel de toxicidad de la esponja y la fauna asociada a la misma, que concuerda con los resultados del presente estudio, sugiriendo que la fauna mantiene algún tipo de relación ecológica con la esponja, o como consecuencia de la correlación de la actividad y la temperatura del agua. Sin embargo, Amade et al. (1987) sugiere que la relación de la actividad antimicrobiana sea por control de la población de microorganismos.

La abundancia de la fauna asociada estuvo correlacionada con la actividad en el bioensayo de inhibición del desarrollo embrionario. Esto sugiere que la esponja tiene la capacidad de producir un grupo de sustancias tóxicas, que pueden servir para inhibir el desarrollo y asentamiento de algunos integrantes de la fauna que asocia a ella. El bioensayo de inhibición del desarrollo embrionario puede indicar actividad inhibitoria del desarrollo y metamorfosis de algunas larvas que lleguen a fijarse en la superficie de esta, o actividad antiadherente frente a embriones fertilizados o larvas que se depositen en la esponja. Betancourt et al. (1998) sugirieron que la temperatura puede ser el detonador que desencadena la reproducción de la mayoría de los organismos asociados con la esponja. Aunque en este estudio no se encontró correlación directa entre la fauna asociada y la temperatura del agua, la abundancia de la fauna asociada tuvo tendencia a aumentar en verano, al igual que la temperatura. Esto nos sugiere que la variación de la abundancia se podría relacionar indirectamente con la temperatura del agua en épocas puntuales del año, y esto a su vez provoca mayor actividad inhibitoria en la esponja.

Debido a lo anterior, se sugiere que el bioensayo de inhibición del desarrollo embrionario realizado en este estudio puede servir como indicador de inhibición de organismos que posiblemente vivan en la superficie o en el interior de la esponja. Aunque se ha sugerido que la fauna asociada a la esponja pueden actuar como comensales de esta (Turon et al. 2000), se ha propuesto que simbioses de algunas esponjas en un momento dado, llegan a ser parásitos de esta, haciéndola producir

algún tipo de sustancia para poder controlar a estas poblaciones (Rutzler 1985; Rutzler 1989). En el caso específico de la ofiura *Ophiactis savignyi*, pasa todo su ciclo de vida dentro de la esponja *Mycale parishii* (Duarte y Nalesso 1996). De hecho, esta misma especie fue la más abundante en este estudio (ver apartado "Relación entre la fauna asociada y la esponja").

La actividad de la esponja medida mediante el bioensayo de inhibición del desarrollo embrionario se correlacionó positivamente con el contenido de sílice de la esponja. Debido a que la actividad muestra una variación estacional, sería lógico suponer que al estar correlacionadas entre si, el contenido de sílice esté también correlacionado con la temperatura del agua, como ha sido sugerido por Schonberg y Barthel (1997). Sin embargo, no fue así, ya que a pesar de que los mayores porcentajes de contenido de sílice se encontraron en primavera-verano de 2001, los valores fueron disminuyendo al aumentar la temperatura del agua. El menor porcentaje se encontró en primavera y principios de verano de 2002, lo que concuerda con la variación de la actividad con respecto a la temperatura. Así, la producción de esqueleto de la esponja puede variar con la producción de sustancias activas, mientras que esta última puede variar con respecto a la temperatura del agua. En este sentido, Bavellestro et al. (1993) no encontraron correlación entre el contenido de sílice y la temperatura del agua. Sin embargo, encontraron una correlación negativa entre el tamaño de las espículas y la temperatura. En contraste, Schonberg y Barthel (1997) demostraron que la producción de espículas crecía paralelamente con el incremento de la temperatura en primavera, siendo más pronunciada en verano. De igual forma, Mercurio et al. (2000) encontraron que el contenido de sílice presentó una tendencia estacional, positivamente correlacionado con los valores de temperatura de verano hasta finales de otoño, por lo que se sugiere que la correlación entre estos parámetros sea consecuencia de la variación que tiene cada uno con la temperatura del agua.

La actividad de inhibición del crecimiento bacteriano estuvo correlacionada con el número de embriones-larvas/L de esponja. Esta correlación puede deberse a un mecanismo de defensa de la esponja para asegurar la reproducción. Coll (1992) registró cambios estacionales en la producción de sustancias en corales blandos relacionados con la reproducción, ya que los huevos en algunas especies están dotados con sustancias específicas, que aparecen solo durante la época reproductiva.

Sin embargo, puede ser también debido a un mecanismo de control de la esponja hacia la población de los microorganismos que viven en ella (Amade et al. 1987), ya que se ha encontrado que algunos microorganismos viven permanentemente en el mesohilo de la esponja *Aplysina aerophoba* indicando una interacción entre ésta y los microorganismos asociados a ella (Friedrich et al. 2001).

La reproducción y la formación de esqueleto se correlacionaron negativamente indicando que la esponja invierte su energía en cada momento en el proceso que más la requiere. Bavestrello et al. (1993), encontraron los valores mínimos de contenido de sílice y tamaño promedio de espículas en el periodo de reproducción (fin de verano) de la esponja *Chondrilla nucula* (aunque no presentaron correlaciones estadísticas). Schonberg y Barthel (1997) observaron que la producción de espículas decrece notablemente en *Halichondria panicea* cuando empieza su ciclo de ovogénesis (en otoño). Frohlic y Barthel (1997) sugirieron que la intensa reproducción de la esponja *Halichondria panicea* es en primavera y los especímenes hembra muestran una disminución significativa en su consumo de sílice, por lo que no producen espículas durante este periodo. Mercurio et al. (2000) sugirieron que el contenido de sílice aumenta conjuntamente con el desarrollo de las larvas de la esponja *Pellina semitubulosa*.

La variación en la bioactividad también puede tener relación con la densidad de la población y/o con el tamaño de la esponja. En la primavera de 2001, cuando se registraron los valores de inhibición más altos, se encontraron los ejemplares de menor tamaño, y la abundancia fue muy inferior a la encontrada en la primavera de 2002, cuando la inhibición fue menor que en la primavera del 2001 (obs. pers.), época que se asemejó a la densidad de la población de *Mycale parishii* para la misma época en el año 2000 (Carballo, com. pers.). Lamentablemente, no se pudo comprobar esta relación debido a que no se estimó el tamaño promedio de la población, y tampoco se contabilizó la densidad de la esponja en el área de estudio. Uriz et al. (1995) encontraron que la forma del crecimiento en diferentes hábitats puede contar también para la producción de tóxicos. En contraste con nuestra suposición, Soria et al. (1999) sugirieron que en general las esponjas más activas de Santispac, BCS., permanecen todo el año a diferencia de las no activas. Sin embargo, se necesitan estudios

posteriores para poder comprobar si el tamaño y densidad de la esponja intervienen en la producción de sustancias activas.

Relación entre la fauna asociada y la esponja.

Existen diferentes tipos de asociaciones entre las esponjas y sus habitantes, que van desde el simple contacto temporal hasta la dependencia metabólica del huésped (Vernberg 1974). Bacescu (1971) concluyó que después de los arrecifes de coral, las esponjas constituyen uno de los biotopos más ricos en los mares tropicales. En efecto, la esponja *Mycale parishii* resguarda a una fauna muy diversa, encontrándose un total de 11,732 individuos a lo largo del año, repartidos en 4 phyla en 91 muestras. Duarte y Nalesso (1996), encontraron un total de 7012 individuos en 4 phyla. Ellos estudiaron la fauna asociada a la esponja *M. parishii* en Brasil. Encontraron una diversidad muy alta de especies en comparación a la nuestra, sin embargo, nuestra diversidad fue dada por familias y no por especies. En este estudio se pudo observar la separación de los meses de estudio en dos grupos, uno formado por el año 2001 y el otro por el 2002. Esto puede ser debido al tipo de ambiente en donde fue recolectada la muestra, ya que, como se mencionó en material y métodos, se estudiaron los ejemplares de tres estaciones similares en el tipo de sustrato y se sabe que la fauna asociada puede variar dependiendo del sitio, hábitat y tipo de sustrato (Santucci 1922; Pearse 1950; Duarte y Nalesso 1996).

El grupo principal encontrado en la fauna asociada a la esponja fue el de las ofiuras (Ophictidae), registrándose ejemplares de esta familia en todos los meses de muestreo con máxima abundancia en abril y mínima en marzo de 2002. Los ofiuroideos empiezan su época de reproducción en el verano y es por medio de fecundación externa ya que los huevos y el esperma se liberan en el agua (Hickman et al. 1990). Las larvas nadan libremente y no presentan estadio de fijación. Cuando el organismo está completamente formado se va hacia el fondo donde comienza a vivir como adulto. Aunque hay algunas especies que incuban a sus huevos y los liberan en su etapa juvenil, la gran mayoría son ovíparos que no incuban (Barnes 1984). Algunas ofiuras son comensales de las grandes esponjas, en cuyos canales pueden vivir en gran número (Hickman et al. 1990). Turon et al. (2000) encontraron que los reclutas de la ofiura *Ophiotrix fragilis* pueden seleccionar su sustrato, posiblemente como resultado de migración después del asentamiento. Sugieren también que la relación entre las ofiuras y las esponjas está

basada en una relación trófica, ya que se pueden beneficiar de las corrientes inhalantes de la esponja, es decir, puede ser que las ofiuras limpien la superficie inhalante de partículas muy grandes que no pueden entrar por los ostiolos de la esponja. Este "servicio de limpieza" permite a la esponja una capacidad de filtración más eficiente (Hendler 1984). Los beneficios pueden dejar un incremento en la tasa de crecimiento de la esponja como un resultado de una asociación trófica (Turon et al. 2000) o mutualista (Hendler 1984). Cuando las ofiuras crecen a un tamaño mayor de 1 mm (diámetro del disco), abandonan la superficie de la esponja y se ocultan en pequeñas cuevas o bajo rocas. Sin embargo, en este estudio se encontró que la especie más abundante de la familia probablemente sea *Ophiactis savignyi*. Esta especie es detritófaga y tiene reproducción sexual y asexual (la última por bipartición del disco) (Boffi 1972). Duarte y Nalesso (1996) encontraron que la especie más abundante dentro de la esponja *M. parishii* fue *Ophiactis savignyi*, y sugirieron que esta especie puede ocupar la mayoría de cualquier espacio disponible dentro de la esponja; hasta las pequeñas cámaras flageladas pueden estar ocupadas por juveniles. Una vez dentro, esta especie puede pasar su vida bentónica completa dentro de *M. parishii*. Lo anterior nos sugiere que la relación que mantienen la esponja y la ofiura posiblemente sea de tipo mutualista, es decir, la esponja le ofrece refugio y alimento a la ofiura y esta, le brinda un servicio de limpieza.

Se sabe que algunas familias del phylum Artropoda como Majidae, Xantidae y Porcelanidae, pueden ser comensales de la esponja *Aplysina fistularis* y depredadores de la microcomunidad asociada (Wurzian 1977). Los cangrejos ermitaños (Clase Anomura) son típicamente omnívoros, y al parecer, no son depredadores de esponjas, aunque Waddell y Pawlik (2000a) encontraron que algunas esponjas presentan actividad antipredadora frente a un cangrejo ermitaño en Las Bahamas. Sin embargo, la esponja *Mycale lavis* no presentó esta actividad (Waddell y Pawlik 2000a). Debido a lo anterior, podemos asumir que la relación entre los artrópodos y la esponja sea mutualista.

Crepidula sp. (Familia Calyptridae) fue el gasterópodo más abundante asociado a la esponja y casi todo el tiempo se le encontró cubierto por la esponja (obs. pers.). La mayoría de los moluscos viven en sustratos sólidos y muchos otros sobre arenas flojas y la gran mayoría se alimentan por filtración, como en el caso de *Crepidula sp.* (Familia

Calyptridae) (Barnes 1984). Puede ser que el gasterópodo *Crepidula sp.* se aproveche de las corrientes generadas por la esponja para alimentarse.

Los poliquetos están frecuentemente asociados a las esponjas (Dauer 1974). En este estudio se observaron 7 familias de poliquetos, entre ellas, Terebellidae, Eunicidae y Nereidae, que también fueron reportadas en la fauna asociada a la esponja *M. parishii* en Brasil por Duarte y Nalesso (1996). En este sentido, otros autores han reportado a las familias antes mencionadas, además de Polynoidae y Serpulidae (Westinga y Hoetjes 1981; Voultziadou et al. 1987; Klittgard 1995).

Por otro lado, existen otros tipos de relaciones y/o variantes en la abundancia y diversidad de la fauna asociada a las esponjas. Entre ellas la estructura y volumen de la esponja (Pansini, 1970; Frith 1976; Westinga y Hoetjes 1981), o dependiendo del sitio, hábitat y tipo de sustrato (Santucci 1922; Pearse 1950; Duarte y Nalesso 1996). Lo que indica que la abundancia y biomasa de la fauna asociada puede variar, dependiendo del tamaño o volumen de la esponja o del hábitat en donde se encuentre la esponja. Incluso, puede ser debido a procesos físicos del ambiente. La relación entre la fauna asociada y la esponja pudiera ser influenciada por parámetros bióticos o factores ambientales y en algunas ocasiones, algunas sustancias químicas de la esponja podrían influir en el asentamiento de algunos organismos.

8. CONCLUSIONES

1.- La producción de embriones/larvas en la esponja *Mycale parishii* es continua a lo largo de todo el periodo de estudio, con máximos en verano, y mínimos en invierno, guardando relación con las fluctuaciones de la temperatura del agua.

2.- La proporción de materia orgánica/inorgánica en la esponja fue muy variable durante el periodo de estudio; aunque la proporción de sílice no presentó correlación con la temperatura del agua, como era de esperarse.

3.- La correlación negativa obtenida entre la producción de embriones/larvas, y la proporción de sílice, indica que la esponja invierte su energía alternativamente en ambos procesos.

4.- La abundancia y biomasa de la fauna asociada a la esponja aumenta en verano como respuesta a la temperatura del agua.

5.- La variación anual de la bioactividad de la esponja *M. parishii* parece seguir un patrón estacional, con valores altos en la primavera-verano, y bajos en otoño-invierno.

6. La bioactividad (medida mediante el bioensayo de inhibición del desarrollo embrionario del erizo), parece inducirse por la presencia de la fauna asociada a la esponja.

7. La relación positiva entre la actividad antimicrobiana de la esponja y la reproducción, sugiere la presencia de sustancias antibióticas en los huevos de la esponja, o bien, la producción de sustancias activas en la propia esponja para defenderse en un momento tan importante de su ciclo de vida como es la producción de embriones y huevos, o bien la respuesta al posible incremento de microorganismos en esta época.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Agell G, Uriz MJ, Cebrian E, Martí R. 2001. Does stress protein induction by copper modify natural toxicity in sponges? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(11): 2588-2593.
- Aiello A, Fattarusso E, Menna M, Pansini M. 1993. The chemistry of three species of Demospongiae collected from the lagoon on Venice: a comparison with some ecological implications. *Biochemical Systematic and Ecology*, 21(6/7): 655-660.
- Amade PH, Charroin C, Baby C, Vacelet J. 1987. Antimicrobial activities of marine sponges from the Mediterranean sea. *Marine Biology*, 94: 271-275.
- Ávila ET. 2002. Dinámica poblacional de la asociación *Sigmadocia coerulea* (Hechtel, 1965) (Demospongiae, Haplosclerida) y algas rojas en la bahía de Mazatlán (México, Pacífico Oriental). Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México, 67 pp.
- Ayling AL. 1980. Patterns of sexuality, asexual reproduction and recruitment in some sub tidal marine Demospongiae. *Biological Bulletin*, 158: 271-282.
- Bacescu M. 1971. Les spongiaires; un des plus intéressants biotopes benthique marins. *Rapports de la Commission Internationale de la Mer Méditerranée*, 20: 239-241.
- Barnes RD. 1984. *Zoología de los invertebrados*. Ed. Interamericana, 1156 pp.
- Bakus GJ. 1968. Defensive mechanisms and ecology of some tropical holothurians. *Marine Biology*, 2: 23-32.
- Bakus G, Schulte B, Jhu S, Wright M, Green G, Gomez P. 1985. Antibiosis and antifouling in marine sponges: laboratory versus field studies. 3d. International Sponge Conference, 102-108.
- Barthel D. 1995. Tissue composition of sponges from the Weddell Sea, Antarctica: not too meat on the bone. *Marine Ecology Progress Series*, 123: 149-153.
- Bavellestro G, Bonito M, Sará. 1993. Silica content and spicular size variation during an annual cycle in *Chondrilla nucula* Schmidt (Porifera, Demospongiae) in the Ligurian Sea. *Scientia Marina*, 57(4): 421-425.
- Becerro MA. 1994. Chemically mediated of encrusting sponge *Cambre cambre* and its ecological implications. PhD thesis. University of Barcelona.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Becerro MA, López NI, Turon X, Uriz MJ. 1994. Antimicrobial activity and surface bacterial film in marine sponges. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 179: 195-205.
- Becerro MA, Turon X, Uriz MJ. 1995. Natural variation of toxicity in encrusting sponge *Cambre cambre* (Schmidt) in relation to size and environment. *Journal of Chemical Ecology*. 21(12): 1931-1946.
- Becerro MA, Turon X, Uriz MJ. 1997. Multiple functions for secondary metabolites in encrusting marine invertebrates. *Journal of Chemical Ecology*, 23(6): 1527-1547.
- Bergquist PR, Sinclair ME, 1973. Seasonal variation in settlement and spiculation of sponge larvae. *Marine Biology*, 20: 35-44.
- Bergquist PR, Bedford JJ. 1978. The incidence of antibacterial activity in marine Demospongiae; systematic and geographic consideration. *Marine Biology*, 46: 215-221.
- Betancourt M, González F, González B, García A, Bastida JR. 1998. Variation of antimicrobial activity of the sponge *Aplysina fistularis* (Pallas, 1766) and its relation to associated fauna. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 223: 1-18.
- Boffi E. 1972. Ecological aspects of ophiuroids from the phytal of SW Atlantic Ocean warm waters. *Marine Ecology*, 15: 316-328.
- Brusca RC, Brusca GJ. 1990. *Invertebrates*. Sinauer Associates, Incorporation Publishers. Sunderland, Massachusetts, 922 pp.
- Caprioli V, Cimino G, De Giulio A, Madaio A, Scognamiglio G, Trivellone E. 1992. Selected biological activities of sponges. *Composition Biochemical and Physiological*, 103B(1): 293-296.
- Carballo JL, Hajdu E. 1998. Micromorphology in *Mycale* taxonomy (Mycalidae, Poecilosclerida, Demospongiae), with the description of two new micracanthoxea-bearing species. *Contribution of Zoology* 67(3): 187-195.
- Cárdenas AN, Soria IE, Waumann D, Fernández JA. 1999. Descripción de la actividad de organismos bentónicos (esponjas y tunicados marinos) del Golfo de California contra *Artemia salina*. VII Congreso de la asociación de investigadores del Mar de Cortés y I Simposium internacional sobre el Mar de Cortés. Academia de Ciencias del Mar del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, 228 pp.

- Caso ME. 1992. Los equinodermos asteroideos, ofiuroideos y equinoideos de la bahía de Mazatlán, Sinaloa. Publicaciones especiales, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, 11: 1-214.
- Chanas B, Pawlik JR. 1995. Defenses of Caribbean sponges against predatory reef fish, II. Spicules, tissue toughness and nutritional quality. Marine Ecology Progress Series, 127: 195-211.
- Chanas B, Pawlik JR, Lindel T, Fenical W. 1996. Chemical defense of the Caribbean sponge *Agelas clatrodus* (Schmidt). Journal of Experimental Biology and Ecology, 208: 185-196
- Coll JC. 1992. The chemistry and chemical ecology of octocorals (Coelenterata, Anthozoa, Octocorallia). Chemical Review, 92: 613-631.
- Comisión Nacional del Agua. 1998. Servicio Meteorológico Nacional. 1998. Datos estadísticos climáticos del observatorio de Mazatlán, Sinaloa, México.
- Cruz JA. 2001. Esponjas del litoral de Mazatlán, Sinaloa. Taxonomía, sistemática y distribución. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa, 118 pp.
- Dauer DM. 1974. Polychaete fauna associated with Gulf of Mexico sponges. Florida Scientist, 36(2-4). 193-197.
- Davis AR, Targett NM, McConnell OJ, Young CM. 1989. Epibiosis of marine algae and benthic invertebrates: natural products chemistry and other mechanisms inhibiting settlement and overgrow. Bioorganic Marine Chemistry, 3: 85-114.
- Duarte LFL, Morgado EH. 1983. Crustáceos parasitos de invertebrados asociados a esponja *Zygomycale parisii* (Bowerbank) e ao briozoário *Schizoporella unicornis* (Johnston 1847). Iheringia, Série Zoologia, 62: 3-11.
- Duarte LFL, Nalesso RC. 1996. The sponge *Zygomycale parishii* (Bowerbank) and its endobiotic fauna. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 42: 139-151.
- Fauchald K. 1977. The polychaete worms. Definition and keys to the orders, families and genera. National History Museum of Los Angeles County. Science Series, 28, 188 pp.
- Faulkner DJ. 1992. Marine natural products. Natural Products Report, 9: 323-364.
- Faulkner DJ. 1994. Marine natural products. Natural Products Report, 11: 355-394.

- Fautin DJ. 1988. Biomedical importance of marine organisms. *Memoir of California Academic Science*, 13: 1-236.
- Fernández JA, Soria IE. 1999. Implicaciones de la variación en la actividad biológica de organismos bentónicos y ecología química. VII Congreso de la asociación de investigadores del Mar de Cortés y I Simposium internacional sobre el Mar de Cortés. Academia de Ciencias del Mar del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, 228 pp.
- Friedrich AB, Fischer I, Proksc P, Hacker J, Hentschel U. 2001. Temporal variation of the microbial community associated with the Mediterranean sponge *Aplysina aerophoba*. *FEMS, Microbiology Ecology*, 38: 105-113.
- Frith DW. 1976. Animals associated with sponges at North Hayling Hampshire. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 58: 353-362.
- Frohilic H, Barthel D. 1997. Silica uptake of the marine sponge *Haliclona panicea* in Kiel Bight. *Marine Biology*, 128: 115-125.
- García E. 1973. Modificación al sistema de clasificación de Köpen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México, 246 pp.
- Green G. 1977. Ecology of toxicity in marine sponges. *Marine Biology*, 40: 207-215.
- Green G, Gómez P, Bakus GJ. 1990. Antimicrobial and ichthyotoxic properties of marine sponges from Mexican waters. In: Rutzler K (ed). *New perspectives in sponge biology. 3d. International Sponge Conference*. Smithsonian Institution, Press, Washington, DC. 109-114.
- Hall S, Strichartz G. 1990. Marine toxins, origin, structure and molecular pharmacology. American Chemical Society, Washington, D C.
- Hendler G. 1984. The association of *Ophiotrix lineata* and *Callyspongia vaginalis*: A brittlestar-sponge cleaning symbiosis? *Marine Ecology*, 5(1): 9-27.
- Hendrickx ME. 1995. Cangrejos. En: *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-Oriental. Vol. 1. Plantas e invertebrados* (Fischer W, Krup F, Scheneider W, Sommer C, Carpenter KE, Niem VH. Eds., 646 pp). 565-636.
- Hendrickx ME. 1995. Camarones. En: *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-Oriental. Vol. 1. Plantas e invertebrados*.

- (Fischer W, Krup F, Scheneider W, Sommer C, Carpenter KE, Niem VH. Eds., 646 pp). 417-537.
- Hickman CP, Roberts LS, Hickman FM. 1990. Zoología. Principios integrales. Ed. Interamericana, 1119 pp.
- Keen MA. 1971. Seashells of tropical west America (Marine mollusks from Baja California to Peru). Houghton Mifflin Company (Ed). Boston, USA., 1067 pp.
- Kelly LD, Soria IE, Fernández JA. 1999. Detección y variación interanual de la bioactividad en invertebrados bentónicos de Bahía Concepción, B.C.S., México. VII Congreso de la asociación de investigadores del Mar de Cortés y I Simposium internacional sobre el Mar de Cortés. Academia de Ciencias del Mar del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, 228 pp.
- Klittgard Anne B. 1995. The fauna associated with outer shelf and upper slope sponges (Porifera, Demospongiae) at the Faroe Islands, Northeastern Atlantic.- *Sarsia*, 07 26, 80: 1-22
- Kobayashi N. 1969. Spawning periodicity of sea urchins at Seto III. *Science. Engineering. Review. Doshisha University*. 9: 42-57.
- Kobayashi, N. 1971. Fertilized sea urchin eggs as an indicatory material for marine pollution bioassay, preliminary experiments. *Publication Seto Marine Biology Laboratory*, 18(6): 179-406.
- Krebs CJ. 1989. *Ecological Methodology*. Harper Collins Publishers, 654 pp.
- Lindeman RH, Merenda PF, Gold R. 1980. *Introduction to bivariate and multivariate analysis*. New York: Scott, Foresman and Company.
- Margalef R. 1989. Reflexiones sobre la diversidad y significado de su expresión cuantitativa. *Simposio sobre la Diversidad Biológica*. Universidad de Barcelona, España, 16 pp.
- Martín D, Uriz MJ. 1993. Chemical bioactivity of Mediterranean benthic organisms against embryos and larvae of marine invertebrates. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 173: 11-27.
- McClintock JB. 1987. Investigation of the relationship between invertebrate predation and biochemical composition, energy content, spicule armament and toxicity of benthic sponges at McMurdo Sound, Antarctica. *Marine Biology*, 94: 479-487.

- Mercurio M, Corriero G, Scalera-Liaci L, Gaino E. 2000. Silica content and spicule size variations in *Pellina semitubulosa* (Porifera: Demospongiae). *Marine Biology*, 137: 87-92.
- Michel Reynoso IL. 1986. Variación estacional de la actividad antibiótica, del contenido de materia orgánica y minerales de cuatro esponjas de la bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. Universidad Autónoma de Guadalajara, 86 pp.
- Montiel A, Soria IE, Fernández JA. 1999. Variación de la actividad biológica de la esponja marina *Chondrilla nucula* en el tiempo y a nivel microgeográfico. VII Congreso de la asociación de investigadores del Mar de Cortés y I Simposium internacional sobre el Mar de Cortés. Academia de Ciencias del Mar del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, 228 pp.
- Norris JN, Fenical W. 1982. Chemical defense in tropical marine algae. *Smithsonian Contribution. Marine Science*, 12: 417-431.
- Pansini M. 1970. Inquilinismo in *Spongia officinalis*, *Ircinia fasciculata* e *Petrosia ficiformis* de la Rivera Ligure di Levante. *Bolletino dei Musei e degli Istituti Biologici dell' Università di Genova*, 38(258): 5-17.
- Paul VJ. 1992. Chemical defenses of benthic marine invertebrates. In: Paul VJ (ed) *Ecological roles of marine natural products*. Comstock Publishing, Ithaca, NY, 164-188.
- Pawlik JR. 1993. Marine invertebrate chemical defenses. *Chemical Review*, 93: 1911-1922.
- Pawlik JR, Chanas B, Toonen RJ Fenical W. 1995. Defenses of Caribbean sponges against predatory reef fish. I. Chemical deterrence. *Marine Ecology Progress Series*, 119: 15-29.
- Pearse AS. 1950. Notes on the inhabitants of certain sponges at Bimini. *Ecology*, 31: 149-151.
- Pennings SC, Pablo SR, Paul VJ, Duffy JE. 1994. Effects of sponge secondary metabolites in deferent diets on feeding by three groups of consumers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 180: 137-149.

- Pérez PA. 2001. Evaluación y estandarización de diferentes bioensayos para detectar citotoxicidad en productos naturales marinos. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana, 120 pp.
- Pesando D, Lemée R, Ferrua C, Amade P, Girard JP. 1996. Effects of caulerpenyne, the major toxin from *Caulerpa taxifolia* on mechanisms related to sea urchin egg cleavage. *Aquatic Toxicology*, 35: 139-155.
- Proksch P. 1994. Defensive roles for secondary metabolites from marine sponges and sponge-feeding nudibranchs. *Toxicon*, 32(6): 639-655.
- Rao CR. 1952. *Advance statistical methods in biometric research*. New York: Wiley.
- Ribo JM, Kaiser KLE. (1987) *Photobacterium phosphoreum* toxicity bioassay. I. Test methods and procedures. *Toxicity Assessment*, 2: 305-323.
- Rhinehart KL. 1988. Successes and failures of previous efforts to develop new drug leads from the sea. In: Jefford CW, Rhinehart KL, Shield LS. (Eds), *Proceedings, Pharmaceuticals and the Sea*. Technomic Publishing AG, Lancaster, PA, 3-15.
- Rueda A, Zubía E, Ortega MJ, Carballo JL, Slavá J. 1997. New cytotoxic metabolites from the sponge *Cacospongia scalaris*. *The Journal of Organic Chemistry*, 62(5): 1481-1485.
- Rutzler K. 1985. Association between Caribbean sponges and photosynthetic organisms. Department of Invertebrate Zoology. National Museum of Natural History. Smithsonian Institution. Washington, DC., 455-466
- Rutzler K. 1988. Mangrove sponge disease induced by cyanobacteria; Symbionts: Failure of a primitive immune system? *Diseases of aquatic organism*, 5: 143-149.
- Santucci R. 1922. La *Geodia cydonium* como centro de asociación biológica. R. Comitato Talassografico Italiano, 103: 5-19.
- Scheuer PJ. 1990. Some marine ecological phenomena: chemical basis and biological potential. *Science*, 248: 173-177.
- Schonberg CHL, Barthel D. 1997. Inorganic skeleton of the demosponge *Haliclona panicea*. Seasonality in spicule production in the Baltic Sea, 130: 133-140.
- Secretaría de Marina, Dirección Federal y Señalamiento marítimo. 1974. Estudio geográfico de la región de Mazatlán, México, 80-167.
- Sennett SH, Pomponi SA, Wright AE. 1992. *Journal Natural Products*, 55: 1421-1429.

- Soria IE, Kelly LD, Villareal G, Montiel A. 1999. Ecología química de organismos bentónicos de Santispac, BCS., México. VII Congreso de la asociación de investigadores del Mar de Cortés y I Simposium internacional sobre el Mar de Cortés. Academia de Ciencias del Mar del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, 228 pp.
- Swearingen DC, Pawlik R. 1998. Variability in the chemical defense of the sponge *Chondrilla nucula* against predatory reef fishes. *Marine Biology*, 131: 619-627.
- Tatsuoka MM. 1971. *Multivariate analysis*. New York: Wiley.
- Thompson JE, Barrow KD, Faulkner DJ. 1983. Localization of two brominated metabolites, aerolithionin and hoamoerthiotin, in spherulous cells of marine sponge *Aplysina fistularis* (= *Verongia thiona*). *Acta Zoologica (Stockh)*, 64(4): 199-210.
- Thompson J E, Murphy PT, Bergquist PR, Evans EA. 1987. Environmentally induced variation in diterpene composition of the marine sponge *Rhopaloeides odorabile*. *Biochemical Systematic and Ecology* 15 : 595-606.
- Turon X, Becerro MA, Uriz MJ. 1996. Seasonal patterns of toxicity in benthic invertebrates: the encrusting sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida). *OIKOS* 75: 33-40.
- Turon X, Codina M, Tarjuelo I, Uriz MJ, Becerro MA. 2000. Mass recruitment of *Ophiotrix fragilis* (Ophiuroidea) on sponges: Settlement patterns and post-settlement dynamics, 200: 201-121.
- Underwood AJ. 1997. *Experimental in Ecology. Their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, 504 pp.
- Unson MD, Holland ND, Faulkner DJ. 1994. A brominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of a marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue. *Marine Biology* 119: 1-11.
- Uriz MJ, Martin D, Turon X, Ballesteros E, Hughes R, Acebal C. 1991. An approach to the ecological significance of chemically mediated bioactivity in Mediterranean benthic communities. *Marine Ecology Progress Series*, 70: 175-188.
- Uriz MJ, Turon X, Becerro MA, Galera J, Lozano J. 1995. Patterns of resource allocation to somatic, defensive, and reproductive functions in the Mediterranean encrusting

- sponge *Cambre cambre* (Demospongiae, Poecilosclerida). Marine Ecology Progress Series, 124: 159-170.
- Uriz MJ, Turon X, Becerro MA, Galera J. 1996. Feeding deterrence in sponges. The role of toxicity, physical defenses, energetic contents and life-history stage. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 205: 187-204.
- Vernberg WB (Ed). 1974. Symbiosis in the sea. University of South Carolina Press, Columbia, 276 pp.
- Voultsiadou-Koukoura HE, Koukouras A, Eleftheriou A. 1987. Macrofauna associated with the sponge *Verongia aerophoba* in the north Aegean Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 24: 265-278.
- Waddell B, Pawlik JR. 2000a. Defenses of Caribbean sponges against invertebrate predators. I. Assays with hermit crabs. Marine Ecology Progress Series, 195: 125-132.
- Waddell B, Pawlik JR. 2000b. Defenses of Caribbean sponges against invertebrate predators. II. Assays with sea stars. Marine Ecology Progress Series, 195: 133-144.
- Westinga E, Hoetjes PC. 1981. The intrasponge fauna of *Spherospongia vesparia* (Porifera, Demospongiae) at Curaçao and Bonaire. Marine Biology, 62: 139-150.
- Willemsen PR, Ferrari GM. 1993. The search for alternative antifouling methods: how to learn from nature? OEBALIA, 19: 485-494.
- Wilson M. 2002. Estacionalidad y dinámica poblacional de esponjas asociadas a ecosistemas rocosos litorales de la bahía de Mazatlán. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México, 99 pp.
- Wright JT, Benkendorff K, Davis AR. 1997. Habitat associated differences in temperature sponge assemblages: the importance of chemical defense. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 213: 199-213.
- Wulff JL. 1994. Sponge feeding by Caribbean angelfishes, trunk fishes and filefishes. In: VanSoest RWM, Vankampen TMG, Breakman JC (Eds) Sponges in time and space. Balkema, Rotterdam, 265-271.
- Wulff JL. 1995. Sponge-feeding by Caribbean starfish *Oreaster reticulatus*. Marine Biology, 123: 313-325.
- Wulff JL. 1997. Parrotfish predation on cryptic sponges of Caribbean coral reefs. Marine Biology, 129: 41-52.

- Wurzian RS. 1977. Predator-prey interaction between the crab *Pilumnus hirtellus* (Leach) and the brittle star *Ophiotrix quinque maculata* (D. Chiaje) on a mutual sponge substrate. Proc. 11th Europe. Marine Biology Symposium Oxford, 613-620.
- Young PS, Ross A. 2000. Cirripedia. En: Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento, Vol. II (Llorente J, González-Soriano E, Pavero N, eds). Universidad Nacional Autónoma de México, 676 pp.
- Zubía E, Ortega MJ, Carballo JL, Salvá J. 1997. New cytotoxic metabolites from the sponge *Mycale micracanthoxea*. Tetrahedron 53: 331-340.