



Microrganismos Associados a Poríferos

Potencial Biotecnológico da Microbiota Associada às Esponjas Marinhas

Fotos e ilustrações cedidas pelos autores

Aline da Silva Turque

Bacharel em Ciências Biológicas
Universidade do Grande Rio
Mestranda em Química Biológica
pelo Instituto de Bioquímica Médica-
UFRJ
turque@bioqmed.ufrj.br

Cynthia Barbosa da Silveira

Graduanda em Biologia Marinha
pela Universidade Federal
Fluminense-UFF
cynthiabs@bioqmed.ufrj.br

Ricardo Pilz Vieira

Doutor em Biofísica
Professor Visitante do Instituto de
Bioquímica Médica-UFRJ
rpvieira7@hotmail.com

Guilherme Muricy

Doutor em Bioquímica
Professor Adjunto do Departamento
de Invertebrados - Museu Nacional-
UFRJ
muricy@acd.ufrj.br

Alexander Machado Cardoso

Doutor em Química Biológica
Professor Adjunto do Centro
Universitário Estadual da Zona Oeste
amcardoso@bioqmed.ufrj.br

Maysa Mandeta Clementino

Doutora em Química Biológica
Pesquisadora do Instituto Nacional
de Controle da Qualidade em Saúde-
INCQS
maysa@incqs.fiocruz.br

Orlando Bonifácio Martins

Doutor em Biofísica
Professor Adjunto do Instituto de
Bioquímica Médica-UFRJ
omartins@bioqmed.ufrj.br

1. Introdução

Os Poríferos, também conhecidos como esponjas, são invertebrados que filtram grandes quantidades de água e adquirem seus nutrientes por fagocitose dos micróbios capturados durante a filtração (Fig.1). Habitam os oceanos tropicais, temperados e polares, com algumas espécies encontradas em água doce (Taylor *et al.*, 2007). As esponjas formam uma das mais antigas radiações dos metazoários, cuja origem data do Período Pré-Cambriano há cerca de 500 milhões de anos (Hentschel, 2004). São organismos sésseis (fixos no substrato) que apresentam uma alta biodiversidade, com uma estimativa de aproximadamente 15.000 espécies representadas em três classes: Demospongiae, Calcareia e Hexactinellida (Fig.2), sendo a maioria pertencente ao primeiro grupo (Hooper e Van Soest, 2002). As esponjas são geralmente sustentadas por um esqueleto constituído por espí-

culas silicosas ou calcárias, que podem ser complementadas ou substituídas por calcário maciço (esponjas coralinas) ou por fibras de espongina, uma proteína do tipo do colágeno (esponjas córneas).

De uma forma simples elas podem ser definidas como: “Animais filtradores e sésseis, que se utilizam de uma única camada de células flageladas (coanócitos) para bombear água através de seu corpo” (Bergquist, 1980) (Fig.3). Apesar de serem animais capazes de alcançar grande porte, com mais de 1 metro de altura, ou recobrir largas áreas de substrato, alguns dos seus processos orgânicos são mais semelhantes aos encontrados nos Protozoa (animais unicelulares) do que nos Metazoa (animais multicelulares). Apresentam uma morfologia simples e um baixo grau de organização, sem a formação de tecidos verdadeiros, e uma enorme diversidade de formas e cores.

As esponjas possuem capacidade de

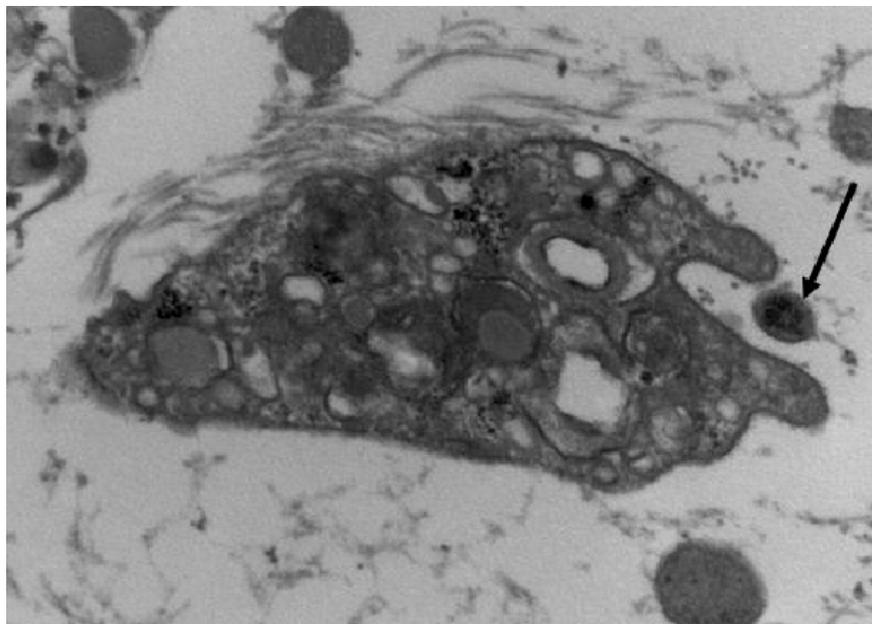


Figura 1. Microscopia eletrônica de transmissão mostrando uma célula de esponja. Arqueócito de *Hymeniacidon heliophila* fagocitando um procarionto (←) no mesohilo da esponja

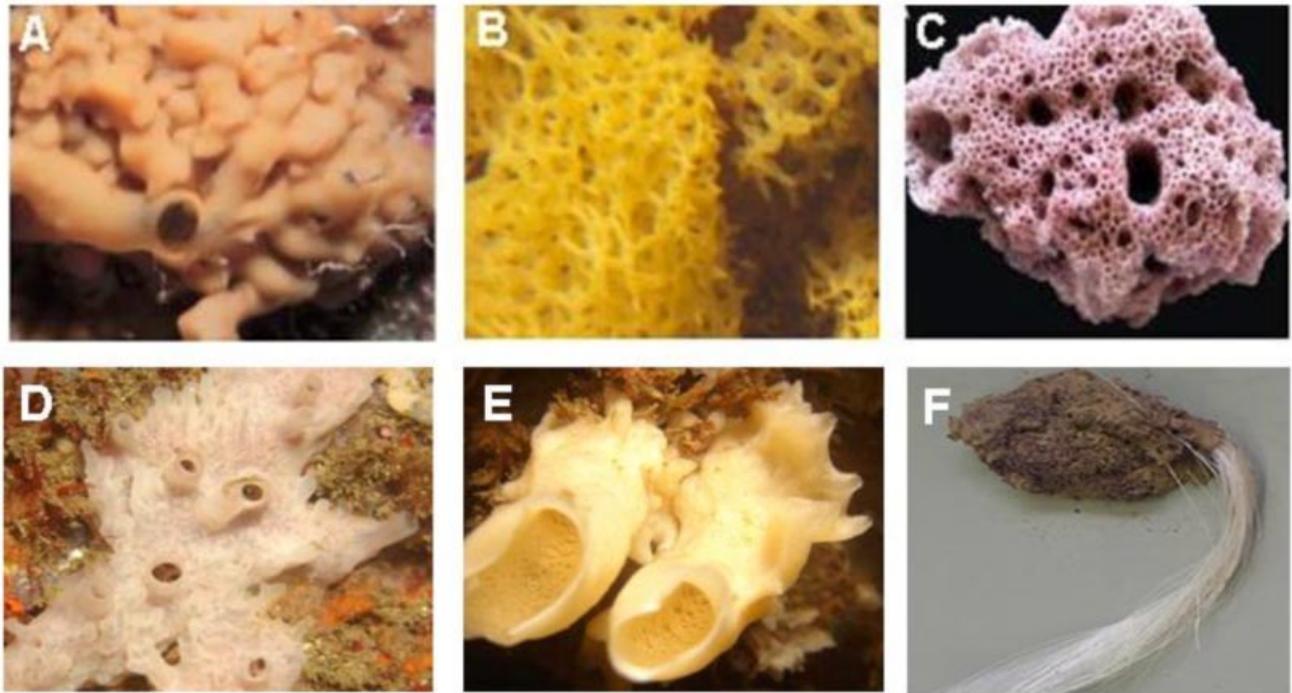


Figura 2. O filo Porifera é dividido em três classes: Demospongiae (A) *Oscarella* sp. (D) *Haliclona* sp.; Calcarea (B) *Clatrina aurea* (E) *Paraleucilla magna* e Hexactinellida (C) Esqueleto de *Dactylocaulis pumiceus*, (F) *Hyalonema* sp.

hospedar grandes comunidades de organismos, como archaeas, bactérias, fungos e algas, que podem compor até 50% do seu volume tecidual (Osinga, 2003). Alguns microrganismos são passados do óvulo ao embrião e deste ao indivíduo adulto através da transmissão vertical, como aqueles encontrados em associação com embriões do primeiro ao último estágio de desenvolvimento na esponja *Corticium candelabrum* (Koty *et al.*, 2007). Microrganismos no interior das esponjas foram inicialmente descritos em estudos de microscopia eletrônica por Lévi e Lévi (1965) e Vacelet e Donadey (1977). Esses estudos mostram que células procarióticas encontram-se em íntima interação com a matriz do mesohilo desses invertebrados (Fig.4) (Turque *et al.*, 2008). Atualmente vários artigos descrevem o isolamento e a caracterização de micróbios associados com as esponjas (Webster e Hill, 2001). Com a disponibilidade de ferramentas moleculares, trabalhos mais recentes vêm utilizando técnicas como construção de bibliotecas do gene ribossomal 16S rRNA, hibridização *in situ* de sondas com fluorescência (FISH) e eletroforese em gel com gradiente desnaturante (DGGE). Estas técnicas são frequentemente utilizadas no estudo das comunidades microbianas. A aplicação desses métodos tem revelado comunidades com alguns grupos comuns entre esponjas filogeneticamente diferentes (Hentschel *et al.*, 2006). Um novo filo de bactérias tem sido proposto através da utilização de

algumas dessas técnicas, como a amplificação do gene 16S rRNA e a microscopia eletrônica. O candidato a filo Poribacteria, encontrado em associação com diferentes espécies de esponjas e de diferentes regiões geográficas, demonstrou ser bastante específico e exclusivo das esponjas marinhas, não sendo encontrado em outros organismos, água ou sedimento (Lars *et al.*, 2004). O estudo dos grupos bacterianos associados com *Hymeniacidon belliophila* e *Polymastia janeirensis* demonstraram a presença de um novo grupo aqui denominado candidato a filo Spongebacter (Fig. 5), distinto do Poribacter descrito recentemente.

Com exceção da archaea *Cenarchaeum symbiosum* que, em estudos recentes utilizando técnicas de genômica, foi demonstrada mantendo uma associação simbiótica bem estabelecida com a esponja *Axinella mexicana* (Hallam *et al.*, 2006), a simbiose e o papel fisiológico dos microrganismos associados às esponjas ainda não têm sido conclusivamente demonstrados. A natureza dessas relações, se mutualísticas ou comensais, precisa ser melhor esclarecida. Por essa razão a simbiose nos poríferos é definida como uma associação consistente entre o micróbio e sua esponja hospedeira, independente da atribuição do benefício (Enticknap *et al.*, 2006). Especula-se que funções como aquisição de nutrientes, regulação metabólica, mecanismos de defesa e fixação de nitrogênio podem ser atribuídas às interações entre esponjas e microrganismos

(Hentschel *et al.*, 2003).

Um grande número de compostos de interesse biotecnológico, como por exemplo, citotoxinas, agentes antifúngicos, antibióticos, antivirais, e principalmente anticancerígenos tem sido isolados de esponjas marinhas e microrganismos associados (Sipkema *et al.*, 2005), e mais de 200 novos metabólitos são descritos a cada ano (Blunt *et al.*, 2006). Essa breve revisão tem como objetivo principal divulgar essa nova área do conhecimento e ressaltar a enorme carência de pesquisas científicas voltadas para biotecnologia da microbiota de esponjas marinhas.

2. Produção de Metabólitos Secundários

2.1 Bactérias

As esponjas permitem a formação de um microambiente dentro de seus tecidos, abrigando uma ampla diversidade bacteriana produtora de metabólitos secundários não caracterizados, representando um potencial científico ainda não explorado na busca por novos compostos de interesse biotecnológico. Recentemente demonstrou-se que alguns metabólitos descritos como originários de invertebrados marinhos são, na verdade, sintetizados por bactérias (Mohapatra *et al.*, 2002). Foi observado que bactérias em associação com poríferos produzem compostos similares aos isolados anteriormente da esponja, como por exemplo, salicililhamida A isola-

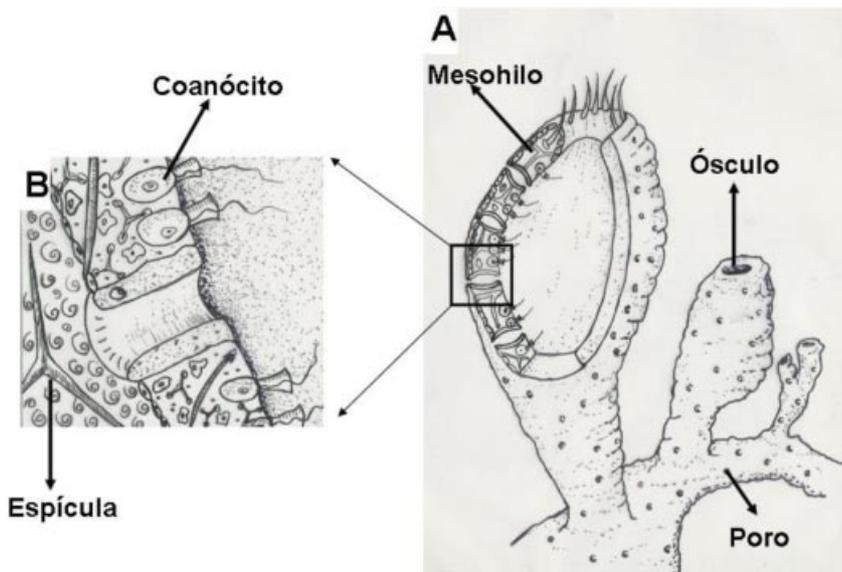


Figura 3. Reprodução esquemática de uma esponja. (A) Mesohilo, camada intermediária e gelatinosa entre as paredes interna e externa da esponja, Poro, orifício de entrada de água e ósculo principal canal de saída de água. (B) Detalhe ampliado de um poro inalante. Coanócito, célula flagelada que com o batimento do seu flagelo cria uma corrente de água trazendo nutrientes e gases e espículas que formam o esqueleto da esponja

do de *Haliclona* sp., idêntico ao aspicularen A, produzido por bactérias associadas (Crews e Bescansa, 1986). O composto 2-metilto, 1,4-naphtoquinona foi isolado de bactérias associadas à esponja *Dysidea avara* e demonstrou forte propriedade antiangiogênica e antimicrobiana (Bringmann *et al.*, 2003). Antibióticos incluindo lipopeptídeos, originários do gênero *Bacillus*, demonstraram forte atividade contra microrganismos com resistência clínica, como por exemplo, *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* (Muscholl *et al.*, 2008). Um glicoglicerolípido sintetizado pela bactéria *Microbacterium* sp. encontrada em associação com a esponja *Haliclondria panicea* exibiu propriedades antitumorais muito interessantes (Wicke *et al.*, 2000). Metabólitos com atividade citotóxica e antimicrobianos produzidos por *Pseudomonas* sp. também foram isolados da esponja *Homonophymia* sp. (Bultel-Ponce *et al.*, 1999). Atividade antimicrobiana foi vista também em 27 isolados de bactérias associadas com as esponjas *Aplysina aerophoba* e *Aplysina cavernicola* (Thoms *et al.*, 2004). Christian e colaboradores (2005) mostraram que um composto natural halogenado é sintetizado por uma cianobactéria associada com quatro espécies de esponjas da ordem Dictyoceratida. A cianobactéria *Oscillatoria spongeliae*, que compõe grande parte do volume tecidual da esponja *Dysidea herbacea*, é produtora do antimicrobiano éter bifênol polibrominato conferin-

do proteção contra outros microrganismos invasores (Unson *et al.*, 1993). Bactérias Gram positivas como *Actinomyces* são também conhecidas por produzirem metabólitos secundários com atividade antibiótica em esponjas (Chelossi *et al.*, 2006). Aproximadamente a metade das bactérias encontradas em associação com as esponjas marinhas *Hymeniacidon heliophila* e *Polymastia janeirensis* pertence à classe Proteobactéria (Turque *et al.*, 2008). Na esponja *Theonella swinboei* as Proteobactérias são responsáveis pela produção do composto theopalauamida (Webster *et al.*, 2001).

2.2 Fungos

A maioria dos compostos bioativos derivados de fungos marinhos descritos até hoje provém daqueles associados com esponjas. Os fungos do gênero *Penicillium* são os maiores produtores dos metabólitos secundários estudados. Há um crescente interesse na determinação da verdadeira diversidade de fungos presentes nas esponjas marinhas e de possíveis substâncias biologicamente ativas. Ao contrário da pesquisa de metabólitos secundários com fungos terrestres, esses estudos em ambientes marinhos são relativamente novos. As esponjas exibem inúmeras associações com fungos, mas o entendimento da produção de compostos com atividade biológica em esponjas tem sido mais focado em bactérias, com menos ênfase nos eucariotos (Taylor *et al.*, 2004).

Compostos biologicamente ativos foram isolados das esponjas em diferentes ambientes, incluindo tropicais, subtropicais e temperados, com o interesse por novos produtos naturais (Holler *et al.*, 1999). O composto qualificado para utilização em terapia humana sorbicillactona A, um tipo de alcalóide, foi isolado da esponja *Ircinia fasciculata*, mas é na verdade sintetizado pelo fungo associado *Penicillium chrysogenum*. Communisina B e derivados foram isolados do fungo *Penicillium* sp. associado à esponja *Axinella verrucosa* (Jadulco *et al.*, 2003).

2.3 Archaeas

Archaeas são microrganismos distintos de bactérias e eucariotos (Woese e Fox, 1977), sendo divididas em dois principais filos: Crenarchaeota e Euryarchaeota (Woese *et al.*, 1990). Alguns grupos de archaeas são conhecidos por possuírem adaptações à vida em ambientes extremos e apresentarem características hipertermofílicas (crescem em temperaturas mais altas que 70°C até o limite máximo de 121°C), metanogênicas (anaeróbicas que sintetizam metano) e halofílicas (que crescem em altas concentrações de sal) (Schiraldi *et al.*, 2002). As propriedades incomuns das archaeas as tornam alvo para o desenvolvimento de processos biotecnológicos e aplicações industriais (Alquerque *et al.*, 2007). Nenhuma archaea foi descrita como patogênica apesar de estarem presentes em humanos, animais e plantas (Cardoso *et al.*, 2003). Muitos microrganismos do domínio Archaea têm sido isolados para fins industriais, como por exemplo, a utilização de esterases e lipases, enzimas que possuem grande termoestabilidade e aplicação na biossíntese orgânica (Alquerque *et al.*, 2007).

Em trabalhos mais recentes, archaeas foram encontradas em associação com esponjas. A archaea *Cenarchaeum symbiosum* foi descrita como um organismo simbiote da esponja *Axinella mexicana*, possuindo alta especificidade (Preston *et al.*, 1996). Esta archaea apresenta um metabolismo quimiolitototrófico, que é complementar ao da esponja, usando como única fonte de carbono o CO₂ e consumindo amônia para seu suprimento de energia (Hallam *et al.*, 2006). Neste caso, a archaea atua detoxificando os produtos de excreção da esponja o que torna claras as relações simbióticas. Archaeas metanogênicas foram descritas em *Rhopaloeides odorabile* através de observação do gene 16S rRNA, parecendo formar um micronicho anaeróbico dentro da esponja. Membros das archaeas Crenarchaeota e Euryarchaeota estão presentes no coanosoma e no mesohilo de *Tentorium semisuberites* (Thomas *et al.*, 2006). Apesar de inúmeros artigos demonstrarem

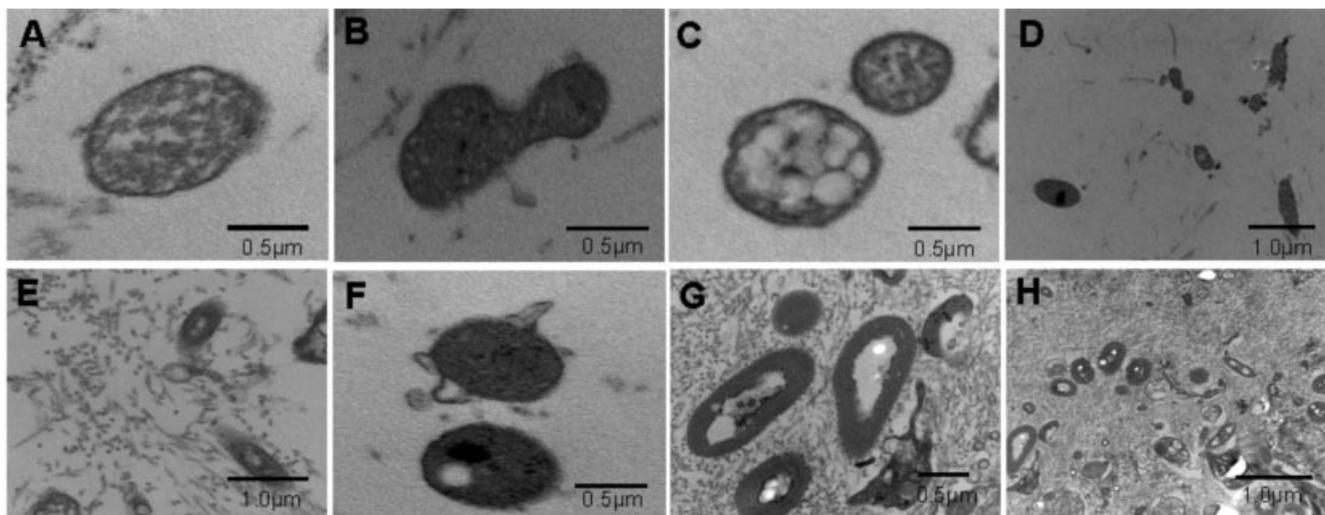


Figura 4. Microscopia eletrônica de transmissão mostrando microrganismos associados a esponjas marinhas. *Hymeniacidon heliophila* (A,B,C e D), *Polymastia janeirensis* (E,F,G e H)

a ocorrência de archaeas nas esponjas, seu potencial biotecnológico não tem sido explorado. Nenhum estudo revelou até hoje compostos com aplicação biotecnológica produzidos por archaeas associadas a esponjas marinhas. Isso sugere a necessidade de maiores esforços na pesquisa para futuras aplicações industriais e farmacológicas.

3. Cultivo

A produção de drogas a partir de microrganismos associados às esponjas marinhas tem sido limitada pela dificuldade de cultivo desses organismos com meios definidos em laboratório. Para o desenvolvimento de uma droga comercial é necessária a produção desta em grande quantidade para estudos clínicos. Técnicas dependentes de cultivo têm sido empregadas com pouco sucesso (Webster *et al.*, 2001), uma vez que apenas uma quantidade proporcionalmente menor da comunidade total de bactérias associadas às esponjas é cultivada com sucesso. Somente 0,15% da população de bactérias da esponja do Caribe *Ceratoporella nicholsoni* foi cultivada (Santavy *et al.*, 2001), enquanto proporções maiores de cultivo, chegando a 11% da comunidade bacteriana, foram possíveis em *Aplysina aerophoba*, esponja do Mediterrâneo (Friedrich *et al.*, 2001).

Muitas espécies de esponjas têm sido cultivadas com a utilização de técnicas de maricultura, que permite o cultivo desses organismos no mar, sendo de grande interesse para utilização sustentável das esponjas. Para a aplicação dessa técnica, fatores como profundidade, corrente e luminosidade são importantes para o crescimento das esponjas

e dos microrganismos associados (Sipkema *et al.*, 2005). A maricultura tem sido empregada com muito sucesso em algumas espécies de esponjas marinhas, proporcionando aumento de biomassa desses organismos e a obtenção de compostos químicos em quantidades comerciais.

4. Metagenômica

O interesse em microrganismos associados às esponjas como produtores de compostos biologicamente ativos vem crescendo, mas a vasta maioria dessa comunidade microbiana ainda não foi isolada em cultura pura.

Metagenomas de micróbios associados às esponjas marinhas têm sido utilizados com sucesso na identificação de genes alvos envolvidos na síntese de produtos naturais (Hallam *et al.*, 2006). Esse método envolve construção de bibliotecas genômicas através de extração e clonagem de DNA de alto peso molecular (Handelsman, 2004). O gene 16S rRNA é um dos principais genes utilizados como marcador molecular para construção de bibliotecas, sendo de fácil amplificação pela técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) (Vieira *et al.*, 2008).

Essa nova abordagem revelou novos genes de microrganismos não cultivados associados às esponjas *Theonella swinhoei* e *Discodermia dissoluta* (Piel *et al.*, 2004). A análise de metagenoma também identificou enzimas, como as que são capazes de hidrolisar agar provenientes de algumas bactérias do gênero *Cytophaga* associadas a esponja *Halichondria panicea* (Imhoff e Stöhr, 2003). Ge-

nes que codificam amilases e acetilcolinesterases foram identificados na bactéria *Arctobacter ilicis* e no fungo *Mucor* sp., associados à esponja *Spirastrella* sp. (Mohapatra *et al.*, 1997).

A construção de bibliotecas gênicas é um método promissor na elucidação do potencial genético de microrganismos ainda não cultivados. Recentemente foi seqüenciado o genoma de archaea *Cenarchaeum symbiosum* isolada da esponja *Axinella mexicana* disponibilizando mais de 2000 novos genes para a investigação científica das funções biológicas e possíveis aplicações tecnológicas (Hallam *et al.*, 2006).

A identificação de genes responsáveis pela síntese de metabólitos secundários por meio dessa técnica torna-se uma fonte alternativa para exploração da diversidade química presente na comunidade microbiana das esponjas disponibilizando inúmeros genes para clonagem e expressão heteróloga de proteínas com interesse biotecnológico.

5. Conclusão

Esponjas marinhas são hospedeiras de muitos microrganismos. A aplicação de bactérias, fungos e principalmente archaeas na biotecnologia permanece limitada. A produção em larga escala dos metabólitos secundários originados de microrganismos associados a esponjas, continua restrita devido à dificuldade do cultivo em laboratório da maioria destes micróbios. Estratégias alternativas têm sido propostas para a obtenção desses compostos, como cultura de esponjas no ambiente marinho (maricultura) e técnicas de metagenômica.

Estudos recentes chamam a atenção para um sistema bioquímico de comunicação celular chamado "Quorum Sensing". Este sistema sofisticado de comunicação permite que as bactérias enviem e recebam men-

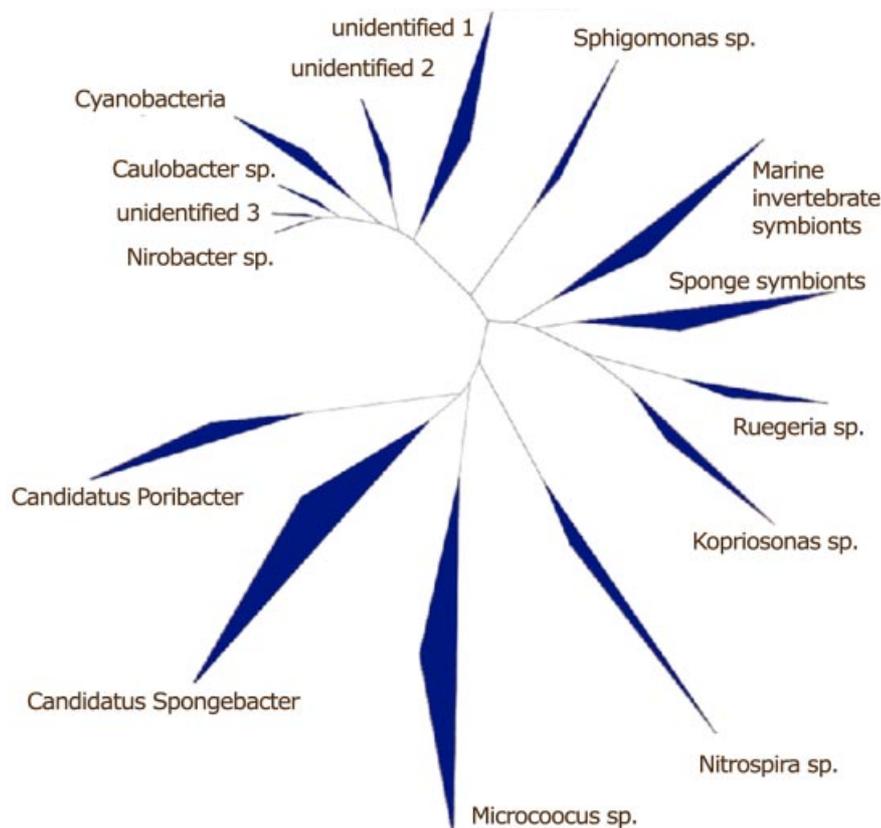


Figura 5. Árvore filogenética de grupos bacterianos associados com esponjas marinhas. Árvore baseada no gene 16S rRNA mostrando grupos de bactérias das esponjas *Hymeniacidon belioiphila* and *Polymastia janeirensis* construída pelo programa ARB usando algoritmo neighbor-joining e o modelo Kimura

sagens entre si e entre seus hospedeiros. São descritos dois sistemas principais, um a longa distância mediado por substâncias químicas solúveis e outro a curta distância que depende do contato celular. Isso inclui vários canais de sinalização química entre os microrganismos e pode ser utilizado como ferramenta para o entendimento das relações entre micróbios e esponjas.

As perspectivas apontam para a necessidade de uma cooperação entre microbiologistas, biólogos, químicos, taxonomistas, bioengenheiros e bioinformáticos em um estudo coordenado de diversidade e da associação entre invertebrados marinhos, bactérias, archaeas e eucariotos, na busca por novos metabólitos secundários, de um potencial biotecnológico ainda pouco explorado.

6. Agradecimentos

Agradecemos a Fernando C. Moraes (Museu Nacional, UFRJ) pela colaboração nas atividades de coleta e a Mônica Lins de Barros (IEAPM) pela revisão

do manuscrito. Agradecemos também a Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

7. Referências Bibliográficas

Alquéres, S.M.C.; Almeida, R.V.; Clementino, M.M.; Vieira, R.P.; Almeida, W.I.; Cardoso, A.M. e Martins, O.B. (2007). Exploring the biotechnological applications in the archaeal domain. *Brazilian Journal of Microbiology*.38:398-405.

Bringmann, G.; Lang, G.; Muhlbacher, J.; Schaumann, K.; Steffens, S.; Rytik, P.G.; Hentschel, U.; Morschhauser, J. e Muller, W.E. (2003). Sorbicillactone A: a structurally unprecedented bioactive novel-type alkaloid from a sponge-derived fungus. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 37:231-53.

Bergquist, P.R. (1978) Sponges. *Hutchin-*

son & Co, London. 268.

Hentschel, U.; Morschhauser, J. e Muller, W.E. (2003). Sorbicillactone A: a structurally unprecedented bioactive novel-type alkaloid from a sponge-derived fungus. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 37:231-53.

Bultel-Ponce, V.; Berge, J.P.; Debitus, C.; Nicolas J.L. e Guyot, M. (1999). Metabolites from the sponge-associated bacterium *Pseudomonas* species. *Mar. Biotechnol.*1:384-390.

Blunt, J.W.; Copp, B.R.; Munro, M.H.; Northcote, P.T. e Prinsep, M.R. (2006). *Marine Nat. Prod.* 23:26-78.

Cardoso, A.M.; Clementino, M.M.; Martins, O.B.; Vieira, R.P.; Almeida, R.V.; Alquéres, S.M.C. e Almeida, W. I. (2003). Archaea: Potencial Biotecnológico. *Biociência & desenvolvimento.* 30:71-77.

Cavicchioli, R.; Curmi, P.M.; Saunders, N. e Thomas, T. (2003). Pathogenic archaea: do they exist? *Bioessays.* 25:1119-1128.

Chelossi, E.; Mancini, I.; Sepciã, K.; Turk, T. e Faimali, M. (2006). Comparative antibacterial activity of polymeric 3-alkylpyridinium salts isolated from the Mediterranean sponge *Reniera sarai* and their synthetic analogues. *Biomol. Eng.* 23:317-323.

Christian, P.R.; John, D. e Margo, G.H. (2005). Investigation of *Oscillatoria spongeliae* - Dominated Bacterial Communities in Four Dictyoceratid Sponges. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:7366-7375

Crews, P. e Bescansa, P. (1986). Sesterterpenes from a common marine sponge, *Hyrtios erecta*. *J. Nat. Prod.* 49:1041-1052.

Enticknap, J.J.; Kelly, M.; Peraud, O. e Hill, R.T. (2006). Characterization of a culturable alphaproteobacterial symbiont common to many marine sponges and evidence for vertical transmission via sponge larvae. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:3724-3732.

Hallam, S.J.; Konstantinidis, K.T.; Putnam, N.; Schleper, C.; Watanabe, Y.; Sugahara, J.; Preston, C.; de la Torre, J.; Richardson, P.M. e DeLong E.F. (2006). Genomic analysis of the uncultivated marine crenarchaeote *Cenarchaeum symbiosum*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 103:18296-18301.

Hallam, S.J.; Mincer, T.J.; Schleper, C.; Preston, C.M.; Roberts, K.; Richardson, P.M. e DeLong, E.F. (2006). Pathways of carbon assimilation and ammonia oxidation suggested by environmental genomic analyses of marine Crenarchaeota. *PLoS Biol.* 4:e95.

Handelsman, J. (2004). Metagenomics: ap-

- plication of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol.* 68:669-685.
- Hentschel, U.; Fieseler, L.; Wehrl, M.; Gernert, C.; Steinert, M.; Hacker, J. e Horn, M. (2003). Microbial diversity of marine sponges. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 37:59-88.
- Hentschel, U. (2004). Microbial diversity of marine sponges. *Boll. Mus. Ist. Biol.* 68:365-372
- Hentschel, U.; Usher, K.M. e Taylor, M.W. (2006). Marine sponges as microbial fermenters. *FEMS Microbiol Ecol.* 55:167-177.
- Holler, U.; König, G.M. e Wright, A.D. (1999). Three new metabolites from marine-derived fungi of the genera *Coniothyrium* and *Microsphaeropsis*. *J. Nat. Prod.* 62:114-118.
- Hooper, N.J.A. e Van Soest, R.W.M. (2002). Systema Porifera: A guide to the classification of sponges. Kluwer academic/ plenum publishers, New York.
- Imhoff, J.F. e Stöhr, R. (2003). Sponge-associated bacteria: general overview and special aspects of bacteria associated with *Halicobondria panicea*. *Prog. Mol. Subcell. Biol.* 37:35-57.
- Jadulco, R.; Edrada, R.A.; Ebel, R.; Berg, A.; Schaumann, K.; Wray, V.; Steube, K. e Proksch, P. (2003). New Communesin Derivatives from the Fungus *Penicillium* sp. Derived from the Mediterranean Sponge *Axinella verrucosa*. *J. Nat. Prod.* 67. 78 –81.
- Kennedy, J.; Marchesi, J.R. e Dobson, A.D. (2000). Metagenomic approaches to exploit the biotechnological potential of the microbial consortia of marine sponges. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 75:11-20.
- Koty, H.S.; Boreth, E. e Margo, G.H. (2007). Vertical transmission of diverse microbes in the tropical sponge *Corticium* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:622-629.
- Lars, F.; Achim, Q.; Christa, S. e Hentschel, U. (2006). Analysis of the first genome fragment from the marine sponge-associated, novel candidate phylum *Poribacteria* by environmental genomics. *Environ. Microbiol.* 8:612-624.
- Lee, O.O.; Lau, S.C. e Qian, P.Y. (2006). Consistent bacterial community structure associated with the surface of the sponge *Mycale adbaerens* Bowerbank. *Microbiol. Ecol.* 52:693-707.
- Lévi, C. e Lévi, P. (1965). Populations bactériennes dans les éponges. *J. Microsc.* 4:60.
- Mohapatra, B.R.; Bapuji, M. e Banerjee, U.C. (1997). Production and properties of L-asparaginase from *Mucor* species associated with a marine sponge (*Spirastrella* sp.). *Cytobios.* 92:165-173.
- Mohapatra, B.R.; Bapuji, M. e Sree, A. (2002). Antifungal efficacy of bacteria isolated from marine sedentary organisms. *Folia Microbiol.* 47:51-55.
- Muscholl, S.A.; Thiel, V. e Imhoff, J.F. (2008). Abundance and bioactivity of cultured sponge-associated bacteria from the mediterranean Sea. *Microbiol Ecol.* 55:94-106.
- Osinga, R. (2003). Biotechnological aspects of marine sponges. *J. Biotechnol.* 100:91-92.
- Piel, J.; Hui, D.; Wen, G.; Butzke, D.; Platzer, M.; Fusetani, N. e Matsunaga, S. (2004). Antitumor polyketide biosynthesis by an uncultivated bacterial symbiont of the marine sponge *Theonella swinhoei*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101:16222-16227.
- Preston, C.M.; Wu, K.Y.; Molinski, T.F. e DeLong, E.F. (1996). A psychrophilic crenarchaeon inhabits a marine sponge: *Cenarchaeum symbiosum* gen.nov., sp. nov. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93:6241-6246.
- Schiraldi, C.; Giuliano, M. e De Rosa, M. (2002). Perspectives on biotechnological applications of archaea. *Archaea.* 1:75-86.
- Sipkema, D.; Franssen, M.C.; Osinga, R.; Tramper, J. e Wijffels, R.H. (2005). Marine sponges as pharmacy. *Mar. Biotechnol.* 7:142-162.
- Sipkema, D.; Osinga, R.; Schatton, W.; Mendola, D.; Tramper, J. e Wijffels, R.H. (2005). Large-scale production of pharmaceuticals by marine sponges: sea, cell, or synthesis? *Biotechnol Bioeng.* 90:201-22.
- Taylor, M.W.; Schupp, P.J.; Dahllöf, I.; Kjelleberg, S. e Steinberg, P.D. (2004). Host specificity in marine sponge-associated bacteria, and potential implications for marine microbial diversity. *Environ. Microbiol.* 6:121-130.
- Taylor, M.W.; Radax, R.; Steger, D. e Wagner, M. (2007). Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiol. Mol. Biol.* 71:295-347.
- Thomas, P.; Friederike, H.; Nadia-Vallérie, Q.; Karen von, J.; Joachim, R. e Walter, M. (2006). Dense populations of Archaea associated with the demosponge *Tentorium semisuberites* Schmidt, 1870 from Arctic deep-waters. *Polar Biol.* 29: 662-667.
- Thoms, C.; Wolff, M.; Padmakumar, K.; Ebel, R. e Proksch P. (2004). Chemical defense of Mediterranean sponges *Aplysina cavernicola* and *Aplysina aerophoba*. *Z Naturforsch.* 59:113-22.
- Turque, A.S.; Cardoso, A.M.; Silveira, C.B.; Vieira R.P.; Freitas F.A.D.; Albano R.M.; Gonzalez A.M.; Paranhos R.; Muricy G. e Martins O.B. (2008). Bacterial communities of the marine sponges *Hymeniacidon beliopbila* and *Polymastia janeirensis* and their environment in Rio de Janeiro, Brazil. *Mar. Biol.* (in press).
- Unson, M.D.; Holland, N.D. e Faulkner, D.J. (1993). A brominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of a marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue. *Mar. Biol.* 119:1432-1793.
- Vacelet, J. e Donadey, C. (1977). Electron microscopic study of the association between some sponges and bacteria. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 30:301-314
- Vacelet, J.; Boury-Esnault, N. (1995). Carnivorous sponges. *Nature.* 373:333-335.
- Vieira, R. P.; Gonzales, A. M.; Cardoso, A. M.; Oliveira, D. N.; Albano R. M.; Clementino, M. M.; Martins O. B. e Paranhos R. (2008). Relationships between bacterial diversity and environmental variables in a tropical marine environment, Rio de Janeiro. *Environ Microbiol.* 10:189-99.
- Wang, G. (2006). Diversity and biotechnological potential of the sponge-associated microbial consortia. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33:545-551.
- Webster, N.S.; Watts, J.E. e Hill, R.T. (2001). Detection and phylogenetic analysis of novel crenarchaeote and euryarchaeote 16S ribosomal RNA gene sequences from a Great Barrier Reef sponge. *Mar. Biotechnol.* 3:600-608.
- Wicke, C.; Huners, M.; Wray, V.; Nimtz, M.; Biltewski, U. e Lang, S. (2000). Production and structure elucidation of glycolipids from a marine sponge-associated *Microbacterium* species. *J. Nat. Prod.* 63:621-626.
- Woese, C.R. e Fox, G.E. (1977). Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74:5088-5090.
- Woese, C.R.; Kandler, O. e Wheelis, M.L. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87:4576-4579.

