

Urgenza e meccanismo di biosintesi dei metaboliti secondari microbici marini

Henry Federico

Università di Torino, Italia

E-mail: henry44@gmail.com

Astratto

Il microorganismo marino è una delle potenziali risorse biologicamente attive dei metaboliti secondari. La sua potenza è così promettente che è necessario studiare e raccogliere la conoscenza di come si è verificato il suo metabolita secondario. Tali conoscenze consentiranno ulteriori studi stanno migliorando la produzione di metaboliti secondari in laboratorio. In natura, la sintesi dei metaboliti secondari si verifica quando vi sono l'effetto di fattori sia biotici che abiotici come l'acqua di mare e la simbiosi microbica con altri materiali viventi. Quando questo è spiegato nelle vie metaboliche, la sintesi dei metaboliti secondari è influenzata dal nutriente disponibile e regolata da molecole autoinducenti attraverso il meccanismo di rilevamento del quorum.

Parole chiave: autoinduttore , microorganismo marino, quorum sensing, metabolita secondario , simbiotico



A. INTRODUZIONE

Il mare è una delle fonti di ricchezza biologica e chimica. Una delle fonti di ricchezza biologica e chimica può essere ottenuta dai batteri marini. Sebbene i batteri marini costituiscano una piccola parte della vita marina, una cellula di batteri marini contiene migliaia di potenziali composti chimici per medicinali, integratori alimentari, cosmetici, prodotti chimici per l'agricoltura, sonde chimiche ed enzimi. Generalmente questi potenziali composti chimici provengono da metaboliti microbici secondari.

I metaboliti sono classificati in due, vale a dire metaboliti primari e metaboliti secondari. I metaboliti primari formati in quantità limitate sono essenziali per la crescita e la vita degli esseri viventi. I metaboliti secondari non vengono utilizzati per la crescita e sono formati da metaboliti primari in condizioni di stress. Esempi di metaboliti secondari sono antibiotici, pigmenti, tossine, effettori di concorrenza ecologici e di simbiosi, feromoni, inibitori enzimatici, agenti immunomodulatori , recettori antagonisti e agonisti, pesticidi, agenti antitumorali e promotori della crescita di animali e piante.

Esistono diverse ipotesi sulla funzione dei metaboliti secondari per i produttori di metaboliti secondari, come nella sopravvivenza di batteri, funghi, insetti e animali attraverso la produzione di antibiotici e antivegetativa (Gudbjarnason 1999). Inoltre, anche i metaboliti secondari svolgono un ruolo nel migliorare la vita microbica dei produttori di metaboliti secondari quando competono con altre specie (Tabarez 2005). Ci sono 5 ragioni per rafforzare questo (Tabarez 2005). In primo luogo, i metaboliti secondari agiscono come meccanismi di difesa alternativi in modo che gli organismi

carenti nel sistema immunitario producano metaboliti secondari abbondanti e vari. In secondo luogo, i metaboliti secondari hanno una struttura e un meccanismo di lavoro sofisticati e le loro vie metaboliche sono complesse ed energeticamente costose. Terzo, i metaboliti secondari agiscono quando c'è competizione con microbi, piante o animali. In quarto luogo, i metaboliti secondari sono prodotti da un gruppo di geni biosintetici. In quinto luogo, la produzione di metaboliti secondari con attività antibiotica è solitamente accompagnata da sporulazione e si verifica nelle cellule microbiche sensibili a microbi, piante o animali. Generalmente questi microbi sensibili necessitano di una protezione speciale quando i loro nutrienti iniziano a esaurirsi.

La formazione di metaboliti secondari è regolata dalla nutrizione, dalla diminuzione del tasso di crescita, dal controllo del feedback, dall'inattivazione degli enzimi e dall'induzione degli enzimi. Le limitazioni nutrizionali e la diminuzione del tasso di crescita produrranno segnali che hanno un effetto regolatorio con conseguente differenziazione chimica (metaboliti secondari) e differenziazione morfologica (morfogenesi) (Demain 1998). Questo segnale è un induttore a basso peso molecolare che funge da controllo negativo in modo che in condizioni normali (rapida crescita e nutrizione adeguata) prevenga la formazione di metaboliti secondari e la morfogenesi. A differenza dei metaboliti primari, le vie dei metaboliti secondari non sono ampiamente comprese. Pertanto, in questo articolo di revisione cercheremo di discutere la presenza di metaboliti secondari in natura e i fattori che influenzano il meccanismo di biosintesi dei metaboliti secondari dei microbi marini.

B. METODO

Questo studio ha utilizzato un approccio qualitativo raccogliendo dati con uno studio della letteratura sull'urgenza e il meccanismo di biosintesi dei metaboliti secondari microbici marini. I dati vengono quindi analizzati e analizzati per produrre un quadro di ricerca.

C. RISULTATO E DISCUSSIONE

Biosintesi di metaboliti secondari microbici marini in natura .

I risultati dell'esplorazione dei metaboliti secondari hanno mostrato che i batteri marini sono una delle potenziali fonti di metaboliti secondari. In base al loro modo di vivere, i batteri produttori di metaboliti secondari possono essere derivati da batteri a vita libera, batteri sedimentari presenti nei sedimenti, batteri associati alle superfici delle alghe o batteri associati agli invertebrati (Burgess et al, 1999). Sulla base dei risultati di ricerche precedenti, generalmente i batteri che vivono in modo associato alla vita marina mostrano un grande potenziale nella secrezione di metaboliti secondari con proprietà antibatteriche (Burgess et al, 1999; Armstrong et al, 2001; Yan et al, 2003) . I batteri che vivono a contatto con determinate particelle producono metaboliti secondari 5-10 volte

superiori ai batteri viventi liberi (Long 2001). Un esempio di batterio che produce un metabolita secondario del mare è la specie *Actinopolyspora AH1* ottenuta da sedimenti marini e che mostra attività antimicrobica (Kokare et al, 2003). Batteri epibiotici prelevati da *Petrosia ficiformis* sono in grado di inibire la crescita di altri batteri marini in vitro (Chelossi et al, 2004). *Pseudoalteromonas piscicida* associato alla spugna *Hymeniacion* perleve produce il composto norharman (un alcaloide betacabbolina) che ha attività antimicrobica (Zheng et al, 2005).

Generalmente la struttura chimica dei prodotti marini è spesso diversa dai metaboliti secondari terrestri soprattutto nell'alogenazione con bromo e cloro (Gudbjarnason 1999). Queste differenze sono influenzate dall'ambiente marino unico. Secondo Okami (1982), ci sono 3 fatti che dimostrano che l'ambiente marino è unico. In primo luogo, l'acqua di mare contiene una varietà di sostanze biologicamente attive come le vitamine e molti microrganismi marini sono in grado di produrre vitamine. In secondo luogo, l'acqua di mare contiene agenti inibitori attivi per l'organismo. Alcuni fattori che illustrano questo fatto sono che l'acqua di mare ha la capacità di inibire i batteri gram-positivi, l'acqua di mare naturale è più inibitoria dell'acqua di mare artificiale, l'acqua di mare che ha ricevuto un trattamento termico mostra una riduzione dell'attività inibitoria rispetto all'acqua di mare dolce, l'attività dell'inibitore dell'acqua di mare è non causato da faga o salinità ma perché nell'acqua di mare sono presenti agenti antibatterici. Terzo, alcuni microrganismi isolati dall'acqua di mare mostrano attività antibatterica.

La simbiosi tra microbi e invertebrati è una regola utilizzata dai microbi per produrre il tipo di metaboliti secondari che verranno prodotti (Thakur et al, 2003). Generalmente, i metaboliti secondari prodotti dai microbi vengono utilizzati dagli invertebrati marini per combattere altri organismi. Sulla base di quanto sopra si è ottenuto un nuovo concetto che afferma che la simbiosi che produce metaboliti secondari può essere innescata a causa di barriere ambientali biotiche. Il modello utilizzato per spiegare questo concetto è una simbiosi batterica con una spugna.

Dapprima le cellule del metabolita secondario per completare la protezione contro l'attacco microbico o eucariotico (prima protezione diretta), ad esempio composti acetilenici . Inoltre, le spugne possono anche produrre metaboliti secondari sotto forma di proteine che possono resistere alla crescita batterica (protezione con il sistema immunitario), ad esempio perforina (Thakur et al, 2003) e tachilectina (Schroder et al, 2003). Funzionalmente, questi composti agiscono come molecole di difesa. A causa dell'interazione dei metaboliti secondari prodotti con i batteri associati alle spugne, è possibile che i batteri vengano indotti a produrre un metabolita secondario. I metaboliti secondari risultanti hanno varie funzioni, ad esempio funzionare nel sistema di difesa oltre ad attivare importanti vie di autodifesa (attivatori di metaboliti). Un esempio di metabolita secondario batterico è l'acido okadaico (acido okadaico) che è prodotto dai batteri nella spugna *Suberiti domuncula* . L'acido okadaico agisce come una molecola di difesa contro l'attacco di metazoi estranei e contemporaneamente è una modulazione

positiva di questo percorso per migliorare la risposta immunitaria delle cellule ospiti (Wiens et al, 2003). I batteri che vivono sulla superficie delle cellule ospiti spugnose producono metaboliti secondari specifici per combattere alcuni batteri (protezione indiretta), ad esempio composti antivegetativi (Thakur et al, 2003) e composti tribromofenolici (Clare et al, 1999). Esempi di metaboliti secondari prodotti a seguito della simbiosi tra spugne e batteri o funghi, batteri o funghi sono anche indotti a produrre metaboliti secondari come la cribrostatina o il sorbicillactone .

Oltre alla simbiosi microbica spugnosa, anche la simbiosi con alghe come l'alga verde *Enteromorpha linza* simbiosi con i batteri *Flavobacterium* spp. e *Cytophaga* spp. (Shiba & Taga 1980). *E. linza* produce prodotti extracellulari che vengono assorbiti da *Flavobacterium* spp. e *Cytophaga* spp. che compongono i biofilm sulle alghe. I batteri del pigmento verde *Pseudoalteromonas tunicata* , che forma anche biofilm, può produrre specifici composti inibitori target contro batteri, alghe, funghi e larve di invertebrati (Prochnow et al, 2004).

La biosintesi dei metaboliti secondari è influenzata dalla disponibilità di alcuni nutrienti.

I metaboliti primari possono aumentare la produzione di metaboliti secondari. Nei microbi marini, le condizioni ambientali con una nutrizione limitata fanno sì che l'uso del carbonio da parte dei microbi marini nel metabolismo cellulare non sia utilizzato per la crescita cellulare, ma il carbonio disponibile sarà utilizzato per la produzione di metaboliti secondari. Gli esperimenti di Barry e Wainwright (1997) hanno dimostrato che l'aggiunta di precursori di metaboliti primari può aumentare i metaboliti secondari. I precursori dei metaboliti primari utilizzati erano \pm -chetoglutarato , 2 -chetoglutarato, glucosio e ossalacetato. I batteri marini J292/97 sono stati inoculati in vari mezzi, vale a dire Marine Broth Difco (MB), MB 10X diluito (MB 1: 9), MB 1: 9 integrato con 0,1% \pm -chetoglutarato , MB 1: 9 integrato con 0,1% 2 -chetoglutarato, MB 1: 9 integrato con 0,1% di glucosio, MB 1: 9 integrato con 0,1% di ossalacetato. I mezzi di crescita integrati con precursori del ciclo TCA (acido tricarbossilico), vale a dire \pm - chetoglutarato e ossalacetato, indurranno composti che hanno attività antimicrobica. *Pseudomonas fluorescens* HV37a sintetizza antibiotici in presenza di glucosio (Gutterson et al, 1988). Inoltre, i mezzi MB diluiti 10x (MB 1: 9) integrati con lo 0,1% di glucosio possono anche indurre composti antibatterici da *Alteromonas* sp. K10 e *Bacillus* sp. K11.

L'azoto svolge anche un ruolo nella produzione di metaboliti microbici secondari. In condizioni di azoto limitato, ppGpp la sintetasi (RelA) associata ai ribosomi è richiesta per la produzione di antibiotici da *Streptomyces coelicolor* A3 (2) (Chakraburttty & Bibb 1997). Questa condizione è necessaria anche per la produzione di cefamicina C da parte di *Streptomyces clavuligerus* (Jin et al, 2004). Tuttavia, il meccanismo di produzione di antibiotici guidato da ppGpp non è ancora chiaro.

Anche la biosintesi dei metaboliti secondari come gli antibiotici è influenzata dalla disponibilità di fosfato (Martin 2004). Generalmente, la produzione di metaboliti secondari avviene in condizioni limitate di fosfato. I componenti che giocano un ruolo sono il sistema PhoR-PhoP. PhoR è il sensore di protein chinasi di membrana standard. PhoP è una proteina membro regolatrice della risposta legata al DNA. PhoP svolge anche un ruolo nel controllo del gene della fosfatasi alcalina (PhoP). Se c'è un'inattivazione del regolatore della risposta PhoP o la delezione del sistema PhoR-PhoP, provoca un'elevata espressione di actinorhodina e undesilprodigosina in *S. coelicolor* e *S. lividans*. Il meccanismo Cascade proposto relativo all'effetto negativo della fosforilazione di PhoP sull'espressione di AfsS è mostrato nella Figura 2 (Martin 2004). L'espressione dei geni act (actinorhodina) e red (undesilprodigosina) è stata sovraregolata da attivatori di trascrizione specifici, ActII-ORF4 e RedD. La produzione di ActII-ORF4 e RedD è stata indotta da AfsS. Un'elevata espressione di AfsS causerà un'elevata espressione di ActII-ORF4 e RedD in modo che ci sarà anche un'elevata espressione di Act e Red. AfsS è regolato dal sistema PhoR-PhoP. AfsS viene represso dal sistema PhoR-PhoP quando PhoP è in uno stato fosforilato (PhoP ~ P).

S. coelicolor e *S. lividans*. Il meccanismo Cascade proposto è correlato all'effetto negativo della fosforilazione di PhoP sull'espressione di AfsS. L'espressione dei geni act (actinorhodina) e red (undesilprodigosina) è stata sovraregolata da attivatori di trascrizione specifici, ActII-ORF4 e RedD. La produzione di ActII-ORF4 e RedD è stata indotta da AfsS. Un'elevata espressione di AfsS causerà un'elevata espressione di ActII-ORF4 e RedD in modo che ci sarà anche un'elevata espressione di Act e Red. AfsS è regolato dal sistema PhoR-PhoP. AfsS viene represso dal sistema PhoR-PhoP quando PhoP è in uno stato fosforilato (PhoP ~ P).

La regolazione della biosintesi dei metaboliti secondari con un sistema di rilevamento del quorum. Il quorum sensing è la regolazione dell'espressione genica che dipende dalla densità cellulare. Generalmente, il meccanismo di rilevamento del quorum viene utilizzato dai batteri gram-negativi. I batteri producono molecole segnale che sono in grado di diffondersi all'esterno e all'interno delle cellule. Questa molecola è generalmente nota come autoinduttore. L'autoinduttore trovato nei batteri gram-negativi è l'acilazione dell'omoserina del lattone (AHL). Il modello di rilevamento del quorum è mostrato dalla simbiosi di batteri marini, *Photobacterium fischeri* con pesce o calamari (Gonzalez & Marketon 2003). L'AHL è formato da acil-ACP e SAM (S-adenosilmetionina) con l'aiuto dell'enzima AHL sintasi codificato dal gene LuxI. L'aumento della densità cellulare provoca l'accumulo di AHL che a sua volta fa sì che LuxR sia attivo perché AHL si legherà a LuxR. Questo LuxR attivo attiverà l'espressione dell'operone lux ma inibirà l'espressione del gene luxR.

Pseudomonas fluorescens NCIMB 10586 produce il composto di mupirocina. L'espressione del gene Mupirocin da *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586 si basa su un sistema regolatorio di rilevamento del quorum (El-Sayed et al, 2001). Il gene che

codifica per la mupirocina è l' operone Mup . Gli amminoacidi MupR e MupI mostrano somiglianze con i sistemi regolatori LasR / LasI e LuxR / LuxI . MupR è importante per attivare mupI e mup operoni. Oltre alla sintesi della mupirocina che segue il sistema di regolamentazione del quorum sensing, la produzione di composti antibatterici dal batterio *Roseobacter* 27-4 segue anche la regolazione del quorum sensing (Buhn et al, 2005). Questo perché questi composti si formano quando la densità cellulare è elevata.

Oltre all'AHL, un altro autoinduttore è il butirrolattone (butanolide). Un esempio di butanolide è il fattore A (2-isocapriloloil-3R-idrossimetil- ω - butirrolattone) *Streptomyces griseus* . Il fattore A *S. griseus* viene prodotto prima della produzione di streptomicina e si interromperà quando la produzione di streptomicina raggiunge il suo livello massimo (Horinouchi & Beppu 1992). Il fattore A induce almeno 10 proteine a livello di trascrizione. Uno di questi è la streptomicina 6-fosfotransferasi, un enzima che funziona nella biosintesi della streptomicina e nella sua resistenza alla streptomicina.

Induzione della biosintesi microbica dei metaboliti secondari in laboratorio. Ci sono diversi ostacoli incontrati nella sintesi dei metaboliti secondari in laboratorio. Alcuni microbi che vivono in simbiosi con la vita marina sono difficili da coltivare in laboratorio. Alcuni dei microbi che producono metaboliti secondari possono anche perdere la capacità di produrre metaboliti secondari dopo essere stati immagazzinati per un breve periodo (Tabarez 2005). La causa di ciò è il fabbisogno nutrizionale non soddisfatto o i ceppi che producono metaboliti secondari non sono sotto stress e possono essere causati anche dall'ambiente abiotico. Gli sforzi compiuti per superare l'ambiente abiotico consistono nel rendere le condizioni durante la coltivazione simili all'ambiente originario, ad esempio modificando i metodi di coltivazione convenzionali. *Bacillus licheniformis* EI-34-6 produce metaboliti secondari quando cresciuto in un bioreattore utilizzando una membrana semipermeabile. *B. licheniformis* EI-34-6 ma non ha prodotto metaboliti secondari quando cresciuto in coltura liquida agitata (Yan et al, 2003). I diversi tipi di membrane semipermeabili non hanno mostrato risultati diversi, quindi si può concludere che la composizione chimica delle membrane non ha influenzato la produzione di composti antimicrobici. *Bacillus* sp. che è stato isolato dalle alghe *Palmaria palmate* ha prodotto composti antimicrobici con spettri variabili nel metodo di coltura della bottiglia a rullo modificato rispetto alla coltura liquida agitata o alla coltura liquida su una bottiglia rotante (Yan et al, 2002).

La produzione di composti antimicrobici da parte di batteri marini può anche essere indotta dalla presenza di batteri terrestri vivi o morti (Mearns-Spragg et al, 1998). Dodici dei 16 batteri epibiotici di alghe e invertebrati hanno mostrato una maggiore attività antimicrobica contro *S. aureus* , *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dopo l'esposizione a batteri terrestri viventi.

D. CONCLUSIONE

I microbi marini sono uno dei promettenti produttori di metaboliti secondari. Alcuni degli ostacoli incontrati nel processo di coltivazione in laboratorio sono l'assenza di metaboliti secondari. Ci sono diversi sforzi che possono essere fatti. In primo luogo, i mezzi utilizzati nel processo di coltivazione variavano sia per tipo che per concentrazione. In secondo luogo, al mezzo utilizzato vengono aggiunti precursori di metaboliti secondari come amminoacidi e carboidrati. In terzo luogo, il processo di coltivazione è tentato di essere simile alle condizioni in natura, ad esempio nel processo di coltivazione non vi è alcun scuotimento o modifica del bioreattore utilizzando una membrana semipermeabile .

RIFERIMENTI

1. Armstrong , E., Yan , L., Boud , KG, Wright, PC e Burgess, JG 2001. Il ruolo simbiotico dei microbi marini sulle superfici viventi. *Idrobiologia* 461:37-40.
2. Barry, KJ & Wainwright, NR 1997. Induzione biosintetica di metaboliti secondari da parte di un batterio marino sotto stress nutrizionale: ruolo potenziale dell'ossidazione incompleta di un acido organico. *Bolla Bioll* 193:274-275.
3. Bibb, MJ 2005. Regolazione del metabolismo secondario negli streptomiceti . *Corr Opin Microbiol* 8: 208-215.
4. Bruhn, JB, Nielsen, KF, Hjelm , M., Hansen, M., Bresciani , J., Schulz, S. & Gram, L. 2005. Ecologia, attività inibitoria e morfogenesi di un batterio antagonista marino appartenente al roseobacter clade. *appl Ambiente microbiologico* 71: 7263-7270 .
5. Burgess, JG Jordan, EM Bregu , M. Mearns-Spragg , A. & Boyd, KG 1999. Antagonismo microbico: una via trascurata della ricerca sui prodotti naturali. *J Biotecnologie* 70:27-32.
6. Chakraborty , R. & Bibb, MJ 1997. Il ppGpp Gene della sintetasi (relA) di *Streptomyces coelicolor* A3(2) svolge un ruolo condizionale nella produzione di antibiotici e nella differenziazione morfologica. *J batteriolo* 179: 5854-5861.
7. Chelossi , E., Milanese, M., Milano, A., Pronzato , R. & Riccardi , G. 2004, Caratterizzazione e attività antimicrobica di batteri epibiotici da *Petrosia ficiformis* (porifera , demospongiae). *J Exp Mar Biol Ec ol* 309: 21-33.
8. Claire, AS Rittschof , D. Gerhart , DJ Hooper, IR & Bonaventura, J. 1999. Azione anti-insediamento e narcotica di analoghi dell'antifoulant prodotto naturale marino diterpene da ottocarali . *Mar Biotecnologia* 1: 427-436.
9. El- Sayed , AK, Hothersall , J. & Thomas, CM 2001. Regolazione quorum-sensing-dipendente della biosintesi dell'antibiotico polichetide mupirocina in *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 10586. *Microbiol* 147: 2127-2139.
10. Gonzalez, JE & Marketon , MM 2003. Rilevamento del quorum nella rizobia che fissa l'azoto. *microbiolo Mol Biol Rev* 67: 574-592.

11. Gudbjarnason , S. 1999. Prodotto naturale marino bioattivo. *Rit Fiskideilar* 16:107-110.
12. Gutterson , N. Ziegle , JS, Warren, GW & Layton, TJ 1988. Determinanti genetici per l'induzione dei cataboliti della biosintesi degli antibiotici in *Pseudomonas fluorescens* HV37a. *J batteriolo* 170: 380-385.
13. Horinouchi , S., & Beppu , T. 1992. Fattori di autoregolazione e comunicazione negli attinomiceti . *Annu Rev Microbiol* 46: 377-398.
14. Kokare , CR, Mahadik , KR, Kadam , SS e Chopade , BS
15. alofili marini Specie *Actinopolyspora* AH1 dalla costa occidentale dell'India. *Corr Sci* 86:593-597.
16. Long, RA & Azam , F. 2001. Interazioni antagonistiche tra batteri pelagici marini. *Appl Environ Microbiol* 67: 4975-4983.
17. Martin, JF 2004. Il controllo del fosfato della biosintesi di antibiotici e altri metaboliti secondari è mediato dal sistema PhoR-PhoP : una storia incompiuta. *J. batteriolo*
18. (16): 5197-5201.
19. Muller, WEG, Schroder, HJ & Wiens , M. 2004. Approcci per uno sfruttamento sostenibile della biodiversità (metaboliti secondari e biomateriali da sponges) nella prospezione biomedica tradizionale e moderna : parte ii-i benefici. *eCAM* 1:133-144.
20. Okami , Y. 1982. Potenziale uso di microrganismi marini per la produzione di antibiotici e enzimi. *Puro e appl Chem* 54:1951-1962.
21. Prochnow , AM, Evans, F., Saludes , DD, Stelzer , S., Egan, S., James, S., Webb, JS & Kjelleberg , S. 2004. Sviluppo di biofilm e morte cellulare nel batterio marino *Pseudoalteromonas tunicate* . *Microbiol ambientale di Appl* 70: 3232-3238.
22. Schroder, HC, Ushijima, H., Krasko , A., Gamulin , V., Shutze , J. & Muller, IM 2003. Emersione e scomparsa di una molecola immunitaria , una lectina antimicrobica , nei metazoi basali : la famiglia delle achilectine . *J Biol Chimica* 278: 32810-32817.
23. Shiba , T. & Taga , N. 1980. Batteri eterotrofi attaccati alle alghe. *Giornale di biologia marina sperimentale e Ecologia* . 47:251-258.
24. Tabarez , MR 2005. Scoperta del nuovo composto antimicrobico 7-o- malonyl macrolattina a. *Dissertazione Van Der Comune scientifico facoltà* . Jeman : Università Carolo -Wilhelmina.
25. Thakur, NL, Hensschel , U., Krasko , A., Anil, AC & Muller, WEG 2003. Attività antibatterica dello sponse *Suberiti domuncula* e i suoi primimorfi : potenziale base per la chimica difesa. *microbiolo acquatico Ecol* 31: 77-83.
26. Wiens , M., Luckas , B., Brummer , F., Ammar , MSA, Steffen, R. & Batel , R. 2003. Acido okadaico : una potenziale molecola di difesa per lo sponse *Suberiti domuncula* . *Mar Biol* 142: 213-223.

27. Yan, L., Boyd, KG & Burgess, JG 2002. L'attaccamento alla superficie ha indotto la produzione di composti antimicrobici da parte di batteri epifiti marini utilizzando la coltivazione modificata di bottiglie a rullo. *mar Biotechnologie* 4: 356-366.
28. Yan, L., Boyd, KG, Adams, DR & Burgess, JG 2003. Induzione di specie incrociate specifiche per biofilm di composti antimicrobici nei bacilli. *Appl Environ Microbiol* 69: 3719-3727.
29. Zheng , L., Chen, H., Han, X., Lin, W. & Yan, X. 2005. Screening antimicrobico e isolamento del composto attivo dal batterio marino NJ6-3-1 associato allo sponge *Imeniacido perleve* . *Rivista mondiale di microbiologia e biotecnologia* 21:201-206 .

