

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBIOTICA DE LAS MACROALGAS DE LAS COSTAS DE MICHOACAN, MEXICO

DE LARA-ISASSI, G., SOBRINO-FIGUEROA, A., LOZANO RAMIREZ C., PONCE MARQUEZ M. E. & DRECKMAN ESTAY K.

Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Laboratorio de Ficología, División C.B.S., Av. Michoacán y la Purísima, Col. Vicentina, D.F. C.P. 09340. APDO. 55-535. México.

RESUMEN: Las sustancias con efectos medicinales extraídos de algas marinas han recibido poca atención, ya que la mayoría de los estudios ficológicos se han enfocado a la taxonomía y a la distribución. Mediante la realización de este proyecto, se espera contribuir al conocimiento de los recursos algales marinos de nuestro país, en especial de las costas del Estado de Michoacán, además de desarrollar una nueva área de investigación científica en México, que es la ficología farmacológica. La identificación de la posterior caracterización química de los extractos que hayan presentando mayor actividad. A mediano plazo se evaluará la factibilidad de explotar este recurso para fines farmacológicos. Se realizaron dos colectas, en las costas de Michoacán, una durante la época de estiaje, en diciembre de 1987 y otra en la época de lluvias, en mayo de 1988. El material colectado se procesó para obtener un extracto, el cual se probó siguiendo la técnica contra bacterias patógenas Gram + y Gram -, se evaluó el efecto antibiótico por la aparición de halos de inhibición. De las 16 especies procesadas, 9 mostraron tener alguna actividad antibiótica. Sólo *Gelidium selerothallum* Taylor mostró una variación estacional referente a su actividad. Se considera que es importante impulsar esta línea de investigación y evaluar la factibilidad de uso de estas sustancias para fines farmacéuticos.

ABSTRACT: Substances with medicinal effects extracted from marine algae have received few attention, most phycological studies being focused on taxonomy and distribution. In this paper, we attempt to contribute to the marine algal resources knowledge in México, especially in Michoacan coasts, and also to initiate a new field of development: Pharmacological Marine Phycology in México. Following the scanning of algae, which contain effective antibiotic substances, an attempt is made for the chemical characterization of the main active principles. Further evaluation will be made to manage active algae as a pharmacological resource. Two algal collections, were made the first one during the dry season (december 1987) and the later during the rainy season (may 1988). The samples collected were processed in order to obtain algal extracts. The homogenized extracts were tested against Gram + and Gram - bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Shigella sonnei*. Measurement of antibacterial effects were made in terms of the presence (and width) of inhibitory zones borders in the isolated cultures. Of the sixteen species tested, nine showed activity against some bacteria. Only *Gelidium selerothallum* Taylor (Rhodophyta, Gelidiales) showed a positive variation in seasonal activity distribution. The need to promote the line of research shown in this paper and evaluate the feasibility of these substances in pharmacology is also stressed.

INTRODUCCION

La extensión de océanos y mares en nuestro planeta y la gran variedad de organismos que en ellos habitan, que presentan sustancias con posibilidades farmacológicas y médicas hacen del mar una fuente potencial de fármacos y un campo abierto a la investigación en Farmacología marina, de tal manera que día a día surgen nuevos traba-

jos de investigación que nos permiten conocer sustancias de origen marino que presentan propiedades curativas; sin embargo, la mayoría de los estudios efectuados, sobre este tema, han sido desarrollados en organismos animales tales como esponjas, poliquetos, moluscos y equinodermos (GREEN, 1977; RUGGIERI, 1976) olvidando un poco que las algas forman parte de la comunidad marina y que a pesar de su gran diversidad y abundancia han sido

ignoradas como una fuente potencial de medicamentos, ya que se les ha dado mayor importancia como alimento, forraje, fertilizante y combustible.

Los primeros estudios que existen sobre el poder curativo de las algas, provienen de la antigua China, en donde algunas especies de algas como *Digenia simplex* se utilizaba como vermífugo; en tratamientos contra la hidropesía, para combatir padecimientos intestinales y para evitar hemorragias.

El primer reporte acerca de las propiedades antibióticas de las algas fue hecho por SHIRAHAMA en 1941, el cual aisló una sustancia de *Cystophyllum hakodatense* que tiene efecto sobre *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactobacillus helveticus*.

MCCUTCHEON y colaboradores en 1949, encontraron que los extractos hechos de *Cymathaera tripicata* inhiben el crecimiento de *Bacillus subtilis*.

PRATT y colaboradores (1951), encontraron que extractos de varias algas marinas, solubles en éter, inhibían el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, MAUTNER en 1953 aisló de *Rhodomela larix* un fenol con principio activo. De los extractos de Rodophytas hechos por CHESTER y SCOTT en 1956, varios probaron tener efectos inhibidores. Existen estudios similares hechos por Vacca y WALSH (1954), ROOS (1957), BRYAN (1957), KAMINOTO (1957), SATO y SAMESHIMA (1958).

NIGRELLI (1958), BURKHOLDER y colaboradores (1960), estudiaron las algas marinas de Puerto Rico y encontraron que de 150 especies, 66 tenían actividad antibiótica; ALLEN y DAWSON (1960) trabajaron con algas marinas tropicales colectadas en América Central y N.O. de México, encontrando en algunas actividad antibiótica; MARTINEZ NADAL (1961, 1963, 1966) trabajó en este mismo campo con algas marinas de Puerto Rico; ALMODOVAR (1964), encontró que existen fluctuaciones estacionales en la actividad antibiótica de ciertas algas. HORSEY y HIDE (1974 y 1976) en un estudio de las algas marinas inglesas, encontraron que de 151 especies, 54 tenían actividad antibiótica, que en la mayoría de los casos estaba relacionada con la estación del año y que sólo muy pocas presentaban esta actividad todo el año. Otros trabajos en este campo han sido hechos por FENICAL (1975), HOPPE (1979), HASHIMOTO (1979), GLOMBITZA (1979), HENRIQUEZ y colaboradores (1979), CACCAMESE y colaboradores (1980, 1981, 1985), y PESANDO (1984). HOPPE (1982), hace una revisión a nivel mundial de los diferentes trabajos sobre sustancias con poder antibiótico obtenidas de algas.

En nuestro país los estudios en este campo son muy escasos ya que la investigación ficológica se ha enfocado principalmente a estudios taxonómicos, ecológicos y de distribución; los pocos reportes que se tienen acerca de la actividad antibiótica de algas mexicanas han sido hechos en su mayoría por investigadores extranjeros.

Por la carencia de estudios acerca de la actividad antibiótica de las especies algales del litoral mexicano se pretende con este trabajo fomentar la investigación en este campo, para poder evaluar a futuro el uso de las algas como una fuente alternativa de medicamentos.

DESCRIPCION DE AREA DE ESTUDIO

El Estado de Michoacán de Ocampo, se encuentra ubicado en la costa oeste de la República Mexicana entre los 20° 23' 27" y los 17° 54' 44" Lat. N y entre los 100° 03' 32" y 103° 44' 29" Long. W., extendiéndose dentro de la zona tropical, su litoral corre NW-SE teniendo una longitud de 261.5 km (TAMAYO, 1980).

La topografía consiste en afloramientos rocosos tales como acantilados, puntas rocosas, riscos flanqueados por playas arenosas constituyendo ambientes mixtos, lo que origina una gran diversidad de hábitats para el establecimiento de las algas; lo anterior aunado a las condiciones fisicoquímicas del agua circundante, dan como resultado el establecimiento de complejas comunidades algales.

Las colectas se realizaron en tres localidades: Bahía de Maruata, Faro de Bucerías y Las Peñas. Las tres bahías presentan una porción arenosa flanqueada por ambos lados de formaciones rocosas en donde existen acantilados, riscos, plataformas rocosas, fosas de marea y canales de corriente.

METODOLOGIA

Se realizaron 2 salidas de campo para la colecta de material ficológico: la primera en diciembre de 1987 (época de estiaje) y la segunda salida se realizó en mayo de 1988 (época de lluvias).

Las colectas se realizaron de manera puntual, en la zona mesolitoral. Las algas colectadas se separaron por especie y se colocaron en bolsas de plástico y se congelaron de inmediato para su traslado al laboratorio, su posterior identificación y procesamiento. De cada una de las especies se prepararon 2 extractos: un extracto acuoso y otro etanólico (Fig. 1). Los extractos se hicieron con 10 g de talo algal (peso húmedo) que se homogenizó con 50

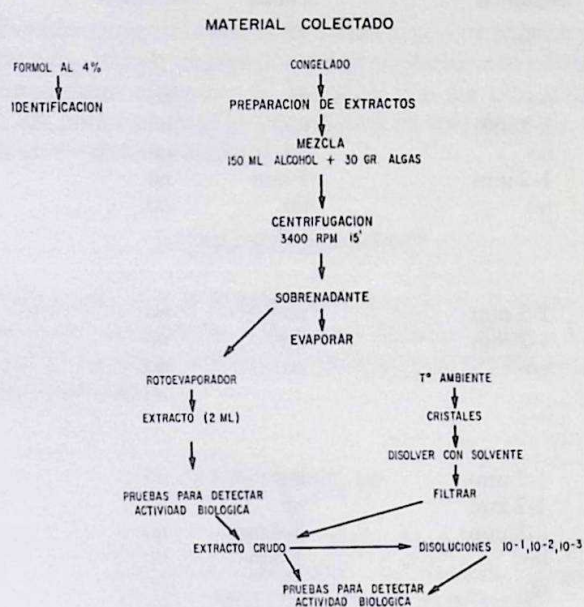


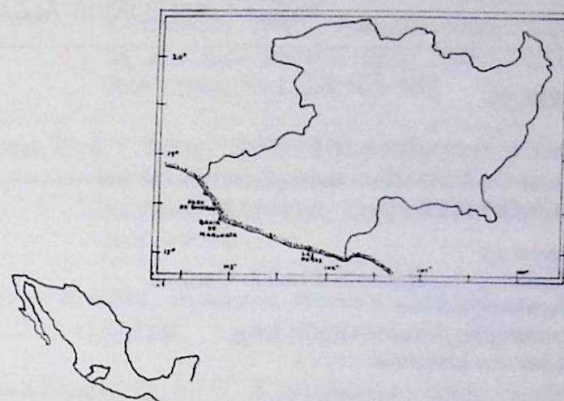
Fig. 1.- Diagrama de flujo.

ml. de alcohol etílico absoluto durante 15-20 min en un mixer Waring.; El homogenizado se centrifugó posteriormente a 3400 rpm durante 15 min. El sobrenadante se sometió a rotoevaporación para eliminar el solvente y así obtener la fracción acuosa (DE LARA, 1972; SREENIVASARAO & PAREKH, 1981).

Una vez preparado el extracto acuoso se decantó y se agregó 5 ml. de etanol absoluto con lo que se disolvió la fracción hidrofóbica adherida a las paredes (SREENIVASARAO & PAREKH, 1981).

Para probar la actividad antibiótica de los extractos se usaron discos estériles de papel filtro de 5 mm de diámetro los cuales se cargaron asépticamente con 0.1 ml del extracto algal a probar y siguiendo las recomendaciones de DUFF *et al.* (1966).

Los discos se probaron en 2 cultivos puros de bacterias patógenas: *Staphylococcus aureus* (gram +) y *Shigella sonnei* (gram -).



Mapa 1. Localización del Estado de Michoacán, México.

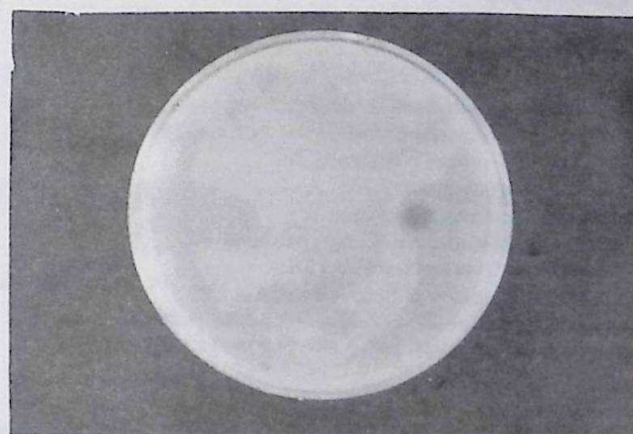


Fig. 2.- Zonas de inhibición presentadas por *Tayloniella dictyurus* (J.Ag.) Kylin

TABLA 1.- ESPECIES DE ALGAS QUE PRESENTAN ACTIVIDAD ANTIBIOTICA

DIVISION	Staphylococcus aureus		Shigella sonni	
	extracto acuoso	extracto etanólico	extracto acuoso	extracto etanólico
CHLOROPHYTA				
<i>Caulerpa</i> sp.	no	no	no	no
<i>Cladophoropsis robusta</i> Setchell & Gardner	1-2 mm	1-2 mm	no	no
<i>Codium jiraffa</i> Silva	no	no	no	no
<i>Enteromorpha flexuosa</i> (Roth) J.Ag.	1-2 mm	1-2 mm	1 mm	no
<i>Ulva lactuca</i> Linnaeus	no	no	no	no
PAHEOPHYTA				
<i>Padina crispata</i> Thivy	no	2-3 mm	no	no
<i>Padina divoillaci</i> Hoyt	1-2 mm	1-2 mm	no	no
<i>Sargassum</i> sp.	no	no	no	no
RHODOPHYTA				
<i>Gelidium sclerophyllum</i> Taylor	1-2 mm	1-2 mm	no	no
<i>Grateloupia abbreviata</i> Kylin	2.5 mm	1-2 mm	no	no
<i>Grateloupia filicina</i> (Wulfen) C.Ag.	2-3 mm	2-3 mm	3-4 mm	no
<i>Grateloupia prolongata</i> J.Ag	1-1.5 mm	no	1 mm	no
<i>Amphiroa beaouvoisi</i> Lamoroux	no	no	no	no
<i>Centroceras clavulatum</i> (C.Ag) Montagne	no	no	no	no
<i>Tyloriella dictyurus</i> (J.Ag) Kylin	1-2 mm	1-2 mm	1-2 mm	1-2 mm
<i>Laurencia clarionensis</i> Setchell and Gardner	1-3 mm	no	4-5 mm	4-5 mm

Después de un período de incubación de 24 hrs. se midieron los halos de inhibición.

RESULTADOS Y DISCUSION

De las 16 especies procesadas, 10 especies mostraron tener actividad sobre al menos una cepa bacteriana (Tabla 1). Se observó mayor actividad antibiótica de los extractos contra la cepa de *Staphylococcus aureus* (gram +). Con extractos de otros organismos como esponjas, equinodermos, ascidias y moluscos se ha observado algo similar, siendo las bacterias Gram + más sensibles a sus efectos antibióticos.

El significado de la presencia de este tipo de sustancias antimicrobianas ha sido estudiada por SIEBURTH (1964), el cual menciona que estas sustancias posiblemente sirvan como control de las bacterias epifitas, principalmente en la época en que aparecen las estructuras reproductoras. Debido a que la mayoría de las algas probadas con excepción de *Grateloupia abbreviata* kylin se en-

contraban en estado vegetativo; posiblemente demuestre que no solo cuando aparecen las estructuras reproductoras, es cuando el alga presenta actividad antibiótica y que esta actividad está asociada posiblemente a otro tipo de factores, tales como la herbivoría o la competencia.

Asimismo observamos que sólo una especie de *Gelidium sclerophyllum* Taylor mostró tener variación estacional en la actividad antibiótica, ya que los talos colectados durante la época de lluvias no presentaron esta actividad, mientras que en material colectado en la época de estiaje si la presentó.

CONCLUSIONES

El 62% de las especies estudiadas presentó actividad antibiótica en contra de cuando menos una de las cepas de bacterias usadas. El 31% de las especies probadas tuvieron actividad contra *Shigella sonni* (Gram -). El 31% de las especies procesadas mostró actividad contra ambas cepas bacterianas.

Sólo *Gelidium sclerophyllum* Taylor presentó variación estacional en cuanto su actividad antibiótica.

Los extractos acuosos presentaron mayor actividad que los etanólicos.

Debido a que más del 50% de las especies algales probadas presentaron alguna actividad antibiótica se considera importante fomentar la investigación en este campo para así poder evaluar la factibilidad de uso de estas sustancias con fines farmacéuticos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Fundación RICARDO J. ZEVEDA así como a la Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa, el apoyo económico brindado para la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS

- ALLEN, M.B. & E. Y. DAWSON, 1960. Production of antibacterial substances by benthic tropical marine algae. *J. Bacteriol.* 79:454-460.
- ALMODOVAR, L.R., 1964. Ecological aspects of some marine algae of Puerto Rico. *Bot. Mar.* 2:149-156.
- BOLD, H. C. & M. J. WYNNE, 1984. *Introduction to the algae. Structure and Reproduction*. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs N.J. 720 p.
- BRYAN, P.W., 1957. In: *Symposium of Microbial Ecology* Society for General Microbiology, Cambridge University Press. 19 p.
- BURKHOLDER, P.R. L. M. BURKHOLDER & L. R. ALMODOVAR, 1960. Antibiotic activity of some marine algae of Puerto Rico. *Bot. Mar.* 11 (1/2):325-342.
- CACCAMESE, S.R. R. AZZOLINA, G. FURNARI, M. CORMACI & S. GRASSO, 1980. Antimicrobial and antiviral activities of extracts from mediterranean algae. *Ibid.*, 23:285-288.
- R. AZZOLINA, G. FURNARI, M. CORMACI & S. GRASSO, 1981. Antimicrobial and antiviral activities of some marine algae from eastern Sicily. *Ibid.*, 24:365-367.
- R. M. FOSCANO, G. FURNARI & M. CORMACI, 1985. Antimicrobial activities of red and brown algae from southern Italy coast. *Ibid.*, 28:505-507.
- CHESTER, C. & J. SCOTT, 1956. The production of antibiotic substance by seaweeds. In: *Second International Seaweed Symposium*, Pergamon N.Y. 49:53.
- DAWES, C.J. 1984. *Botánica Marina*. Ed. Limusa Mex. 673 pp.
- DE LARA-ISASSI, G., 1972. *A preliminary study on the toxic and antibiotic properties of twenty-eight species of marine benthic algae from California and Mexico*. Tesis de maestría. University of Southern California. 59 pp.
- DUFF C.B. 1966. The antibacterial activity of marine planktonic algae. *Canad. Microbial.* 12 (5):134-143.
- FENICAL, W. 1975. Halogenation in the Rhodophyta a review. *J. Phycol.* 11:245-259.
- GLOMBITZA, K.W. 1979. Antibiotics from algae. In: *Marine algae In Pharmaceutical Science* (Ed. H.A. Hoppe et al) Walter de Gruyter, Berlin. 303-342 p.
- GREEN, G. 1977. Ecology of Toxicity in Marine Sponges. *Mar Biol.* 40:207-215.
- HASHIMOTO, Y. 1979. *Marine Toxins and other Bioactive Marine Metabolites*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo. 36 p.
- HOPPE, H.A. 1979. Marine algae and their products and constituents in Pharmacy. In: *Marine Algae in Pharmaceutical Science* (Ed. by H.A. Hoppe et al). Walter de Gruyter, Berlin. 25-119 pp.
- HORNSEY, I.S. & D. HIDE, 1976. The production of antimicrobial compounds by British Marine Algae. I Antibiotic-producing marine algae. *Br. Phycol. J.* 11:63-67.
- MARTINEZ-NADAL, N.G. 1961. Antibiotic properties of *Sargassum natans* from Puerto Rico. *J. Amer. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* 50:356.
- L. V. RODRIGUEZ & C. CASILLAS, 1963. Low Molecular

- weight carbohydrates in *Sargassum natans* from Puerto Rico. *J. Pharm. Sci.* 52:498.
- _____. C. CASILLAS, L. V. RODRIGUEZ, J. RODRIGUEZ & L. TORRES. 1966. Low toxic effect on antimicrobial substances from marine algae. *Bot. Mar.* 9:62-63.
- MAUTNER, H., G. M. GARDNER & R. PRATT. 1953. Antibiotic activity of seaweed extracts *Rhodome-la larix*. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.* 42:249-296.
- MC CUTCHOEN, R. *et al.* 1949. *J. Amer. Pharmac. Assoc. Sci. Ed.* 38, 196.
- NIGRELLI, R.F. 1958. Dutchman's baccy juice or growth-promoting and growth inhibiting substances of marine origin. *Trans. N.Y. Acad. Sci. Series* 11:248-262.
- PESANDO, D. & B. CARAN 1984. Screening of marine algae from the French mediterranean coast for antibacterial and antifungal activity. *Bot. Mar.* 27:381-386.
- PRATT, R.H., H. MAUTNER, G. M. GARDNER, Y. SHA & J. DUFRENOY 1951. Report on the antibi-
tical activity of seaweed extracts. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.* 40: 575-579.
- RUGGIERI, G.D. 1976. Drugs from the Sea (Marine Orga-
nisms with a Novel Chemical Consti-
tuents as Excellent Sources of New
Drugs). *Science* 194 (29): 491-497.
- ROOS, H. 1957. Untersuchngen uber das Vorkommen an-
timikrobieller substanzen in Meersealgen
Kieler *Meeresforsch.* 13: 41-58.
- SHIRAHAMA, K.L. 1942. *Fac. Agr. Hokkaido Imp. Univ.*
49: 1-93.
- SIEBURTH J.M. 1964. Antibacterial substance produced
by marine algae. *Revelop Ind. Microbiol.*
5: 124-134.
- SREENIVASA-RAO, P & K. S. PAREKH, 1981. Antibacterial
activity of Indian Seaweeds extracts. *Bot. Mar.* 24: 557-582.
- VACCA, D & R. WALSH, 1954. The antibacterial extract
obtained from *Ascophyllum nodosum*. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.* 43: 24-26.