

Actividad antibacteriana de algas marinas de Oaxaca, Pacífico Tropical Mexicano

G. De Lara-Isassi, S. Álvarez-Hernández y C. Lozano-Ramírez.

Laboratorio de Ficología Aplicada, Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Apartado 55-535. México, D. F. 09340.

(Rec. 13-III-1995. Rev. 14-VI-1995. Ac. 14-VIII-1995)

Abstract: A total of 18 algal species were collected (31 samples) in eight localities of Oaxaca state coast, Mexico. Ethanolic and acetonic extracts were obtained and tested against five pure strains of Gram positive and Gram negative bacteria. The acetonic extracts of nine species were active against *Staphylococcus aureus*, five species were also active against *Streptococcus pyogenes* (both Gram positive). The highest activity was found in the acetonic extract of the Rhodophyta *Jania tenella* (Kützinger) Grunow, with inhibition zones of 22 mm against *Staphylococcus aureus* and 18 mm against *Streptococcus pyogenes*. The remainder active species showed a slight activity with inhibition zones from 12 to 14 mm. None of the ethanolic extracts were active. No sensibility of *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* and *Shygella sonnei* was observed.

Key words: Antibiosis, antibacterial activity, marine algae, biological activity.

Actualmente la búsqueda de compuestos con actividad biológica en los organismos marinos, particularmente en las macroalgas, ha interesado a un mayor número de investigadores. Sin embargo, los trabajos de aislamiento de dichas sustancias son escasos y la investigación sobre la posibilidad de que éstos sean utilizados como medicamentos con aplicación específica para el hombre es aislada. Algunas de estas sustancias pueden servir como una alternativa en el tratamiento en contra de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos comerciales.

Desde hace XX siglos, la medicina tradicional China ha utilizado a las macroalgas marinas para curar enfermedades como el bocio, combatir desórdenes estomacales y de hipertensión, entre otras (Schwimmer y Schwimmer 1955). Desde principios de este siglo se han probado los extractos de algas marinas como inhibidores del crecimiento de bacterias patógenas para el hombre, uno de los primeros trabajos que reporta esta característica lo realizaron Mautner *et al.* en 1953, ellos encontraron que el extrac-

to del alga *Rhodomela larix* (Turner) C. Agardh inhibió el crecimiento bacteriano, aislando un compuesto fenólico brominado que fue el responsable de la actividad presentada. Martínez-Nadal *et al.* (1963) trabajaron con algas de Puerto Rico y llegaron a la conclusión de que los compuestos Sarganina y Chonalgina, aislados de *Sargassum natans* (Linnaeus) Gailion y *Chondria littoralis* Harvey respectivamente, poseen una mejor respuesta antibiótica que la penicilina, la estreptomycin y la clorotetraciclina, inhibiendo el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterium smegmatis*. Burkholder *et al.* (1960) investigaron 20 especies de macroalgas como inhibidores del crecimiento de dermatofitos, bacterias Gram positivas, Gram negativas y bacterias marinas (No. 746, No. 49, No. 29, No. 30). Henríquez *et al.* (1979) trabajaron las algas chilenas e informaron que 17 algas de las 33 estudiadas (51.5%) fueron activas contra bacterias patógenas al hombre. Norris y

CUADRO 1

Actividad antibacteriana de macroalgas de la costa de Oaxaca

Especies	Localidad	<i>Staphylococcus aureus</i> Gram positivo Extracto acetónico mm	<i>Streptococcus pyogenes</i> Gram positivo Extracto acetónico mm
Chlorophyta			
<i>Chaetomorpha antennina</i>	Cacalotepec		
	Zicatela	12	-
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	Cacalotepec	12	14
	Carrisalillo	-	-
	Zicatela	-	-
	Zipolite	12	-
<i>Halimeda discoidea</i>	Zipolite	-	-
<i>Ulva lactuca</i>	Carrisalillo	-	-
	Zipolite	-	-
	Punta Arena	-	-
<i>Cladophoropsis robusta</i>	Cacalotepec	-	-
<i>Codium giraffa</i>	Cacalotepec	-	-
<i>Caulerpa sertularioides</i>	Cacalotepec	-	-
<i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>peltata</i>	Zipolite	-	-
Rhodophyta			
<i>Amphiroa beauvoisii</i>	Cacalotepec	14	12
	Zicatela	14	14
<i>Amphiroa mexicana</i>	Tangolunda	12	-
<i>Rhodymenia pacifica</i>	Cacalotepec	-	-
<i>Hypnea spinella</i>	Puerto Escondido	-	-
	Carrisalillo	-	-
	Zipolite	-	12
<i>Jania tenella</i>	Tangolunda	22	18
Phaeophyta			
<i>Chnoospora minima</i>	Cacalotepec	12	13
	Zicatela	-	-
<i>Sargassum liebmanii</i>	Zipolite	12	11
	Tangolunda	-	-
<i>Padina durvillaei</i>	Zipolite	-	-
	Tangolunda	12	-
<i>Padina gymnospora</i>	Puerto Escondido	-	-
	Zicatela	-	-
<i>Padina crispata</i>	Playa Muertos	-	-

También se hicieron pruebas con *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* y *Enterobacter* sp. Gram negativas; ningún extracto tuvo actividad. En los extractos etanólicos no hubo actividad, por lo que no se reportan.

Fenical (1982) realizaron estudios similares con especies algales de la costa de Belice, interpretando la presencia de metabolitos secundarios con acción antibiótica, como una estrategia de defensa contra la herbivoría y de ataque en contra de bacterias y hongos presentes en el medio.

Entre los trabajos más recientes publicados sobre el tema tenemos los de Ballantine *et al.* (1987) con macroalgas de Puerto Rico; Campos-

Takaki *et al.* (1988) con algas de la costa noreste de Brasil; Padmini *et al.* (1988) y Vidyavathi y Sridhar (1991) con la ficoflora de la India.

La investigación más reciente sobre actividad antibiótica de algas de las costas mexicanas, está representada por los trabajos de De Lara-Isassi *et al.* (1989) con macroalgas de la costa de Michoacán, encontrando actividad en el 56% de las especies estudiadas; De Lara-

Isassi y Ponce-Márquez (1991) en su trabajo con algunas algas del estado de Veracruz, encontraron un 33% de especies activas y De Lara-Isassi (1991) que trabajó con representantes de la flora ficológica del estado de Sonora y Sinaloa, hallando un 62% de especies activas.

Las algas fueron recolectadas manualmente o con la ayuda de una espátula en la zona intermareal, de las siguientes localidades: Cacalotepec, Puerto Escondido, Carrisalillo, Punta de Zicatela, Playa Zipolite, Playa Muertos, Punta Arena y Bahía de Tangolunda en la costa del estado de Oaxaca, México. Se limpió el material con agua de mar para quitar el exceso de arena y organismos epífitos. Se colocaron los diferentes géneros en bolsas de plástico, drenando el exceso de agua por gravedad y se congelaron las muestras para su transporte. En el laboratorio el material fue descongelado a temperatura ambiente, se lavó con agua destilada y bajo el microscopio de disección se limpió de epífitos. Una parte del material se preservó en formol glicerinado para su identificación y elaboración de ejemplares de herbario. Se colocó el resto del material algal sobre papel absorbente para retirar el exceso de agua (Pesando y Caram 1984). Para la preparación de los extractos se trituraron 10 g de material algal semihúmedo con 50 ml del disolvente a utilizar (etanol o acetona), el extracto fue centrifugado a 3 400 r.p.m. (1 000xg) durante 20 min, el sobrenadante fue sometido a rotoevaporación para separar el disolvente, los cristales así obtenidos se resuspendieron con 5 ml del disolvente de extracción (Sreenivasa y Parekh 1981). Para la concentración de los discos de difusión se utilizaron discos de papel filtro Whatman No. 42 de 6 mm de diámetro, los cuales se cargaron asépticamente con 0.1 ml de los extractos, se dejaron evaporar e inmediatamente después se montaron los bioensayos. Las pruebas se llevaron a cabo por triplicado en cajas de Petri desechables estériles, a las que se les agregó 15 ml del medio de cultivo (Agar soya-tripticaseína) previamente inoculado con 1 ml de la cepa bacteriana a inhibir (Chabert 1963), se dejó solidificar el medio y se colocaron los discos cargados con el extracto correspondiente, mas un testigo con el disolvente de extracción. Los microorganismos probados fueron *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* (Gram positivas) y *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* y *Shyella sonnei* (Gram negativas), las ca-

jas se dejaron incubar a 37 °C durante 24 hs, después de lo cual se midieron los halos de inhibición con un vernier.

Las especies algales probadas fueron: ocho de la División Chlorophyta: *Chaetomorpha antennina* (Bory) Kützing, *Cladophoropsis robusta* Setchell & Gardner, *Codium giraffa* Silva, *Enteromorpha intestinalis* (Linnaeus) Link, *Halimeda discoidea* Decaisne, *Ulva lactuca* Linnaeus, *Caulerpa sertularioides* (S. G.Gmelin) Howe, *Caulerpa racemosa* (Forsskal) J. Agardh var. *peltata* (Lamouroux) Eubank. Cinco pertenecientes a la División Rhodophyta: *Amphiroa beauvoisii* Lamouroux, *Amphiroa mexicana* Taylor, *Rhodymenia pacifica* Kylin, *Hypnea spinella* (C. Agardh) Kützing y *Jania tenella* (Kützing) Grunow y cinco de la División Phaeophyta: *Chnoospora minima* (Hering) Papenfuss, *Sargassum liebmannii* J. Agardh, *Padina durvillaei* Bory, *Padina gymnospora* (Kützing) Sonder y *Padina crispata* Thivy.

El 50 % de los extractos acetónicos de las 18 especies estudiadas, tuvieron actividad en contra de la cepa de *S. aureus*, cinco de ellos, también fueron activos en contra de *Streptococcus pyogenes*, ambas cepas Gram positivas. No se observó actividad antibacteriana en ninguno de los extractos etanólicos. Ninguno de los extractos algales probados presentó actividad en contra de las cepas Gram negativas *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* y *Shyella sonnei*.

El extracto acetónico de la Rhodophyta *J. tenella* fue el que presentó mayor actividad, con halos de inhibición de 22 mm \pm 0.8 contra *S. aureus* y de 18 mm \pm 1.6 contra *Streptococcus pyogenes*, siendo este valor la mitad del observado en los halos de inhibición producidos por los discos de 5 cinco unidades de penicilina (De Lara-Isassi 1991).

Los extractos de *C. antennina* y *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta), *A. beauvoisii*, *A. mexicana*, *H. spinella* (Rhodophyta), *Chnoospora minima*, *S. liebmannii* y *P. durvillaei* (Phaeophyta), presentaron una moderada actividad antibacteriana, debido a que sus halos de inhibición fluctuaron entre 12 mm y 14 mm. (Cuadro I).

El que sólo se haya presentado actividad en los extractos acetónicos, nos indica que los metabolitos responsables de la misma son solubles en este solvente, lo que concuerda con los resultados de Sreenivasa y Parekh (1981); Vidya-vathi y Sridhar (1991) y Karl-Gunnar y Srivas-

tava (1987), quienes encontraron que en los bioensayos realizados utilizando acetona como solvente de extracción siempre mostraron una mejor respuesta antibiótica en general, que los efectuados con etanol u otro solvente de mayor polaridad, esto puede indicarnos que los compuestos que presentan actividad comprenden principalmente grupos fenoles, ácidos grasos y lípidos no saponificables (Sreenivasa y Parekh 1981), lo cual ha sido corroborado por Vidyavathi y Sridhar (1991) que identificaron estos compuestos al fraccionar extractos crudos en separaciones líquido a líquido, para usar después cromatografía gas-líquido y espectrofotometría.

Las bacterias Gram positivas fueron más susceptibles a los extractos algales activos lo que ya había sido encontrado por Pesando y Caram (1984), Padmini *et al.* (1988) y Campos-Takaki *et al.* (1988), estos autores sugieren que la diferencia de sensibilidad entre las bacterias Gram positivas y las bacterias Gram negativas, se debe a la naturaleza química de los extractos, Sreenivasa y Parekh (1981) y Campos-takaki *et al.* (1988), observaron que al fraccionar algunos extractos crudos, sus fracciones sí presentan actividad contra bacterias Gram negativas y esto puede deberse a que los metabolitos secundarios responsables de esta actividad, quedaron enmascarados en los extractos crudos.

La actividad antibacteriana encontrada en los extractos crudos fue potente, si se compara con la de antibióticos comerciales, siendo el valor encontrado mayor, del observado en los halos de inhibición producidos por los discos de 5 unidades de penicilina, De Lara-Isassi (1991); por lo que se requiere aislar, identificar y purificar los compuestos responsables para poder medir y evaluar su actividad.

El alto porcentaje de especies activas encontradas nos confirma la existencia de sustancias de origen algal con actividad biológica y nos muestra el potencial que tienen las algas para ser estudiado.

REFERENCIAS

- Ballantine, D. L., W. H. Gerwick, S. M. Velez, E. Alexander & P. Guevara. 1987. Antibiotic activity of lipid-soluble extracts from Caribbean marine algae. *Hydrobiologia* 151/152: 463-469.
- Burkholder, R., L. M. Burkholder & L. R. Almodovar. 1960. Antibiotic activity of some marine algae from Puerto Rico. *Botanica Marina* 2: 149-156.
- Campos-Takaki, G. M., M. B. S. Diu, M. L. Koenig & E. C. Pereira. 1988. Screening of marine algae from Brazilian northeastern coast for antimicrobial activity. *Botanica Marina* 31: 375-377.
- Chabbert, Y. A., 1963. L'antibiogramme. Coll "Techniques de base" Tourelle, Saint Mandé, Francia. 257 p.
- De Lara-Isassi, G., A. Sobrino-Figueroa A, C. Lozano-Ramírez, M. E. Ponce-Marquez & K. Dreckmann-Stay. 1989. Evaluación de la actividad antibiótica de las macroalgas de las Costas de Michoacán, México. *Bol. Inst. Oceanog. Venezuela, Univ. Oriente* 28: 99-104.
- De Lara-Isassi, G. & M. E. Ponce-Marquez. 1991. Detección de la actividad antibacteriana de algunas algas de Playa Paraiso, Veracruz, México. *BIOTAM* 3: 20-26.
- De Lara-Isassi, G. 1991. Propiedades antibióticas de algunas especies de algas marinas bentónicas. *Hydrobiológica* 1: 21-28.
- Henriquez, P. A., R. Candia, R. Norambuena, M. Silva & R. Zemelman. 1979. Antibiotic properties of marine algae II. Screening of Chilean marine algae for antimicrobial activity. *Botanica Marina* 22: 451-453.
- Karl-Gunnar, R. & L. M. Srivastava. 1987. Fatty acids as antimicrobial substances in brown algae. *Hydrobiologia* 151/152: 471-475.
- Martinez-Nadal, N. G., L. V. Rodriguez & C. Casillas. 1963. Sarganin and Chonalgin, new antibiotic substances from marine algae from Puerto Rico. *Antimicrob. Agents Chemother.* 27: 68-72.
- Mautner, H. G., G. M. Gardner & R. Pratt. 1953. Antibiotic activity of seaweed extracts II. *Rhodospira larix*. *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* 42: 294-296.
- Norris, J. N. & W. Fenical. 1982. Chemical defense in tropical marine algae. *Smiths. Contr. Mar. Sci.* 12: 417-431.
- Padmini, P. S. R., P. R. S. Sreenivasa & M. Karmarkar. 1988. Antibacterial activity from Indian species of *Sargassum*. *Botanica Marina* 31: 295-298.
- Pesando, D. & B. Caram. 1984. Screening of marine algae from the French Mediterranean coast for antibacterial and antifungal activity *Botanica Marina* 27: 381-386.
- Schwimmer, M. & D. Schwimmer. 1955. The role of algae and plankton in medicine. Grune and Stratton, Nueva York. 185 p.
- Sreenivasa-Rao, P. & K. S. Parekh. 1981. Antibacterial activity of Indian seaweed extracts. *Botanica Marina* 24: 577-582.
- Vidyavathi, N. & K. R. Sridhar. 1991. Seasonal and geographical variations in the antimicrobial activity of seaweeds from the mangalore coast of India. *Botanica Marina* 34: 279-284.