
ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LAS MACROALGAS MARINAS MEXICANAS

BIOLOGICAL ACTIVITY OF MEXICAN MARINE MACROALGAE

GRACIELA DE LARA-ISASSI* SERGIO ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ*

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

RESUMEN

El uso potencial de compuestos con actividad biológica específica que contienen las algas marinas es muy amplio; existen sustancias con propiedades antibióticas, anticoagulantes, hemaglutinantes, antifúngicas, citotóxicas, antitumorales, entre otras. En este trabajo se determinaron las propiedades antibióticas, anticoagulantes y aglutinantes de extractos crudos de 32 especies (43 muestras) de macroalgas marinas mexicanas. Se observó que 19 de ellas inhiben en alguna medida el crecimiento bacteriano de cepas Gram + y/o Gram -, mostrando algunas mayor o igual actividad que los controles de antibióticos comerciales. La actividad anticoagulante se estudió mediante pruebas estandarizadas de coagulación de plasma, los extractos de tres especies mostraron actividad similar a la heparina y dos especies menor actividad. Se encontraron aglutininas en tres especies algales, presentándose títulos elevados, no obstante que los glóbulos no se trataron enzimáticamente para facilitar la reacción. Los resultados obtenidos en este estudio, hacen evidente que las algas marinas, tienen compuestos con actividades específicas con uso potencial en la industria farmacéutica.

ABSTRACT

The potential use of algal specific biological activity is wide, there are agglutinant activity, toxic activity, anticoagulant activity, antitumoral activity, among others. In this research it was determined the antibiotic, anticoagulant and agglutinant properties of crude extracts of mexican marine algae. It were collected 32 algal species (43 samples). Antibiotic activity was tested, in 19 were found some kind of inhibition of antibacterial growth, some of them showed the same or bigger activity than the commercial antibiotics controls. The anticoagulant activity was studied by standardised plasma clotting tests, three species extracts showed similar activity as heparin controls and two more showed less activity than the controls. It were found agglutinins in three algal species, they showed big titles nevertheless that blood did not have enzyme treatment in order to facilitate the reaction. The results obtained give the evidence that marine algae have compounds with specific biological activity with a potential use in pharmaceutical products.

Introducción

Una gran cantidad de fármacos han sido aislados a partir de la investigación fitoquímica en plantas vasculares y no vasculares, obteniendo muy buenos resultados al caracterizar los principios activos responsables del efecto curativo contra enfermedades que sufre el hombre, esto ha impulsado a la industria farmacéutica, la cual dirige algunos de sus esfuerzos y recursos de investigación hacia este campo. Sin embargo, no se ha puesto atención a las macroalgas marinas organismos que ofrecen posibilidades de extracción de sustancias con actividad biológica. No obstante, un considerable número de investigadores a nivel mundial se han dedicado a explorar la presencia de metabolitos secundarios en estos organismos que tengan una posible aplicación farmacológica.

Existen sustancias aisladas de las algas que pueden ser usadas en la industria alimenticia (Ortega, 1972; Appler y Jauncey, 1983, Black, 1955) y de transformación (Halson, 1964; Guzmán del Proo *et al.*, 1986); sustancias con actividad antibiótica (Martínez-Nadal *et al.*, 1963 y 1964; Glombitza y Klapperich, 1985); con actividad antifúngica (Pesando y Caram, 1984; Campos-Takaki *et al.*, 1988; Moreau *et al.*, 1988); insecticida (Subramonia y Kathiresan, 1988 y 1991), citotóxica (Targett, 1979; Mayer *et al.*, 1987; Numata *et al.*, 1992), anticoagulante (Deacon-Smith *et al.*, 1985; Nishino y Nagumo, 1991; Güven *et al.*, 1991), hemaglutinante (Boyd *et al.*, 1966; Hori *et al.*, 1988; Fabregas *et al.*, 1985 y 1986), antiviral (Ehresmann *et al.*, 1977; Cassady, 1990) promotora del crecimiento de plantas vasculares (Augier, 1976; Blunden, 1977; Jeannin *et al.*, 1991) y animales como moluscos (Winter y Estes, 1992). No podemos soslayar las aplicaciones que la medicina tradicional China aportó en el manejo de las algas como vermífugos, antiespasmódicos para aliviar trastornos menstruales e intestinales, así como en el tratamiento de la hidropesía (Schwimmer y Schwimmer, 1955; Hoppe, 1979). Deben tomarse en cuenta los recientes estudios de sus efectos como ionotrópicos, hipotensivos, sedantes, antiinflamatorios, anticonvulsivos y colinérgicos (Baker, 1984), por citar algunos.

Los primeros trabajos para detectar la inhibición del crecimiento de algunas cepas bacterianas Gram⁺ y Gram⁻, los realizaron Pratt *et al.* (1951) y Mautner *et al.* (1953). En el Caribe tropical se detectaron 25 especies de un total de 150, con capacidad antibiótica importante (Burkholder *et al.*, 1960; Welch, 1962; Almodovar, 1964; Ballantine y Almodovar, 1977). En Europa se ha encontrado acción antibiótica en extractos de macroalgas, de 269 probadas se

ESPECIE ALGAL	ESTADO	Ac	Et	At	Ac	Et	At	Ac	Et	At	Ac	Et	At
<i>Pardina durvillaei</i>	Guerrero	-	-	5.6	-	-	5.6	-	-	-	-	-	-
<i>Sargassum liebmanii</i>	Guerrero	16.7	-	-	-	-	-	16.7	-	4.8	-	-	-
<i>Sargassum filipendula</i>	Tamaulipas	-	-	3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sargassum pteropleuron</i>	Tamaulipas	-	-	3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chnoospora minima</i>	Oaxaca	-	-	5.6	-	-	7.6	-	-	-	-	-	-
<i>Padina durvillaei</i>	Oaxaca	-	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sargassum liebmanii</i>	Oaxaca	-	-	5.6	-	-	5.6	-	-	-	-	-	-
<i>Dictyota bartairesiana</i>	Q. Roo	-	10.5	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Dictyota cervicornis</i>	Q. Roo	-	10.5	10.5	-	10.5	10.5	-	-	-	-	-	-
<i>Styopodium zonale</i>	Q. Roo	-	-	11	-	-	-	-	-	-	-	-	10
<i>Turbinaria</i>	Q. Roo	-	-	10	-	13	17	-	-	-	-	-	11
DIVISION RHODOPHYTA													
ESPECIE ALGAL	ESTADO	Ac	Et	At	Ac	Et	At	Ac	Et	At	Ac	Et	At
<i>Amphiroa beauvoisii</i>	Oaxaca	-	-	7.6	-	-	7.6	-	-	-	-	-	-
<i>Amphiroa mexicana</i>	Oaxaca	-	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hypnea spinella</i>	Oaxaca	-	-	5.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hypnea musciformis</i>	Tamaulipas	-	-	3.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Laurencia poitei</i>	Q. Roo	-	11	11	-	-	-	-	-	-	-	-	10.5

Tabla 2. Actividad aglutinante de extractos de macroalgas de las costas mexicanas contra eritrocitos de los tipos de sangre O, A y B positivos. (-)= sin actividad; (28)= título de la prueba

DIVISION Y ESPECIE	ESTADO	TIPO DE SANGRE		
		O+	A+	B+
CHLOROPHYTA				
<i>Codium giraffa</i>	Oaxaca	2 ⁷	2 ⁷	2 ⁷
<i>Codium ithsmocladum</i>	Quintana Roo	2 ²	-	-
<i>Ulva lactuca</i>	Oaxaca	2 ⁸	2 ³	2 ¹
RODOPHYTA <i>Hypnea spinella</i>	Oaxaca	2 ⁸	2 ⁷	2 ⁶

Tabla 3. Actividad anticoagulante de extractos de macroalgas de las costas mexicanas

DIVISION Y ESPECIE CHLOROPHYTA	ESTADO	TIEMPO DE TROMBINA (min)	TIEMPO DE PROTROMBINA (min)
<i>Codium giraffa</i>	Oaxaca	>10	<10
<i>Halimeda discoidea</i>	Oaxaca	>10	>10
PHAEOPHYTA <i>Sargassum hystrix</i>	Oaxaca	>10	<10

La detección de actividad anticoagulante se llevó a cabo preparando extractos con 10 g de material algal y 10 ml de solución salina isotónica, el macerado se centrifugó a 2,000 rpm durante 10 min, el sobrenadante se filtró en un equipo Milipore^R con un filtro de 0.22 µm (Deacon-Smith *et al.*, 1985). Se preparó plasma humano normal, por centrifugación a 2,400 rpm durante 20 min, se colectó el plasma de 6 donadores y se conservó a -6 °C hasta su uso (Bernard *et al.*, 1979). Se montaron pruebas estandarizadas de coagulación de plasma por triplicado y se promedió el resultado, si la diferencia en los resultados era mayor a 5 se repetía el ensayo. Las pruebas de coagulación fueron: tiempo de trombina (Pitney y Dacie, 1953) y tiempo de protrombina (Quick, 1945), probando como anticoagulante 100 µl del extracto algal y comparando los resultados con un testigo de heparina.

Los extractos algales para probar la actividad aglutinante, se prepararon de igual forma que los realizados para probar la actividad anticoagulante. Se preparó una solución de eritrocitos al 2% en suero fisiológico, lavando 3 veces un volumen de sangre por centrifugación a 1,000-1,500 rpm durante 10 minutos desechando el sobrenadante. Se empaquetaron los glóbulos rojos centrifugándolos a 1500 rpm por 10 minutos y se añadieron 49 volúmenes de solución salina isotónica (Benett, 1976). Los ensayos de aglutinación se montaron en placas de microtitulación, utilizando volúmenes de 100 µl de solución salina en todos los pozos, 100 µl de extracto algal en el segundo pozo, a partir de éste se realizaron las diluciones dobles seriadas, agregando finalmente 100 µl de solución de eritrocitos al 2% a todos los pozos. Se incubaron las placas a temperatura ambiente, se observó la aglutinación a simple vista y se corroboró ésta observando las muestras al microscopio (Muñoz *et al.*, 1985). Como testigo se utilizó una mezcla de solución salina y solución de eritrocitos (100 µl de cada uno). Los resultados se expresaron en forma de título, como la más alta dilución doble en donde se presentó la aglutinación.

Resultados

Las especies estudiadas fueron: 10 de la División Chlorophyta: *Chaetomorpha antennina* (Bory) Kützing; *Codium giraffa* Silva; *Codium ithsmocladum* Vickers; *Enteromorpha intestinalis* (Linnaeus) Link; *Halimeda discoidea* Decaisne; *H. opuntia* (Linnaeus) Lamouroux; *H. tuna* (Ellis y Solander) Lamouroux; *Udotea flabellum* (Ellis y Solander) Lamouroux; *Ulva fasciata* Delile; *Ulva lactuca* Linnaeus. 14 especies de la División Phaeophyta: *Chnoospora minima* (Hering) Papenfuss; *Dictyota bartairesiana* Lamouroux; *D. cervicornis* Kützing; *Padina durvillaei* Bory; *P. gymnospora* (Kützing) Sonder; *Sargassum filipendula* C. Agardh; *S. fluitans* Børgesen; *S. hystrix* J. Agardh; *S. liebmanii* J. Agardh; *S. polyceratium* Montagne; *S. pteropleuron* Grunow; *Styopodium zonale* (Lamouroux) Papenfuss; *Turbinaria tricostrata* Barton; *T. turbinata* (Linnaeus), Kuntze. De la División Rhodophyta 8 especies: *Amphiroa beauvoisii* Lamouroux; *A. fragillissima* (Linnaeus) Lamouroux; *A. mexicana* W. R. Taylor; *Galaxaura oblongata* (Ellis y Solander) Lamouroux; *Gracilariopsis lemaneiformis* (Bory de St Vincent) Dawson y Foldvik; *Hypnea musciformis* (Wulfen en Jacquin) Lamouroux; *Hypnea spinella* (C. Agardh) Kützing; *Laurencia poitei* (Lamouroux) Howe.

Los resultados para las pruebas de antibiosis se observan en la Tabla 1, donde solo se consignan las especies algales activas y no se reportan los resultados obtenidos contra *Escherichia coli*, ya que ninguno de los extractos tuvo acción sobre ella. De las 32 especies probadas 19 mostraron actividad antibacteriana de las cuales 5 pertenecen a la División Chlorophyta, mostrando *Halimeda opuntia* actividad contra *Staphylococcus aureus* Gram+ y *Enterobacter aerogenes* Gram-. De las especies de la División Phaeophyta 9 inhibieron el crecimiento bacteriano, siendo *Sargassum liebmanii* la que presentó los halos de inhibición más significativos contra *Staphylococcus aureus* cepa Gram+ y *Shigella sonnei* Gram-. Fueron 5 los representantes de la División Rhodophyta que presentaron actividad, siendo los extractos de *Laurencia poitei* los que formaron un halo de inhibición mayor contra *Staphylococcus aureus* Gram+ y *Enterobacter aerogenes* Gram-.

La Tabla 2 muestra las especies que aglutinaron positivamente los eritrocitos humanos no tratados enzimáticamente, los títulos que aparecen corresponden a la más alta dilución doble que mostró aglutinación. Las especies *Ulva lactuca* (Chlorophyta) e *Hypnea spinella* (Rhodophyta) presentaron el mayor título 2⁸ contra el tipo sanguíneo O⁺, mientras que *Codium giraffa* (Chlorophyta) fue activo con los tres tipos de sangre en dilución de 2⁷. El extracto de *Codium ithsmocladum* sólo fue activo contra el tipo sanguíneo O⁺ en dilución de 2².

En la Tabla 3 se reportan los tiempos de coagulación de plasma humano como mayores o menores a 10 minutos, cabe hacer notar que en la mayoría de las especies probadas se presentaron rastros de actividad anticoagulante, no significativos para este estudio. Tres especies presentaron tiempos de coagulación mayores a 10 minutos en la prueba de tiempo de trombina: *Codium giraffa*, *Halimeda discoidea* y *Sargassum hystrix*. En la prueba de tiempo de protrombina sólo el extracto de *Halimeda discoidea* retardó la coagulación del plasma en la misma proporción que la heparina.

Discusión

La actividad antibacteriana de los extractos algales activos, no fue la misma con los tres tipos de solventes usados, presentándose un mayor número de extractos acetónicos con actividad, en segundo lugar los extractos etanólicos en comparación con la actividad de solo 2 extractos acuosos, lo cual indica que las sustancias causantes de la actividad, no son solubles en el mismo tipo de solvente. En general, los extractos que presentaron mayor efectividad correspondieron a los obtenidos con disolventes orgánicos, esto coincide con resultados obtenidos en trabajos anteriores (De Lara-Isassi, 1991; De Lara-Isassi y Ponce, 1991 y De Lara-Isassi *et al.* 1989).

Las bacterias Gram⁺ fueron más sensibles a la actividad de los extractos algales, siendo los extractos de 19 especies los que actuaron sobre *Staphylococcus aureus* y 9 contra *Streptococcus pyogenes*, resultados similares fueron encontrados por Allen y Dawson (1960), Rao y Parekh (1981), Reichelt y Borowitz (1984) y por Ballantine *et al.* (1987) por lo que se supone que las cepas Gram⁻ son más resistentes a las sustancias presentes en las algas.

La actividad diferencial que se reporta en las pruebas de antibiosis de los extractos de *Chaetomorpha antennina*, *Padina durvillaei* y *Sargassum liebmanii* colectadas en Oaxaca y Guerrero, la podemos interpretar como una variación espacial dada por las condiciones ambientales de las diferentes localidades de colecta lo que se apoya en la hipótesis de que la variación en la síntesis de metabolitos secundarios depende en gran medida de las condiciones ecológicas en las que se desarrollan las especies algales (Burkholder, 1973; Fábregas *et al.*, 1985; Ingram, 1985).

Con respecto a la actividad aglutinante se sabe que para facilitar la reacción de las aglutininas o lectinas algales, se puede tratar a los glóbulos rojos enzimáticamente (Shiomi *et al.*, 1980; Rogers *et al.*, 1982; Kamiya *et al.*, 1982; Rogers y Topliss, 1983 y Hori *et al.*, 1988). En este trabajo se utilizaron eritrocitos nativos, sin tratamiento enzimático, y los títulos obtenidos son dos veces más altos en comparación con los trabajos donde se usaron también eritrocitos sin tratamiento proteolítico (Boyd *et al.*, 1966; Rogers *et al.*, 1980; Fábregas *et al.*, 1985 y Ainouz y Sampaio, 1991). La actividad obtenida con *Ulva lactuca* concuerda con resultados obtenidos por Blunden *et al.* (1975) y Rogers *et al.* (1980). Se puede afirmar que las hemaglutininas presentes en las especies de *Codium giraffa*, *Ulva lactuca* e *Hypnea spinella*, respectivamente, poseen una fuerte acción sobre los eritrocitos de los tipos sanguíneos O y A positivos y menor poder sobre el grupo B positivo. Debido a que los integrantes del género *Codium* han presentado lectinas, se está trabajando actualmente en el aislamiento y caracterización parcial de la lectina del alga *Codium giraffa*, reportada hasta la fecha como especie endémica de México para Bahía de Petatlán, Guerrero por Silva (1979), con el fin de utilizarla en la separación de subespecies de peces susceptibles a cultivo comercial.

De los resultados de actividad anticoagulante podemos decir que los extractos que prolongaron el tiempo de coagulación del plasma, actuaron a nivel de la conversión de protrombina en trombina, al no permitir el desdoblamiento de la protrombina para convertirse en la forma activa o por haber interactuado con alguno de los factores indispensables para este proceso, por ejemplo, impidiendo la acción de la trombina sobre el fibrinógeno, posiblemente inhibiendo su acción proteolítica (Seegers, 1962; Laki, 1965). El extracto de *Halimeda discoidea* tuvo efecto en las dos pruebas, lo cual sugiere la presencia de una molécula con capacidad de actuar a dos niveles en la cascada de coagulación. El presentarse tiempos de coagulación semejantes a los obtenidos con heparina, puede evidenciar la importancia de la actividad anticoagulante de algunas algas marinas lo que nos abre caminos alternativos en la búsqueda de anticoagulantes no convencionales.

Los altos valores de actividad obtenidos con algunos extractos algales en las pruebas de bioactividad estudiadas, ponen de manifiesto que el campo de estudio de la actividad biológica de las algas está abierto a la investigación, ya que estos valores dependen de varios factores, entre los que se encuentran: las condiciones de la localidad de colecta, la estacionalidad, el tipo de metabolito(s) y el estado reproductivo del talo. También evidencian la gama de usos que tendrían las algas cuando las sustancias con actividad biológica puedan ser detectadas, aisladas y caracterizadas.

Por lo anteriormente expuesto, se concluye: que las sustancias responsables de la actividad antibacteriana son más solubles en disolventes orgánicos. Que las cepas Gram⁺ fueron más sensibles a la actividad de los extractos algales. Que algunas algas presentan diferentes tipos de actividad biológica. Que la presencia o la potencia de alguna actividad biológica específica se debe a la estacionalidad, a la variación espacial, al manejo de las muestras o al tipo de metabolitos responsables de la misma. Que el campo para la investigación en bioactividad algal está abierto. Que las algas pueden ser usadas en un futuro cercano como una fuente de sustancias bioactivas con usos diversos.

LITERATURA CITADA

- AINOUZ, L. I. Y A. H. SAMPAIO, 1991. Screening of Brazilian Marine Algae for Haemagglutinins. Bot. Mar., 34:211-214.
- ALMODOVAR, L. R., 1964. Ecological Aspects of some Antibiotic Algae in Puerto Rico. Bot. Mar., 6: 143-146.
- ALLEN, M.B. Y E. Y. DAWSON, 1960. Production of Antibacterial Substances by Benthic Tropical Marine Algae. J. Bact., 79:459-460.
- APPLER, H. N. y K. JAUNCEY, 1983. The Utilization of a Filamentous Green Algae (*Cladophora glomerata*) as a Protein Source in Pellet Feeds for *Sarotherodon* (Tilapia) *niloticus*. Aquaculture, 30: 21-30.
- AUGIER, H., 1976. Les Hormones des Algues. Etat Actuel des Connaissances I. Recherche et Tentative d'identification des Auxines. Bot. Mar., 19: 127-143.
- BAKER, J. T., 1984. Seaweeds in Pharmaceutical Studies and Applications. Hydrobiologia, 116/117: 29-40.
- BALLANTINE, D. L. Y L. R. ALMODOVAR, 1977. Ephytism and Antibiotic Activity of Extracts of Tropical Marine Algae. In: Progress in Marine Research in the Caribbean and Adjacent Regions II Symposium. Caracas, Venezuela: 23-30.
- BALLANTINE, D. L., W.H. GERWICK, S.M. VÉLEZ, E. ALEXANDER y P. GUEVARA, 1987. Antibiotic Activity of Lipid-soluble Extracts from Caribbean Marine Algae. Hydrobiologia, 151/152: 463-469.
- BENETT, D. L., 1976. Serología Clínica. Panamericana. Argentina. 224 p.
- BERNARD, J., J. P. LEVY, J. P. CLAUVEL, J. P. RAIN y B. VARET, 1979. Manual de Hematología. Toray-Masson, S. A. Barcelona, 246 p.
- BLACK, W. A. P., 1955. Seaweeds and Their Constituents in Food for Man and Animal. Chem. and Ind., 51: 1640- 1645.
- BLUNDEN, G., 1977. Cytokinin Activity of Seaweed Extracts In: Marine Natural Products Chemistry. D. J. Faulkner y W. H. Fenical, (Eds.). Plenum Press, New York: 337-344.

- BLUNDEN, G. D., J. ROGERS Y W. F. FRANHAM, 1975. Survey of British Seaweeds for Haemagglutinins. *Lloydia*, 38: 162- 168.
- BLUNDEN, G. D., J. ROGERS Y W. F. FRANHAM, 1978. Hemagglutinins in British Marine Algae and their Possible Taxonomic Value. *In: Modern Approaches to the Taxonomy of Red and Brown Algae*. Irvine, D. E. G. y J. H. Price (Eds.) Vol. 10. Academic Press, New York: 21 -45.
- BOYD, W. C., L. R. ALMODOVAR Y L. C. BOYD, 1966. Agglutinins in Marine Algae for Human Erythrocytes. *Transfusion*, 66: 82-83.
- BURKHOLDER, P.R., 1973. The Ecology of Marine Antibiotics and Coral Reefs. *In: Biology and Geology of Coral Reefs*. Jones O. A. y R. Endean (Eds.). Vol. II: Biology 1. Academic Press. New York: 117 176.
- BURKHOLDER, P. R., L. M. BURKHOLDER y L. R. ALMODOVAR, 1960. Antibiotic Activity of some Marine Algae of Puerto Rico. *Bot. Mar.*, 2: 149-156.
- CACCAMESE, S. R. AZOLINA, G. FURNARI, M. CORMACI Y S. GRASSO, 1980. Antimicrobial and Antiviral Activities of Extracts from Mediterranean Algae *Bot. Mar.*, 23: 285-288.
- CACCAMESE, S. R. AZOLINA, G. FURNARI, M. CORMACI Y S. GRASSO, 1981. Antimicrobial and Antiviral Activities of some Marine Algae from Eastern Sicily. *Bot. Mar.*, 24: 365-367.
- CACCAMESE, R. M. TOSCANO, G. FURNARI Y M. CORMACI, 1985. Antimicrobial Activities of Red and Brown Algae from Southern Italy Coast. *Bot. Mar.*, 28: 505-507.
- CAMPOS-TAKAKI, G. M., M. B. S. DIU, M. L. KOENING Y E. C. PEREIRA, 1988. Screening of marine algae from Brazilian Northeastern Coast for antimicrobial activity. *Bot. Mar.*, 31: 375-377.
- CASSADY, J. M., 1990. Natural products as a source of potential cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. *Jour. of Nat. Prod.*, 53: 23-41.
- CHABBERT, Y. A., 1963. L'antibiogramme. Coll. "Techniques de base". Ed. Tourelle. Saint Mandé. 257 p.
- DEACON-SMITH, R. A., J. P. LEE-POTTER Y D. J. ROGERS. 1985. Anticoagulant activity in extracts of british marine algae. *Bot. Mar.*, 28: 333-338.
- DE LARA-ISASSI, G. 1991. Propiedades antibióticas de algunas especies de algas marinas bentónicas, *Hidrobiológica*. I (2): 21 -28.
- DE LARA-ISASSI, G. y E. PONCE. 1991. Detección de la Actividad antibacteriana de algunas algas de Playa Paraíso, Veracruz, México. *BIOTAM*. 3 (1): 20-26.
- DE LARA ISASSI, G., A. SOBRINO, C. LOZANO, M. E. PONCE Y K. DRECKMAN. 1989. Evaluación de la actividad antibiótica de las macroalgas de las costas de Michoacán, México. *Bol. Ins. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente*, 28(1y2): 99-104
- EHRESMAN, D. W., E. F. DEIG, M. T. HATCH, L. H. DISALVO y N. A. VEDROS. 1977. Antiviral substances from California Marine Algae. *J. Phycol.*, 13: 37-40.
- ESPECHE, M. E., E. R. FRAILE Y A. M. S. MAYER. 1984. Screening of argentine marine algae for antimicrobial activity. *Hydrobiologia*, 116/117: 525-528.
- FÁBREGAS, J., J. LLOVO Y A. MUÑOZ. 1985. Hemagglutinins in red seaweeds. *Bot. Mar.*, 28: 517-520.
- FÁBREGAS, J., A. MUÑOZ Y J. LLOVO, 1986. Hemagglutinins in brown Seaweeds. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 97: 213-219.
- FÁBREGAS, J., A. MUÑOZ, J. LLOVO Y A. CARRACEDO. 1988. Purification and partial characterization of tomentine. An N-acetylglu- cosamine-specific lectin from the green alga *Codium tomentosum*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 124: 21-30.
- GLOMBITZA, K. W. y KLAPPERICH. 1985. Antibiotics from Algae XXXIV. Cleavage of the high-molecular weight methylated phlorotanin fraction from the brown algae *Pelvetia canaliculata*. *Bot. Mar.*, 28: 139-144.
- GÜVEN K. C., Y. ÖZSOY y O. N. ULUTIN. 1991. Anticoagulant fibrinolytic and antiaggregant activity of carragenans and alginic Acid. *Bot. Mar.*, 34: 429-432.
- GUZMÁN DEL PROO, S. A., M. C. VALDÉZ, A. D. CARRILLO, M. L. DIAZ, J. P. BARRERA Y M. E., RODRÍGUEZ. 1986. Investigación y explotación de algas marinas. *Inv. Mar. CICIMAR*, 2: 3-23.
- HALSON, S. V. 1964. The uses of seaweeds in Iceland. *Proc. Inter. Seaweeds Symp.*, 4: 345-398.
- HAWKINS, W. W. y A. N. O'NEILL, 1955. The anticoagulant action in blood of sulphated derivatives of laminarin, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 33: 545-552.

- HENRIQUEZ, P., A. CANDIA, R. NORMA-BUENA, M. SILVA y R. ZEMELMAN, 1979. Antibiotic properties of marine algae. II. Screening of Chilean marine algae for antimicrobial activity. *Bot. Mar.*, 22: 451-453.
- HOPPE, H. A., 1979. Marine Algae and their products as constituents in pharmacy. *In: Marine Algae in Pharmaceutical Science*. H. A. Hoppe (Ed.). Walter de Gruyter, Berlin.
- HORI, K., K. MIYAZAWA y K. ITO, 1981. Hemagglutinins in marine algae. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 47: 793-798.
- HORI, K., K. MIYAZAWA, N. FUSEYANI, K. HASHIMOTO y K. ITO, 1986. Hypnins, low-molecular weight peptidic agglutinins isolated from marine alga, *Hypnea japonica*. *Biochim. Biophys. Acta.*, 873: 228-236.
- HORI, K., C. OIWA, K. MIYAZAWA y K. ITO, 1988. Evidence of Wide Distribution of agglutinins in marine algae. *Bot. Mar.*, 37: 133-138.
- HORNSEY, I. S. y D. HIDE, 1974. The production of antimicrobial compounds by British marine algae I. Antibiotic-producing marine algae. *Br. Phycol. J.*, 9: 353-361.
- INGRAM, G. A., 1985. Lectins and lectin-like molecules in lower plants I. Marine Alga (Review). *Develop. Com. Immunol.*, 9: 1-10.
- JEANNIN, I., J. C. LESCURE y J. F. MOROT-GAUDRY, 1991. The effects of the aqueous seaweed sprays on the growth of maize. *Bot. Mar.*, 34: 469-473.
- KAMIYA, H., K. OGATA y H. HORI, 1982. Isolation and characterisation of a new agglutinin in the red alga *Palmaria palmata* (L.) O. Kuntze. *Bot. Mar.*, 25: 537-540.
- LAKI, K., 1965. Enzymatic effects of Thrombin. *Fed. Proc.*, 24:794.
- MARTÍNEZ-NADAL, N. G., L. V. RODRÍGUEZ y C. CASILLAS, 1963. Sarganin and chonalgin, new antibiotic substances from marine algae from Puerto Rico. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 27: 68-72.
- MARTÍNEZ-NADAL, N. G., L. V. RODRÍGUEZ y C. CASILLAS, 1964. Isolation and characterisation of sarganin-complex a new broad-spectrum antibiotic isolated from marine algae. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 30: 131-134.
- MAUTNER, H. G., G. M. GARDNER y R. PRATT, 1953. Antibiotic activity of seaweeds extracts II. *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, 42: 294-296.
- MAYER, A. M. S., L. KROTZ, R. D. BONFIL, O. D. BUSTUOBAD, J. F. GROISMAN, R. M. DE LEDERKREMER y D. B. STIERLE, 1987. Biological activity in *Macrocystis pyrifera* from Argentina: Sodium Alginate, Fucoidan and Laminarian I. Antitumor, cytotoxicity and humoral immune response. *Hydrobiologia*, 151/152: 483-489.
- MOREAU, J., D. PESANDO, P. BERNARD, B. CARAM y J. C. PIONNAT, 1988. Seasonal variations in the production of antifungal substances by some dictyotales (brown algae) from the French Mediterranean Coast. *Hydrobiologia*, 22: 543-545.
- MUÑOZ, A. J. LLOVO y J. FÁBREGAS, 1985. Hemagglutininas de algas verdes. *ACCCAW*, 22: 873-878.
- NISHINO, T., G. YOKOYAMA, K. DOBASHI, M. FUJIHARA y T. NAGUMO, 1989. Isolation, purification and characterisation of fucose-containing sulfated polysaccharides from the brown seaweed *Ecklonia kurome* and their blood-anticoagulant activities. *Carbohydr. Res.*, 186: 119-129.
- NISHINO, T. y T. NAGUMO, 1991. Change in the anticoagulant activity and composition of a fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome* during refrigerated storage of the fronds. *Bot. Mar.*, 34: 387-389.
- NUMATA, A., S. KANABARA, C. TAKAHASHI, R. FUJIKI, M. YONEDA, y USAMI y E. FUJITA, 1992. A cytotoxic principle of the brown alga *Sargassum tortile* and Structures of Chromenes. *Phytochemistry*, 19: 127-143.
- ORTEGA, M. M., 1972. Estudio de las algas comestibles del Valle de México I. *Rev. Lat-Am. Microb.*, 14: 85-97.
- PERCIVAL, E., 1979. The Polysaccharides of green, red and brown seaweeds: their basic structure, biosynthesis and function. *Br. Phycol. J.*, 14: 103-117.
- PESANDO, D. y B. CARAM, 1984. Screening of Marine Algae from the French Mediterranean Coast for Antibacterial and Antifungal Activity. *Bot. Mar.*, 27: 381-386.
- PITNEY, W. R. y J. V. DACIE, 1953. A simple method of studying the generation of Thrombin in recalcified plasma. *J. Clin. Path.*, 6: 9-13.
- PRATT R., H. MAUTNER, G. M. GARDNER, Y. SHA y J. DUFRENOY, 1951. Report on Antibiotic activity seaweeds extracts. *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, 40: 575-579.

- QUICK, A. J., 1945. On the quantitative estimation of Prothrombin. *Amer. J. Clin Path.*, 15: 560-566.
- RAO, P. S. y K. S. PAREKH, 1981. Antibacterial activity of Indian seaweeds extracts. *Bot. Mar.*, 24: 557-582.
- REICHEL, J. L. y M. A. BOROWITZA, 1984. Antimicrobial activity from marine algae: Results of a large scale screening programme. *Hydrobiologia*, 116/117: 29-40.
- ROGERS, D. J., G. BLUNDEN, J. A. TOPLISS y M. D. GUIRY, 1980. A Survey of marine organisms for Haemagglutinins. *Bot. Mar.*, 23: 596-577.
- ROGERS, D.J. Y G. BLUNDEN, 1980. Structural properties of the Anti-B Lectin from the red alga *Ptilota plumosa* (Huds.) C. Ag. *Bot. Mar.*, 23: 459-462.
- ROGERS, D. J., G. BLUNDEN, M. D. GUIRY y M. J. NORTHCOTT, 1982. Evaluation of *Ptilota plumosa* from Ireland as a source of Hemagglutinins. *Bot. Mar.*, 25: 399-400.
- ROGERS, D. J., R. W. LOVELESS y P. BALDING, 1986. Isolation and characterization of the lectins from subspecies of *Codium fragile*. In: Lectins. T. C. Bg-Hansen y E. van Driessche (Eds.). Walter de gruyter and Co. Vol. V. New York.
- ROGERS, D. J. y J. A. TOPLISS, 1983. Purification an characterization of an Anti-Sialic Acid Agglutinin from the red alga *Soliera chordalis* (C. Ag.) J. Ag. *Bot. Mar.*, 25: 301-305.
- SCHWIMMER, M. y D. SCHWIMMER, 1955. The role of algae and plankton in medicine. Grune and Stratton. New York.
- SEEGERS, W. H., 1962. Prothrombin. Harvard University Press. Cambridge, Mass.
- SHARON, N. y H. LIS, 1972. Lectins: Cell Agglutinating and Sugar-Specific Proteins, *Science*, 177: 949-958.
- SHIOMI, K., H. YAMANAKA y T. KIKUCHI, 1980. Biochemical Properties of Hemagglutinins in the Red Alga *Serraticardia maxima*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 46: 1369-1373.
- SHIOMI, K., H. YAMANAKA y T. KIKUCHI, 1981. Purification and physicochemical properties of a Hemagglutinin (GVA-1) in the red alga *Gracilaria verrucosa*. *Bull. Japan. Sco. Sci. Fish.*, 47: 1077-1084.
- SILVA, P. C., 1979. *Codium giraffa*, a new marine alga from Tropical Pacific Mexico. *Phycologia*, 18: 264-268.
- SREENIVASA-RAO, P. y K. S. PAREKH, 1981. Antibacterial activity of Indian seaweeds extracts. *Bot. Mar.*, 24: 577-582.
- SUBRAMONIA, T.T. y K. KATHIRESAN, 1988. Toxic effect of seaweed extracts on mosquito larvae. *Indian J. Med. Res.*, 88: 35-37
- SUBRAMONIA, T.T. y K. KATHIRESAN, 1991. Mosquito larvicidal effects of seaweed extracts. *Bot. Mar.*, 34: 433-435
- TARGETT, N. M., 1979. Gastropod tentacle withdrawal: A screening procedure for biological activity in marine macroalge. *Bot. Mar.*, 22: 543-545.
- WELCH, A. M., 1962. Preliminary survey of fungistatic properties of marine algae, *J. Bact.*, 83: 97-99.
- WINTER, F. C. Y J. A. ESTES, 1992. Experimental Evidence for the Effect of Polyphenolic Compounds from *Dyctyoneurum californicum* Rupecht (Phaeophyta: Laminariales) on Feeding Rate and Growth in the Red Abalone *Haliotis rufescens* Swanson. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 155: 263- 278.

Trabajo recibido el 15 - 08 - 94 y aceptado el 30 - 11 - 94