

Variación estacional de la actividad aglutinante de macroalgas marinas de Veracruz, México

Seasonal variation of agglutinating activity of marine macroalgae from Veracruz, Mexico

Graciela De Lara-Isassi, Sergio Alvarez-Hernández y Norma Hernández-Soto*

*Laboratorio de Ficología Aplicada, Departamento de Hidrobiología. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa.

Apartado Postal 55-535. México, D. F., 09340

RESUMEN

Las lectinas o aglutininas son proteínas de origen no inmune importantes por su amplia aplicación en diversos campos del conocimiento e investigación científica. Se analizaron veintiún especies algales (38 muestras) recolectadas en dos localidades del estado de Veracruz, México, para detectar la actividad aglutinante de sus extractos e investigar sobre la variación (presencia – ausencia) de esta actividad aglutinante en relación con la época de recolecta del material algal. Se observó actividad aglutinante en once de las 21 especies probadas contra algún tipo sanguíneo humano o eritrocitos de conejo. Solamente se encontró especificidad en la aglutinina de *Cladophora prolifera* por el tipo sanguíneo A-Rh positivo. Se sugiere que la síntesis de aglutininas puede estar influenciada por las condiciones climatológicas, las cuales están directamente relacionadas con la época de recolecta del material algal. Destaca el reporte de especies, con actividad, antes no reportadas en la literatura, como *Cladophora prolifera* y *Gracilaria caudata*, así como la potente aglutinina presente en una nueva especie de alga del género *Codium*, *C. simplex ined.*

Palabras clave: aglutininas, lectinas, actividad aglutinante, México.

ABSTRACT

Lectins or agglutinins are proteins of non immune origin important due to the wide range of applications in many fields of scientific knowledge. It were analyzed twenty one algal species (38 samples) collected off shore two localities in Veracruz, Mexico, in order to detect the agglutinating activity of its extracts and to investigate the possible relation between the potency, presence or absence of agglutinating activity due to the season of collection. We observed agglutinating activity in eleven of twenty one species tested against any blood human group or rabbit erythrocytes. We reported the specific activity of *Cladophora prolifera* against blood human type A-Rh positive. The evidence suggest that the synthesis of agglutinins can be influenced by the season of the year and the date of collection is related with differences in climate conditions. We like to point out that this is the first report of the agglutinating activity in *Cladophora prolifera* and *Gracilaria caudata* in the world. Also this is the first report of a potent agglutinin in a new specie of *Codium*, *C. simplex ined.*

Keywords: agglutinins, lectins, agglutinating activity, Mexico.

INTRODUCCIÓN

Las lectinas, también llamadas aglutininas son proteínas de origen no inmune que unen carbohidratos, aglutinan células o precipitan glicoconjugados (Goldstein *et al.*, 1980). Se les ha encontrado en animales y vegetales, centrándose la investigación en las lectinas provenientes de plantas vasculares, vertebrados e invertebrados (Lis y Sharon, 1998), en comparación, las lectinas algales han sido escasamente

estudiadas, no obstante se sabe que están presentes en macroalgas y que poseen características similares a las lectinas de otras fuentes.

El primer trabajo que reporta la presencia de aglutininas se realizó en 1966 por Boyd *et al.* en Puerto Rico, ellos reportaron la presencia de aglutininas en ocho especies de la División Phaeophyta, una Chlorophyta, una

especie de Rhodophyta, y un alga de la División Cyanophyta. Posteriormente, Blunden *et al.* (1975) y Rogers (1977) investigaron la presencia de lectinas en macroalgas de las costas británicas, estos investigadores reportaron la presencia de aglutininas en un número considerable de algas, dejando clara la existencia de estas proteínas en las algas marinas.

Trabajos posteriores han detectado lectinas en macroalgas que crecen en diferentes lugares del mundo. Para el continente asiático tenemos los trabajos de Shiomi *et al.* (1980), Hori *et al.* (1988). En España destacan los trabajos de Fabregas *et al.* (1985) y Muñoz *et al.* (1985). En el continente americano se han detectado aglutininas algales por Chiles y Bird (1989), Bird *et al.* (1993) en Estados Unidos, Ainouz y Sampaio (1991) en Brasil y De Lara-Issasi y Alvarez-Hernández (1998) en México.

La caracterización de estas proteínas en macroalgas marinas fue realizada por primera vez por Shiomi *et al.* en 1979 con la Rhodophyta *Agardhiella tenera* (J. Agardh) Schmit. Hasta ahora se han aislado y caracterizado parcialmente un total de 37 lectinas de tres Divisiones algales, una revisión sobre todas ellas se encuentra en Álvarez-Hernández *et al.* (1999), recientemente se aisló una lectina más de la clorofita *Caulerpa cupresoides* (Vahl) C. agardh (Benevides *et al.*, 2001). El presente trabajo se diseñó para detectar la actividad aglutinante de extractos de macroalgas marinas e investigar la posible variación de esta actividad en relación a la época del año en que se recolectó el material algal.

MATERIAL Y MÉTODO

Las macroalgas se recolectaron en dos localidades del estado de Veracruz, La Mancha en el municipio de Actopan y Costa de Oro en el municipio de Boca del Río (Figura 1). Los muestreos se

realizaron entre mayo de 1999 y julio de 2001 (cinco fechas de recolecta, dos en 1999 y 2000 y una en 2001), teniendo representadas así las temporadas de lluvias y estiaje. La recolecta se realizó de manera manual en la zona intermareal, en las mismas estaciones cada vez, cuidando de reducir al mínimo la contaminación con epibiontes. Las algas se separaron por género y se transportaron al laboratorio congeladas, utilizando CO₂ sólido. En el laboratorio se descongelaron y lavaron exhaustivamente con agua corriente, posteriormente bajo el microscopio de disección, se liberaron manualmente de epibiontes.

Los extractos algales se prepararon, macerando 10 g de material algal con 10 ml de solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, pH 7.2 (PB), el homogenado se centrifugó a 1,000 g durante 10 minutos y el sobrenadante se filtró en un equipo Millipore® por filtros de nitrocelulosa de 0.22 µm, el filtrado se congeló a -20 °C hasta su utilización (Fábregas *et al.*, 1988). Para detectar las aglutininas se preparó una solución de eritrocitos de conejo formalinizados (ECF) siguiendo las indicaciones de Nowak y Barondes (1975). Las pruebas de detección de actividad aglutinante se realizaron por triplicado, en placas de microtitulación, agregando 50 µl de PB a todos los pozos, el primer pozo se utilizó como testigo y solamente se le añadió amortiguador y eritrocitos, al segundo pozo se le agregó el mismo volumen de extracto algal y a partir de este se diluyó seriadamente hasta terminar la placa, finalmente se añadió a todos los pozos 50 µl de ECF. Se dejaron reposar las placas por 2 horas y se registró el título de aglutinación como la máxima dilución que provocó aglutinación de los eritrocitos (Fábregas *et al.*, 1988).

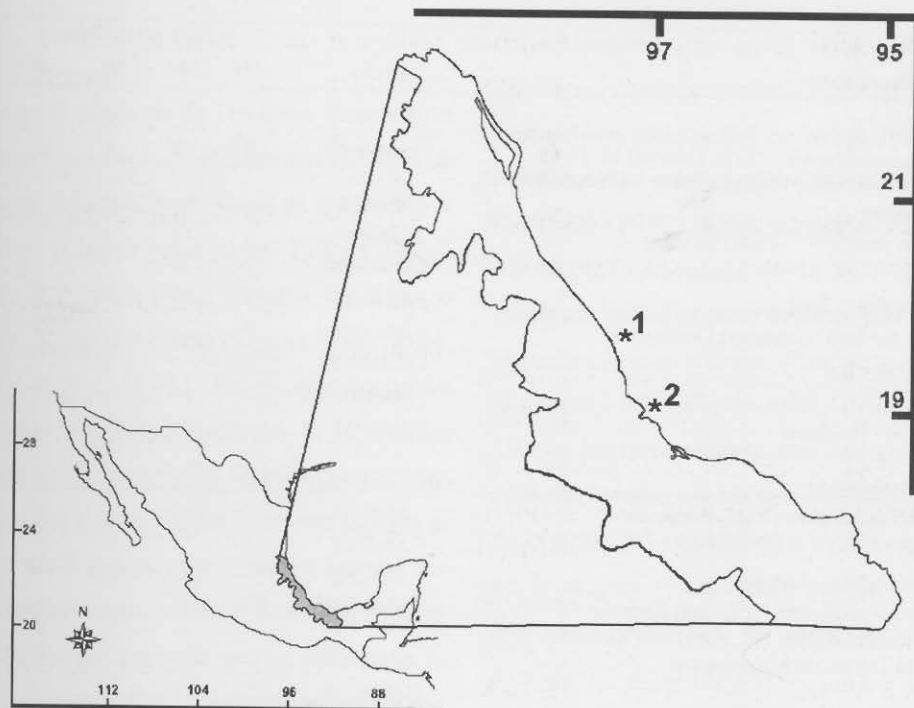


Figura 1. Localidades de colecta en el estado de Veracruz (1, La Mancha y 2, Costa de Oro).

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en las pruebas de aglutinación de los extractos de las macroalgas marinas investigadas, aunque también se recolectaron algas de la División Phaeophyta, éstas no fueron analizadas en el presente estudio. Se probaron 21 especies de algas de 38 muestras, 5 de la División Chlorophyta y 16 especies de Rhodophyta. Siete especies fueron recolectadas en la misma localidad en más de una fecha del año, seis especies se recolectaron en diferentes localidades. Once de las 21 especies aglutinaron algún tipo sanguíneo (52.3 %), cuatro de la División Chlorophyta y siete de Rhodophyta. Destaca la actividad aglutinante específica del extracto de *Cladophora prolifera* contra el tipo de sangre A Rh positivo, las otras algas activas aglutinaron inespecíficamente los tipos sanguíneos. En algunos

casos la aglutinación solo se pudo evidenciar con eritrocitos de conejo, los extractos de *Caulerpa sertularioides*, *Acantophora spicifera*, *Bryothamnion seafothii* y *Laurencia poiteau*, solo aglutinaron eritrocitos de conejo. En cuanto a la variabilidad debida a la época de recolecta del material algal, se observó que *Cladophora prolifera* recolectada en julio de 2000 (secas) no presentó actividad, tres meses después (lluvias) se empieza a registrar leve aglutinación con la sangre A positivo. En el caso de *Gracilaria caudata* y *G. cervicornis* se observó actividad aglutinante constante en las muestras recolectadas en el año 2000, mientras que las muestras de 1999 y 2001 solo se detecta actividad con los eritrocitos de conejo. *Gracilaria mammillaris* y *Laurencia poiteau* se detectó actividad en las recolectadas en 2000, desapareciendo la actividad en las muestras de 2001.

| División Chlorophyta | Fecha | Tipo de Sangre | | | | |
|---|--------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | | O+ | A+ | B+ | AB+ | C |
| ¹ <i>Caulerpa sertularioides</i> (S. G. Gmelin) M. Howe | Octubre-00 | 2 ¹ | 2 ⁵ | 2 ² | 2 ¹ | - |
| ² <i>Caulerpa sertularioides</i> forma <i>farlowii</i> (Weber-Van Boree) Borgesen | Abril-01 | - | - | - | - | 2 ⁵ |
| ¹ <i>Cladophora prolifera</i> (Roth) Kützing | Julio-00 | - | - | - | - | - |
| ¹ | Octubre-00 | - | 2 ¹ | - | - | - |
| ¹ <i>Codium simplex</i> Ined. | Abril-01 | 2 ⁵ | 2 ⁵ | 2 ⁵ | 2 ⁵ | - |
| ¹ <i>Cymopolia barbata</i> (Linnaeus) Lamouroux | Julio-00 | - | - | - | - | - |
| ¹ | Octubre-00 | - | - | - | - | - |
| ¹ | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ¹ <i>Ulva lactuca</i> Linnaeus | Julio-00 | - | - | - | - | - |
| División Rhodophyta | | | | | | |
| ¹ <i>Acanthophora spicifera</i> (Vahl) Borgesen | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ² | Abril-01 | - | - | - | - | 2 ¹ |
| ¹ <i>Amansia multifida</i> Lamouroux | Julio-00 | - | - | - | - | - |
| ² <i>Bryothamnion seaforthii</i> (Turner) Kützing | Abril-01 | - | - | - | - | 2 ^h |
| ² <i>Centroceras clavulatum</i> (C. Agardh in Kunth) Montagne in Durieu de Maisonneuve | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ¹ | Octubre-00 | - | - | - | - | - |
| ¹ <i>Digenea simplex</i> (Wulfen) C. Agardh | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ² <i>Galaxaura obtusata</i> (Ellis et Solander) Lamouroux | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ² <i>Gracilaria caudata</i> J. Agardh | Noviembre-94 | - | - | - | - | - |
| ¹ | Mayo-99 | 2 ³ | 2 ² | 2 ³ | 2 ⁵ | 2 ² |
| ¹ | Octubre-00 | 2 ³ | 2 ³ | 2 ⁴ | 2 ⁴ | 2 ^h |
| ² | Octubre-00 | 2 ³ | 2 ¹ | 2 ² | - | 2 ¹ |
| ² | Abril-01 | - | - | - | - | 2 ³ |
| ² <i>Gracilaria cervicornis</i> (Turner) J. Agardh | Noviembre-94 | - | - | - | - | - |
| ¹ | Julio-00 | 2 ⁴ | 2 ³ | 2 ⁴ | 2 ² | - |
| ² | Octubre-00 | 2 ³ | 2 ⁴ | 2 ³ | 2 ³ | 2 ¹ |
| ² | Abril-01 | - | - | - | - | 2 ¹ |
| ² <i>Gracilaria mammillaris</i> (Montagne) M. Howe | Octubre-00 | 2 ² | 2 ² | 2 ² | 2 ¹ | 2 ² |
| ² | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ¹ <i>Gracilariopsis lemaneiformis</i> (Bory de Saint-Vincent) E. Y. Dawson | Octubre-00 | - | - | - | - | - |
| ¹ <i>Grateloupia filicina</i> (Lamouroux) C. Agardh | Julio-00 | - | - | - | - | - |
| ¹ <i>Hypnea musciformis</i> (Wulfen in Jacquin) Lamouroux | Julio-00 | 2 ⁵ | 2 ³ | 2 ⁵ | 2 ⁵ | 2 ² |
| ² | Abril-01 | - | - | - | - | 2 ³ |
| ¹ | Abril-01 | - | - | - | - | 2 ² |
| ¹ <i>Hypnea spinella</i> (C. Agardh) Kützing | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ¹ <i>Laurencia poiteaui</i> (Lamouroux) M. Howe | Julio-00 | - | - | - | - | 2 ³ |
| ² | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ¹ <i>Liagora ceranoides</i> (Lamouroux) K. Fan | Abril-01 | - | - | - | - | - |
| ¹ <i>Prionitis pterocladina</i> Wynne | Julio-00 | - | - | - | - | - |

TABLA 1. Resultados de la pruebas de aglutinación con macroalgas de la costa de Veracruz. 2^x - Título de aglutinación, -Prueba no positiva, C eritrocitos de conejo. Localidades: 1. La Mancha, 2. Costa de Oro.

DISCUSIÓN

No se procesaron algas de la División Phaeophyta debido a que el fenómeno de aglutinación en algas de esta División es debido a la presencia de polifenoles y no de proteínas (Rogers y Loveless, 1985 y 1991), solamente se han encontrado lectinas en algunos representantes del género *Fucus* (Costas *et al.*, 1994; Ferreiros y Criado, 1983). En el mundo se ha demostrado que los representantes de la familia Codiaceae poseen con mucha frecuencia lectinas (Álvarez-Hernández *et al.*, 1999), en este trabajo se detectó una potente lectina en una nueva especie aun no descrita *Codium simplex* ined. (Pedroche, F. com. pers.). Se reporta por primera vez la aglutinina de *Cladophora prolifera* y *Gracilaria caudata*. También se presentó la ausencia de actividad aglutinante en los extractos de *Amansia multifida*, previamente reportada por Ainouz *et al.* (1992) como activa contra eritrocitos de varios animales y humanos tratados enzimáticamente, es un hecho que la lectina de esta especie requiere eliminar impedimentos estéricos de otras moléculas, como glicoproteínas membranales presentes en la superficie de los glóbulos rojos para aglutinar, de ahí la diferencia con nuestro estudio, debido a que utilizamos eritrocitos nativos (sin tratamiento enzimático). *Centroceras clavulatum* no aglutinó algún tipo sanguíneo lo cual coincide con los resultados obtenidos por Ainouz y Sampaio (1991), no obstante, previamente hemos detectado aglutininas en esta especie y particularmente recolectada en la misma localidad de este estudio. (De Lara-Isassi y Álvarez-Hernández, 1998). Esto evidencia la posibilidad de que la presencia o ausencia de los metabolitos esté fuertemente influenciada por las condiciones ecológicas espacio-temporales de los hábitat donde se desarrollan las algas.

Considerando que en el estado de Veracruz se distinguen dos épocas climáticas bien definidas, lluvias y secas con variaciones en la precipitación pluvial y temperaturas muy claras (Vázquez-Botello, 1978; Contreras, 1993). Estas variaciones en la potencia y presencia o ausencia de la aglutinación ha sido mostrada por distintos autores con los resultados obtenidos en sus trabajos (Ainouz y Sampaio, 1991; Bird *et al.*, 1993; Freitas *et al.*, 1997 y Sampaio *et al.*, 1996), particularmente con las siete especies del presente estudio, en las que se observó una variación de la actividad aglutinante o incluso una desaparición de la misma relacionada probablemente con los factores propuestos. En las especies *Cladophora prolifera*, *Acantophora spicifera*, *Gracilaria caudata*, *G. cervicornis*, *G. mammillaris* y *Laurencia poiteaui* recolectadas en dos épocas se observó aglutinación en una época del año, mientras que esta actividad disminuyó su potencia o bien desapareció por completo en la otra fecha de recolecta (tabla 1). En el caso de *Hypnea musciformis* se observó una disminución de la potencia de la actividad aglutinante del extracto a tal grado que sólo pudo evidenciarse con los eritrocitos de conejo, los cuales son más sensibles de ser aglutinados (Hori, *et al.*, 1988).

Esta disminución de la potencia aglutinante puede estar relacionada con las épocas de recolecta, no obstante, no se observó un patrón preciso, esto es, la variabilidad dependió además del factor climático, de la especie algal tratada. Similar respuesta se detectó cuando se analizan los resultados considerando la localidad de recolecta del material algal, en este caso las aglutininas de *Acantophora spicifera*, *Gracilaria caudata*, *G. cervicornis*, *Laurencia poiteaui* e *Hypnea musciformis* variaron su actividad cuando desapareció la aglutinación o disminuyó su potencia.

Podemos sugerir que esta variación de la actividad aglutinante puede estar dirigida por las condiciones del medio, una de ellas la climática. Esto ha sido sugerido por Ingram (1985) y Fábregas *et al.* (1985), los cuales enfatizan que la actividad biológica de las algas en general y especialmente la actividad aglutinante de las mismas, está regulada por varios factores dentro de los cuales destacan los abióticos, como los sitios de recolecta, el clima y los bióticos como las presiones de herbivoría, las condiciones del medio y la competencia, entre otros. Esta misma hipótesis sobre los factores que regulan la síntesis de moléculas activas se ha propuesto para metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, antifúngica y tóxica (Fenical y Paul, 1984; Ballesteros *et al.*, 1992; Moreau *et al.*, 1988; Padmakumar y Ayyakkannu, 1997). Es importante considerar la hipótesis que explica la síntesis de metabolitos primarios como un mecanismo adaptativo de las algas, como una respuesta de defensa similar a la inmunológica, en contra de las infestaciones por bacterias y hongos presentes en el medio (Lis y Sharon, 1998), por lo que siguiendo esta línea de pensamiento, se pueden considerar a estos microorganismos como reguladores importantes de la síntesis de aglutininas.

LITERATURA CITADA

- Ainouz, I. L. y A. H. Sampaio, 1991. Screening of Brazilian marine algae for hemagglutinins. *Botanica Marina* 34: 221-214.
- Ainouz, I. L., A. H. Sampaio, N. M. B. Barros, A. L. F. Ponte, F. H. F. Costa, M. R. Carvalho y F. Pinheiro-Joventino, 1992. Agglutination of enzyme treated erythrocytes by Brazilian marine algal extracts. *Botanica Marina* 35: 475-479.
- Alvarez-Hernández, S., G. De Lara-Isassi, R. Arreguín-Espinoza, B. Arreguín, A. Hernández-Santoyo y A. Rodríguez-Romero, 1999. Isolation and partial characterization of giraffine, a lectin from the Mexican endemic alga *Codium giraffa* Silva. *Botanica Marina* 42: 573-580.
- Ballesteros, E., D. Martín y M.J. Uriz, 1992. Biological activity of extracts from some Mediterranean macrophytes. *Botanica Marina* 35: 481-485.
- Benevides, N. M. B., M. L. Holanda, F. R. Melo, M. G. Pereira, A. C. O. Monteiro y A. L. P. Freitas, 2001. Purification and partial characterization of the lectin from the marine green alga *Caulerpa cupressoides* (Vahl) C. Agardh. *Botanica Marina* 44: 17-22.
- Bird, K. T., T. C. Chiles, R. E. Longley, A. F. Kendrick y M. D. Kinkema, 1993. Agglutinins from marine macroalgae of the southeastern United States. *Journal of Applied Phycology* 5: 213-218.
- Blunden, G. D., J. Rogers y W. F. Franham, 1975. Survey of British seaweeds for haemagglutinins. *Lloydia* 38: 162-168.
- Boyd, W. C., L. R. Almodovar y L. G. Boyd, 1966. Agglutinins in marine algae for human erythrocytes. *Transfusion* 6: 82-83.
- Chiles, T. C. y K. T. Bird, 1989. A comparative study of animal erythrocyte agglutinins from marine algae. *Comparative Biochemistry and Physiology B. Comparative Biochemistry* 94(1): 107-112.

- Contreras, E. F., 1993. Ecosistemas Costeros Mexicanos. CONABIO, UAM. México, 415 p.
- Costas, E., A. Aguilera, S. González-Gil y V. López-Rodas, 1994. Early development in *Fucus spiralis*: Analysis of its surface moieties and cell differentiation using lectins. *Botanica Marina* 37: 11-15.
- De Lara-Isassi G. y Alvarez-Hernández S., 1998. Evaluación de la actividad aglutinante de extractos de macroalgas marinas presentes en las costas del Atlántico Mexicano. *Hidrobiológica* 8(1): 67-72.
- Fabregas, J., J. Llovo y A. Muñoz, 1985. Hemagglutinins in red seaweeds. *Botanica Marina* 28: 517-520.
- Fabregas, J., A. Muñoz, J. Llovo y A. Carracedo, 1988. Purification and partial characterization of tomentine. An N-acetylglucosamine-specific lectin from the green alga *Codium tomentosum* (Huds.) Stackh. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 124: 21-30.
- Fenical, W. y V.J. Paul, 1984. Antimicrobial and cytotoxic terpenoids from tropical green algae of the family Udoteaceae. *Hydrobiologia* 116/117: 135-140.
- Ferreiros, C. M. y M. T. Criado, 1983. Purification and partial characterization of a *Fucus vesiculosus* agglutinin. *Revista Española de Fisiología* 39(1): 51-60.
- Freitas, A. L. P., D. I. A. Teixeira, F. H. F. Costa, W. R. L. Farias, A. S. C. Lobato, A. H. Sampaio y N. M. B. Benevides, 1997. A new survey of Brazilian marine algae for agglutinins. *Journal of Applied Phycology* 9: 495-501.
- Goldstein, I. J., R. C. Hughes, M. Monsigny, T. Osawa y N. Sharon, 1980. What should be called a lectin?. *Nature (London)* 285: 66.
- Hori, K., C. Oiwa, K. Miyazawa y K. Ito, 1988. Evidence for wide distribution of agglutinins in marine algae. *Botanica Marina* 31: 133-138.
- Ingram, G. A., 1985. Lectins and lectin-like molecules in lower plants. I. Marine algae (Review). *Developments in Comparative immunology* 9: 1-10.
- Lis H. y N. Sharon, 1998. Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. *Chemical Review* 98: 637-674.
- 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* 162: 157-162.
- Muñoz, A., J. Llovo y J. Fábregas, 1985. Hemagglutininas de algas verdes. *Acta Científica Compostelana* 22(2-3-4): 873-877.
- Nowak, T. P. y S. H. Barondes, 1975. Agglutinin from *Limulus polyphemus*. Purification with formalinized adsorbent. *Biochimica et Biophysica Acta* 393: 115-123.

- Padmakumar K. y K. Ayyakkannu, 1997. Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from southern coasts of India. *Botanica Marina* 40: 507-515.
- Rogers, D. J., 1977. Antibody-like substances in marine organisms, pp. 311-327. In: D. J. Faulkner and W. H. Fenical (Eds.). *Marine Natural Products Chemistry*. Plenum Press, New York.
- Rogers, D. J. y R. W. Loveless, 1985. "Haemagglutinins" of the Phaephyceae and non-specific aggregation phenomena by polyphenols. *Botanica Marina* 28: 133-137
- Rogers, D. J. y R. W. Loveless, 1991. Electron microscopy of human erythrocytes agglutinated by lectin from the *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* and pseudo-haemagglutinin from *Ascophyllum nodosum*. *Journal of Applied Phycology* 3: 83-86.
- Sampaio, A. H., D. J. Rogers, C. J. Barwell y W. F. Farnham, 1996. Seasonal variation in production of lectins by *Ulva lactuca*. In: E. Van Driesche, P. Rougé, S. Beeckmans and T. C. Bog-Hansen (Eds.). *Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry* Vol. 11. Hellerup, Denmark, pp. 101-106.
- Shiomi, K., H. Kamiya y Y. Shimizu, 1979. Purification and characterization of an agglutinin in the red marine alga *Agardhiella tenera*. *Biochimica et Biophysica Acta* 579: 118-127.
- Shiomi, K., H. Yamanaka y T. Kikuchi, 1980. Biochemical properties of hemagglutinins in the red alga *Serraticardia maxima*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 46(11): 1369-1373.
- Vázquez-Botello, A., 1978. Variantes de los parámetros hidrológicos en las épocas de sequías y lluvias (mayo-septiembre, 1974) en la laguna de Términos. *Camp. México. An. Centro Cienc. Del Mar y Limnol. UNAM* 6(1): 7-14