

## Detección antimicótica en extractos de algas marinas

Detection of antifungica activity in marine seaweed extracts

G. De Lara-Isassi, S. Alvarez- Hernández y A. Inclán-Sánchez\*

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

### RESUMEN

En el presente trabajo se obtuvieron extractos de 37 especies de macroalgas marinas recolectadas en dos localidades de la costa de Veracruz, preparados con cuatro mezclas de disolventes: cloroformo-metanol-agua, cloroformo-álcohol etílico-agua, éter-metanol-agua y éter-álcohol etílico-agua, estos extractos fueron probados mediante la técnica de dilución, contra seis cepas de hongos patógenos a plantas y al hombre: *Aspergillus niger*, *Rhizopus nigricans*, *Candida albicans*, *Rhizopus oryzae*, *Alternaria alternata* y *Beauveria bassiana*, Los resultados mostraron que todas las especies algales, excepto dos, inhibieron alguna cepa con alguno de sus extractos (96 %). Solamente se observó ausencia de actividad antifúngica en dos especies recolectadas en la estación de secas, estas algas volvieron a presentar actividad al final de la época de lluvias. Este es el primer estudio en este campo de la Ficología Aplicada en México y debido a los resultados obtenidos podemos concluir que las macroalgas marinas son una fuente potencial para proveernos con moléculas novedosas, capaces de inhibir el crecimiento de hongos patógenos.

Palabras clave: Bioactividad, macroalgas, actividad antifúngica, hongos patógenos, farmacognosia

### ABSTRACT

Extracts of 37 marine seaweeds species collected off shore of two localities of Veracruz, were tested in order to detect antifungic activity. Extracts were obtained using four solvent mixtures: chloroform-methanol-water, chloroform-ethanol-water, ether-methanol-water and ether- ethanol-water and tested using dilution technique against six pure strains of pathogen to man and phyto-pathogen fungi: *Aspergillus niger*, *Rhizopus nigricans*, *Candida albicans*, *Rhizopus oryzae*, *Alternaria alternata* y *Beauveria bassiana*. The results showed positive antifungic activity in all algal species in at least one of its extracts (96%), only two algae collected during dry season did not shown activity, however this two species showed activity at the end of the rainy season. This is the first study on this subject in Mexican Applied Phycology and with this results we can be concluded that marine seaweeds are a potential source of new molecules capable of inhibits pathogen fungal growth.

Key words: Bioactivity, macroalgae, Antifungic activity, pathogen fungi, Pharmacognosy.

### INTRODUCCIÓN

Las macroalgas marinas ofrecen un gran potencial para la extracción de sustancias con diversos tipos de actividad biológica. La actividad antimicótica de estos organismos ha sido estudiada por varios investigadores no solo quedando en el conocimiento general de cuales son las especies activas, también se han hecho estudios mas finos para conocer cuales son los metabolitos causantes de esta actividad para su posible extracción, separación y aislamiento.

Entre los metabolitos algales de los que se conoce actividad antifúngica se encuentran las hidroquininas zonarol e isozonarol aisladas de *Dictyopteris*

*zonaroides*, el cicloendesmol aislado de *Chondria oppositoclada* con actividad en contra de *Candida albicans* (Fenical et al., 1973, Fenical, 1974 y Mori y Komatsu, 1986). Metabolitos como la naftoquinona extraída de la feofita *Landsburgia quercifolia* con actividad en contra de *C. albicans* y *Trichophyton mentagrophytes* (Perry et al., 1991) y un compuesto fenólico extraído de *Sporochnus pedunculatus* también con actividad en contra de la misma levadura (Gunasekera et al., 1995).

Uno de los primeros trabajos en este campo fue el de Mautner et al. (1953) los cuales observaron actividad en los extractos etéreos de *Rhodomela larix* en contra

de *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* y *T. rubrum*. Welch (1962) detectó actividad en extractos acuosos de varias algas marinas entre las cuales se encontraban *Laurencia obtusa*, *Halimeda opuntia*, *Udotea flabellum*, *Dictyota bartayresii*, *D. divaricata*, *D. indica* y *Padina gymnospora*, en contra de *Aspergillus niger*, *Mucor racemosus*, *Rhizopus oryzae*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* y *Penicillium* sp. La inhibición del crecimiento de *C. albicans* con extractos etanólicos de *Wrangelia argus* y *W. bicuspidata* con extractos etéreos y clorofórmicos de *L. obtusa* y con extractos acetónicos de *Falkenbergia hillebrandii* y *L. obtusa* fue observada por Olesen *et al* en 1964. Martínez-Nadal *et al* (1966) encontraron actividad antimicótica de *Cymopolia barbata* en contra de *C. albicans*, *Penicillium chysogenum*, *Aspergillus niger*, *Torulopsis utilis* y *Sacharomyces cerevisiae*.

Entre los investigadores que han trabajado en la detección de actividad antimicótica de las algas encontramos a: Khaleafa *et al.* (1975), Sachithanathan y Sivapalan, (1975); Codomier *et al.* (1977); Caccamese y Azzolina (1979); Moreau *et al.* (1984); Pesando y Caram (1984); Padmakumar y Ayyakkannu (1986 y 1997); Moreau *et al.* (1988); Perry *et al.* (1991); Ballesteros *et al.* (1992); Gunasekera *et al.* (1995); Vora *et al.* (1995); Barreto *et al.* (1997) y Melo *et al.* (1997).

Entre los trabajos mas recientes acerca de este tema encontramos el de Robles y Ballantine (1999) los cuales probaron extractos de los diferentes talos de *Spyridia filamentosa* obtenidos con una mezcla cloroformo-metanol (2:1) en contra de *C. albicans*, observando una actividad diferencial de los extractos y el de Zamora y Ballantine (2000) los cuales trabajaron con extractos de *S. Filamentosa* obtenidos con una mezcla de cloroformo-metanol (2:1) encontrando también actividad en contra de *C. albicans*.

La carencia de estudios en este campo del conocimiento en nuestro país, así como la potencialidad que ofrecen nuestra flora algal como productora de metabolitos con propiedades antifúngicas justifica la realización del presente estudio.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Las algas fueron recolectadas en la costa del estado de Veracruz en dos localidades, La Mancha en el Municipio de Actopan y Costa de Oro en el municipio

de Boca del Río (Figura 1) durante los años 2002 y 2003 en las temporadas de secas y de lluvias con el objeto de tener representantes de las épocas climáticas.

El muestreo se hizo de forma manual en la zona intermareal procurando obtener talos completos, lavándolos para evitar al máximo los residuos contaminantes, se separaron, se colocaron en bolsas de plástico, se congelaron y se trasladaron al laboratorio.

Una vez en el laboratorio se descongelaron las muestras, se lavaron en agua corriente y se limpiaron bajo el microscopio para retirar de su superficie todos los epibiontes y residuos de todo tipo., conservando una parte en formol glicerinado para su identificación, la cual se realizó de acuerdo con Littler y Littler (2000), Taylor (1960) y Wynne (1986).

La obtención de los extractos se realizó con muestras húmedas siguiendo las indicaciones de Bernard y Pesando (1989) y se utilizaron para la extracción cuatro mezclas de solventes: cloroformo-metanol-agua (C-M), cloroformo-alcohol etílico-agua (C-OH), éter-metanol-agua (E-M) y éter-alcohol etílico-agua (E-OH), en los casos en que la biomasa fue escasa, solo se obtuvieron extractos con las mezclas cloroformo-metanol-agua y éter-metanol-agua.

Los extractos se obtuvieron macerando 15 g de muestra con 2:2:1.8 v/v/v de la mezcla de solventes a utilizar, después se decantó la muestra y se centrifugó a 3500 rpm durante 20 minutos. En los extractos que se usó cloroformo, se obtuvieron dos fases una acuosa y una oleosa y en las que se utilizó éter se obtuvo solamente la fase oleosa. Las muestras se secaron por rotoevaporación y posteriormente se reconstituyó la fase orgánica con 1 mL de acetona y la fase acuosa con 1 mL de agua destilada.

Se probó la actividad antimicótica de los extractos en contra de seis cepas puras de hongos: *Rhizopus oryzae* Went et Prensén Geerligts, *Rhizopus nigricans* Ehrenberg (Clase Zygomycetes), *Aspergillus Niger* Tiegh., *Alternaria alternata* (Fries) Keissler y *Beuaveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Clase Deuteromycetes) y *Candida albicans* (C. P. Robin) Berjhout (Clase Blastomycetes), por medio de la técnica de dilución propuesta por Atlas *et al.* (1988) y Kim *et al.* (2000a), elaborando una suspensión de esporas utilizando una solución de 1 mL de Tween 80 en 10 mL de agua destilada. Los microcultivos para

las pruebas se prepararon con 75 mL de caldo maltosa Sabouraud con 25 mL de suspensión de esporas y 35 mL del extracto algal. Las pruebas experimentales se hicieron por triplicado con dos testigos uno con 35 mL de acetona y otro con 35 mL de agua estéril en lugar del extracto algal. El microcultivo se mantuvo durante 48 horas a 27 °C sembrándose 15 mL de éste en placas con medio sólido de dextrosa Sabouraud manteniéndose en incubación durante cinco días observándose la inhibición total (+) o parcial considerando el crecimiento de las cepas y registrándose el número de UFC (Unidades formadoras de colonias) o bien la nula inhibición (—).

## RESULTADOS

En las tablas 2, 3 y 4 se presentan los resultados de la actividad antimicótica de los extractos algales. Cuando un extracto inhibió totalmente el crecimiento de una cepa fúngica se denotó con (+), si la inhibición fue parcial se anotaron el número de UFC (Unidades Formadoras de Colonias). Las 37 especies estudiadas fueron 18 de la División Rhodophyta, trece especies de la División Phaeophyta y seis especies de la División Chlorophyta (Tabla 1). La Tabla 3 muestra los resultados obtenidos para las especies recolectadas en mayo de 2002 (secas), de las once especies probadas, siete (64%) mostraron inhibición del crecimiento de al menos una de las cepas en alguno de sus extractos, ninguna de estas especies fue activa contra las 6 cepas probadas. En la tabla 3 se observan los resultados obtenidos en los extractos de algas recolectadas en

agosto de 2002 (lluvias), en este caso se destaca que todas las especies recolectadas fueron activas en al menos uno de sus extractos (100%), contra las tres cepas que siempre fueron sensible a los extractos: *Aspergillus niger*, *Rhizopus nigricans* y *Candida albicans*, inhibiendo completamente la formación de micelios en el caso de las dos primeras especies de hongos y en el caso de la levadura, en algunos casos la inhibición fue parcial, se obtuvieron algunas UFC (Unidades Formadoras de Colonias), aplicándose esto a algunas especies de la División Rhodophyta como *Digenea simplex* y *Gracilaria cervicornis* recolectadas en La Mancha, la segunda especie recolectada en la localidad de Costa de Oro sí mostró actividad. Todas las especies de la División Chlorophyta recolectadas en las dos localidades mostraron inhibición parcial en alguno de sus extractos, en contra de la levadura *Candida albicans*. En la tabla 4 se muestran los resultados de inhibición provocados por los extractos de algas recolectadas en marzo-abril de 2003 (fin de la época de nortes), en los que se observó un patrón similar al obtenido durante el muestreo de agosto, obteniéndose inhibición por parte de 22 de las 23 especies probadas (96%). En estas pruebas se presentó inhibición total con la mayoría de los extractos contra *Aspergillus niger*, en segundo lugar se inhibió el crecimiento de *Rhizopus nigricans* y al final se inhibe parcialmente a *Candida albicans*. Ninguno de los extractos probados inhibió el crecimiento de *Rhizopus oryzae*, *Alternaria alternata* y *Beauveria bassiana*.

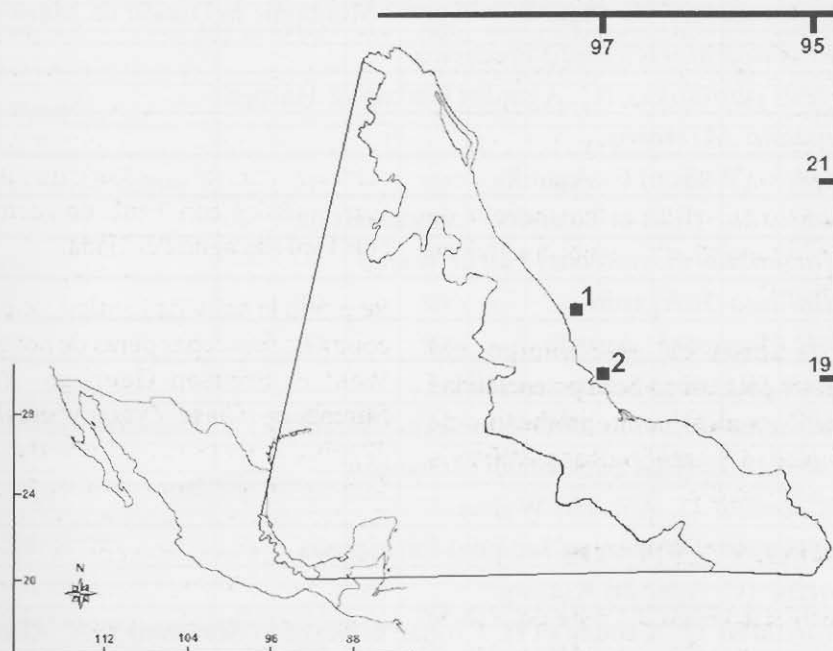


Figura 1. Localidades de recolección del material algal. 1. La Mancha, 2. Costa de Oro, Veracruz, México.

<b>Division Chlorophyta</b>
<i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>Lamourouxii</i> (Turner) Weber-van Bosse
<i>Cladophora prolifera</i> (Roth) Kützing
<i>Codium simplex</i> Ined.
<i>Cymopolia barbata</i> (Linnaeus) Lamouroux
<i>Halimeda scabra</i> M. Howe
<i>Ulva fasciata</i> Delile
<b>Division Phaeophyta</b>
<i>Colpomenia sinuosa</i> (Mertens ex Roth) Derbès et Solier
<i>Dictyopteris delicatula</i> Lamouroux
<i>Dictyota cervicornis</i> Kützing
<i>Dictyota Ciliolata</i> Sonder ex Kützing
<i>Padina boergesenii</i> Allender et Kraft
<i>Padina pavonica</i> (Linnaeus) Thivy in W. R: Taylor
<i>Sargassum fluitans</i> (Børgesen) Børgesen
<i>Sargassum natans</i> (Linnaeus) Gaillon
<i>Sargassum platycarpum</i> Montagne
<i>Sargassum polyceratium</i> Montagne
<i>Sargassum vulgare</i> C. Agardh
<i>Spatoglossum schroederi</i> (C. Agardh) Kützing
<i>Styopodium zonale</i> (Lamouroux) Papenfuss
<b>Division Rhodophyta</b>
<i>Acantophora spicifera</i> (Val) Børgesen
<i>Bryothamnion triquetum</i> (S.G. Gmelin) M. Howe
<i>Centroceras clavulatum</i> (C. Agardh in Kunth) Montagne in Durieu de Maisonneuve
<i>Chondracantus acicularis</i> (Roth) Fredericq
<i>Chondrophyceus papillosus</i> (C. Agardh) Garbay & Harper
<i>Dasya collinsiana</i> M. Howe
<i>Digenea simplex</i> (Wulfen) C. Agardh
<i>Galaxaura obtusata</i> (Ellis et Solander) Lamouroux
<i>Ganonema farinosum</i> (Lamouroux) Fan et Wang
<i>Gracilaria caudata</i> J. Agardh
<i>G. cervicornis</i> (Turner) J. Agardh
<i>G. domingensis</i> (Kützing) Sonder ex Dickie
<i>Gracilariopsis lemaneiformis</i> (Bory de Saint-Vincent) E. Y. Dawson, Acleto et Foldvik
<i>Haliptilon subulatum</i> (Ellis et Solander) Johansen
<i>Hydropuntia cornea</i> (J. Agardh) Wynne
<i>Hypnea musciformis</i> (Wulfen en Jacquin) Lamouroux
<i>Hypnea spinella</i> (C. Agardh) Kützing
<i>Liagora dendroidea</i> (P. Crouan et H. Crouan in Mazé et Scramm) I. A. Abbott.

Tabla 1. Especies algales recolectadas en Veracruz, México y probadas en este estudio



	<i>Aspergillus niger</i>				<i>Rizophus nigricans</i>				<i>Candida albicans</i>			
	C-M	C-OH	E-M	E-OH	C-M	C-OH	E-M	E-OH	C-M	C-OH	E-M	E-OH
<b>Rhodophyta</b>												
<i>Digenea simplex</i> <sup>1</sup>	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Gracilaria caudata</i> <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+	+
<i>Hypnea musciformis</i> <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
<b>Phaeophyta</b>												
<i>Padina boergesenii</i> <sup>1</sup>	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Sargassum vulgare</i> <sup>1</sup>	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Chlorophyta</b>												
<i>Cymopolia barbata</i> <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Rhodophyta</b>												
<i>Gracilaria domingensis</i> <sup>2</sup>	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Hydropuntia cornea</i> <sup>2</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Hypnea musciformis</i> <sup>2</sup>	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+
<b>Phaeophyta</b>												
<i>Sargassum fluitans</i> <sup>2</sup>	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Styppodium zonale</i> <sup>2</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Chlorophyta</b>												
<i>Cymopolia barbata</i> <sup>2</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Ulva fasciata</i> <sup>2</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabla 2. Actividad antimicótica de extractos algales de especies colectadas en mayo de 2002

	<i>Aspergillus niger</i>				<i>Rizophus nigricans</i>				<i>Candida albicans</i>			
	C-M	C-OH	E-M	E-OH	C-M	C-OH	E-M	E-OH	C-M	C-OH	E-M	E-OH
<b>Rhodophyta</b>												
<i>Chondrophyucus papillosus</i> <sup>1</sup>	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD
<i>Digenea simplex</i> <sup>1</sup>	+	—	+	—	—	+	+	—	10	+	+	+
<i>Galaxaura obtusata</i> <sup>1</sup>	+	SD	—	SD	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD
<i>Gracilaria cervicornis</i> <sup>1</sup>	+	—	—	—	—	+	+	+	+	+	4	+
<i>Liagora dendroidea</i> <sup>1</sup>	+	SD	SD	SD	+	SD	SD	SD	+	SD	SD	SD
<b>Phaeophyta</b>												
<i>Dictyota cervicornis</i> <sup>1</sup>	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	—	SD
<i>Padina boergesenii</i> <sup>1</sup>	—	—	—	+	—	—	+	+	+	+	—	+
<i>Sargassum platycarpum</i> <sup>1</sup>	—	+	+	—	+	—	—	+	+	+	+	+
<b>Chlorophyta</b>												
<i>Caulerpa racemosa</i> var. <i>lamorouxii</i> <sup>1</sup>	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	6	SD	—	SD
<i>Codium simplex</i> <sup>1</sup>	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	4	SD	+	SD
<i>Cymopolia barbata</i> <sup>1</sup>	—	—	—	+	—	+	+	+	+	1	5	+
<i>Halimeda scabra</i> <sup>1</sup>	+	SD	—	SD	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD
<i>Ulva fasciata</i> <sup>1</sup>	+	SD	—	SD	—	SD	+	SD	4	SD	+	SD
<b>Rhodophyta</b>												
<i>Acantophora spicifera</i> <sup>2</sup>	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD
<i>Gracilaria caudata</i> <sup>2</sup>	+	—	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+
<i>Gracilaria cervicornis</i> <sup>2</sup>	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+
<i>Gracilariopsis lemaneiformis</i> <sup>2</sup>	—	—	+	+	—	+	+	+	—	—	—	—
<b>Chlorophyta</b>												
<i>Cladophora prolifera</i> <sup>2</sup>	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	4	SD
<i>Ulva fasciata</i> <sup>2</sup>	+	SD	+	SD	+	SD	+	SD	—	SD	5	SD

Tabla 3. Actividad antimicótica de extractos algales de especies colectadas en agosto de 2002

	<i>Aspergillus niger</i>				<i>Rizopus nigricans</i>				<i>Candida albicans</i>			
	C-M	C-OH	E-M	E-OH	C-M	C-OH	E-M	E-OH	C-M	C-OH	E-M	E-OH
<b>Rhodophyta</b>												
<i>Acantophora spicifera</i> <sup>1</sup>	+	+	+	+	+	+	3	10	2	—	—	3
<i>Bryothamnion triquetrum</i> <sup>1</sup>	—	+	+	—	—	—	10	—	3	—	8	—
<i>Centroceras clavulatum</i> <sup>1</sup>	+	+	+	+	—	—	—	1	—	10	—	—
<i>Chondrophyceus papillosus</i> <sup>1</sup>	—	—	—	+	—	—	—	+	—	—	—	12
<i>Dasya collinsiana</i> <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	3	+
<i>Digenea simplex</i> <sup>1</sup>	—	—	+	+	—	—	2	2	—	—	—	—
<i>Ganonema farinosum</i> <sup>1</sup>	—	SD	+	SD	10	SD	+	SD	+	SD	—	SD
<i>Gracilaria caudata</i> <sup>1</sup>	+	+	+	+	—	3	1	+	—	—	—	—
<i>Gracilaria cervicornis</i> <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Haliptilon subulatum</i> <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	4
<i>Hypnea musciformis</i> <sup>1</sup>	+	+	+	+	—	—	2	3	10	10	8	8
<i>Hypnea spinella</i> <sup>1</sup>	+	SD	+	SD	1	SD	+	SD		SD	6	SD
<b>Phaeophyta</b>												
<i>Colpomenia sinuosa</i> <sup>1</sup>	—	SD	+	SD	2	SD	—	SD	20	SD	—	SD
<i>Dictyopteris delicatula</i> <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	8	—	3	+
<i>Dictyota ciliolata</i> <sup>1</sup>	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Padina pavonica</i> <sup>1</sup>	—	+	—	+	—	—	3	—	—	—	—	—
<i>Sargassum polyceratum</i> <sup>1</sup>	—	—	—	+	—	—	—	2	—	—	—	—
<i>Spatoglossum schroederi</i> <sup>1</sup>	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Chlorophyta</b>												
<i>Codium simplex</i> <sup>1</sup>	—	+	+	+	—	—	—	+	7	10	2	+
<i>Cymopolia barbata</i> <sup>1</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	+	2
<i>Ulva fasciata</i> <sup>1</sup>	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	6	+
<b>Rhodophyta</b>												
<i>Acantophora spicifera</i> <sup>2</sup>	+	SD	+	SD	10	SD	+	SD	—	SD	—	SD
<i>Chondracanthus acicularis</i> <sup>2</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
<i>Gracilaria caudata</i> <sup>2</sup>	+	+	—	+	—	—	—	—	+	—	—	—
<i>Hypnea musciformis</i> <sup>2</sup>	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Phaeophyta</b>												
<i>Dictyota ciliolata</i> <sup>2</sup>	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Padina pavonica</i> <sup>2</sup>	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Sargassum natans</i> <sup>2</sup>	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<b>Chlorophyta</b>												
<i>Ulva fasciata</i> <sup>2</sup>	+	SD	+	+	—	—	+	+	—	—	7	—

Tabla 4. Actividad antimicótica de extractos algales de especies colectadas en mazo-abril de 2003

## DISCUSIÓN

Es importante destacar que los trabajos que se han realizado previamente al presente han utilizado la técnica de difusión en agar, con esta misma se han encontrado resultados alentadores. No obstante no se reporta en la literatura resultados positivos en gran

proporción como en este artículo Welch (1962), Olesen *et al.* (1964), Moreau *et al.* (1988) y Padmakumar y Ayyakkannu (1997), considerando que en los dos últimos se probaron totales similares de algas a los de este estudio. Estos resultados pueden deberse al tipo de técnica usada para caracterizar la inhibición del crecimiento de las cepas de hongos provocada por los

extractos; el método consistente en exponer las esporas del patógeno o la levadura directamente al extracto crudo permitiendo la exposición uniforme a los agentes inhibitorios presentes en las algas, lo que se traduce en resultados mas amplios y precisos (Kim *et al.*, 2000a y 2000b; Koh *et al.*, 2002). Otra fuente de eficiencia en la obtención de los presentes resultados se debe al tipo de extracción realizada con mezclas de solventes que permitió la obtención de una mayor concentración de compuestos de carácter lipídico, estos compuestos han mostrado tener propiedades antifúngicas (Martínez-Nadal *et al.* 1964 Martínez-Nadal *et al.* 1966; Sreenivasa-Rao y Shelat, 1982; Ballantine *et al.*, 1987).

Se ha reportado previamente la ausencia/presencia de metabolitos biológicamente activos debido a la estacionalidad (Khaleafa *et al.*, 1975; Hornsey y Hide, 1976, 1985; Padmakumar y Ayyakkannu, 1997), en este trabajo se observó la ausencia de actividad antifúngica en *Ulva fasciata* y *Cymopolia barbata* (Chlorophyta) recolectadas en la temporada de secas en mayo de 2002. No obstante, estas especies mostraron fuerte actividad inhibitoria del crecimiento cuatro meses después, al final de la época de lluvias en agosto del mismo año, disminuyendo la potencia hacia el final de la época de nortes e inicio de la época de secas (mazo-abril de 2003). En contraste con nuestros resultados, algunos investigadores han reportado que la potencia antifúngica aumenta en verano que en invierno y otoño (Khaleafa *et al.*, 1975; Hornsey y Hide, 1976, 1985), no son claras las razones por las que se presenta este fenómeno, en algunos casos se ha considerado que el estado reproductivo del alga es un factor que promueve la síntesis de este tipo de sustancias protectoras (Moreau *et al.*, 1988), sin embargo es seguro que esta síntesis de metabolitos se promueva por causas multifactoriales como las de carácter ecológico, de la edad, del crecimiento, entre otros. Los resultados mostraron un potencia importante de todas las especies, sin embargo también fue posible observar que algunos disolventes fueron más efectivos para extraer los metabolitos antifúngicos que otros, particularmente las mezclas Cloroformo-metanol-agua y éter-metanol-agua fueron las más efectivas extrayendo los principios activos.

Trabajos previos han reportado la ausencia de actividad de algunas especies algales contra *Candida albicans*, Padmakumar y Ayyakkannu (1997) informaron la ausencia de inhibición del crecimiento de la levadura por los extractos de *Ulva fasciata*, *Colpomenia*

*sinuosa*, *Dictyopteris delicatula*, *Acantophora spicifera*, *Chondrophycus papillosus*, también Welch, (1962) reportó esta ausencia de actividad en la última alga mencionada. Pesando y Caram (1984) no encontraron actividad positiva en el extracto de *Hypnea musciformis* y Ballesteros *et al.* (1992) informaron lo mismo para el extracto de *Padina pavonica*. Nuestros resultados contrastan con todos los autores anteriores, en todas estas especies sí se detectó actividad antifúngica contra la levadura *Candida albicans*. Consecuentemente podemos sugerir que son tres las causas que pueden intervenir en la obtención de mejores resultados por nuestra parte primero, se logran mayores concentraciones de principios activos durante la extracción con las mezclas de solventes utilizadas, segundo, la técnica de dilución que se usó para identificar la actividad antifúngica es mejor que la de difusión y tercero, podemos sugerir que estos resultados pueden deberse a factores ecológicos relacionados con las localidades de recolecta del material algal como ha sido sugerido por Khaleafa *et al.* (1975), Hornsey y Hide (1976 y 1985) y Padmakumar y Ayyakkannu (1997). Sin embargo, haría falta comprobar esta hipótesis realizando estudios con las algas reportadas en los trabajos mencionados usando la misma técnica que se usó en este y planteando un muestreo más intenso considerando las estaciones del año y otros parámetros físicos y químicos relevantes.

En este estudio se reporta por vez primera la actividad antifúngica de: *Bryothamnion triquetrum*, *Chondracanthus acicularis*, *Digenea simplex*, *Dasya collisiana*, *Galaxaura obtusata*, *Ganonema farinosum*, *Gracilaria caudata*, *Liagora dendroidea*, *Halyptilon subulatum*, *Hydropuntia cornea* e *Hypnea spinella* (Rhodophyta); *Codium simplex*, *Cladophora prolifera*, *Ulva fasciata* (Chlorophyta); *Colpomenia sinuosa*, *Dictyopteris delicatula*, *Dictyota cervicornis*, *Dictyota ciliolata*, *Padina boergesenii*, *Padina pavonica*, *Sargassum vulgare*, *Sargassum polyceratium* y *Spatoglossum schroederii* (Phaeophyta).

La conclusión más importante de este estudio es el gran potencial que presentan nuestras costas para proveernos de sustancias novedosas capaces de servir como alternativa en el combate de hongos dañinos al hombre, tanto directamente a la salud de los humanos, como indirectamente en los hongos contaminantes de alimentos frescos y enlatados.

## LITERATURA CITADA

- Atlas, R. M., A. E. Brown, K. W. Dobra and L. I. Miller, 1988. *Experimental Microbiology. Fundamentals and applications*. 2da. Ed. Mcmillan Publishing company. New York, 618 p.
- Ballantine, D. L., W. H. Gerwick, S. M. Velez, E. Alexander and P. Guevara, 1987. Antibiotic activity of lipid-soluble extracts from Caribbean marine algae. *Hydrobiologia* 151/152: 463-469.
- Ballesteros, E., D. Martin and M. J. Uriz, 1992. Biological activity of extracts from some Mediterranean macrophytes. *Bot. Mar.*, 35(6): 481-485.
- Barreto, M., C. J. Straker and A. T. Critchley, 1997. Short note on the effects of ethanolic extracts of selected South African seaweeds on the growth of commercially important plant pathogens, *Rhizoclona solani* Kuehn and *Verticillium* sp. *S. African J. Bot.*, 63(6): 521-523.
- Bernard, P. and D. Pesando, 1989. Antibacterial and antifungal activity of extracts from the rhizomes of the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Bot. Mar.*, 32: 85-88.
- Caccamese, S. and R. Azzolina, 1979. Screening for antimicrobial activities in marine algae from eastern Sicily. *Pl. Med.*, 37: 333-339.
- Codomier, L., G. Bruneau, G. Combaut and J. Teste, 1977. Etude biologique et chimique d' *Asparagopsis armata* et de *Falkenbergia rufolanosa* (Rhodophyce'es, Bonnemasoniales). *C. R. Acad. Sc. Paris. Serie D*, 284: 1163-1165.
- Fenical, W. F., 1974. Cycloendesmol, and antibiotic cyclopropane containing sesquiterpene from the marine alga, *Chondria oppositoclada* Dawson. *Tetrahedron Lett.*, 13: 1137-1140.
- Fenical, W. F., J. J. Sims, D. Squatrito, R. Wing and P. Radlick, 1973. Zonarol and Isozonarol. Fungitoxic hydroquinines from the brown seaweed *Dictyopteris zonaroides*. *J. Org. Chem.*, 38: 2385.
- Guansekeru, L. S., A. E. Wright, S. P. Gunasekera, P. McCarthy and J. Reed, 1995. Antimicrobial constituent of the brown alga *Sporonchus pedunculatus*. *Int. J. Pharmacognosy* 33(3): 253-255.
- Hornsey, I. I. And D. Hide, 1976. The production of antimicrobial compounds by British marine algae. II. Seasonal variation in production of antibiotics. *Br. J. Phycol.*, 11: 63-37.
- Hornsey, I. I. And D. Hide, 1985. The production of antimicrobial compounds by British marine algae. IV. Variation of antimicrobial activity with algal generations. *Br. J. Phycol.*, 20: 21-25.
- Khaleafa, A. F., A. M. Kharboush, A. Metwalli, A. F. Mahsen and A. Serwi, 1975. Antibiotic fungicidal action from extracts of some seaweeds. *Bot. Mar.*, 18: 163-165.
- Kim, K., C. D. Harvell, P. D. Kim, G. W. Smith and S. K. Merkel, 2000a. Fungal disease resistance of Caribbean sea fan corals (*Gorgonia* spp.). *Mar. Biol.*, 136: 259-267.
- Kim, K., P. D. Kim, A. P. Alker and C. D. Harvell, 2000b. Chemical resistance of gorgonian corals against fungal infections. *Mar. Biol.*, 137: 393-401.
- Koh, L. L., T. K. Tan, L. M. Chou and N. K. C. Goh, 2002. Antifungal properties of Singapore gorgonians: a preliminary study. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 273: 121-130.
- Littler, D. S. and M. M. Littler, 2000. *Caribbean Reef Plants*. Offshore graphics Inc., Washington D.C., USA, 543 p.
- Martinez-Nadal, N. G., L. V. Rodríguez, C. Casillas, 1964. Sarganin and chonalgin, new antibiotic substances from marine algae from Puerto Rico. *Antimicrob. Agents & Chemother.* : 68-72.
- Martinez-Nadal, N. G., C. M. Casillas-Chapel, L. V. Rodríguez, J. R. Rodríguez-Perazza and L. Torres-Vera, 1966. Antibiotic properties of marine algae. III. *Cymopolia barbata*. *Bot. Mar.*, 9: 21-26.
- Mautner, H. C., G. N. Gardner and R. Pratt, 1953. Antibiotic activity of seaweed extracts. II. *Rhodomela larix*. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.*, 42: 294-296.
- Melo, V. M. M., D. A. Medeiros, F. J. B. Rios, L. T. M. Castelar and F. F. U. Carvalho, 1997. Antifungal properties of proteins (agglutinins) from the red alga *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux. *Bot. Mar.*, 40: 281-284.



- Moreau, J., D. Pesando and B. Caram, 1984. Antifungal and antibacterial screening of dictyocales from the French Mediterranean coast. *Hydrobiologia* 116/117: 521-524
- Moreau, J., D. Pesando, P. Bernard, B. Caram and J. C. Pionnat, 1988. Seasonal variations in the production of antifungal substances by some dictyocales (brown algae) from the French Mediterranean coast. *Hydrobiologia* 16(2): 157-162.
- Mori, K. and M. Komatsu, 1986. Synthesis and absolute configuration of zonarol. A fungitoxic hydroquinone from the brown seaweed *Dictyopteris zonaroides*. *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 98(9-10): 771-782.
- Olesen, P. E., A. Marezki and L. A. Almodovar, 1964. An investigation of antimicrobial substances from marine algae. *Bot. Mar.*, 5: 224-232.
- Padmakumar, K. and K. Ayyakkannu, 1986. Antimicrobial activity of some marine algae of Porto Novo and Pondicherry waters, east coast of India. *Ind. J. of Mar. Sci. New Delhi*, 15(3): 187-188.
- Padmakumar, K. and K. Ayyakkannu, 1997. Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from Southern coast of India. *Bot. Mar.*, 40: 507-515.
- Pesando, D. and B. Caram, 1984. Screening of marine algae from the French Mediterranean coast for antibacterial and antifungal activity. *Bot. Mar.*, 27: 381-386.
- Perry, N. B., J. Blunt and M. H. G. Munro, 1991. A cytotoxic and antifungal 1,4 naphthoquinone and related compounds from a New Zealand brown alga, *Landsburgia quercifolia*. *J. Nat. Prod.*, 54(4): 978-985.
- Robles, C. P. O. and D. L. Ballantine, 1999. Effects of culture conditions on production of antibiotic active metabolites by the marine alga *Spyridia filamentosa* (Ceramiaceae, Rhodophyta). I. Light. *J. Appl. Phycol.*, 10: 453-460.
- Sachithanathan, K. and A. Sivapalan, 1975. Antibacterial properties of some marine algae of Sri Lanka. *Bull. Fish. Res. Stn., Sri Lanka (Ceylan)*, 26(1-2): 5-9.
- Sreenivasa-Rao, P. and Y. A. Shelat, 1982. Antifungal activity of different fractions of extracts from Indian seaweeds. In: Hoppe, H. A. and T. Levring (Eds.). *Marine Algae in Pharmaceutical Science*. Vol. 2. Walter de Gruyter, Berlin, pp.93-98.
- Taylor, W. R., 1960. *Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas*. University of Michigan Press. Ann Arbor, 870 p.
- Vora, J. D., J. M. Babu, R. Sridharan, G. K. Trivedi and H. H. Mathur, 1995. Antimicrobial activities of marine algae from the Indian coast. *J. Mar. Biol. Assoc. India*, 36(1-2): 322-325.
- Welch, A. M., 1962. Preliminary survey of fungistatic properties of marine algae. *J. Bacteriol.*, 83: 97-99.
- Wynne, M. J., 1986. A checklist of the benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic. *Canad. J. Bot.*, 64: 2239-2281.
- Zamora, T. C. and D. L. Ballantine, 2000. Multiple antimicrobial activities of the marine alga *Spyridia filamentosa* (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Bot. Mar.*, 43: 233-238.