

## Uso potencial de algunas especies de microalgas y cianobacterias como aglutinantes de eritrocitos y como bactericidas

## Potential use of some species of microalgae and cyanobacteria as erythrocyte agglutinators and bactericides

Mónica Cristina Rodríguez-Palacio<sup>\*✉</sup>, Cruz Lozano-Ramírez<sup>✉</sup> y Sergio H. Alvarez-Hernández<sup>✉</sup>

Recibido: 20 de julio de 2021.

Aceptado: 29 de marzo de 2022.

Publicado: abril de 2022.

### RESUMEN

**Antecedentes.** Las microalgas y cianobacterias son fuente potencial de nuevas aplicaciones con actividad biológica. En nuestro país la investigación de aplicaciones de estos organismos es incipiente aún. **Objetivo.** Probar el potencial de algunas especies de microalgas y cianobacterias como aglutinantes de eritrocitos (presencia de lectinas) y bactericidas, considerando la influencia de los sistemas y medios de cultivo y producción de estos organismos microscópicos. **Métodos.** Se cultivaron nueve especies a probar en diferentes sistemas: Fotobiorreactores de 8 y 16 L y Estanques tipo raceways de 300 y 3 000 L, usando los medios de cultivo Bayfoland forte ®, F/2, UTEX, Zarrouk y Jourdan modificado, las microalgas obtenidas de estos sistemas se liofilizaron para las pruebas. En las pruebas de detección de lectinas (pruebas de aglutinación) se siguieron las recomendaciones de Muñoz *et al.* (1985) y para las de antibiosis, las de Bauer *et al.* (1966). **Resultados.** Tres especies (dos clorofitas y una cianobacteria) provocaron fuerte aglutinación de los eritrocitos, se observó una dependencia del sistema de cultivo a aumentar la actividad aglutinante, favorecida por el crecimiento en raceways. Solo una especie de las microalgas estudiadas presentó actividad antibacteriana leve, contra *Pseudomonas aeruginosa*. **Conclusiones.** Se reporta actividad bacteriostática en el extracto de *Desmodesmus quadricauda* contra *Pseudomonas aeruginosa* y aglutinación de la especie *Tetrademus obliquus*, *Desmodesmus quadricauda* y *Arthrospira platensis*. Destacando que son tres especies potenciales proveedoras de lectinas, debido a que aglutinaron fuertemente los eritrocitos sin tratamiento enzimático.

**Palabras clave:** Antibiosis, *Desmodesmus quadricauda*, lectinas, *Tetrademus obliquus*.

### ABSTRACT

**Background.** Microalgae and cyanobacteria are potential sources of new applications with biological activity. In our country, the research on applications of these organisms is still incipient. **Objective.** To test the potential of some species of microalgae and cyanobacteria as erythrocytes agglutinins (presence of lectins) and bactericides, considering the influence of the systems and media of cultivation and production of these microscopic organisms. **Methods.** Nine species to be tested were grown in different systems: photobioreactors of 8 and 16 L and raceway tanks of 300 and 3000 L, using Bayfoland forte ®, F / 2, UTEX, Zarrouk and modified Jourdan cultivation media, the obtained biomass was lyophilized for testing. Lectins detection (agglutination tests) was performed as recommended by Muñoz *et al.* (1985) and for antibiosis tests, the recommendations of Bauer *et al.* (1966) were followed. **Results.** Three species (two chlorophytes and one cyanobacteria) induced potent agglutination of erythrocytes, a dependence on the cultivation system to increase the total activity was observed when organisms were grown in raceways. Only one species of the microalgae studied showed mild antibacterial activity, this was against *Pseudomonas aeruginosa*. **Conclusions.** Bacteriostatic activity of *Desmodesmus quadricauda* extract against *Pseudomonas aeruginosa* and agglutination of *Tetrademus obliquus*, *Desmodesmus quadricauda* and *Arthrospira platensis* species are reported. Emphasizing that there are three potential species that provide lectins since they strongly agglutinated the erythrocytes without enzymatic treatment.

**Keywords:** Antibiosis, *Desmodesmus quadricauda*, lectins, *Tetrademus obliquus*.

Laboratorio de Fisiología Aplicada, Departamento de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1A Sección, Iztapalapa, Ciudad de México, 09310. México.

#### \*Corresponding author:

Mónica Cristina Rodríguez Palacios: e-mail: mony@xanum.uam.mx

#### To quote as:

Rodríguez-Palacio, M. C., C. Lozano-Ramírez & S. H. Alvarez-Hernández. 2022. Uso potencial de algunas especies de microalgas y cianobacterias como aglutinantes de eritrocitos y como bactericidas. *Hidrobiológica* 32 (1): 17-24.

DOI:10.24275/uam/izt/dchs/hidro/2022v32n1/Rodriguez

## INTRODUCCIÓN

Las microalgas y cianobacterias son una fuente renovadora del oxígeno de la atmósfera terrestre ya que son las responsables de aproximadamente el 50% del total de la fotosíntesis que se realiza en nuestro planeta (Gama, 2004). Estos microorganismos poseen gran variedad morfológica (unicelulares o formando filamentos, cadenas, colonias o cenobios) y habitan casi todos los cuerpos de agua en donde existan las condiciones más simples para crecer (Abalde *et al.*, 1995; Lara *et al.*, 1996).

Sin embargo, las microalgas y cianobacterias también se caracterizan por producir moléculas bioactivas, que pueden ser de utilidad para el hombre y el ambiente; por tanto, en los últimos años se ha incrementado el interés por la búsqueda de compuestos bioactivos en estos organismos, tales como: compuestos antibacterianos, anticancerígenos, antivirales, antitumorales, antiinflamatorios y anticoagulantes (Blaine & Pyne, 1988; Schlegel *et al.*, 1999; Shimizu, 2003; Nurby *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2020; Roopashri & Savitha, 2022). Estos metabolitos secundarios que producen las algas se deben a una respuesta como defensa química contra los herbívoros, competencia por el espacio y nutrientes entre otras y al ser liberadas en su entorno, constituyen una herramienta estratégica para su defensa en un medio tan competido (Ördög *et al.*, 2004; Alvarez-Hernández *et al.*, 2019).

Entre 1930 y 1940 se demostró la producción de diversas sustancias biológicamente activas, tal es el caso de la “Chlorelina” obtenida a partir de ácidos grasos de *Chlorella vulgaris* (Beyerinck), la cual se ha identificado como un potente activo antibacteriano; así mismo se reporta la actividad inhibitoria de diez extractos metanólicos correspondientes a tres géneros de microalgas clorofitas *Desmococcus*, *Chlorella* y *Scenedesmus*, probados contra diferentes cepas bacterianas Gram + y Gram - (Chu *et al.*, 2004; Ördög *et al.*, 2004). Pérez-Gutiérrez (2007) evaluó la actividad antimicrobiana de extractos hexánico, cloroformico y metanólico de *Oedogonium capillare* (Kützinger ex Hirn) probados ante ocho diferentes bacterias, donde se observó un amplio espectro antibacteriano en el extracto hexánico en comparación con los otros dos.

En el caso de las cianobacterias, Blaine & Pyne (1988) señalan el uso de la cianobacteria *Nostoc* para tratar la gota y el cáncer y la especie *Arthrospira platensis* (Gomont) ha sido estudiada por su potencial antibacteriano y por producir el ácido pipercolico vía  $\alpha$ -aminoadipato- $\beta$ -semialdehído, el cual favorece el metabolismo del aminoácido lisina, además de ser un precursor importante de numerosos metabolitos secundarios (Abedin & Taha, 2008; Kaushik & Chauhan, 2008; Naranjo-Briceño *et al.*, 2010).

Las lectinas son proteínas de origen no inmune, que unen carbohidratos y que aglutinan varios tipos de células y glicoconjugados (Goldstein *et al.*, 1980). Su presencia se ha reportado en todo tipo de células y tejidos, se les ha encontrado en casi todos los taxa, desde vira hasta vertebrados (Gold & Balding, 1975). Se ha podido observar que las lectinas son sumamente importantes en interacciones ecológicas altamente específicas como el reconocimiento de partículas alimenticias del mismo tamaño que son identificadas químicamente por parte de los bivalvos que se alimentan de microalgas (Pales *et al.*, 2010). Una gran cantidad de protozoarios se alimentan de otros protozoarios, bacterias e incluso de pequeños crustáceos. Es claro que no se alimentan indiscriminadamente, sino que presentan cierta selectividad en sus relaciones depredador-presa. El reconocimiento a nivel bioquímico

señala al depredador el grado de beneficio que le puede brindar esa presa y esto en particular es un tema recurrente en la literatura (Martel, 2009). Estas moléculas también están relacionadas al reconocimiento simbiótico en algunos invertebrados como los corales que reconocen a zooxantelas, (*Symbiodinium* spp.) e incluso son capaces de diferenciarlos para no digerirlos y mantenerlos en condiciones de supervivencia en sus células endodérmicas (Koike *et al.*, 2004). Sin embargo, la presencia de lectinas ha sido reportada solo en algunas pocas especies de cianobacterias y microalgas (Chu *et al.*, 2004, 2007). Chu *et al.* (2004) han detectado actividad aglutinante en 18 especies de *Chlorella* spp., 16 especies de *Chlamydomonas* spp., tres especies de *Spirulina* spp., dos especies de *Scenedesmus* spp. y una especie de los géneros *Synechococcus*, *Selenastrum*, *Monoraphidium*, *Coelastrum* y *Eutetramorus*. Estas especies aglutinaron eritrocitos nativos y tratados con papaína y tripsina. En Chu *et al.* (2007) reportaron actividad aglutinante en 32 de 43 cepas de microalgas y cianobacterias contra eritrocitos de humano, vaca, oveja y cerdo. Destaca la investigación de algunas lectinas provenientes de cianobacterias que se han usado en el modelo anti-VIH con excelentes resultados, tal es el caso de la lectina de *Oscillatoria agardhii* (Gomont) (OAA) que inhibe la cepa silvestre de VIH y la cepa de VIH-1 (Férriz *et al.*, 2014). La cianovirina-N, aislada de *Nostoc ellipsosporum* (Rabenhorst ex Bornet & Flahault), ha inhibido las cepas de VIH-1 y 2, así como el virus de la inmunodeficiencia de simios (Boyd *et al.*, 1997). La Scytovirina, aislada de la cianobacteria *Scytonema varium* (Kützinger ex Bornet & Flahault) que requiere el amino terminal para así expresar la potencia inhibitoria contra el virus de inmunodeficiencia humana (Alexandre *et al.*, 2013; Garrison *et al.*, 2014). La lectina aislada de *Microcystis viridis* (A. Braun) Lemmermann inhibe la fusión con la célula que es mediada por la cubierta del virus VIH tipo 1 (Yamaguchi *et al.*, 1999).

Debido a la amplia diversidad y complejidad de estos microorganismos, se requieren investigaciones enfocadas en detectar este tipo de metabolitos y así poder dar soluciones acertadas a problemáticas actuales. En el presente trabajo probamos el potencial de algunas especies de microalgas y cianobacterias como aglutinantes de eritrocitos (presencia de lectinas) y bactericidas, considerando la influencia de los sistemas y medios de cultivo y producción de estos microorganismos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas de microalgas y cianobacterias utilizados en esta investigación pertenecen a la colección de Cultivos del Laboratorio de Ficología Aplicada UAMI; la cual cuenta con más de 400 cepas aisladas de diferentes regiones de la República Mexicana y se están trabajando en proyectos de investigación aplicada en búsqueda de beneficios para el hombre y el ambiente. Estas fueron aisladas de las siguientes localidades: del lago de origen volcánico Chalchoapan, Veracruz (*Chlorella vulgaris*, *Chlorella kessleri*); del lago de Chapultepec, Ciudad de México (*Desmodesmus quadricauda*, *Tetrademus obliquus*); del Lago de Texcoco, Estado de México (*Arthrospira platensis*); del estero Garrapatas Salado Norte, Tamaulipas (*Spirulina subsalsa*); de una muestra de suelo agrícola (*Neochloris oleoabundans*); de la zona marina de Veracruz (*Phaeodactylum tricornutum*); del lago de Chapala, Jalisco (*Tetrademus dimorphus*).

**Cultivos en laboratorio.** Se seleccionaron las cepas clonales de microalgas Chlorophyta: *Chlorella vulgaris*, *Chlorella kessleri* (Fott

& Nováková), *Desmodesmus quadricauda* (Turpin) Bréb, *Neochloris oleoabundans* (S. Chantanachat & Bold), *Tetrademus dimorphus* (Turpin) M. J. Wynne, *Tetrademus obliquus* (Turpin) M. J. Wynne, Bacillariophyta: *Phaeodactylum tricornutum* (Bohlin) y las cianobacterias: *Arthrospira platensis* (Gomont), *Spirulina subsalsa* (Oersted ex Gomont). Las cepas se escalonaron cuando se encontraban en fase de crecimiento exponencial de un volumen inicial de 10 mL, (tubos de ensayo con tapón de bakelita) a matraces Erlenmeyer de 100 mL, 500 mL y 3 L. De ahí se pasaron a fotobiorreactores de 16 L, cada cultivo se estableció por triplicado (Fig.1).

Estos cultivos se mantuvieron en el laboratorio de Ficología Aplicada UAMI, con ciclo de luz oscuridad 12:12 h, a 22 °C y 166.8  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de irradiancia.

**Cultivos en planta piloto.** Los inóculos en sistemas de 16 L se trasladaron a la Planta Piloto de Cultivo de microalgas ubicada en la Universidad Iberoamericana de Puebla (UIAP) para escalar en fotobiorreactores tubulares de 80 L, y estanques tipo raceways de 300 y 3000 Litros (Fig. 2). Aquí las condiciones fueron luz natural, aireación constante por burbujeo, temperaturas de 2 - 40 °C y las pruebas se realizaron por duplicado.

**Medios de cultivo.** El medio que se utilizó para las microalgas fue un fertilizante foliar (Bayfolan forte ®) en una proporción de 1 mL por litro de cultivo (Rodríguez-Palacio, 2018), para las Bacillariophyta se ocupó el medio F/2 (Guillard & Rhyter, 1962) y para las cianobacterias se usó el medio Jourdan modificado (Jourdan mod) (Rodríguez-Palacio,

2020), Zarrouk (Rajasekaran *et al.*, 2016) y Spirulina Medium (UTEX) (<https://utex.org/products/spirulina-medium?variant=30991737454682>).

### Cosecha

Se cosechó la biomasa en fase de crecimiento estacionaria, tomando 16 L de cada sistema de cultivo. Se decidió cosechar en fase estacionaria por ser un momento de estrés debido a la falta de nutrientes y alta competencia en el cultivo y por lo tanto fase de producción de metabolitos secundarios. La biomasa se concentró por sedimentación y centrifugación, se almacenó en tubos tipo Falcon previamente rotulados de 50 mL y se congelaron. La biomasa se liofilizó y se preservó hasta su análisis.

Para los bioensayos también se ocupó biomasa cosechada de experimentos de biorremediación de lixiviados orgánicos (LBO) y agua residual municipal (ARM) (Rodríguez Palacio *et al.*, 2018).

**Lectinas. Preparación de extractos.** Se extrajo un gramo de biomasa algal liofilizada con 10 mL de solución amortiguadora de fosfatos (PB) pH 7.2. Se centrifugó a 1 000 x g durante 15 minutos y el sobrenadante se filtró en un equipo Millipore® a través de un filtro de 0.22  $\mu\text{m}$ . El extracto se guardó a -20 °C para las pruebas de aglutinación.

**Reactivo de eritrocitos.** Se obtuvo sangre humana por venipuntura de cuatro donadores sanos, de los tipos (O, A, B y AB positivos), se le agregó formol siguiendo las recomendaciones de Nowak & Baronides (1975) se guardó como una suspensión al 2 % en PB a 4°C, para la detección de actividad aglutinante.

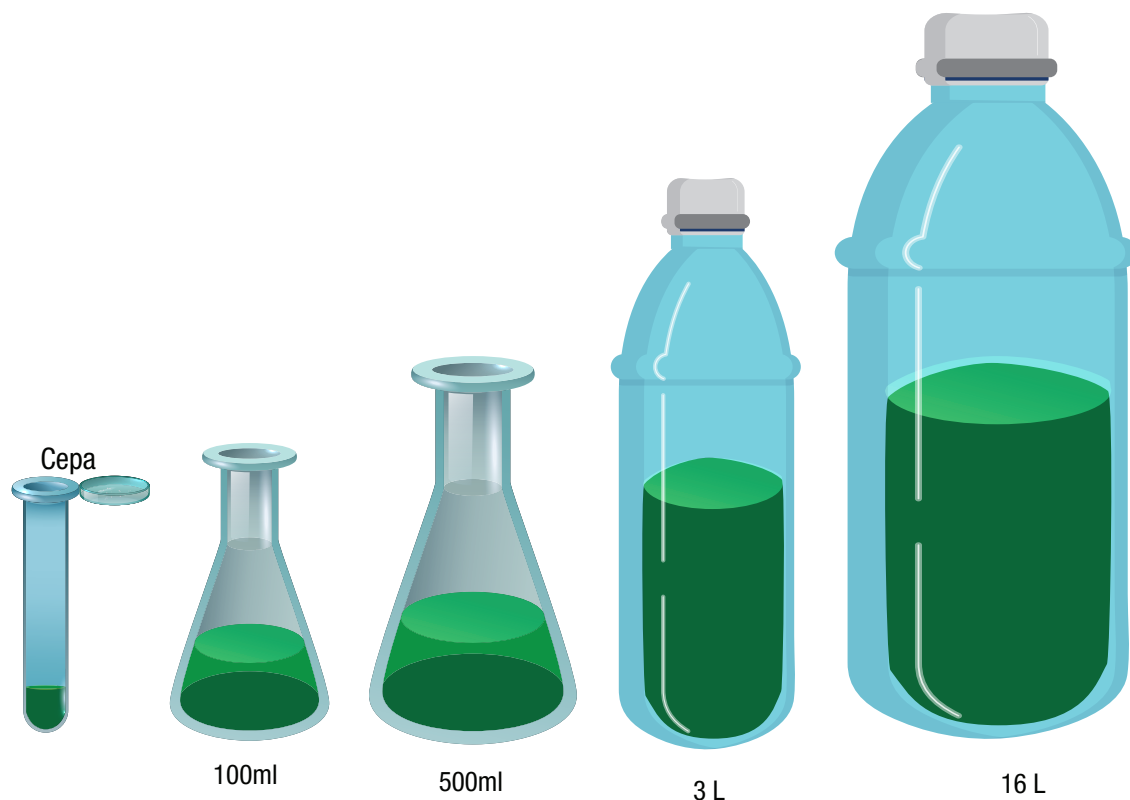


Figura 1. Esquema del proceso de escalamiento de las cepas

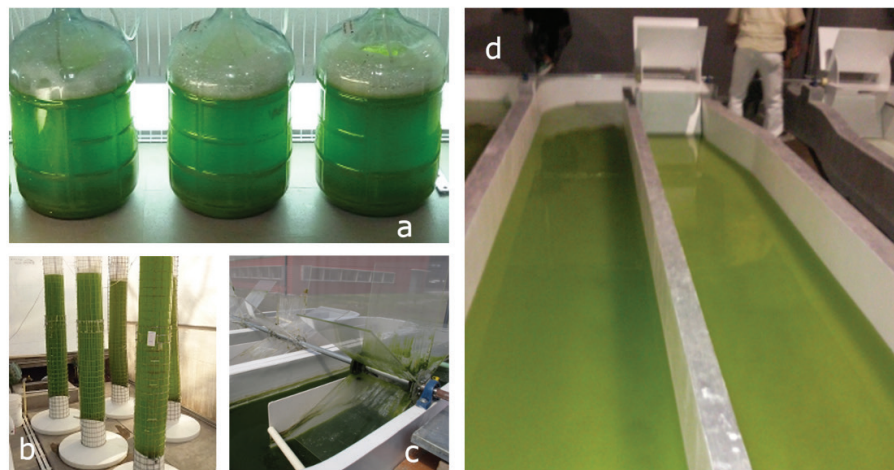


Figura 2. Sistemas de cultivo de la Planta Piloto en la UIAP. **a.** Fotobiorreactores de 16 L, **b.** Fotobiorreactores de 80 L, **c.** Estanques tipo raceways de 300 L, **d.** Estanques tipo raceways de 3000 L.

**Ensayos de aglutinación.** Las pruebas de aglutinación se realizaron por medio de diluciones, esto se hizo en placas de microtitulación de polipropileno de fondo U. A cada pozo se le añadieron 50  $\mu$ L de PB, el primer pozo sirvió como testigo y a partir del segundo se agregaron 50  $\mu$ L del extracto a probar y se realizaron diluciones seriadas, por último, se agregó 50  $\mu$ L del tipo sanguíneo O, A, B o AB a todos los pozos y la placa se dejó reposar por dos horas a temperatura ambiente. Se registró la aglutinación positiva macroscópicamente. Los valores de título se expresaron como el recíproco de la más alta dilución que provocó aglutinación (Muñoz *et al.*, 1985, Alvarez-Hernández *et al.*, 1999).

**Antibiosis. Siembra de las bacterias.** Se utilizaron las bacterias Gram + *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn; *Staphylococcus aureus* (Rosenbach) y Gram – *Enterobacter aerogenes* (Hormaeche y Edwards), *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers, *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula; *Salmonella thyphimurium* (Schroeter) Migula.

Para la siembra se preparó caldo nutritivo y agar base sangre en agua destilada según las indicaciones de los fabricantes y se esterilizaron en autoclave durante 15 minutos a 121 °C y 15 libras de presión. Una vez fríos se realizó la siembra en campana de flujo laminar con un asa de platino. Se dejaron incubar a 36 °C por 2 días y pasado este tiempo se conservaron en refrigeración hasta su uso.

**Preparación de los extractos y sensidiscos.** Se utilizó 1 g de biomasa de cada especie y se sometió a extracción liposoluble e hidrosoluble, mediante agua y metanol al 99.8 % respectivamente, en una proporción 1:50 (p/v). Para la fracción hidrosoluble se sometió a un proceso de congelado-descongelado por una hora, durante 5 ocasiones, para asegurar la ruptura celular. Para el extracto metanólico se dejó reposar 48 horas en refrigeración a una temperatura de 4 °C, posteriormente ambos se centrifugaron a 5000 rpm por 20 min, se recuperó el sobrenadante, y se evaporó a temperatura ambiente.

Una vez seco, se resuspendió con 10 mL de agua o metanol según la fracción. Se manejaron los siguientes volúmenes A con 50  $\mu$ L, B con 100  $\mu$ L y el control con 50  $\mu$ L. Se cargaron los sensidiscos elaborados

con papel Whatman No. 42, con ayuda de una micropipeta, y se colocaron en una cámara hermética de luz UV durante 2 días.

**Bioensayo en placa.** Se sembraron las bacterias en cajas Petri con agar bacteriológico por la técnica de difusión en placa. Se colocaron los sensidiscos cargados con tres diferentes concentraciones del extracto algal y un control. Las cajas se incubaron a 36° C y se examinaron pasadas las 24, 36 y 48 horas. Se midió cada halo de inhibición empleando un vernier. Los valores obtenidos se promediaron, obteniendo así el diámetro promedio utilizado como índice de actividad antibacteriana. Se utilizó como convención el símbolo + para indicar la presencia de actividad y – para la ausencia de actividad. Las pruebas se realizaron por triplicado (Bauer *et al.* 1966).

## RESULTADOS

Se sometieron a ensayos de aglutinación nueve especies de las cuales seis pertenecen a la División Chlorophyta, una a Bacillariophyta y dos al Phylum Cyanobacteria. Tres especies (33.3%) provocaron la aglutinación de eritrocitos formalinizados nativos (sin tratamiento enzimático) dos de ellas de Chlorophyta: *Tetrademus obliquus* y *Desmodesmus quadricauda* y una cianobacteria *Arthrospira platensis* (Tabla 1).

En los organismos que mostraron aglutinación, los títulos que se observaron fueron similares, con pequeñas variaciones. También las dos especies de Chlorophyta aglutinaron los cuatro tipos sanguíneos, esto no se presentó en la cianobacteria que falló en aglutinar al tipo AB positivo; aquí debemos destacar que esta especie no presentó actividad aglutinante y cuyas condiciones de cultivo fueron: columnas de 80 litros y medio de cultivo UTEX.

La aglutinación que presentaron las dos especies de Chlorophyta no dependió del medio de cultivo ya que todas crecieron en Bayfolan forte, sin embargo, se nota una influencia del sistema de cultivo en la intensidad de la aglutinación, en los dos casos, las que crecieron en columnas de 80 litros, disminuyó la actividad de aglutinación en dos títulos.



Tabla 1. Resultados de las pruebas de aglutinación con los extractos de microalgas y cianobacterias. El signo – indica la ausencia de actividad.

	Sistemas de cultivo					Tipo de Sangre			
	Cerrados (fotobiorreactores)		Abiertos (estanques tipo raceways)			0+	A+	B+	AB+
Chlorophyta	16 L	80 L	300 L	3000 L	Medios de cultivo	0+	A+	B+	AB+
<i>Chlorella vulgaris</i>		X			Bayfolan forte	-	-	-	-
<i>Chlorella kessleri</i>	X				Bayfolan forte	-	-	-	-
<i>Desmodesmus quadricauda</i>			X		Bayfolan forte	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>5</sup>
<i>D. quadricauda</i>		X			Bayfolan forte	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>5</sup>	2 <sup>2</sup>
<i>D. quadricauda</i>				X	Bayfolan forte	2 <sup>7</sup>	2 <sup>7</sup>	2 <sup>7</sup>	2 <sup>7</sup>
<i>Neochloris oleoabundans</i>	X				LBO	-	-	-	-
<i>N. oleoabundans</i>	X				LBO	-	-	-	-
<i>N. oleoabundans</i>	X				Bayfolan forte	-	-	-	-
<i>N. oleoabundans</i>	X				ARM	-	-	-	-
<i>Tetradesmus dimorphus</i>		X			Bayfolan forte	-	-	-	-
<i>Tetradesmus obliquus</i>			X		Bayfolan forte	2 <sup>3</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>
<i>T. obliquus</i>	X				Bayfolan forte	2 <sup>5</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4</sup>	2 <sup>4</sup>
<i>T. obliquus</i>		X			Bayfolan forte	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>
<i>T. obliquus</i>				X	Bayfolan forte	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>
Bacillariophyta									
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	X				F/2	-	-	-	-
<i>P. tricornutum</i>	X				ARM	-	-	-	-
Cyanobacteria									
<i>Arthrospira platensis</i>		X			Zarrouk	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	-
<i>A. platensis</i>		X			Jourdan mod	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	2 <sup>6</sup>	-
<i>A. platensis</i>		X			Utex	-	-	-	-
<i>Spirulina subsalsa</i>		X			Jourdan mod	-	-	-	-
<i>S. subsalsa</i>	X				Jourdan mod	-	-	-	-

Los Raceways de 300 y 3000 litros fueron los sistemas de cultivo cuyas algas mostraron mayor potencia de aglutinación. En el caso de la cianobacteria *Arthrospira platensis* la aglutinación no se presentó con el tipo sanguíneo AB, mientras que ante los demás tipos de sangre la aglutinación fue constante.

En los extractos resuspendidos con agua destilada (Tabla 2), solo una especie (*Desmodesmus quadricauda*) presentó actividad biológica ante *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, bacteria Gram negativa (Fig. 3). La actividad biológica observada correspondió a un efecto bacteriostático, el cual a diferencia de la actividad antibiótica, no produce la muerte a las bacterias, sin embargo, inhibe o retarda el crecimiento bacteriano.

## DISCUSIÓN

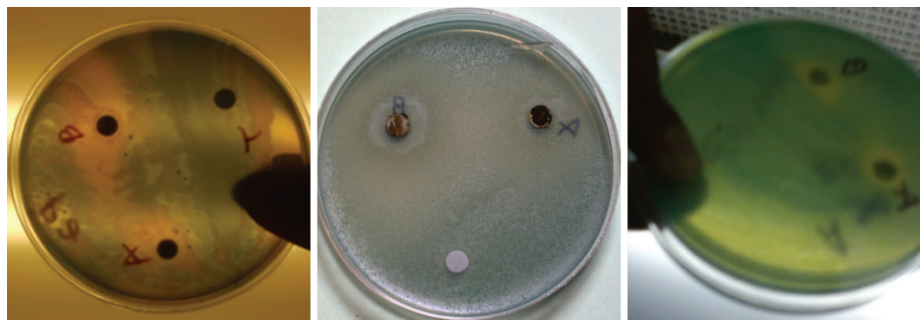
Es sabido que las lectinas se expresan dependiendo de diversas condiciones del medio donde viven las algas, entre estas condiciones se puede nombrar el tipo de hábitat, la presión de selección por depredadores, el clima e insolación, la estación de año y la zona de recolecta, todos estos factores son capaces de modificar la síntesis de proteínas (Fabregas, 1989; Hori *et al.*, 1993; Padmakumar & Ayyakkannu, 1997). Los resultados mostraron pequeñas diferencias en los títulos de aglutinación para las mismas especies que crecieron en diferentes sistemas de cultivo como *Desmodesmus quadricauda* y *Tetradismus obliquus*. Se observó que los sistemas de cultivo con mayor volumen (raceways de 300 y 3000 litros) mostraron títulos de aglutinación mayores que los de menor volumen (garrafrones de 16 y columnas de 80 litros).

La influencia del tipo de medio y de las condiciones de cultivo ha sido reportado para la actividad antibacteriana de *Synechococcus leopoliensis* por Noaman *et al.* (2004). Este fenómeno puede estar relacionado con las hipótesis que han expuesto estos autores sobre la modificación en la síntesis debido a condiciones ambientales. Se destaca la influencia de los sistemas de cultivo como una variable más a considerar para la expresión de estas proteínas en microalgas.

Tabla 2. Resultados de las pruebas de actividad antibiótica con los extractos de microalgas y cianobacterias en el extracto acuoso. El símbolo + indica presencia de actividad y – indica la ausencia de actividad

	Gram +		Gram -			
	1	2	3	4	5	6
Clorofitas						
<i>Chlorella vulgaris</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Chlorella kessleri</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Desmodesmus quadricauda</i>	-	-	-	-	+	-
<i>Neochloris oleoabundans</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Tetradismus dimorphus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Tetradismus obliquus</i>	-	-	-	-	-	-
Cianobacteria						
<i>Arthrospira platensis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Spirulina subsalsa</i>	-	-	-	-	-	-

1. *Bacillus subtilis*, 2. *Staphylococcus aureus*, 3. *Enterobacter aerogenes*, 4. *Escherichia coli*, 5. *Pseudomonas aeruginosa*, 6. *Salmonella typhimurium*



**Figura 3.** Actividad bacteriostática determinada mediante la técnica de difusión de placa. El extracto acuoso de *Desmodesmus quadricauda* inhibió el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. El diámetro del halo de inhibición promedio fue de 4 mm para el volumen de extracto A con 50  $\mu$ L, y 5 mm para el B con 100  $\mu$ L.

*Desmodesmus quadricauda* ha sido reportada previamente por poseer aglutininas (Chu *et al.*, 2007); los títulos de aglutinación obtenidos por este investigador coinciden con los del presente trabajo. Varias especies de *Chlorella*, particularmente *C. pyrenoidosa* (Chu *et al.*, 2004) y *Chlorella ellipsoidea* (Liao & Huang, 2000) han aglutinado eritrocitos tripsinizados y papinizados. Las especies de *Chlorella*, *C. vulgaris* y *C. kessleri* que se sometieron a los ensayos no mostraron aglutinación lo cual puede estar relacionado con la especie y cepa que se utilizó, este fenómeno se presenta con mucha frecuencia en macroalgas (Chung *et al.*, 2003; González del Val *et al.*, 2001; Padmakumar & Ayyakkannu, 1997; Sreenivasa & Parekh, 1981). Otra razón para no observar aglutinación es que en este trabajo se utilizó una solución de eritrocitos sin tratamiento enzimático, lo cual elimina impedimentos estéricos permitiendo que las lectinas se unan a los determinantes glucosídicos de las células sanguíneas (Ainouz, *et al.*, 1992; Benevides *et al.*, 1999).

Chu *et al.* (2004) también han reportado aglutinación con una cepa de *Arthrospira platensis* ATCC 53844 y eritrocitos tratados enzimáticamente, proceso que permite eliminar impedimentos estéricos en la superficie de los eritrocitos permitiendo que las lectinas se unan más fácilmente a la superficie de éstos, promoviendo la aglutinación con menor concentración de lectina. En el caso del presente trabajo, no se usaron eritrocitos tratados enzimáticamente y sin embargo los títulos de aglutinación fueron iguales a los reportados por estos autores. La lectina puede poseer una estructura tal que le permita unirse a determinantes glucosídicos aun con algún tipo de impedimento estérico en la superficie del eritrocito.

La nula aglutinación que presentó la especie que creció en medio UTEX, puede deberse a la composición del medio de cultivo, como fue reportado por Noaman *et al.* (2004).

Con respecto a la actividad antibiótica, en la literatura se manifiestan diversas opiniones al considerar la resistencia o sensibilidad a una cepa bacteriana cuando se llevan a cabo pruebas antimicrobianas con extractos derivados de microalgas. Algunos autores utilizan como referencia para considerar el efecto antimicrobiano como positivo  $\geq 2$  mm de diámetro promedio, tal es el caso de Jaki *et al.*, 1999; Mian *et al.*, 2003; Rosales, 2007. De manera que, bajo estas consideraciones de positivo para actividad antibiótica, se puede inferir que existe actividad bacteriostática en el extracto acuoso de *Desmodesmus quadricauda* contra la cepa bacteriana gram negativa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Para la especie *Desmodesmus quadricauda*, Abedin & Taha (2008) reportaron actividad en cuatro extractos probados contra cuatro bacterias, mismas que se utilizaron en este estudio. Ördög *et al.*, 2004 reportaron actividad antibiótica en dos géneros de *Scenedesmus* sp. ante *S. aureus* y *Alternaria* sp. con halos que van de 5 a 10 mm respectivamente. Si bien se ha reportado en muchos microorganismos la producción de sustancias con actividad biológica, de igual forma se ha informado que algunas condiciones ecológicas como la competencia, la herbivoría y la densidad, entre otras pueden favorecer la producción de metabolitos (Benkendorff *et al.*, 2001; Ördög *et al.*, 2004; Chadwick *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2008; Alvarez-Hernández *et al.*, 2019) de manera que en situaciones de estrés es cuando suele presentarse una mayor producción de estos metabolitos, los cuales son liberados a su entorno, constituyendo una herramienta estratégica para su defensa en un medio competido (Ördög *et al.*, 2004).

En México, los autores no encontraron trabajos recientes sobre estos temas y por tanto se requiere más investigación aplicada para estar a la vanguardia. El trabajar con cepas nativas mexicanas abre un panorama de usos y aplicaciones potenciales para beneficio del hombre y del ambiente.

## AGRADECIMIENTOS

Proyecto de la DCByS UAMI, Cultivo de microalgas, usos potenciales, Caribe y Golfo de México. Universidad Iberoamericana de Puebla, Fundación Produce Puebla.

## REFERENCIAS

- ABALDE, J., A. CID, J.P. FIDALGO, E. TORRES & C. HERRERO. 1995. *Microalgas: cultivo y aplicaciones*. La Coruña, Servicio de Publicaciones. 210 p.
- ABEDIN, R.M.A. & H.M. TAHA. 2008. Antibacterial and antifungal activity of cyanobacteria and green microalgae. Evaluation of medium components by Plackett-Burman design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry* 3(1):22-31.
- AINOUZ, I.L., A.H. SAMPAIO, N.M.B. BENEVIDES, A.L.P. FREITAS, F.H.F. COSTA, M.R. CARVALHO & F. PINHEIRO-JOVENTINO. 1992. Agglutination of enzyme treat-

- ted erythrocytes by Brazilian marine algal extracts. *Botanica Marina* 35:475-479. DOI:10.1515/botm.1992.35.6.475
- ALEXANDRE, K.B., P.L. MOORE, M. NONYANE, E.S. GRAY, N. RANCHOBE, E. CHAKAUYA, J.B. McMAHON, B.R. O'KEEFE, R. CHIKWAMBA & L. MORRIS. 2013. Mechanisms of HIV-1 subtype C resistance to GRFT, CV-N and SVN. *Virology* 446:66-76. DOI:10.1016/j.virol.2013.07.019
- ALVAREZ-HERNÁNDEZ, S., C. LOZANO-RAMÍREZ & M. RODRÍGUEZ-PALACIO. 2019. Influence of the habitat on marine macroalgae toxicity. *Annual Research & Review in Biology* 33(1):1-9. DOI:10.9734/arrb/2019/v33i130113
- ALVAREZ-HERNÁNDEZ, S., G. DE LARA-ISASSI, R. ARREGUÍN-ESPINOZA, B. ARREGUÍN, A. HERNÁNDEZ-SANTOYO & 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. DOI:10.1515/BOT.1999.064
- BAUER, A.W., W.M. KIRBY, J.C. SHERRIS & M. TURCK. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology* 45(4):493-496. DOI:10.1093/ajcp/45.4\_ts.493
- BENEVIDES, N.M.B., S.R. MAGALHÃES-OLIVEIRA, M. L. HOLANDA, F. RABELO-MELO, A.L. PONTE-FREITAS & A. HOLANDA-SAMPAIO. 1999. Seasonal variations in hemagglutinating activity and chemical composition of two red marine algae *Gracilaria domingensis* and *Gelidium pusillum*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 11(2):91-95.
- BENKENDORFF, K., A.R. DAVIS & J.B. BRENNER. 2001. Chemical defense in the egg masses of benthic invertebrates: an assessment of antibacterial activity in 39 mollusks and 4 polychaetes. *Journal of Invertebrate Pathology* 78(2):109-118. DOI:10.1006/jipa.2001.5047
- BLAINE, M. & J.W. PYNE. 1988. Biological active compound from microalgae. *Enzyme and Microbial Technology* 8:386-394. DOI:10.1016/0141-0229(86)90144-4
- BOYD, M.R., K.R. GUSTAFSON, J.B. McMAHON, R.H. SHOEMAKER, B.R. O'KEEFE, T. MORI, R.J. GULAKOWSKI, L. WU, M.I. RIVERA, C.M. LAURENCOT, M.J. CURRENS, J.H. CARDELLINA II, R.W. JR. BUCKHEIT, P.L. NARA, L.K. PANNELL, R.C. SOWDER II & L.E. HENDERSON. 1997. Discovery of cyanovirin-N, a novel human immunodeficiency virus-inactivating protein that binds viral surface envelope glycoprotein gp120: Potential applications to microbicide development. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 41:1521-1530. DOI:10.1128/AAC.41.7.1521
- CHADWICK, D.J., J. MARSH & J.B. HARBORNE. 2007. *Role of secondary metabolites in chemical defense mechanisms in plants*. John Wiley and Sons. 14 p. DOI:10.1002/9780470514009.ch10
- CHU, C.Y., R. HUANG & L.P. LIN. 2007. Analysis of the agglutinating activity from unicellular algae. *Journal of Applied Phycology* 19:401-408. DOI:10.1007/s10811-006-9146-3
- CHU, C.Y., W.R. LIAO, R. HUANG & L.P. LIN. 2004. Haemagglutinating and antibiotic activities of freshwater microalgae. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 20:817-825. DOI:10.1007/s11274-004-8712-6
- CHUNG, H.Y., M.A. W.C. JOYCE, O.P. ANG, J.S. KIM & F. CHEN. 2003. Seasonal variation of bromophenols in brown algae (*Padina arborescens*, *Sargassum siliquastrum* and *Lobophora variegata*) collected in Hong Kong. *Journal of agricultural and food Chemistry* 51:2619-2624. DOI:10.1021/jf026082n
- FABREGAS, J., A. MUÑOZ, J. LLOVO & T. G. VILLA. 1989. Differentiation of *Candida guilliermondii* varieties by lectin-like substances from marine algae. *Research in Microbiology* 140:373-378. DOI:10.1016/0923-2508(89)90013-2
- FÉRIR, G., D. HUSKENS, S. NOPPEN, L.M. KOHARUDIN, A.M. GRONENBORN, D. SCHOLS & D. BROAD. 2014. Broad Anti-HIV activity of the *Oscillatoria agardhii* agglutinin homologue lectin family. *Journal of Antimicrobial and Chemotherapy* 69(10):2746-2758. DOI:10.1093/jac/dku220
- GAMA, F.M.A. 2004. *Biología. Biogénesis y microorganismos*. 2 da ed. Pearson Educación, México. 226 p.
- GARRISON, A.R., B.G. GIOMARELLI, C.M. LEAR-ROONEY, C.J. SAUCEDO, S. YELLAY, L.R. KRUMPE, M. ROSE, J. PARAGAS, M. BRAY, G.G. OLLINGER, J.B. JR. McMAHON, J. HUGGINS & B.R. O'KEEFE. 2014. The cyanobacterial lectin scytovirin displays potent *in vitro* and *in vivo* activity against Zaire Ebola virus. *Antiviral Research* 112:1-7. DOI: 10.1016/j.antiviral.2014.09.012
- GOLD, E.R. & P. BALDING. 1975. *Receptor-Specific Proteins*. Amsterdam: Excerpta Medica. Amsterdam. 210 p.
- GOLDSTEIN, I.J., R.C. HUGHES, M. MONSIGNY, T. OSAWA & N. SHARON. 1980. What should be called a lectin? *Nature* 285:66. DOI:10.1038/285066b0
- GONZÁLEZ DEL VAL, A., G. PLATAS, A. BASILIO, A. CABELLO, J. GORROCHATEGUI, I. SUAY, F. VICENTE, E. PORTILLO, M. JIMÉNEZ DEL RÍO, G.R. GARCÍA & F. PELÁEZ. 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *International Microbiology* 4:35-40. DOI:10.1007/s101230100006
- GUILLARD, R. R. L. & J. H. RYTHER. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. Journal of Microbiology* 8:229-239.
- HERNÁNDEZ, L.M.V., L.M.M. HERNÁNDEZ & L. TROCCOLI. 2008. Actividad antibacteriana y antimicótica de *Spirobranchus giganteus giganteus* (Serpulidae: polychaeta) de Guayacán, Península de Araya, estado Sucre, Venezuela. Universidad de Oriente. *Saber. Revista Multidisciplinaria del Consejo de investigación de la Universidad de Oriente* 20(3):283-288.
- HORI, K., Y. SHIMADA, C. OIWA, K. MIYAZAWA & K. ITO. 1993. Occurrence of a novel group of hemagglutinins extractable by pronase treatment in marine algae. *Journal of Applied Phycology* 5:219-223. DOI:10.1007/BF00004021
- JAKI, B., J. ORJALA, H. BÜRGI & O. STICHER. 1999. Biological screening of cyanobacteria for antimicrobial and molluscicidal activity, brine shrimp lethality, and cytotoxicity. *Pharmaceutical Biology* 37(2):138-143. DOI:10.1076/phbi.37.2.138.6092
- KAUSHIK, P. & A. CHAUHAN. 2008. In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian Journal of Microbiology* 48: 348-352. DOI:10.1007/s12088-008-0043-0
- KOIKE, K., M. JIMBO, R. SAKAI, M. KAERIYAMA, K. MURAMOTO, T. OGATA, T. MARUYAMA & H. KAMIYA. 2004. Octocoral chemical signaling selects and controls dinoflagellate symbionts. *Biology Bulletin* 207:80-86.

- LARA, V.M.A., R.J.L. MORENO & M.E.J. AMARO. 1996. *Fitoplancton. Conceptos básicos y técnicas de laboratorio*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, México. 227 p.
- LIAO, W.R. & R. HUANG. 2000. Agglutination of human and animal erythrocytes in marine unicellular algae. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 24:262-266. DOI:10.1038/sj.jim.2900818
- MARTEL, C.M. 2009. Conceptual bases for prey biorecognition and feeding selectivity in the microplanktonic marine phagotroph *Oxyrrhis marina*. *Microbial Ecology* 57(4):589-597. DOI:10.1007/s00248-008-9421-8
- MIAN, P., J. HEILMANN, H. BÜRGI & O. STICHER. 2003. Biological screening of terrestrial and freshwater cyanobacteria for antimicrobial activity, brine shrimp lethality, and cytotoxicity. *Pharmaceutical Biology* 41(4):243-247. DOI:10.1076/phbi.41.4.243.15672
- MUÑOZ, A., J. LLOVO & J. FABREGAS. 1985. Hemaglutininas de algas verdes. *ACCCAW* 22: 873-878.
- NARANJO-BRICEÑO, L., D. ROJAS-TORTOLERO, H. GONZÁLEZ, R.P. TORRES, R.N. ZEGARRA, L.D.A. SENA & D. SOSA DEL CASTILLO. 2010. *Arthrospira platensis* como biofactoria de metabolitos secundarios de interés farmacológico: el ácido pípecólico. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal* 1:64-90.
- NOAMAN, N.H., A. FATTAH, M. KHALEFA & S.H. ZAKY. 2004. Factors affecting antimicrobial activity of *Synechococcus leopoliensis*. *Microbiological Research* 159:395-402. DOI:10.1016/j.micres.2004.09.001
- NOWAK, T.P. & S.H. BARONDES. 1975. Agglutinin from *Limulus polyphemus*. Purification with formalinized adsorbent. *Biochimica et Biophysica Acta* 393:115-123. DOI:10.1016/0005-2795(75)90221-4
- NURBY, R., G. MEDINA, J. JIMÉNEZ, C. YÁNEZ, M.Y. GARCÍA, M.L. DI BERNARDO & M. GUALTIERI. 2009. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de algas marinas venezolanas. *Revista Peruana de Biología* 16:97-100. DOI:10.15381/rpb.v16i1.182
- ÖRDÖG, V., W.A. STIRK, R. LENOBEL, M. BANCÍROVÁ, M. STRNAD, J. VAN STADEN, J. SZIGETI & L. NÉMETH. 2004. Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. *Journal of Applied Phycology* 16: 309-314. DOI:10.1023/B:JA-PH.0000047789.34883.aa
- PADMAKUMAR, K. & 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. DOI:10.1515/botm.1997.40.1-6.507
- PALES, E.E., M. PERRIGAULT, J.E. WARD, S.E. SHUMWAY & B. ALLAM. 2010. Microalgal cell surface carbohydrates as recognition sites for particle sorting in suspension-feeding bivalves. *Biological Bulletin* 218:75-86. DOI:10.1086/BBLv218n1p75
- PÉREZ-GUTIÉRREZ, R.M. 2007. Actividad antimicrobiana de *Oedogonium capillare*. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 38(3):26-29.
- RAJASEKARAN, C.C., P. MOHAMMED-AJEESH, S. BALAJI, M. SHALINI, R. SIVA, R. DAS, D.P. FULZELE & T. KALAIVANI. 2016. Effect of Modified Zarrouk's Medium on Growth of Different Spirulina Strains. *Walailak J Sci & Tech* 2016 13(1):67-75. Available online at: <http://wjst.wu.ac.th>
- RODRÍGUEZ-PALACIO, M.C. 2020. Obtención de bioproductos de impacto económico y social con microalgas y cianobacterias nativas de México. Trabajo de tesis de Doctorado en Medio Ambiente, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Tamaulipas, México. 330 p.
- RODRÍGUEZ-PALACIO, M.C., R.B.E. CABRERA-CRUZ, J.C. ROLÓN-AGUILAR, C. LOZANO-RAMÍREZ, L.J. GALEANA-HURTADO & E.D. MORALES-AVENDAÑO. 2018. Comparative study on the removal of N and P from municipal waste waters and leached vermicomposting using five microalgae strains. *Desalination and Water Treatment* 131:180-186. DOI:10.5004/dwt.2018.23035
- ROOPASHRI, A.N. & J. SAVITHA. 2022. Screening of freshwater microalgae species for occurrence of lectins and their carbohydratebinding specificity. *Journal of Applied Biological Sciences* 16(1):24-34. DOI:10.5281/zenodo.5826031
- ROSALES, L.N.L. 2007. Evaluación de la actividad biológica de extractos de la cianobacteria *Nostoc LAUN* 0015, en condiciones de laboratorio. Trabajo de Grado presentado ante la División de Estudios Para Graduados para optar al grado de Magister Scientiarum en Microbiología, Universidad del Zulia. 101 pp.
- SCHLEGEL, I., N.T. DOAN, N. CH. & G.D. SMITH. 1999. Antibiotic activity of new cyanobacterial isolates from Australia and Asia against green algae and cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology* 10:471-479. DOI:10.1023/A:1008042619686
- SHIMIZU, Y. 2003. Microalgal metabolites. *Current Opinion in Microbiology* 6(3):236-243. DOI:10.1016/S1369-5274(03)00064-X
- SILVA, A.J., V.L.R. CAVALCANTI, A.L.F. PORTO, W.A. GAMA, R.M.P. BRANDÃO-COSTA & R. PEDROSA-BEZERRA. 2020. The green microalgae *Tetradismus obliquus* (*Scenedesmus acutus*) as lectin source in the recognition of ABO blood type: purification and characterization. *Journal of Applied Phycology* 32:103-110. DOI:10.1007/s10811-019-01923-5
- REENIVASA, R.P. & K.S. PAREKH. 1981. Antibacterial activity of Indian seaweed extracts. *Botanica Marina* 24:577-582. DOI:10.1515/botm.1981.24.11.577
- YAMAGUCHI, M., T. OGAWA, K. MURAMOTO, Y. KAMIO, M. JIMBO & H. KAMIYA. 1999. Isolation and characterization of a mannan-binding lectin from the freshwater cyanobacterium (blue-green algae) *Microcystis viridis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 265:703-708. DOI:10.1006/bbrc.1999.1749

Citas electrónicas:

<https://utex.org/products/spirulina-medium?variant=30991737454682>