Saber, Universidad de Oriente, Venezuela.Vol. 27 Nº 1: 61-66. (2015)
ISSN: 2343-6468 Digital / ISSN: 1315-0162 Impreso / Depósito Legal pp 198702U187

TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA PRELIMINAR DE LOS EXTRACTOS DE LA MACROALGA *Laurencia dendroidea*, J. Agardh, 1841 (RHODOMELACEAE: RHODOPHYTA)

PHYTOCHEMICAL SCREENING AND PRELIMINARY ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MACROALGAE *Laurencia dendroidea*, J. Agardh, 1841 (RHODOMELACEAE: RHODOPHYTA) EXTRACTS

Wendy Coronado[1], Lorelys Valerio-González[1], Haydelba D'Armas[2]

Universidad de Oriente, [1]Núcleo de Nueva Esparta, Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, Isla de Margarita, Venezuela, [2]Instituto Oceanográfico de Venezuela, Cumaná, Venezuela
E-mail: lorelysvalerio@gmail.com

RESUMEN

Las macroalgas representan una fuente de compuestos biológicamente activos con interesantes propiedades. En este sentido, se evaluó la actividad antibacteriana de extractos de la macroalga *Laurencia dendroidea*. Las muestras se recolectaron manualmente en el litoral rocoso de playa Parguito, Isla de Margarita y se trasladaron al laboratorio de microbiología. En el laboratorio fueron secadas y molidas. Una vez pulverizadas, se obtuvieron los extractos algales utilizando solventes de diferentes polaridades (hexano, acetona y etanol), para finalmente realizar el análisis químico y pruebas de actividad antibacteriana preliminar. El mayor rendimiento se obtuvo del extracto etanólico (3,09 g; 1,46%), mientras que la mínima en el extracto acetónico (2,12 g; 1,00%). Los extractos algales obtenidos con hexano y acetona fueron activos frente a *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, *Escherichia coli* fue más sensible a los solventes puros. No se observó inhibición en el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*. El mayor halo de inhibición registrado fue de 10 mm provocado por el extracto hexánico frente a *S. aureus* (inhibición moderada), mientras que, frente a *E. coli* la actividad de este extracto fue muy leve (7 mm). Esto indica que *L. dendroidea*, al igual que otras especies de algas, presentan compuestos con propiedades antibacterianas y es el primer aporte al conocimiento de la bioactividad y estudio fitoquímico de esta especie proveniente de las costas venezolanas.

Palabras clave: Metabolitos secundarios, inhibición bacteriana, playa Parguito.

ABSTRACT

Macroalgae represent a source of biologically active compounds with interesting properties. In this sense, antibacterial activity of extracts of the macroalga *Laurencia dendroidea* was evaluated. Samples were collected manually on the rocky shore of Parguito Beach, Margarita Island, and carried to the Laboratory of Microbiology. In the lab samples were dried and grinded. Once pulverized, algal extracts were obtained using different polarity solvents (hexane, acetone and ethanol), to finally make a chemical analysis and preliminary antibacterial activity tests. Higher performance was reached from ethanolic extract (3.09 g; 1.46%), while the lowest was obtained from acetonic extract (2.12 g; 1.00%). Algal extracts obtained with hexane and acetone were active against *Staphylococcus aureus*. However, *Escherichia coli* was more sensitive to pure solvents. Inhibition of growth of *Pseudomonas aeruginosa* was not observed. The biggest recorded inhibition halo was 10 mm, caused by hexanic extract against *S. aureus* (moderate inhibition), while, activity of the same extract against *E. coli* was very light (7 mm). This indicates that *L. dendroidea*, like other macroalgae species, presents antibacterial properties, being the first contribution to the bioactivity and phytochemical study of this species from Venezuelan shores.

Key words: Secondary metabolites, bacterial inhibition, Parguito beach.

INTRODUCCIÓN

Los organismos marinos, incluyendo las macroalgas, representan una fuente de compuestos biológicamente activos con interesantes propiedades (Hernández y Hernández 2005), debido a que biosintetizan metabolitos secundarios como estrategia de protección, otorgándoles ventajas competitivas respecto a otros organismos marinos que no son capaces de sintetizarlos (Amsler 2008). Algunos de estos metabolitos, son únicos desde el punto de vista estructural, debido a las características del ambiente, y por lo tanto podrían servir como modelos moleculares para la síntesis de nuevos fármacos. Es por ello, que a través de la historia muchos investigadores han despertado su interés en estudiarlos, pues se han usado en la medicina tradicional para combatir diferentes padecimientos.

El género *Laurencia* (familia Rhodomelaceae) forma parte de un grupo diverso de especies (Guiry y Guiry 2010), distribuidas en mares tropicales, subtropicales y templados de todo el mundo. Entre ellas se encuentra la macroalga *Laurencia dendroidea*; de la que se han aislado distintas sustancias, principalmente, terpenoides (Carvalho *et al.* 2006).

En Venezuela, en las últimas décadas se han realizado

Recibido: septiembre 2014. Aprobado: enero 2015.
Versión final: febrero 2015.

algunos trabajos que han permitido el estudio de compuestos biológicamente activos presentes en macroalgas marinas (Cordero 2003, Brito 2009, Ríos *et al*. 2009, Neyra 2011, Martínez 2012), sin embargo, no son suficientes, considerando que las costas venezolanas son amplias, diversas y abundantes en organismos productores de bioactivos, los cuales pueden ser útiles en la elaboración de productos naturales de origen marino. Por tal motivo, el presente trabajo da a conocer los resultados de la evaluación fitoquímica y actividad antibacteriana preliminar de los extractos de la macroalga *Laurencia dendroidea,* J. Agardh, 1841 (Rhodomelaceae: Rhodophyta) recolectadas en el litoral rocoso de playa Parguito, Isla de Margarita, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una recolecta manual de las muestras de *L. dendroidea* durante el mes de agosto de 2013, en el litoral rocoso de playa Parguito, ubicada al norte de la Isla de Margarita, en el municipio Antolín del Campo, entre los 11°07´ N y 63°50´ O. Las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas y almacenadas en una cava con hielo para su conservación, evitando así la pérdida de los metabolitos secundarios. El material recolectado se separó para usarse, una parte en la identificación de la macroalga (se realizó en el Laboratorio de Botánica Acuática de la Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar) y el resto para la obtención de los extractos, pruebas químicas y los bioensayos. Posteriormente, fueron lavadas y secadas a temperatura ambiente e inmediatamente molidas. Una vez obtenida el alga pulverizada, se siguió la metodología de Vidyavathi y Sridhar (1991) para elaborar los extractos algales, utilizando para ello, tres solventes con diferentes polaridades (hexano, acetona y etanol), mediante extracciones sucesivas. El análisis fitoquímico se realizó siguiendo las metodologías de Marcano y Hasegawa (2002) y Murrillo y Méndez (2007).

Para determinar la actividad antibacteriana de los extractos algales, se utilizó la técnica de difusión en agar. Se usó para ello, discos estériles de papel filtro Whatman Nº 3 de 5 mm de diámetro, los cuales se cargaron asépticamente con 10 µL del extracto algal a probar siguiendo las recomendaciones de Pesando y Caram (1984). Todos los extractos algales se probaron frente a cepas puras pertenecientes a la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC): Gram positiva (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) y Gram negativa (*Escherichia coli* ATCC 25922). Las placas de Petri se incubaron a 37ºC por 48 horas. Las zonas claras que se formaron alrededor de los discos, se consideraron halos de inhibición, los cuales fueron medidos, registrando para cada caso el diámetro en milímetros de los halos de inhibición.

Para establecer los diferentes grados de inhibición del crecimiento bacteriano, se consideraron los rangos de los diámetros de inhibición, como lo sugieren Ríos *et al*. (2009), aplicados a los extractos y especies empleadas en este estudio, estableciéndose posteriormente rangos de la actividad antibacterial. Asimismo, obtenidos los diámetros de los halos, se aplicó un análisis de varianza de dos vías anidado, para establecer si la acción de los extractos algales actúo de igual forma frente a las bacterias. Luego, se realizaron contrastes lineales entre tratamientos.

RESULTADOS

Las pruebas químicas realizadas a los extractos crudos de la macroalga, evidenciaron la presencia de esteroles insaturados, taninos y metilencetonas en todos los extractos. También reveló la presencia de alcaloides y glicósidos cianogénicos en los extractos en acetona (EA) y etanol (EE). Mientras que, se detectaron flavonoides en los extractos con hexano (EH) y EA. Los triterpenos pentacíclicos fueron localizados en el EH, saponinas en el EE y fenilpropanoides en el EA (Tabla 1). El mayor rendimiento se obtuvo del extracto etanólico (3,09 g; 1,46%), mientras que la mínima en el extracto acetónico (2,12 g; 1,00%). El alto rendimiento en el EE se debió tal vez a gran cantidad de sales presentes en la macroalga. Las sales por ser un componente hidrofílico, son fácilmente disueltas en extracciones, al emplear un disolvente de mayor polaridad (etanol), por lo que las sales presentes fueron arrastradas en esta última extracción originando un ligero incremento de masa en este extracto.

El extracto en el que se detectó la mayor cantidad de familias de metabolitos secundarios fue el acetónico (54%), mientras que en el EH se detectó el 38% de los metabolitos ensayados. Estos resultados evidenciaron que los compuestos presentes en *L. dendroidea* son de naturaleza polar, puesto que, los mayores rendimientos se obtuvieron con el extracto acetónico, seguido del etanólico y el hexánico.

De los extractos algales, solo los obtenidos con hexano y acetona mostraron mayor actividad frente a *S. aureus* respecto a los solventes puros, mientras que *E. coli*, fue más sensible a los solventes. Según el estudio, los extractos tuvieron efecto bactericida, lo que quiere decir que, no se observó crecimiento bacteriano en las áreas inhibidas. Por otra parte, *P. aeruginosa*, no resultó sensible ni a los extractos ni a los solventes (Fig. 1).

Tabla 1. Familias de metabolitos secundarios detectados en los extractos crudos de *Laurencia dendroidea* detectados a través de pruebas químicas.

Familia de Metabolitos	Solventes			% EMF
	Hexano	Acetona	Etanol	
Alcaloides	-	+	+	66,7
Saponinas	-	-	+	33,3
Esteroles insaturados	+	+	+	100
Triterpenos pentacíclicos	+	-	-	33,3
Glicósidos cardiotónicos	-	-	-	0
Glicósidos cianogénicos	-	+	+	66,7
Taninos	+	+	+	100
Polifenoles	-	-	-	0
Metilencetonas	+	+	+	100
Antraquinonas	-	-	-	0
Cumarinas	-	-	-	0
Fenilpropanoides	-	+	-	33,3
Flavonoides	+	+	-	66,7
%MPE	38,0	54,0	46,0	

(+): detectados (-): no detectados, %MPE: porcentaje de metabolitos presentes por cada extracto, %EMF: porcentaje de extractos con metabolitos pertenecientes a la misma familia química.

Con relación a la actividad antibacteriana, el mayor halo de inhibición registrado fue 10 mm y lo produjo el extracto hexánico frente a *S. aureus*, causando inhibición moderada. Sin embargo, el mismo extracto provocó poca actividad frente a *E. coli*, mientras que el de acetona causó poca actividad tanto en *S. aureus* como en *E. coli* (Tabla 2). De acuerdo con los resultados obtenidos *L. dendroidea* puede ser una fuente de principios antibacterianos.

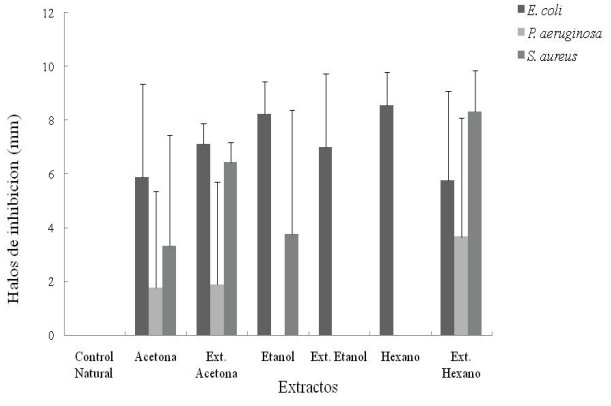

Figura 1. Representación gráfica de la actividad antibacteriana de los tratamientos (extractos y solventes) con respecto a las bacterias: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

Los análisis numéricos revelaron la interacción entre las bacterias y los tratamientos: extractos algales y solventes (F = 4,46; $p < 0,05$; Tabla 3). De igual modo indicaron que tanto los solventes como los extractos son capaces de inhibir el crecimiento de *E. coli* (F = 1,7756; $p < 0,05$). Por su parte *P. aeruginosa* presentó resistencia tanto a los extractos como a los solventes (F = 0,97883; $p > 0,05$) y *S. aureus* solo es inhibida por los extractos, sin que exista influencia del solvente sobre su crecimiento (F = 13,374; $p < 0,05$),

Tabla 2. Halos de inhibición (mm) mostrados por los extractos algales frente a las cepas utilizadas.

Extracto	Gram Negativas		Gram Positivas
	P. aeruginosa	*E. coli*	*S. aureus*
Hexano	-	1+	2+
Acetona	-	1+	1+
Etanol	-	1+	-

Diámetros de los halos de inhibición: (-) < 6 mm ninguna actividad antibacteriana; (1+) 6-8 mm poca actividad antibacteriana; (2+) 8-10 mm mediana actividad antibacteriana; (3+) 10-14 mm alta actividad antibacteriana.

Tabla 3. Análisis de varianza de tres factores anidado (bacteria, tratamiento, placa anidado a la interacción bacteria por tratamiento) para someter a prueba la hipótesis nula de no inhibición por los extractos algales en el crecimiento de tres especies de bacterias.

Fuente de variación	gl	SC	CM	*F*	*p*
Bacteria (Ba)	2	805,53	402,77	38,918	0,0001
Tratamiento (Tr)	6	617,31	102,89	9,9414	0,0001
Ba x Tr	**12**	**553,8**	**46,15**	**4,4593**	**0,0003**
Placas (Ba x Tr)	42	434,67	10,349	2,4298	0,0001
Residuales (discos)	126	536,67	4,2593		
Total	188	2948			

gl: grados de libertad, SC: sumatoria cuadrática, CM: cuadrados medios, *p*: probabilidad.

DISCUSIÓN

Las pruebas químicas realizadas a los extractos crudos, obtenidos del alga *L. dendroidea*, evidenciaron la capacidad que tiene esta especie para sintetizar metabolitos secundarios como alcaloides, saponinas, esteroles insaturados, glicósidos cianogénicos, metilencetonas, triterpenos pentacíclicos, flavonoides y fenilpropanoides. Algunos compuestos de estas familias han sido identificados en la especie *L. dendroidea* recolectada en Brasil (Gressler *et al*. 2012).

La presencia de esteroles insaturados y saponinas en esta macroalga concuerdan con la biosíntesis de estos compuestos en otras especies de algas, tal como los reportados por Cordero (2003) en *Bryocladia thyrsigeray* y Brito (2009) en *Gracilariopsis tenuifrons* y *Gelidium serrulatum*. Mientras que Mendiola *et al.* (2005) identificaron saponinas y alcaloides en *Laurencia obtusa*. Igualmente, Neyra (2011) detectó esteroles

insaturados y triterpenos pentacíclicos en *Kappaphycus alvarezii*. Mientras que Martínez (2012), reportó alcaloides, glicósidos cardiotónicos, cumarinas, polifenoles y esteroles insaturados en *Caulerpa racemosa*, coincidiendo algunas familias de metabolitos con los detectados durante este estudio.

Los esteroles insaturados, taninos y metilencetonas fueron los metabolitos que se identificaron en mayor porcentaje en los extractos. Cabe mencionar que los esteroles, son una importante familia de lípidos que se encuentran presentes en la mayoría de las células en forma libre. En las algas rojas, son conocidos como fuentes importantes de colesterol y desmosterol (McCormick *et al.* 1996). Adicionalmente, estudios confirman que los ácidos grasos y esteroles de familias e incluso especies, son característicos de los taxones y podrían ser útiles como indicadores quimiotaxonómicos. El conocimiento de la biosíntesis de esteroles ha contribuido al desarrollo de la quimiotaxonomía vegetal y ha servido para correlacionar la estructura de estas sustancias con aspectos evolutivos (Martínez 2002).

Es importante señalar que determinar la ausencia de una familia de compuestos en un extracto, mediante la aplicación de una determinada prueba fitoquímica, no es suficiente para negar su presencia; pues la ausencia o presencia del compuesto podría estar relacionada con el método de extracción, con la utilización de pruebas de detección poco sensibles y/o relacionada con la concentración del metabolito secundario que podría estar presente con muy bajas concentraciones; lo que impediría su detección (Neyra 2011).

A través de los bioensayos realizados a los extractos de *L. dendroidea*, se pudo apreciar que, los constituyentes presentes pueden mostrar propiedades antibacterianas, posiblemente, de diferente naturaleza, debido a que se extraen con solventes de diferente polaridad. Por lo tanto, la actividad antibacteriana de los extractos varió con relación en los tres tipos de solventes usados. Los extractos hexánicos y acetónicos poseen la mayor actividad frente a *S. aureus*, seguido del etanólico para *E. coli*. Resultados similares han sido reportados por Roseel y Srivastava (1987) quienes indicaron que el grado de polaridad del solvente influye de modo significativo en la actividad del extracto, presentando mayor actividad los obtenidos con solventes de baja polaridad como el hexano.

La bacteria *S. aureus* es una de las más comúnmente utilizadas para este tipo de estudios, debido a que presenta una pared celular simple, mostrándola más susceptible a la acción de los extractos; este hecho ha sido comprobado por otros autores (Vlachos *et al*. 1997). Los bioensayos de sensibilidad antibacteriana, demostraron el potencial de los extractos obtenidos de *L. dendroidea* como posible fuente de sustancias antibióticas. La actividad observada también pudo deberse a un efecto sinérgico (efecto de la mezcla de compuestos en el extracto y no a un constituyente en particular). Estos resultados pudieran estar relacionados con la naturaleza del alga, la presencia de más de un compuesto activo, la concentración de éstos en cada extracto y a las diferentes masas molares de las sustancias o a efectos antagónicos o sinérgicos (Flores *et al.* 2007).

En lo que respecta a la resistencia que presentó *P. aeruginosa* frente a los extractos, se estima probablemente que al igual que lo sucedido en los estudios de Benkendorff *et al*. (2001), esta resistencia se deba a la estructura de la membrana celular y el alto contenido de guanina-citosina en su ADN.

Por otro lado, Campos-Takaki *et al*. (1988), sugieren que la diferencia de sensibilidad entre las bacterias Gram positivas y Gram negativas, se debe quizás a la naturaleza química de los extractos. Sin embargo, Sreenivasa y Parekh (1981), observaron que al fraccionar algunos extractos crudos, sus fracciones sí presentan actividad contra las bacterias y esto puede deberse a que los metabolitos responsables de la actividad, quedan enmascarados en los extractos crudos.

La actividad moderada de *L. dendroidea* es baja en comparación con los resultados reportados para otras especies de algas (Magallanes *et al*. 2003, Frikha *et al*. 2011, Jeyanthi *et al*. 2012). Sin embargo, presenta semejanzas a lo reportado por Ríos *et al*. (2009) para las algas *Codium decorticatum* y *H. incrassata* y poca actividad (6 mm) en especies de *Caulerpa* spp.

CONCLUSIONES

Las pruebas químicas realizadas a los extractos, evidenciaron la presencia de esteroles insaturados, taninos, metilencetonas, alcaloides, saponinas, triterpenos pentacíclicos, glicósidos cianogénicos, fenilpropanoides y flavonoides. Asimismo, se observó que los extractos algales obtenidos con hexano y acetona fueron activos frente a la bacteria *S. aureus*, mientras que *E. coli*, fue más sensible a los solventes puros. *P. aeruginosa* no mostró sensibilidad a los extractos o solventes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al personal

que asiste en el Laboratorio de Productos Naturales y Lípidos del Departamento de Química de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre y a los revisores del manuscrito por sus recomendaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amsler D. 2008. Algal sensory chemical ecology. *In*: Amsler D. (Ed). Algal Chemical Ecology. Springer-Verlag, Berlin, pp. 313.

Benkendorff K, Davis A, Bremner J. 2001. Chemical defense in the egg masses of benthic invertebrates: An assessment of antibacterial activity in 39 mollusks and 4 polychaete. J. Invertebr. Pathol. 78(2):109-118.

Brito L. 2009. Actividad biológica, identificación y caracterización de compuestos obtenidos de las algas rojas *Gracilariopsis tenuifrons (*Gracilariales*,* Gracilariaceae*), Gelidium serrulatum* (Gelidiales, Gelidiaceae) y *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Solieriaceae) del Oriente de Venezuela. Cumaná: Universidad de Oriente, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Postgrado en Ciencias Marinas [Disertación Tesis Doctoral en Ciencias Marinas], pp. 125.

Campos-Takaki M, Diu M, Koening M, Pereira F. 1988. Screening of marine algae from Brazi lian northeastern coast for antimicrobial activity. Bot. Mar. 31(5):375-377.

Carvalho L, Fujii M, Roque N, Lago J. 2006. Aldingenin derivatives from the red alga *Laurencia aldingensis*. Phytochemistry. 67(13):1331-1335.

Cordero J. 2003. Actividad antimicrobiana, biotoxica y análisis químico de extractos de las algas rojas *Bryocladia thyrsigera* (Ceramiales: Rhodomelaceae) e *Hydropuntia pauciramosa* (Gracilariales: Gracilariaceae) procedentes de El Rincón de Araya, estado Sucre, Venezuela. Cumaná: Universidad de Oriente, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Postgrado en Ciencias Marinas [Disertación Maestría en Ciencias Marinas], pp. 56.

Flores M, D'Armas H, Herrera H. 2007. Identificación de algunos constituyentes químicos de las hojas de *Chromolaena laevigata* mediante cromatografía de gas-espectrometría de masas. Ciencia, 15(3): 421-432.

Frikha F, Kammoun M, Hammami N, Mchirgui R, Belbahri L, Ben-Rebah F. 2011. Composición química y algunas actividades biológicas de algas marinas recolectadas en Túnez. Cien. Mar. 37(2):113-124.

Gressler V, Steinii É, Dörri F, Fuji M, Colepicoloi P, Pinto E. 2012. Sesquiterpenes from the essential oil of *Laurencia dendroidea* (Ceramiales, Rhodophyta): isolation, biological activities and distribution among seaweeds. Rev. Brasil. Farmacog. 21(2):248-254.

Guiry M, Guiry G. 2010. Algae Base. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponible en línea en: http:// www.algaebase.org/ (Acceso 15.06.2010).

Hernández M, Hernández M. 2005. Bioactivos marinos de Venezuela: una revisión. Saber. 17(2):8-19.

Jeyanthi R, Dhanalakshmi V, Shekhar C. 2012. Antibacterial activity of *Sargassum Ilicifolium* and *Kappaphycus alvarezii*. J. Chem. Pharm. Res. 4(1):700-705.

Magallanes C, Córdova C, Orozco R. 2003. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la Costa Central del Perú. Rev. Biol. 10(2):125-132.

Marcano D, Hasegawa M. 2002. Fitoquímica orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, pp. 440.

Martínez A. 2002. Esteroles. Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica, Colombia, pp. 37.

Martínez L. 2012. Evaluación de los metabolitos secundarios y la actividad biológica del alga invasora *Caulerpa racemosa*. Cumaná: Universidad de Oriente, Escuela de Ciencias, Departamento de Química [Disertación Grado Licenciado en Química], pp. 156.

McCormick J, McKee T, Cardellina J, Leid M, Boyd M. 1996. Cytotoxic triterpenes from a marine sponge, *Stelletta*. J. Nat. Prod. 59(11):1047-1050.

Mendiola J, Hernández H, Acuña D, Esquivel M, Scull R, Abreu J. 2005. Actividad inhibidora del crecimiento in vitro de *Plasmodium falciparum* de extractos de algas del género *Laurencia*. Rev. Cubana Med. Trop. 57(3):0-0.

Murrillo E, Méndez J. 2007. Guía metodológica para la detección rápida de algunos núcleos secundarios. Universidad de Tolima, Colombia, pp.14.

Neyra M. 2011. Evaluación química, posible letalidad y citotoxicidad del alga invasora *Kappaphycus alvarezii*. Cumaná: Universidad de Oriente, Escuela de Ciencias, Departamento de Química [Disertación Grado Licenciado en Química], pp. 112.

Pesando D, Caram B. 1984. Screening of Marine Algae from the French Mediterranean Coast for Antibacterial and Antifungal Activity. Bot. Mar. 27(8):381-386.

Ríos N, Medina G, Jiménez J, Yánez C, García M, Di Bernardo M, Gualtieri M. 2009. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de algas marinas Venezolanas. Rev. Per. Biol. 16(1):97-100.

Roseel K, Srivastava L. 1987. Fatty acids as antimicrobial substances in brown algae. Hydrobiol. 152(1):471-475.

Sreenivasa P, Parekh K. 1981. Antibacterial activity of Indian seaweed extracts. Bot. Mar. 24:577-582.

Vidyavathi N, Sridhar K. 1991. Seasonal and geographical variations in the antimicrobial activity of seaweeds from the Mangalore Coast of India. Bot. Mar. 34(4):279-284.

Vlachos V, Critchley A, Von Holy A. 1997. Antimicrobial activity of extracts from selected southerm African marine algae. South Afr. J. Sci. 93:328-332.