

Macroalgas de la plataforma insular cubana como fuente de extractos bioactivos.

The seaweed of Cuban's shelf as source of bioactive extracts.

Olga Valdés-Iglesias*; Nereida Díaz, *; Yoania Cabranes*; Martha E. Acevedo,* Arsenio J. Areces**; Lourdes Graña** Cecilia Díaz*.

*Departamento de Bioactivos Marinos y Productos Naturales, IdO, Loma y 37, Nuevo Vedado, CP 10600, e-mail: cebimar@infomed.sld.cu.

**Instituto de Oceanología, Ave. 1ra. No. 18406, Rpto. Flores, Playa, C.P. 12100, e-mail: areces@oceano.inf.cu

Resumen

Cuarenta y cinco especies de algas marinas cubanas colectadas en 2 macrozonas en las costas norte y sur del archipiélago cubano, fueron evaluadas a partir de la preparación de 63 extractos con relación a su toxicidad frente al ensayo alternativo con nauplios de *Artemia salina* (Mitchael *et al*, 1956) y la prueba de intercalante de ADN (Miravet *et al*, 1989). Del total de extractos resultaron muy tóxicos el 33.8 % y moderadamente tóxicos el 52,3 %. El resto resultó no tóxico. De ellos respondieron positivamente a la prueba de intercalantes del ADN, sólo 11 extractos, fundamentalmente los extractos etanólicos, posibles candidatos para ser evaluados como antitumorales. La composición química de los extractos crudos fue analizada con referencia al contenido de proteínas, lípidos y azúcares totales. En general, en los extractos de algas rojas y pardas predominan los polisacáridos mientras que en los extractos de algas verdes son las proteínas solubles la fracción dominante

Abstracts

Forty five species of Cuban seaweeds collected in two zones in the North and South costs of the Cuban island, were taken as raw materials from the preparation of 63 extracts. This extracts were tested with relationship to their toxicity with of the alternative test with *Artemia saline* nauplios (Mitchael, 1956) and the test of DNA interchange (Miravet *et al*, 1989). Of the total of extracts were very toxic the 33.8% and moderately toxic 52,3%. The rest of the extracts were not toxic. Only 11 extracts were positive to the DNA interchanges test, mainly the ethanolics extracts, possible candidates to prescreen as antitumorals. The chemical composition of the crude extracts was analyzed with reference of the content of proteins, lipids and total sugars. In general, in the extracts of red and brown algae were observed a prevalence of the polysaccharides fraction while in those of green seaweed are the soluble proteins, the dominant fraction.

Palabras claves: macroalgas, *Artemia salina*, extractos bioactivos, plataforma insular, Cuba.

Key words: seaweed, *Artemia salina*, bioactive extracts, island shelf, Cuba

INTRODUCCIÓN

Los organismos marinos se han revelado como una fuente importante de sustancias bioactivas de gran valor para el tratamiento de numerosas enfermedades por sus propiedades terapéuticas (antivirales, antiinflamatorias, antioxidantes, antibióticas, entre otras), han sido identificados cerca de 600 nuevos metabolitos de origen marino (Schmitz, Bowden, y Tohl ,1993; Dilorenzo, 1993). Dentro de ellos, las

algas son capaces de producir una increíble diversidad de metabolitos secundarios que les ha permitido sobrevivir en un medio muy competitivo. La biodiversidad de las especies de algas marinas, junto a la diversidad química encontrada en cada especie, constituye un recurso prácticamente ilimitado que puede ser utilizado de forma beneficiosa, para el desarrollo de biofármacos antitumorales, antivirales y antibióticos.

La evaluación primaria de los extractos biológicos puede emprenderse mediante ensayos biológicos alternativos toxicológicos con invertebrados en etapas tempranas de desarrollo, como el descrito por Michael, Thompson y Abramovitz (1956), con *Artemia salina* Leach, que es un método usado en la detección de sustancias con posible actividad biológica, teniendo en cuenta que *A. salina* es un crustáceo marino altamente sensible a las variaciones del medio y a las sustancias farmacológicamente activas. Otro de los métodos usados con estos fines es la prueba de detección de intercalantes del ADN ensayo utilizado para evaluar los extractos con posible acción antitumoral, descrito por Steinberg, Peterson, White y Maiese (1985). Los objetivos del presente trabajo fueron: evaluar las potencialidades como bioactivos de los extractos acuosos e hidroalcohólicos de diversas especies de algas colectadas en la plataforma insular cubana, utilizando para ello dos bioensayos: el método alternativo con *Artemia salina* y la prueba de intercalantes de ADN.

MATERIALES Y MÉTODOS:

El muestreo de las algas, cuyos extractos se utilizaron en el tamizaje del presente estudio, fue realizado en dos macrozonas: la Cayería del archipiélago Jardines de la Reina en la región suroriental (SO) de la Isla Grande de Cuba y varios puntos de la zona noroccidental (NO) comprendida entre el río Banes y Punta Hicacos . Las primeras especies se colectaron en un crucero de dos semanas en el barco “Ulises” entre Abril y Mayo /98, donde se ubicaron 21 estaciones con diferentes características ecológicas en cuanto a fondos, profundidad y batimetría en la zona SO de Cuba, y se colectaron las especies referidas en la Tabla no. 1. Los restantes muestreos de la zona NO se realizaron entre los meses de mayo/99 y abril/2000 donde se colectaron las especies que aparecen en la Tabla No. 2.

Preparación de los extractos crudos: Las algas fueron colectadas mediante buceo SCUBA y en apnea, procediéndose a su identificación taxonómica y ubicación en la colección Vaucher del Instituto de Oceanología. Todas las muestras fueron lavadas con agua de mar y separadas manualmente de epifitas y materias extrañas, conservándose en congelación a -20°C . Con las muestras congeladas se prepararon extractos acuosos e hidroalcohólicos. Los extractos acuosos fueron preparados en proporción 1:2 en buffer fosfato 0,1 M, pH 7,2 de acuerdo con lo referido por Shiomi , Kamiya y Shimizu (1979) y los restantes extractos en similar proporción, pero con etanol al 95% ppa. Todos los extractos fueron mantenidos en

reposo por 24 horas a 10°C, centrifugados, concentrados por rotoevaporación y liofilizados.

Cuantificación de los componentes químicos mayoritarios: Los extractos fueron analizados químicamente mediante los siguientes métodos: Sólidos totales para los extractos líquidos por secado en estufa a 105 °C hasta peso constante (Calam, 2000), proteínas solubles por método de Lowry, Rosebrough, Farr y Randal (1951), azúcares totales por el método de Fenol-Sulfúrico (Dubois, Gilles, Hamilton; Rebers y Smith, 1956) y lípidos totales por extracción con solventes según Bligh y Dyer (1959) y su cuantificación colorimétrica por reacción con dicromato de potasio en medio ácido según Craigie y Leigh (1978).

Ensayo de Artemia salina: De acuerdo con el procedimiento descrito por Meyer, Ferrigni, Putman, Jacobsen, Nichols y Mc. Laughlin (1982), se utilizó una cámara de dos compartimentos con agua de mar artificial, convenientemente oxigenada y a una temperatura entre 20-30°C. En el compartimiento menor y oscuro se añadieron 25 mg de huevos de *A. salina*, mientras que a la otra recámara mayor e iluminada, migrarán las larvas después de la eclosión. Para cada extracto se realizaron 3 réplicas de concentración (1000, 100 y 10 µg /ml) y un control con el medio empleado para la extracción. A cada vial se le añadieron 50 µl de solución de levadura y 50 µl de dimetil sulfóxido (DMSO), incluyendo a los controles y se llevaron a un volumen final de 5 ml. A las 48 horas, fueron transferidas 10 larvas a cada vial y se mantuvieron iluminados por 24 horas más. Pasado ese tiempo se cuantificaron los nauplios sobrevivientes y se detectó la supervivencia del 50% de la especie a las 24 horas en el medio salino, con este resultado se calculó la Dosis Letal Media (DL₅₀) de cada extracto. El experimento se consideró válido si el por ciento de mortalidad en los controles no excedió el 10 %. De esta forma, el grado de toxicidad del extracto fue definido en función del rango en que se encuentren los valores de la DL₅₀ de acuerdo con las siguientes categorías:

Dosis del extracto (µg /ml)	Categoría
<10	Extremadamente tóxico
entre 10 y 100	Muy tóxico
entre 100 y 1000	Moderadamente tóxico
>1000	No tóxico

Los resultados para cada dosis empleada fueron procesados con el programa de Litchfield y Wilconson (1949).

Ensayo para la detección de intercalante del ADN: Para realizar el ensayo, se preparó un medio de cultivo sólido (medio marino) de acuerdo con Steinberg *et al.*,(1985) y modificado por Miravet, Lugioyo, Moreta y Fernández (1994) y se adaptó la bacteria luminiscente *Photobacterium leiognathi* mutada, procedente de la colección del Instituto de Oceanología, sembrada por diseminación y después de tres diluciones de la

siembra. Una vez listo el medio, se colocaron discos de papel absorbente estériles de 10 mm de diámetro impregnados con 20 µl de soluciones patrones conocida por su acción intercalante y otros discos impregnados con una solución de los extractos crudos de algas diluidos a una concentración aproximada de 20 mg/ml. Las placas fueron entonces incubadas a 28-30°C durante 24 horas, momento en que fue detectado el halo de inhibición en la oscuridad para las muestras con actividad intercalante como resultado positivo de este ensayo, las que no presentaron luminiscencia fueron negativas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Resultados de la evaluación química de los extractos

En las Tablas 3 y 4 aparece la composición química y la DL₅₀ de los extractos que resultaron tóxicos de las especies colectadas en la zona SO. En los extractos de algas verdes (Tabla No. 3), que resultaron tóxicos al bioensayo con *A. salina* de la referida zona, se observa un predominio de la naturaleza proteica, en comparación con los extractos tóxicos de algas rojas y pardas (Tabla No. 4) donde el componente mayoritario fue polisacárido. Similar composición química fue obtenida para los extractos, que resultaron moderadamente tóxicos. En general, los compuestos de naturaleza proteica en las algas verdes parecen ser los tributarios de su bioactividad, mientras en los extractos de algas rojas y pardas son los polisacáridos los que parecen conducir esta propiedad. Varios autores señalan los efectos antitumorales y antivirales de los polisacáridos de origen marino de algas rojas y pardas (Thomson y Fowler, 1981, Sheu *et al* , 1999), así mismo Fernández *et al*, (1989) demostraron la actividad antitumoral del polisacárido tipo agar de un extracto acuoso de *Gracilaria domingensis*. Se ha demostrado que los glucopéptidos pueden ser las entidades químicas responsables de la actividad antitumoral por intervenir como inhibidores de la síntesis de algunas enzimas en la célula tumoral (Lehninger *et al*, 1998).

La influencia de las características ecológicas de cada una de las estaciones de muestreo de la costa SO en la toxicidad de los extractos frente al ensayo con *A. salina* fue determinantemente, se observa que el 30% de los extractos tóxicos de las especies Chlorophytas fueron colectadas en la estación no. 2 donde prevalece un ambiente oligotrófico, también el extracto de *Halimeda incrassata* colectada en una zona de manglares presentó características muy tóxicas frente a los nauplios de *A. salina*. Existen referencias de la actividad antioxidante de los extractos acuosos de esta especie lo que concuerda con estos resultados (Fallarero, 2000), además es de destacar la actividad tóxica demostrada por el extracto acuoso de la especie *Penicillus capitatus* colectada a una profundidad de 30 m lo que puede constituir un primer reporte para esta especie en similares condiciones. En los extractos de las algas colectadas en la estación No. 8 (Tabla

No.1) caracterizada por una rica flora marina sobre corales muertos donde prevaleció el comportamiento muy tóxico en la mayoría de los extractos de las especies fundamentalmente pardas y rojas

El comportamiento y la composición química de los extractos de algas colectadas en la zona NO se observa en las Tablas No. 5 y 6. La mayoría de los extractos tóxicos se corresponden con especies colectadas en la zona No. 1 aledaña a la desembocadura del río Banes donde se vierten los desechos de la producción de un central azucarero, lo que destaca la influencia del eutrofismo de la zona, en comparación con las especies colectadas en las estaciones 3 y 9 que aparecen minoritariamente en las tablas al parecer por ser ambas zonas poco contaminadas, con la excepción del extracto etanólico de *Tricleocarpa fragilis* que resultó muy tóxico a los nauplios de *Artemia salina*. En relación a la composición química de los extractos, se observaron variaciones en los componentes entre extractos acuosos e hidroalcohólicos de las especies *Padina* sp. y *Codium taylorii* (Tabla 5), lo que influyó también en el resultado de su toxicidad. En ambos casos los extractos acuosos resultaron más tóxicos que los etanólicos.

En la comunidad marina, la síntesis de metabolitos secundarios en las algas puede estar influenciada por factores externos, como la presencia de depredadores, la temperatura del agua, profundidad y niveles nutrientes y factores internos, como el estado de desarrollo, reproducción, etc. Muchas especies de algas producen metabolitos secundarios capaces de actuar sinérgicamente en el desarrollo de la resistencia a los herbívoros y en general en los macroorganismos marinos, la presencia y tipos de simbiontes dentro o fuera del tejido del huésped puede ser de importancia, tanto en el almacenamiento como en la posterior modificación de los metabolitos secundarios. Debido a esto, el contenido químico de las especies marinas a menudo varía, dependiendo de cuándo y dónde son recolectadas. (Darias, 1998)

Hay y Fenical (1992) estudiaron la variedad de metabolitos secundarios que pueden ser producidos por numerosos géneros de la familia Dictyotaceae y en especies del género *Laurencia* como efectiva defensa para disuadir el ataque de herbívoros como erizos, anfípodos y pequeños peces y que son entidades moleculares capaces de combatir enfermedades de origen viral y tumoral que atacan al hombre. Fluorotaninos, flavoenoides, pequeños péptidos, oligosacáridos y otras entidades han sido identificadas (Paul y Fenical, 1987; Paul y Van Alstyne, 1988).

De acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio de toxicidad con *A. salina* de los extractos, que aparece en las Tablas No. 3-6, del total de las especies colectadas, el 33,8 % de los extractos se consideró como muy tóxicos, de ellos el 22.2 % se corresponden con las especies Chlorophytas, el 5.04% con las Rhodophytas y el 5.67 % con las Phaeophytas. Resultaron moderadamente tóxicos el 52,38 % de los extractos, mayoritariamente los extractos de las algas rojas. Además los extractos de las algas colectadas en la zona NO resultaron ser, en su mayoría, moderadamente tóxicos, mientras que las muestras tomadas

en la zona SO en el archipiélago de Jardines de la Reina mostraron mayor toxicidad, debido también a su composición por géneros. Las especies de algas verdes son bioindicadoras de la contaminación marina y acumuladoras por excelencia de sustancias tóxicas. Pueden ser capaces de metabolizar dichos contaminantes para producir metabolitos de alto valor como bioactivos con naturaleza peptídica fundamentalmente. En relación con los extractos de algas rojas, 10 resultaron tóxicos y 16 extractos moderadamente tóxicos y de los de algas pardas, 8 extractos fueron tóxicos y 7 moderadamente según este método de tamizaje biológico. Según Darias (1998) de las algas rojas se obtuvieron los primeros productos halogenados con bioactividad, estos descubrimientos supusieron un rápido desarrollo de la química de los organismos marinos, que pasó de los estudios iniciales de algas rojas a los de algas pardas y de ahí al estudio de invertebrados marinos.

Numerosos autores señalan la utilidad del ensayo de toxicidad con *A. salina* para determinar la bioactividad de los extractos de productos naturales. Solís *et al*, (1992), determinó la correlación existente entre los resultados obtenidos en la evaluación por el citado método de extractos y sustancias puras de origen natural con la actividad antitumoral frente a células KB (carcinoma faríngeo humano). Así mismo, Franssen *et al*, (1997) demostraron con este método el efecto antiplasmoidal de varias plantas usadas tradicionalmente en Guatemala contra la malaria. Guerrero y Robledo (1993) condujeron el análisis de toxicidad de 49 extractos de plantas endémicas con el bioensayo de letalidad de *A. salina*, de los cuales el 80% manifestó actividad antibacteriana. La citotoxicidad de los extractos algales ha sido motivo de numerosas patentes que protegen su acción, especialmente estructuras como monoterpenos de algas rojas con acción frente a células tumorales, frente a varios tipos de herpes y como inhibidores enzimáticos (Pat. USA No. 4,162,308 y 4,162,309), lo que demuestra la potencialidad de las algas como fuente de sustancias bioactivas.

Ensayo de Intercalantes de ADN

De los extractos de algas muestreadas solamente 11 respondieron positivamente al ensayo de intercalante de ADN de la bacteria luminiscente *Photobacterium leiognathi* mutada, como se muestra en la Tabla No. 7. El mecanismo de acción de muchos antitumorales responde positivamente a este efecto como ejemplo las Ecteinascidinas, una familia de productos aislados de *Ecteinascidia turbinata* citada por Rinehart, (2000) que se caracterizan por ser moléculas pequeñas con gran actividad antitumoral y cuyo mecanismo de acción es precisamente interferir en la estructura del ADN de la molécula del tumor. Estos extractos constituyen el 17% de los analizados y constituyó un testimonio más de la potencialidad de las macroalgas marinas cubanas como fuente de bioactivos con actividades más específicas como antitumorales y antivirales.

Consideraciones finales:

- ◆ Del total de las especies colectadas, el 33,8 % de los extractos se consideró como muy tóxicos con el bioensayo frente a nauplios de *A. salina*, de ellos el 22.2 % se corresponden con las especies Chlorophytas, el 5.04% con las Rhodophytas y el 5.67 % con las Phaeophytas. Resultaron moderadamente tóxicos mediante este ensayo, el 52,38 % de los extractos, mayoritariamente los extractos de las algas rojas..
- ◆ Los extractos de las algas colectadas en la zona NO resultaron ser en su mayoría moderadamente tóxicos, mientras que las muestras tomadas en la zona SO en el archipiélago de Jardines de la Reina mostraron mayor toxicidad.
- ◆ La composición química de los extractos de algas varía de acuerdo diversos factores como son la zona y época de colecta, tipo de extracto y las especies de procedencia: En general, en los extractos de algas verdes predominó la fracción proteica, mientras que mayoritariamente en los extractos de algas pardas y rojas fueron mayoritarios los polisacáridos.
- ◆ En las algas de la plataforma insular cubana existe un potencial de compuestos, que pueden ser estudiados como bioactivos por su posible efecto como antibióticos, antitumorales, antivirales, antibacterianos, antimicrobianos, inmunomoduladores, citotóxicos, insecticidas, etc. debido a la toxicidad demostrada frente a los ensayos alternativos con *A. salina* e intercalante del ADN de la bacteria luminiscente mutada *Photobacterium leiognathi*.

BIBLIOGRAFIA:

- Bligh E.G. y W.J. Dyer (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal Biochem. Physiol. 37(8).
- Calam, D. H. (2000): Farmacopea Británica Volumen II. Publicado por The Stationery Office Bookshop. Dept. of Health. G. Britain. UK.
- Craigie J.S & C. Leigh (1978)-Carrageenan and agars. Handbook of Phycological Methods. Ed. Por Hellebust J.A. y Craigie J.S.. Cambridge Univ. Press, pág. 109-131.
- Darias, J.A. (1998): La Biodiversidad de las Algas Marinas como fuente de interés farmacológico: Medio Ambiente Canarias. Revista de la Consejería de Política Territorial y Medio Ambiente. Gobierno de Canarias Revista 9
- Dilorenzo A.M. (1993). Effects of algae extracts from New York/New Jersey Coast line, USA on cultured mammalian cells en Bull. Environ. Contam. Toxicol. 51(3):367-373.
- Dubois, M.; K.A. Gilles; J.K. Hamilton; P.A. Rebers ; F. Smith (1956): Colorometric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chemistry 28: 350-356.
- Eliespuro, R.K. y R.J. White (1983): Biochemical phophage induction. A rapid test for antitumor agents that interact with DNA. Cancer Research 43: 2819-2830.
- Franssen, F.F.J.; L.J.J. W. Smeijsters, I. Berger; B. Medinilla (1997): In vivo and in vitro antiplasmodial activities of some plants traditionally used in Guatemala against malaria. Antimicrobial agents and Chemotherapy. July, 1500-1503.
- Fallarero, A. (2000): Actividad antioxidante de los extractos de *Halimeda incrassata* y *Bryothamnion triquetrum*. Tesis en opción al Título de Maestro en Ciencia. 60 pág.

- Fernández, L.E.; J. Valiente; V. Mainardi; J.L. Bello; H.Vélez; AA. Rosado (1989): Isolation and characterisation of antitumor agar type polysaccharides of *Gracilaria dominguesis*. Carboh. Research 2(4): 80-87.
- Guerrero, R.O. y I. Robledo (1993): Endemic plants of Puerto Rico: Brine shrimp lethality and antibacterial activity. PRHSJ. Vol. 12 No. 4
- Hay, M.E. y W. Fenical (1992): "Chemical mediation of seaweed. herbivore interactions", Plant Animal Interactions in Marine Benthos (D.M. John) Systematic Ass. Special, Vol. No 36 pág. 319-33.
- Lenhinger, A.I., D. Nelson, M. Cox (1998): Principles of Biochemistry, II Edición, Worth Publisher, Canada, 1013 pag.
- Litchfield, J.J. & F. Wilconson (1949): A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J.Pharmac. Exp. Ther. 96: 99-113.
- Lowry H.O.; N.J. Rosebrough; A.L. Farr, & R.L. Randal (1951): Enhanced alkaline copper (Lowry) protein assay) J. Biol. Chem. 193, 265.
- Meyer, B.N; N.R. Ferrigni; J.E. Putman; L.B. Putman; L.B. Jacobsen; D.E. Nichols; J.L. Mc. Laughlin (1982): Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. Journal of Medical Plant Research, 45: 31-34.
- Michael, A., C.G. Thompson y M. Abramovitz (1956): *Artemia salina* as a test organism for bioassay. Science 123, 464.
- Migliore, L.; C. Civitareale; G. Brambilla; G. D. Di Delupis (1997): Toxicity of several important agricultural antibiotics to *Artemia*. Wat. Res. 31(7): 1801-06.
- Miravet, M.E., M. Lugioyo, N. Moreta, L. E. Fernández (1994): Metodología para la detección de agentes antitumorales potenciales (Inédito); Informe Final de Investigación, Fondos de la Biblioteca IdO.
- Paul, V. J. y W. Fenical (1987): Natural products chemistry and chemical defense in tropical marine algae of the phylum Chlorophyta. En Bioorganic Marine Chemistry (P,Sheuer, ed) Vol.1, pág, 1-29, Springer Verlag, Berlin.
- Paul, V. J. y K.L. Van Alstyne (1988) Chemical defense and chemical variation in some tropical Pacific species of *Halimeda*. Coral Reef, 6, 263-70.
- Randall, S.M. (1995): *Artemia salina* as test organism for measuring superoxide-mediated toxicity. Free radical "Biology & Medicine". 18 (5), 919-922.
- Rinehart, K.L. (2000): Antitumor compounds from tunicates. Med. Res.Rev. Enero; 20(1):1-27.
- Solís, P.N., Wright, C.W., Anderson M. M., Gupta, M.P. y Phillipson, J. D. (1993): A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (Brine shrimp). Plnta Med. 59.
- Schmitz, F.J.;Bowden, B.F.;Tohl S.I. (1993). Antitumor and cytotoxic compounds from marine organisms in Marine Biotechnology. Pharmaceutical and bioactive natural products. Attaway D.H.; Zabrsky O.R. Eds. New York, Ny USA Plenum Press. 1:197-308.
- Sheu JH, Wang GH, Sung PJ, Duh CY (1999): New cytotoxic oxygenated fucosterols from the brown alga *Turbinaria conoides*. J Nat Prod Feb; 62 (2):224-7
- Shiomi , K.H. Kamiya, Y. Shimizu, (1979): Purification and characterization of an agglutinin in the red alga *Agardhiella tenera* Biochim. and Biophys. Acta 576, 118-127.
- Steinberg, P.A., G.A. Peterson, R.J. White, W. M. Maiese (1985): The stimulation of bioluminescence in *Photobacterium leiognathi* as potential prescreen for antitumor agents. J. of Antibiotics vol. XXXVIII, No. 10: 1401-1407 p.

AGRADECIMIENTOS:

Agradecemos por su ayuda a la realización de este trabajo al MSc. Rafael Tizol del Centro de Investigaciones Pesqueras por facilitarnos los huevos de *Artemia salina*. A los investigadores y técnicos de los Dpto. de Biología Marina en especial al técnico en buceo Luis Alejandro del Dpto. de Bioactivos Marinos y Productos Naturales por su ayuda en la realización de este trabajo.

Estación	Localidad	Características	Géneros muestreados
No. 1	Médanos de la Vela	Zona de cangilones no bien definidas con abundancia de corales, gorgonias y esponjas, a 27 m de profundidad.	<i>Dyctiota</i> , <i>Halimeda</i> , <i>Lobosphora</i> .
No. 2	Idem	Ambiente muy oligotrófico a 4-5 m de profundidad, con montículos rocosos donde predominan las gorgonias y corales	<i>Halimeda</i> <i>Sargassum</i> <i>Cladophoropsis</i> <i>Rhiphocephalus</i> , <i>Udotea</i> , <i>Rhyphocephalus</i> .
No. 4	8-10 m	Fondo coralino, con montículos de poca altura. Parece ser una zona muy oligotrófica con abundancia de refugios. Gran escasez de flora.	
No. 5	18-20 m	Arenazo con bordes coralinos. El coral bien desarrollado, pero sometido a sedimentación y a incremento de la cobertura vegetal.	<i>Dyctiota</i> , <i>Lobosphora</i> , <i>Stytopodium</i> .
No. 6	Cayo Bretón 0,5-1,5 m	Borde de una laguna interior del Cayo, rica en manglares donde se colectaron las algas.	<i>Dictyophoria</i> , <i>Halimeda</i> , <i>Amphiroa</i> , <i>Acantophora</i> .
No. 7	Cayo Cinco Balas	Corales formando montículos en el borde de canalizos de 1-2 m de fondo con respecto a las paredes. Caída suave que se hace más o menos rápida a partir de los 30 m.	<i>Halimeda</i> .
No. 8	Intermareal hasta 1 m.	Plataforma que bordea al Cayo situada a 400 m de éste. Compuesta por <i>A. palmata</i> muerta masivamente y cubierta de sedimentos y gran cantidad y diversidad de algas.	<i>Amphiroa</i> ., <i>Laurencia</i> , <i>Coetotnix</i> , <i>Dyctiota</i> , <i>Stytopodium</i>
No. 10	Borde occ. de Cayo Grande	Sistema de manglares y laguna interior, en el fondo arena y fango (Intermareal hasta 1,5 m).	<i>Caulerpa</i> .
No. 11	Zona media de Cayo Grande.	Ubicada a 30 m de profundidad. Fondo cubierto por corla de hoja y otras formaciones coralinas.	<i>Penicillus</i> , <i>Lobosphora</i> <i>Halimeda</i> <i>Dyctiota</i> .
No. 12	Idem	Transecto perpendicular hacia la playa, de 6 hasta 0,5 m de profundidad. Relativamente densa cobertura algal con parches de arena	<i>Turbinaria</i> , <i>Laurencia</i> <i>Dyctiota</i> .
No. 13	27- 30 m	Buen desarrollo coralino con coral de hoja. Abundante vegetación algal.	<i>Halimeda</i> <i>Sargassum</i> .
No. 14	Manglar de C/ Caballones 1.0-1.5 m	El manglar con un sistema laguna extenso y de grandes dimensiones. Fondos fangosos con diversidad de especies de algas y esponjas en las raíces de los mangles.	<i>Valonia</i> ., <i>Udotea</i> , <i>Penicillus</i> .
No. 15	Retinga de C/ Caballones, hasta 2 m.	Notables formaciones de porites, gorgonias y otros tipos de corales, la zona aparece muy rica.	<i>Udotea</i> ., <i>Dyctiota</i> . <i>Turbinaria</i>
No. 16	Cayo Anclitas 22-25 m.	Parches de arena y montículos arrecifales, de 2 a 3 m de alto y canales entre ellas. La cobertura algal es bastante densa.	<i>Sargassum</i> .
No. 17	Idem, pero entre 0,5 y 1,5m	Fondo con formaciones coralinas dispersas, la cobertura algal muy abundante y variada y en comunicación con una laguna interior y manglar.	<i>Sargassum</i> , <i>Laurencia</i> <i>Caulerpa</i> <i>Pocokiella</i> <i>Cladophoropsis</i> <i>Halimeda</i> .
No. 18	Cayo Piedra Grande (30 m)	Canjilones de poca altura (1-2 m) cubiertos por coral de hoja, cubrimiento vegetal es significativo.	
No.19	Idem (1 m hasta intermareal)	Costa rocosa con aguas muy calientes,. Zonación típica de fondos rocosos en la zona intermareal.	<i>Acantophora</i> ., <i>Cladophoropsis</i> , <i>Galaxaura</i> <i>Avranvillea</i>
No.20	Cayo Cachiboca (25-30 m)	Arenaso compuesto por arena fina y escasa vegetación. Montículos coralinos finos	
No. 21	Idem (1,5 m)	Costa rocosa similar a la de Cayo Anclitas	<i>Criptonemiales</i>

Tabla No. 1 Estaciones de muestreo en la costa sur-oriental:

Table No. 1 Samples stations in the South West coast

Estación	Localización	Características	Géneros muestreados
No. 1	Zona aledaña a la desembocadura del río Banés.	Fondo fango rocoso. Zona altamente influenciada por el vertimiento de residuales azucareros con profundidad desde menos 0,2 hasta 2,0 m	<i>Acantofora</i> , <i>Gracilaria</i> . <i>Hypnea</i> , <i>Bryotamnion</i> <i>Codium</i> ., <i>Halimeda</i> . <i>Udotea</i> ., <i>Enteromorpha</i> <i>Padina</i> .
No. 2	Bajo Santa Ana.	Fondo fango-arenoso con presencia de manglares.	<i>Laurencia</i>
No. 3	Playa Baracoa.	Fondo areno-rocoso con influencia antrópica en aguas someras.	<i>Tricleocarpa</i> , <i>Ceramiun</i> .
No. 4	Zona aledaña al río Jaimanitas.	Fondo rocoso con residuales albañales con profundidad de hasta 1 m.	<i>Bryotamnion</i> , <i>Laurencia</i> , <i>Ulva</i> .
No. 5	Playa Viriato.	Fondo arenoso.	<i>Dictyoteris</i> <i>Gracilaria</i>
No.6	Rincón de Guanabo.	Fondo rocoso con profundidad de 2 m.	<i>Laurencia</i>
No. 7	Boca Ciega.	Fondo arenoso.	<i>Sargassum</i> .
No. 8	Punta Hicacos	Fondo arenoso.	<i>Laurencia</i> .
No. 9	Cayo Libertad.	Fondo areno-rocoso.	<i>Dyctyota sp.</i>

Tabla No. 2. Estaciones de muestreo en la costa nor-occidental:

Table No. 2 Samples stations in the North East coast

Especies	Estación de Colecta	Conc.Prot. Solubles (mg/ml)	Conc. Azúcares Totales (mg% ± DS)	Lípidos totales (mg%)	Toxicidad observada (DL₅₀) (µg/ml)
Chlorophytas					
<i>Cladophoropsis membranacea</i> Hofmman Bang ex C. Agarth	17	19,87	75.63 ± 2.61*	1.714	36.46
<i>Riphocephalus phoenix</i> (J. Ellis & Solander)Kützing	2	21,14	26.60 ± 3.27	0.98	46.30
<i>Riphocephalus phoenix</i> (J. Ellis & Solander)Kützing	4	18,81	15.95 ± 0.59	2.94	32.69
<i>Penicillus dumetosus</i> (J.V. Lamoroux) Blainville	11	67,12	29.81 ± 2.075	9.84	41.22
<i>Penicillus capitatus</i> Lamarck	14	97,32*	19.62 ± 1.02	17.83	23.44
<i>Udotea cyathiformis</i> Descaisne	2	8.50	25.63 ± 1.12*	11.36	89.74
<i>Udotea wiilsonii</i> A. Geep, E. Geep & M. Howe	15	21.40 *	14.12 ± 1.86	-	361.97
<i>Halimeda incrassata</i> (J. Ellis) J.V. Lamoroux	2	27,24 *	6.23 ± 1.22	2.38	25.27
<i>Halimeda incrassata</i> (J. Ellis) J.V. Lamoroux	6	30,30	32.94 ± 2.01*	0.38	92.57
<i>Halimeda goireauri</i> W. R. Taylor	13	36.97 *	6.26 ± 0.78	13.02	22.55

Tabla No. 3: Composición química media de los extractos acuosos de las algas verde colectadas en la zona SO*

Tabla No.3. Average of chemical composition of the green seaweed extracts from SO area*.

Especies	Estación de Colecta	Conc.Prot. Solubles (mg/ml)	Conc. Azúcares Totales (mg% ± DS)	Lípidos totales (mg%)	Toxicidad observada (DL ₅₀) (µg/ml)
Rhodophytas					
<i>Acantophora spicifera</i> (Vahl) Borgesesen	6	3,89	19.40 ± 3.72*	2.61	81.79
<i>Acantophora spicifera</i>	19	2,42	28.06 ± 3.07*	0.62	58.96
<i>Galaxaura oblongata</i> (J. Ellis & Solander) J. V. Lamoroux	19	4,60	90.67 ± 2.25*	3.21	75.34
<i>Amphyroa fragilissima</i> (Linnaeus) J. V. Lamoroux	4	3,55	45.81 ± 5.12*	8.26	14.55
<i>Amphyroa tribulus</i> (J Ellis & Solander) J. V. Lamoroux	8	4,74	19.93 ± 0.75*	18.76*	62.42
<i>Laurencia.obtusa</i> (Hudson) Lamoroux	8	5,74	34.04 ± 3.26*	6.36	61.81
<i>Laurencia.obtusa</i>	12	5,55	47.33 ± 2.23 *	0.061	20.86
Phaeophytas					
<i>Dyctiota cervicornis</i> Kützing	1	5,89	4.83 ± 0.15	2.79	69.74
<i>Dyctiota mertensii</i> (Martius) Kützing	8	2,69	4.71 ± 0.46	0.36	37.26
<i>Dyctiota humifusa</i> Hörnig, Schnetter & Coppejans	15	2,65	20.87 ± 0.23*	9.6	16.75
<i>Sargassum. platycarpum</i> W. Taylor	17	3,28	8.34 ± 0.27	2.82	92.30
<i>Stypopodium zonale</i> (J. V. Lamoroux) Papenfuss	5	8,62	13.49 ± 0.39*	8.30	21.94
<i>Stypopodium zonale</i>	8	1,28	14.96 ± 0.77*	7.62	23.54
<i>Turbinaria turbinata</i> Agarth	12	2,83	21.15 ± 1.31*	12.04	16.24
<i>Lobophora variegata</i> (J.V.Lamoroux) Womesley ex E C. Oliveiras	5	3,22	11.87 ± 1.42	13.95*	97.27

* n= 3

Tabla No. 4: Composición química media de los extractos acuosos de las algas colectadas en la zona SO*

Tabla No.4. Average of chemical composition of seaweed extracts from SO area.*

<i>Especies</i>	<i>Tipo de Extracto</i>	<i>Estaciones de colecta</i>	<i>Proteínas (mg%)</i>	<i>Hidratos de carbono (mg%)</i>	<i>Lípidos (mg%)</i>	<i>Toxicidad DL50 (ug/ml)</i>
Chlorophytas						
<i>Ulva fasciata</i> Delile	(A)	4	0.00	7.45	24.24	91.81
<i>Ulva fasciata</i> Delile	(E)	4	13.40	33.50	67.10	125.60
<i>Codium taylorii</i> P.C. Silva	(A)	1	22.00	3.00	4.13	53.90
<i>Codium taylorii</i> P.C. Silva	(E)	1	33.00	16.36	23.00	113.23
<i>Halimeda opuntia</i> (Linnaeus) J.V. Lamoroux	(E)	1	3.97	1.08	0.07	92.57
<i>Udotea flabellum</i> (J. Ellis & Solander) M. Howe	(E)	1	43.96	5.56	18.24	41.22
<i>Enteromorpha intestinalis</i> (Linnaeus) Nees	(A)	1	13.40	5.50	17.57	267.41
Phaeophytas						
<i>Dyctyota sp</i>	(E)		16.51	8.24	5.28	25.40
<i>Dyctioteris justii</i> J. V Lamoroux	(A)	5	56.10	33.12	20.50	91.30
<i>Dyctioteris justii</i>	(E)	5	11.00	67.82	30.80	63.05
<i>Padina sp.</i> (Linnaeus)	(A)	1	51.60	12.91	9.60	252.75
<i>Padina sp</i> (Linnaeus)	(E)	1	9.10	2.85	18.91	763.76
<i>Sargassum fluitans</i> (Borgesen) Borgesen	(A)	7	56.20	19.60	19.94	975.16
<i>Sargassum fluitans</i>	(E)		31.00	6.64	27.07	800.26

Tabla No. 5 Caracterización química media y DL 50 de los extractos de algas verdes y pardas colectadas en la zona NO.Table No. 5: Average of the chemical characterization and LD 50 of the green and brown seaweed extracts collected in NO area.

Rhodophytas						
<i>Laurencia gemmifera</i> Harvey	(A)		7.00	9.01	23.60	65.80
<i>Acantophora spicifera</i> (Vahl) Borgesen	(A)	1	13.10	12.45	84.25	551.66
<i>Laurencia.obtusa</i> (Hudson) Lamoroux	(A)	6	19.20	33.62	1.25	244.31
<i>Laurencia poiteau</i> (J.V.Lamoroux) M. Howe	(A)	8	64.00	21.16	6.25	187.15
<i>Laurencia poiteau</i> (J.V.Lamoroux) M. Howe	(E)	8	27.00	6.66	10.11	95.23
<i>Laurencia papillosa</i> (C. Agarth)	(A)	4	23.00	20.42	1.30	189.24
<i>Gracilaria dominguensis</i> (Kützing) Sonder ex Dickie	(A)	5	0.17	6.48	1.08	2179.23
<i>Hypnea musciformis</i> Wolfen (J.V.Lamoroux)	(A)	1	19.40	15.29	1.70	144.25
<i>Bryothamnion triquetrum</i> (Gmelin) Howe	(A)	1	11.40	10.70	13.06	264.12
<i>Tricleocarpa fragilis</i> (Linnaeus) Huisman & R. A. Townsend	(E)	3	6.52	1.94	2.73	18.13
<i>Ceramium nitens</i> (C. Agarth) J. Agarth	(E)	3	5.21	0.60	3.62	143.15

n= 3

Tabla No. 6 Caracterización química media y DL 50 de los extractos de algas rojas colectadas en la zona NO.

Table No. 6: Average of the chemical characterization and LD50 of the red seaweed extracts collected in NO area.

Especies	Resultado de la Prueba de Intercalante de ADN
Chlorophyta	
Muy Tóxicas	
<i>Ulva fasciata</i> (A)	X
<i>Halimeda opuntia</i> (E)	X
<i>Udotea flabelum</i> (E)	X
Toxicidad Moderada	
<i>Enteromorpha intestinalis</i> (A)	X
<i>Codium taylorii</i> (E)	X
Rhodophyta	
Toxicidad Moderada	
<i>Laurencia obtusa</i> (A)	X
<i>Bryothamnion triquetrum</i> (E)	X
<i>Galaxaura oblongata</i> (E)	X
No tóxicas	
<i>Bryothamnion triquetrum</i> (A)	
Phaeophyta	
Muy Tóxicas	
<i>Dyctioteris justii</i> (A)	X
Toxicidad Moderada	
<i>Dyctiota mertensis</i> (E)	X
<i>Padina sp.</i> (E)	X

Tabla No. 7: Extractos algales que respondieron positivamente al ensayo de intercalantes de ADN

Table No. 7: Seaweed extracts that answers positively to interchange of DNA assay.