

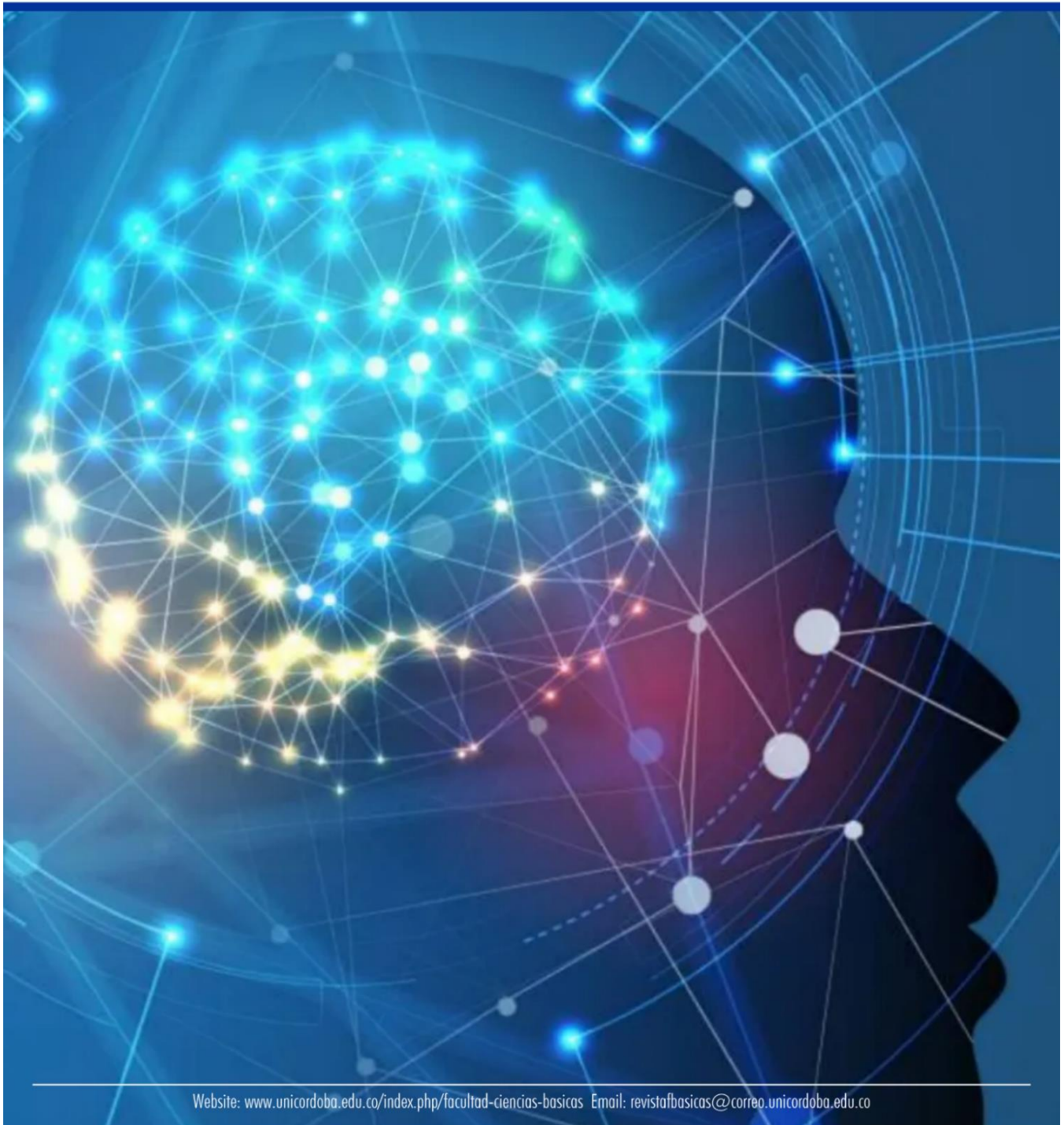


UNIVERSIDAD DE  
**CÓRDOBA**



# **RFCB** Revista Facultad de Ciencias Básicas

Volumen 1- Edición digital N°001 ISSN: 2805-7821



Website: [www.unicordoba.edu.co/index.php/facultad-ciencias-basicas](http://www.unicordoba.edu.co/index.php/facultad-ciencias-basicas) Email: [revistafbasicas@correo.unicordoba.edu.co](mailto:revistafbasicas@correo.unicordoba.edu.co)

## Evaluation of methanolic extracts from two species of *gracilaria* (Rodophyta) as antibacterial agents

## Evaluación de extractos metanólicos de dos especies de *gracilaria* (Rodophyta) como agentes antibacterianos

Martha J. MOGOLLÓN, A<sup>1\*</sup>., Julieth GONZÁLEZ, R<sup>1</sup>., Alexandra MONTALVO, B<sup>1</sup>., Carolina ARANGO, R<sup>1</sup>., y Adriana VALLEJO, I<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Universidad de Córdoba – Colombia, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Biología, \*E-mail: mmogollon@correo.unicordoba.edu.co ORCID: 0000-0003-30700385; E-mail: juliethg76@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9692-5240>; E-mail: alexandra.m.b-08@hotmail.com ORCID: <https://orcid.org/0002-8440-6643>; E-mail: carolinaarango@correo.unicordoba.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7895-6238>.

<sup>2</sup>Universidad de Córdoba – Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Programa de Acuicultura, E-mail: avallejo@correo.unicordoba.edu.co ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5183-3369>

Recibido: septiembre 30 de 2021

Aceptado: noviembre 10 de 2021

Publicado: noviembre 19 de 2021

### Abstract

The antibacterial activity of methanol extracts of *G. blodgettii* and *G. damaecornis* (Rhodophyta) collected in the sector Punta Bello municipality of San Antero-Córdoba, this activity was estimated taking into account the collection period of macroalgae, the reproductive cycle and different dilutions: 5120, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80, 40 ppm (parts per million), it was used bacterial strains *E. coli* (ATCC 25923) and *S. aureus* (ATCC 25922) following the agar diffusion method using sensidiscs (Bauer et al., 1966). The results show that both undiluted extracts obtained from the algae collected in the different sampling periods, showed inhibition in the growth of *E. coli* and *S. aureus* strains. The algal extracts on bacterial strain *S. aureus* showed a positive response to high dilution, unlike bacterial strain *E. coli* that do not show inhibitory activity in the other dilution. The predominant phase corresponds to tetrasporofito stadium. This constitutes the research first local report in relation to the antibacterial activity of the methanol extracts of *G. blodgettii* y *G. damaecornis* in *E. coli* y *S. aureus*.

**Keywords:** Macroalgae; Bacterium; Seasonality; Antimicrobial activity, Tetrasporophytic.

### Resumen

Se evaluó la actividad antibacteriana de dos extractos metanólicos de *Gracilaria blodgettii* y *Gracilaria damaecornis* (Rodophyta) colectadas en el sector Punta Bello municipio de San Antero-Córdoba. Esta actividad se estimó teniendo en cuenta el periodo de colecta, el ciclo reproductivo de las macroalgas y diferentes diluciones de los extractos: 5120, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80, 40 ppm (partes por millón); se utilizaron las cepas bacterianas *Escherichia coli* (ATCC 25923) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) siguiendo el método de difusión en agar empleando sensidiscos (Bauer et al., 1966). En los resultados se observó que ambos extractos sin diluir obtenidos de las algas colectadas en los diferentes periodos de muestreos, mostraron inhibición en el crecimiento de la cepas *E. coli* y *S. aureus*. Los extractos algales sobre la cepa bacteriana *S. aureus* ejercieron una respuesta positiva a una mayor dilución, a diferencia de la cepa bacteriana *E. coli*, que no presentó actividad inhibitoria en las demás diluciones; la fase de vida que predominó corresponde a la fase tetrasporofítica. Esta investigación constituye el primer reporte local en relación a la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre *E. coli* y *S. aureus*.

**Palabras claves:** Macroalgas; Bacterias; Estacionalidad; Actividad antimicrobiana, Tetrasporofítica.

## INTRODUCCIÓN

El estudio de la diversidad marina como fuentes de productos biológicos y como modelo para la producción de drogas, ha derivado en un amplio número de revisiones, muchas de las cuales consideran a las algas como uno de los principales grupos productores de compuestos bioactivos. Estos compuestos, están formados por una amplia gama de metabolitos secundarios cada uno con una función específica dentro de su medio, atribuyéndoles entre otras, la defensa química contra herbívoros marinos (Amsler, 2008).

En los últimos años, las investigaciones de los productos naturales activos extraídos de las macroalgas han sido esenciales para comprender las formas en que estos organismos interaccionan con su entorno, siendo *Gracilaria* uno de los géneros que abarca el mayor número de especies identificadas como fuente potencial de productos antibacterianos, caracterizado por biosintetizar metabolitos que actúan como agentes de protección y se convierte en elementos fundamentales para la supervivencia (Plaza et al., 2009).

Los productos naturales algales han demostrado actividad antimicrobiana, antiviral, antioxidante, citotóxica, antiinflamatoria, antiepiléptica, entre otras (Andrade et al., 2013), es por ello, que la actividad antibiótica de algas marinas es causa de interés farmacológico hoy en día, ya que la aparición de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos convencionales ha aumentado el número de infecciones difíciles de tratar, debido a que éstas presentan ventajas evolutivas como el alto recambio generacional, adquisición de genes de resistencia y presión selectiva (Eom et al., 2012), causando efectos negativos en la salud de los hospederos, por la capacidad de mutación y adaptación a las condiciones ambientales (Rawani et al., 2011; Haeker y Kaper, 2002).

Entre los estudios que resaltan la actividad biológica de las algas marinas, figuran los realizados por Rawani et al. (2011) quienes evaluaron el potencial de la bioactividad de las algas *Ulva reticulata*, *Caulerpa occidentalis*, *Cladophora socialis*, *Dictyota ciliolata*, y

*Gracilaria dendroides*, colectadas del mar Rojo en aguas costeras de Jeddah, Arabia Saudita, utilizando etanol para el extracto, cloroformo, éter de petróleo y agua; valoraron la actividad antibacteriana en cepas de *Escherichia coli* ATCC 25322, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

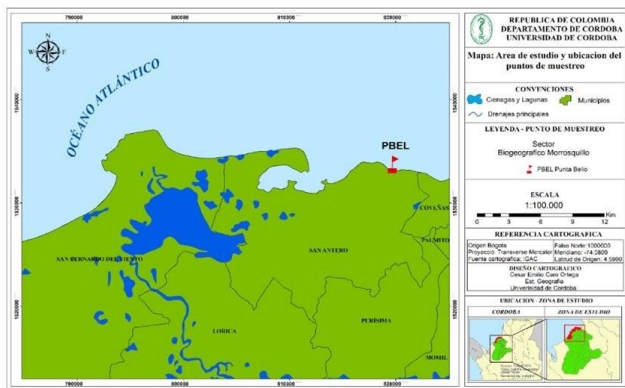
Entre otras investigaciones, Coronado et al. (2015) determinaron la actividad antibacteriana de extractos de *Laurencia dendroidea*, colectadas en el litoral rocoso de playa Parguito, Isla de Margarita, utilizando solventes de diferentes polaridades y su efecto sobre cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Su estudio evidenció que *L. dendroidea*, al igual que otras especies de algas, presentaron compuestos con propiedades antibacterianas, registrando que *Escherichia coli* fue más sensible a los solventes puros, pero no observaron inhibición en el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*. Osuna et al. (2016) han evaluado la composición química y actividad antimicrobiana de extractos de *Gracilaria vermiculophylla* sobre *Vibrio parahaemolyticus*, utilizando acetona y metanol, y difusión en disco, utilizando 10, 30 y 50 µL de los extractos en los sensidiscos; se determinó que el volumen de 50 µL, con ambos extractos presentaron los halos de inhibición más altos

En Colombia, los estudios sobre los compuestos aislados de algas con actividad antibacteriana son escasos, aun cuando existe una amplia diversidad de estos organismos en las costas colombianas, sin embargo, la amplia información sobre la estructura de estas comunidades macroalgales asociadas al litoral rocoso, demuestran una perspectiva en la diversidad solo en estudios taxonómicos dejando a un lado el marco de la bioprospección. No existen investigaciones que reporten y demuestren la actividad antibacteriana de extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, colectadas en las costas del departamento de Córdoba, por lo que el objetivo de esta investigación se centra en evaluar el efecto antibacteriano de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G.*

*damaecornis*, colectadas en el sector Punta Bello, Córdoba-Colombia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación fue de tipo retrospectivo y experimental. Las algas fueron colectadas en el sector Punta Bello del municipio de San Antero departamento de Córdoba (Figura 1), ubicado sobre las coordenadas geográficas 75° 32' 21" Oeste y 9° 25' 2" Norte, temperaturas que presentando temperaturas entre 27°C y 29°C (Kelsy y Vargas, 2006), con precipitación promedio anual de 1,255 mm (Corredor y Amaya, 1993).



**Figura 1.** Ubicación cartográfica del sitio de estudio (1: 1.000). Fuente: Instituto Geográfico Agustín Codazzi IGAC

Los puntos de colectas a lo largo y ancho de la plataforma somera sumergida fueron completamente aleatorios abarcando periodos secos y de lluvias. Se trazaron transectos perpendiculares con cuadrantes de 50 x 25 cm para delimitar la zona y realizar una colecta ordenada con una profundidad de 1 metro (Crothers, 1976). Las muestras algales extraídas se sometieron a una limpieza manual de la arena y la fauna acompañante (Vlachos et al., 1996). Para la identificación del ciclo reproductivo de las algas se realizaron cortes longitudinales y transversales (Megías et al., 2016), permitiendo su descripción a partir de observaciones microscópicas a 40X; se verificó su taxonomía consultando la data-base de algas, así como su reporte para Colombia y guías taxonómicas (Marín y Peña, 2008; Brito y Silva, 2004).

El procesamiento del material colectado en campo se realizó en el Laboratorio de Química de Productos Naturales (PRONAT) de la Universidad de Córdoba. Las muestras separadas por periodo de colecta y ciclo reproductivo, se secaron a temperatura ambiente durante 48 horas (Vlachos et al., 1996). Las algas secas se cortaron en trozos finos, se almacenaron en frascos de vidrio por cada especie y se le adicionó metanol al 96% durante una semana para la posterior concentración y remoción del mismo en un rotaevaporador a presión reducida y a temperatura de 50°C; los extractos fueron envasados por varios días a -20 °C hasta la evaporación total del solvente (Muñoz, 2010).

La actividad antibacteriana se evaluó utilizando las cepas Gram negativa *E. coli* de referencia ATCC 25923, y Gram positiva *S. aureus* ATCC 25922 donadas por el Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Los microorganismos se replicaron en caldo BHI cada 8 días y las cepas originales se conservaron a una temperatura de -20°C en medio BHI con 30% (v/v) de glicerol y 0,6% de agar. Se utilizó agar Mueller-Hinton (Merck KGaA 64271, Darmstadt, Germany) y caldo infusión cerebro corazón (BHI) (Merck KGaA 64271, Darmstadt, Germany) como medios de cultivo.

Para la preparación y estandarización del inóculo, se tomaron de 3 a 5 colonias de un cultivo axénico teniendo en cuenta la fase exponencial de crecimiento bacteriano, se sembraron en 9 ml de caldo BHI y se incubaron a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 18 horas. Tras la incubación, se realizaron diluciones seriadas de la suspensión bacteriana (inóculo), midiendo la densidad óptica de cada dilución a 630 nm en un espectrofotómetro, hasta alcanzar una absorbancia comprendida entre 0.08 y 0.13 (Valgas et al., 2007; Cona, 2002). Dicha absorbancia equivale a  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml, que corresponde a una de turbidez de 0,5 en la escala de MacFarland (Alvés et al., 2011).

La actividad antibacteriana de los extractos fue evaluada siguiendo el método de difusión agar empleando sensidiscos (Bauer et al, 1966). Luego, de estandarizar el inóculo bacteriano, a cada caja de petri

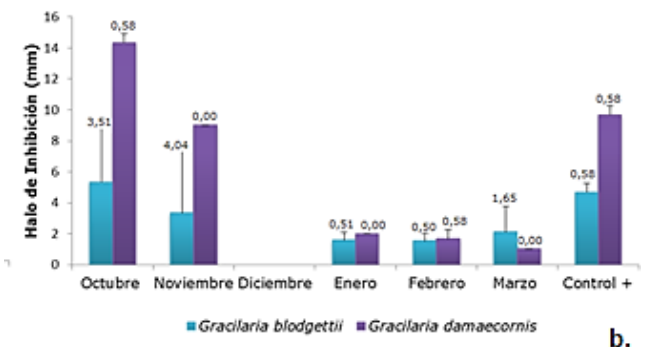
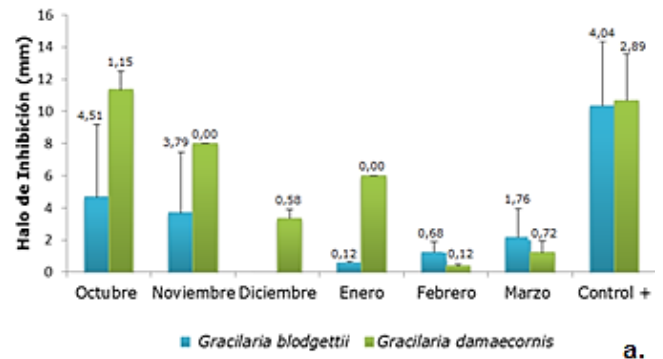
con 25ml de agar Mueller-Hinton, se le adicionó 50µL de la suspensión bacteriana, se realizó siembra masiva de la bacteria y de manera equidistante se colocaron discos de papel filtro Whatman N°3 de 6 mm diámetro impregnados durante 24 horas con 20 µl de los extractos algales sin diluir y a diferentes diluciones: 5120, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80 y 40 ppm sobre el agar; se depositaron discos de un antibiótico comercial con una dosis de Cloranfenicol como control positivo y para el control negativo se emplearon discos impregnados con metanol al 96% (Bauer et al, 1966).

Los cultivos fueron incubados a  $36\pm 1$  °C y al cabo de 24 horas se midió el diámetro de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos y como evidencias se tomaron registros fotográficos.

Se realizó análisis de varianza bifactorial, con tres réplicas de cada ensayo (n=3). Los resultados se expresaron como medias y  $\pm$  desviación estándar. El análisis estadístico se realizó teniendo en cuenta los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y una prueba de varianza (test de Bartlett) para determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos; se realizó un ANOVA para analizar las diferencias entre cada uno de los períodos de muestreo. Se utilizaron los software Statgraphic Centurion Version XVII, XLSTAT versión 2019.2.

## RESULTADOS

Los extractos de *Gracilaria damaecornis* presentaron una mayor actividad inhibitoria que los de *G. blodgettii* sobre la cepa bacteriana *Escherichia coli*, especialmente con los obtenidos de las muestras colectadas en los meses de octubre y noviembre (período de lluvias), presentando valores que fueron cercanos al control positivo, tal como se aprecian en la Figura 2a.



**Figura 2.** a Actividad inhibitoria (mm) de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre *E. coli*. b Actividad inhibitoria en (mm) de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre *S. aureus*.

Es de resaltar, que en ambas especies los extractos que registraron mayor actividad inhibitoria correspondieron a los obtenidos durante los meses asociados al periodo de lluvia, sin embargo, el extracto de *G. damaecornis* obtenido de las muestras colectadas en enero (época seca) presentó el mayor efecto de inhibición.

El análisis de varianza (ANOVA) indicó diferencias significativas (p valor=0,01) entre la actividad inhibitoria del extracto de cada una de las especies de *Gracilaria* en los diferentes períodos hidrológicos sobre *E. coli*, mientras que el test de Bartlett (P valor=0.08) no demostró diferencias significativas en cuanto a la actividad inhibitoria sobre este microorganismo.

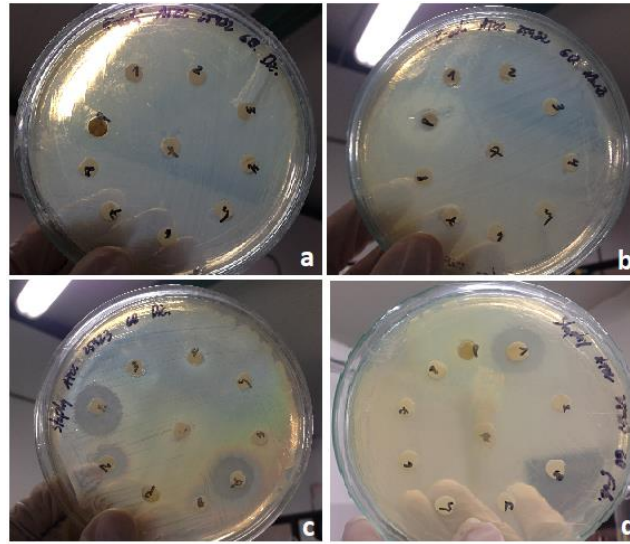
Para el caso de la cepa bacteriana *S. aureus*, los resultados mostraron mayor actividad inhibitoria del extracto de *G. damaecornis*, contrario a lo evidenciado con *E. coli*, registrándose valores por encima del control positivo (Figura 2b).

El análisis de varianza demostró diferencias significativas de la actividad inhibitoria entre los períodos de muestreo en ambas especies algales (p valor=0,01). El test de Bartlett, indicó que existieron diferencias significativas (p valor=0,02) con respecto a la actividad inhibitoria sobre la cepa *S. aureus*.

Los ensayos de actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* fueron evaluados a diluciones de 5120, 2560, 1280, 640, 320, 160, 80 y 40 ppm. Las pruebas no demostraron actividad inhibitoria frente a la cepa bacteriana *E. coli*; sin embargo, sí se evidenció actividad inhibitoria de dichos extractos sobre la cepa bacteriana *S. aureus* con una tendencia de menor actividad al disminuir la dilución del extracto (320, 160, 80 y 40 ppm) (Tabla 1 y Figura 3). Es de resaltar que, sobre esta cepa, los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sin diluir, obtenidos durante todos los períodos hidrológicos presentaron inhibición en el crecimiento bacteriano.

**Tabla 1.** Valores promedio de los halos de inhibición a diferentes diluciones de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* (*G.b*) y *G. damaecornis* (*G.d*) y extractos sin diluir (P) sobre *E.coli* y *S.aureus*.

<i>G.b</i>		Diluciones en (ppm)								
	MESES	5120	2560	1280	640	320	160	80	40	P
	OCT	-	-	-	-	-	-	-	-	4,67
<i>E. coli</i>	NOV	-	-	-	-	-	-	-	-	3,67
	DIC	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00
	ENE	-	-	-	-	-	-	-	-	0,57
	FEB	-	-	-	-	-	-	-	-	1,23
	MAR	-	-	-	-	-	-	-	-	2,17
<i>G.d</i>		Diluciones en (ppm)								
	MESES	5120	2560	1280	640	320	160	80	40	P
	OCT	-	-	-	-	-	-	-	-	11,33
<i>E. coli</i>	NOV	-	-	-	-	-	-	-	-	8,00
	DIC	-	-	-	-	-	-	-	-	3,33
	ENE	-	-	-	-	-	-	-	-	6,00
	FEB	-	-	-	-	-	-	-	-	0,37
	MAR	-	-	-	-	-	-	-	-	1,20
<i>G.b</i>		Diluciones en (ppm)								
	MESES	5120	2560	1280	640	320	160	80	40	P
	OCT	1,5	-	1,3	2	-	1,5	1,7	2	5,33
<i>S.aureus</i>	NOV	1	0,3	-	-	-	-	-	-	3,33
	DIC	1,3	1,9	0,5	0,6	-	-	-	-	0,00
	ENE	2	0,5	3	-	-	-	-	-	1,57
	FEB	1,5	1	0,5	1	-	-	-	-	1,53
	MAR	1,5	1,3	0,2	-	-	-	-	-	2,10
<i>G.d</i>		Diluciones en (ppm)								
	MESES	5120	2560	1280	640	320	160	80	40	P
	OCT	1	0,5	0,3	-	-	-	-	-	14,33
<i>S.aureus</i>	NOV	4	4,5	-	-	-	-	-	-	3,67
	DIC	2	3	0,5	0,6	-	-	-	-	0,00
	ENE	2	0,5	3	-	-	-	-	-	0,57
	FEB	1	-	2,5	1	-	0,5	-	-	1,23
	MAR	1,5	1,3	0,2	-	-	-	-	-	2,17



**Figura 3. a y b** Actividad antibacteriana de *G. blodgettii* (*G.b*) y *G. damaecornis* (*G.d*) sobre *E.coli*: 1: 5120ppm, 2:2560ppm, 3:1280ppm, 4:640ppm, 5:320ppm, 6:160ppm, 7:80ppm, 8: 40ppm, P: extracto sin diluir **c y d** Actividad antibacteriana de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre *S. aureus* en periodo seco y de lluvia; control negativo (x).

**Características morfológicas e histológicas y ciclo de vida de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*.** En la Figura 4, se observan tetrasporangios en forma ovalada

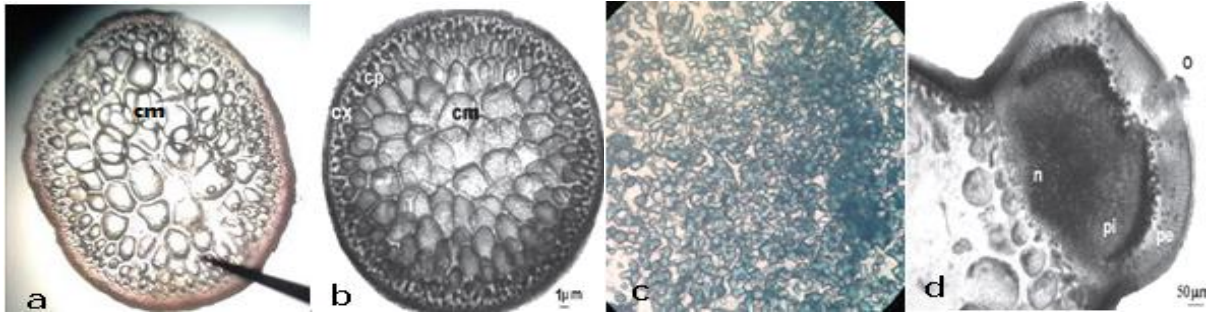
distribuidos en la zona apical y basal, con talos de vida libre y ramificación filamentososa irregular.



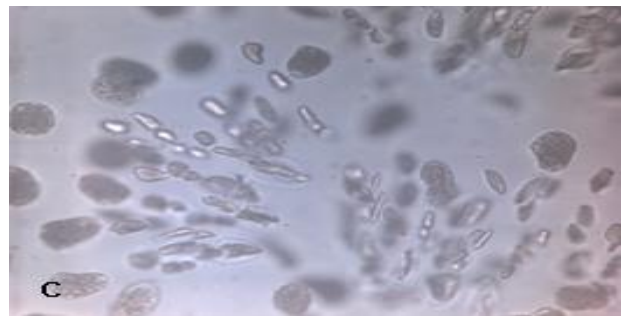
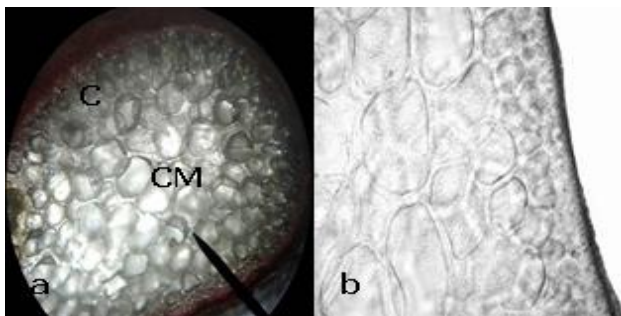
**Figura 4.** Morfología externa de **a** *G. damaecornis* y **b** *G. blodgettii*. T: Tetrasporangios.

Se observaron células medulares, corticales rodeadas de células parenquimáticas y filamentos

gonimoblásticos y los estadios del ciclo de vida (Figura 5 y 6).



**Figura 5.** Morfología interna de **a** Corte transversal del talo: CM células medulares, C células corticales *G. blodgettii* **b** Imagen bibliográfica corte transversal en sección media del talo vegetativo, donde se destaca células medulares (cm), rodeadas por células parenquimáticas (cp) y el córtex (cx) (13) **c** Filamentos del gonimoblasto en la zona superior, con azul de toluidina y **d** Imagen bibliográfica corte en micrótopo de rotación de cistocarpo maduro con ostiolo (o) en área distal para salida de carposporas núcleo del cistocarpo (n) (Brito y Silva, 2004).



**Figura 6.** **a** Corte transversal del talo: CM células medulares, C células corticales de *G. damaecornis* **b** Imagen bibliográfica sección media del talo vegetativo (Megías et al., 2016) y **c** Filamento del gonimoblasto con cistocarpo maduros.

Los céspedes algales en los cuales se realizaron las colectas del material biológico para la obtención de los extractos, registraron algas en estadios reproductivo y vegetativo siendo el estadio dominante el tetrasporofítico, en particular durante el período correspondiente a mayor precipitación (octubre, noviembre y diciembre); la dominancia de este estadio coincide con la mayor actividad de inhibición bacteriana registrada de los extractos obtenidos de ambas especies.

## DISCUSIÓN

En cuanto a la actividad de los extractos *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, se observó respuesta inhibitoria sobre *E. coli* y *S. aureus*, sin embargo, se muestran diferencias de esta actividad durante el ciclo hidrológico. Punta Bello, es una zona en la cual existen períodos hidrológicos claramente establecidos, que traen consigo cambios en las variables físicas y químicas de la zona costera y por tanto incidencia en los procesos fisiológicos de los organismos que allí se encuentran incluyendo las algas, las cuales responden morfológica y fisiológicamente a factores como el hábitat, la temporalidad y los diferentes estadios de desarrollo (Vergara, 2013; Payyavula et al., 2012; Figueiredo et al., 2008).



La baja actividad inhibitoria presentada en la época seca y mareas bajas, se asocia a la exposición a periodos prolongados de los rayos solares de manera directa, generando estrés en dichos organismos. Esto trae como consecuencia, que las algas centren sus procesos en la producción de pigmentos accesorios, entre los que se destacan la ficobiliproteína, ficoeritrina y corragenano, evitando la inhibición de la actividad fotosintética (Balboa et al., 2013), mientras que, para la época de altas precipitaciones y mareas altas, se presentó mayor actividad inhibitoria coincidiendo con la mayor cobertura algal. Este poder inhibitorio puede ser el resultado del aumento de metabolitos secundarios, los cuales hacen parte de sus rutas metabólicas normales y que se sintetizan dependiendo de las condiciones externas, tales como, ataques a patógenos, predadores, cambios térmicos o lumínicos, deficiencias nutricionales o presencia de otros organismos (Fernando et al., 2016).

En el caso de los ensayos a diferentes diluciones de los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis* sobre el crecimiento bacteriano de *E. coli*, la no incidencia de los extractos sobre el crecimiento de este microorganismo se puede atribuir a la presencia de una pared celular compuesta de polisacáridos, así como también a los mecanismos de resistencia que estas poseen (Choi et al., 2010). No es de descartar, que la naturaleza química del alga tenga una incidencia en la actividad inhibitoria, por lo que existe la posibilidad de un efecto inhibitorio a diluciones superiores a 5120 ppm.

Las diferencias que presentaron los extractos de las macroalgas sobre *S. aureus*, se asocian a la presencia de una pared celular simple en las bacterias Gram positivas, mostrándola susceptible a la acción de estos extractos (Pérez et al., 2016). Diversas investigaciones señalan que este evento se atribuye al efecto de los compuestos que hay en el extracto y no a un constituyente en particular (Flores et al., 2007.). Otros aspectos que se tienen en cuenta, están relacionados con los productos bioactivos de cada especie, la presencia de más de un compuesto activo, la concentración de estos en cada extracto y las diferentes

masas molares de las sustancias o efectos antagónicos y sinérgicos (Campos et al., 1988).

Los resultados inhibitorios obtenidos en este ensayo coinciden con otras investigaciones donde se ha trabajado con el género (*Gracilaria*), como los de Chiheb et al. (2009) en *G. chilensis* y Adaikalaraj et al. (2012) en *G. verrucosa* y *G. ferugosoni*, sin embargo, en estos se registran mayor actividad inhibitoria, relacionado posiblemente con factores como los metabolitos que presenta cada especie, el hábitat, estacionalidad y a los procesos de extracción.

El estadio tetrasporofito es la fase dominante en los bancos naturales de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, este evento es reportado para otras especies del género *Gracilaria* como *G. dominguensis* y *G. gracilis* (Brito y Silva, 2004). Se observó que la mayor esporulación ocurrió a partir de fragmentos de talos gametangiales (cistocápicos), los cuales dan origen a algas tetraspóricas, esto podría ser una explicación al predominio de dicha fase, como también puede estar relacionada con la ploidía celular, puesto que las células diploides se supone que son más tolerantes que las haploides a las variaciones ambientales sobre las otras fases de vida (Megías et al., 2016). Con relación a la reproducción, cabe anotar que las macroalgas inician su etapa reproductiva al alcanzar una talla mínima, pero también, esta etapa es el resultado de los cambios en los factores ambientales que satisfacen los requerimientos fisiológicos de la reproducción, o del uso de disparadores ambientales y factores bióticos que coordinan ese proceso. Además, la salinidad, la temperatura, la irradiación solar, así como el suministro de nutrientes, han sido señalados como los principales factores que influyen en el desarrollo del ciclo de vida de las algas marinas, indicando que la temperatura es el factor determinante para la germinación de las esporas, aunque estos factores influyen en la rapidez del subsecuente desarrollo de las mismas y en la composición química de los extractos (Espinoza, 2005). Lo anterior sugiere que, este estadio puede tener una estrecha y directa relación en la actividad inhibitoria de los extractos macroalgales.

## CONCLUSIONES

Los extractos metanólicos de *G. blodgettii* y *G. damaecornis*, son una fuente potencial importante de compuestos bioactivos, presentando una actividad inhibitoria sobre las cepas bacterianas ensayadas, con mayor efecto inhibitorio del extracto metanólicos de *G. damaecornis*, sobre *S. aureus*, evidenciando así, variaciones en la actividad antibacteriana de los extractos según el periodo hidrológico, siendo coincidente la mayor actividad de inhibición bacteriana con el dominio del estadio tetrasporofítico.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba por abrirnos las puertas y permitirnos realizar nuestros estudios, así mismo, reconocemos el apoyo valioso del Laboratorio de Ciencias Biológicas del Trópico – Sede Berastegui, Laboratorio de Sanidad y Calidad de Agua – programa de Acuicultura, Laboratorio de Productos Naturales – programa de Química, Laboratorio de Genética – programa de Biología, Almacén de reactivos- departamento de Biología y por ultimo agradecemos a la Universidad del Valle, Cali-Colombia, por recibimos y apotar a este trabajo de investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adaikalaraj, G., Johnson, M., Raja, D., Janakiraman, N. y Badu, A. (2012). Antibacterial potential of selected red seaweed from Manapad coastal areas, Thoothukudi, Tamil Nadu, India. *Asia Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2 (2): S1077-S1080.

Alvés, E., Guzmán, D., Figueroa, J., Tello, J. y De Olivera, D. (2011). Caracterización antimicrobiana y fisicoquímica de propóleos de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) de la región andina Colombiana. *Acta Biol. Colomb.* 16 (1): 175-184.

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

Andrade, P., Barbosa, M., Matos, R., Lopes, G., Vinholes, J., Mougá, T. y Valentão, P. (2013). Valuable compounds in macroalgae extract. *Food Chem.* 138: 1819-1828

Balboa, E., Conde, E., Moure, A., Falque, E. y Dominguez, H. (2013). In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem.* 138: 1764-1785

Bauer, A., Kirby, W., Sherris, I. y Turk, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized disk method. *Amer. J. Clin. Pathol.* 45(4): 493-496. En Hernández, M. y Troccoli, L. 2008. Actividad antibacteriana y antimicótica de *Spirobranchus giganteus* (Serpulidae: Polychaeta) de Guayacan, península de Araya, estado Sucre, Venezuela. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 20 (3): 284.

Brito, L y Silva, S. (2004). Fases reproductivas de *Gracilaria damaecornis* J. Agardh (GRACILARIACEAE: RHODOPHYTA). [Tesis de postgrado], Universidad de Oriente, Venezuela. 43 (1y2): 33-36.

Campos-Takaki, M., Diu, M., Koenig, M. y Pereira, F. (1988). Screening of marine algae from Brazilian northeastern coast for antimicrobial activity. *Bot. Mar.* 31(5):375-377. En: Coronado, W., González, V., Lorelys y D'Armas, H. 2015. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana preliminar de los extractos de la macroalga *Laurencia dendroidea*, J. Agardh, 1841 (Rhodomelaceae: Rhodophyta). *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, vol. 27(1): 62-64.

Chiheb, I., Riadi, H., Martínez, J., DomínguezSeglar, J., Gómez, J., Bouziane, H. y Kadiri, M. (2009). Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology* 8(7): 1258-1262.

Choi, J.G., Kang, O.H., Brice, O.O., Lee, Y.S., Chae, H.S., Oh, Y.C., Sohn, D.H., Park, H., Choi, H.G., Kim, S.G., Shin, D.W., Kwon, D.Y. (2010). Antibacterial activity of *Ecklonia cava* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. *Foodborne Pathog. Dis.* 7(4):435-441.

Cona, E. (2002). Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. *Rev Chil Infect*, 19 (2): S 77-81.

Coronado, W., González, V., Lorelys y D'Armas, H. 2015. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana preliminar de los extractos de la macroalga *Laurencia dendroidea*, J. Agardh, 1841 (Rhodomelaceae: Rhodophyta). *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 27 (1): 61-66

Corredor, F y Amaya, F. (1993). *Ecología marina del Golfo de Morrosquillo*. Universidad Nacional de Colombia. En Vergara, L. 2013. *Caracterización morfológica y análisis bromatológico de dos especies de algas del género Gracilaria, asociadas al litoral rocoso en punta Bolívar, departamento de Córdoba*. [Tesis de pregrado], Universidad de Córdoba.-Montería. Pág 20-21.

Crothers, J. (1976). On the distribution of some common animals along the rocky shores of West Somerset. *Field. Stud.* 4 (3): 369-389. En Uraren, E. 2014. Protocolo de muestreo, análisis y evaluación de macroalgas en masas de agua de transición. Código: tw\_macroalgas\_ura\_v\_1.0. Pág 1-7.

Eom, S.H., Y.M. Kim, S.K. Kim. 2012. Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. *Food Chem. Toxicol.*50:3251–3255.

Espinoza, J. (2005). Fenología de macroalgas marinas. Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California. *Hidrobiológica* 15 (1): 109-122. Pág 1-14.

Fernando, S., Kim, M., Kwang-Tae, S., Jeong, Y. y You-Jin, J. (2016). Antioxidant activity of marine algal polyphenolic compounds: a mechanistic approach. *J. Med. Food* 19 (7):1–14.

Figueiredo, C., Barroso, J., Pedro, L. y Scheffer, J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 23(4): 213-226.

Flores, M., Armas, H. y 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.

Freile, Y. y Murano, E. (2005). Agars From three species of *Gracilaria* (Rodophyta) from Yucatan Peninsula. *Bioresourc Technology*, 96 (2): 295-202.

Haeker, J. y Kaper, J. (Eds.) (2002). *Pathogenicity islands and the evolution of pathogenic microbes*. Springer-Verlag Berlín Heidelberg, Germany.

Kelsy, E y Vargas, I. (2006). *Distribución espacio temporal de las comunidades macroalgales asociadas al litoral rocoso desde Punta Bolívar hasta sector Cálao departamento de Córdoba Caribe Colombiano* [Tesis de pregrado], Universidad de Córdoba. Montería. Pág 13-14.

Marín, H. y Peña, E. (2008). Características histológicas de las fases reproductivas del alga roja *Gracilaria blodgettii* (Gracilariaceae). *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 35 (135): 125-132.

Megías, M., Molist, P. y Pomba, M. (2016). *Atlas de histología vegetal y animal: Tinción*. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo.Colombia. Pág 1-24.

Muñoz, M. (2010). Potencial farmacológico de algas marinas de Baja California Sur, México. [Tesis de pregrado], Instituto politécnico nacional centro interdisciplinario de ciencias marinas (CICIMAR). La Paz. Pág 22-23.

Osuna, P., Miranda, A., Rivas, M., Esquer, E., García, D. y Buitimea, R. (2016). Composición química y actividad antimicrobiana de extractos de macroalga *Gracilaria*

*vermiculophylla* sobre *Vibrio parahaemolyticus*. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. XVIII (2): 27-31

Payyavula, R., Navarre, D., Kuhl, J., Pantoja, A. y Pillai, S. (2012). Differential effects of environment on potato phenylpropanoid and carotenoid expression. *BMC Biology*. 12 (1): 39-56.

Pérez, M., Falqué, E. y Domínguez, H. (2016). Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Mar. Drugs*.14:52 doi: 10.3390/md14030052.

Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., García-Blairsy G., Herrero, M., Senoráns, F. e Ibáñez, E. (2009). Screening for bioactive compounds from algae. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 51(2): 450-455.

Rawani, A., Pal, S. y Chandra, G. (2011). Evaluation of antimicrobial properties of four plant extracts against human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Pág 71-75.

Valgas, C., Machado, S., Smania, E. y Smania, A. (2007). Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38: 369-380.

Vergara, L. (2013). Caracterización morfológica y análisis bromatológico de dos especies de algas del género *Gracilaria*, asociadas al litoral rocoso en Punta Bolívar, departamento de Córdoba. [Tesis de pregrado], Universidad de Córdoba. Montería. Pág 20-21.

Vlachos, V., Critchley, A. y Von Holy, A. (1996). Establishment of protocol for testing antimicrobial activity in southern African macroalgae. *Microbes*. 88: 115-123. En: Magallanes, C., Córdoba, C. y Orozco, R. 2003. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. *Rev. Perú. biol.* 10(2): 125- 132.