

# Identificación de compuestos antibacterianos en macroalgas presentes en la Región del Biobío, Chile

Identification of antibacterial compounds obtained from seaweeds present in the Biobío Region, Chile

Nicolás Troncoso<sup>1</sup>, Ricardo Saavedra<sup>1</sup>, Alex Olivares<sup>1</sup>, Jorge Farías<sup>1</sup>, Sergio San-Martín<sup>1</sup>, Homero Urrutia<sup>2</sup> y Cristian Agurto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Grupo Interdisciplinario en Biotecnología Marina (GIBMAR), Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile. nicotroncoso@udec.cl

<sup>2</sup>Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental, Centro de Biotecnología, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción, Chile

**Abstract.** Several studies have been done in order to detect antibiotics from natural sources, seaweeds among them. With the aim of identifying antibacterial compounds, 6 species of seaweeds have been evaluated. The raw extracts were analyzed against bacteria, Gram-positive and negative, with diffusion discs and bioautography, then, they were characterized by GC-MS. The seaweeds *Gracilaria chilensis*, *Ulva* Complex and *Macrocystis pyrifera* present inhibition in the bacterial growth of tested strains. Three molecules, Phytol, 6-methyl-2-phenylquinoline and Neophytadiene were identified from *M. pyrifera* and in *Ulva* Complex extracts. The results represent a potential use to incorporate these properties into biomaterials.

**Key words:** Antibacterial capacity, seaweeds, bioautography, biomaterials

## INTRODUCCIÓN

Las macroalgas poseen una taxonomía compleja y dinámica (Rindi *et al.* 2012), que se complementa con una composición química rica y diversa, abarcando a la mayoría de los productos naturales conocidos, y en donde encontramos grupos funcionales que no existen en ninguna otra fuente natural (Maschek & Baker 2008). Es por esta razón, que a partir de la década de 1970 surgió un gran interés por la búsqueda de productos naturales de origen macroalgal, seguido por el descubrimiento de nuevas moléculas (Faulkner 2000) que hasta 2012 acumularon un total de 3.129 compuestos; de estos un 53% provienen de rodofitas, 39% de feofitas y 8% de clorofitas (Leal *et al.* 2013).

Las macroalgas generan compuestos con capacidad antibacteriana, los que han sido identificados a partir de la caracterización de extractos obtenidos por diferentes metodologías (Kandhasamy & Arunachalam 2008, Chiheb *et al.* 2009, Karthikaidevi *et al.* 2009, Vallinayagam *et al.* 2009, Villarreal-Gómez *et al.* 2010, Lavanya & Veerappan 2011, Adaikalaraj *et al.* 2012, Tan *et al.* 2012, Elnabris *et al.* 2013). En este sentido, el método más frecuente y tradicional para la determinación de capacidad antibacteriana es el ensayo de discos por difusión en placa, el cual presenta limitaciones cuando la actividad

encontrada es relativamente baja. No obstante, la bioautografía permite detectar la actividad antimicrobiana que resulta compleja de observar con el ensayo tradicional (Tan *et al.* 2012). En relación a la identificación de compuestos, la cromatografía de gases acoplada a un detector de espectros de masas es presentada como una herramienta confiable (Meléndez *et al.* 2008, Plaza *et al.* 2010).

En Chile continental (entre 18° y 55°S) han sido identificadas 444 especies macroalgales (Ramírez & Santelices 1991). Esta importante riqueza de macroalgas favorece el interés por estudiar a estos organismos en la búsqueda de nuevos compuestos y aplicaciones, como por ejemplo el desarrollo de biomateriales funcionales u otras aplicaciones biotecnológicas. El objetivo de esta investigación fue identificar compuestos con capacidad antibacteriana a partir de macroalgas ampliamente distribuidas en las costas chilenas, particularmente en la Región del Biobío, tales como: *Gracilaria chilensis* C.J.Bird, McLachlan & E.C.Oliveira, *Durvillaea antarctica* (Chamisso) Hariot, *Macrocystis pyrifera* (Linnaeus) C.Agardh, *Lessonia spicata* (Suhr) Santelices, *Ulva rigida* C.Agardh y *Ulva lactuca* Linnaeus, para potenciales aplicaciones biotecnológicas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### RECOLECCIÓN DE MACROALGAS

Las macroalgas fueron recolectadas desde 3 praderas naturales ubicadas en la Provincia de Concepción, Región del Biobío, Chile. Se obtuvo *Gracilaria chilensis* desde Caleta Lengua (36°45'S; 73°10'O); *Lessonia spicata*, *Durvillaea antarctica* y *Macrocystis pyrifera* desde Caleta Chome (36°46'S; 73°12'O); y el Complejo *Ulva* (compuesto por *U. rigida* y *U. lactuca*, en proporciones no determinadas) desde Caleta Cocholgüe (36°35'S; 72°58'O). Las muestras frescas fueron almacenadas en bolsas plásticas y transportadas a una temperatura de  $10 \pm 1^\circ\text{C}$ . Luego, fueron lavadas con agua potable para la remoción de sales, arena y epífitos. Posteriormente, fueron congeladas por 24 h a  $-20 \pm 1^\circ\text{C}$  y secadas al vacío en un liofilizador (OPERON modelo FDU-7006) por un periodo de 72 h a  $-80 \pm 0,2^\circ\text{C}$ . Luego, fueron trituradas y tamizadas a un tamaño de partícula entre 212 a 500  $\mu\text{m}$  y almacenadas en bolsas plásticas al vacío a una temperatura de  $-20^\circ\text{C}$  hasta su posterior uso.

### OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Los extractos fueron obtenidos desde  $5,0 \pm 0,1$  g de macroalga seca y 100 mL de solvente, obteniendo una relación biomasa:solvente de 1:20 ( $\text{p v}^{-1}$ ), en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Los solventes empleados, en un gradiente de polaridad, fueron: agua desionizada (di Water), metanol, etanol, acetona, acetato de etilo, diclorometano y n-hexano. Luego, fueron dispuestos en una incubadora con agitación orbital (JSR modelo JSSI-100C) por 4 h a una velocidad de agitación de 150 rpm, en oscuridad a una temperatura de  $30 \pm 0,1^\circ\text{C}$ . Después, los extractos fueron centrifugados a 4.000 rpm  $\times$  10 min en una centrífuga (Hettich modelo Rotofix 32 A) y filtrados al vacío a través de papel Whatman N°1. La fracción líquida fue concentrada en un evaporador orbital paralelo (Büchi modelo Multivapor P-12). Posteriormente, los extractos concentrados fueron almacenados a  $-20^\circ\text{C}$ .

### DISCOS DE DIFUSIÓN EN PLACA

La evaluación fue realizada en triplicado, por medio de discos de difusión sobre placas Petri con agar Müeller-Hinton (MHA) inoculadas con cultivos de *Escherichia coli* K12 y *Pseudomonas aeruginosa* PA01. Se emplearon discos de papel tipo Whatman N°3, estériles, de 5 mm de diámetro con 30  $\mu\text{L}$  del extracto concentrado, discos de

gentamicina de 10  $\mu\text{g}$  como control positivo y discos con cada uno de los solventes puros como blancos. Las placas fueron incubadas por 18 h a  $35^\circ\text{C}$ , para medir los halos de inhibición obtenidos.

### BIOAUTOGRAFÍA PARA DETECCIÓN DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Previo a la bioautografía fue realizada una separación de los compuestos presentes en los extractos obtenidos mediante una cromatografía en capa fina o TLC (*Thin Layer Chromatography*). Alícuotas de 30  $\mu\text{L}$  fueron sembradas por cada extracto concentrado en placas de aluminio estériles cubiertas de silica gel Si60 F254 (Merck) de  $2,5 \times 7$  cm como fase estacionaria y una solución de diclorometano:metanol 10:1 ( $\text{v v}^{-1}$ ) como fase móvil. A continuación, fue ejecutada la técnica de bioautografía, basado en el método de Smith *et al.* (2007) con modificaciones realizadas por Tan *et al.* (2012) para la detección de la actividad antibacteriana de extractos macroalgales. Las cepas bacterianas ensayadas fueron; Gram negativas; *E. coli* K12, *P. aeruginosa* PA01 y *Pseudomonas syringae* DC3000; y Gram positiva: *Streptococcus pyogenes* HU08. Los análisis fueron realizados cualitativamente, en función de halos de inhibición de crecimiento bacteriano alrededor de los compuestos separados por TLC.

### IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTO CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Los extractos fueron analizados usando un cromatógrafo de gases Hewlett Packard serie II 5890 (GC), acoplado a un detector selectivo de masas Hewlett Packard serie 5972 (MS) (GC-MS). Las temperaturas de la línea de transferencia y de la fuente de iones fueron 280 y  $129^\circ\text{C}$  respectivamente. Se utilizó una columna capilar (Agilent 190915-433) de 0,25 mm de diámetro  $\times$  30 m de largo  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$  de capilaridad nominal. La temperatura inicial de la columna fue mantenida a  $70^\circ\text{C}$  por 3 min, con una rampa de  $5^\circ\text{C}$  por min hasta  $250^\circ\text{C}$  por 5 min. Se seleccionó el modo de inyección *splitless* con un desfase de solvente de 5 min. El sistema (GC-MS) fue controlado por medio del software MS ChemStation G1034C v. C.01.05. Finalmente, los compuestos fueron identificados tentativamente por espectrometría de masa usando un intervalo de índice  $m/z$  entre 50 y 450. Los espectros fueron comparados con las bases de datos, del software Agilent® MSD ChemStation y con los encontrados en MassBank (Horai *et al.* 2010).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### DISCOS DE DIFUSIÓN EN PLACA

Se observó actividad inhibitoria del crecimiento para las 2 cepas bacterianas bajo estudio (Tabla 1) siendo *E. coli* (K12) más susceptible a los tratamientos que *Pseudomonas aeruginosa* (PA01), estos resultados son consistentes con investigaciones que han utilizado extractos macroalgales contra las mismas cepas bacterianas (Karthikaidevi *et al.* 2009, Vallinayagam *et al.* 2009, Villarreal-Gómez *et al.* 2010, Lavanya & Veerappan 2011, Adaikalaraj *et al.* 2012, Elnabris *et al.* 2013). El Complejo *Ulva* generó inhibición del crecimiento bacteriano, concordante con lo reportado por Ravikumar *et al.* (2002) y por Chiheb *et al.* (2009), *Macrocystis pyrifera* y *Gracilaria chilensis*, esta última generó inhibición sólo para *P. aeruginosa* (PA01) con un débil efecto promedio menor a 5 mm. Los resultados obtenidos del extracto acuoso y metanólico de *G. chilensis* concuerdan con el reportado por Adaikalaraj *et al.* (2012) que evaluaron la capacidad antibacteriana de *Gracilaria verrucosa* y *G. ferugosoni* contra *P. aeruginosa* y *E. coli*, sin embargo, obtuvieron mayor actividad que el presente estudio, probablemente debido al proceso de extracción Soxhlet de 8 h a temperatura por debajo del punto de ebullición de los solventes empleados, pero principalmente por trabajar con otras especies del género *Gracilaria*. Finalmente, los solventes puros empleados como blancos no presentaron actividad inhibitoria aparente y los controles positivos con gentamicina (10 µg) fueron efectivos en todos los casos, con un halo de inhibición promedio de  $16,4 \pm 1,8$  mm.

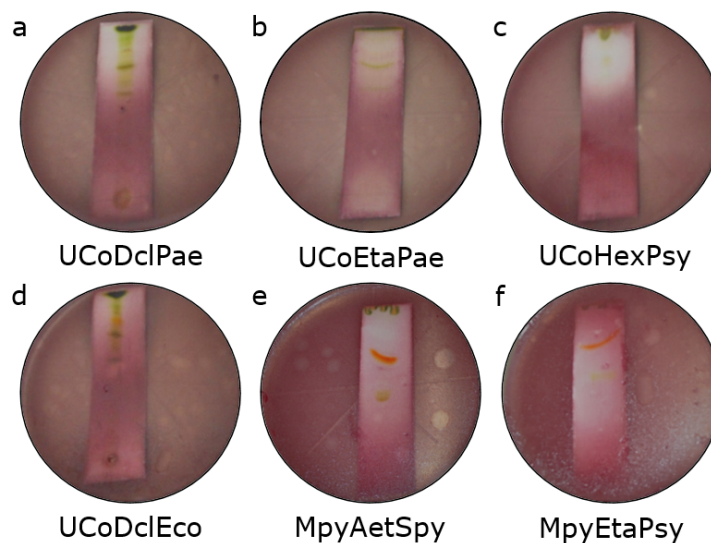
### DETECCIÓN DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA POR BIOAUTOGRAFÍA

La separación por TLC de los compuestos presentes en los extractos crudos elimina los efectos antagonistas de los compuestos inactivos presentes en la mezcla (Tan *et al.* 2012), por lo tanto, la bioautografía fue el método más adecuado para determinar de la actividad antibacteriana en comparación al ensayo de discos de difusión estándar. Los extractos del Complejo *Ulva*, mostraron una fuerte actividad antibacteriana en las muestras extraídas con diclorometano y etanol contra *P. aeruginosa* (Fig. 1a, b), n-hexano para *P. syringae* (Fig. 1c) y *E. coli* (Fig. 1d). En general, la cepa bacteriana más susceptible a todos los extractos del Complejo *Ulva*, fue *P. aeruginosa*. Esta actividad detectada difiere con la reportada por Tan *et al.* (2012) quien utilizó extractos de n-hexano, cloroformo, acetato de etilo, diclorometano, acetona, etanol, metanol y agua a partir de *Ulva lactuca*, recolectada en Irlanda, contra diferentes cepas bacterianas, donde ningún extracto mostró actividad inhibitoria contra *P. aeruginosa* PA01 y *E. coli*. Estas diferencias entre un trabajo y otro podría explicarse en función de la metodología de extracción empleada tal como lo mencionan Kandhasamy & Arunachalam (2008) y Lavanya & Veerappan (2011), además pueden ser explicados por diferencias en factores bióticos y abióticos propios de la zona de muestreo, así como también el estado fisiológico del organismo (Figueiredo *et al.* 2008, Adaikalaraj *et al.* 2012). Los extractos de *M. pyrifera*, generaron actividad antibacteriana contra las cepas *E. coli*, *P. aeruginosa* e inhibiciones específica de los extractos; acetato de etilo contra *S. pyogenes* (Fig. 1e) y etanol contra *P. syringae* (Fig. 1f). Estos resultado ratifica lo reportado

**Tabla 1. Inhibición bacteriana por ensayos de discos de difusión con extractos macroalgales crudos contra *E. coli* y *P. aeruginosa* / Bacterial inhibition by disc diffusion assay of crude seaweed extracts against *E. coli* and *P. aeruginosa* strains**

| Solvente | <i>Escherichia coli</i> (K12) |     |     |     |     |     | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PA01) |     |     |     |     |     |
|----------|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|--------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|          | UCo                           | Mpy | Gch | Lsp | Dan | GM  | UCo                                  | Mpy | Gch | Lsp | Dan | GM  |
| di Water | +                             | -   | -*  | -   | -   | +++ | -                                    | -   | -*  | -   | -   | +++ |
| Metanol  | ++                            | -   | -*  | -   | -   | +++ | -                                    | -   | -*  | -   | -   | ++  |
| Etanol   | -                             | +   | +   | -   | -   | +++ | -                                    | -   | -   | -   | -   | ++  |
| n-Hexano | ++                            | +   | -   | -   | -   | +++ | -                                    | -   | -*  | -   | -   | ++  |

UCo: Complejo *Ulva*; Mpy: *M. pyrifera*; Gch: *G. chilensis*; Lsp: *L. spicata*; Dan: *D. antarctica*; GM: Gentamicina (10 µg); (-) no inhibe, (+) inhibición 5-10 mm, (++) inhibición 10-15 mm, y (+++) inhibición mayor a 15 mm. \*algunas réplicas presentaron inhibición, pero el promedio resultó menor a 5 mm (n=3)



**Figura 1. a-f) Bioautografías de extractos macroalgales contra cepas bacterianas. UCo: Complejo *Ulva*; Mpy: *M. pyrifera*; Dcl: diclorometano; Eta: etanol; Hex: n-Hexano; Aet: acetato de etilo; Pae: *P. aeruginosa*; Eco: *E. coli*; Spy: *S. pyogenes* y Psy: *P. syringae* / a-f) Bioautography of seaweed extracts against bacterial strains. UCo: *Ulva* Complex.; Mpy: *M. pyrifera*; Dcl: dichloromethane; Eta: ethanol; Hex: n-Hexane; Aet: ethyl acetate; Pae: *P. aeruginosa*; Eco: *E. coli*; Spy: *S. pyogenes* and Psy: *P. syringae***

por Jiménez *et al.* (2011) quien detectó la inhibición del crecimiento de *P. syringae* empleando el extracto etanólico de *M. pyrifera* (reportado por Jiménez como *Macrocystis integrifolia*) y además sugieren la necesidad de verificar el espectro de acción antibacteriana de *M. pyrifera* dada su capacidad inhibitoria sobre la cepa Gram positivas. En el Complejo *Ulva*, y en orden decreciente los solventes que presentaron actividad antibacteriana contra las 3 especies Gram negativas fueron; n-hexano, diclorometano y etanol, respectivamente, para *M. pyrifera* no se apreciaron diferencias entre los solventes utilizados con inhibición bacteriana. Los resultados revelan que existen diferencias en la actividad antibacteriana, la cual es dependiente del patógeno, del solvente de extracción y de la especie macroalgal. Las diferencias entre macroalgas pueden estar influenciadas por variados factores como el hábitat, la fecha de recolección, diferentes estados de desarrollo del alga, método experimental, etc. (Figueiredo *et al.* 2008, Adaikalaraj *et al.* 2012). Finalmente la bioautografía resulto ser una técnica sencilla y rápida para detectar la bioactividad de un extracto natural, ya que combina las ventajas del ensayo de discos de difusión en placa con una TLC, la que posteriormente puede ser purificada para caracterizar e identificar compuestos.

#### COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IDENTIFICADOS

Comprobada la actividad antibacteriana por bioautografía, se procedió a la caracterización química de moléculas a través de GC-MS, con el objetivo de identificar compuestos con actividad antibacteriana. En todos los extractos del Complejo *Ulva* fue detectada la presencia de Fitol 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadeceno-1-ol (Fig. 2a), molécula con reconocidas propiedades antibacterianas y que además se le ha atribuido propiedades antimicóticas y/o antivirales (Plaza *et al.* 2010, Santoyo *et al.* 2012, Jeyadevi *et al.* 2013). En los extractos crudos de acetato de etilo del Complejo *Ulva*, se observó la presencia, de 6-Metil-2-fenilquinolina (Fig. 2b) descrita también como molécula antimicrobiana por Meléndez *et al.* (2008). En los extractos de acetato de etilo y diclorometano del Complejo *Ulva* y *M. pyrifera* fue detectada la molécula Neofitadieno (Fig. 2c) identificada como compuesto antimicrobiano y antiviral (Santoyo *et al.* 2012, Jeyadevi *et al.* 2013). Además, fueron identificadas cadenas alifáticas insaturadas de 16 a 43 carbonos (C); hexadecano (C16), heptadecano (C17), octadecano (C18), nonadecano (C19), eicosano (C20), ácido palmítico y ácido  $\alpha$ -linolénico metil ester, tanto en los extractos del Complejo *Ulva*, como en *M. pyrifera*, compuestos que según Plaza *et al.* (2010), usualmente se les atribuyen actividades antibacterianas.

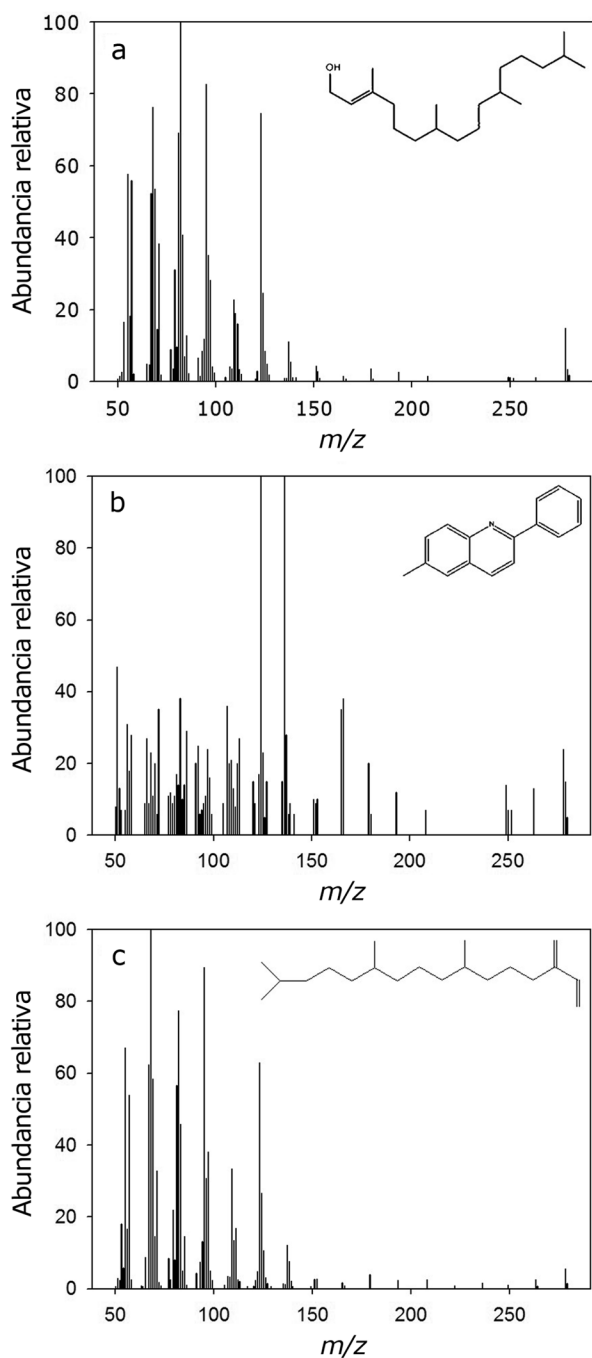


Figura 2. Espectros de masas y estructuras químicas identificadas en los extractos algales. a) molécula antibacteriana Fitol (3,7,11,15-tetrametil-2-hexadeceno-1-ol), b) molécula antimicrobiana 6-Metil-2-fenilquinolina, c) molécula antimicrobiana Neofitadieno / Chromatographic spectrograms and chemical structures identified in the seaweed extracts. a) antibacterial molecule Phytol (3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadeceno-1-ol), b) antimicrobial molecule 6-Methyl-2-phenylquinoline, c) antimicrobial molecule Neophytadiene

La caracterización química permitió identificar compuestos con capacidad antimicrobiana, particularmente antibacterianos, en los extractos de *M. pyrifera* y del Complejo *Ulva*. Estos resultados respaldan el potencial uso de estas macroalgas para el desarrollo de biomateriales funcionales, ya sea, a través de la inclusión de sus extractos bioactivos como de su biomasa con fines estructurales y funcionales, para múltiples productos u otras aplicaciones biotecnológicas. Además, estas macroalgas presentan características distintivas con respecto a otras especies, como por ejemplo: abundante biomasa, no son utilizadas como fuente de alimentos (al menos *Ulva* sp.), están ampliamente distribuidas en nuestras costas, en ocasiones son consideradas desechos por lo que posee bajo precio y además pueden ser cultivadas.

#### AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por la Comisión Nacional de Investigación, Ciencia y Tecnología (CONICYT) del Gobierno de Chile, a través de los Proyectos D10I1158 y D11I1226 del Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDEF). Agradecemos a las empresas coejecutoras; Terra Natur S.A., Fame y Cía. Ltda., Proyectos Plásticos EIRL, Plásticos Besalle, Innocon S.A. e Indugras S.A. Al Laboratorio de Biopelículas y Microbiología Ambiental del Centro de Biotecnología de la Universidad de Concepción (CB-UdeC) por facilitar las cepas bacterianas empleadas. Al Laboratorio de Recursos Renovables del CB-UdeC por facilitar el uso de equipamiento analítico. Finalmente agradecemos al equipo del Grupo Interdisciplinario en Biotecnología Marina (GIBMAR), especialmente al Profesor Krisler Alveal Villena.

#### LITERATURA CITADA

- Adaikalaraj G, M Johnson, DP Raja, N Janakiraman & A Badu. 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.
- Chiheb I, H Riadi, J Martínez-López, JF Domínguez-Seglar, JA Gómez-Vidal, H Bouziane & M Kadiri. 2009. Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology* 8(7): 1258-1262.
- El nabris KJ, AA Elmanama & WN Chihadeh. 2013. Antibacterial activity of four marine seaweeds collected from the coast of Gaza Strip, Palestine. *Mesopotamian*

- Journal of Marine Science 28(1): 81-92.
- Faulkner DJ. 2000.** Highlights of marine natural products chemistry (1972-1999). *Natural Products Reports* 17(1): 1-6.
- Figueiredo AC, JG Barroso, LG Pedro, JJC Scheffer. 2008.** Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 23(4): 213-226.
- Horai H, M Arita, S Kanaya, Y Nihei, T Ikeda, K Suwa, Y Ojima, K Tanaka, S Tanaka, K Aoshima, Y Oda, Y Kakazu, M Kusano, T Tohge, F Matsuda, Y Sawada, MY Hirai, H Nakanishi, K Ikeda, N Akimoto, T Maoka, H Takahashi, T Ara, N Sakurai, H Suzuki, D Shibata, S Neumann, T Iida, K Tanaka, K Funatsu, F Matsuura, T Soga, R Taguchi, K Saito & T Nishioka. 2010.** MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences. *Journal of Mass Spectrometry* 45: 703-714.
- Jeyadevi R, T Sivasudha, A Ilavarasi & N Thajuddin. 2012.** Chemical constituents and antimicrobial activity of Indian green leafy vegetable *Cardiospermum halicacabum*. *Indian Journal of Microbiology* 53: 208-213.
- Jiménez E, H Peña-Cortés, F Dorta, C Medina, A Ramírez & I Ramírez. 2011.** Anti-phytopathogenic activities of macro-algae extracts. *Marine Drugs* 9: 739-756.
- Kandhasamy M & KD Arunachalam. 2008.** Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweed of southeast coast of India. *African Journal of Biotechnology* 7(12): 1958-1961.
- Karthikaidevi G, P Anantharaman, K Manivannan, G Thirumaran & T Balasubramanian. 2009.** Antibacterial properties of selected green seaweeds from Vedalai coastal waters; Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve. *Global Journal of Pharmacology* 3(2): 107-112.
- Lavanya R & N Veerappan. 2011.** Antibacterial potential of six seaweeds collected from Gulf of Mannar of Southeast coast of India. *Advances in Biological Research* 5(1): 38-44.
- Leal M, M Munro, J Blunt, J Puga, B Jesús, R Calado, R Rosa & C Madeira. 2013.** Biogeography and biodiscovery hotspots of macroalgal marine natural products. *Natural Product Reports* 30(11): 1380-1390.
- Maschek JA & BJ Baker. 2008.** The chemistry of algal secondary metabolism. In: Amsler CD (ed). *Algal chemical ecology*, pp. 1-24. Springer-Verlag, Berlin.
- Meléndez CM, VV Kouznetsov, MA Sortino, SL Álvarez & SA Zacchino. 2008.** *In vitro* antifungal activity of polyfunctionalized 2-(hetero) arylquinolines prepared through imino Diels-Alder reactions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 16: 7908-7920.
- Plaza M, E Ibáñez, S Santoyo, L Jaime, G García-Blairsy Reina, M Herrero & FJ Señoráns. 2010.** Screening for bioactive compounds from algae. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 51: 450-455.
- Ramírez ME & B Santelices. 1991.** Catálogo de algas marinas bentónicas de la costa del pacífico temperado de Sudamérica. *Monografías Biológicas* 5: 1-437. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile.
- Ravikumar S, L Anburajan, G Ramanathan & N Kaliaperumal. 2002.** Screening of seaweed extracts against antibiotic resistant post-operative infectious pathogens. *Seaweed Research Utilisation* 24(1): 95-99.
- Rindi F, A Soler-Villa & MD Guiry. 2012.** Taxonomy of marine macroalgae used as sources of bioactive compounds. In: Hayes M (ed). *Marine bioactive compounds*, pp. 1-53. Springer, New York.
- Santoyo S, L Jaime, M Plaza, M Herrero, I Rodríguez-Meizoso, E Ibáñez & G Reglero. 2011.** Antiviral compounds obtained from microalgae commonly used as carotenoid sources. *Journal of Applied Phycology* 24: 731-741.
- Smith JE, D Tucker, K Watson & GL Jones. 2007.** Identification of antibacterial constituents from the indigenous Australian medicinal plant *Eremophila duttonii* F. Muell. (*Myoporaceae*). *Journal of Ethnopharmacology* 112: 386-393.
- Tan SP, L O'Sullivan, M Prieto, G Gardiner, P Lawlor, F Leonard, P Duggan, P McLoughlin & H Hughes. 2012.** Extraction and bioautographic-guided separation of antibacterial compounds from *Ulva lactuca*. *Journal of Applied Phycology* 24: 513-523.
- Vallinayagam K, P Anantharaman, R Arumugam, RRR Kannan & G Thirumaran. 2009.** Antibacterial activity of some selected seaweed from Pudumadam coastal regions. *Global Journal of Pharmacology* 3(1): 50-52.
- Villarreal-Gómez LJ, IE Soria-Mercado, G Guerra-Rivas & NE Ayala-Sánchez. 2010.** Antibacterial and anticancer activity of seaweeds and bacterial associated with their surface. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 45(2): 267-275.

Recibido el 16 de mayo de 2014 y aceptado el 9 de diciembre de 2014

Editor Asociado: Loretto Contreras Porcia