



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS**



**VARIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD
BIOLÓGICA DEL ALGA CAFÉ *Sargassum horridum* (SETCHELL & N.
L. GARDNER, 1924) DE LA BAHÍA DE LA PAZ, B.C.S., MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

DANIA ANDREA DI FILIPPO HERRERA

LA PAZ, B.C.S. JUNIO DEL 2014



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 8 del mes de Mayo del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"VARIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL ALGA CAFÉ
Sargassum horridum (SETCHELL & N. L. GARDNER, 1924) DE LA BAHÍA DE LA PAZ, B.C.S., MÉXICO"

Presentada por el alumno:

DI FILIPPO

HERRERA

DANIA ANDREA

Apellido paterno

materno

nombre(s)

Con registro:

B	1	2	0	7	5	3
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

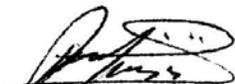
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

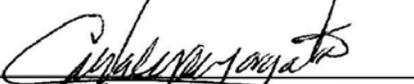
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis


DR. GUSTAVO HERNÁNDEZ CARMONA
Director de Tesis


DR. MAURICIO MUÑOZ OCHOA
2º. Director de Tesis


DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ


DR. SERGIO FRANCISCO MARTÍNEZ DÍAZ


DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



IPN
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 28 del mes Mayo del año 2014
el (la) que suscribe BIÓL. DANIA ANDREA DI FILIPPO HERRERA alumno(a) del
Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS
con número de registro B120753 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:
DR. GUSTAVO HERNÁNDEZ CARMONA Y DR. MAURICIO MUÑOZ OCHOA
y cede los derechos del trabajo titulado:

"VARIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL ALGA CAFÉ
Sargassum horridum (STECHELL & N.L. GARDNER, 1924) DE LA BAHÍA DE LA PAZ, B.C.S., MÉXICO"
al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: dafnia07@gmail.com - gcarmona@ipn.mx - mmunozo@ipn.mx
Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BIÓL. DANIA ANDREA DI FILIPPO HERRERA

nombre y firma

A mi familia, especialmente a mi padre.

Tú fuiste, has sido y seguirás siendo mi ejemplo a seguir. Estudiante insaciable que me inculcó desde niña la curiosidad por las cosas y la importancia del aprendizaje en la lectura y la investigación.

AGRADECIMIENTOS

#

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo al proyecto que me permitió desarrollar esta investigación y por la beca otorgada durante mi maestría.

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN)-Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR), por proponerme con candidatura a las becas y proporcionarme un espacio en el laboratorio de Química de Algas.

Al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI), por la beca otorgada durante mi participación en los proyectos de investigación.

Al grupo de Laboratorio de Química de Algas Marinas, por los conocimientos teóricos y prácticos enseñados y el apoyo en la realización de la presente investigación. Especialmente a mis maestras de laboratorio, MC. Dora Luz Arvizu Higuera y MC. Yoloxochitl Elizabeth Rodríguez Montesinos.

A mis directores de tesis: Dr. Gustavo Hernández Carmona y Dr. Mauricio Muñoz Ochoa, por ser unos verdaderos maestros y brindarme su apoyo incondicional tanto en mi formación profesional como personal.

A mis amigos cercanos, que me apoyaron y criticaron constructivamente mi trabajo cuando fue necesario. Especialmente a Valeria Villegas y a Juan Sebastián Ponce Bastidas.

ÍNDICE GENERAL

Lista de Figuras	ii
Lista de Tablas	vi
Glosario	vii
Abreviaturas	x
1. Resumen	1
2. Abstract	2
3. Introducción	3
4. Antecedentes	6
5. Justificación	18
6. Hipótesis	19
7. Área de estudio	19
8. Objetivos	20
9. Materiales y métodos	21
10. Resultados	28
11. Discusión	56
12. Conclusiones	71
13. Recomendaciones	73
14. Bibliografía	73
15. Anexos	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.1	Localización de mantos de <i>Sargassum</i> y ☆ zona de recolección de muestras en La Bahía de La Paz, B.C.S. (Hernández-Carmona <i>et al.</i> , 1990a).	4
Fig.2	Morfología de <i>Sargassum horridum</i> . Tomado de Méndez-Trejo (2013).	5
Fig.3	Esquema de las reacciones enzimáticas en cascada que conducen a la formación de fibrina. Tomado de Muñoz-Ochoa (2006).	14
Fig.4	Alginatos extraídos de <i>S. horridum</i> . Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.	30
Fig.5	Viscosidad (mPa s) del alginato extraído de <i>S. horridum</i> . Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.	31
Fig.6	Fuerza de gel (g cm^{-2}) del alginato extraído de <i>S. horridum</i> . Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.	32
Fig.7	Correlación lineal viscosidad-fuerza de gel del alginato en a. Agua de Yepis, b. El Sauzoso y c. Tarabilla. ● Viscosidad, ■ Fuerza de gel.	33
Fig.8	Fucoidan extraído de <i>S. horridum</i> . Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.	34
Fig.9	Contenido de azúcares totales presentes en el fucoidan. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.	35
Fig.10	Contenido de fucosa presente en el fucoidan. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.	36

- Fig.11 Contenido de ácidos urónicos presentes en el fucoidan. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio. 37
- Fig.12 Espectro de Infrarrojo (IR) del fucoidan de *S. horridum* de abril en la Bahía de La Paz, B.C.S en 2013. Longitud de onda (cm^{-1}) vs Porcentaje de transmitancia (%T) de los grupos funcionales característicos del fucoidan. 38
- Fig.13 Espectro de Infrarrojo (IR) del fucoidan de *S. horridum* de abril-septiembre de la Bahía de La Paz, B.C.S. Longitud de onda (cm^{-1}) vs Porcentaje de transmitancia (%T) de los grupos funcionales característicos del fucoidan. 39
- Fig.14 Tiempos de coagulación en el ensayo TP, utilizando fucoidan obtenido de *S. horridum* como reactivo anticoagulante. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio. 40
- Fig.15 Concentración de fucoidan de *S. horridum* utilizado como reactivo anticoagulante en el ensayo TTPa. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio. 41
- Fig.16 Variación mensual del extracto etanólico extraído de *S. horridum*. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio. 42
- Fig.17 Actividad secuestrante en función de la reducción del reactivo DPPH (%) del extracto etanólico extraído de *S. horridum*. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio. 43
- Fig.18 Variación mensual de la talla promedio de *S. horridum* en la Bahía de La Paz, B.C.S: ● Agua de Yepis, ■ El Sauzoso y ΔTarabillas. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio. 44

- Fig.19 Correlación de la talla (cm) y rendimiento de alginatos de *S. horridum*: a. talla-alginato en Agua de Yepis (A.Y). b. talla-alginato en El Sauzoso (S). c. talla alginato en Tarabilla (T) ● Rendimiento. 46
- Fig.20 Correlación de la talla (cm) y rendimiento de fucoidan de *S. horridum*: a. talla-fucoidan en A.Y. b. talla-fucoidan en S. c. talla-fucoidan en T ● Rendimiento. 47
- Fig.21 Correlación de la talla (cm) y el rendimiento del extracto etanólico de *S. horridum*: a. talla-rendimiento en A.Y. b. talla-rendimiento en S. c. talla-rendimiento en T. ● Rendimiento. 48
- Fig.22 Variación mensual del contenido de amonio, nitritos, nitratos y ortofosfatos (μM) en Agua de Yepis, Bahía de La Paz, B.C.S., en el año 2013 (marzo-noviembre). Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio. 49
- Fig.23 Correlación nutrientes-rendimiento de alginato (A) a. amonio-A y nitritos-A. c. nitratos-A. d. ortofostafos-A. ● Rendimiento (%), ■ Nutriente (μM). 51
- Fig.24 Correlación nutrientes-rendimiento de fucoidan (F) a. amonio-F. b. nitritos-F. c. nitratos-F. d. ortofostafos-F. ● Rendimiento (%), ■ Nutriente (μM). 52
- Fig.25 Correlación nutrientes-rendimiento del extracto etanólico (E.E). a. amonio-E.E. b. nitritos-E.E, c. nitratos-E.E. d. ortofosfatos-E.E. ● Rendimiento (%), ■ Nutriente (μM). 53
- Fig.26 Variación mensual de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) en Agua de Yepis, Bahía de La Paz, B. C. S. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio. 54

Fig.27 Correlación temperatura-nutrientes. a. temperatura-amonio, b. temperatura-nitritos, c. temperatura-nitratos y c. temperatura-ortofosfatos. ● Nutrientes (μM). 55

Fig.28 Correlación temperatura-rendimiento (alginato (A), fucoidan (F) y extracto etanólico (E.E)). a. temperatura-rendimiento (A), b. temperatura-rendimiento (F), c. temperatura-rendimiento (E.E) ● Rendimiento (%), ■ Temperatura ($^{\circ}\text{C}$). 56

ÍNDICE DE TABLAS

1	Composición química proximal de <i>S. horridum</i> recolectada en Agua de Yepis.	29
2	Relación grupo sulfato (SO ₄)-Carbohidratos (CHOH) del fucoidan.	39
3	Composición química de las principales algas cafés de la península de Baja California.	57
4	Comparación del rendimiento (%) de alginatos de <i>S. horridum</i> con el de otras algas.	59
5	Comparación del rendimiento (%) del fucoidan presente en otras algas marinas.	63
6	Intervalos de temperatura (°C) reportados para ambientes de <i>Sargassum spp.</i> , del Golfo de California y la costa del Océano Pacífico de Baja California (modificado de Sánchez-Rodríguez y Cervantes-Duarte, 1999).	70
7	Resultado del análisis de varianza. Efecto del mes de recolecta en la concentración de fucoidan, concentración de azúcares totales, fucosa y ácidos urónicos; extracto etanólico; alginatos y sus propiedades visco-elásticas, del <i>Sargassum horridum</i> recolectado en la Bahía de La Paz.	89
8	Resultado del análisis de varianza. Efecto de la bioactividad (actividad anticoagulante del fucoidan y antioxidante del extracto etanólico) del alga café <i>S. horridum</i> de la Bahía de La Paz.	90
9	Resultado del análisis de varianza. Efecto del mes de recolecta en el contenido de nutrientes y temperatura (°C) del agua de mar en Agua de Yepis 2013.	91

GLOSARIO

Actividad biológica: respuesta que se pueda generar en algún sistema biológico (Por ejemplo: antitumoral, hemolítico, aglutinante, antifúngico, antiviral, etc.).

Aldosterona: hormona esteroidea producida por la secreción externa de la corteza adrenal en la glándula suprarrenal, actúa en la conservación del sodio, secretando potasio e incrementando la presión sanguínea.

Alginatos: polisacárido (ficocoloides) compuesto por dos ácidos urónicos, el β -D-Manurónico (M) y el α -L-Gulurónico (G), presentes en la pared celular y las regiones intercelulares de las algas pardas.

Biomasa: cantidad de materia orgánica por unidad de área, en un nivel trófico, una población o un ecosistema.

Células VERO: células de mono verde.

Coagulación: desestabilización de las partículas coloidales causada por la adición de un reactivo químico llamado coagulante, el cual neutraliza sus cargas electrostáticas y hace que las partículas tiendan a unirse entre sí.

Espesante: sustancias que al agregarse a una mezcla, aumentan su viscosidad sin modificar sustancialmente sus otras propiedades como el sabor. Proveen cuerpo, aumentan la estabilidad y facilitan la formación de suspensiones.

Extracto: mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología.

Ficocoloides: Carbohidratos complejos derivados de las algas pardas y rojas que tienen la propiedad de formar coloides.

Forraje: alimento para animales preparado a base de plantas forrajeras.

Fucoidan: familia de polisacáridos conformados principalmente por L-fucosa, grupos éster sulfato y pequeñas cantidades de otros azúcares como galactosa, xilosa, manosa y ácidos urónicos.

Hipoaldosteronismo: déficit aislado de aldosterona, con una producción normal de cortisol. Dicha patología puede ocurrir por fallo, en alguno de los mecanismos implicados en el estímulo, la síntesis y/o secreción de aldosterona, con niveles consecuentemente bajos de la misma (hipoaldosteronismo); se presenta principalmente en pacientes con patología tubular renal, clínica de hipomineralocorticismo, pero con niveles normales o incluso incrementados de aldosterona plasmática, en cuyo caso hablamos de pseudohipoaldosteronismo.

Metabolitos: cualquier molécula producida por un organismo durante su metabolismo.

Metabolitos secundarios: compuesto químico producido por un organismo sin función aparente. No están involucrados en procesos primarios como la reproducción y el crecimiento. Dan ventaja competitiva frente a otros organismos.

Priapismo: enfermedad que causa intenso dolor, por la erección del pene de forma prolongada (sus cuerpos cavernosos) no retorna a su estado flácido por un tiempo prolongado (de más de tres o cuatro horas de duración). La erección es indeseada, persistente y no es causada por estimulación sexual o excitación.

Polisacáridos: biomoléculas formadas por la unión de una gran cantidad de monosacáridos. Se encuentran entre los glúcidos y cumplen funciones diversas, sobre todo de reservas energéticas y estructurales.

ABREVIATURAS

DPPH: siglas en inglés del radical libre estable; 2,2-diphenil-1-picrylhydrazil, utilizado para la medición de la actividad secuestrante de radicales libres (antioxidante).

EC₅₀: mínima cantidad de extracto necesaria para reducir el DPPH al 50%.

UFC: unidades formadoras de colonias bacterianas.

1. RESUMEN

El alga café *S. horridum* está ampliamente distribuida y presenta una gran biomasa en la Bahía de La Paz, que podría ser explotada comercialmente. El análisis químico proximal de *S. horridum* mostró los siguientes promedios anuales: humedad ($8.8\% \pm 0.6$), proteína cruda ($6.8\% \pm 1.1$), extracto etéreo ($0.3\% \pm 0.1$), fibra cruda ($7.6\% \pm 0.6$), cenizas ($34.7\% \pm 4.2$), carbohidratos ($50.6\% \pm 4.9$) y energía ($2,572.7 \text{ cal}\cdot\text{g}^{-1}$). Se encontraron variaciones significativas ($p < 0.05$) en el rendimiento de alginato, fucoidan y extracto etanólico. El máximo rendimiento del alginato (8.6%) se obtuvo en agosto. La viscosidad de los alginatos fue baja durante todos los meses, con el valor máximo en septiembre ($73 \text{ m Pa}\cdot\text{s}$). La máxima fuerza de gel se obtuvo en mayo con $1,906 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ y en el resto de los casos superó los $800 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$. El máximo rendimiento de fucoidan se obtuvo en mayo (6.8%) y el de extracto etanólico en septiembre (5.9%). La mayor capacidad antioxidante se obtuvo en julio (24.3%). Cuatro de los extractos etanólicos (22%) presentaron actividad antibacteriana contra tres especies del género *Vibrio* y *Staphylococcus aureus*. La caracterización parcial del fucoidan mostró que es un heterofucano, con actividad anticoagulante que superó en más de diez veces ($>300 \text{ s}$) el tiempo de coagulación con respecto al control en el ensayo de tiempo de tromboplastina parcial activada. Esta actividad se duplicó a una concentración de $0.83 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. La talla promedio de *S. horridum* durante el periodo de estudio varió de 6 a 136 cm. La concentración de nutrientes (nitritos, nitratos y ortofosfatos) presentó una correlación negativa con la temperatura. La mayoría de los componentes químicos del alga se incrementaron a medida que el alga aumentaba su talla y estuvieron correlacionados con los parámetros ambientales. Se propone la explotación sustentable de *S. horridum* al término de su periodo reproductivo (mayo-junio), cosechando el alga con un método que deje intacto el sujetador, para permitir la regeneración vegetativa a partir de esta estructura y favorecer la repoblación en la siguiente temporada.

2. ABSTRACT

The brown seaweed *S. horridum* is widely distributed and has a large biomass in the Bahía de La Paz, which could be commercially exploited. The chemical proximate analysis of *S. horridum* showed the following annual averages: moisture ($8.8\% \pm 0.6$), crude protein ($6.8\% \pm 1.1$), ether extract ($0.1 \pm 0.3\%$), crude fiber ($7.6\% \pm 0.6$), ash ($34.7\% \pm 4.2$), carbohydrates ($50.6\% \pm 4.9$) and energía ($2,572.7 \text{ cal}\cdot\text{g}^{-1}$). Significant variations ($p < 0.05$) were found in the alginate, fucoidan and ethanolic extract. The maximum yield of alginate (8.6 %) was obtained in August. The alginate viscosities were low during all months, with the maximum value in September (73 mPa s). The maximum gel strength was obtained in May with $1,906 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$ and in other cases exceeded the $800 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$. The maximum yield of fucoidan was obtained in May (6.8%) and the ethanolic extract in September (5.9%). The highest antioxidant capacity was obtained in July (24.3%). Four of the ethanol extracts (22%) had antibacterial activity against three species of the genus *Vibrio* and *Staphylococcus aureus*. Partial characterization showed that fucoidan is a heterofucan with anticoagulant activity that surpass more than ten times ($> 300 \text{ s}$) the clotting time compared with the control, in the activated partial thromboplastin time assay. This activity was duplicated at a concentration of $0.83 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The mean size of *S. horridum* during the studied period ranged from 6 to 136 cm. The concentration of nutrients (nitrates, nitrites and orthophosphates) showed a negative correlation with temperature. Most of the seaweed chemical components increased as the algae increased its height, which was correlated with the environmental parameters. We proposed the sustainable exploitation of *S. horridum* harvesting the seaweed at the end of the reproductive period (May-June), with a method that left intact the holdfast, in order to allow the vegetative regeneration from this structure and favor the repopulation for the next season.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 Bosques de *Sargassum* en la Bahía de La Paz, B.C.S., México

El género *Sargassum* C. Agardh comprende más de 400 especies distribuidas en aguas tropicales y templadas (Guiry & Guiry, 2014). Está clasificado en el reino Chromista, Phylum Heterokontophyta, Clase Phaeophyceae, Orden Fucales y Familia Sargassaceae (Adl *et al.*, 2005). En el Golfo de California sus mantos son considerados un recurso potencialmente explotable debido a su gran biomasa y cobertura ya que forman mantos que van desde unos metros hasta hectáreas. En el Golfo de California han sido identificados 22 mantos, con un área total de 194 hectáreas y una biomasa total de 18,901 ± 928 toneladas de peso húmedo (Hernández-Carmona *et al.*, 1990a, Fig. 1).

Se ha estimado una biomasa promedio de 18,901 toneladas (Hernández-Carmona *et al.*, 1990a; Casas-Valdez *et al.*, 1993; Muñetón-Gómez y Hernández-Carmona, 1993, Paul-Chávez, 2005 y Suarez-Castillo *et al.*, 2013). Esto convierte a las algas del género *Sargassum* en especies de gran importancia ecológica y económica. Sin embargo las investigaciones orientadas hacia el uso de *Sargassum* en la alimentación animal (Marín *et al.*, 2003; Casas-Valdez *et al.*, 2006a; 2006b), composición química y actividad biológica son escasos (Hernández-Carmona, 1985; Yabur *et al.*, 2007; Rodríguez-Montesinos *et al.*, 2008; Muñoz-Ochoa *et al.*, 2009; Muñoz-Ochoa *et al.*, 2010). Estudios previos sugieren que las especies del género *Sargassum* tienen un potencial farmacológico importante como fuente de compuestos bioactivos, como fucoïdan y el extracto etanólico, por lo que se justifica el estudio de las variaciones en sus principales componentes químicos.

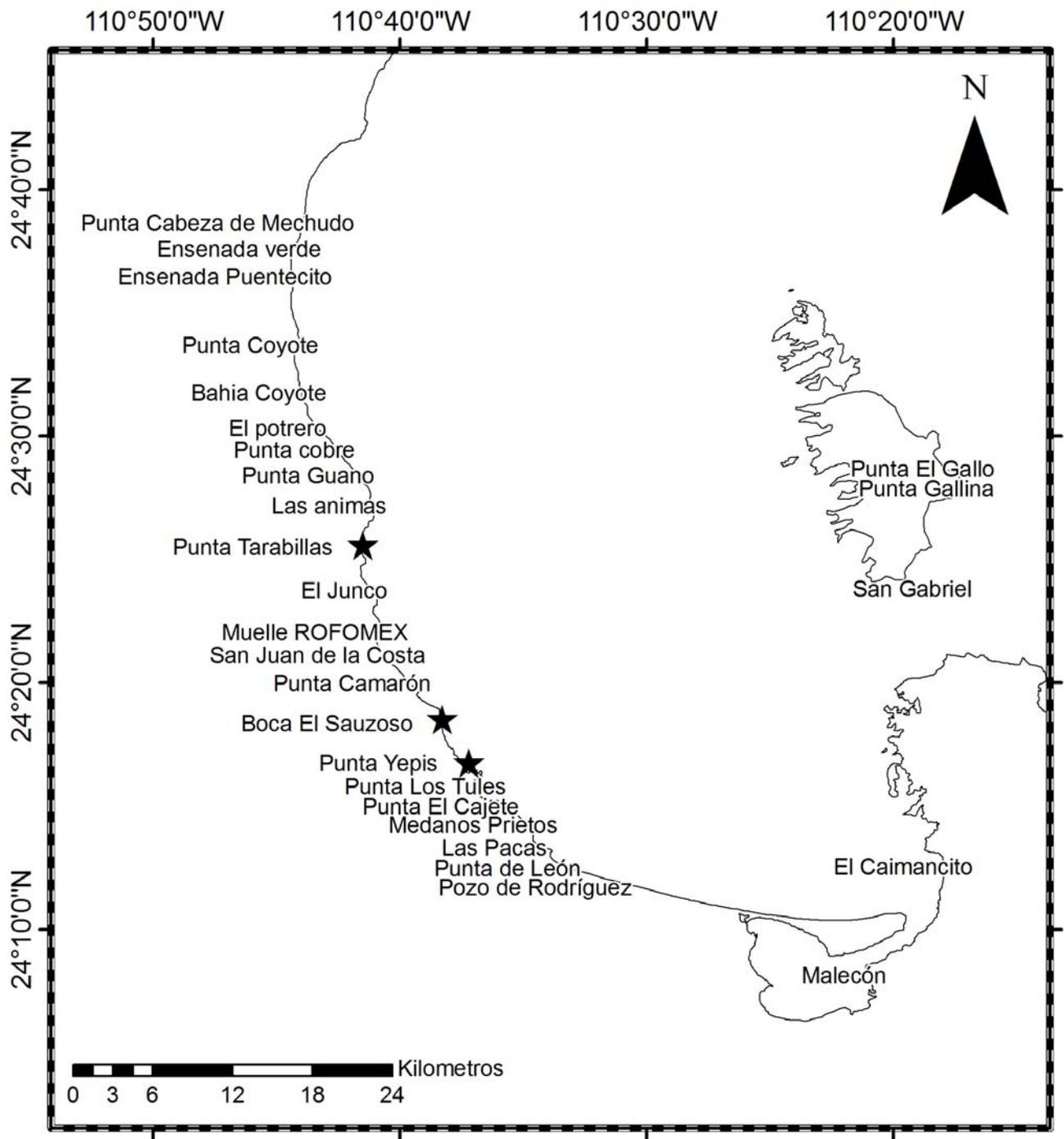


Figura 1. Localización de mantos de *Sargassum* y ☆ zona de recolección de muestras en La Bahía de La Paz, B.C.S. (Hernández-Carmona *et al.*, 1900a).

3.2 Morfología de *Sargassum*

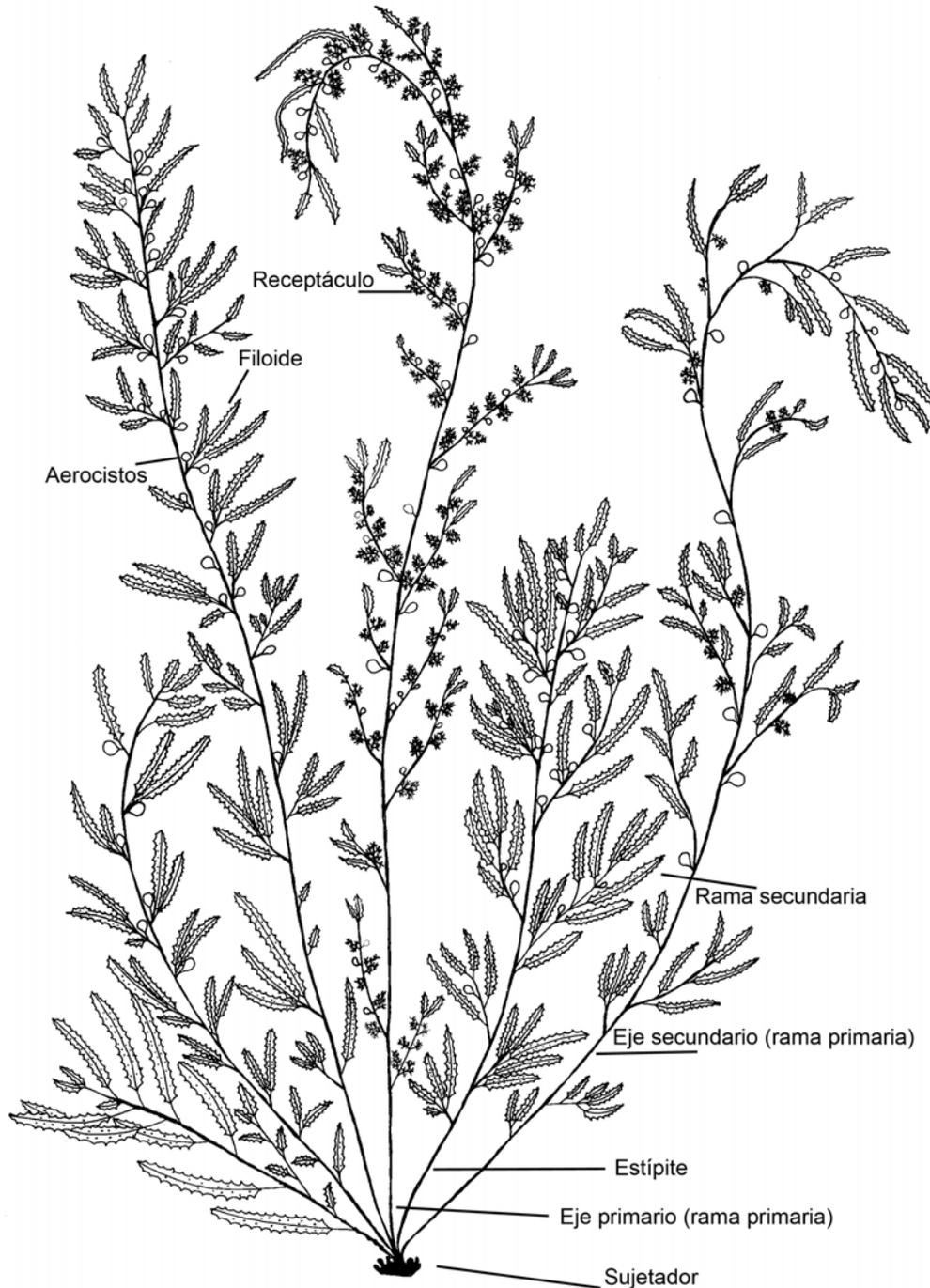


Figura 2. Morfología de *Sargassum horridum*. Tomado de Méndez-Trejo (2013).

Las especies de *Sargassum* se caracterizan además de su tono marrón, por poseer un sujetador discoidal o de tipo apteroideal, un estípite que funciona como una

estructura de sostén, análoga al tallo de una planta, múltiples ramas secundarias que emergen de otras primarias, vesículas gaseosas que utilizan para la flotación, y estructuras laminares en forma de hojas llamadas filoides (Méndez-Trejo, 2013; Fig. 2).

4. Antecedentes

4.1 Biomasa, crecimiento y fenología del género *Sargassum* en B.C.S.

Para Bahía Concepción, se han reportado 25 mantos cubriendo un área total de 212 hectáreas y una biomasa total de $7,251 \pm 530$ toneladas (Casas-Valdez *et al.*, 1993). En otro estudio, se describieron 22 mantos desde San Luis Gonzága, B.C.N a Santa Rosalía, B.C.S., con un área total de 1,113 hectáreas y una biomasa total de $154,559 \pm 16,139$ toneladas (Pacheco-Ruíz *et al.*, 1998), aunque la descripción de la metodología empleada no permite verificar la veracidad de esta estimación.

El crecimiento de *S. sinicola* (hoy en sinonimia de *S. horridum*, Paul-Chávez, 2005) fue determinado en la Bahía de La Paz, encontrando que los meses de máximo crecimiento son marzo-abril y los del mínimo mayo-agosto (Espinoza y Rodríguez, 1989).

Se estudió el crecimiento y la talla máxima de *S. horridum* en tres localidades de la Bahía de La Paz. Para San Juan de La Costa (Agua de Yepis) se reportó un máximo crecimiento en los meses de febrero y marzo; y una talla máxima promedio de 108 cm en el mes de marzo (Muñetón-Gómez y Hernández-Carmona, 1993).

La fenología y estacionalidad de las especies del género *Sargassum* fueron estudiadas en 1991 y 1992 en Bahía Concepción (Núñez-López y Casas-Valdez, 1996). Se identificaron ocho categorías correspondientes a cada uno de los estadios de desarrollo que presentó el género *Sargassum*: Plántulas (<10 cm); Juvenil (>10 cm) con ramas secundarias y aerocistos; Joven a: con receptáculos en desarrollo, en este estado la mayoría de las características morfológicas están bien definidas; Joven b: con receptáculos desarrollados; Madura: planta bien desarrollada, frondosa

y con alta densidad de receptáculos con conceptáculos y gametos completamente desarrollados; Senescente a: planta deteriorada (en fase inicial de envejecimiento); Senescente b: planta sumamente deteriorada constituida básicamente por estipes y ramas primarias, sin filóides ni aerocistos y Senescente c: vestigio de *Sargassum* representado básicamente por estructuras de fijación y estipes, sin ramas primarias. A partir de estos rizoides, se regenera la mayor parte de la población y una pequeña parte proviene de reproducción sexual (Paul-Chávez, 2005).

4.2 Alternativas del género *Sargassum*, como parte de la dieta animal

Muchas algas marinas son utilizadas como alimento para consumo humano, forraje y fertilizantes. Teniendo en cuenta las características climáticas de la Península de Baja California, se buscan alternativas de alimento animal que puedan ser usados en la época de sequía cuando los forrajes escasean. Las algas pueden ser utilizadas como alimento ya que son fuente de minerales, carbohidratos y aminoácidos esenciales. Debido a la composición química de las algas marinas del género *Sargassum* ha sido considerado por el National Council (Washington D. C) como alimento energético ya que contienen menos de un 20% de proteína, menos del 18% de fibra cruda y menos de un 35% de fibra celular o de fibra neutro detergente (N. R. C., 1981). En este mismo grupo también están incluidos forrajes como el arroz, la avena, el centeno, la cebada, el sorgo, el trigo, el maíz y la remolacha azucarera (Casas-Valdez *et al.*, 2006b).

Las algas del género *Sargassum* han sido usadas experimentalmente como parte de la dieta (25%) para alimentar ganado ovino y caprino. No se encontraron diferencias, concluyendo que el suplemento de raciones con un 25% de algas es eficaz como forraje para rumiantes. Estas investigaciones sugieren que este género puede ser utilizado como un forraje alternativo de mediana calidad para el ganado ovino y caprino (Marín *et al.*, 2003; Casas-Valdez *et al.*, 2006b).

Se ha encontrado que la incorporación de la harina de *Sargassum spp.* (4%) en la dieta de camarón café (*Farfantepenaeus californiensis*), reduce significativamente la concentración de colesterol y no afecta su crecimiento (Casas-Valdez *et al.*, 2006a). La adición de harina de *Sargassum* (4, 6 y 8%), en la dieta de gallinas ponedoras también reduce el colesterol en el huevo y mejora el color de la yema (Carrillo *et al.*, 2012).

4.3 El género *Sargassum* como fuente de compuestos

Entre los extractos de algas pardas que se aprovechan en la actualidad se encuentran los alginatos y el fucoidan. También se estudian actualmente los compuestos de bajo peso molecular (extracto etanólico), ya que presenta alguna bioactividad (antioxidante, antibacteriana, anticancerígena). Sin embargo, los estudios que se han realizado en especies del género *Sargassum* han sido escasos.

4.3.1 Alginatos

Los alginatos son polisacáridos presentes en las paredes celulares y las regiones intercelulares de las algas café. En su estado natural se encuentran unidos con iones Ca^{+2} , Na^{+} , Mg^{+2} , entre otros. El alginato purificado está compuesto por dos ácidos urónicos, el β -D-Manurónico (M) y el α -L-Gulurónico (G). Estos dos ácidos se pueden encontrar unidos formando bloques MM, GG o MG mediante un enlace glucosídico β (1-4). Estas uniones definen las propiedades visco-elásticas de los alginatos, debido a esta propiedad se les conoce como ficocoloides (Andriamanantoanina y Rinaudo, 2010; Hernández-Carmona *et al.*, 2012).

Los alginatos se utilizan actualmente en la industria alimenticia (lácteos, enlatados, pastelería, encurtidos, elaboración de la cerveza), textil (impresión en telas) y en la fabricación de papel. En la industria farmacéutica se utilizan en la elaboración de vendajes, desintegración de tabletas y elaboración de material de impresión dental,

así como en el tratamiento de úlceras gástricas (Reyes *et al.*, 2004), Los alginatos también son utilizados en la inmovilización de organismos benéficos para el tratamiento de las aguas residuales y como promotores del crecimiento vegetal (Hernández-Carmona y Rodríguez-Montesinos, 1990b; Nagaoka *et al.*, 2000; Yabur *et al.*, 2007 y Hernández-Carmona *et al.*, 2012) entre otros. Las principales fuentes comerciales son las especies de *Ascophyllum* y *Laminaria* (Europa y China), *Lessonia* (América del sur), *Durvillaea* (Australia y Chile) y *Macrocystis* (California y Baja California). Las especies de *Sargassum* y *Turbinaria* son recolectadas en aguas más cálidas (McHugh, 2002; Bixler y Porse, 2011).

El contenido de alginato para las especies pertenecientes al género *Sargassum* generalmente es bajo (10 a 20%), y lo mismo ocurre con la viscosidad (50 ± 18 mPa·s) (Usov *et al.*, 2005; Rioux *et al.*, 2007; Rodríguez-Montesinos *et al.*, 2008; Zubia *et al.*, 2008; Fenoradosoa *et al.*, 2009; Camacho, O. y G. Hernández-Carmona, 2012; García-Ríos *et al.*, 2012).

En México se han realizado varios estudios referentes al contenido de alginato: se conoce la variación estacional de la concentración de los alginatos en tres especies de algas pardas: *Macrocystis pyrifera*, *Sargassum sinicola* y *Eisenia arborea*. El rendimiento del alginato obtenido de *S. sinicola* varió entre 17.2% (verano) a 26.3% (primavera) (Hernández-Carmona, 1985).

Además del rendimiento de alginato, es de gran importancia conocer las propiedades visco elásticas del alginato obtenido, ya que de estas depende el uso que pueda tener para las industrias que lo requieran.

Se ha obtenido el alginato del alga café *S. sinicola* recolectada en la Bahía de La Paz, para medir su viscosidad (13.5 mPa·s) y su uso potencial en la inmovilización de bacterias para la estimulación del crecimiento de plantas terrestres, con resultados prometedores (Yabur *et al.*, 2007).

Se ha estudiado la variación estacional de la talla y componentes químicos de *S. sinicola* de la Bahía de La Paz y su relación con la concentración de nutrientes en el agua de mar. El alginato varió entre 7.2 y 13.7% con una viscosidad de 59 a 192 mPa·s. El alginato obtenido de los talos del alga recolectada en agua de mar con mayor y menor contenido de nutrientes varió de 7 a 10% y su viscosidad de 41 a 163 mPa·s, respectivamente. Las diferencias obtenidas tanto para el rendimiento del alginato como para su viscosidad se atribuyeron al ciclo de crecimiento natural de la especie, mostrando reducciones en el período de senescencia. El alginato obtenido de *S. sinicola* no se ve afectado por concentraciones relativamente bajas de nutrientes, y podrían considerarse como materia prima para la producción de alginato (Rodríguez-Montesinos *et al.*, 2008).

El contenido de alginato y sus propiedades visco elásticas (viscosidad y fuerza de gel) fueron evaluadas para dos especies del género *Sargassum* (*S. cymosum* y *Sargassum sp*) recolectadas en la costa del Caribe Colombiano. *Sargassum sp* presentó un mayor rendimiento (20.9%) que *S. cymosum* (15.9%). Aunque la viscosidad del alginato se consideró baja para ambas especies (14.2 y 7 mPa·s, respectivamente), la fuerza de gel fue alta para las dos especies (866 y 709 g cm⁻², respectivamente) (Camacho y Hernández-Carmona, 2012).

El rendimiento de alginato y fucoidan ha sido evaluado en otras especies pertenecientes al orden fucales: *Turbinaria turbinata* (24.6 y 32.1%, respectivamente), *Sargassum filipendula* (17.4 y 26%, respectivamente), *Dictyota caribaea* (7.4 y 22.2%, respectivamente) y *Padina perindusiata* (5.4 y 21.6%, respectivamente) (García-Ríos *et al.*, 2012).

4.3.2 Fucoidan

El fucoidan es una familia de polisacáridos conformados principalmente por L-fucosa, grupos éster sulfato y pequeñas cantidades de otros azúcares como galactosa, xilosa, manosa y ácidos urónicos. Estos están presente en la matriz de la pared

celular de las algas cafés y en algunos invertebrados marinos (Albuquerque *et al.*, 2004). En un principio este polisacárido fue llamado fucoidin y aislado de algas pardas por Kylin en 1913; posteriormente debido a las reglas de nomenclatura química de los compuestos orgánicos (IUPAC), fue renombrado como fucoidan (Li *et al.*, 2008).

El interés por el estudio del fucoidan se ha incrementado en los últimos 30 años, abordando los aspectos de extracción, caracterización y bioactividad. Los estudios de bioactividad han demostrado que estos tienen un gran potencial farmacológico como anticoagulante, antitrombótico, antitumoral, inmunomodulatorio, anti-inflamatorio, para la reducción de lípidos en la sangre, antioxidante, en la actividad hepática, uropática, renal y gástrica y la relación de estas con su estructura (Düring *et al.*, 1997; Chevolut *et al.*, 1999; Chizhov *et al.*, 1999; Shanmugam y Mody, 2000; Preeprame *et al.*, 2001; Rúperez *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2003; Athukorala *et al.*, 2006; Alvares *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2006; Josephine *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2008; Ye *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2009; Sinha *et al.*, 2010; Ale *et al.*, 2011; Wijesekara *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2012; Morya *et al.*, 2012; Vijayabaskar *et al.*, 2012; Wijesinghe y Jeon, 2012; Pérez-Recalde *et al.*, 2014). El rendimiento, composición química y bioactividad del fucoidan extraído de algas pardas puede variar teniendo en cuenta: el método de extracción, la época de recolecta de las algas, la variación en los parámetros físicos y químicos del hábitat o incluso por las condiciones climáticas (Silva *et al.*, 2005; O'Connell *et al.*, 2008). Por esta razón cada vez que se estudia el fucoidan debe ser considerado como una variante de este compuesto. Actualmente la industria lo extrae mayoritariamente de *Ecklonia cava*, *Ascophyllum nodosum* y *Undaria pinnatifida* (Wijesinghe y Jeon, 2012).

En la India se realizó una comparación del rendimiento del fucoidan extraído de *S. plagiophyllum* para varias partes del alga. El mayor rendimiento se obtuvo para los filoides (8.1%), seguido del talo (6.6%), y el alga entera (6%) y finalmente el mínimo rendimiento para el disco basal (2.1%) (Suresh *et al.*, 2013).

En cuanto al contenido de fucoidan en especies del género *Sargassum* del Golfo de California no hay información.

4.3.3 Extracto etanólico

El extracto etanólico contiene compuestos de bajo peso molecular tales como, florotaninos, terpenos, alcaloides, esteroides y ácidos grasos. Estos compuestos (metabolitos secundarios) cumplen varias funciones para asegurar la supervivencia del organismo que lo produce brindándole ventajas competitivas frente a otros organismos. Los usos de estos metabolitos incluyen favorecer la reproducción y evitar la colonización de organismos epifitos tales como bacterias y otras algas, así como disuadir la depredación entre otras (Bhadury y Wright, 2004). Los florotaninos son exclusivos de las algas cafés, estos compuestos se incrementan en el alga cuando estas presentan daño por ramoneo, y se ha reportado que cumplen una función importante en la cicatrización de las heridas del tejido, la disuasión de los herbívoros, la infección microbiana, la quelación de los iones metálicos, la protección contra los rayos UV y la actividad antifúngica (Amsler, 2008). Los estudios orientados hacia estos compuestos han demostrado que presentan aplicaciones farmacológicas como antibiótica, anti-VIH, anticoagulante, antibacteriana, antiinflamatoria, antitumoral y antioxidante (Ayyad *et al.*, 2011; Blunt *et al.*, 2011).

La búsqueda de nuevos compuestos naturales con bioactividad en fuentes no tradicionales como organismos marinos es importante, ya que al ser el medio marino un hábitat con variaciones en sus condiciones físicas y químicas, los organismos que habitan en él como las algas marinas están produciendo diferentes metabolitos secundarios para adaptarse rápidamente a dichas variaciones.

Aunque no se tienen registros del rendimiento del extracto etanólico para especímenes del género *Sargassum* presentes en mantos en la Bahía de La Paz, México, se han realizado estudios de bioactividad de estos extractos (Muñoz-Ochoa

et al., 2010), encontrando que el extracto tiene un potencial antioxidante y antibacteriano.

4.4 Bioactividad

4.4.1 Actividad anticoagulante

Cascada de coagulación

La cascada de coagulación es la secuencia de eventos fisiológicos y bioquímicos que generan la formación de un coágulo sanguíneo. El daño de tejidos, vasos sanguíneos o el contacto de la sangre con el colágeno u otra superficie cargada negativamente, conduce a la activación de dos vías de coagulación (evaluadas en el presente estudio): la vía extrínseca y la vía intrínseca. La coagulación sanguínea es ejemplificada como una cadena de reacciones que sufren las proteínas plasmáticas llamadas factores de coagulación y que finalizan con la formación de la trombina. La vía extrínseca se activa debido a lesiones de algún tejido diferente al del sistema vascular, cuyo daño libera tromboplastina tisular (Factor III) y fosfolípidos. La vía intrínseca se inicia con una lesión en el sistema vascular quedando el colágeno expuesto y en contacto con la sangre, lo cual activa el factor Hageman (Factor XII) (Díaz-Concepción y Almagro-Vásquez, 2001; Fig. 3).

Las sustancias anticoagulantes son compuestos que previenen la coagulación sanguínea. Actualmente se utiliza la heparina, un polisacárido sulfatado aislado de tejidos de mamíferos, el cual ha sido utilizado en los últimos 60 años para la prevención y tratamiento de trastornos tromboembólicos. Sin embargo, se ha documentado que el uso de este compuesto tiene efectos secundarios. Entre ellos sangrado anormal, disminución plaquetaria (trombocitopenia) y aumento de la permeabilidad capilar, entre otros. Por lo tanto, la búsqueda de fármacos alternativos con bajos efectos secundarios o menores que la heparina constituyen una prioridad (Li *et al.*, 2008).

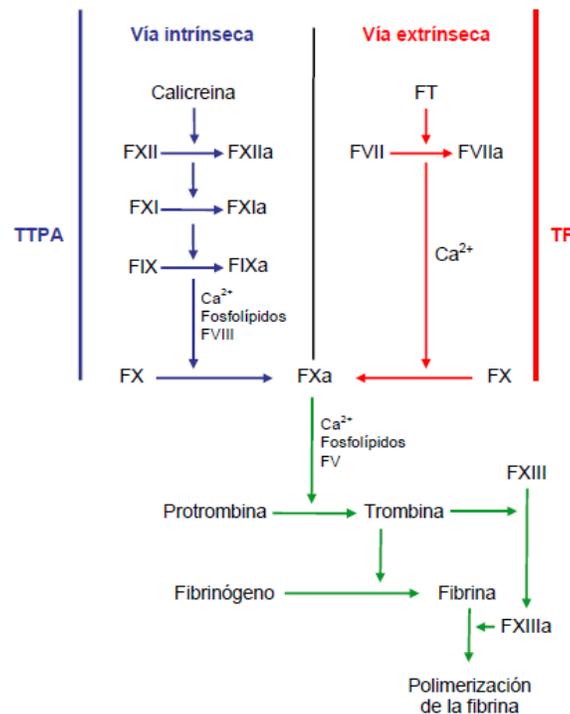


Figura 3. Esquema de las reacciones en cascada que conducen a la formación de fibrina. Tomado de Muñoz-Ochoa (2006).

La actividad anticoagulante de los polisacáridos sulfatados de algas marinas es una investigación relevante ya que se intenta encontrar un sustituto de la heparina. En especial se ha descrito la actividad anticoagulante de algas cafés como *Eklonia cava*, *Fucus evanescens*, *Padina gymnospora*, *Ascophyllum nodosum*, *Sargassum fulvellum*, *Hizikia fusiforme*, entre otras (Nishino *et al.*, 1989; Nishino y Nagumo, 1992; Cumashi *et al.*, 2007; Ushakova *et al.*, 2009; Wijesinghe y Jeon, 2012). La actividad anticoagulante del fucoidan se relaciona con el contenido y posición de los grupos sulfato, el peso molecular y la composición de azúcares (Li *et al.*, 2008).

Los polisacáridos sulfatados presentan actividad anticoagulante. Para la realización de estos ensayos se han evaluado las dos vías de coagulación con los ensayos de tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activa (TTPa), para el

fucoidan extraído de 21 especies de algas marinas recolectadas en Baja California Sur. Se obtuvieron 41 extractos de los cuales, nueve mostraron actividad en el ensayo TP y veintinueve en el ensayo TTPa. El extracto del alga que presentó la mayor actividad anticoagulante fue *Eisenia arborera* (TP >300s TTPa >300s), sin embargo el de *S. horridum* también fue activo en el ensayo TTPa superando al control en más de 10 veces; en el ensayo TP no presentó actividad (Muñoz-Ochoa, 2006).

4.4.2 Actividad antioxidante o actividad secuestrante de radicales libres

El término antioxidante se define como cualquier sustancia que estando a bajas concentraciones en comparación con la de un sustrato oxidable, retrasa significativamente o inhibe la oxidación de ese sustrato. Los radicales libres que contienen electrones desapareados, son poderosos oxidantes. Las modificaciones mediadas por radicales libres de ADN, proteínas, lípidos y pequeñas moléculas celulares se asocian con un gran número de procesos patológicos: incluyendo la aterosclerosis, artritis, diabetes, cataratas, distrofia muscular, disfunción pulmonar, trastornos inflamatorios, daños tisulares por isquemia y trastornos neurológicos tales como la enfermedad del Alzheimer (Frlich y Riederer, 1995).

Los antioxidantes son importantes para la protección del cuerpo contra el estrés oxidativo. Estos pueden actuar en diferentes niveles, en una secuencia oxidativa. Las reacciones en cadena de radicales libres dentro de un material pueden inhibirse mediante la adición de productos químicos que retardan la formación de estos radicales (antioxidantes preventivos) o mediante la introducción de sustancias que compitan por los radicales libres existentes y sacarlos del medio de reacción (antioxidantes de rótula en cadena) (Park *et al.*, 2003).

En el medio natural las algas marinas se encuentran expuestas constantemente a una combinación de luz y altas concentraciones de oxígeno y buscan sobrevivir en un entorno altamente competitivo. Esto conduce a la formación de radicales libres y otros agentes oxidantes fuertes. Sin embargo rara vez sufren algún daño

fotodinámico grave, ya que desarrollan estrategias de defensa que resultan en la producción de una gran diversidad de compuestos antioxidantes en diferentes vías metabólicas, tales como compuestos lipofílicos como ácidos grasos insaturados, clorofila, carotenoides y compuestos hidrofílicos como polifenoles, vitamina C, minerales, compuestos de azufre, polisacáridos, etc. (Blanchette, 1997; Cardozo *et al.*, 2007; Jiménez-Escrig y Gómez-Ordoñez, 2012; Martins *et al.*, 2013).

La propiedad de secuestrar radicales libres es una de las cualidades que presentan los compuestos obtenidos de las algas que más ha llamado la atención de los investigadores, ya que varias enfermedades degenerativas como el cáncer y otros tumores son originados por la generación de radicales libres. Investigadores de varios países han centrado su atención en esta actividad (Xue *et al.*, 2001; Rocha de Souza *et al.*, 2007; Jiménez-Escrig *et al.*, 2012). Sin embargo en México las investigaciones orientadas sobre este tema han sido escasas, particularmente las orientadas a especies del género *Sargassum*.

Se han evaluado los extractos de 48 macroalgas (17 clorophytas, 8 phaeophytas y 23 rodophytas) recolectados en las costas de Yucatán y Quintana Roo. La actividad antioxidante fue medida con el método del 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH por sus siglas en inglés). Todos los extractos probados pertenecientes a las phaeophytas mostraron actividad secuestrante del radical DPPH. *Sargassum ramifolium* y *S. pteropleuron*, presentaron una actividad relativamente alta en el ensayo de DPPH con un $EC_{50} = 6.64$ y $7.14 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ respectivamente. Estas especies pueden ser consideradas en aplicaciones médicas, conservación de alimentos y por la industria cosmética (Zubia *et al.*, 2007).

En la Bahía de La Paz, B.C.S., se realizó un estudio con el alga *Padina mexicana* mostrando que tiene potencial antioxidante, ya que presentó un valor de $EC_{50} = 45.5 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (Muñoz-Ochoa, 2010).

4.4.3 Actividad antibacteriana

La creciente resistencia y el surgimiento de nuevos tipos de bacterias resistentes a los antibióticos, hace crecer la demanda de nuevos antibióticos. Las algas marinas son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos por diferentes vías metabólicas. En las algas se han reportado más de 15,000 metabolitos primarios y secundarios con diferentes aplicaciones biomédicas (Newman *et al.*, 2003; Grosso *et al.*, 2011). La actividad antibacteriana de los extractos puede estar influenciada por muchas variables, dentro de estas podemos citar: la presencia de organismos simbiotes y el cambio de las condiciones físicas y químicas del ambiente, la especie, época de recolecta, tipo de compuesto y método de extracción. Muchos de estos extractos han mostrado una actividad muy específica (Rao *et al.*, 1987) y otros han mostrado ser de amplio espectro, además de presentar un nulo o escaso grado de toxicidad (Martínez-Nadal *et al.*, 1964; Pesando y Caram, 1984; Castro-Reyes, 1997).

Actualmente se han orientado algunas investigaciones a estudiar la resistencia de bacterias a los antibióticos, o como antimicrobiano en productos farmacéuticos o en alimentos (Smit *et al.*, 2004; Salvador *et al.*, 2007; Al-Haj *et al.*, 2009; Vallinayagan *et al.*, 2009; Arunkumar *et al.*, 2010; Spavieri *et al.*, 2010).

Se evaluó la variación estacional de la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de *S. sinicola* y *Laurencia johnstonii* recolectadas en la Bahía de La Paz. El extracto de *S. horridum* mostró actividad contra *B. subtilis*, *S. aureus* y *Pseudomonas aureginosa* y los extractos de *L. johnstonii* presentaron actividad estacional contra *B. subtilis*, *S. aureus* y *S. faecalis* (Castro-Reyes, 1997).

Se ha evaluado el efecto sinérgico entre extractos algales y antibióticos (ampicilina y eritromicina) en contra de bacterias patógenas que presentaban resistencia a estos antibióticos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *S. pyogenes*), utilizando el método de difusión en agar con discos. Adicionalmente se evaluó la actividad contra

Mycobacterium tuberculosis y la citotoxicidad contra células VERO (células de mono verde). El extracto etanólico de *S. horridum* mostró actividad en combinación con ampicilina contra *S. aureus*, y una alta actividad contra *M. tuberculosis*; además de moderada toxicidad contra células VERO y un efecto reversionador de la resistencia a los antibióticos de *S. aureus* y *S. pyogenes* contra la ampicilina y eritromicina respectivamente. Se ha concluido que *S. horridum* es fuente de compuestos con potencial farmacológico para combatir enfermedades infecciosas como la tuberculosis (Muñoz-Ochoa, 2010; Pardo-Fuentes, 2012).

5. JUSTIFICACIÓN

En los últimos 60 años los descubrimientos en los usos y aplicaciones de los extractos algales ha crecido. Aunque México y especialmente el Golfo de California, albergan un gran número de especies algales, los estudios encaminados hacia la variación estacional de los compuestos de interés comercial y su bioactividad han sido escasos. Los alginatos, el fucoídano y el extracto etanólico obtenido de algas pardas son actualmente estudiados y/o utilizados por muchas industrias (farmacéutica, textil, cosmética, cervecera y alimentaria). Aunque las especies del género *Sargassum* poseen una gran biomasa y son consideradas recurso potencialmente explotable en el estado de Baja California Sur, las investigaciones orientadas hacia su composición química y actividad biológica aun no han sido concluidas. Por esta razón es necesario investigar la variación mensual de su composición química proximal (bromatológico) y de otros compuestos (alginatos, fucoídano y compuestos de bajo peso molecular) así como la de su actividad biológica en especies de este género. Los resultados generados serán de utilidad, para que las industrias puedan plantear un aprovechamiento sustentable de este recurso.

6. HIPÓTESIS

Las variaciones morfológicas asociadas a la edad del alga *Sargassum horridum* y a las condiciones ambientales, producirán variaciones en la composición química del alga, incluyendo la composición proximal, el rendimiento de alginatos, fucoidan y extracto etanólico, así como una variación en las propiedades de sus componentes y su actividad biológica.

7. ÁREA DE ESTUDIO, RECOLECTA Y PROCESAMIENTO DEL ALGA CAFÉ *Sargassum horridum*

Área de recolecta de especímenes

La Bahía de La Paz está ubicada al suroeste de la Península de Baja California, México (Fig.1). Tiene una longitud de 90 km y un ancho de 60 km, con un área aproximada de 4,500 km². Limita al norte y oriente con el Golfo de California y las islas Espíritu Santo y la Isla Partida (Jiménez-Illescas *et al.*, 1997; Obeso-Nieblas, 2003).

La radiación máxima en la bahía ocurre al finalizar el verano y la mínima al inicio del invierno (Obeso-Nieblas, 2003). La distribución espacio-temporal de la temperatura, salinidad y densidad superficial de la bahía es muy homogénea. Durante el invierno-primavera, los menores niveles de insolación y la influencia de los vientos del noroeste son responsables del enfriamiento de las aguas superficiales (21-24°C) y para el verano-otoño se presenta las temperaturas más elevadas (27-31°C), ya que se presenta una mayor insolación y vientos más débiles del sureste, acarreado aguas más cálidas del trópico hacia el Golfo de California por advección (Martínez-Flores *et al.*, 2006).

8. Objetivos

8.1 General

Determinar la composición química proximal, rendimiento de alginato, fucoïdan y extracto etanólico obtenidos a partir del alga café *Sargassum horridum*, recolectada en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, y su correlación con la variación mensual en la talla y parámetros ambientales en 2013.

8.2 Específicos

- ✓ Determinar la composición química proximal del alga café *S. horridum*.
- ✓ Cuantificar la variación mensual en el rendimiento del alginato, fucoïdan y extracto etanólico obtenido a partir del alga café *S. horridum* en la Bahía de La Paz.
- ✓ Determinar la variación mensual y la correlación de la viscosidad y la fuerza de gel del alginato.
- ✓ Cuantificar y caracterizar el fucoïdan por medio de técnicas químicas y espectroscópicas, así como la variación mensual en el contenido de azúcares totales, fucosa y ácidos urónicos.
- ✓ Determinar la actividad anticoagulante del fucoïdan por los métodos de tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y tiempo de protrombina (TP) y su variación mensual.
- ✓ Evaluar la variación mensual de la actividad antioxidante y antibacteriana de los extractos etanólicos obtenidos de cada muestra.
- ✓ Determinar la variación mensual de la talla (cm) del alga *S. horridum* y su correlación con el rendimiento de los componentes obtenidos.

- ✓ Determinar la variación mensual de la temperatura y el contenido de nutrientes (amonio, nitritos, nitratos y ortofosfatos) y su correlación con el rendimiento de los componentes químicos del alga.

9. Materiales y métodos

9.1 Recolecta, transporte y tratamiento del alga café *S. horridum*

Las algas (*S. horridum*) se recolectaron por buceo libre o equipo SCUBA, cortando las algas manualmente, en tres diferentes localidades (réplicas) de la costa de la Bahía de La Paz: Agua de Yepis, El Sauzoso y Tarabillas (Fig. 1), entre las 9:00 y 14:00 hrs, con una frecuencia mensual de abril a septiembre del 2013. En cada localidad se realizó una poda parcial del manto a una profundidad de 2 a 6 metros, cortando especímenes mayores de 10 cm de largo, sin incluir el disco basal, para permitir la regeneración de las plantas.

Las algas fueron transportadas en sacos de malla abierta, previamente lavados. Posteriormente estas fueron lavadas con agua dulce para eliminar organismos epífitos, sedimentos y sales; se secaron al sol, se midieron con ayuda de una cinta métrica plástica, se molieron y se tamizaron (45 mallas).

9.2 Análisis químico proximal

El análisis químico proximal se realizó en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S. C. (CIBNOR). La humedad fue determinada por diferencia de peso a 105°C por 4 h. Las cenizas por diferencia de peso seco, después de calcinación a 600°C durante 5 hrs. Las proteínas y el nitrógeno total se determinaron por el método de Dumas (1833) usando el Equipo LECO FP528. El extracto etéreo se determinó por el Método Soxtec-Avanti 2050 Tecator. La fibra cruda se determinó por el Método de hidrólisis y la energía bruta utilizando una bomba calorimétrica de Parr.

9.3 Extracción de alginato

Veinte gramos del alga seca y molida se hidrataron por 12 h con 180 mL de una solución de formaldehído al 0.1%. La solución fue drenada y las algas fueron tratadas con 300 mL de una solución de HCl a pH 4 por 15 min. Posteriormente se realizó la extracción alcalina, en 400 mL de agua destilada y ajustando el pH a 10 con una solución de Na₂CO₃ al (0.1%). La solución se mantuvo en baño María, a una temperatura de 80°C y agitación continua con propela a 800 rpm por 2 horas. El extracto se filtró al vacío sobre una cama de tierra de diatomeas (Celite) y la solución obtenida se precipitó con un volumen igual de etanol (96%). El precipitado se recuperó extrayendo las fibras de alginato con un agitador de vidrio, agitando lentamente en forma circular. El alginato obtenido se secó en una estufa a 55°C por 24 h. Transcurrido este tiempo se colocó en un desecador por 22 horas para extraer la mayor cantidad de humedad (Hernández-Carmona *et al.*, 1991 y Arvizu-Higuera *et al.*, 2002).

El rendimiento de cada extracto se calculó en base al peso seco de la muestra de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = (\text{Peso del alginato seco} / \text{Peso de la muestra de alga}) * 100$$

9.3.1 Medición de la viscosidad del alginato

Se preparó una solución al 1% con el alginato obtenido y se midió con un viscosímetro Brookfield LVT, a 20°C, a una velocidad de rotación de 60 rpm, con la aguja apropiada, antes y después de añadir hexametáfosfato de sodio, el cual secuestra el calcio residual (Hernández-Carmona *et al.*, 1999).

Viscosidad = Valor obtenido (viscosímetro) * Factor (dependiente de la velocidad y la aguja utilizada).

9.3.2 Medición de la fuerza de gel del alginato

Se llenaron dos tubo de membrana de diálisis (Spectra/Por de 2.9 cm de diámetro × 15 cm de largo) con la misma solución empleada para la medición de la viscosidad (1%) y se amarraron los extremos. Cada tubo se sumergió en una solución de cloruro de calcio (10%) durante una noche para permitir la formación de los geles. Después de 12 horas se sacó de la membrana el gel, se recortaron las puntas redondeadas y se cortó en 3 cilindros de 3 cm de alto y 2.9 cm de diámetro. La fuerza de gel se midió con un analizador de textura TA.XT Plus, programado para llevar a cabo una penetración de la sonda de 2 cm, a una velocidad de penetración de $0.4 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. El programa de cómputo del equipo (Texture Exponent) trazó una curva, con el máximo valor en el punto del rompimiento del gel. El valor en la cima de la curva se registró en $\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$. Se calculó el promedio de las mediciones de tres geles por muestra (Camacho y Hernández-Carmona, 2012).

9.4 Extracción del fucoidan

Veinte gramos del alga seca y molida fueron hidratados con 350 mL de agua destilada, con agitación continua por 2 horas a 55°C . La mezcla obtenida se filtró y las algas fueron sometidas nuevamente al mismo proceso de extracción en las mismas condiciones. Las soluciones obtenidas se mezclaron y fueron clarificadas por centrifugación a $1,700 \times g$ por 15 min, para separar los sólidos. Posteriormente se adicionaron 20 mL de CaCl_2 al 10% para precipitar el alginato soluble residual y el precipitado fue recuperado por centrifugación a $1,700 \times g$ por 15 min. El sobrenadante obtenido en este proceso fue precipitado con tres volúmenes de etanol al 96%, y el precipitado (fucoidan crudo) fue recuperado por centrifugación, secado en una estufa a 50°C durante 24 horas y almacenado a -20°C hasta el momento de su análisis (Muñoz-Ochoa *et al.*, 2009). El rendimiento de cada extracto se calculó en base al peso seco de la muestra.

9.4.1 Caracterización química y espectroscópica del fucoidan

Para caracterizar al fucoidan se determinó el porcentaje de azúcares totales, fucosa y ácidos urónicos. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Se calculó el promedio y la desviación estándar. Adicionalmente se determinó la relación azúcar-sulfato y el patrón de sustitución de grupos sulfato por espectroscopia de infrarrojo (IR).

9.4.1.1 Azúcares totales

El contenido de azúcares totales se determinó siguiendo el método colorimétrico del ácido-fenol sulfúrico descrito por Dubois *et al.* (1956), utilizando glucosa como estándar. Se tomó 1 mL de muestra disuelta en agua ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), se colocó en un tubo de ensayo y se adicionó 1 mL de solución de fenol (5%) y 5 mL de H_2SO_4 concentrado; se agitó y se dejó reposar en oscuridad por 10 min, posterior a este tiempo se midió la absorbancia a 490 nm. Las lecturas se interpolaron con una curva de concentración realizada con glucosa en el intervalo de 0 a $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

9.4.1.2 Fucosa

La concentración de fucosa se determinó por colorimetría, utilizando el método descrito por Dische (1955). Cien $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de muestra se colocaron en un tubo de ensayo enfriado con agua y hielo. Se agregaron 4.5 mL de una solución de ácido sulfúrico preparado con 100 mL de agua destilada y 600 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se enfrió por 1 min y se colocó en baño María a 100°C por 10 min. Transcurrido este tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se agregó una solución de cisteína (3%), se mezcló y se dejó en reposo por 30 min en oscuridad. Se midió la absorbancia a 396 y 427 nm. La absorbancia atribuida a la fucosa se calculó con la fórmula: $A_{\text{fucosa}} = A_{396\text{nm}} - A_{427\text{nm}}$

La concentración de fucosa se determinó interpolando la absorbancia en una curva estándar construida con L-fucosa (Fluka)

9.4.1.3 Ácidos urónicos

El contenido de ácidos urónicos se determinó siguiendo el método colorimétrico descrito por Blumenkrantz y Asboe (1963). Un mililitro de muestra ($100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de fucoidan) se enfrió durante 30 s en baño con hielo. Se adicionaron 6 mL de una solución de borato de sodio (0.0125 M) en ácido sulfúrico concentrado y se dejó enfriar por 1 min en baño con hielo. La mezcla se colocó en un baño de agua a 100°C por 5 min. Posteriormente se enfrió en hielo por un min. Se adicionaron $100 \mu\text{L}$ de 3-fenilfenol al 0.15% en hidróxido de sodio al 0.5% y se midió la absorbancia a 520 nm en un intervalo de tiempo no mayor a 5 min. La concentración de ácidos urónicos se determinó por interpolación de la absorbancia en una curva estándar construida con ácido galacturónico (Sigma).

9.4.1.4 Espectroscopia de Infrarrojo (IR)

Los espectros de infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrómetro Perkin Elmer TWO equipado con ATR (reflectancia total atenuada, por sus sigla en inglés). Cada espectro se obtuvo por la realización de 14 escaneos a una resolución de 4 cm^{-1} , en el rango espectral de $500\text{-}4,000 \text{ cm}^{-1}$. Se obtuvo la relación de sulfatos-carbohidratos ($\text{SO}_4\text{-CHOH}$) con la relación entre la intensidad de la transmitancia de las bandas a los $1,040$ y $1,256 \text{ cm}^{-1}$.

9.4.2 Actividad anticoagulante del fucoidan

Se evaluó la actividad anticoagulante del fucoidan por medio de los ensayos de tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activa (TTPa), utilizando plasma sanguíneo humano citrado a una relación de 9:1.

Para determinar el tiempo control para el ensayo TP se tomó $100 \mu\text{L}$ de plasma citrato y se le adicionaron $200 \mu\text{L}$ del reactivo TP, previamente incubado a 37°C . Inmediatamente se determinó el tiempo de coagulación con un cronómetro. Para el ensayo TTPa se precalentó una solución de cloruro de calcio al 10% y el reactivo TTPa a 37°C . A $100 \mu\text{L}$ de plasma citrado se le adicionó $100 \mu\text{L}$ de reactivo TTPa, se mezcló y se incubó a 37°C durante 3 minutos, posterior a este tiempo se le

adicionaron 100 μL de la solución de cloruro de calcio y se midió el tiempo de formación del coagulo.

Las muestras fueron evaluadas por duplicado. Para ello 10 μL (100 μg) de una solución preparada con 10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de fucoidan crudo fueron mezclados con 90 μL plasma sanguíneo y se continuó con el protocolo establecido para cada ensayo.

9.5 Obtención del extracto etanólico

Cincuenta gramos de cada muestra (alga) fueron macerados por separado con 120 mL de etanol al 100% por 3 veces, realizando recambios de alcohol cada tercer día. La mezcla obtenida fue separada por filtración y la solución recuperada fue concentrada a sequedad y a presión reducida en un rota-evaporador a 45°C. El extracto etanólico obtenido fue almacenado en frascos viales etiquetados a -20°C (Muñoz-Ochoa *et al.*, 2010).

9.5.1 Actividad antioxidante del extracto etanólico

La actividad antioxidante se evaluó por el método colorimétrico utilizando el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) midiendo la absorbancia a 517 nm (Goupy *et al.*, 1999). Para cada extracto se evaluó la actividad de cinco concentraciones diferentes (6, 12, 25, 50 y 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Un mL de cada solución fue mezclado con 4 mL de solución metanólica de DPPH (0.02%), la mezcla de reacción se mantuvo en oscuridad por 30 min, a temperatura ambiente y posteriormente se leyó la absorbancia de la solución en un espectrofotómetro a 517 nm. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Con el extracto que presentó la mayor actividad se realizó una curva de dosis-efecto, la cual fue construida graficando los valores del porcentajes de reducción del DPPH, los cuales fueron calculados con la siguiente fórmula: $PI = [(Ab - Am) / Ab] \times 100$ contra la concentración del extracto utilizado.

Ab= Absorbancia del blanco, Am= Absorbancia de la muestra

9.5.2 Actividad antibacteriana del extracto etanólico

La actividad se evaluó empleando la técnica de difusión en agar con discos (papel filtro Whatman No. 4 de 6.4 mm). Se preparó una solución stock conteniendo 20 mg·mL⁻¹ del extracto de prueba y se adicionaron 100 µL a cada disco, para contar con una concentración de 2 mg/disco. Los discos se colocaron sobre la superficie de placas de agar Mueller-Hinton, previamente inoculadas con una suspensión del microorganismo de prueba, ajustada a una densidad óptica de 1.0 a 585 nm, equivalente a una densidad de 4.5 X 10⁸ UFC. Para la prueba se utilizaron 5 cepas bacterianas: *Vibrio harveyi* (ATCC 14126), *V. parahaemolyticus* (ATCC 17802), *V. alginolyticus*, *Staphylococcus aureus* (ATCC BAA-42) y *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853). Las placas fueron incubadas a 37°C por 24 h y se midió el halo de inhibición al finalizar el proceso de incubación.

9.6 Medición de tallas (cm) de especímenes de *S. horridum*

Simultáneamente a la recolecta de las algas se realizó la medición *in situ* de la talla máxima de treinta especímenes de *S. horridum* en cada localidad. Otros 16 especímenes recolectados se midieron en el laboratorio, utilizando una cinta métrica plástica de 100 cm. Durante este proceso, se realizó la observación del estado reproductivo de las algas. Los datos de campo fueron registrados en tablas de acrílico y procesados en hojas de cálculo.

9.7 Temperatura y nutrientes del agua de mar en Agua de Yepis

De abril a noviembre de 2013 se realizó un muestreo de agua de mar por triplicado en Agua de Yepis. Tres muestras fueron tomadas por los buzos en el fondo del mar, simultáneamente a la recolecta de las muestras de algas en el mismo punto. El muestreo del agua se realizó en botellas plásticas de 400 mL previamente lavadas con HCl (1N) y enjuagadas con agua destilada. Estas fueron transportadas en hielo a las instalaciones del CIBNOR, donde fueron congeladas inmediatamente hasta su análisis. Los análisis de amonio, nitritos, nitratos y ortofosfatos se realizaron de acuerdo a las técnicas de Strickland y Parsons (1972).

Los datos de temperatura en Agua de Yepis fueron registrados mediante un sensor de temperatura (HOBO) y proporcionados por Tonatiuh Chávez Sánchez (estudiante de Doctorado del CICIMAR-IPN).

Análisis estadístico

A las variables analizadas en el estudio se les aplicó un análisis estadístico exploratorio en el programa Excel (Office 2007). Los valores de rendimiento fueron calculados como promedios de las muestras obtenidas en las tres localidades (replicas). La cantidad de extracto utilizado para los análisis de bioactividad se expresa en $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y segundos (s). Los valores de los nutrientes del agua de mar ($\mu\text{M}\cdot\text{mL}^{-1}$), la temperatura mensual ($^{\circ}\text{C}$), y las tallas de los especímenes (cm) fueron comparados mediante un análisis de varianza de dos vías (ANDEVA), para encontrar diferencias significativas entre el compuesto obtenido, la réplica y el mes. Las diferencias específicas fueron obtenidas mediante el análisis de Tukey (Statistica 7, StatSoft, Inc).

10. Resultados

10.1 Composición química proximal

El valor de humedad en *S. horridum* fue menor al 10% para todos los meses. Este valor se considera apropiado para la preservación de las algas. Las proteínas (5.25-8.40%) y el extracto etéreo (0.10-0.40%) presentaron el valor mínimo en mayo y el máximo en marzo. La fibra cruda tuvo un valor mínimo en julio (6.69%) y el máximo en junio (8.35%). El menor contenido de cenizas se presentó en febrero (28.02%) y el mayor en marzo (39.56%) y julio (39.26%). El mínimo de extracto libre de nitrógeno (carbohidratos) se presentó en marzo (44.15%) y el mayor en febrero (57.70%) y mayo (56.62%). El aporte de energía presentó un valor promedio anual de $2,572 \text{ cal}\cdot\text{g}^{-1}$ (Tabla. 1).

Tabla 1. Composición química proximal de *S. horridum* recolectada en Agua de Yepis.

Mes	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Media
Humedad (%)	7.91 ± 0.19	8.61 ± 0.10	8.96 ± 0.26	8.28 ± 0.12	9.61 ± 0.39	9.38 ± 0.15	8.58 ± 0.16	8.76 ± 0.60
Proteína (%)	6.32 ± 0.47	8.40 ± 0.15	6.14 ± 0.06	5.25 ± 0.11	6.79 ± 0.25	6.56 ± 0.02	7.93 ± 0.28	6.77 ± 1.08
Extracto etéreo (%)	0.32 ± 0.04	0.40 ± 0.07	0.15 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.30 ± 0.07	0.37 ± 0.04	0.32 ± 0.03	0.28 ± 0.11
Fibra cruda (%)	7.64 ± 0.77	7.50 ± 0.14	7.30 ± 0.14	7.65 ± 0.07	8.35 ± 0.21	6.69 ± 0.01	8.35 ± 0.35	7.64 ± 0.58
Cenizas (%)	28.02 ± 0.07	39.56 ± 0.16	35.05 ± 0.15	30.38 ± 0.17	35.13 ± 0.11	39.26 ± 0.19	35.31 ± 0.17	34.67 ± 4.25
Carbohidratos (%)	57.7	44.15	51.36	56.62	49.43	47.11	48.08	50.64 ± 4.98
Energía (cal g ⁻¹)	2761.98 ± 3.3	2453.29 ± 6.5	2556.80 ± 4.5	2659.59 ± 6.8	2528.20 ± 3.4	2453.77 ± 6.7	2595.32 ± 8.5	2572.71 ± 111.4

10.2 Rendimiento de alginato

El mínimo rendimiento de alginato se registró en septiembre (3.91%) y el máximo en agosto (8.6%). El análisis de varianza mostró que hay diferencia significativa en el rendimiento del alginato, entre los meses ($p < 0.001$). Entre las réplicas y su interacción con el mes no presentó diferencia significativa ($p > 0.7$, Fig. 4) (Anexo 1).

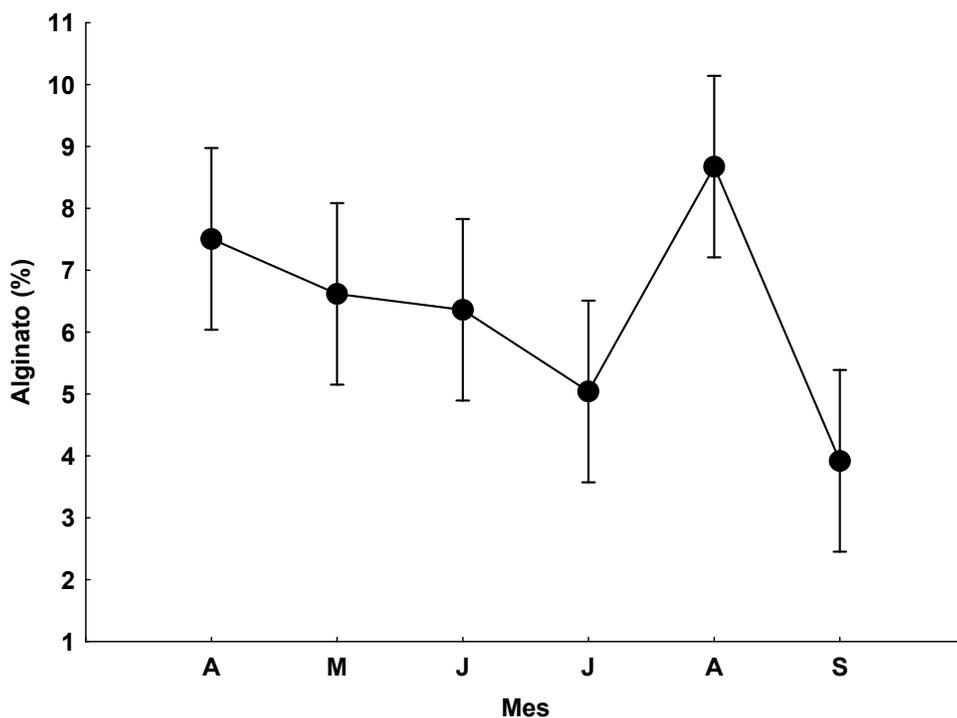


Figura 4. Alginatos extraídos de *S. horridum*. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.2.1 Viscosidad del alginato

La viscosidad varió entre los meses. El máximo se presentó en septiembre (73 mPa·s) y el mínimo en junio (38 mPa·s). El análisis de varianza mostró que hay diferencia significativa en el rendimiento del alginato, tanto para los meses, réplicas y la interacción de estas ($p < 0.001$, Fig. 5) (Anexo 1).

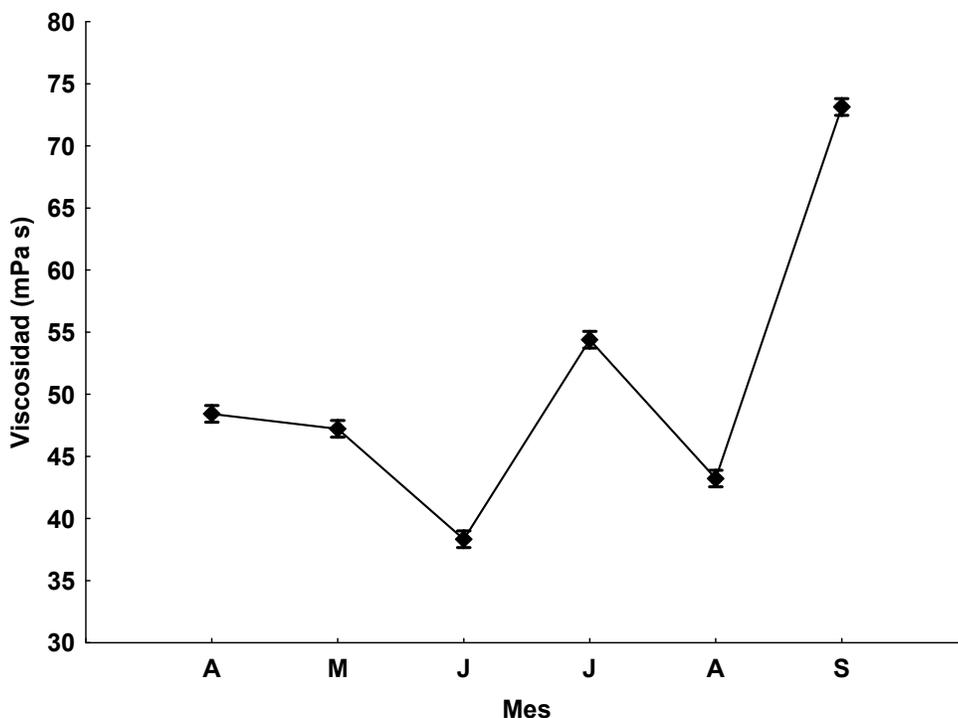


Figura 5. Viscosidad (mPa·s) del alginato extraído de *S. horridum*. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.2.2 Fuerza de gel del alginato

La fuerza de gel varió entre 815 y 1,906 g·cm⁻². Los mínimos valores se obtuvieron en junio (815 g·cm⁻²) y el máximo en abril, mayo y septiembre (1,712, 1906 y 1,651 g·cm⁻², respectivamente). El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los meses, réplicas y la interacción de estos ($p < 0.02$, Fig. 6) (Anexo 1).

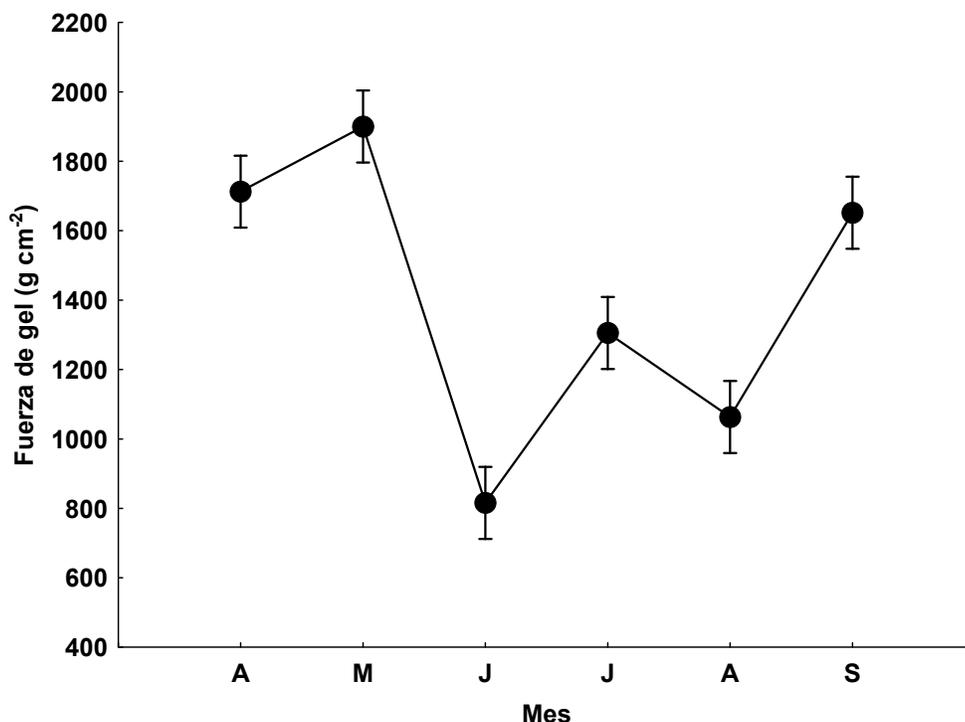


Figura 6. Fuerza de gel ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) del alginato extraído de *S. horridum*. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.2.3 Correlación de la viscosidad y la fuerza de gel del alginato

La figura 7 muestra la correlación lineal de viscosidad y fuerza de gel del alginato para las tres localidades en el año 2013. Con un valor de R^2 de 0.89, 0.77 y 0.80 para el alginato de *S. horridum* de la Bahía de La Paz (Agua de Yepis, El Sauzoso y Tarabillas, respectivamente). El valor de R^2 para todas las zonas es positivo y cercano a uno, lo cual confirma que los parámetros analizados están altamente correlacionados (Fig. 7).

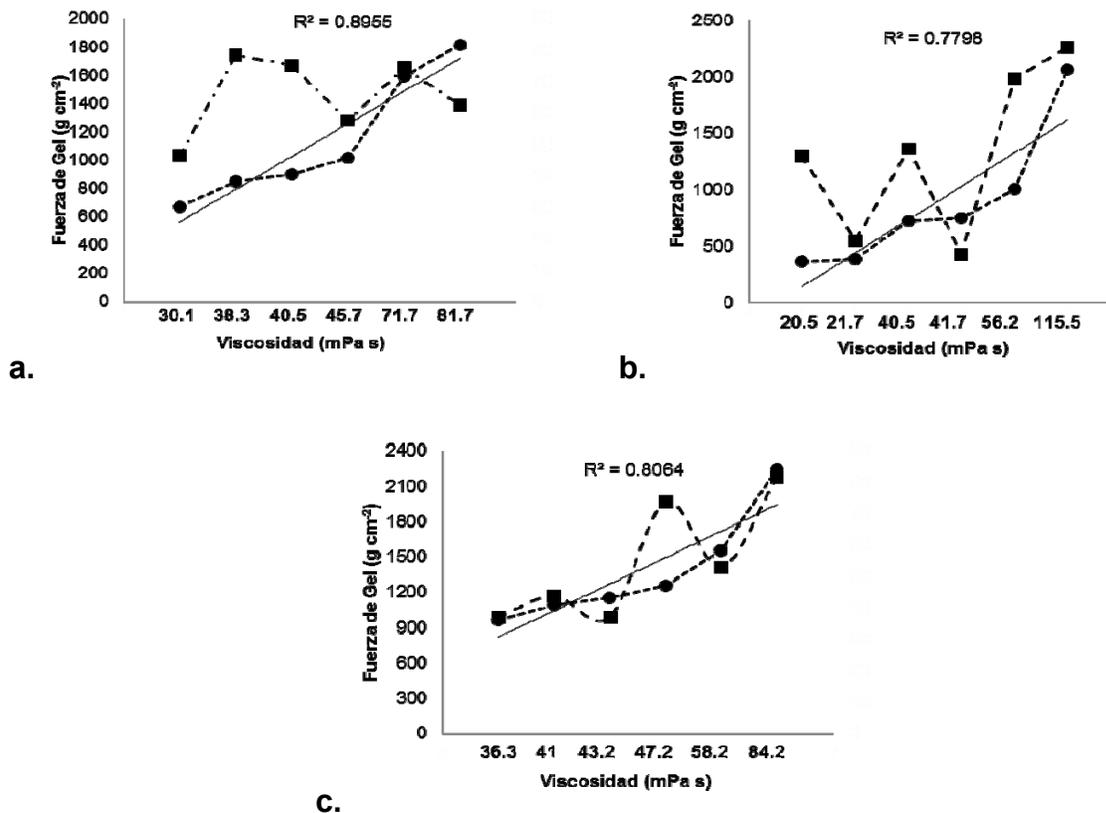


Figura 7. Correlación lineal viscosidad-fuerza de gel del alginato en a. Agua de Yepis, b. El Sauzoso y c. Tarabilla en el 2013. ●Viscosidad, ■Fuerza de gel.

10.3 Rendimiento de fucoidan

El fucoidan varió entre los meses. El mínimo rendimiento se obtuvo en abril y septiembre (4.3%) y el máximo en mayo (6.8%). El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los meses, replicas ($p < 0.001$) y la interacción de estos no mostró diferencias significativas ($p > 0.3$, Fig.8) (Anexo 1).

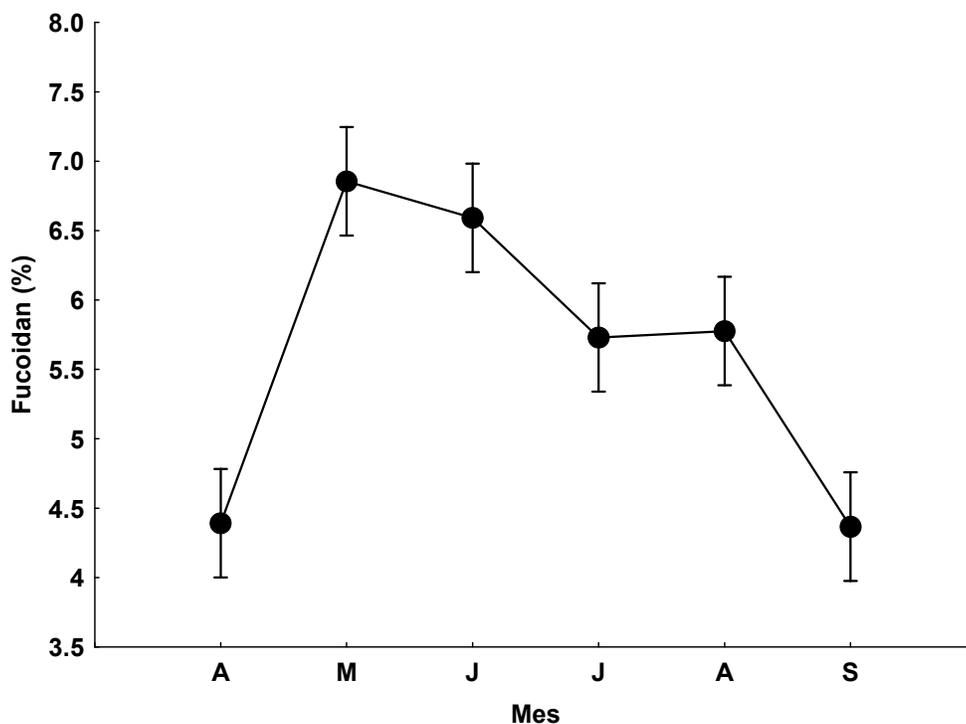


Figura 8. Fucoïdan extraído de *S. horridum*. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.3.1 Composición química y espectrofotométrica del fucoïdan

10.3.1.1 Contenido de azúcares totales presentes en el fucoïdan

El contenido de azúcares totales varió entre los meses. El mínimo contenido de azúcares totales se presentó en abril (14.9%) y el máximo en septiembre (21.8%). El análisis de varianza mostró diferencias significativas en los meses, réplicas y su interacción ($p < 0.01$, Fig. 9) (Anexo 1).

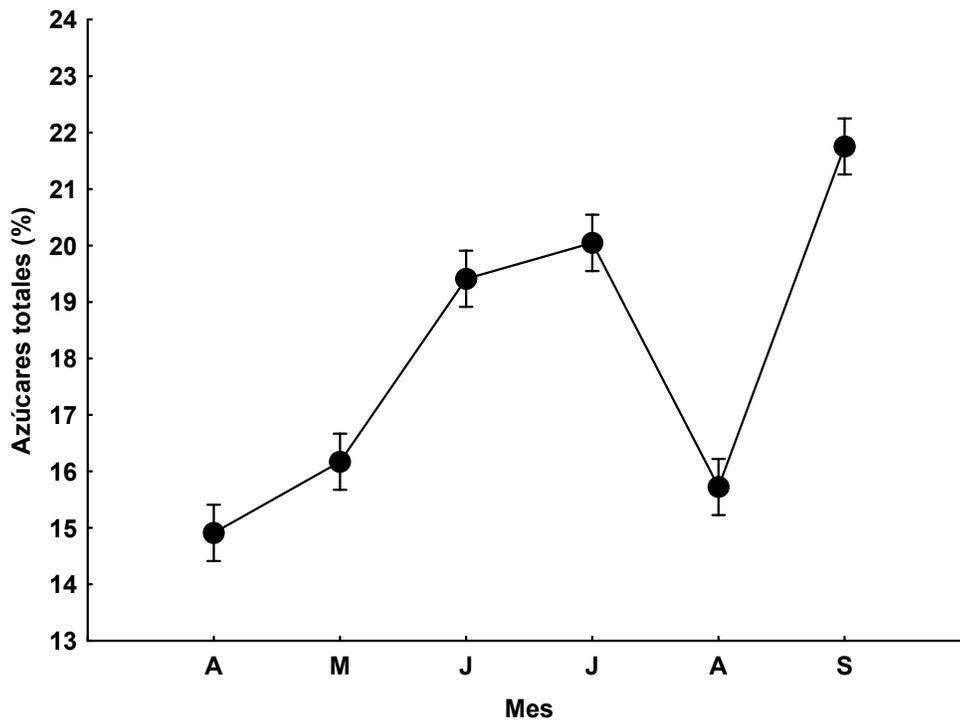


Figura 9. Contenido de azúcares totales presentes en el fucoidan. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.3.1.2 Contenido de fucosa

El mínimo contenido de fucosa se obtuvo en abril (1.5%) y el máximo en junio (4.7%). El análisis de varianza mostró diferencias significativas en los meses, réplicas y la interacción de estos ($p < 0.01$, Fig. 10) (Anexo 1).

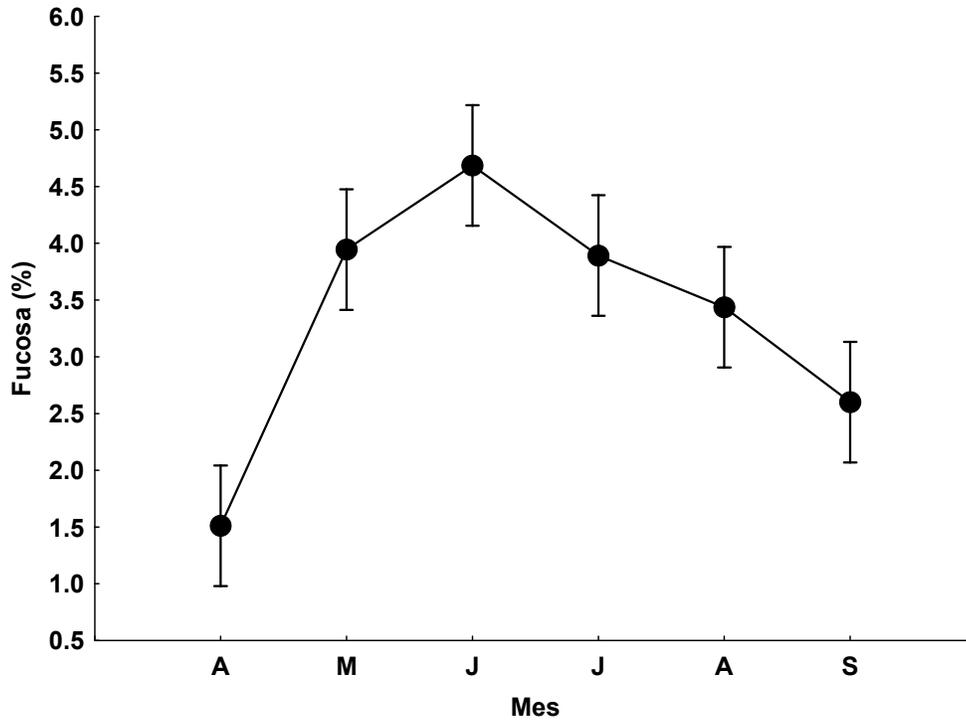


Figura 10. Contenido de fucosa presente en el fucoidan. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.3.1.3 Contenido de ácidos urónicos

El mínimo contenido de ácidos urónicos se obtuvo en julio (5.76%) y el máximo en septiembre (9.3%). El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los meses, réplicas y la interacción de estas ($p < 0.001$, Fig. 11) (Anexo 1).

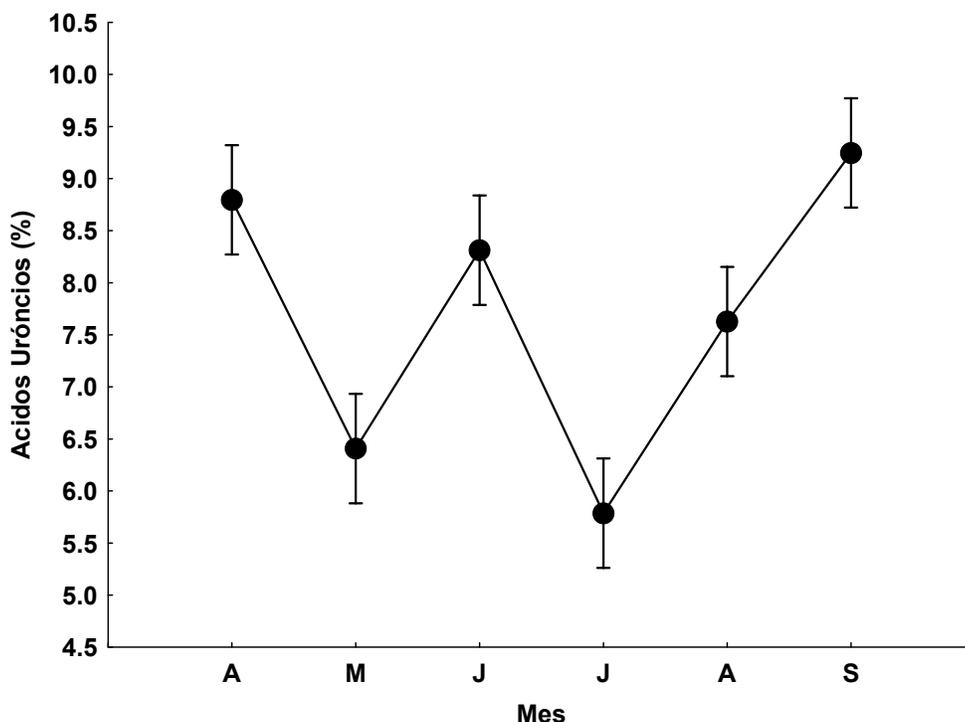


Figura 11. Contenido de ácidos urónicos presentes en el fucoidan. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.3.1.4 Caracterización parcial del fucoidan por análisis de FTIR-ATR

En la figura 12 se muestra el espectro de infrarrojo del fucoidan obtenido de *S. horridum* en el mes de abril, este espectro fue tomado como base para identificar las principales señales de los grupos funcionales presentes en el fucoidan. El espectro muestra bandas de absorción típica de un polisacárido sulfatado. La banda alrededor de $3,300\text{ cm}^{-1}$ es debida a la vibración del enlace O-H. Las bandas alrededor de los $2,924 - 2,982\text{ cm}^{-1}$ corresponde al estiramiento del enlace C-H. Las bandas a $1,604 - 1,611\text{ cm}^{-1}$ y las obtenidas a $1,409 - 1,420\text{ cm}^{-1}$ son atribuidas a las vibraciones de los enlaces del grupo carboxilo. En el espectro también se pudo observar bandas a los $1,019 - 1,113\text{ cm}^{-1}$; estas señales corresponden a las vibraciones del enlace hemiacetálico del anillo de azúcar, las bandas traslapadas a los $1,250 - 1,265\text{ cm}^{-1}$ son atribuida a los grupos sulfato en general S=O, que se corrobora con la banda

alrededor de los 580 cm^{-1} . Se presentaron bandas de absorción entre los $824\text{-}828\text{ cm}^{-1}$, atribuidas a todos los polisacáridos sulfatados (C-O-S), y la torsión de los enlaces del éster sulfato en posición ecuatorial del anillo de azúcar (Tako *et al.*, 2000; Muñoz-Ochoa *et al.*, 2009), los valores de las bandas de absorción de fucanos (Patankar *et al.*, 1993; Chizhov *et al.*, 1999) indican que la banda alrededor de los $830\text{-}820\text{ cm}^{-1}$, corresponde a grupos sulfatos en posición ecuatorial de los C₂ y C₃ de los residuos de fucosa (Fig. 12 y 13).

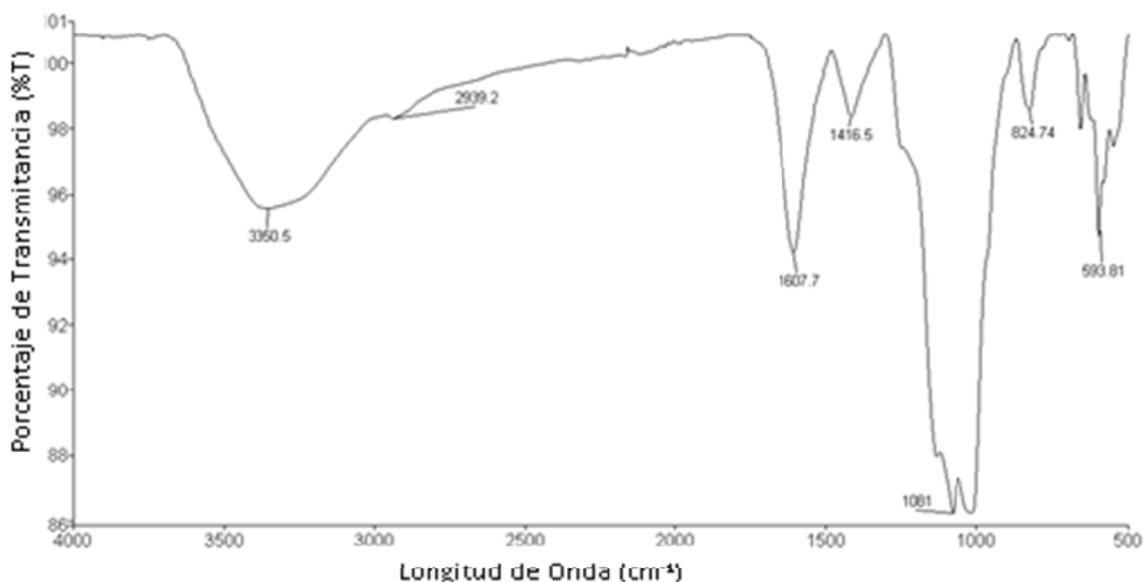


Figura 12. Espectro de Infrarrojo (IR) del fucoide de *S. horridum* de abril en la Bahía de La Paz, B.C.S en 2013. Longitud de onda (cm^{-1}) vs Porcentaje de transmitancia (%T) de los grupos funcionales característicos del fucoide.

La relación entre la banda de $1,250$ y la de $1,080\text{ cm}^{-1}$ de los grupos sulfato y azúcares totales (SO_4/CHOH), respectivamente, nos indica un alto contenido de grupos sulfato (SO_4), debido a que la relación es mayor a 1, es decir por cada unidad de azúcar hay más de una de sulfato (Tabla 2).

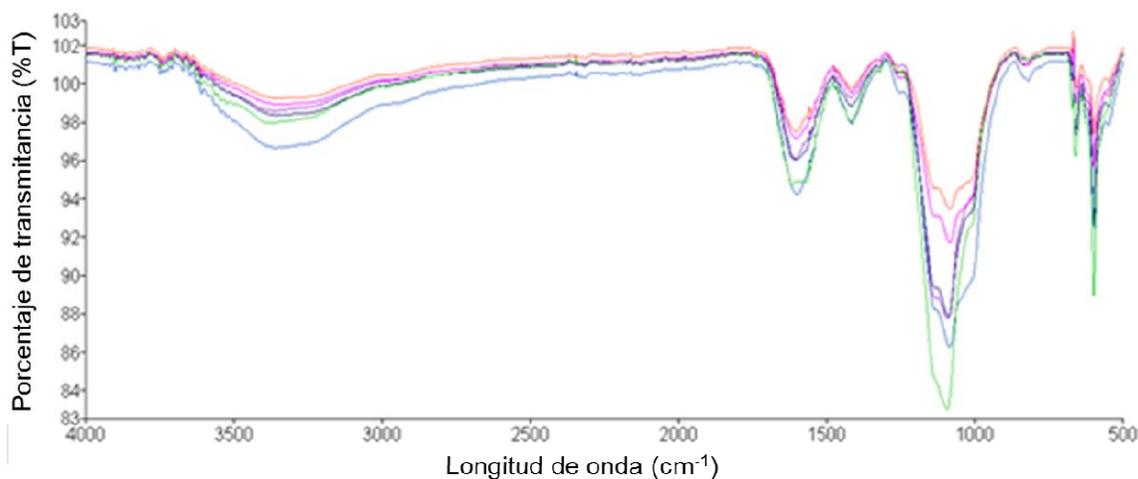


Figura 13. Espectro de Infrarrojo (IR) del fucoidan de *S. horridum* de abril-septiembre de la Bahía de La Paz, B.C.S. Longitud de onda (cm^{-1}) vs Porcentaje de transmitancia (%T) de los grupos funcionales característicos del fucoidan.

Tabla 2. Relación grupo sulfato (SO_4)-Carbohidratos (CHOH) del fucoidan.

Mes	Replica 1	Replica 2	Replica 3
	Agua de Yepis	Sauzoso	Tarabillas
Abr	1.06	1.08	1.07
May	1.06	1.07	1.09
Jun	1.04	1.05	1.04
Jul	1.07	1.04	1.08
Ago	1.04	1.04	1.03
Sep	1.07	1.06	1.05

10.3.1.5 Ensayo de la actividad anticoagulante (TP) del fucoidan obtenido a partir de *S. horridum*

En esta prueba, el tiempo de coagulación en el ensayo de TP para el blanco fue de 15.5 s.

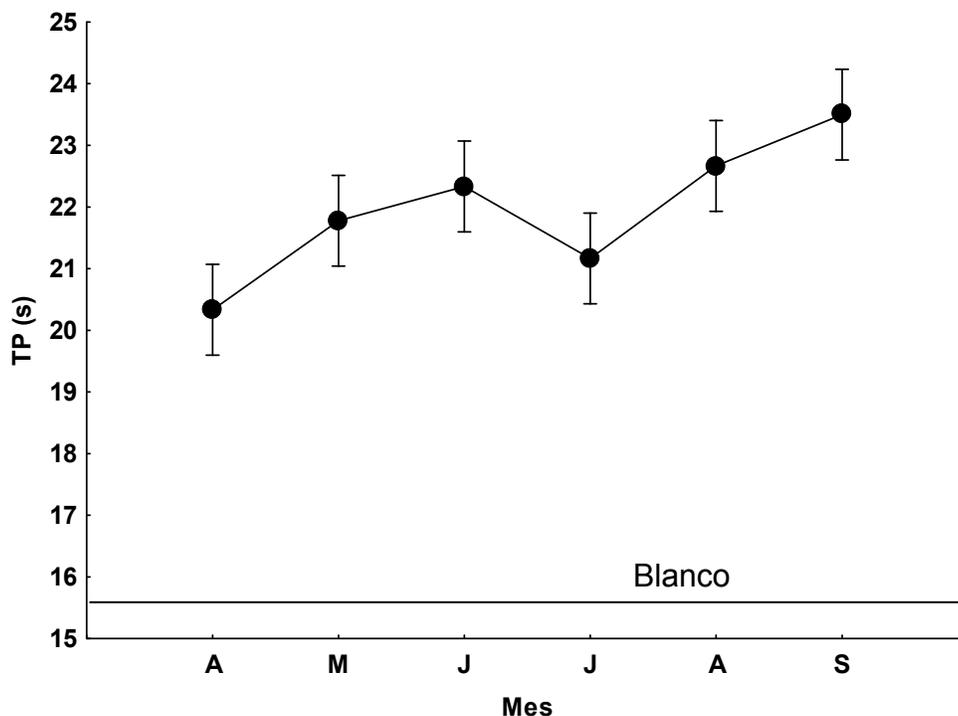


Figura 14. Tiempos de coagulación en el ensayo TP, utilizando fucoidan obtenido de *S. horridum* como reactivo anticoagulante. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

El mínimo tiempo de coagulación en el ensayo de TP se presentó en abril (20 s) y el máximo en septiembre (23.5 s). El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre los meses, réplicas y la interacción de estos ($p < 0.001$, Fig. 14) (Anexo 2).

10.3.1.6 Variación de la actividad anticoagulante del fucoidan por el método de TTPa

En el ensayo de TTPa el tiempo de coagulación del blanco fue de 42.8 s y en todas las muestras, se obtuvo un tiempo mayor a 300 s por lo que el resultado se reporta para la concentración de fucoidan ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) que duplicó el tiempo de coagulación del control.

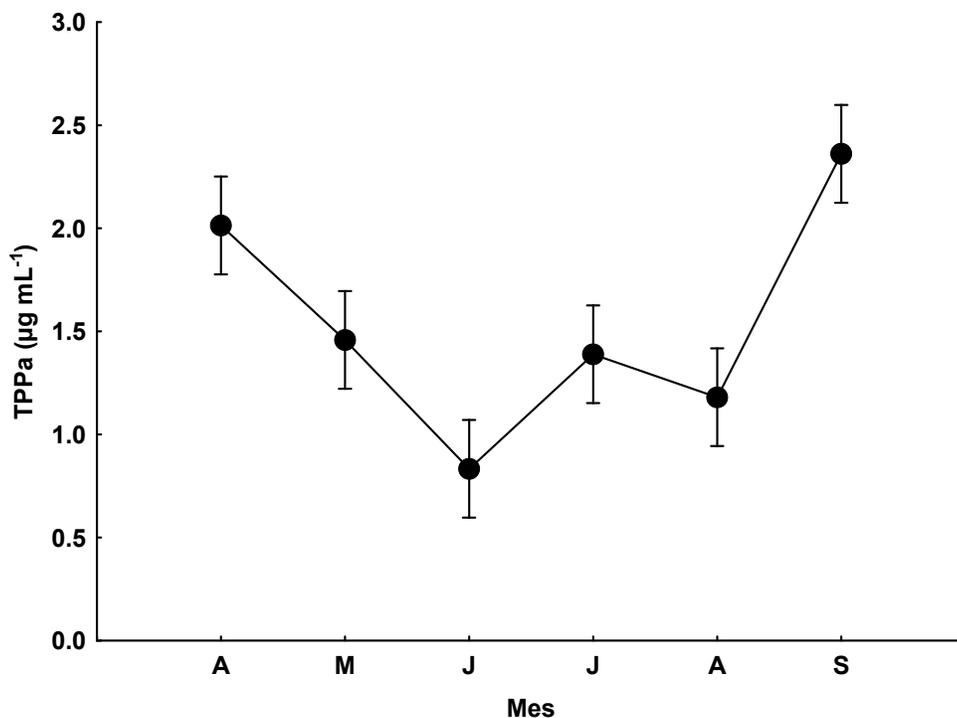


Figura 15. Concentración de fucoidan de *S. horridum* utilizado como reactivo anticoagulante en el ensayo TPPa. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

La mayor actividad anticoagulante TPPa se presentó en junio ($0.83 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y la menor en septiembre ($2.36 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). El análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los meses, réplicas y la interacción de estas ($p < 0.001$, Fig. 15) (Anexo 2).

10.4 Rendimiento del extracto etanólico

El mínimo rendimiento del extracto se presentó en abril (2.6%) y el máximo en septiembre (5.9%). El análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los meses, réplicas y la interacción entre estos ($p < 0.001$, Fig. 16) (Anexo 1).

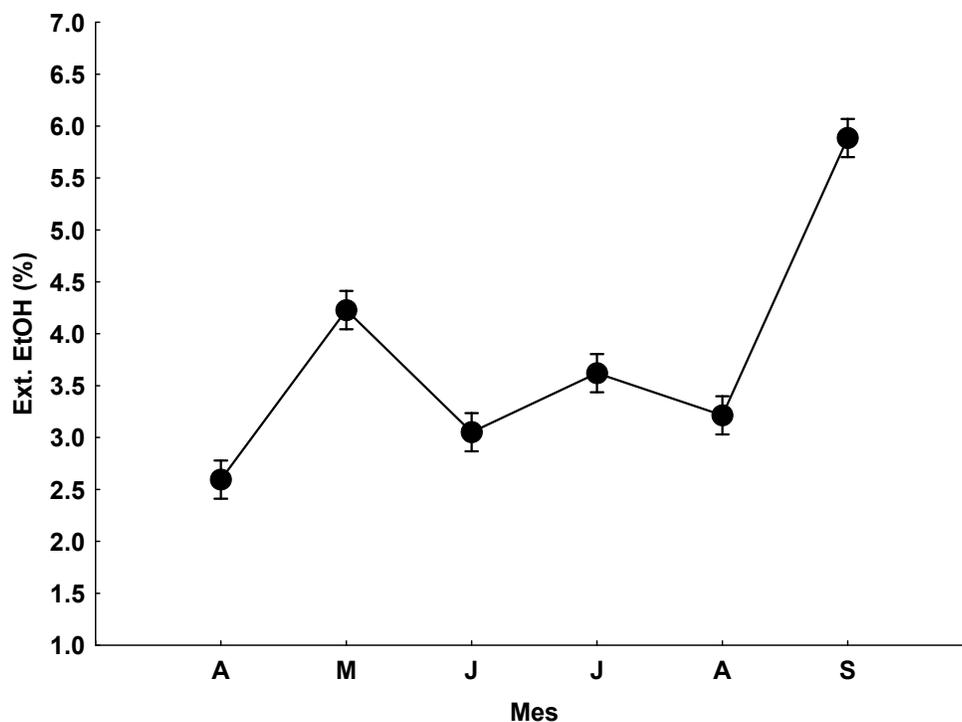


Figura 16. Variación mensual del extracto etanólico de *S. horridum*. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.4.1 Evaluación de la actividad secuestrante de radicales libres del extracto etanólico de *S. horridum*

El valor mínimo de actividad secuestrante, se presentó en septiembre (16.52%) y el máximo en julio (24.38%). El análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los meses, réplicas y la interacción de estos ($p < 0.01$, Fig. 17) (Anexo 2).

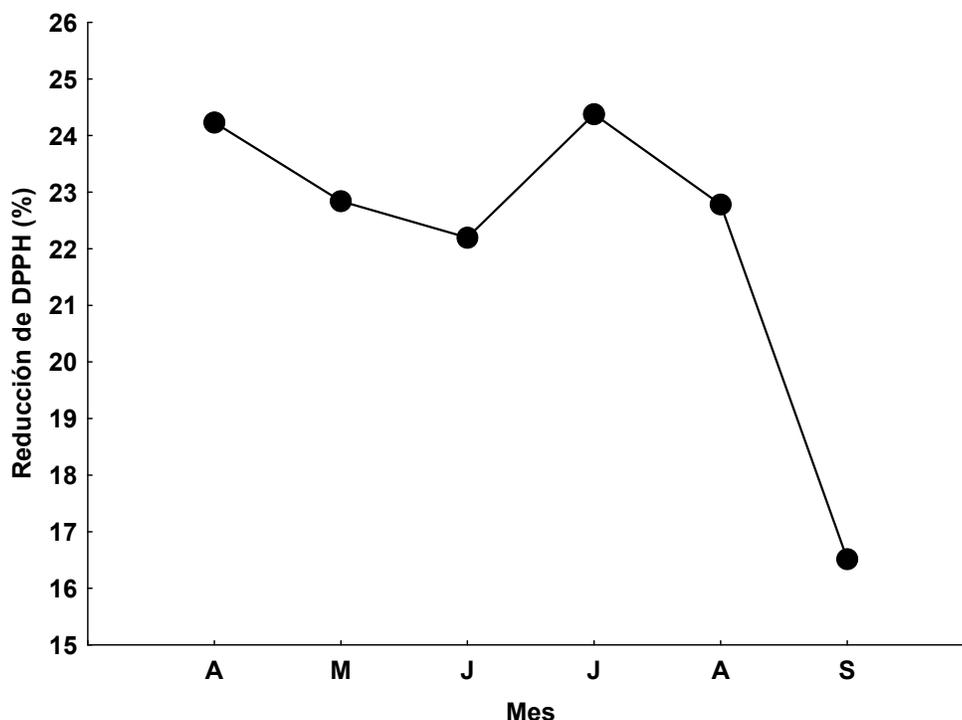


Figura 17. Actividad secuestrante en función de la reducción del reactivo DPPH (%) del extracto etanólico extraído de *S. horridum*. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.4.2 Evaluación de la actividad antibacteriana

De los 18 extractos analizados, el 22% (4) fueron activos. Los extractos de mayo presentaron actividad contra las cepas de *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* y *Staphylococcus aureus*. El extracto de julio mostró actividad contra *Staphylococcus aureus*. Ningún extracto mostró actividad contra *Pseudomona aeruginosa*.

10.5 Variación mensual de la talla promedio de *S. horridum* en tres localidades de la Bahía de La Paz, B.C.S

La talla de *S. horridum* varió entre 6 y 136 cm, en el periodo estudiado. El valor mínimo se presentó en septiembre (6 a 7 cm \pm 2) y el máximo en julio en Agua de Yepis (62 cm \pm 20), en mayo en El Sauzoso (80 cm \pm 30) y también en mayo en Tarabillas (133 cm \pm 71). El análisis de varianza mostró diferencia significativa entre los meses, réplicas y la interacción de estas ($p < 0.01$). Las tallas máximas en El Sauzoso y Tarabillas presentan diferencia significativa ($p < 0.01$) con las tallas de los otros meses. Las tallas mínimas obtenidas en septiembre no presentaron diferencia significativa con la obtenida en abril en Agua de Yepis ($p > 0.05$, Fig. 18).

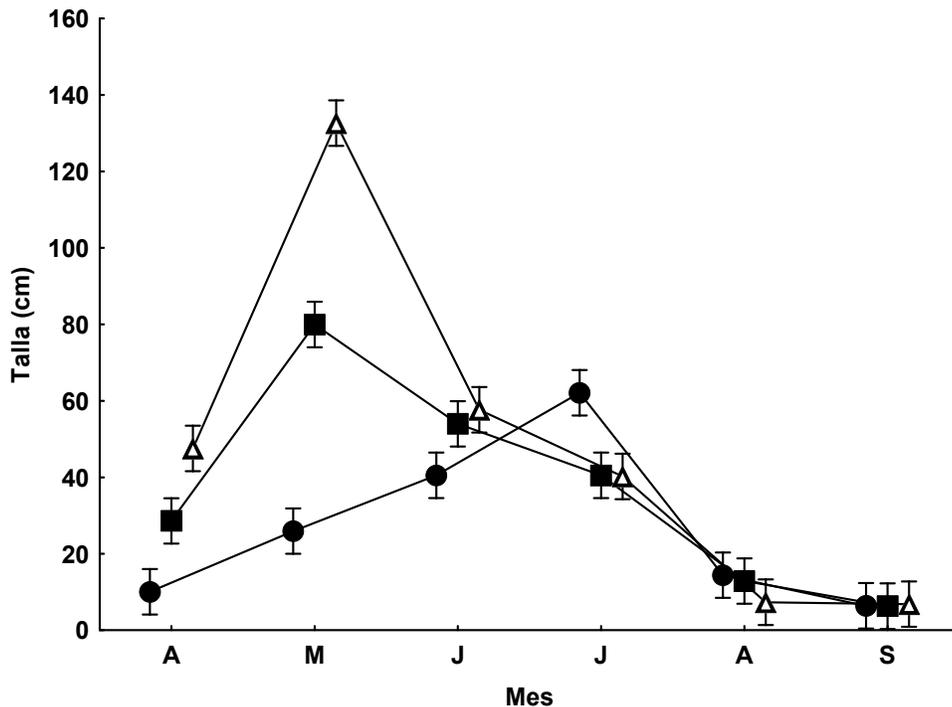


Figura 18. Variación mensual de la talla promedio de *S. horridum* en la Bahía de La Paz, B.C.S: ●Agua de Yepis, ■El Sauzoso y △Tarabillas. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.5.1 Correlación de la talla y el rendimiento (alginato, fucoïdan y extracto etanólico) de *S. horridum*

La figura 19 y 20 muestra la correlación, polinomial (a, b, c, d, e) y lineal (f) entre la talla y el rendimiento del alginato y fucoïdan de *S. horridum* para las tres localidades. Con un valor de R^2 de 0.32, 0.65 y 0.84 para alginato y 0.53, 0.50 y 0.79 para fucoïdan, respectivamente. El valor de R^2 para todas las localidades es positivo. El alginato obtenido de *S. horridum* en Tarabillas está más altamente correlacionados, que el obtenido en Agua de Yepis y El Sauzoso. El fucoïdan presentó correlación positiva para las tres localidades (Fig. 19 y 20).

La figura 21 muestra la correlación polinomial entre la talla (cm) y el rendimiento del extracto etanólico de *S. horridum* para las tres localidades en el año 2013. El valor de R^2 fue de 0.30, 0.53 y 0.28, en Agua de Yepis (A.Y), El Sauzoso (S) y Tarabillas (T), respectivamente. El extracto etanólico obtenido de *S. horridum* en El Sauzoso está más altamente correlacionado que el obtenido de *S. horridum* en Agua de Yepis y Tarabillas (Fig. 21).

10.5.1.1 Correlación talla-rendimiento (alginato)

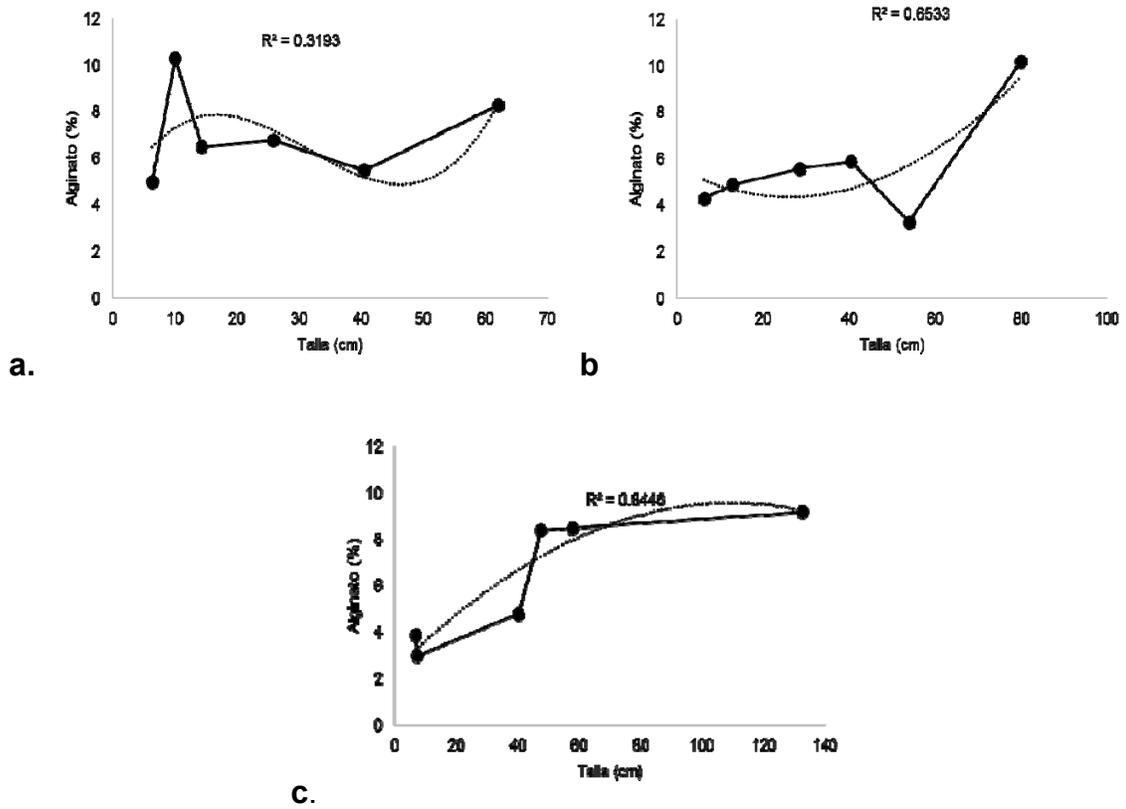


Figura 19. Correlación de la talla (cm) y el rendimiento de alginatos de *S. horridum*: a. talla-alginato en Agua de Yepis (A.Y). b. talla alginato en El Sauzoso (S). c. talla-alginato en Tarabillas (T) ● Rendimiento.

10.5.1.2 Correlación talla-rendimiento (fucoidan)

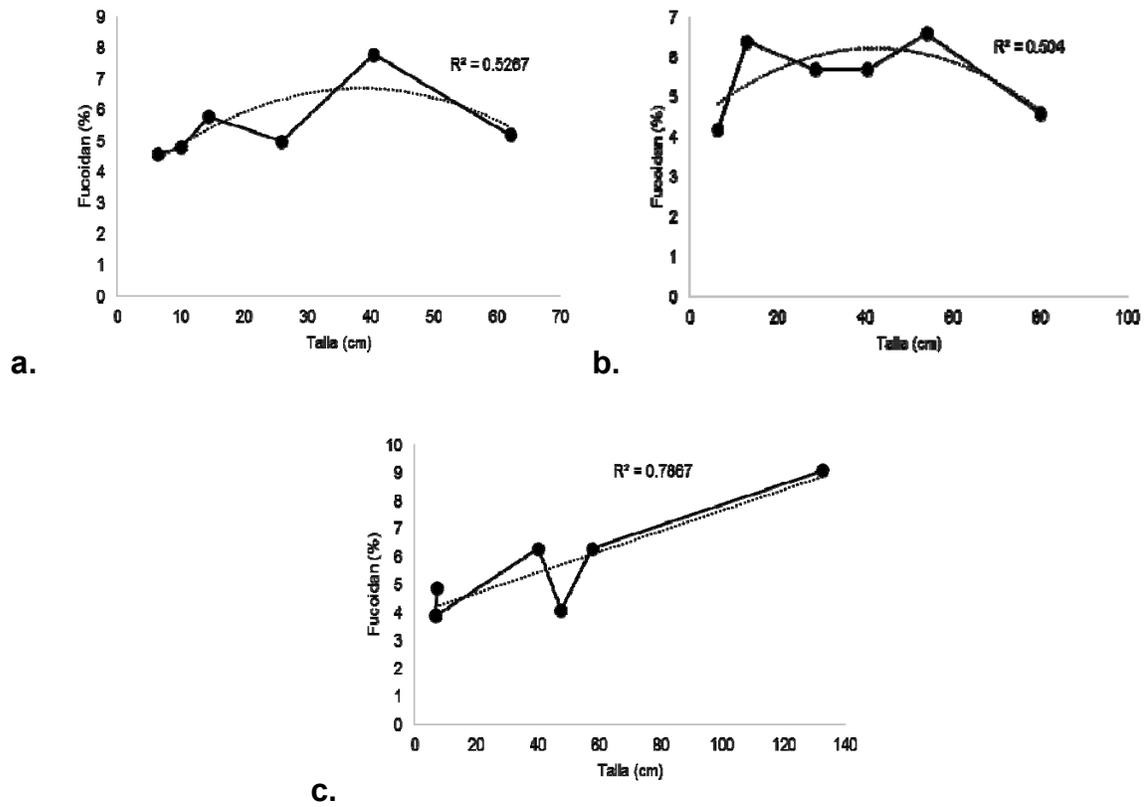


Figura 20. Correlación de la talla (cm) y el rendimiento del fucoidan de *S. horridum*: a. talla-fucoidan en A.Y. b. talla-fucoidan en S. c. talla-fucoidan en T. ● Rendimiento.

10.5.1.2 Correlación talla-rendimiento (extracto etanólico)

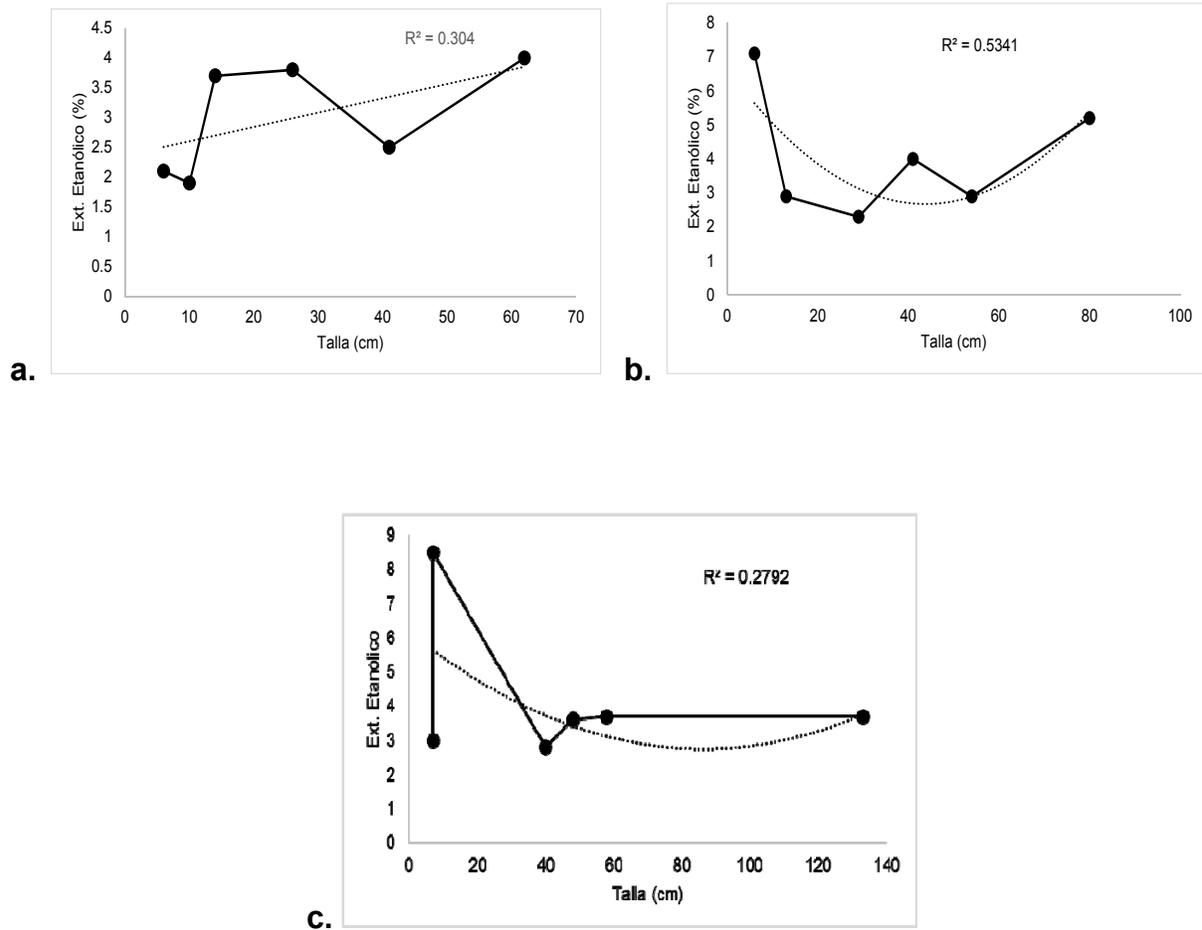


Figura 21. Correlación de la talla (cm) y el rendimiento del extracto etanólico de *S. horridum*: a. talla-rendimiento en A.Y. b. talla-rendimiento en S. c. talla-rendimiento en T. ●Rendimiento.

10.6 Variación mensual del contenido de nutrientes (amonio, nitritos, nitratos y ortofosfatos) y temperatura (°C) en Agua de Yepis en 2013 (marzo-noviembre)

El contenido de amonio varió de <0.100 a 3.4 μM . El mínimo valor se presentó para los meses de marzo-junio (<0.100 μM) y el máximo para octubre (3.4 μM). El análisis de varianza mostró que hay diferencia significativa ($p < 0.05$) en el contenido de amonio entre los meses (marzo-noviembre) ($p < 0.05$). Entre los meses de marzo-junio

no se presentó diferencias significativas ($p > 0.05$). La concentración de octubre no fue significativamente diferente ($p > 0.05$) con septiembre ($p = 0.23$) y noviembre ($p > 0.05$) (Fig. 22a, Anexo 3).

El contenido de nitritos varió de < 0.100 a $1.78 \mu\text{M}$. El valor mínimo se presentó de julio a octubre ($< 0.100 \mu\text{M}$) y el máximo en abril ($1.78 \mu\text{M}$). El análisis de varianza mostró que hay diferencia significativa ($p < 0.05$) en el contenido de nitritos entre los meses (marzo-noviembre) ($p < 0.05$). Abril difiere significativamente ($p < 0.05$) con todos los otros meses analizados ($p < 0.05$) (Fig. 22b, Anexo 3).

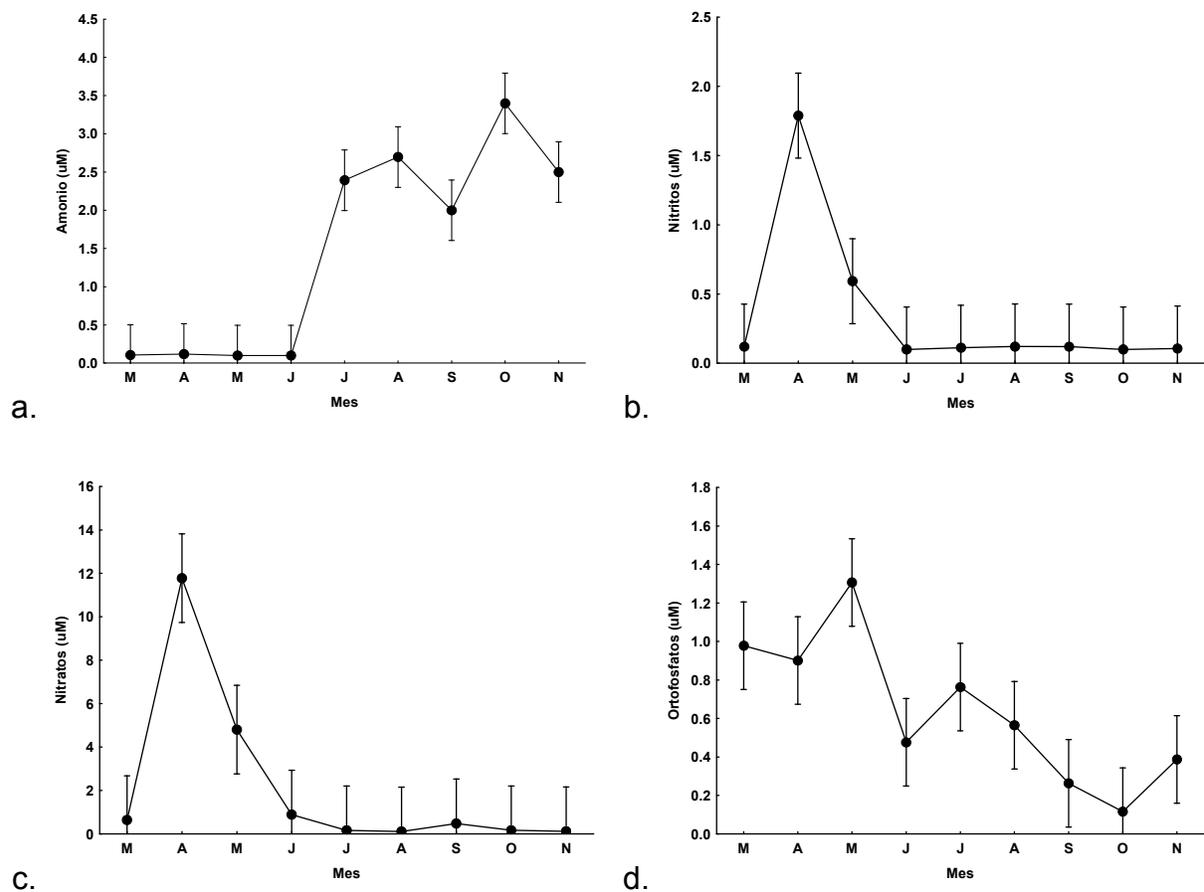
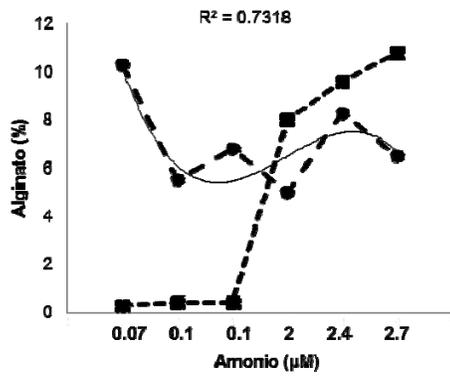


Figura 22. Variación mensual del contenido de amonio, nitritos, nitratos y ortofosfatos (μM) en Agua de Yepis, Bahía de La Paz, B. C. S., en el año 2013 (marzo-noviembre). Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

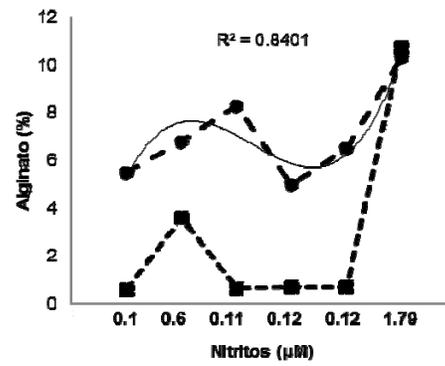
El contenido de nitratos varió entre <0.111 y $11.78 \mu\text{M}$. El valor mínimo se presentó en septiembre ($0.111 \mu\text{M}$) y el máximo en abril ($11.78 \mu\text{M}$). El análisis de varianza mostró que hay diferencia significativa ($p<0.05$) en el contenido de nitratos para los meses de abril a noviembre ($p<0.05$). Abril fue significativamente diferente que el resto de meses analizados ($p<0.05$) (Fig. 22c, Anexo 3).

El contenido de ortofostafos varió entre 0.12 y $1.31 \mu\text{M}$. El mínimo valor se presentó en octubre ($0.12 \mu\text{M}$) y el máximo en mayo ($1.31 \mu\text{M}$). El análisis de varianza mostró que hay diferencia significativa ($p<0.05$) en el contenido de ortofostafos para los meses de abril a noviembre ($p<0.05$). En mayo, se presentó la máxima concentración de ortofostafos y no fue significativamente diferente con marzo y abril, ($p>0.05$). Sin embargo difiere significativamente con los otros meses analizados (junio-noviembre) ($p<0.05$) (Fig. 22d, Anexo 3).

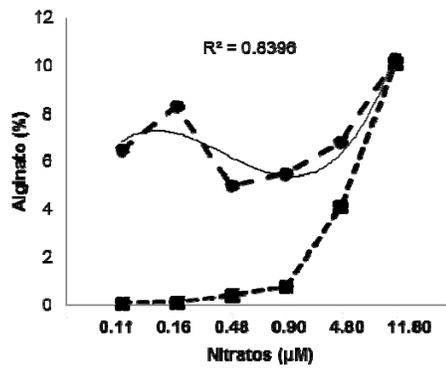
Las figuras 23 y 24 muestran la correlación polinomial positiva entre nutrientes-alginato (a, b, c, d) y fucoidan (e, f, g, h) extraído de *S. horridum* en Agua de Yepis. El alginato está altamente correlacionado con los nutrientes (amonio, nitritos, nitratos y ortofostafos), con un valor de R^2 de 0.73, 0.84, 0.83 y 0.92, respectivamente. El fucoidan está más altamente correlacionado con los nitritos (0.64), que con el amonio (0.30), nitratos (0.30) y ortofostafos (0.24). El extracto etanólico presentó una mayor correlación con el amonio (0.46) y los ortofostafos (0.43) (Fig. 23, 24 y 25).



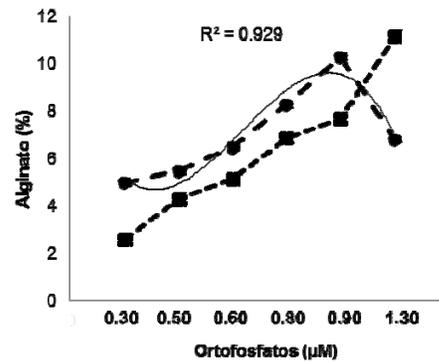
a.



b.



c.



d.

Figura 23. Correlación nutrientes-rendimiento de alginato (A) a. amonio-A. b. nitritos-A. c. nitratos-A. d. ortofostafos-A. ●Rendimiento (%), ■Nutriente (µM).

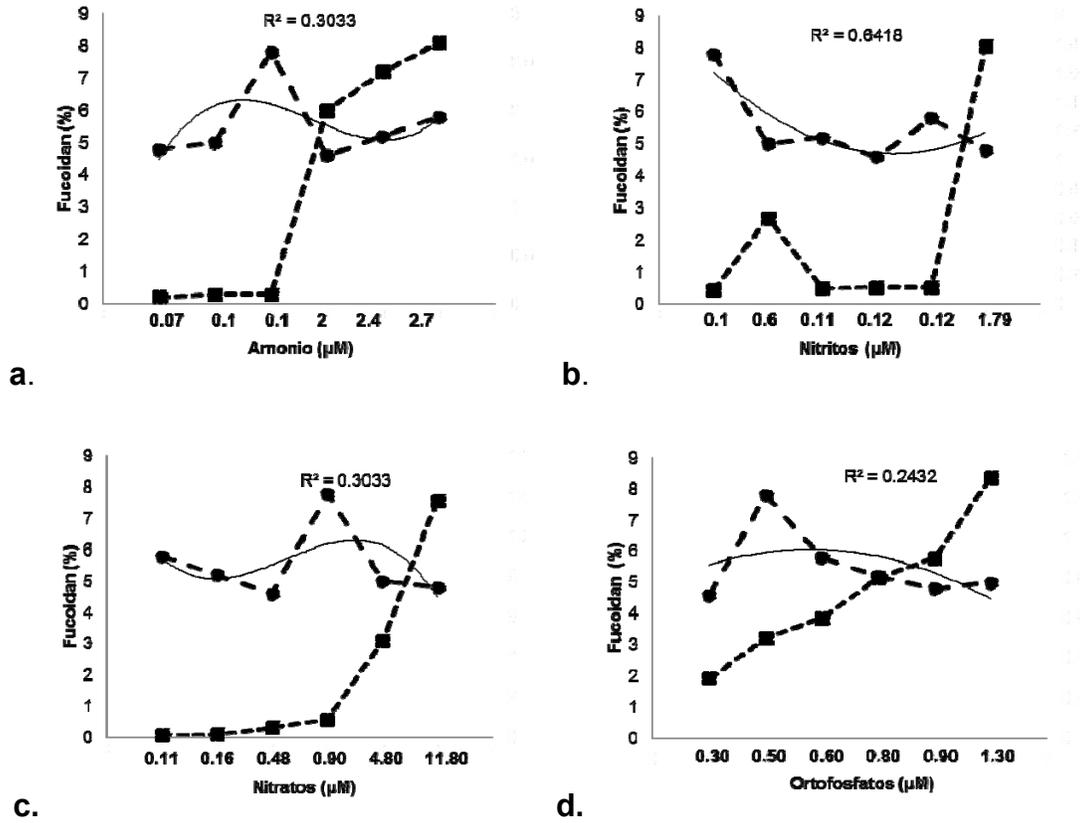


Figura 24. Correlación nutrientes-rendimiento de fucoidan (F). a. amonio-F. b. nitritos-F, c. nitratos-F. d. ortofosfatos-F. ●Rendimiento (%), ■Nutriente (µM).

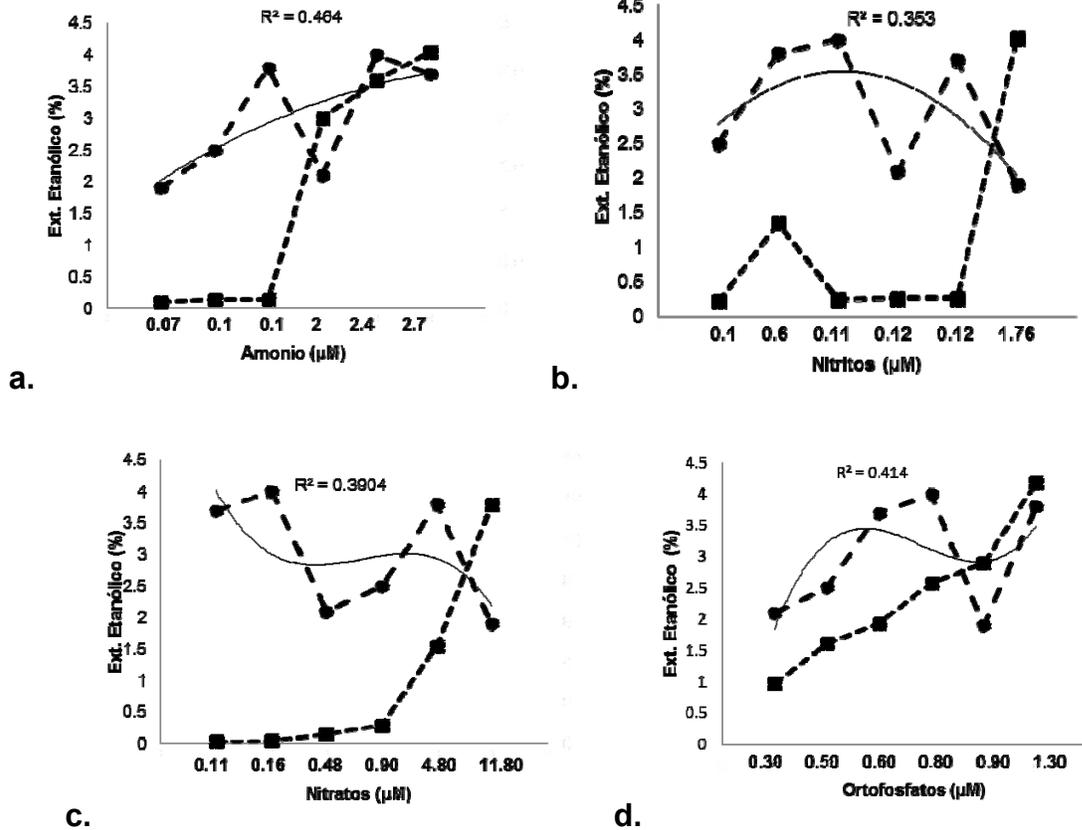


Figura 25. Correlación nutrientes-rendimiento de extracto etanólico (E.E). a. amonio- E.E. b. nitritos- E.E. c. nitratos- E.E. d. ortofosfatos- E.E. ●Rendimiento (%), ■Nutriente (μM).

10.6.6 Variación mensual de la temperatura (°C) en Agua de Yepis, Bahía de La Paz, B. C. S. en el año 2013 (febrero-noviembre)

La temperatura del agua de mar en Agua de Yepis varió de un mínimo en febrero (22.1°C) a un máximo en agosto (29.7°C). El análisis de varianza mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) en la temperatura para febrero a noviembre de 2013. Para los meses de junio-octubre no mostró diferencia significativa, cuando se presentaron los máximos valores de temperatura (27-29°C). En mayo, se presentó el mínimo valor de temperatura y no fue significativamente diferente a febrero ($p < 0.05$, Fig. 26) (Anexo 3).

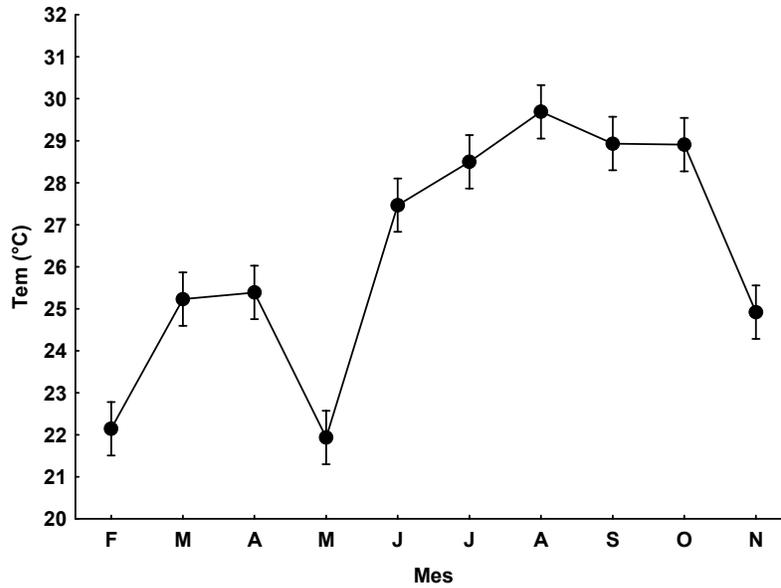


Figura 26. Variación mensual de la temperatura (°C) en Agua de Yepis, Bahía de La Paz, B. C. S. Las barras verticales representan la desviación estándar del valor promedio.

10.6.6.1 Correlación temperatura-nutrientes en Agua de Yepis

La figura 27 muestra la correlación lineal positiva entre la temperatura y el amonio. El valor de R^2 es de 0.63. La temperatura presenta una correlación lineal negativa con los nitritos, nitratos y ortofosfatos. El valor de R^2 para cada uno de ellos es 0.37, 0.45 y 0.67, respectivamente. Los ortofosfatos es el nutriente que presenta la mayor correlación con la temperatura (Fig. 27).

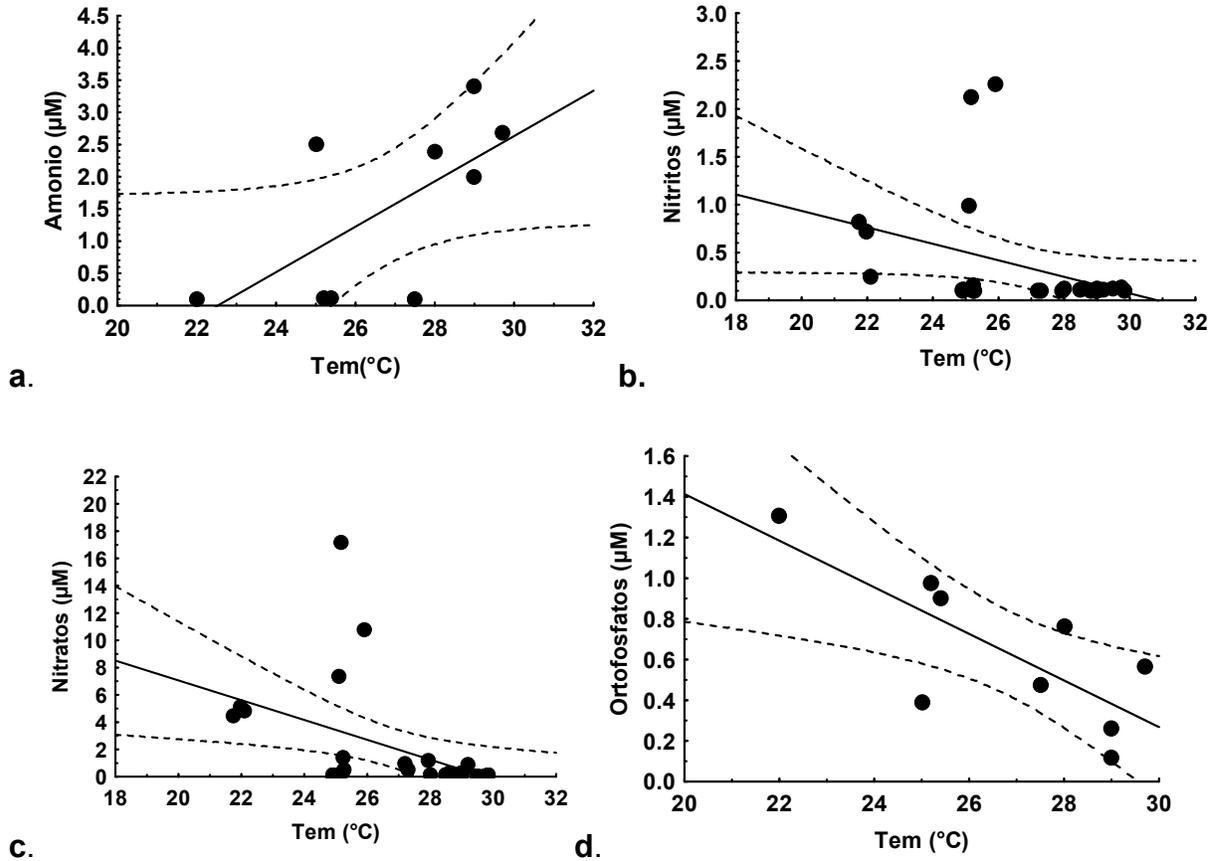


Figura 27. Correlación temperatura-nutrientes. a. temperatura-amonio, b. temperatura-nitritos, c. temperatura-nitratos y c. temperatura-ortofosfatos. ● nutriente (μM).

10.6.6.2 Correlación temperatura-rendimiento (alginato, fucoidan y extracto etanólico) de Agua de Yepis en el 2013

La figura 28 muestra la correlación polinomial positiva entre la temperatura y el rendimiento de alginatos, fucoidan y extracto etanólico. El valor de R^2 para cada uno de ellos es 0.30, 0.19 y 0.46, respectivamente. El extracto etanólico está más altamente correlacionado que el alginato y el fucoidan (Fig. 28).

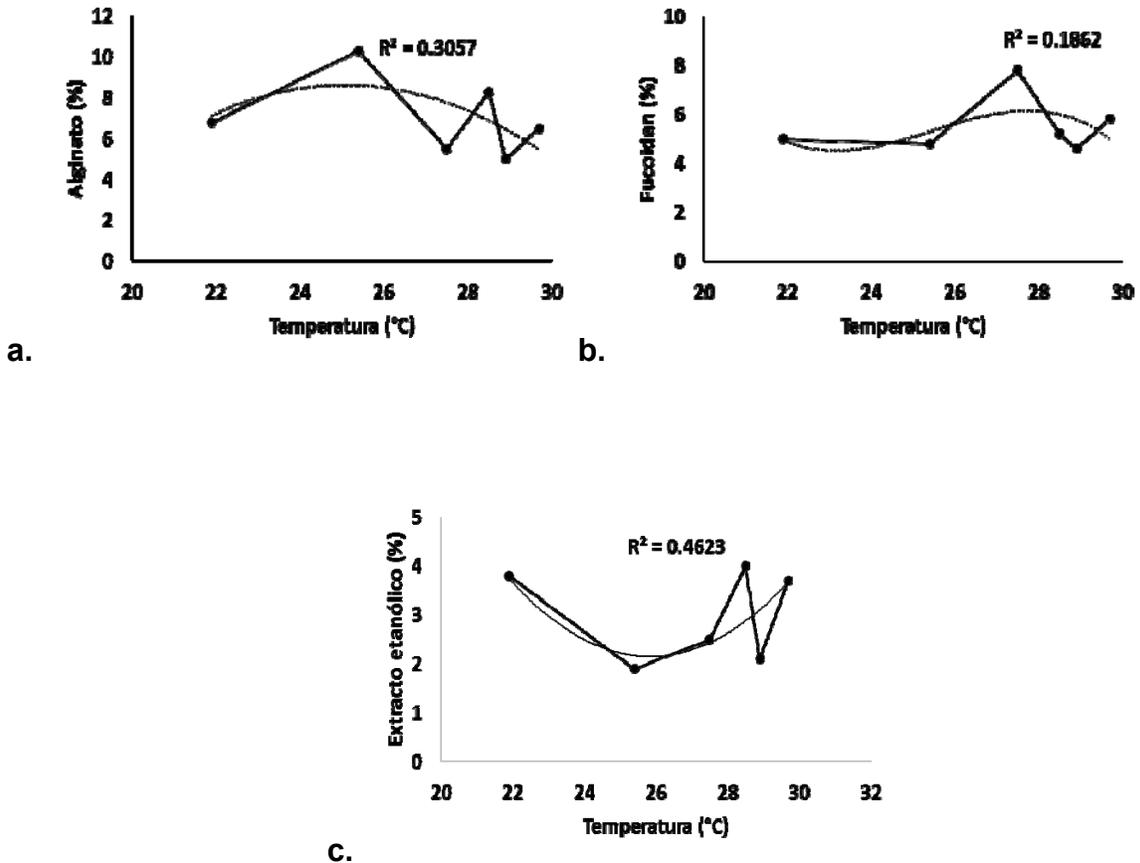


Figura 28. Correlación temperatura-rendimiento: alginato (A), fucoidan (F) y extracto etanólico (E.E). a. temperatura-rendimiento (A), b. temperatura-rendimiento (F), c. temperatura-rendimiento (E.E) ●Rendimiento (%), ■Temperatura (°C).

11. Discusión

11.1 Composición química proximal

El alga café *S. horridum* de la Bahía de La Paz es fuente principal de carbohidratos (44 a 57.7%). Estos valores sugieren que la cantidad de extractos de uso comercial que se puede obtener del alga, como alginatos y fucoidan, puede llegar a representar la mitad de los carbohidratos presentes en el alga, el resto de los carbohidratos comprenden la celulosa, manitol y laminaran. *S. horridum* puede ser una mejor fuente de carbohidratos en comparación a otras especies de algas pardas como *S.*

sinicola (38.2%), *S. herporizum* (43.5%) y una especie aun no identificada de Colombia (41%) lo que justifica su potencial utilización como alimento para ganado, producción de bioetanol y sustrato para la elaboración de compostas y biofertilizantes. En este sentido, esta alga es compatible con otras especies abundantes en México del orden laminariales, como *Eisenia arborea* y *Macrocystis pyrifera* que contienen cantidades similares de carbohidratos (43-54 y 46%, respectivamente) (Hernández-Carmona *et al.*, 2009, Tabla 3).

Las cenizas en *S. horridum* presentan un valor promedio de 34% con el máximo valor en marzo y julio (39%). Esto indica que *S. horridum* acumula un mayor contenido mineral que *Eisenia arborea* (24%) (Hernández-Carmona *et al.*, 2009) y similar al valor reportado para *S. sinicola* (38%) (Carrillo-Domínguez *et al.*, 2002), debido a que esta última está en sinonimia con *S. horridum*. Las cenizas reportadas para *M. pyrifera* (31-41%) (Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991) fueron similares a las reportadas para *S. horridum* en el presente estudio. Si bien el contenido de cenizas no tiene un valor nutricional, la gran cantidad de oligoelementos que presenta es de suma importancia para la industria agroalimentaria, ya que provee de nutrientes esenciales para el mejor crecimiento y desarrollo de las plantas, por lo que es factible el uso de *S. horridum* para la elaboración de extractos líquidos de algas como bioestimulantes en cultivos terrestres (FAO, 2003, Briceño *et al.*, 2013 y Hernández-Herrera *et al.*, 2014).

Tabla 3. Composición química de las principales algas cafés de la península de Baja California.

Especie	Proteínas (%)	Cenizas (%)	Fibra (%)	Carbohidratos (%)	Referencia
<i>M. pyrifera</i>	5--7	31--41	4.4--8.8	46	Rodriguez-Montesino y Hernández-Carmona 1991 Carrillo-Domínguez <i>et al.</i> , 2002 Castro <i>et al.</i> , 1994
<i>E. arborea</i>	5--11	19--29	4.3--6.4	43--54	Hernández-Carmona <i>et al.</i> , 2009
<i>S. sinicola</i>	6.97	38.3	6.46	38.2	Carrillo-Domínguez <i>et al.</i> , 2002
<i>S. herporizum</i>	5.12	36.7	5.82	43.5	
<i>Sargassum.sp</i>			12.7	41	Gojon-Báez <i>et al.</i> , 1998
<i>S. horridum</i>	5.7-7.8	30.4-39	7.1-8.2	45--55	Este estudio

A pesar de que se ha reportado que el contenido de proteínas, en las algas pardas como *S. horridum* es inferior al de otros grupos de algas como las verdes y las rojas, el suministro como alimento con 6.7% no es despreciable y puede ser útil en zonas donde se tiene poco alimento para el ganado, como es el caso de la Península de Baja California. El extracto etéreo (grasas, vitaminas y pigmentos) se encuentra en bajas concentraciones y no contribuirá al suministro de grasas en los consumidores. La cantidad de fibra cruda reportada para *S. horridum* fue superior a lo reportado para especies del mismo género, como *S. sinicola* (6.5%) (Carrillo-Domínguez *et al.*, 2002; Hernández-Carmona *et al.*, 2009). La fibra cruda, no tiene un valor nutricional, pero ayuda en mantener los movimientos peristálticos intestinales.

El valor calórico presentado por las algas marinas es muy bajo, en el caso particular de *S. horridum* (2,572 cal·g⁻¹), es inferior al reportado para cereales y leguminosas (3,700 cal·g⁻¹). Este contenido ha creado una mayor demanda de las algas como alimento en oriente y va en aumento en otros países de Europa ya que son consideradas como alimento balanceado y dietético.

11.2 Alginato

En el año 2012 se realizó un estudio previo a la realización de este trabajo, para calibrar métodos de extracción, encontrando el máximo rendimiento en mayo (20.2%). Esto sugiere que el rendimiento obtenido en el año 2013 fue anómalo para la especie. Por lo tanto se sugiere tomar con reserva el valor 8.6% y considerar que esta alga en el caso de explotación tendrá un rendimiento de alginato más cercano al 20%. Otros trabajos realizados con la misma especie en años pasados confirman esta suposición (Tabla 4). Por ejemplo, los trabajos de Hernández-Carmona *et al.*, 1985 y Rodríguez-Montesinos *et al.*, 2008, reportan rendimientos superiores al 13%. Adicionalmente el manto Agua de Yepis en el 2012 mostró un crecimiento normal en el periodo de febrero a septiembre, sin embargo en 2013, el crecimiento del manto se retrasó hasta abril, mes donde se encontraron apenas reclutas jóvenes de unos cuantos centímetros ya que los meses anteriores el manto total se encontraba

sepultado por arena, debido a un periodo de lluvia anormal en la zona. La época de reproducción (abril-mayo) se presentó para el mes de junio.

El rendimiento del alginato de *S. sinicola* (en sinonimia con *S. horridum*) (7-13%) (Rodríguez-Montesinos *et al.*, 2008), es menor al reportado en el presente estudio, sin embargo se reportan en la misma época de recolecta mayor contenido de alginato para *S. sinicola* (25 a 35%) (Hernández-Carmona, 1985).

Tabla 4. Comparación del rendimiento (%) de alginatos de *S. horridum* con el de otras algas.

Especie	Rendimiento (%)	Estación	Autor
<i>Sargassumsiliquosum</i>	41		Ragaza and Hurtado, 1999
<i>S. sinicola</i>	25.31-35.90	Primavera-Verano	Hernández-Carmona, 1985
<i>S. myriocystum</i>	15.9-34.5	Agosto	Chennubhotla <i>et al.</i> , 1982
<i>S. carpophyllum</i>	32		Ragaza and Hurtado, 1999
<i>S. ilicifolium</i>	22.3-30.8	Febrero	Chennubhotla <i>et al.</i> , 1982
<i>S. polycystum</i>	27.64	Febrero	Sundararaju <i>et al.</i> 2003
<i>S. duplicatum</i>	20.71-27.63		Istini <i>et al.</i> , 1994
<i>S. vulgare</i>	25.46		Rao y Alankararao , 1978-1988
<i>S. fluitans</i>	24.5		Thomas <i>et al.</i> , 2004
<i>S. ilicifolium</i>	23		Ragaza and Hurtado, 1999
<i>S. horridum</i>	8.6	Agosto	Este estudio
<i>S. sp</i>	20.9 ± 3.5	Abril-Mayo	Camacho y Hernández Carmona, 2012
<i>S. oligocystum</i>	20.5		Thomas <i>et al.</i> , 2004
<i>S. tenerimum</i>	18.32		Redekar and Raje, 2000
<i>S. filipendula</i>	17.4 ± 1.6	Mayo	García-Ríos <i>et al.</i> , 2012
<i>S. vulgare</i>	16.9		Torres <i>et al.</i> , 2007
<i>S. cymosum</i>	15.9 ± 1.2	Abril-Mayo	Camacho y Hernández Carmona, 2012
<i>S. sinicola</i>	13.7	Primavera	Rodríguez-Montesinos <i>et al.</i> , 2009
<i>S. mangarevense</i>	9.3		Zubia <i>et al.</i> , 2008
<i>Ecklonia cava</i>	31.56-33.95		Istini <i>et al.</i> , 1994
<i>Laminaria japonica</i>	31.62-32.16		Istini <i>et al.</i> , 1994
<i>Macrocystis Pyrifera</i>	28.9-31.52	Primavera-Verano	Hernández-Carmona, 1985
<i>Eisenia arborea</i>	28.64	Otoño	Hernández-Carmona, 1985
<i>Turbinaria turbinata</i>	24.6 ± 3.3	Septiembre	García-Ríos <i>et al.</i> , 2012
<i>Dictyota caribaea</i>	7.4 ± 1.1	Enero	García-Ríos <i>et al.</i> , 2012
<i>Padina perindusiata</i>	5.4 ± 0.2	Mayo	García-Ríos <i>et al.</i> , 2012

En esta investigación se encontró un rendimiento máximo de alginato en agosto (8.6%). Este valor es inferior al obtenido para otras especies del género, por ejemplo:

S. ilicifolium (23%), *S. carpophyllum* (32%) y *S. siliquosum* (41%) (Ragaza y Hurtado, 1999), *S. tenerrimum* (18.32%) (Redekar y Raje, 2000), *S. oligocystum* (20.5%); *Sargassum sp.* (20.9%) y *S. filipéndula* (17%), especies recolectadas en la costa del caribe colombiano (Camacho y Hernández-Carmona, 2012). Sin embargo los valores reportados en este estudio son mayores a los reportados a otros previamente publicados para *Dictyota caribaea* (7.4%) y *Padina perindusiata* (5.4%), especies recolectadas en la península de Yucatan (García-Ríos *et al.*, 2012).

Viscosidad y fuerza de gel del alginato

La viscosidad para el alginato obtenido en este estudio fue baja (38 a 73 m Pa·s). Sin embargo, otros estudios han reportado valores de viscosidad similares para especies del mismo género: 12.-21 m Pa·s (Camacho y Hernández-Carmona, 2012) y 41-191 m Pa·s (Rodríguez-Montesinos *et al.*, 2008).

Estos valores son considerados bajos para muchas aplicaciones de los alginatos. Sin embargo, en algunos casos, la industria alimenticia y la farmacéutica requiere alginato de baja viscosidad (<150 m Pa·s). En alimentos son utilizados como agente gelatinizador, espesante, defloculante, helados de crema, estabilizador en bebidas, reestructurados, mermeladas, productos de carne, entre otros. En la farmacéutica son usados en mascarillas faciales, para aumentar la viscosidad de agentes de estabilización para cosméticos y para la eliminación de metales pesados del cuerpo humano (<http://spanish.alibaba.com/product-gs/ultra-low-viscosity-sodium-alginate-food-grade-1388577221.html?s=p>). La fuerza de gel del alginato de *S. horridum* tuvo valores superiores a 800 g·cm⁻² para todos los meses. Estos valores son favorables para el uso de los alginatos en algunas aplicaciones comerciales como la elaboración de microencapsulados de bacterias benéficas, para la liberación lenta de productos y para mejorar el crecimiento de plantas terrestres (Yabur *et al.*, 2007).

La correlación de viscosidad-fuerza de gel del alginato obtenido fue altamente significativa. Se observó una correlación lineal positiva de 0.89, 0.78 y 0.81 en Agua

de Yepis, El Sauzoso y Tarabillas, respectivamente. Estos valores sugieren que las propiedades viscoelásticas de los alginatos obtenidos están estrechamente relacionadas entre sí y constituye un nuevo hallazgo, ya que esta correlación no había sido descrita anteriormente.

Aunque el rendimiento del alginato no fue mayor al 8.6% (agosto), este presenta valores de viscosidad y fuerza de gel propios de alginatos de uso industrial, especialmente después de la etapa reproductiva de la especie. Esto nos sugiere que *S. horridum* es fuente potencial de alginato y se podría cosechar en el mes de agosto, cuando ha concluido su época reproductiva, presenta su mayor rendimiento de alginato y su fuerza de gel es superior a 1000 g·cm⁻².

11.3 Fucoïdan

En el estudio previo del 2012 en Agua de Yepis, el máximo rendimiento se obtuvo en mayo (13%). Sin embargo para 2013 en esta misma localidad y el mismo mes, el mayor rendimiento fue de 6.8%. Aunque es superior al reportado para otras especies como *S. horneri* (4.3%), *S. tenerrimum* (3.1%) y *S. plagiophyllum* (6%) (Preeprame *et al.*, 2001; Sinha *et al.*, 2010 y Suresh *et al.*, 2013). Los resultados previos sugieren que el rendimiento puede llegar a 13%, debido a que consideramos el crecimiento de *S. horridum* durante 2013 anómalo, lo cual explicaría los bajos rendimientos obtenidos. En comparación al fucoïdan extraído de otros géneros se obtuvo un rendimiento mayor al de *Laminaria japónica* (1.9%), *Saccharina longicrusis* (1.3%) y *Ascophyllum nodosum* (2.6%) (Zhang *et al.*, 2003 y Rioux *et al.*, 2007), respectivamente (Tabla 5). Otras especies de algas pardas presentan un rendimiento de fucoïdan mayor al 20%, como el de *Turbinaria turbinata*, *Fucus distichus*, *Dictyota caribaea* y *Padina pirindusiata* (Bilan *et al.*, 2004; García-Ríos *et al.*, 2012).

La proporción en el contenido de fucoïdan en las algas pardas es variable (1.1-32.1%) (Tabla 5). Esto se debe a la diferencia en el desarrollo de la especie y a la influencia de otros factores, como las condiciones ambientales del lugar en el que se

desarrolla (temperatura, nutrientes, salinidad, intensidad luminosa, entre otros), la época del año y el método de extracción (Lobban y Harrison, 1994). En nuestro trabajo consideramos que las anomalías ambientales mencionadas para el 2013 fueron responsables de los bajos rendimientos. Sin embargo y a pesar del bajo rendimiento, el fucoïdan es un producto de alto valor agregado. El precio por gramo de fucoïdan de grado reactivo oscila alrededor de los \$ 6,000 pesos (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/f5631?lang=en®ion=>).

Si consideramos que *S. horridum* tiene un rendimiento cercano al 10% estamos hablando de \$ 60,000 pesos por cada 100 g de alga seca procesada, lo que la hace una especie altamente rentable.

Composición química y espectrofotométrica del fucoïdan

Los espectros de IR del fucoïdan obtenidos en todas las muestras de *S. horridum* muestran similitudes a los reportados por Tako *et al.* (2000) para la especie *Cladosiphon okamuranus* y para *Eisenia arborea* por Muñoz-Ochoa *et al.* (2009). Todos los espectros de infrarrojo del fucoïdan obtenido de *S. horridum* son similares, esto sugiere que es el mismo tipo de fucoïdan. El contenido de azúcares totales, fucosa y ácidos urónicos del fucoïdan variaron a lo largo de los meses estudiados, su concentración es variable, pero tiende a incrementar a medida que el alga va creciendo, con valores altos a partir del mes de junio. Los resultados obtenidos sugieren que la variación en la proporción de azúcares afecta la variación mensual de la actividad anticoagulante obtenida.

Actividad anticoagulante

El fucoïdan extraído de *S. horridum*, presentó actividad en el ensayo TP y en el TTPa, en éste último incrementó en más de 10 veces el tiempo de coagulación del control. En general los resultados demuestran que el ensayo TTPa es más sensible o

el fucoidan actúa principalmente por un mecanismo de acción que involucra a la vía intrínseca (alguna enzima o cofactor esencial), y en menor medida a la vía extrínseca (ensayo TP), aún a bajas concentraciones de fucoidan ($0.83 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Tabla 5. Comparación del rendimiento (%) del fucoidan presente en otras algas marinas.

Especie	Rendimiento (%)	Recolecta	Fuente
<i>Sargassum stenophyllum</i>	8.5	Febrero	Duarte <i>et al.</i> , 2001
<i>S. horneri</i>	4.3		Preeprame <i>et al.</i> , 2001
<i>S. tenerrimum</i>	3.1		Sinha <i>et al.</i> , 2010
<i>S. filipendula</i>	26.0 ± 1.9	Mayo	García-Ríos <i>et al.</i> , 2012
<i>S. plagiophyllum</i>	6 ± 0.3	Noviembre	Suresh <i>et al.</i> , 2013
<i>S. horridum</i>	6.8 ± 2	Mayo	Este estudio
<i>Chonda filum</i>	10.5-21		Chizhov <i>et al.</i> , 1999
<i>Fucus vesiculosus</i>	3.4-25.7		Rupérez <i>et al.</i> , 2002
<i>Laminaria japonica</i>	1.9		Zhang <i>et al.</i> , 2003
<i>Fucus distichus</i>	21.5-10.1		Bilan <i>et al.</i> , 2004
<i>Alaria fistulosa</i>	2.9-14.5		Usov <i>et al.</i> , 2005
<i>Fucus vesiculosus</i>	1.4-2.6		Rioux <i>et al.</i> , 2007
<i>Saccharina longicuris</i>	1.1-1.3		Rioux <i>et al.</i> , 2007
<i>Undaria pinnatifida</i>	8.8		Yang <i>et al.</i> , 2008
<i>Ascophyllum nodosum</i>	1.4-2.6		Rioux <i>et al.</i> , 2008
<i>Turbinaria turbinata</i>	32.1 ± 3.3	Septiembre	García-Ríos <i>et al.</i> , 2012
<i>Dictyota caribaea</i>	22.2 ± 3	Enero	García-Ríos <i>et al.</i> , 2012
<i>Padina perindusiata</i>	21.6 ± 2.5	Mayo	García-Ríos <i>et al.</i> , 2012

Para el fucoidan extraído en agua a 25°C y 80°C, de *S. horridum*, ya se había reportado actividad TTPa, sin embargo para el ensayo TP, la actividad reportada no había superado al blanco (Muñoz-Ochoa *et al.*, 2009). Esta actividad también ha sido reportada para el fucoidan extraído de otras especies de algas cafés: *Fucus vesiculosus* (Dürin *et al.*, 1997), *Ascophyllum nodosum* (Chevolot *et al.*, 1999), *Saccharina longicuris* (Cumashi *et al.*, 2007) y *Laminaria japonica* (Wang *et al.*, 2010). Nuestros resultados hasta el momento sugieren que el fucoidan de *S.*

horridum tiene gran potencial de utilización como reactivo anticoagulante. Sin embargo su uso como fármaco requiere la realización de pruebas que permitan demostrar la inocuidad del fucoidan para su uso en humanos o animales. En esta etapa, ya es posible considerarlo para el control de la coagulación sanguínea en pruebas de análisis clínicos.

11.4 Extracto etanólico

De todos los extractos obtenidos (fucoidan, alginato y extracto etanólico), a partir de *S. horridum*, el extracto etanólico fue el que presentó menor rendimiento, pero con una importante actividad.

Se observó una variación significativa entre los meses, réplicas y la interacción de estos ($p < 0.001$). Este extracto mostró ser activo contra las cepas de *Vibrio harveryi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* y *Staphylococcus aureus*.

Teniendo en cuenta que no existe un reporte que dé a conocer la variación mensual del rendimiento del extracto etanólico en ningún alga de la Bahía de La Paz, este trabajo se considera el primer reporte de la variación de extracto etanólico en *S. horridum* en México.

Actividad antioxidante del extracto etanólico

La búsqueda de compuestos antioxidantes naturales es de gran interés para los investigadores. En los últimos años se han incrementado los reportes de actividad antioxidante de las algas marinas, de los tres grupos (rojas, cafés y verdes) (Suresh *et al.*, 2012).

En nuestro estudio, la actividad antioxidante, analizada mediante la reducción del DPPH, no superó el 24%. Se ha estudiado la actividad antioxidante en otras especies pertenecientes al género *Sargassum*. Para *S. polycystum*, se reportó actividad

superior al 60% de reducción de DPPH a concentraciones de 200, 300, 500 y 750 mg mL⁻¹ (Raghavendra *et al.*, 2005). El extracto metanólico de *S. micracanthum* fue más activo que el reportado en este estudio para *S. horridum*, ya que se obtuvo una reducción de 50% del DPPH a una menor concentración del extracto (EC₅₀= 34 µg·mL⁻¹). Para *S. horridum* se realizaron pruebas de reducción del DPPH a concentraciones superiores a 100 µg·mL⁻¹ (200, 300, 400 y 500 µg·mL⁻¹), sin embargo no se presentó un porcentaje de reducción superior al 24%.

Se realizó un estudio comparativo de la actividad antioxidante (radical DPPH), para 48 algas (rojas, cafés y verdes) recolectadas en la Península de Yucatán, donde utilizaron como solvente una solución diclorometanol:metanol en una proporción 2:1 durante 20 horas. Entre las algas estudiadas se encontraron dos especies del género *Sargassum* (*S. ramifolium* y *S. pteropleuron*), las cuales redujeron el radical libre estable DPPH a la mitad a una concentración de 6.64 mg·mL⁻¹ y 7.14 mg·mL⁻¹, respectivamente. En este mismo estudio la mayor actividad antioxidante para especies de algas pardas se reportó para *Lobophora variegata* (0.32 mg·mL⁻¹), para las rodophytas se reportó en *Chondria baileyana* (2.84 mg·mL⁻¹) y en las clorophytas fue *Avrainvillea longicaulis* (1.44 mg·mL⁻¹) (Zubia *et al.*, 2008). La cantidad de fucoidan utilizado para estas especies fue superior al utilizado en el presente estudio, aunque no obtuvimos una reducción del 50% del radical libre estable DPPH a la concentración máxima de prueba (500 µg·mL⁻¹).

Otras especies de algas pertenecientes a la clase phaeophyceae han mostrado actividad antioxidante. Se ha reportado actividad antioxidante para extractos orgánicos y acuosos de *Bifurcaria bifurcata*, *Himantalia elongata*, *Saccharina latissima* y *Chondracanthus acicularis*, *Dumontia contorta*, *Gigartina pistillata*, *Mastocarpus stellatus*, *Nemalion helmintoides* y *Osmundea pinnatifida*. La especie que presentó mayor actividad fue *Bifurcaria bifurcata*, la cual fue atribuida al contenido de fenoles que presentó el extracto. El resultado de esta investigación demuestra el potencial de compuestos con actividad antioxidante que tienen las algas pardas (Jiménez-Escrig *et al.*, 2012). Para otras especies de algas se ha

obtenido una mayor actividad antioxidante. Por ejemplo, la actividad presentada por *U. lactuca* (14.20%) (Meenakshi *et al.*, 2012) y en *S. tenerrimum* el porcentaje de actividad fue de 64.66% (Vijayabaskar *et al.*, 2012).

En el extracto etanólico se obtiene la mayor proporción de los componentes de bajo peso molecular, compuestos cuya polaridad va desde baja como lípidos (ácidos grasos, esteroides, terpenos etc.) hasta muy polares, como es el caso de los florotaninos, que son los principales responsables de la actividad secuestrante mostrada por las algas, adicionalmente a la concentración de ácido ascórbico que puedan presentar. Es probable que esta gama de compuestos interfiera con la actividad de los florotaninos, provocando un efecto de dilución. Se recomienda un fraccionamiento cromatográfico, donde se separen los grupos de polaridad similar, y experimentar si la actividad secuestrante aumenta considerablemente.

En la mayoría de los reportes de este tipo de actividad, se hace referencia a extractos o fracciones de mediana polaridad hasta fracciones o extractos polares, sin embargo, el nivel de actividad mostrada por el extracto etanólico de *S. horridum* aún se considera aceptable, tomando en consideración que la máxima concentración de prueba fueron $500 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y en los trabajos de referencia en la mayoría de los casos las concentraciones sobre pasan los $1000 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, como en los casos de *S. ramifolium* y *S. pteropleuron* que reportaron una $\text{EC}_{50} = 6640$ y $7140 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente.

Actividad antibacteriana del extracto etanólico

El extracto etanólico mostró actividad contra tres cepas pertenecientes al género *Vibrio* (*Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*), sin embargo hay que destacar que el halo de inhibición que se presentó fue superior a 1 milímetro. También se observó actividad para *S. aureus* en el mes de mayo, pero ningún extracto fue activo para *Pseudomonas aeruginosa*. El hecho de que no se presentara el halo de inhibición para el resto de los meses, ni en todas las cepas bacterianas,

sugiere que se presenta una variación natural en la actividad antibacteriana del extracto etanólico. Es recomendable realizar un fraccionamiento del extracto y ensayar con las fracciones en las cepas analizadas.

La inactividad del extracto contra *P. aeruginosa* también fue reportada en el alga café *S. wightii* (Vallinayagan *et al.*, 2009). A diferencia de *S. horridum*, no mostró actividad para *S. aureus*. Sin embargo el extracto de *S. horridum* mostró actividad para otras bacterias: *V. cholera*, *S. dysenteriae*, *S. paratyphi*, *S. bodi* y *K. pneumoniae*. Se ha reportado actividad antibacteriana con extractos de otras especies algales (*Ulva lactuca*, *Padina gymnospora* y *Gracilaria edulis*) contra *P. aeruginosa* (Vallinayagam *et al.*, 2009). Otros trabajos también han reportado actividad antibacteriana de extractos de *Euchema denticulatum* contra *S. aureus*. (Al-Haj *et al.*, 2009).

Muñoz-Ochoa *et al.* (2010) reportaron actividad antibacteriana contra *Mycobacterium tuberculosis* para el extracto etanólico crudo de *S. horridum*, atribuyendo esta actividad al efecto de los ácidos grasos insaturados como el ácido mirístico, oleico, linoléico, entre otros presentes. Esta misma actividad fue estudiada tanto para el extracto etanólico crudo de *S. horridum* así como a sus fracciones llegando a la misma conclusión (Muñoz-Ochoa *et al.*, 2010; Pardo-Fuentes, 2012).

En algas cafés se han reportado compuestos esteroidales como el fucosterol y su derivado, el saringosterol (Wächter *et al.*, 2001). Estos compuestos están ampliamente distribuidos entre las feofitas por lo que podrían ser los responsables de la actividad mostrada en este estudio (Muñoz-Ochoa, 2010).

Un hecho importante es que la actividad antibacteriana se presentó prácticamente solo contra bacterias del género *Vibrio*, lo cual puede implicar cierta selección sobre el organismo blanco. Esto sugiere que puede tener aplicaciones en el ramo de la acuicultura, ya que uno de los principales factores que generan cuantiosas pérdidas económicas en cultivos de camarón son las enfermedades bacterianas donde las bacterias del género *Vibrio* figuran como una de las principales causas de mortalidad (Saulnier *et al.*, 2003).

11.5 Variación mensual en la talla (cm) de *S. horridum* en la Bahía de La Paz, B.C.S en 2013

El alga café *S. horridum* inicia su desarrollo durante los primeros meses del año, cuando la temperatura del agua es baja (21-22°C). En el presente estudio las tallas mínimas para la especie se presentaron al inicio del periodo juvenil (marzo-abril) y también en la etapa de senescencia del alga, que ocurre en septiembre. Las tallas máximas se obtuvieron en Tarabillas (133 cm) y El Sauzoso (80 cm) en mayo, mientras que en Agua de Yepis la máxima (62 cm) ocurrió dos meses después (julio). En estos meses las algas se encontraron en etapa de madurez. Se ha reportado tallas máximas en los meses fríos de marzo y abril para *S. sinicola* (Espinoza y Rodríguez, 1989) y *S. horridum* (108 cm) (Muñetón-Gómez y Hernández-Carmona, 1993) para Baja California Sur, y también se reportó la existencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) en la talla promedio alcanzada por *S. horridum*, entre los meses y localidades. Esto era de esperarse ya que los cambios en la talla de especies del género *Sargassum* están relacionados con cambios morfológicos y con los diferentes estadios del alga. Estudios previos han reportado tallas mayores para algas del género para algas maduras de *S. sinicola* (197 cm), *S. herporhizum* (170 cm) y similares a las de este estudio para *S. lapazeanum* (110 cm) (Núñez-López y Casas-Valdez, 1997).

La desviación estándar muestra que en estos meses se encontraron algas en diferentes etapas de crecimiento, esto sugiere que el alga *S. horridum* tiene periodos de repoblación en más de un mes al año, hasta que la temperatura del agua aumenta y empieza a degradarse el alga. La correlación entre la talla y el rendimiento del alginato y el fucoídano confirma la relación que existe entre estas variables. El rendimiento de estos dos componentes disminuye a medida que el alga se aproxima a su etapa de senescencia, cuando la temperaturas del agua de mar se incrementada hasta 29.6°C, en los meses de julio y agosto. Finalmente desaparece su forma macroscópica en el mes de septiembre, quedando en el fondo el sujetador, de donde se regenera un nuevo individuo el año siguiente. Se ha observado que

algunas plantas se reclutan por reproducción sexual, pero la magnitud de este evento no ha sido estudiada.

Existe una correlación positiva en la talla-alginato y talla-fucoidan extraído de *S. horridum*, especialmente en la localidad de Tarabillas, con un R^2 de 0.84 y 0.79, respectivamente. El aumento de la talla y el rendimiento del extracto etanólico, mostraron correlación, sin embargo la correlación en las localidades no fue superior a 0.54.

11.6 Variación mensual en la temperatura y los nutrientes del agua de mar en Agua de Yepis

S. horridum habita cerca de la costa en aguas someras, en donde se presentan amplias variaciones de temperatura. La temperatura superficial del agua varió de 21.9 a 29.6°C, entre los meses de febrero-noviembre. Estas temperaturas son similares a las reportadas en otros estudios, para el sur del Golfo de California. Aunque Espinosa y Rodríguez (1987 y 1989) reportaron las mayores tallas para *S. sinicola*, en los meses en los cuales se presentan bajas temperatura (Tabla. 6). En el presente estudio se encontró que la mayor talla de *S. horridum* se presentó en el mes en el que se reportó un valor alto de temperatura de 28.5°C. Esto sugiere que la temporada en que estas algas llegan a su máximo desarrollo puede haber cambiado. La correlación temperatura-rendimiento (alginato, fucoidan y extracto etanólico) mostró claramente la disminución del rendimiento en los compuestos a medida que la temperatura aumentaba (29°C).

Se han reportado las tallas máximas para las especies *S. sinicola* (216.8 cm), *S. herporhizum* (194 cm) y *S. lapazeanum* (110 cm) en Bahía Concepción, B. C. S., en la primavera. En esta estación se reportan bajas temperaturas (20-22°C). Sin embargo en el verano *S. sinicola* (sinonimia de *S. horridum*) presentó una talla de 88.7 cm (Nuñez-López y Casas-Valdez, 1997).

Los nitritos y nitratos, en mayo (máxima concentración), presentaron una marcada diferencia con todos los otros meses analizados ($p < 0.05$). Las máximas concentraciones de estos nutrientes en el mes de mayo, aunado a los valores de temperatura, hace propicio el desarrollo y estado de madurez del alga *S. horridum*, así como el incremento de su contenido de alginatos y fucoidan, reportado en mayo para la especie.

Tabla 6. Intervalos de temperatura (°C) reportados para ambientes de *Sargassum* spp., del Golfo de California y la costa del Océano Pacífico de Baja California (modificado de Sánchez-Rodríguez y Cervantes-Duarte, 1999).

Intervalo de Tem (°C)	Golfo de California	Referencias
<14 a 30	Norte	McCourt, 1984
14 a 20	Central (W)	Pacheco-Ruiz <i>et al.</i> , 1998
20 a 32.8	Central. Bahía Concepción	Núñez-López y Casas-Valdéz, 1997
23 a 31	Sur. Bahía de La Paz	Espinoza y Rodríguez, 1989
19 a 31	Sur. Bahía de La Paz	Espinoza y Rodríguez, 1987
21.9-29.6	San Juan de la costa (Bahía de La Paz)	este estudio
Costa pacífico		
14 a 24	Tijuana y Ensenada	Aguilar-Rosas y Machado-Galindo, 1990
16 a 26	Bahía Tortugas	Espinoza, 1990
17 a 29.5	Bahía Magdalena	Sánchez-Rodríguez y Cervantes-Duarte, 1999

Los mayores valores de ortofosfatos se presentaron en marzo, abril y mayo. Estos meses tuvieron valores más altos en el contenido de este nutriente y coincide cuando la especie tuvo una mayor tasa de crecimiento (juvenil-madura-senescente).

Los nutrientes (amonio, nitritos, nitratos y ortofosfatos), presentaron variaciones significativas ($p < 0.05$) y están correlacionados con la temperatura. El amonio mostró una correlación negativa con la temperatura (al aumentar la temperatura, los niveles de amonio disminuyen), $R^2 = 0.65$. Los nitritos y los nitratos solo fueron altos en abril y mayo y coinciden con el mayor desarrollo de las algas, así como con los valores más altos de la mayoría de sus componentes. Estos también presentan una correlación positiva alta, $R^2 = 0.99$ y presentaron correlación positiva con la temperatura con

$R^2=0.47$. Los ortofosfatos están altamente correlacionados negativamente, con la temperatura y el amonio, $R^2=0.76$ y 0.71 , respectivamente.

En general el análisis de correlación entre los nitritos, nitratos y ortofosfatos, confirman que a mayor contenido de estos nutrientes, el alga *S. horridum* tiene un aumento de su crecimiento y en consecuencia un aumento de producción de alginatos, fucoidan y extracto etanólico.

12. Conclusiones

El alga *Sargassum horridum* presenta un alto contenido de carbohidratos ($\approx 50\%$) propicio para ser utilizado en industrias para la obtención de bioetanol, fertilizantes, bioestimulantes y compostas.

S. horridum presenta un alto contenido de minerales (cenizas) apto para su uso como fuente de oligoelementos en bioestimulantes para el sector agrícola.

S. horridum tiene un bajo contenido de energía y alta proporción de fibra cruda por lo cual, constituye un recurso potencial para la nutrición balanceada de animales, incluyendo a los humanos.

El alginato presenta una baja viscosidad, pero una alta fuerza de gel ($>800 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-2}$), lo cual sugiere que puede tener una utilidad en la industria alimentaria.

Este estudio reporta por primera vez la variación en el rendimiento de fucoidan para una especie de alga café presente en la Bahía de La Paz. Así mismo la variación mensual en su actividad anticoagulante. La variación en el contenido de azúcares totales, fucosa, ácidos urónicos y el análisis IR sugieren que el fucoidan extraído de *S. horridum* es un heterofucano.

Es posible el aprovechamiento de *S. horridum* para la obtención de fucoidan con actividad anticoagulante ($0.86 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) con uso potencial en la industria farmacéutica o reactivo clínico y con alto valor económico.

S. horridum es fuente de compuestos con actividad antioxidante y antibacteriana contra *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* y *S. aureus*. Estos compuestos activos pueden tener uso en la industria farmacéutica, cosmética, acuicultura y principalmente agroquímica.

El alga café *S. horridum* presenta diferencia significativa en el promedio de su talla entre meses. Los meses en los que se presentó la talla máxima del alga, son cuando el alga se encuentra en etapa de madurez. Esto es directamente proporcional al estado de desarrollo del alga, ya que va aumentando la talla hasta alcanzar la etapa de madurez. A partir de esta etapa se observa una disminución en la talla de los especímenes ya que al entrar en la etapa de senescencia el alga va perdiendo su fronda. En esta etapa también se presentó una disminución del rendimiento de fucoidan y alginatos. El análisis de correlación talla-rendimiento confirma la relación directa que existe entre estas variables.

S. horridum tolera una amplia variación de temperatura (21 a 29°C). Se observó que cuando inicia el aumento de la temperatura, aumenta la disponibilidad de los nutrientes (nitritos, nitratos y ortofosfatos) (marzo-abril). El alga en estado joven, aumentó su talla, presentándose la aparición de las estructuras flotantes y reproductivas y un color más claro al que presentan las algas jóvenes en los meses de marzo-abril (donde se tenían menores temperaturas), hasta llegar a la etapa reproductiva. Cuando la temperatura fue superior a 29°C empezó la etapa de senescencia de la especie y con esto el desprendimiento y la descomposición de estas. La variación en el rendimiento de los extractos es directamente proporcional a la talla del alga.

Conclusión general

Se observó una alta correlación de la talla con alginato y fucoidan, con un valor de $R^2= 0.84$ y 0.78 , respectivamente. Los nutrientes se correlacionaron con el contenido de alginato, fucoidan y el extracto etanólico. Los valores más altos de correlación, se

observaron para el alginato con amonio (0.73), nitritos (0.84), nitratos (0.83) y ortofosfatos (0.92). La talla de *S. horridum* permite realizar una explotación sustentable del recurso a partir del mes de julio (40 cm), teniendo en cuenta que para esta época ha pasado la etapa reproductiva de la especie, se presentan tallas >40 cm y el alga ha acumulado la mayor cantidad de sus componentes. Por lo anterior, se acepta la hipótesis de que las variaciones morfológicas asociadas a la edad del alga *Sargassum horridum* y a las condiciones ambientales producen variaciones en la composición química del alga.

13 Recomendaciones

Realizar monitoreo de cómo estos productos van variando a lo largo de los años, en los meses en los que el alga muestra una talla superior a 40 cm, teniendo en cuenta que antes de llegar al estado maduro el alga no presenta una alta biomasa y que el alga en estado juvenil no ha concentrado sus compuestos y aún no ha llegado a su estado reproductivo.

14 BIBLIOGRAFÍA

Adl, S. M., A. G. Simpson, M. A. Farmer, R. A. Andersen, O. R. Anderson, J. R. Barta, S. S. Bowser, G. Brugerolle, R. A. Fensome y S. Fredericq. 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *J. of Eukaryotic Microb.* 52(5): 399–451.

Aguilar-Rosas, R y A. Machado-Galindo. 1990. Ecological aspects of *S. muticum* (Fucales, Phaeophyta) in Baja California, México: reproductive phenology and epiphytes. *Hydrobiologia.* (204-205): 185-190.

Alankararao, G.S.J.G., Rajendra Prasad, Y. y R. Rao. 1988. Alginic acid from *Sargassum vulgare* Borgesen. *Phykos* 27: 174-176.

Albuquerque, I.R.L., K.C.S Queiroz., L.G Alvas., E.A. Santos., E.L. Leite y H.A.O. Rocha. 2004. Heterofucans from *Dictyota menstrualis* have anticoagulant activity. *Brazilian J. of Medical and Biol. Res.*, 37: 167-171.

Ale M. T., H. Maruyama, H. Tamauchi, J. D. Mikkelsen y A.S. Meyer. 2011. Fucoidan from *Sargassum sp.* and *Fucus vesiculosus* reduces cell viability of lung carcinoma and melanoma cell *in vitro* and activates natural killer cells in mice *in vivo*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 49: 331-336.

Al-Haj, N., N. I. Mashan, M. N. Shamsudin, H. Mohamad, C. S. Vairappan y Z. Sekawi. 2009. Antibacterial activity in marine algae *Euclima denticulatum* against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Res. J. Biol. Sci.*, 4 (4): 519-524.

Alvares J., M. Muñoz-Ochoa, M. Rodríguez., y D. Arvizu. 2006. Las algas marinas del estado de Baja California sur como fuente de polisacáridos sulfatados con actividad anticoagulante. V Encuentro Nacional de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional. México. 5p.

Amsler C. D. 2008. Algal Chemical Ecology. 311 pp.

Andriamanantoanina H y M Rinaudo. 2010. Characterization of the alginates from five madagascan Brown algae. *Carboh. Poly.*, 82. 555-560.

Arunkumar K., S. R. Sivakumar y R. Rengasamy. 2010. Review on bioactive potential in seaweeds (Marine Macroalgae): A special emphasis on bioactivity of seaweeds against plant pathogens. *Asian J. Plant Sci.*, 9 (5): 227-240.

Arvizu-Higuera D.L., G. Hernández-Carmona y Y.E. Rodríguez-Montesinos. 2002. Parámetros que afectan la conversión de ácido algínico a alginato de sodio. *Cienc. Mar.*, 28(1):27-36.

Athukorala, Y., K.W. Jung, T. Vasanthan y J.Y. Jeon. 2006. An anticoagulative polysaccharide from an enzymatic hydrolysate of *Ecklonia cava*. *Carb. Pol.*, 66:184-191.

- Ayyad, S. E., S. Basai, A. Badria, S. Ezmirly, W. Alarif y F. Badria. 2011. Antioxidant, cytotoxic, antitumor, and protective DNA damage metabolites from the red sea brown alga *Sargassum* sp. *Pharmacognosy Res.*, 3(3): 160-165.
- Bilan. M. I., A. A. Grachev, N. E. Ustuzhanina, A. S. Shashkov, N. E. Nifantiev y A. I. Usov. 2004. A highly regular fraction of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus distichus* L. *Carboh. Res.*, 339: 511-517.
- Blanchette, C.A. 1997. Size and survival of intertidal plants in response to wave action: a case study with *Fucus gardneri*. *Ecology*, 78:1563–1578.
- Briceño-Domínguez D., G. Hernández-Carmona, M. Moyo, W. Stirk y J. van Staden. 2013. Plant growth promoting activity of seaweed liquid extracts produced from *Macrocystis pyrifera* under different pH and temperature conditions. *J. Appl. Phycol.* DOI 10.1007/s 10811-014-0237-2.
- Bixler H. J y H. Porse. 2011. A decade of change in the seaweed hidrocolloids industry. *J Appl Phycol*, 23: 321-335.
- Blunt, J.W., B.R .Copp, M.H.G Munro, P.T. Northcote y M.R. Prinsep. 2011. *Marine natural products* (Review). Volume 28 (2): 196-268.
- Bhadury, P. y P. C. Wright. 2004. Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta*, 219: 561-578.
- Blumenkrantz, N. y G. Asboe. 1963. New method for quantitative determination of uronic acid. *Analytical Biochemistry* 54: 484-489.
- Camacho, O. y G. Hernández-Carmona. 2012. Phenology and alginates of two *Sargassum* species from the Caribbean coast of Colombia. *Cienc. Mar.*, 38(2): 381–393.
- Cardozo KH, T. Guaratini, M. P. Barros, V. R. Falcao, A. P. Tonon, N. P. Lopes, S. Campos, M. A. Torres, A. O. Souza, P. Colepicolo y E. Pinto. 2007. Metabolites from algae with economical impact. *Comp Biochem. Physiol. C*, 146: 60–78.

Carrillo-Domínguez S, M. M. Casas-Valdéz, F. Ramos-Ramos, F. Pérez-Gil y I. Sánchez-Rodríguez. 2002. Algas marinas de Baja California Sur, México: Valor nutrimental. *Arch. Latinoam. Nutr.* 52(4):400–405.

Carrillo. S., A. Bahena, M. Casas, M.E. Carranco, C.C. Calvo, E. Ávila y F. Pérez-Gil. 2012. El alga *Sargassum sp.* como alternativa para reducir el contenido de colesterol en el huevo. *Rev. Cub. de Cien. Agríc.*, 46 (2):181-186.

Casas-Valdés M.M., I. Sánchez Rodríguez y G. Hernández-Carmona. 1993. Evaluación de *Sargassum sp.* en la costa oeste de Bahía Concepción, B.C.S, México. *Inv. Mar. CICIMAR.*, 8 (2): 62-69.

Casas-Valdéz, M., G. Portillo-Clark, N. Aguilar-Ramírez, S. Rodríguez -Astudillo, I. Sánchez-Rodríguez y S. Carrillo-Domínguez. 2006a. Efecto del alga marina *Sargassum sp.* sobre las variables productivas y al concentración del colesterol en el camarón café *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1990). *Rev. Biol. Mar. y Oceanografía.* 41 (1): 97-105.

Casas-Valdéz M., H. Hernández-Contreras, A. Marín-Alvares y R. N. Agilar-Ramírez. 2006b. El alga marina *Sargassum* (Sargassaceae): una alternativa tropical para la alimentación de ganado caprino. *Rev. Biol. Trop.* 54 (1): 83-92.

Castro-Reyes, M.A. 1997. Actividad antibacteriana de *Sargassum sinicola* (Sargassaceae, Phaeophyta) y *Laurencia johnstonii* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) de Bahía de La Paz, B. C. S., México. Tesis de Maestría CICIMAR-IPN. 64 pp.

Chennubhotla VSK, N. Kaliaperumal, S. Kalimuthu, M. Selvaraj, JR. Ramalingam y M. Najmuddin. 1982. Seasonal changes in growth and alginic acid and mannitol contents in *Sargassum ilicifolium* (Turner) J. Agardh and *S. myriocystum* J. Agardh. *Ind J Mar Sci* 11:195–196.

Chevolot L., A. Foucault, F. Chaubet, N. Kervarec, C. Siquin, A. M. Fisher y C. Boisson-Vidal. 1999. Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. *Carboh. Res.*, 319: 154–165.

Chizhov A. O., A. Dell, H. R. Morris, S. M. Haslam, R. A. McDowell, A. S. Shashkov, N. E. Nifant'ev, E. A. Khatuntseva y A. I. Usov. 1999. A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum*. *Carboh. Res.*, 320: 108–119.

Cumashi A., N. A. Ushakova, M. E. Preobrazhenskaya, A. D'Incecco, A. Piccoli, L. Totani, N. Tinari, G. E. Morozevich, A. E. Berman, M. I. Bilan, A. I. Usov, N. E. Ustyuzhanina, A. A. Grachev, C. J. Sanderson, M. Kelly, G. A. Rabinovich, S. Lacobelli y N. E. Nifantiev. 2007. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*, 17 (5): 541-552.

Díaz-Concepción A. D. y Almagro-Vásquez. 2001. Estado actual del mecanismo de coagulación sanguínea. *Rev. Cub. Hematol Inmunol Hemoter*, 17 (2): 77-89.

Dische, Z. 1955. New color reaction for determination of sugars in polysaccharides. *Methods of Biochemical Analysis*, 2: 313-358.

Duarte M. E. R., M. A. Cardoso, M. D. Nosedá y A. S. Cerezo. 2001. Structural studies on fucoidans from the brown seaweed *Sargassum stenophyllum*. *Carboh. Res.*, 333: 281-293.

Dubois, M., K. A. Gilles, J.K Hamilton, P. A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 356.

Düring J., T. Bruhn, K.H Zurborn, K. Gutensohn, H.D. Bruhn y L. Béress. 1997. Anticoagulant fucoidan fractions from *Fucus vesiculosus* induce platelet activation in vitro. *Trombosis Res.*, 85 (6): 479-491.

Espinoza J y H. Rodríguez. 1987. Seasonal phenology and reciprocal transplantation of *Sargassum sinicola* Setchell Gardner (Phaeophyta) in the southern Gulf of California, México. *J. of Experimental Marine Biology and Ecology*, 110: 141-195.

Espinoza J y H. Rodríguez. 1989. Crecimiento de *Sargassum sinicola* Shetchell Gardner (Phaeophyta) en la parte sur del Golfo de California, México. *Cienc. Mar.*, 15 (4):141-149.

Espinoza J. 1990. Estructura por edades y reproducción de tres poblaciones de *Sargassum sinicola* (Phaeophyta, Fucales) en la Bahía de La Paz, Golfo de California. *Acta Bot. Mex.*, 11: 1-9.

FAO, 2003. World Agriculture: Towards 2015/2030. A FAO perspective. In Bruinsma, J. (Ed), Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, 432 pp.

Fenoradosoa, T. A., G. C. Delattre, C. Laroche, E. Petit, A. Wadouachi y P. Michaud. 2009. Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides* Grunow. *J Appl Phycol*, 22:131–137

Frlich, I y P. Riederer. 1995. Free radical mechanisms in dementia of Alzheimer type and the potential for antioxidative treatment. *Drog Res.* 45: 443-449.

García-Ríos, V., E. Ríos-Leal, D. Robledo y Y. Freile-Pelegri. 2012. Polysaccharides composition from tropical brown seaweeds. *Phycol. Res.*, 60: 305–315.

Gojon-Báez H. H., D. A. Siqueiros-Beltrones y H. Hernández-Contreras. 1998. In situ ruminal digestibility and degradability of *Macrocystis pyrifera* and *Sargassum sp* in bovine livestock. *Cienc Mar.*, 24:463–481.

Guiry, M.D. y Guiry, G.M. 2014. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; Consultada el 14 de marzo de 2014.

Grosso,C., S. P. Vinholes y D.B. Andrade. 2011. Halogenated compounds from seaweed, a biological overview. Seaweed ecology, Nutrient composition and medical uses. 248 pp.

Goupy P., M. Hugues, P. Boivin y M.J. Amiot. 1999. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *J. of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1625-1634.

Hernández-Carmona. 1985. Variación estacional del contenido de alginatos en tres especies de feofitas de Baja California Sur, México. *Inv. Mar. CICIMAR*, 2 (1): 29-45.

Hernández-Carmona G., M. Casas-Valdez, C. Fajardo y Y.E. Rodríguez Montesinos, 1990a. Evaluación de *Sargassum sp.* en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Inv. Mar. CICIMAR*, 5(1):11-18.

Hernández-Carmona G. y Y.E Rodríguez-Montesinos. 1990b. Los alginatos: Un producto útil a partir de algas marinas. *CICIMAR Boletín* 4:1-1.

Hernández-Carmona G., M. Casas-Valdez y M. Aguirre-Vilchis. 1991. Proceso mejorado para la obtención de alginato de sodio a partir del alga *Macrocystis pyrifera*. *Inv. Mar. CICIMAR*, 6 (2): 259-266.

Hernández-Carmona, G., D. J. McHugh y F. López-Gutiérrez. 1999. Pilot plant scale extraction of alginates from *Macrocystis pyrifera*. 2. Studies on extraction conditions and methods of separating the alkaline-insoluble residue. *J. Appl. Phycol.*, 11: 493–502.

Hernández-Carmona, G., S. Carrillo-Domínguez, D. L. Arvizu-Higura, Y. E. Rodríguez-Montesinos, J. I. Murillo-Álvarez, M. Muñoz-Ochoa y R. M. Castillo-Domínguez. 2009. Montly variation in the chemical composition of *Eisenia arborea* J. E. Areschoug. *J. Appl Phycol*, 21: 607-616.

Hernández-Carmona G., R. Reyes-Tisnado, Y.E Rodríguez-Montesinos, J.I Murillo-Álvarez, D. L Arvizu-Higuera y M. Muñoz-Ochoa. 2012. Technological advance for alginate production in México. *Ingeniería Investigación y Tecnología*. Vol. XIII: 2. 155-168.

Hernández-Herrera R.M., F. Santacruz-Ruvalcaba, M.A. Ruíz-López, J. Norrie y G. Hernández-Carmona. 2014. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *J. Appl Phycol*, 26: 619-628.

<http://spanish.alibaba.com/product-gs/ultra-low-viscosity-sodium-alginate-food-grade-1388577221.html?s=p>

Huang X., H. Zhou y H Zhang. 2006. The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish & Shellfish immunology*, 20: 750-757.

Istini S., M Ohno y H. Kusunose. 1994. Methods of analysis for agar, carrageenan and alginate in seaweed. *Bull. Mar. Sci. Fish., Kochi Univ.* 14: 49-55.

Jiménez-Escrig, A y E. Gómez-Ordoñez. 2012. Brown and red seaweeds as potential sources of antioxidant nutraceuticals. *J Appl. Phycol.*, (24): 1123-1132.

Jiménez-Illescas AR, M. Obeso-Niebla y D. Salas-León. 1997. Oceanografía física de la Bahía de La Paz. In: Urbán RJ, Ramírez M (eds.), La Bahía de La Paz, Investigación y Conservación. UABCS/CICIMAR/Scripps Institution of Oceanography, La Paz, BCS, México, pp. 31–41.

Josephine A., G. Amudha, C. K. Veena, S. P. Preetha, A. Rajeswari y P. Varakshmi. 2007. Beneficial effects of sulfated polysaccharides from *Sargassum wightii* against mitochondrial alterations induced by Cyclosporine A in rat kidney. *Mol. Nutr. Food Res.*, 51: 1413-1422.

Kim M-J, U-J Chang y J.S. Lee. 2009. Inhibitory Effects of Fucoidan in 3T3-L1 Adipocyte differentiation. *Mar. Biotechnol.*, 11: 557-562.

Kilin H. Biochemistry of sea algae. 1913. H.Z. *Phycol. Chem.*, 83: 171-197.

Lee. S-H, C-I. Ko, G. Ahn, S. Yoy, J-S. Kim, M. S. Heu, J. Kim, Y. Jee y Y-J Jeon. 2012. Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava*. *Carboh. Polym.*, 89: 599-606.

Li B., F Lu, X. Wei y R. Zhao. 2008. Fucoidan: Structure and Bioactivity. *Molecules*, 13: 1671-1695.

Lobban C.S y P.J. Harrison. 1994. Seaweed ecology and physiology. Cambridge University Press, Cambridge, 266 pp.

Marín, A., M. Casas-Valdéz, S. Carrillo, H. Hernández y Monroy A. 2003. The marine algae *Sargassum* spp. (Sargassaceae) as feed for sheep in tropical and subtropical regions. *Rev. Biol. Trop.*, 57 (4): 1271-1281.

Martínez-Flores, G., R. Cervantes-Duarte y E. González-Ramírez. 2006. Caracterización de la temperatura superficial del mar y climatología de la Bahía de La Paz, B.C.S., México. CICIMAR. *Oceánides*, 21 (1, 2): 81-91.

Martínez-Nadal, N. G., L. V. Rodríguez y C. Casillas. 1964. Isolation and characterization of sarganin complex, a new broad-spectrum antibiotic isolated from marine algae. *Antimicrobial agents y chemotherapy*, 13: 1-134.

Martins, C. D. L., F. Ramolv, N. P. N. Carneiro, L. M. Gestinari, B. F dos Santos, L. M. Bento, C. Lhullier, L. Gouvea, E. Bastos, P. A. Horta y A. R. Soares. 2013. Antioxidant properties and total phenolic contents of some tropical seaweeds of the Brazilian coast. *J Appl Phycol.*, 25: 1179-1187.

McCourt R. N. 1984. Seasonal patterns of abundance, distributions, and phenology in relation to growth strategies of three *Sargassum* species. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 74 (2): 141-156.

McHugh Dennis. 2002. Perspectivas para la producción de algas marinas en los países en desarrollo. FAO Circular de Pesca No. 968.

Meenakshi, S., S. Umayaparvathi, M. Arumugam y T. Balasubramanian. 2012. In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar. *Asian Pacific J. Trop. Biom.*,: 66-70.

Méndez-Trejo M. 2013. Complejidad agregada del hábitat de los anfípodos asociados a los bosques de *Sargassum* spp. En la Bahía de La Paz, Baja California Sur. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, B.C.S., México. 119 pp.

Morya V. K., J. Kim y E-K Kim. 2012. Algal fucoidan: structural and size-dependent bioactivities and their perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 93: 71-82.

Muñetón-Gómez M y G. Hernández-Carmona. 1993. Crecimiento estacional de *Sargassum horridum* (Setchell y Gardner) Phaeophyta, en la Bahía de La Paz, B. C. S., México. *Inv. Mar. CICIMAR*, 8(1): 23-31.

Muñoz-Ochoa M. 2006. Extracción y caracterización de polisacáridos con actividad anticoagulante a partir de algas colectadas en Baja California Sur, México. Tesis de Maestría CICIMAR-IPN 64 pp.

Muñoz-Ochoa M., J. I. Murillo-Álvarez, Y. E. Rodríguez-Montesinos, G. Hernández-Carmona, D. L. Arvizu-Higuera, J. Peralta-Cruz y J. Lizardi-Mendoza. 2009. Anticoagulant screening of marine algae from México, and partial characterization of the active sulfated polysaccharide from *Eisenia arborea*. *CICIMAR Océánides*, 24(1):41-51.

Muñoz-Ochoa M. 2010. Potencial farmacológico de algas marinas de Baja California Sur, México. Tesis de Doctorado CICIMAR-IPN. 72 pp.

Nagaoka M., H. Shibata, I. Kimura-Takagi y S. Hashimoto. 2000. Antiulcer effects and biological activities of polysaccharides from marine algae. *BioFactors*, 12: 267-274.

Newman, D. J., G. M. Cragg y K. M. Snader. 2003. Natural products as source of new drugs over the period 1981-2000. *J. Nat. Prod.*, 66: 1022-1037.

Nishino, T, G. Yokohama, K. Dobashi, M. Fujihara y T. Nagumo. 1989. Isolation, purification and characterization of fucosa containing sulfated polysaccharides from the brown seaweed *Eclonia kurome* and their blood anticoagulant activities. *Carboh. Res.*, 186: 119-129.

Nishino, T. y T. Nagumo. 1992. Anticoagulant and antithrombin activities of oversulfated fucans. *Carboh. Res.*, 229: 355-362.

Núñez-López R. A. y M. Casas-Valdez. 1996. Fenología de las especies de *Sargassum* (Fucales: Sargassaceae) en tres zonas de la Bahía Concepción, B. C. S., México. *Rev. Biol. Trop.*, 44 (2): 455-464.

Núñez-López R. A. y M. M. Casas-Valdez. 1997. Variación estacional de la biomasa y talla de *Sargassum spp.* (Sargassaceae, Phaeophyta) en Bahía Concepción, B. C. S., México. *Hidrobiológica*, (7): 19-25.

N. R. C. 1981. Nutrient requirements of goats National Academy, Washinton. D. C., EE UU. 91 pp.

O'Connell E., P. Murray, C. Piggott, F. Hennequart y M. Tuoby. 2008. Purification and characterization of a *N*-acetylglucosaminidase produced by *Taloromyces emersonii* during growth on algal fucoidan. *J. Appl. Phycol*, 20: 557-565.

Obeso-Nieblas, M. 2003. Variabilidad espacio-temporal de las condiciones oceanográficas de la Bahía de La Paz. B. C. S. México. Tesis de doctorado, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas- IPN., La Paz B. C. S. México.

Pacheco-Ruiz I., J.A. Zertuche-González, A. Chee-Barragán y R. Blanco-Betancourt. 1998. Distribution and quantification of *Sargassum* beds along the west coast of the Gulf of California, México. *Bot. Mar.* 41: 203-208.

Pardo-Fuentes P. E. 2012. Estudio del alga *Sargassum horridum* como fuente de compuestos activos contra *Mycobacterium tuberculosis*. Tesis de Maestría CICIMAR-IPN. 73 pp.

Park, P. J, HAHIDP F. y JEON Y. J. 2003. Antioxidant activities of enzymatic extracts from an edible seaweed *Sargassum horneri* using ESR spectrometry. *J. Food Lipids*, 11: 15-27.

Patankar, M. S., S. Oehninger, T. Barnett, R. L. Williams y G. F. Clark. 1993. A revised structure for fucoidan may explain some of its biological activities. *The J. of Biol. Chem.* 268 (29): 21770-21776.

Paul-Chávez L., 2005. Taxonomía y dinámica poblacional del complejo sinícola (Fucales: Phaeophyta) para el Suroeste del Golfo de California. Tesis de Doctorado. La Paz, B.C.S, México, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 174 p.

Pérez-Recalde M., M. C. Matulewicz, C. A. Pujol y M. J. Carlucci. 2014. *In vitro* and *in vivo* immunomodulatory activity of sulfated polysaccharides from red seaweed *Nemalion helminthoides*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 63: 38-42.

Preeprame, S. K. Hayashi, J. B. Lee, U. Shankawa y T. Hayashi. 2001. A novel antiviral active fucan sulfate derived from an edible brown alga, *Sargassum horneri*. *Chem. and Pharmaceutical Bull.*, 49(4): 484-485.

Pesando, D. y B. Caram. 1984. Screening of marine algae from the French Mediterranean coast for antibacterial and antifungal activity. *Bot. Mar.*, 27: 381-386.

Rao P. P. S., P. S. Rao y S.M. Karmarkar. 1987. Comparative study of antibacterial activity of fractions of *Sargassum johnstonii*. *Phykos*, 26: 119- 122.

Ragaza, A.R y Hurtado, A.Q. 1999. Seasonal variations in alginate yield and viscosity of *Sargassum carpophyllum* J. Agardh, *Sargassum ilicifolium* (Turner) C. Agardh and *Sargassum siliquosum* J. Agardh (Phaeophyta, Sargassaceae). *Bot. Mar.*, 42: 327–331.

Redekar, P. D. y Raje, P. C. 2000. Alginic acid and agar agar content from the common seaweeds of Ratnagiri Coast (West Coast of India). *Seaweed Res.*, 22: 41–3.

Reyes-Tisnado R., F. López-Gutiérrez, G. Hernández-Carmona, J. Vernon-Carter y P. Castro Moroyoqui. 2004. Sodium and Potassium alginates extracted from

Macrocystis pyrifera algae for use in dental impression materials. *Cienc. Mar.*, 30 (3): 189-199.

Rioux, L-E., S. L. Turgeon y M. Beaulieu. 2007. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. *Carboh. Polymers.*, 69: 530-537.

Rocha de Souza, M. C. Marques, C. T. Dore, C. Ferreira da Silva y E. L. Leite. 2007. Antioxidant activities of sulphated polysaccharides from brown and red seaweeds. *J. Appl. Phycol.*, 19: 153-160.

Rodríguez-Montesinos Y.E., D. L. Arvizu-Higuera y G. Hernández-Carmona. 2008. Seasonal variation on size and chemical constituents of *Sargassum sinicola* Setchell from Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. *Phycol. Res.*, 56: 33-38.

Rupérez, P., O. Ahrazem y J. A. Leal. 2002. Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *J. Agric. Food. Chem.*, 50:840-845.

Salvador, N., A. Gómez, L. Lavelli y M. A. Ribera. 2007. Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Sci. Mar.*, 71 (1): 101-113.

Sánchez-Rodríguez. I. y Cervantes-Duarte R. 1999. Longitud y biomasa de *Sargassum sinicola* Shetchell et Gardner (Phaeophyta) en Bahía Magdalena, B. C. S., México. *Hidrobiológica*, 9 (2): 117-124.

Saulnier D, P Haffner, C Goarant, P Levy y D Ansquer. 2000. Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review, *Aquaculture* 191: 133-144

Shanmugan M. y K. H Mody. 2000. Heparinoid-active sulphated polysaccharides from marine algae as potential blood anticoagulant. *Current Sci.*, 79(12): 1672-1683.

Silva, T.M.A., L.G. Alves, K.CKS. De Queiroz, M.G.L. Santos, C.T. Marques, S.F. Chavente, H.A.O, Rocha y E.L. Leite. 2005. Partial characterization and anticoagulant activity of a heterofucan from the brown seaweed *Padina gymnospora*. *Brazilian J. Medical and Biol. Res*, 38: 523-533.

- Sinha, S., A. Astani, T. Ghosh, P. Schnitzler y B. Ray. 2010. Polysaccharides from *Sargassum ternerrimum*: Structural features, chemical modification and anti-viral activity. *Phytochemistre*, 71: 235-242.
- Spavieri, S., A. allmendinger, M. Kaiser, R. Casey, S. Hingley-Wilson, A. Lalvani, M. D. Guiry y G. Blunden. 2010. Antimycobacterial, antiprotozoal and cytotoxic potential of twenty-one brown algae (Phaeophyceae) from British and Irish Waters. *Phytother. Res.*, 24: 1724-1729.
- Smit, A. J. 2004. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: A review. *J. Appl. Phycol.*, 16: 245-262.
- Strickland J. D. H. y T. R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Bulletin 167 (2ª edición). *Fish. Res. Bd. of Canada*.
- Suarez-Castillo A., R. Riosmena-Rodriguez, G. Hernández-Carmona, M. Méndez-Trejo, J.M. López-Vivas, C. Sánchez-Ortiz, M.M. Lara-Uc y J. Torre-Cosio. 2013. Invertebrates: Classification, evolucion and biodiversity, Chapter 9: Biodiversity associated to *Sargassum* forest at the Golf of California. 205-223 pp.
- Sundararaju J. S., B. Babu y R. Rengasamy. 2003. Seasonal studies on the alginate and its biochemical composition I: *Sargassum polycystum* (Fucales), Phaeophyceae. *Phycol. Res.* 51: 240-243.
- Suresh, V., N. S. Kumar, P. Murugan, P. Palani, R. Rengasamy y C. Anbazhagan. 2013. Antioxidant properties of sequential extracts from brown seaweed, *Sargassum plagiophyllum*, C. Agardh. *Asian Pacific J. Trop. Disease*, S937-S939.
- Suresh, V., N. Senthilkumar, R. Thangam, M. Rajkumar, C. Anbazhagan, R. Rengasamy, P. Gunasekaran, S. Kannan y P. Palani. 2013. Separation, purification and preliminary characterization of sulfated polysaccharides from *Sargassum plagiophyllum* and its *in vitro* anticancer and antioxidant activity. *Process Biochem.*, 48: 364-373.

- Tako M., E. Yoza y S. Tohma. 2000. Chemical Characterization of acetyl fucoidan and alginate from commercially cultured *Cladosiphon okamuranus*. *Bot. Mar.*, 43: 393-398.
- Thomas A. D., M. Ramirez, A. Mucci y B. Larsen. 2004. Extraction, isolation and cadmium binding of alginate from *Sargassum spp.* *J. Appl. Phycol.*, 16: 275-284.
- Torres, M. R., A. P. A. Sousa, E. A. T. Silva Filho, D. F. Melo, J. P. A. Feitosa, R. C. M de Paula y M. G. S. Lima. 2007. Extraction and physicochemical characterization of *Sargassum vulgare* alginate from Brazil. *Carboh. Res.*, 342: 2067-2074.
- Ushakova, N. A., G. E. Morozevich, N. E. Ustyuzhanina, M. I. Bilan, A. I. Usov, N. E. Nifantiev y M. E. Preobrazhenskaya. 2009. Anticoagulant activity of fucoidans from brown algae. *Biomedical Chem.*, 3(1): 77-83.
- Usov, A. I., G. P. Smirnova y G. Klochkora. 2005. Polysaccharides of algae: The polysaccharide composition of the pacific brown alga *Alaria fistulosa* (Alariaceae, Laminariales). *Russian Chem. Bull., International Edition* 54 (5): 1282-1286.
- Vallinayagan, K., R. Arumugan, R. R. R. Kannan, G. Thirumaran y P. Anantharaman. 2009. Antibacterial activity of some selected seaweeds from pudumadam coastal regions. *Global J. Pharmacol.*, 3 (1): 50-52.
- Vijayabaskar P., N. Vaseela y G. Thirumaran. 2012. Potential antibacterial and antioxidant properties of a sulfated polysaccharide from the brown marine algae *Sargassum swartzii*. *Chinese J. Nat. Med.*, 10 (6): 0421-0428.
- Wang J., Q. Zhang, Z. Zhang, H. Song y P. Li. 2010. Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International J. Biol. Macromol.* 46: 6-12.
- Wächter, A. G., S. Franzblau, G. Montenegro, J. J. Hoffmann, M. W. Maiese y B. N. Timmermann. 2001. Inhibition of *Mycobacterium tuberculosis* growth by saringosterol from *Lessonia nigrescens*. *J. Nat. Prod.*, 64: 1463:1464.

Wijesekara I., R. Pangestuti y S-K. Kim. 2011. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carboh. Polym.* 84: 14-21.

Wijesinghe W.A.J.P. y Y.J. Jeon. 2012. Biological activities and potential industrial applications of fucose rich sulfated polysaccharides and fucoidans isolated from brown seaweeds: A review. *Carboh. Polym.*, 88:13–20.

Xue, C. H., Y. Fang, H. Lin, L. Che, Z. J. Li, D. Deng y C. X. Ly. 2001. Chemical characters and antioxidative properties of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica*. *J. Appl. Phycol.*, 13: 67-70.

Yabur R., Y. Bashan y G. Hernández-Carmona. 2007. Alginate from the macroalgae *Sargassum sinicola* as a novel source for microbial immobilization material in wastewater treatment and plant growth promotion. *J. Appl. Phycol.*, 19 (1): 43-53.

Yang, C., D. Chung y S. You. 2008. Determination of physicochemical properties of sulphated fucans from sporophyll of *Undaria pinnatifida* using light scattering technique. *Food Chem.*, 111:503-507.

Ye H., K. Wang, C. Zhou, J. Liu y X. Zeng. 2008. Purification, antitumor and antioxidant activities *in vitro* of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*. *Food Chem.*, 111: 428-432.

Zhang, Q., Li, Z., Xu, Z., Niu, X. y Zhang, H. 2003. Effects of fucoidan on chronic renal failure in rats. *Planta. Med.*, 69: 537–41.

Zubia M., D. Robledo y Y. Freile-Pelegrin. 2007. Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, México. *J. Appl. Phycol.*, 19: 449-458.

Zubia, M., C. Payri y E. Deslandes. 2008. Alginate, mannitol, phenolic compounds and biological activities of two range-extending brown algae, *Sargassum mangarevense* and *Turbinaria ornate* (Phaeophyta: Fucales), from Tahiti (French Polynesia). *J. Appl. Phycol.*, 20: 1033-1043.

15. ANEXOS

Anexo 1. Tabla 7. Resultado del análisis de varianza. Efecto del mes de recolecta en la concentración de fucoidan, concentración de azúcares totales, fucosa y ácidos urónicos; extracto etanólico; alginatos y propiedades visco-elásticas, de *Sargassum horridum* recolectado en la Bahía de La Paz.

Extracto	SS	Degr of Freedom	MS	F	p
Fucoidan					
Intercept	1704.95	1	1704.95	5096.46	0.000000
Mes	50.26	5	10.05	30.05	0.000*
Localidad	0.66	2	0.33	0.99	0.383
Mes*Réplica	38.79	10	3.88	11.59	0.000*
Error	12.04	36	0.335		
Caracterización fucoidan					
Azúcares Totales					
Intercept	17502.30	1	17502.30	32393.01	0.00
Mes	344.90	5	68.98	127.67	0.00
Localidad	163.65	2	81.82	151.44	0.00
Mes*Localidad	1642.93	10	164.29	304.07	0.00
Error	19.45	36	0.54		
Fucosa					
Intercept	604.33	1	604.33	977.68	0.0000
Mes	57.44	5	11.49	18.58	0.000*
Localidad	8.04	2	4.02	6.50	0.004*
Mes*Localidad	295.71	10	29.57	47.84	0.000*
Error	22.2525	36	0.6181		
Ácido urónico					
Intercept	3198.44	1	3198.441	5297.80	0.000
Mes	83.72	5	16.75	27.74	0.000*
Localidad	205.40	2	102.70	170.11	0.000*
Mes*Localidad	378.72	10	37.87	62.73	0.000*
Error	21.734	36	0.604		
Extracto Etanólico					
Intercept	765.74	1	765.74	10340.97	0.000
Mes	62.25	5	12.45	168.13	0.000*
Localidad	16.18	2	8.09	109.26	.000*
Mes*Localidad	67.46	10	6.75	91.10	0.000*
Error	2.6658	36	0.074		
Alginato					
Intercept	2179.93	1	2179.93	462.65	0.000
Mes	129.80	5	26.00	5.50	0.000*
Replica	2.30	2	1.16	0.24	0.780
Mes*Réplica	16.60	10	1.66	0.35	0.960
Error	169.6	36	4.712		
Propiedad alginato					
Viscosidad (mPas)					
Intercept	139288.5	1	139288.5	141310	0.000000
Mes	6686.3	5	1337.30	1356.70	0.000*
Localidad	58.5	2	29.3	29.7	0.000*
Mes*Localidad	22729.4	10	2272.9	2305.9	0.000*
Error	35.5	36	1		
Fuerza de gel					
Intercept	107071079	1	107071079	4550.99	0.000000
Mes	7870951	5	1574190	66.91	0.000*
Localidad	243020	2	121510	5.17	0.011*
Mes*Localidad	5375137	10	537514	22.85	0.000*
Error	836972	36	23527		

Anexo 2.

Tabla 8. Resultado del análisis de varianza. Efecto de la bioactividad (actividad anticoagulante del fucoidan y antioxidante del extracto etanólico) del alga café *S. horridum* de la Bahía de La Paz.

Bioactividad					
Actividad anticoagulante					
Tiempo de protrombina(TP (s))					
Intercept	26048.07	1	26048.07	21978.06	0.000*
Mes	56.87	5	11.37	9.60	0.000*
Localidad	53.73	2	26.87	22.67	0.000*
Mes*Localidad	324.66	10	32.47	27.39	0.000*
Error	42.67	36	1.19		
Tiempo de tromboplastina parcial activa (TTPa)					
Intercept	127.95	1	127.9586	1040.529	0.000000
Mes	14.00	5	2.80	22.78	0.000*
Localidad	9.20	2	4.61	37.47	0.000*
Mes*Localidad	4.90	10	0.49	4.01	0.000*
Error	4.4	36	0.1213		
Actividad antioxidante					
Intercept	26515.51	1	26515.51	21729072	0.00*
Mes	377.25	5	75.45	61831	0.00*
Localidad	418.17	2	209.08	171342	0.00*
Mes*Localidad	232.93	10	23.29	19088.00	0.00*
Error	0.04	36	0		

Anexo 3.

Tabla 9. Resultado del análisis de varianza. Efecto del mes de recolecta en el contenido de nutrientes y temperatura (°C) del agua de mar en Agua de Yepis en 2013.

Fuente	SS	Degr of Freedom	MS	F	p
Nutrientes					
Amonio	44.57	8	5.571	52.35	.000*
Error	1.92	18	0.11		
Nitritos	7.58	8	0.95	14.8	.000*
Error	1.15	18	0.64		
Nitratos	367.84	8	45.98	16.23	0.000
Error	51.00	18	2.83		
Ortofosfatos	3.46	8	0.43	12.34	.000*
Error	0.63	18	0.04		
Temperatura	214.8	9	23.87	85.69	.000*
Error	5.57	20	0.28		