

BOLETÍN DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
VOL. 46. NO. 1, ENERO-MARZO 2012, PP 45 - 62
UNIVERSIDAD DEL ZULIA, MARACAIBO, VENEZUELA

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE DOS CEPAS DE LA CIANOBACTERIA *NOSTOC*

Néstor Rosales-Loaiza¹, Manzur Hassani² y Ever Morales^{1*}

¹Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos, Departamento de Biología,
Facultad Experimental de Ciencias.

²Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina.
Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.
Teléfono: +58-261-4127734 Fax: +58-261-4128078
Correo electrónico: evermster@gmail.com

Resumen. Las cianobacterias han sido identificadas como uno de los grupos promisorios a partir de los cuales pueden ser aislados productos naturales bioquímicamente activos. En el presente trabajo se evaluó la actividad antibacteriana, hemolítica, citotóxica sobre linfocitos y tóxica sobre *Artemia* de los extractos hidrosolubles, liposolubles, polisacárido capsular y sobrenadante de las cianobacterias *Nostoc* LAUN 0015 y *Nostoc* UAM 206. Los cultivos de ambas cianobacterias fueron mantenidos en condiciones de laboratorio, cosechados, procesados y mantenidos a -20°C hasta su uso en las pruebas de actividad biológica. Sólo los extractos hidrosolubles y liposolubles de *Nostoc* LAUN 0015 mostraron inhibición del crecimiento de *S. aureus*, mientras que no inhibió a *P. aeruginosa* y *E. coli*. Los extractos hidrosolubles de ambas cepas señalaron citotoxicidad sobre linfocitos de pacientes sanos, y con leucemia linfóide y mielóide. De igual manera, sus extractos liposolubles produjeron el 100% de mortalidad sobre *Artemia*. En cambio, los extractos hidrosolubles mostraron inocuidad. La actividad hemolítica fue demostrada en los extractos liposolubles en un 100% y a todas las diluciones ensayadas. Los resultados indican que los extractos hidrosolubles y liposolubles de *Nostoc* LAUN 0015 y *Nostoc* UAM 206 constituyen fuentes alternativas para la búsqueda de metabolitos con actividad biológica de alto valor en biotecnología y medicina. *Recibido: 23 septiembre 2011 / Aceptado: 14 marzo 2012.*

Palabras clave: *Nostoc*, actividad biológica, extractos.

BIOLOGICAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM TWO STRAINS OF THE *NOSTOC* CYANOBACTERIUM

Abstract. Cyanobacteria have been identified as one promising group of organisms from which biochemically active natural products have been isolated. Four types of extracts (hydrosoluble, liposoluble, capsule and supernatant) from two strains of the cyanobacterium *Nostoc*: *Nostoc* LAUN 0015 and *Nostoc* UAM 206, were assessed in screening for antibacterial, cytotoxic on lymphocytes and hemolytic activity and toxicity on *Artemia*. Cultures were maintained in laboratory standard conditions, harvested, processed and kept at -20°C until used for biological activity tests. Hydrosoluble and liposoluble extracts from *Nostoc* LAUN 0015 inhibited *S. aureus*, but did not inhibit *P. aeruginosa* or *E. coli*. In relation to cytotoxicity on lymphocytes, hydrosoluble extracts from both strains produced a strong effect on lymphocytes from healthy, lymphoid and myeloid leukemia patients. Liposoluble extracts from both cyanobacteria reached mortalities of 100% in bioassays on *Artemia*, while hydrosoluble extracts showed no mortality. For hemolytic activity, liposoluble extracts reached 100% hemolysis at all dilutions tested. In general, hydrosoluble and liposoluble extracts showed the most biological activity, demonstrating them to be potential candidates in the search for other types of activity and future use in biotechnology and medicine. *Received: 23 september 2011 / Accepted: 14 march 2012.*

Keywords: *Nostoc*, biological activity, extracts.

INTRODUCCIÓN

Las cianobacterias son un grupo de microorganismos procariotas capaces de realizar fotosíntesis oxigénica mediante un mecanismo muy similar al usado por plantas superiores (Garbisu *et al.* 1999). Además, poseen una gran variedad morfológica, estructural y fisiológica para adaptarse a una amplia gama de parámetros ambientales (Whitton y Potts 2000).

Las cianobacterias, por ser una fuente rica en proteínas, vitaminas, aminoácidos, minerales y otros compuestos, se cultivan en algunos países como alimento para consumo animal y humano, así como para la obtención de aditivos utilizados en las industrias farmacéutica y alimentaria (Whitton y Potts, 2000). En los últimos años se le han atribuido diversas propiedades farmacológicas, debido a la producción de sustancias biológicamente activas (Belay *et al.* 1996).

Los productos derivados del metabolismo de estos microorganismos, tales como clorofila *a*, ficobiliproteínas, carotenoides, proteínas, exoenzimas, exopolisacáridos y muchos otros, han sido ampliamente estudiados, revelando sus propiedades biológicas como citotóxicas, antifúngicas, antibacteriales, antivirales, inmunomoduladoras, antioxidantes, antisépticas, etc. Por consiguiente, el cultivo de estos organismos constituye una alternativa para la fotoproducción de compuestos a ser utilizados en biotecnología, industria agrícola, alimenticia y farmacéutica (Jaki *et al.* 1999, Mundt *et al.* 2001).

La efectividad de las cianobacterias en el tratamiento de algunos tipos de alergias, anemia, cáncer, hepatotoxicidad, enfermedades virales y cardiovasculares, hiperglicemia, hiperlipemia, inmunodeficiencia y procesos inflamatorios, entre otros, se ha comprobado en diferentes modelos experimentales *in vivo* e *in vitro* (Jensen *et al.* 2001). Tales efectos farmacológicos se han detectado en la cianobacteria *per se* o en algunos de sus constituyentes, entre los cuales se mencionan, ácidos grasos poliinsaturados ω -3 y ω -6, β -caroteno, α -tocoferol, ficocianina, compuestos fenólicos y exopolisacáridos sulfatados (Chamorro *et al.* 2002).

La utilización de cianobacterias en biotecnología se justifica por las importantes ventajas que les confiere la diversidad y la combinación de características, como una alta tasa de crecimiento, un alto contenido proteico y un metabolismo variable que responde rápidamente a los cambios de las condiciones ambientales (Whitton y Potts 2000, Rosales *et al.* 2005, Panda *et al.* 2006).

Las cianobacterias filamentosas como *Nostoc*, *Spirulina*, *Arthrospira*, *Anabaena* y muchas otras; son particularmente atractivas para la producción de biomasa de alta calidad, debido a que representan una fuente de proteínas y de una gran variedad de productos químicos y farmacéuticos (Rodríguez *et al.* 1989). En especial, se destaca el género *Nostoc* que ha sido tradicionalmente destinado para el consumo humano como suplemento alimenticio, delicatessen y fuente medicinal desde tiempos ancestrales en países como Chile, Bolivia, Perú y China (Gao y Ye 2003, Johnson *et al.* 2008).

De esta manera el presente trabajo se plantea como objetivo, la evaluación de la actividad antibacteriana, citotóxica sobre linfocitos, hemolítica y toxicidad sobre *Artemia* de los extractos de dos cepas de la cianobacteria *Nostoc* cultivada bajo condiciones de laboratorio.

MÉTODOS

ORGANISMOS EN ESTUDIO

Se utilizaron dos cepas de la cianobacteria *Nostoc*. La primera, fue aislada de un medio terrestre húmedo en Bogotá y donada por la Universidad Nacional de Colombia en Bogotá, Colombia (*Nostoc* LAUN 0015). La segunda cepa fue aislada de cultivos de arrozales de Valencia, España y donada por la Universidad Autónoma de Madrid, España (*Nostoc* UAM 206). Ambas cepas se encuentran en la colección del Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos de la FEC-LUZ.

CULTIVO Y OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Los cultivos monoespecíficos no axénicos de las cianobacterias fueron mantenidos en unidades de cultivo de 4 L con un volumen total de 2 L en medio ALGAL (8 mM N L⁻¹) (Fábregas *et al.* 1984) con aireación constante, fotoperiodo 12:12 h, pH 8,0-8,5 y temperatura de 28±2°C. Los cultivos fueron cosechados después de 15 días, que se corresponde con el final de la fase exponencial de crecimiento.

El extracto hidrosoluble se obtuvo a partir de biomasa húmeda mezclada con agua destilada (1:1) y sometida a un tratamiento de congelamiento-descongelamiento, para producir la ruptura celular. El extracto metanólico, con la biomasa húmeda mezclada con metanol (1:1), luego evaporado y resuspendido en agua destilada. El extracto del polisacárido capsular se obtuvo también a partir de la biomasa húmeda con agua destilada (1:1), luego de calentamiento a 100°C durante 1 h (Bertocchi *et al.* 1990). Mientras que, el sobrenadante se obtuvo por centrifugación y filtrado del medio de cultivo. Todos los extractos fueron filtrados a través de filtros de acetato de

celulosa de 0,22 μm de poro y almacenados a -20°C hasta su utilización en las pruebas de actividad biológica.

ENSAYOS DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Para la actividad antimicrobiana se utilizó la prueba de difusión en placas de los extractos, como describen Kreitlow *et al.* (1999) y bajo los estándares propuestos por el CLSI (2005). La actividad fue probada contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25722, las cuales son cepas modelo para las pruebas de antibiogramas.

Para la prueba de citotoxicidad fueron obtenidos linfocitos a partir de sangre periférica de donadores sanos, aislados según la metodología de Boyum (1968). Los linfocitos de pacientes con leucemia mieloide o linfoide, fueron provistos por el Laboratorio de Citometría de Flujo del Instituto Hematológico de Occidente, Maracaibo, Venezuela. La actividad citotóxica se realizó según la metodología propuesta por Diaka *et al.* (2006) descrita para la prueba de fármacos y adaptada para la prueba de los extractos. Las medidas de citotoxicidad se basaron en cambios morfológicos al microscopio y en la determinación de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) libre en el sobrenadante de cultivo, indicativo de daño y muerte celular, utilizando el Kit UV cinético para determinación de LDH (Invelab).

La toxicidad sobre *Artemia* se realizó siguiendo el método propuesto por Lee *et al.* (1999). La prueba se realizó por triplicado, a las diluciones de 1:5 y 1:10 v/v extracto:agua de mar, con una relación 1 artemia mL^{-1} y durante 48 horas. La mortalidad de las artemias fue monitoreada cada 24 h durante el ensayo. Las pruebas de hemólisis se realizaron usando la metodología de Zorko *et al.* (2005), basado en el aumento de la absorbancia en mezclas sangre-extractos debido a la lisis de glóbulos rojos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa SPSS 10.0 para Windows, utilizando un análisis de varianza de una vía (ANOVA). Cuando se determinaron diferencias significativas entre los datos obtenidos para cada extracto o cepa de cianobacteria, se aplicó la prueba Scheffé de comparaciones múltiples entre medias.

RESULTADOS

La formación de halos de las cepas bacterianas probadas con los extractos obtenidos de las cianobacterias *Nostoc* LAUN 0015 y *Nostoc* UAM 206 se muestran en la Tabla 1. Los mayores halos de inhibición se hallaron en *S. aureus* ATCC 25923 con los extractos hidrosolubles y liposolubles de *Nostoc* LAUN 0015 con 10,1 y 17,0 mm, respectivamente; considerándose los únicos con sensibilidad a los compuestos probados. También se hallaron halos con los extractos cápsula y sobrenadante, pero de menor tamaño.

Tabla 1. Promedio de diámetro de halos (mm) sobre las cepas control utilizados en las pruebas antimicrobianas de extractos de *Nostoc* LAUN 0015 y *Nostoc* UAM 206.

	Halo de inhibición (mm)							
	Hidrosoluble		Liposoluble		Cápsula		Sobrenadante	
	LAUN	UAM	LAUN	UAM	LAUN	UAM	LAUN	UAM
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,5	-	3,1	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	10,1	2,5	17	2,2	6,9	-	2,4	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	5,1	1,3	4,8	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> ATCC 25722	3,3	1,3	2,7	2,6	-	1,3	-	1,6

De igual forma, con *E. coli* ATCC 25722 se observó inhibición en casi todos los extractos, pero con diámetros entre 2,7 y 3,3 mm. Las cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 presentaron pequeños halos sólo en los extractos hidrosolubles y liposolubles.

Para la prueba de citotoxicidad sobre linfocitos, el parámetro utilizado para comprobar dicha actividad fue la liberación de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) lo que supone la pérdida de la integridad de la membrana celular. La Tabla 2 muestra el contenido de LDH en los tres tipos de linfocitos probados con los diferentes extractos. Se observa la baja cantidad de LDH en los controles, lo cual denota la baja mortalidad celular, con diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el control y el resto de los tratamientos.

Tabla 2. Concentración de LDH (UI L^{-1}) liberado al medio extracelular en las pruebas de citotoxicidad sobre linfocitos provenientes de pacientes sanos, con leucemia mieloide y con leucemia linfoide con extractos de *Nostoc* LAUN 0015 y *Nostoc* UAM 206.

		LDH liberado al medio extracelular (UI L^{-1})		
		Linfocitos normales	Leucemia mieloide	Leucemia linfoide
Control		$5,27 \pm 0,12$	$4,35 \pm 0,21$	$6,23 \pm 0,51$
<i>Nostoc</i> LAUN 0015	Hidrosoluble	$64,60 \pm 2,26$	$39,55 \pm 1,85$	$34,32 \pm 2,01$
	Liposoluble	$10,55 \pm 0,61$	$21,05 \pm 1,10$	$15,27 \pm 1,23$
	Cápsula	$14,50 \pm 0,94$	$18,46 \pm 0,69$	$21,09 \pm 1,06$
	Sobrenadante	$13,18 \pm 0,71$	$13,82 \pm 0,86$	$10,28 \pm 0,76$
<i>Nostoc</i> UAM 206	Hidrosoluble	$75,14 \pm 2,62$	$55,05 \pm 1,71$	$36,91 \pm 1,20$
	Liposoluble	$15,82 \pm 1,22$	$20,32 \pm 1,39$	$9,21 \pm 0,43$
	Cápsula	$13,18 \pm 0,63$	$19,77 \pm 0,69$	$17,14 \pm 1,06$
	Sobrenadante	$14,50 \pm 0,85$	$11,86 \pm 1,04$	$36,91 \pm 1,67$

El extracto hidrosoluble obtuvo las mayores concentraciones de LDH, lo cual significa la mayor muerte de linfocitos, tanto en los extraídos de pacientes sanos, como de pacientes con leucemias mieloides y linfoides, con valores de 64,6; 39,5 y 34,3 UI L⁻¹ para *Nostoc* LAUN 0015; y de 75,1; 55,0 y 36,9 UI L⁻¹ de LDH para *Nostoc* UAM 206, respectivamente ($p < 0,05$).

El resto de los extractos mostraron valores de LDH más altos que los encontrados en los controles (Tabla 2). En general, todos estos valores duplican la concentración hallada en control, pero están por debajo de encontradas con el extracto hidrosoluble, lo cual pudiera denotar una toxicidad moderada. Además, a través de microscopía óptica no se observaron diferencias morfológicas entre los diferentes extractos probados comparados en forma y tamaño con el control (datos no mostrados).

Los resultados del ensayo de toxicidad sobre *Artemia* evidenciaron que el extracto liposoluble de ambas cepas de *Nostoc* fueron las fracciones que mostraron mayor mortalidad en ambas diluciones ensayadas luego de 48 horas de la prueba (Figura 1). Los porcentajes

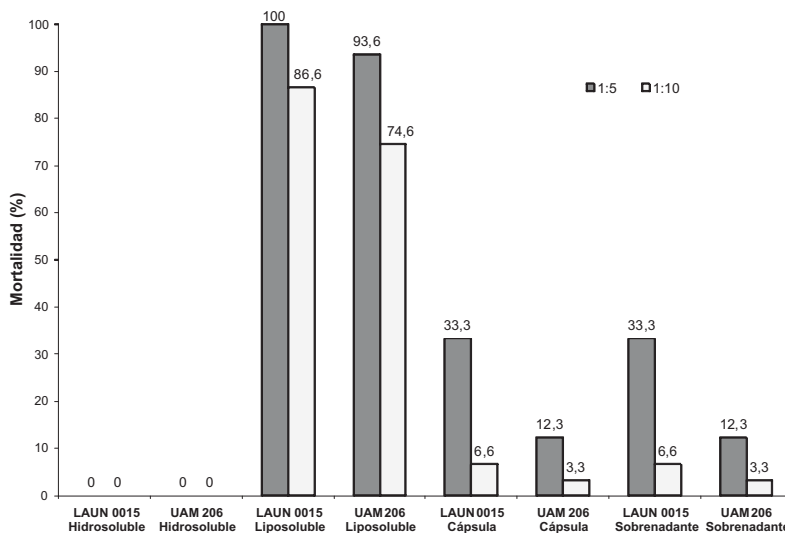


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de *Artemia* sp. en función de los diferentes extractos de *Nostoc* LAUN 0015 y *Nostoc* UAM 206.

mortalidad en la fracción liposoluble fueron de 100,0 y 86,6% para *Nostoc* LAUN 0015 y de 93,6 y 74,6% para *Nostoc* UAM 206; para las diluciones 1:5 y 1:10, respectivamente. La fracción hidrosoluble por su parte no mostró toxicidad ninguna.

En cuanto a la prueba de hemólisis, los resultados muestran un importante efecto lítico sobre los eritrocitos por parte del extracto liposoluble de ambas cianobacterias; el cual muestra un 100% de hemólisis aún con una dilución del 25% de la muestra (Tabla 3). Los extractos hidrosolubles y capsular al 100% también mostraron altos valores con 40,96 y 37,15% y de 49,56 y 43,18% para *Nostoc* UAM 2006 y LAUN 0015, respectivamente. El resto de los valores fueron más bajos y poco significativos ($p > 0,05$).

Tabla 3. Porcentaje de hemólisis a diferentes diluciones de los extractos de *Nostoc* LAUN 0015 y *Nostoc* UAM 206.

	Dilución	% de Hemólisis	
		LAUN 0015	UAM 206
Hidrosoluble	100%	37,15 ± 2,72	40,96 ± 2,36
	50%	5,37 ± 0,38	16,96 ± 9,18
	25%	3,82 ± 0,42	6,30 ± 2,40
Liposoluble	100%	100 ± 0,0	100 ± 0,0
	50%	100 ± 0,0	100 ± 0,0
	25%	100 ± 0,0	100 ± 0,0
Sobrenadante	100%	5,18 ± 1,50	12,93 ± 2,05
	50%	1,91 ± 0,59	2,91 ± 0,26
	25%	1,26 ± 0,57	0,67 ± 0,16
Cápsula	100%	43,18 ± 1,32	49,56 ± 0,43
	50%	10,96 ± 0,91	0,98 ± 0,32
	25%	2,65 ± 0,47	0,39 ± 0,16

DISCUSIÓN

En los resultados obtenidos de las pruebas antimicrobianas, se observa que las cepas Gram negativas (*E. coli* y *P. aeruginosa*) fueron más resistentes a los extractos, con formación de pequeños halos sólo con el extracto hidrosoluble y liposoluble. Por otro lado, *S. aureus* resultó sensible a los extractos hidrosolubles (10,1 mm) y principalmente al liposoluble (17,0 mm); pero sólo en los extractos de *Nostoc* LAUN 0015. No obstante, esta tendencia no fue observada en *Nostoc* UAM 206.

Varios estudios realizados con extractos hidrosolubles y liposolubles de cianobacterias han probado la efectividad antibacteriana de dichos compuestos tanto sobre bacterias Gram negativas como Gram positivas, con mayor efecto sobre éstas últimas. Jaki *et al.* (1999) obtuvo resultados positivos contra bacterias Gram positivas en el 16,3% del total de extractos provenientes de 36 cepas de cianobacterias filamentosas y un 5,8% contra bacterias Gram negativas con extractos liposolubles.

Por su parte, Mian *et al.* (2003) utilizando 22 cepas de cianobacterias filamentosas, hallaron que el 54,5% de los extractos liposolubles obtenidos produjeron sensibilidad sobre bacterias Gram positivas (*B. cereus*, *S. aureus* y *S. epidermidis*); pero sin sensibilidad contra alguna de las bacterias gram negativas probadas. Este patrón de resultados satisfactorios contra bacterias Gram positivas como *B. subtilis* y *S. epidermidis*, pero sin acción sobre Gram negativas también fue hallado por Soltani *et al.* (2005), en 76 aislados de cianobacterias filamentosas, tanto en extractos hidrosolubles como liposolubles.

En un estudio sobre antimicrobianos donde se utilizó el sobrenadante de los cultivos de *Nostoc muscorum* se observó efecto antibiótico contra *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Staphylococcus aureus*, con halos de inhibición de entre 8 y 13 mm. En dicho trabajo también se describe que extracciones clorofórmicas producen los mejores resultados con halos de inhibición de entre 11 y 19 mm (El-Sheekh *et al.* 2006).

En cuanto a la toxicidad sobre linfocitos, los resultados muestran una actividad citotóxica sobre los tres tipos de linfocitos probados de los extractos hidrosolubles. La mayor parte de los compuestos con actividad tóxica en cianobacterias, entre ellas la microcistina y muchas otras, son de carácter hidrosoluble, y por lo tanto en este extracto se puede hallar una importante actividad biológica (Metcalf *et al.* 2002, Beattie *et al.* 2003).

Muchos compuestos aislados de cianobacterias filamentosas como *Lingbya*, *Oscillatoria*, *Nostoc* y *Anabaena* están siendo investigados por inhibir el crecimiento y viabilidad de células cancerosas (Mankiewicz *et al.* 2001, Berry *et al.* 2004, Kujbida *et al.* 2006, Rymuszka *et al.* 2007). Con microalgas como *Chlorella*, *Scenedesmus* y *Desmococcus* se han obtenido excelentes resultados sobre líneas celulares de varios tipos de cáncer (Ördög *et al.* 2004).

En diversos estudios se ha comprobado que extractos de cianobacterias, especialmente filamentosas, disminuyen significativamente la proliferación, activación y/o producción de citoquinas en linfocitos, tales como *Nodularia spumigena* (Yea *et al.* 2000), *Aphanizomenon flos-aquae* (Pugh y Pasco 2001), *Planktothrix* (Prati *et al.* 2002), *Microcystis* (Pichardo *et al.* 2005), entre otros. En algunos de estos casos, se ha registrado altas concentraciones de LDH en el medio extracelular, como signo de destrucción celular.

Los ensayos de letalidad sobre *Artemia* sp., propuestos inicialmente por Michael *et al.* (1956), han permitido evaluar la detección de compuestos tóxicos en hongos, extractos de plantas, metales pesados, pesticidas, incluyendo extractos de cianobacterias sobre *Artemia* cultivadas bajo condiciones de laboratorio (Jaki *et al.* 1999).

En trabajos previos se ha comprobado la existencia de extractos liposolubles de cianobacterias con efectos tóxicos. Compuestos de naturaleza hidrofóbica, como el pahayokolido A, aislado de *Lyngbya* sp., han sido identificados como agentes tóxicos sobre *Artemia* a concentraciones superiores del 1 mg mL⁻¹ (Berry *et al.* 2004). Otros metabolitos aislados de esta cianobacteria han mostrado de igual forma ser tóxicos sobre varios invertebrados (Milligan *et al.* 2000). De

hecho, muchos trabajos sugieren que estos compuestos tóxicos deben tener un papel ecológico en la defensa contra el pastoreo por parte del zooplankton (Milligan *et al.* 2000).

Existen muchos otros trabajos sobre la actividad tóxica de extractos cianobacterianos sobre *Artemia*, pero lo mayor parte asocian la toxicidad con los extractos hidrosolubles, de los cuales se han aislados varias microcistinas, cilindrospermopsinas y nostocinas (Beattie *et al.* 2003, Lindsay *et al.* 2006). En todos los casos, el uso de compuestos previamente aislados o con extracto de la biomasa de cianobacterias como *Cylindrospermopsis raciborskii* (Metcalf *et al.* 2002), *Fischerella ambigua*, *Nostoc commune*, *Tolypothrix distorta* (Jaki *et al.* 1999, Piccardi *et al.* 2000) se ha obtenido una mortalidad mayor al 80% en períodos de 24 a 72 h.

La actividad hemolítica ha sido ampliamente descrita en microalgas, sobre todo del grupo de dinoflagelados. Algunas especies producen graves daños en las branquias de peces por la producción de sustancias hemolíticas (Yasumoto *et al.* 1990).

Hashimoto *et al.* (1976) hallaron que extractos hidrofílicos e hidrofóbicos de cianobacterias marinas pertenecientes al grupo de las Oscillatoriaceae mostraron actividad hemolítica. Otras cianobacterias, como *Synechococcus* y *Synechocystis* han sido halladas como productoras de hemolisinas de carácter lipofílicas (Mitsui *et al.* 1988, Nagai *et al.* 2001).

El efecto hemolítico de los extractos liposolubles parece estar relacionado con la producción de varios ácidos grasos o derivados de ellos, como galactosil y digalactosil monoglicéridos (Mitsui *et al.* 1988, Yasumoto *et al.*, 1990). La mayor parte de la actividad hemolítica parece estar relacionada con la fracción de ácidos grasos (Ikawa, 2004). Para el caso de las cianobacterias se ha aislado un monogalactosildiglicérido derivado de ácidos grasos poli insaturados, como una toxina hemolítica de *Synechococcus* cepa Miami BGII6S (Mitsui *et al.* 1989).

En general, debido a la carencia de datos en la literatura, poco se conoce sobre las propiedades, influencias biológicas, mecanismos funcionales y estructuras químicas de las toxinas hemolíticas presentes e cianobacterias (Wang *et al.* 2007).

CONCLUSIONES

Se observa que la actividad biológica depende no sólo del tipo de extracto, sino también de la cepa de *Nostoc* utilizada. El extracto liposoluble mostró actividad antibacteriana, hemolítica y tóxica contra *Artemia*; de los cuales, la actividad antibacteriana fue evidente principalmente con *Nostoc* LAUN 0015, mientras que las otras dos fueron similares para ambas cepas. Por otro lado, los extractos hidrosolubles mostraron actividad citotóxica sobre linfocitos, con los mayores valores para *Nostoc* UAM 206. De esta forma se verifica el potencial uso de estas mezclas de compuestos para posteriores análisis biológicos, bioquímicos y químicos.

LITERATURA CITADA

- BEATTIE K., J. RESSLER, C. WIEGAND, E. KRAUSE, G. CODD, C. STEINBERG y S. PFLUGMACHER. 2003. Comparative effects and metabolism of two microcystins and nodularin in the brine shrimp *Artemia salina*. *Aquatic Toxicol.* 62: 219-226.
- BELAY A., T. KATO y Y. OTA. 1996. *Spirulina (Arthrospira)* potential application as an animal feed supplement. *J. Appl. Phycol.* 8: 303-311.
- BERRY J., M. GANTAR, R. GAWLEY, M. WANG y K. REIN. 2004. Pharmacology and toxicology of pahayokolide A, a bioactive metabolite from a freshwater species of *Lyngbya* isolated from the Florida Everglades. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 139: 231-238.
- BERTOCCHI C., L. NAVARINI, A. CESARO y M. ANASTASIO. 1990. Polysaccharides from cyanobacteria. *Carbohydr. Polymers* 12: 127-153.
- BOYUM A. 1968. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 21(97): 77-89.

- CHAMORRO G., M. SALAZAR, K. GOMES, C. PEREIRA, G. CEBALLOS y L. FABI-
LA. 2002. Actualización en la farmacología de *Spirulina (Arthrospi-
ra)*, un alimento no convencional. Arch. Lat. Nutr. 52(3): 232-240.
- CLSI, CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. 2005. Perfor-
mance standards of antimicrobial susceptibility testing. Fourteenth
informational supplement M100-S14. Vol. 24, No. 1.
- DIAKA J., M. HASSANHI, J. BROWN, K. MERCHANT, C. GARCÍA y W. JIMÉNEZ.
2006. Cytoreg® inhibits growth and proliferation of human
adenocarcinoma cells via induction of apoptosis. J. Carcinogenesis
5:1.
- EL-SHEEKH M., M. OSMAN, M. DYAB y M. AMER. 2006. Production and char-
acterization of antimicrobial active substance from the
cyanobacterium *Nostoc muscorum*. Environ. Toxicol. Pharmacol.
21: 42-50.
- FÁBREGAS J., J. ABALDE, C. HERRERO, B. CABEZAS y M. VEIGA. 1984.
Growth of marine microalgae *Tetraselmis suecica* in batch cultures
with different salinities and nutrient concentration. Aquaculture 51:
237-243.
- GAO K. y C. YE. 2003. Culture of the terrestrial cyanobacterium, *Nostoc
flagelliforme* (cyanophyceae), under aquatic conditions. J Phycol.
39: 617-623.
- GARBISU C., A. BLANCO, I. ALKORTA, M. LLAMA y J. SERRA. 1999. Biotec-
nología con cianobacterias. Investigación y Ciencia 272: 65-71.
- HASHIMOTO Y., H. KAMIYA, K. YAMAZATO y K. NOZAWA. 1976. Occur-
rence of a toxic blue-green alga inducing skin dermatitis in Okinawa.
p 333-338. en A. Ohsaka, K. Hayashi y Y. Sawai (eds). Animal, plant
and microbial toxins. Vol. 1, Plenum Press. New York, EE.UU.
- IKAWA M. 2004. Algal polyunsaturated fatty acids and effects on plankton
ecology and other organisms. UNH Center Fresh. Biol. Res. 6(2):
17-44.
- JAKI B., J. ORJALA, H. BÜRGI y O. STICHER. 1999. Biological screening of
cyanobacteria for antimicrobial and molluscicidal activity, brine
shrimp lethality, and cytotoxicity. Pharmaceut Biol. 37(2): 138-143.

- JENSEN G., D. GINSBERG y C. DRAPEAU. 2001. Blue-green algae as an immuno-enhancer and biomodulator. *J. Am. Nutr. Assoc.* 3(4): 24-30.
- JOHNSON H., S. KING, S. BANACK, C. WEBSTER, W. CALLANAUPA y P. COX. 2008. Cyanobacteria (*Nostoc commune*) used as a dietary item in the Peruvian highlands produce the neurotoxic amino acid BMAA. *J. Ethnopharmacol.* 118: 159-165.
- KREITLOW S., S. MUNDT y U. LINDEQUIST. 1999. Cyanobacteria – a potential source of new biologically active substances. *J. Biotechnol.* 70: 61-63.
- KUJBIDA P., E. HATANAKA, A. CAMPA, P. COLEPICOLO y E. PINTO. 2006. Effects of microcystins on human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 341: 273-277.
- LEE T., Y. CHEN y N. HONG. 1999. Toxicity assay of cyanobacterial strain using *Artemia salina* in comparison with the mouse bioassay. *Acta Zool. Taiwanica* 10(1): 1-9.
- LINDSAY J., J. METCALF y G. 2006. Protection against the toxicity of microcystin-LR and cylindrospermopsin in *Artemia salina* and *Daphnia* spp. By pre-treatment with cyanobacterial lipopolysaccharide (LPS). *Toxicon* 48: 995-1001.
- MANKIEWICZ J., M. TARCZYNSKA, K. FLADMARK, S. DOSKELAND, Z. WALTER y M. ZALEWSKI. 2001. Apoptotic effect of cyanobacterial extract on rat hepatocytes and human lymphocytes. *Environ. Toxicol.* 16(3): 225-233.
- METCALF J., J. LINDSAY, K. BEATTIE, S. BIRMINGHAM, M. SAKER, A. TÖRÖKNÉ y G. CODD. 2002. Toxicity of cylindrospermopsin to the brine shrimp *Artemia salina*: comparisons with protein synthesis inhibitors and microcystins. *Toxicon* 40: 1115-1120.
- MIAN P., J. HEILMANN, H. BÜRGI y O. STICHER. 2003. Biological screening of terrestrial and freshwater cyanobacteria for antimicrobial activity, brine shrimp lethality, and cytotoxicity. *Pharmaceut. Biol.* 41(4): 243-247.
- MICHAEL A., C. THOMPSON y M. ABRAMOVITZ. 1956. *Artemia salina* as a test organism for a bioassay. *Science* 123: 464-471.

- MILLIGAN K., B. MARQUEZ, R. WILLIAMSON y W. GERWICK. 2000. Lyngbyabellin B, a toxic and antifungal secondary metabolite from the marine cyanobacterium *Lyngbya majuscula*. *J. Nat. Prod.* 63: 1440-1443.
- MITSUI A., D. ROSNER, A. GOODMAN, G. REYES-VÁSQUEZ, T. KUSUMI, T. KODAMA y K. NEMOTO. 1989. Hemolytic toxins in marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. pp. 367-370. *en* T. Okaichi, D. Anderson y T. Nemoto (eds). *Red Tides Biology, Environmental Science and Technology*. Elsevier Academic Publisher. Ámsterdam, Países Bajos.
- MUNDT S., S. KREITLOW, A. NOWOTNY y U. EFFMERT. 2001. Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 203: 327-334.
- NAGAI T., S. RU, A. KATOH, S. DONG y T. KUWABARA. 2001. An extracellular hemolysin homolog from cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803. Paper S36-010. *Proceedings of the 12th International Congress on Photosynthesis*. CSIRO Publishing, Melbourne, Australia.
- ÖRDÖG V., STIRK W., LENOBEL R., BANCÍŘOVÁ M., STRNAD M., VAN STADEN J., SZIGETI J. y NÉMETH L. 2004. Screening microalgae for some potentially useful agricultural and pharmaceutical secondary metabolites. *J. Appl. Phycol.* 16: 309-314.
- PANDA B., JAIN P., SHARMA L. y MALLICK N. 2006. Optimization of cultural and nutritional conditions for accumulation of poly-β-hydroxybutyrate in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biores. Technol.* 97:1296-1301.
- PICCARDI R., FROSINI A., TREDICI M. y MARGHERI M. 2000. Bioactivity in free-living and symbiotic cyanobacteria of the genus *Nostoc*. *J. Appl. Phycol.* 12: 543-547.
- PICHARDO S., JOS A., ZURITA J., SALGUERO M., CAMEAN A. y REPETTO G. 2005. The use of the fish cell lines RTG-2 and PLHC-1 to compare the toxic effects produced by microcystins LR and RR. *Toxicol in Vitro* 19: 865-873.

- PRATIM., MOLTENI M., POMATIF., ROSSETTIC. y BERNARDINI G. 2005. Biological effect of the *Planktothrix* sp. FP1 cyanobacterial extract. *Toxicon* 40: 267-272.
- PUGH N. y PASCO D. 2001. Characterization of human monocyte activation by a water soluble preparation of *Aphanizomenon flos-aquae*. *Phytomedicine* 8(6): 445-453.
- RODRÍGUEZ H., J. RIVAS, M. GUERRERO y M. LOSADA. 1989. Nitrogen-fixing cyanobacterium with a high phycoerythrin content. *Appl. Environ. Microbiol.* 55(3): 758-760.
- ROSALES N., ORTEGA J., MORA R. y MORALES E. 2005. La salinidad como factor modulador del crecimiento y composición bioquímica de la cianobacteria *Synechococcus* sp. *Ciencias Marinas* 31(2): 349-355.
- RYMUSZKA A., SIEROSLAWSKA A., BOWNIK A. y SKOWRONSKI T. 2007. In vitro effects of pure microcystin-LR on the lymphocyte proliferation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shell. Immunol.* 22: 289-292.
- SOLTANI N., KHAVARI-NEJAD R., TABATABAEI M., SHOKRAVI S. y FERNÁNDEZ-VALIENTE E. 2005. Screening of soil cyanobacteria for antifungal and antibacterial activity. *Pharmaceut Biol.* 43(5): 455-459.
- WANG W., SONG X. y RU S. 2007. Studies on the factors affecting the growth and hemolytic activity of *Anabaena variabilis*. *J. Appl. Phycol.* 19: 365-371.
- WHITTON B. y POTTS M. 2000. Introduction to cyanobacteria. En Whitton B, Potts M, editors. *The ecology of cyanobacteria*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Países Bajos; pp. 1-11.
- YASUMOTO T., UNDERDAL B., AUNE T., HORMAZABAL V., SKULBERG O. y OSHIMA Y. 1990. Screening for hemolytic and ichthyotoxic components of *Chrysochromulina polyepsis* and *Gyrodinium aureolum* from Norwegian coastal waters. En Graneli E, Sundstrom B, Edler L, Anderson D, editors. *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier Academic Publisher. Amsterdam, Países Bajos; pp. 436-440.
- YEA S., KIM H., JEON Y., OH H., JEONG H. y YANG K. 2000. Suppression of IL-2 and IL-4 gene expression by nodularin through the reduced NF-AT binding activity. *Toxicol. Let.* 114: 215-224.

ZORKO M., MAJERLE A., ŠARLAH D., KEBER M., MOHAR B. y JERALA R. 2005. Combination of antimicrobial and endotoxin-neutralizing activities of novel oleoylamines. *Antimicrob Agents and Chemot.* 49(6): 2307-2313.