

DEFENSAS QUÍMICAS DE LA ESPECIE *LAURENCIA OBTUSA*

P. Caballero e I. Granado

Dpto. Biología, Facultad de Ciencias del Mar, ULPGC
Campus Universitario de Tafira, 35017 Las Palmas de G.C.

INTRODUCCIÓN. Las algas rojas del género *Laurencia*, ampliamente distribuidas en Canarias, son una rica fuente de sesquiterpenos polihalogenados con diferentes esqueletos. De la especie *Laurencia obtusa* se han aislado diferentes metabolitos (Fig. 1), que muestran actividades antibacterianas, antifúngicas y citotóxicas. Sin embargo, sus efectos como disuasores de la alimentación frente a herbívoros han sido muy poco estudiados (Hay *et al.*, 1988), así como sus actividades ictiotóxicas. En este estudio, examinamos la susceptibilidad de *L. obtusa* y el efecto de los metabolitos obtusol y elatol frente al pastaje de dos gasterópodos, *Littorina striata* y *Oscilinus atratus*. También se presentan resultados de actividades ictiotóxicas frente a larvas de *Sparus aurata*.

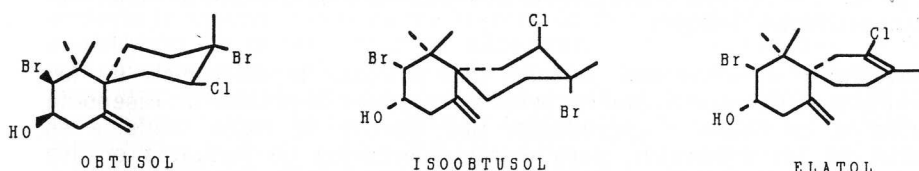


Fig. 1. Metabolitos mayoritarios de *Laurencia obtusa*

MATERIAL Y MÉTODOS. Recolección, extracción y aislamiento. El alga fue recolectada a mano durante la bajamar en la playa de Dos Roques, secada a 60°C y molida. Una muestra fue extraída hasta agotamiento en aparato Soxhlet con acetona, después de evaporar el disolvente, el extracto crudo (5.5% del peso seco, aproximadamente) fue separado en dos fases: una apolar (soluble en hexano) y otra que denominamos polar (soluble en éter). Estas fases fueron cromatografiadas en capa fina (CCF) con el fin de separar los metabolitos obtusol y elatol.

Ensayos de disuasión alimenticia. Los ensayos de disuasión alimenticia se realizaron empleando suspensiones del alga en agar (Rietsma *et al.*, 1982). Simultáneamente, se llevaron a cabo controles con *Enteromorpha ramulosa*, un alga preferida por los caracoles. Los extractos, fracciones y metabolitos, a concentraciones conocidas, se ensayaron según el procedimiento descrito por Paul y Fenical (1986), adaptándolo a nuestro método de placas de petri con agar. Siempre se ofreció a los caracoles una elección entre un control con *Enteromorpha*, con disolvente o no según los casos, y un tratamiento. La actividad alimenticia se determinó contando el número de mordiscos dejado sobre la superficie de agar después de 30 minutos. Cada ensayo se replicó al menos seis veces.

Ensayos de toxicidad larvaria. La toxicidad se midió frente a larvas de *Sparus aurata* de un día de edad. Las larvas eran tratadas, de una a 24 horas, con concentraciones conocidas de las fracciones y compuestos. A la vez, se ensayaron también controles con agua y éter. La toxicidad se define como el 100% de mortalidad larvaria. Los ensayos se repitieron al menos cuatro veces.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN. Ensayos de disuasión alimenticia. Tanto *Littorina* como *Oscilinus* parecen preferir a *Enteromorpha* como alimento, no mostrando diferencias importantes en sus preferencias alimenticias frente a las distintas dietas (Fig. 2). *L. obtusa* inhibe la alimentación de los caracoles en un 95-100% respecto al control. El fuerte efecto frente a los dos animales se observa también para el extracto crudo, fracción apolar y los dos productos ensayados. Tanto el obtusol como el elatol inhiben completamente la alimentación de los dos gasterópodos. En ninguna de las placas estudiadas (n=12) se observó marca alguna de mordiscos. La presencia de estos metabolitos provoca el desplazamiento de los animales hacia los sectores que contienen el control o hacia el exterior de las placas. Cuando se analiza la fracción polar por CCF se observa que el elatol y obtusol no están presentes. También se observa la ausencia de dos o tres productos presentes en la fracción apolar, que aún no ha sido totalmente purificada y que también muestra una altísima actividad frente a los dos herbívoros. Esta podría ser la causa de que, en el caso de *Littorina*, no se observen diferencias significativas con respecto al control ($p > 0.1$, test pareado de la t). Sin embargo, el efecto parece ser mayor frente a *Oscilinus*, donde las diferencias encontradas

son significativas ($p=0.012$). Estos resultados parecen indicar que en la fracción polar está presente uno o varios metabolitos activos que necesitan ser estudiados en un futuro con el fin de confirmar o desmentir estos resultados previos. Cuando se ensaya el residuo de *Laurencia* que queda después de ser extraída, respecto a *L. obtusa* sin extraer (control), se observa un incremento en las apetencias alimenticias de los dos caracoles. No obstante, en el caso de *Oscilinus* no es estadísticamente significativa ($p=0.2$). Cuando los ensayos se hacen frente a controles de *Enteromorpha*, los herbívoros continúan evitando a *Laurencia*.

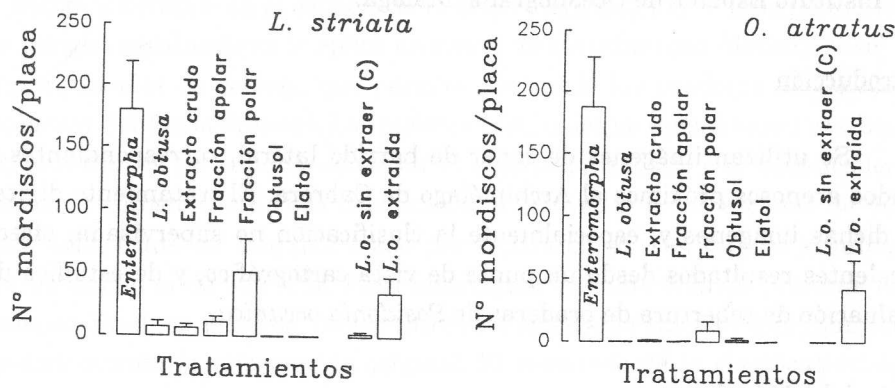


Fig. 2. Efecto de *Laurencia obtusa* (*L.o.*), su extracto, fracciones y metabolitos sobre la alimentación de *Littorina striata* y *Oscilinus atratus*, con respecto al control de *Enteromorpha*. La comparación de la actividad de *L.o. extraída* frente a no extraída (C=control). Aunque los ensayos han sido pareados, sólo se representa un control para mayor claridad de la figura.

Ensayos de toxicidad larvaria. La tabla 1 muestra la dosis efectiva (DE_{100}) del 100% de mortalidad. Todas las fracciones y metabolitos ensayados producían la mortalidad de todas las larvas a las 24 horas. Las larvas expuestas a disolventes (controles) no mostraron efectos significativamente nocivos respecto a los controles con agua de mar. Los ensayos de la fracción apolar muestran que la toxicidad aguda se consigue con una concentración $\geq 30 \mu\text{g/ml}$, mientras que la DE_{100} a las 24 horas es de $0.75 \mu\text{g/ml}$. Los metabolitos eran tóxicos al cabo de 1 hora a concentraciones tan bajas como $7.5 \mu\text{g/ml}$ ($22.5 \mu\text{M}$). El elatol muestra una actividad mayor que la del obtusol. Como se puede observar, parece existir un cierto efecto sinérgico en los efectos producidos por los compuestos cuando éstos se encuentran reunidos en una misma fracción. Este posible fenómeno de sinergismo parece más evidente en la ED_{100} a las 24 horas (0.75 frente a $1.5 + 2.5$).

Tabla 1. Resultados de los bioensayos de toxicidad con larvas de 1 día de <i>Sparus aurata</i> . DE_{100} : dosis mínima efectiva para el 100% de toxicidad.			
Bioensayo	Compuestos ensayados ($\mu\text{g/ml}$)		
	fracción apolar	obtusol	elatol
DE_{100} (1 h)	30	20	7,5
DE_{100} (24 h)	0,75	2,5	1,5