



Biología de Huelva

Naturaleza, Biodiversidad,
Bioindicadores y Biomarcadores

Rafael Torronteras Santiago
[Ed.]

 DIPUTACIÓN
DE HUELVA

 uhu.es
PUBLICACIONES

 CÁTEDRA
DE LA PROVINCIA



Biología de Huelva

Naturaleza, Biodiversidad,
Bioindicadores y Biomarcadores





Biología de Huelva

Naturaleza, Biodiversidad,
Bioindicadores y Biomarcadores



Rafael Torronteras Santiago [Ed.]

DATOS EDICIÓN

PRIMERA EDICIÓN EN FORMATO EBOOK: ENERO 2021

I.S.B.N. (ebook): 978-84-18984-95-2

© Servicio de Publicaciones
Universidad de Huelva

Maquetación y Ebook

© Rafael Torronteras Santiago [Ed.]

Art&maña Publicitaria (artimana.com)

Esta obra se publica bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 España



Obra sometida al proceso de evaluación de calidad editorial por el sistema de revisión por pares.

Publicaciones de la Universidad de Huelva es miembro de UNE

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad ni parte de este libro puede reproducirse o transmitirse por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética o cualquier almacenamiento de información y sistema de recuperación, sin permiso escrito del editor. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutivo de delito contra la propiedad intelectual.

EL EBOOK LE PERMITE



Citar el libro



Navegar por marcadores e hipervínculos



Realizar notas y búsquedas internas



Volver al índice pulsando el pie de la página



Comparte
#LibrosUHU



Únete y comenta



Novedades a golpe de clic



Nuestras publicaciones en movimiento



Suscríbete a nuestras novedades

Índice

00. Prólogo	
Rafael Torronteras Santiago.....	9
01. Las bacterias extremófilas de los ríos ácidos de Huelva	
Francisco Córdoba García	17
02. Una microalga del río Tinto que aporta beneficios para la salud	
Francisco J. Navarro Roldán.....	51
03. Síntesis de la flora de la provincia de Huelva	
Adolfo F. Muñoz Rodríguez María Dolores Infante Izquierdo Enrique Sánchez Gullón	77
04. Vegetación general de Huelva	
Pablo J. Hidalgo Fernández	115
05. Hongos: ecología y biodiversidad en ecosistemas litorales de Huelva	
Francisco Javier Jiménez Nieva Francisco de Asís Sánchez González Cristina Caetano Sánchez	145
06. Monitorización del estrés ambiental en el medio acuático mediante la evaluación de biomarcadores inducidos por cadmio en <i>Carassius auratus</i> (Linneo, 1758)	
Yoselin Roa Aravena Antonio L. Canalejo Raya Rafael Torronteras Santiago	187
07. Moluscos dulceacuícolas de Huelva	
Juan Carlos Pérez Quintero	235
08. Anfibios y reptiles de la provincia de Huelva	
Juan Pablo González de la Vega Juan Carlos Pérez-Quintero	259
09. Ictiofauna continental onubense	
José Prenda Marín	295
10. Los mamíferos en Huelva	
Javier Calzada Carlos Gutiérrez-Expósito Jacinto Román Juan Quetglas	335
11. Ecología del litoral onubense (I): marismas mareales	
Eloy M. Castellanos Verdugo Carlos J. Luque Palomo	379
12. Ecología del litoral onubense (II): sistemas dunares	
Carlos J. Luque Palomo Eloy M. Castellanos Verdugo	417



Prólogo

Rafael Torronteras Santiago

Grupo Investigación de Respuestas Celulares al Estrés Ambiental (BIO-282). Área de Biología Celular. Departamento de Ciencias Integradas. Facultad de Ciencias Experimentales-Centro de Investigación RENSMA. Campus de Excelencia Ceimar. Universidad de Huelva. Campus de El Carmen. Bulevar de las Artes y las Ciencias, s/n. E-21071-Huelva. España.

Dr. Rafael Torronteras Santiago || torronte@uhu.es

Tel.: +34 959 21 98 91 || Fax: +34 959 21 94 67





Prólogo

Rafael Torronteras Santiago



Este libro surge como reconocimiento y modesto homenaje a la Biología en Huelva. A esa Biología con mayúsculas que los miembros, en su mayoría biólogos, del **Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública de la Universidad de Huelva**, quisieron *cultivar*, poner en valor y desarrollar con la constitución de dicho departamento y desde él. En este curso 2020/21 se han cumplido 20 años de la creación de ese querido departamento y que, desgraciadamente, fue eliminado en 2016 con motivo de las restricciones económicas impuestas por el Plan de Refinanciación de la Universidad. Dicho Plan supuso la fusión y desaparición de muchos departamentos, entre ellos el nuestro.

Para los biólogos de aquel Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública de Huelva era importante visibilizar, de manera institucional, la importancia y el gran valor de los estudios de Biología en la provincia de Huelva y, además, hechos desde su Universidad.

La configuración del **Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública** se fue fraguando desde que en 1997 (hace 25 años) empezaron a llegar a la Universidad de Huelva un grupo importante de nuevos profesores de Biología. Y ello fue posible gracias a la implantación de nuevos estudios en nuestra Universidad, como los de Ciencias Ambientales (curso 1996/97). Así se fueron contratando y se fueron formalizando plazas de profesorado universitario en 4 grandes áreas de conocimiento: en Biología Animal (Zoología), Biología Celular, Biología Vegetal (Botánica), y Ecología.

No obstante, y en honor a la verdad, hay que decir que la presencia de los estudios de Biología y de profesionales de la Biología (biólogos y biólogas) en la institución universitaria de Huelva no era nueva con la creación de este departamento, aunque sí era la primera vez que su presencia se consolidaba de manera institucional con departamento de biología, a la vez que se hacía más numerosa.

Los primeros biólogos y biólogas en los centros universitarios de Huelva estuvieron impartiendo sus conocimientos en la Escuela del Profesorado de E.G.B. de Huelva (antigua “Escuela Normal”), al principio dependiente de la Universidad de Sevilla y que se alojó en las instalaciones de lo que hoy conocemos como Campus de Cantero Cuadrado, y que son las dependencias actuales del Rectorado de la UHU. En esa Escuela Universitaria de Profesorado de E.G.B. se impartían especialidades de Ciencias Humanas, Literatura, Preescolar, Idiomas y Ciencias. Esta última especialidad incluía tres



grandes disciplinas, cada una integrada en un “Seminario” propio: “Seminario de Física y Química”, “Seminario de Matemáticas” y “Seminario de Ciencias Naturales”.

El Seminario de Seminario de Ciencias Naturales estuvo integrado originalmente por D^a Librada Vázquez Domínguez (licenciada en Ciencias Naturales y Catedrática de Escuela Universitaria), D^a Francisca Fernanda Fernández Illescas (licenciada en Ciencias Biológicas y Titular de Escuela Universitaria) y D^a Ana María Wamba Aguado (licenciada en Ciencias Biológicas y Titular de Escuela Universitaria), a los que se unieron D. Carlos González y Díaz de la Cortina (licenciado en Geología y Titular de Escuela Universitaria) y D. Miguel Ángel López Peña (licenciado en Ciencias Biológicas y Titular de Escuela Universitaria, que tras varios años en Huelva obtuvo una plaza en la Universidad de Sevilla). Tras la marcha de D. Miguel Ángel López Peña, se incorporó el profesor D. Francisco Córdoba García, como Catedrático de Escuela Universitaria, y al año siguiente se incorporó el también profesor D. Juan Carlos Pérez Quintero, como Titular de Escuela Universitaria.

Desde aquí también nuestro más profundo y eterno reconocimiento, admiración y agradecimiento a todos ellos por promover la enseñanza y el conocimiento de la Biología, y especialmente por hacerlo en tiempos difíciles donde la escasez de recursos y medios era habitual.

Con la creación de la Universidad de Huelva en 1993 y la adscripción de la Escuela de Magisterio a la UHU, los miembros (biólogos y biólogas) del “*Seminario de Ciencias Naturales*” de dicha Escuela se incorporaron a distintos departamentos de la nueva universidad. La profesora D^a Ana Wamba Aguado y el profesor D. Carlos González y Díaz de la Cortina se adscribieron al “Departamento de Didácticas Especiales”, mientras que los profesores, D^a Francisca Fernanda Fernández Illescas (Botánica), D. Francisco Córdoba García (Biología Celular), y D. Juan Carlos Pérez Quintero (Zoología) se integraron en la plantilla del Departamento de Ciencias Agroforestales, difuminándose así su presencia entre una inmensa mayoría de profesionales y áreas de la ingeniería, adscritas a ese mismo departamento.

En 1997 con la implantación de nuevas titulaciones, como la de Ciencias Ambientales, comienzan a incorporarse un mayor número de biólogos en el departamento de Ciencias Agroforestales, a distintas áreas de conocimiento.

Así, al **área de Ecología** se incorporan los profesores Eloy M. Castellanos Verdugo, Francisco Javier Jiménez Nieva y Carlos Javier Luque Palomo. En el **área de Biología Celular** se incorporan, además del mencionado profesor Francisco Córdoba García, los profesores Rafael Torronteras Santiago, Francisco J. Navarro Roldán y Antonio L. Canalejo Raya. En el **área de Botánica**, además de la mencionada profesora Francisca F. Fernández Illescas se incorporan los profesores Adolfo F. Muñoz Rodríguez y Pablo Hidalgo Fernández. Y, finalmente, en el **área de Zoología** se incorporan además del profesor Juan Carlos Pérez Quintero, los profesores José Prenda Marín y Javier Calzada Samperio.

Este grupo de biólogos y biólogas no solo se fueron incorporando a las distintas áreas de conocimiento que luego dieron origen a la creación del Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública, junto al área de Medicina Preventiva y Salud Pública, sino que también fueron creando y/o incorporándose a distintos grupos de investigación de la Universidad de Huelva, y adscritos al Plan de Investigación, Desarrollo e Innovación de la Junta de Andalucía (PAIDI). Así nos encontramos con la participación de estos biólogos y biólogas en los siguientes grupos de investigación:

**GRUPO BIO-282: Respuestas y Adaptaciones Celulares Frente al Estrés Ambiental.**

Dirigido por Francisco Córdoba García y con la participación entre otros miembros de Rafael Torronteras Santiago, Antonio L. Canalejo Raya y Pablo Hidalgo Fernández.

Grupo RNM-324: Biología de las Aguas Epicontinentales.

Dirigido por José Prenda Marín, y con la participación entre otros miembros de Juan Carlos Pérez Quintero.

GRUPO RNM-311: Ecología y Medio Ambiente.

Dirigido por Eloy M. Castellanos Verdugo, y con la participación entre otros miembros de Carlos J. Luque Palomo.

GRUPO RNM-358: Marismas y Playas.

Dirigido por Adolfo F. Muñoz Rodríguez, y con la participación entre otros miembros de F. Javier Jiménez Nieva y Javier Calzada Samperio.

GRUPO SEJ-523: Prevención de Riesgos Laborales.

Con la participación entre otros miembros de Francisco J. Navarro Roldán.

Muchas han sido las investigaciones que estos profesores y profesoras han realizado desde que empezaron a incorporarse a la Universidad de Huelva, y terminaron por constituir hace 20 años el **Departamento de Biología Ambiental y Salud Pública**. De ello, da buena cuenta las numerosas y prestigiosas publicaciones y artículos científicos de sus *curricula*. Este libro sobre la Biología de Huelva supone todo un esfuerzo por mostrar parte de esos estudios biológicos en esta provincia. Cada uno de los distintos profesores de biología, y atendiendo a sus áreas de conocimiento, han dedicado uno de los capítulos de este libro a temas como la flora, la fauna, la vegetación, la ecología, los espacios naturales, la microbiología y las características ambientales de Huelva.

Así, en el **Capítulo 1**, se presentan “**las bacterias extremófilas de los ríos ácidos de Huelva**”. Estas bacterias son responsables en gran parte del denominado Drenaje Ácido de Rocas –cuando no se considera el efecto antropogénico- o del Drenaje Ácido de Minas –cuando su intensidad depende de las explotaciones mineras-, fenómeno por el cual se originan estas corrientes de agua caracterizadas por su acidez, color, y transporte de una variedad de metales. Estas bacterias tienen cada día mayor interés en la industria biometalúrgica. En otro sentido, la eliminación de metales de diversos residuos tiene también el interés cada vez mayor de mejorar la calidad ambiental y favorecer un desarrollo sostenible.



En el **Capítulo 2** se nos habla de “una microalga del río Tinto que aporta beneficios para la salud”, y donde se evalúa la capacidad antimicrobiana de algunos extractos obtenidos a partir de la microalga *Coccomyxa onubensis* (*C. onubensis*), un microorganismo extremófilo aislado de drenajes ácidos de la zona minera del río Tinto (Huelva, España). Así mismo la biomasa de esta microalga es rica en proteínas, lípidos, hidratos de carbono, antioxidantes y vitaminas, y, por lo tanto, su posibilidad de servir como alimento para animales también ha sido estudiada.

El **Capítulo 3** nos aporta una **síntesis de la flora de la provincia de Huelva** que posee una flora de plantas vasculares que reúne unos 1700 taxones, lo que supone una riqueza alta por su posición en un importante punto caliente de biodiversidad mundial. La singularidad de su flora es muy alta debido al gran número de endemismos que contiene, lo que determina que posea un número muy elevado de especies protegidas incluidas en el Catálogo de Especies Amenazadas de Andalucía. En Huelva habitan 10 taxones en peligro de extinción y 27 vulnerables, a los que hay que añadir 21 incluidos en el régimen de protección especial.

El **Capítulo 4** se dedica a la **vegetación general de Huelva** porque esta provincia es la de mayor superficie arbolada de Andalucía, aunque la mayoría de estos bosques proceden de plantaciones forestales, algunas muy antiguas. No obstante, aún conserva grandes extensiones de vegetación natural derivada de los enormes bosques mediterráneos de encina y alcornoque que poblaban la Península Ibérica. Se pueden identificar distintos tipos de encinares y alcornocales dependiendo de la litología y el bioclima. Con respecto a las plantaciones forestales, son muy frecuentes las de pinares y eucaliptares. Finalmente, en el corazón de la sierra, existen abundantes castaños, introducidos desde hace siglos para la explotación de su fruto y la madera.

El **Capítulo 5** nos habla de los **hongos: ecología y biodiversidad en ecosistemas litorales de Huelva**. En este capítulo nos centramos en la biodiversidad fúngica y su importancia en el funcionamiento de los ecosistemas terrestres onubenses, aspecto que ha permanecido hasta la fecha sumido en una importante laguna de conocimiento, usando como ejemplo 70 especies diferentes de hongos (aunque se citan un total de 292 especies distribuidas por los diferentes órdenes y las principales familias de este reino), seleccionadas entre las más representativas y/o singulares de la comarca del litoral onubense.

En el **Capítulo 6** se presenta un ejemplo de las muchas investigaciones ambientales realizadas en Huelva y dedicada a la **monitorización del estrés ambiental en el medio acuático mediante la evaluación de biomarcadores inducidos por cadmio en *Carassius auratus* (Linneo, 1758)**. La contaminación en el medio acuático es un problema cada vez más serio y que va en aumento. Los organismos acuáticos, pueden acumular los xenobióticos del agua contaminada o de la cadena trófica. En peces expuestos a bajas concentraciones de un metal como el cadmio, muy presente en los drenajes en Huelva, se produce una bioacumulación en los tejidos asociada a la inducción de estrés oxidativo y el desarrollo de daño genotóxico. Los biomarcadores tempranos de exposición y efecto utilizados en este estudio aparecen como herramientas útiles para la biomonitorización de la contaminación ambiental en el medio acuático.

El **Capítulo 7** nos habla de los **moluscos dulceacuícolas de Huelva**. La fauna de invertebrados de Huelva ha sido, en general, poco estudiada. Existe gran cantidad de información acerca de la estructura de las comunidades en entornos emblemáticos como el Parque Nacional de Doñana o el



Paraje Natural Marismas del Odiel, pero del resto de la provincia de Huelva sólo se conocen mosaicos aislados. En este capítulo se recapitula información sobre 12 familias, 30 géneros y 32 especies (26 autóctonas y 6 introducidas).

El **Capítulo 8** nos descubre los **anfibios y reptiles de la provincia de Huelva**. En él se presentan las especies estudiadas a lo largo 36 años de salidas al campo para la confección del Atlas Herpetológico de la Provincia de Huelva, y paralelamente, el Atlas Herpetológico de Andalucía. Se hace una breve reseña de cada una de las especies y se aportan fotografías de las mismas. En total son 43 las especies presentes en la geografía onubense, de ellas 13 son anfibios, 9 son quelonios, cinco de las mismas son tortugas marinas que deben ser tratadas como especies divagantes, y un galápagos americano introducido, pero con poblaciones estables y perfectamente aclimatada, 12 saurios, 1 anfisbénido y 8 ofidios.

El **Capítulo 9** se centra en la **ictiofauna continental onubense**. Los peces continentales son los vertebrados más diversos y los más amenazados. En total se aporta información sobre 96 localidades continentales, la mayoría fluviales, en las que se han registrado 38 especies de peces, de las que 18 son de distribución primaria, es decir, estrictamente continentales. Esta extraordinaria ictiofauna está expuesta a un grave riesgo de extinción, como se puede comprobar a partir de las extinciones locales registradas en este trabajo. De aquí se deduce que se deben redoblar los esfuerzos de protección de los hábitats acuáticos.

El **Capítulo 10** nos descubre **los mamíferos en Huelva**. Esta provincia posee 23 espacios protegidos, entre ellos un Parque Nacional, dos Parques Naturales, ocho Parajes Naturales, un Paisaje Protegido, tres Reservas Naturales y una Reserva Natural Concertada. Entre todos los espacios protegen el 30% del territorio de la provincia de Huelva. Pero lo que es menos conocido es que Huelva es también rica y diversa en mamíferos. Como relata este capítulo, se han citado en la provincia hasta 72 especies distintas de mamíferos y 51 son comunes: seis especies de insectívoros, ocho especies de roedores, dos de lagomorfos, 19 especies de murciélagos, tres especies de ungulados, 10 de carnívoros y tres cetáceos. No en vano la provincia cuenta con seis áreas ZIM, Zonas Importantes para los Mamíferos de España.

El **Capítulo 11** está dedicado a la **ecología del litoral onubense (1): marismas mareales**. Las marismas mareales son ecosistemas únicos, de alto valor ecológico, que ofrecen bienes y servicios que trascienden del ámbito geográfico local y repercuten tanto a escala regional como global. Huelva es rica en estos ecosistemas. Los organismos son mayoritariamente halófilos y sus productores primarios exclusivamente especies halófitas, con adaptaciones que les permiten vivir en estos ambientes. A escala regional, las marismas, son zona de cría, guardería y alimentación de numerosas especies animales en el Golfo de Cádiz, algunas de interés comercial. A escala global, las marismas onubenses estén mundialmente reconocidas por su importancia ornitológica, fundamentales para las aves de humedales que, en sus rutas migratorias, encuentra en las marismas de Huelva puntos de alimentación, descanso y reproducción.

Y el **Capítulo 12** nos habla de la **ecología del litoral onubense (2): sistemas dunares**. Los sistemas dunares costeros son ecosistemas de transición de distribución mundial. Si bien están ceñidos a una pequeña franja del litoral, aportan importantes bienes y servicios ecosistémicos. Sin embargo, son espacios sometidos a una enorme tensión ambiental debido a la gran demanda por parte del



hombre para establecer instalaciones y realizar otros usos y actividades en su territorio (viviendas, paseos marítimos, vías de comunicación, agricultura, balnearios, etc.). Se consideran espacios amenazados y llegando incluso a su eliminación. La mayor parte de la costa de la provincia de Huelva dispone de una inmensa riqueza de sistemas dunares, con diferentes formaciones geomorfológicas. Dunas blancas, bosques litorales y dunas móviles forman parte de los sistemas dunares de un enorme valor natural.

Esperamos que el lector disfrute con esta Biología de Huelva que aquí le hemos querido mostrar y, sobre todo, poniendo de relieve el altísimo valor biológico, ecológico y medioambiental de la provincia de Huelva, así como visibilizar y reconocer el trabajo que los biólogos y biólogas de la Universidad de Huelva realizan desde que empezamos a incorporarnos a ella.

Finalmente, queremos agradecer a la Universidad de Huelva, al Vicerrectorado de Extensión Cultural y al Servicio de Publicaciones de la Universidad que hayan facilitado y posibilitado que este libro pueda ver la luz para conocimiento por parte de todos los onubenses de la riqueza de su tierra, de su naturaleza. Nos mueve también a ello el favorecer su protección, defensa y conservación. Y, al mismo tiempo, que este libro sirva también de estímulo a todos aquellos apasionados por la Biología y no duden en lanzarse a su estudio y conocimiento.



02



Una microalga de río Tinto que aporta beneficios para la salud

Francisco J. Navarro Roldán *

Área de Biología Celular. Departamento de Ciencias Integradas. Facultad de Ciencias Experimentales-
Centro de Investigación RENSMA. Universidad de Huelva. Campus de El Carmen. Bulevar de las
Artes y las Ciencias, s/n. E-21071-Huelva. España.

* Corresponding author

Dr. Francisco Navarro Roldán

|| fnavarro@dbasp.uhu.es

|| fnavarro.uhu@gmail.com

Tel.: +34 959 21 98 80 || Fax: +34 959 21 94 67







Una microalga de río Tinto que aporta beneficios para la salud

Francisco J. Navarro Roldán



RESUMEN

Las microalgas se consideran interesantes fuentes naturales de moléculas valiosas, muchas de las cuales presentan actividades biológicas con aplicaciones en la salud humana, como antiinflamatorios, antitumorales y antibióticos. En el presente capítulo evaluamos la capacidad antimicrobiana de algunos extractos obtenidos a partir de la microalga *Coccomyxa onubensis* (*C. onubensis*), un microorganismo extremófilo aislado de drenajes ácidos de la zona minera del río Tinto (Huelva, España). Así mismo la biomasa de esta microalga es rica en proteínas, lípidos, hidratos de carbono, antioxidantes y vitaminas, y por lo tanto su posibilidad de servir como alimento para animales también ha sido estudiada por nuestro equipo de investigación.

Los resultados muestran que la microalga produce compuestos con actividad antibacteriana y que la biosíntesis de este tipo de compuestos se lleva a cabo en condiciones de pH muy bajo y en un entorno altamente oxidativo, bajo las cuales la vida apenas es posible. Por su parte, como suplemento nutricional todos los resultados apoyan que la biomasa de *C. onubensis* puede ser un suplemento seguro en la dieta y tiene las propiedades nutricionales adecuadas de los alimentos funcionales.

PALABRAS CLAVE

Microalgas, Nutraceuticos, *Coccomixa*, Antimicrobianos.



Cauce alto del río Tinto

FOTOGRAFIA: Francisco Navarro



[1]

Río Tinto, un entorno controvertido

El río Tinto es un río costero del sur de España, de unos 100 Km de longitud, que discurre a lo largo de la provincia de Huelva. Sus aguas, de color rojizo, llevan en disolución gran cantidad de metales pesados (hierro, cobre, cadmio, manganeso, etc.), lo que junto a su pH extremadamente ácido (entre 1.7 y 2.7), lo convierten (*a priori*) en un entorno extremadamente hostil para la vida. Tanto, que ha sido estudiado por la NASA debido a su similitud con las condiciones del planeta Marte. En este río no hay peces ni anfibios pero sin embargo, en sus aguas viven pequeños microorganismos que se han sabido adaptar a ese ambiente extremo y que en su conjunto se les denomina “**organismos extremófilos**”. Expertos de la NASA han comprobado que este río contiene centenares de miles de bacterias, hongos, algas y protozoos que logran desarrollarse en un ambiente hostil desde hace 500.000 años (https://es.wikipedia.org/wiki/R%C3%ADo_Tinto).

Estas condiciones tan extremas han sido provocadas por la actividad de unas bacterias capaces de obtener energía a partir del sustrato de pirita que abunda en el subsuelo de dicho río. A estas bacterias se les denomina genéricamente *quimiolitotrofos* (capaces de crecer en medios estrictamente minerales y en ausencia de luz, que obtienen la energía por oxidación de compuestos inorgánicos, químicamente reducidos) y concretamente lo que hacen para vivir es oxidar dicho mineral de pirita, constituido por sulfuro de hierro, generando entre otros elementos, ácido sulfúrico y óxido férrico, que aportan al río Tinto sus propiedades de color y acidez tan características (González-Toril *et al.*, 2004).

Junto a las bacterias (organismos procariotas) también tienen una relevancia importante las microalgas (organismos eucariotas) que representan aproximadamente un 60% de la biomasa del río (Forján *et al.*, 2014). Entre ellas cabe destacar las diatomeas, euglenofitas, clorofitas unicelulares y algas rojas unicelulares (Amaral *et al.*, 2002). Estos microorganismos extremófilos, a lo largo de esos miles de años, han desarrollado mecanismos biológicos de adaptación para hacer frente a las altas concentraciones de metales disueltos en el agua y proteger su metabolismo y estructuras celulares, y han sido estos mecanismos los que han dado lugar a la síntesis de multitud de biomoléculas de interés comercial.

La primera referencia escrita del empleo de microalgas para la alimentación humana, data de hace más de 2000 años en China, cuyos pobladores usaron *Nostoc* para sobrevivir durante periodos de hambruna (Spolaore *et al.*, 2006). Además de *Nostoc*, otras especies comestibles como las cianobacterias *Spirulina* y *Aphanizomenon*, se usaron como alimento durante muchos siglos en Asia, África y México (Jensen *et al.*, 2001; Olaizola, 2003). En 1521, Bernal Díaz del Castillo, expedicionario español que participó en la conquista de México, describe la preparación de un légamo de *Spirulina*, que los indios nativos ingerían en su dieta.

La primera documentación del cultivo intencionado de un alga se remonta a 1640 en Japón. Se trata del alga “Nori”, término japonés usado para referirse a variedades comestibles de alga marina de las diversas especies de alga roja *Porphyra*, con la que generalmente se enrolla el sushi. Aproximadamente en el mismo periodo, se inició la recolección de diversas especies de *Gracilaria* para obtener un producto similar al agar (Pulz y Gross, 2004). En el mundo occidental, el aprovechamiento industrial de las algas y microalgas se inició en el siglo XVIII para extraer de ellas sosa, yodo y otros compuestos químicos. En este momento comenzaron los intentos para poder cultivar las algas pardas *Laminaria*, *Macrocystis* y *Fucus* en áreas específicas destinadas a dicho fin.



FIGURA
02-2

Buzo de la empresa gallega “Porto-Muiños” recolectando espagueti de mar (*Himantalia elongata*).

FUENTE: <http://www.expansion.com/pymes/2016/04/13/5707f764e2704e9c1b8b45a5.html>



A partir de 1940, como consecuencia de la II Guerra Mundial, la utilización de las microalgas como alimento vivo en acuicultura comenzó a adquirir cada vez más importancia. Los científicos alemanes comenzaron a cultivar microalgas de forma masiva con el objeto de obtener lípidos y proteínas. En estos años el estudio de las algas y su uso comercial se desarrolló de forma muy rápida, comenzado en Alemania y extendiéndose luego a los Estados Unidos, Israel, Japón e Italia, con el fin de utilizar biomasa de algas para producir proteínas y grasas para la nutrición humana (Forján *et al.*, 2014). A partir de estas fechas comienza a reconocerse a la biomasa de algas como un suplemento alimentario de gran calidad que podría utilizarse en la nutrición humana, dados los datos estadísticos que reflejaban el aumento de la población mundial y las predicciones realizadas por expertos sobre el insuficiente suplemento de proteínas en el futuro (Spolaore *et al.*, 2006). Posteriormente comenzaron a realizarse estudios basados en la utilización de microalgas para otros fines como en el tratamiento de aguas residuales y en su examen sistemático para la obtención de sustancias biológicamente activas (Borowitzka, 1995).

Hay tres principales razones que explican el gran interés de las microalgas como ingrediente alimentario y como pequeñas fábricas productoras de moléculas de alto valor añadido. En primer lugar, las microalgas son organismos autótrofos, de manera que sólo se requiere para su crecimiento una fuente natural de dióxido de carbono (CO₂), la luz solar como fuente de energía y pequeñas cantidades de N, P, S y otros micronutrientes. En segundo lugar, debido a su menor complejidad biológica, estructural y metabólica, las microalgas tienen una mayor tasa de crecimiento con respecto a las plantas. Por último, es posible contro-



lar la producción y acumulación de compuestos bioactivos en las microalgas a través de la manipulación de las condiciones de cultivo. Estas razones, junto con la enorme diversidad de este grupo biológico y el extraordinario desarrollo de las técnicas de la ingeniería genética, han motivado el gran interés de la comunidad científica por la biotecnología microalgal y su aplicación en sectores médicos y farmacéuticos (Spolaore *et al.*, 2006; Pulz y Gross, 2004). No es sorprendente que la mayoría de los complementos alimenticios, terapéuticos y derivados de productos naturales, se obtengan principalmente de organismos terrestres (plantas, animales y microorganismos), a pesar de que las aguas superficiales contienen, con diferencia, la mayor biodiversidad del planeta. La gran mayoría de los organismos que viven en los mares, océanos y entornos acuáticos terrestres todavía permanecen inexplorados. El estudio de algunos de estos microorganismos con fines farmacéuticos ha demostrado que son fuente de precursores químicos, de nuevos reactivos y compuestos bioactivos con aplicación médica (Blom y Perntaler, 2010).

Por su composición química, las microalgas son capaces de mejorar, desde el punto de vista nutricional, numerosos preparados alimenticios y ejercer efectos beneficiosos sobre la salud de hombres y animales. El alto contenido en proteína de determinadas especies de microalgas es una de las principales razones para considerarlas como una fuente proteica no convencional. La TABLA 1 muestra una comparación en la composición general de diversos alimentos humanos con diferentes microalgas, pudiéndose equiparar nutricionalmente a la carne, pescado y huevos.

TABLA
02-1

**Proteínas microbianas:
Microorganismos frente a la alimentación convencional**

FUENTE: Vega *et al.*, 1983, [12]

Los valores se corresponden con el % de peso seco.

Organismo/Alimento	Proteínas	Carbohidratos	Lípidos	Ácidos Nucleicos
Bacterias	47-86	2-36	1-39	1-36
Cianobacterias	36-65	8-20	2-13	3-8
Algas verdes	46-60	2-7	1-76	3-6
Hongos	13-61	25-69	1-30	5-13
Huevo	49	3	45	-
Carne	57	2	37	1
Pescado	55	-	37	-
Leche	27	38	30	-
Maíz	10	85	4	-
Trigo	14	84	2	-
Soja	47	41	7	-
Espinaca	12	5	0,3	0,6



Las microalgas son capaces de sintetizar todos los aminoácidos, por lo que pueden proveer de aquellos que resultan esenciales a humanos y animales (Guil-Guerrero *et al.*, 2004). Los carbohidratos de microalgas pueden encontrarse en forma de almidón, glucosa, azúcares y otros polisacáridos y, por su alta digestibilidad, no presentan inconvenientes para que la biomasa forme parte de comidas y alimentos (Becker, 2004). Respecto a los lípidos, la cantidad puede variar entre el 1 y el 70 %, aunque en algunas especies puede llegar al 90 % de peso seco bajo ciertas condiciones (Metting, 1996) y contener altas concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados $\omega 3$ (omega 3) y $\omega 6$ (omega 6), cuya cantidad y proporción relativa se determina por factores nutricionales y medioambientales, entre los que se encuentra la limitación de nitrógeno (Borowitzka, 1988; Tzovenis *et al.*, 2003).

En cuanto a la calidad de las proteínas que contienen, las microalgas presentan una calidad parecida, incluso superior, a los alimentos convencionales, como puede observarse en la TABLA 2, que muestra una comparativa entre el contenido en aminoácidos esenciales de diversos microorganismos y el de algunos alimentos convencionales.

TABLA 02-2 **Aminoácidos esenciales: Microbios versus alimentación convencional**
 (% del total de aminoácidos)
 FUENTE: Vega *et al.*, 1983, [12]

Organismo/Alimento	Lys	Thr	Met/Cys	Trp	Ile	Leu	Val	Phe
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	7,7	4,8	1,7	1,0	4,6	7,0	5,3	4,1
<i>Candida lipolitica</i>	7,8	5,4	2,5	1,3	5,3	7,8	5,8	4,8
<i>Scenedesmus obliquus</i>	5,7	5,1	2,3	1,5	3,8	8,4	5,7	5,1
<i>Spirulina maxima</i>	4,6	4,6	1,8	1,4	6,0	8,0	6,5	5,0
Bacterias fotosintéticas	5,8	2,9-4,4	3,0	-	4,2	7,4-7,9	6,5-7,0	4,3-4,6
Huevo	6,4	5,0	5,5	1,6	6,6	8,8	7,4	5,8
Trigo	2,8	2,9	4,0	1,1	3,3	6,7	4,4	4,5
Soja	6,3	3,9	1,3	1,4	5,4	7,7	5,2	4,3

Las microalgas también representan una fuente variada de vitaminas A, B1, B2, B6, B12, C, E, nicotinato, biotina, ácido fólico y ácido pantoténico (Becker, 2004), aunque la concentración en la que se encuentran presenta variaciones en función de los factores medioambientales, los tratamientos de recolección y el método de secado de las células. Por otro lado, las microalgas también son ricas en pigmentos clorofílicos (0,5 % al 1 % en peso seco), en carotenoides y en ficobiliproteínas (Spolaore *et al.*, 2006; Pulz y Gross, 2004).



[2]

Las microalgas son fuente de “nutracéuticos”

Tener una alimentación adecuada es una preocupación cada día más extendida en todos los países europeos (Torres y Francés, 2007). La salud humana está relacionada directamente con el estilo de vida, en el que una dieta equilibrada juega un papel fundamental. Los consumidores están cambiando sus expectativas sobre los alimentos, por lo que la salud y la seguridad son cada vez más importantes en la elección de los alimentos (Layman, 2014). Así comienzan a emerger los alimentos funcionales, constituyendo por tanto, la respuesta a mejorar la salud y reducir el riesgo a contraer enfermedades.

Para este propósito, el alimento suele enriquecerse en componentes biológicamente activos, como minerales, vitaminas, ácidos grasos, fibra dietética, antioxidantes, etc., que mejoran las funciones gastrointestinales, la ingesta de antioxidantes y el metabolismo de los macronutrientes o micronutrientes (Gómez-Ariza *et al.*, 2010). Entre dichos componentes se encuentran los llamados **nutracéuticos** que se pueden definir como un suplemento dietético, presentado en una matriz no alimenticia (píldoras, cápsulas, polvo, etc.), de una sustancia natural bioactiva concentrada, presente usualmente en los alimentos y que, tomada en dosis superior a la existente en dichos alimentos, lo que supuestamente tendría un efecto favorable sobre la salud, mayor que el que podría tener el alimento normal por sí solo. Por tanto, se diferencian claramente de los medicamentos, ya que estos suelen ser productos de síntesis y no tienen por sí solos en su mayoría un origen biológico natural. Por otra parte los nutracéuticos son componentes de los alimentos o partes del mismo, y sobre todo no sólo pueden curar, sino también prevenir ciertas enfermedades, que aportan un beneficio añadido para la salud, por ejemplo un beneficio médico, inclusive para la prevención y el tratamiento de algunas enfermedades (Sloan, 2000).

Un nutracéutico, se puede administrar como tal, en forma concentrada, o ser adicionado a un alimento natural para incrementar en él las propiedades funcionales (Gómez-Ariza *et al.*, 2010). Así, el término nutracéutico se aplica a productos que van desde nutrientes aislados, suplementos dietéticos y extractos de plantas o microalgas, hasta dietas específicas y alimentos procesados como cereales, sopas y preparados bebibles (Ferreira-Montero y Luengo-Fernández, 2007).

Entre todas las propiedades de los nuevos alimentos y alimentos funcionales, ha aumentado dramáticamente el interés general por los antioxidantes en el uso de la alimentación, Por un lado, sirven para evitar la generación de los productos de la oxidación lipídica en los alimentos, que pueden tener serios efectos citotóxicos para los consumidores, y por otro lado, también parecen jugar un papel importante en relación con la salud (Urala y Lähteenmäki, 2007) y, en particular, para frenar el envejecimiento celular. Oxidantes producidos por los productos del metabolismo normal y por los agentes exógenos al organismo, causan daños extensos en el ADN, las proteínas y los lípidos. Este daño (el mismo que el producido por la radiación no ionizante) contribuye de manera importante al envejecimiento y a las enfermedades degenerativas asociadas al envejecimiento como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, el deterioro del sistema inmunológico, disfunción cerebral y cataratas (Ames *et al.*, 1993; Devasagayam *et al.*, 2004). Se sabe que en los procesos metabólicos que tienen lugar en el cuerpo humano, se producen continuamente de forma natural, especies oxidantes que constituirían una seria amenaza para la salud, de no ser por las defensas naturales a nivel celular contra ellas. Estas defensas, que se basan en sistemas enzimáticos (catalasas, peroxidasas y superóxido dismutasa principalmente), minimizan los efectos tóxicos de los radicales libres



pero van perdiendo efectividad con la edad de las personas de ahí la necesidad (a partir de cierta edad), de recibir un suplemento dietético con las propiedades descritas, por lo que el consumo de niveles adecuados de antioxidantes desde la edad adulta podría ser útil para lograr un **envejecimiento saludable**, especialmente en casos de envejecimiento prematuro (Alvarado *et al.*, 2006).

Se han propuesto diversos alimentos de nueva generación de carácter nutracéutico, que ayudan a reducir el riesgo de afecciones cardíacas (huevos enriquecidos con ácidos grasos esenciales omega 3 y margarinas con fitoesteroles) y los episodios de espina bífida (cereales con ácido fólico), o facilitar la digestión (leche y yogures fermentados con cultivos prebióticos). Pero el mayor esfuerzo se ha hecho, quizás, en la preparación de alimentos de origen vegetal, como son las microalgas (Kay, 1991), que reduzcan la probabilidad de desarrollar enfermedades crónicas, en particular el cáncer, por la presencia de compuestos biológicamente activos (fitoquímicos) (Plaza *et al.*, 2009).

Microalgas como *Chlorella* spp., *Dunaliella* spp., *Scenedesmus* spp., *Nannochloropsis* spp., *Tetraselmis* spp., *Spirulina* spp. y *Aphanizomenon flos-aquae*, se han utilizado como alimentos ricos en nutrientes y fuentes de nutrientes para alimentos funcionales (Gantar y Svircev, 2008; Bishop y Zubeck, 2012; Yaajob *et al.*, 2014). El uso de microalgas para la alimentación animal y la acuicultura resulta de particular interés (Vaquero *et al.*, 2014). Si bien se han obtenido microalgas comestibles de especies marinas o mesófilas de agua dulce, hasta el momento no se ha intentado introducir la producción a gran escala de microalgas extremófilas para usarlas como fuente de alimentos, probablemente debido a las bajas tasas de crecimiento y la baja productividad de la biomasa. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que la microalga acidófila *Coccomyxa onubensis* aislada de río Tinto por el equipo de investigación del Dr. Carlos Vílchez de la Universidad de Huelva, puede cultivarse fototróficamente a pH 2.5 en medio mineral mínimo, alcanzando así una tasa de crecimiento moderada (Buono *et al.*, 2014).

FIGURA
02-3

Algunos productos a base de microalgas se comercializan en la actualidad como suplemento alimentario

FOTO: Francisco Navarro

Cápsulas de *Chlorella* sp., donde su principal productor a nivel mundial es China y se le atribuyen las propiedades de eliminar toxinas y metales pesados. *Dunaliella salina* (con alto contenido en Betacaroteno y Vitamina A), y *Spirulina* (posee un coctel de vitaminas y minerales, principalmente vitamina A, E, D, B1, B2, B3, B6, B12, hierro, zinc, ácido fólico y ácidos esenciales. Además es una buena fuente de proteína (70%) y de clorofila.





Por otro lado, existen posibles inconvenientes asociados con el uso de la biomasa completa de microalgas como fuente directa de alimento para las personas y los animales, debidos principalmente a su alto contenido de ácidos nucleicos [TABLA 1] y a su posible contaminación por metales o contaminantes ambientales presentes de forma habitual en el medio ambiente, lo que suscita preocupaciones con respecto a la posible toxicidad y los efectos a largo plazo en la salud humana (Bishop y Zubeck, 2012). Sin embargo, este inconveniente desaparece tomando de la biomasa sólo sus componentes de valor, de forma que el uso futuro de esta biomasa de microalgas en la industria alimentaria, será empleado como fuente de nutracéuticos para alimentos funcionales, en lugar del consumo directo de dicha biomasa.

Si comparamos la composición bioquímica de las microalgas con los alimentos tradicionales, sería posible que pudieran aumentar el contenido nutricional de estos alimentos e incluso afectar positivamente la salud humana y animal. Esto se debe a su particular composición nutricional. La TABLA 3 presenta una comparación entre la composición general de las fuentes de nutrientes para los humanos y varias especies de microalgas comestibles (Pulz y Gross, 2004).

**TABLA
02-3**

Comparación de la composición bioquímica de fuentes nutricionales convencionales y algunas microalgas comestibles marinas y de agua dulce

FUENTE: Pulz, O. and Gross, W. (2004) [8]

Edible species	Biochemical Composition		
	Proteins (%)	Lipids (%)	Carbohydrates (%)
Bakery yeast	39	1	38
Meat	43	34	1
Milk	26	28	38
Rice	8	2	77
Soy	37	20	30
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	14-22	12-17
<i>Haematococcus pluvialis</i>	48	15	27
<i>Dunaliella salina</i>	39-61	14-20	14-18
<i>Spirulina maxima</i>	60-71	4-9	8-14
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	21	17
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	12-14	10-17
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	9-14	40-57



[3]

Propiedades nutricionales y biosanitarias de *Coccomyxa onubensis*

Debido al alto contenido en compuestos biológicos beneficiosos para la salud humana y animal que poseen las microalgas, entre los que figuran los lípidos, polisacáridos, antioxidantes, vitaminas, minerales y biomoléculas con actividades farmacéuticas, han aparecido en el mercado multitud de “nuevos alimentos” o nuevos productos de consumo, supuestamente enriquecidos con estos principios activos procedentes de la biomasa de las microalgas como por ejemplo cereales para el desayuno, productos para untar, panes, galletas, brownies, barritas energéticas, mayonesas, postres gelificados, pastas, emulsiones, helados y bebidas (Becker, 2007). Se estima que en pocos años el mercado de los alimentos funcionales supondrá un 20% de la facturación total de alimentos a nivel mundial (Gouveia *et al.*, 2010).

Dentro del ámbito biosanitario se ha encontrado que varios polihidroxiesteroides procedentes de microalgas, exhiben actividades citotóxicas y anticancerígenas (De Jesús-Raposo *et al.*, 2015). Los polisacáridos de algas pertenecen a una gran familia de compuestos químicos muy diversos, algunos de los cuales se han descrito para estimular el sistema inmunitario humano y / o tienen posibles aplicaciones biomédicas (Martínez y Rojo, 2011). Por lo tanto, no cabe duda sobre el alto valor potencial de la biomasa de microalgas como una posible fuente de nutraceuticos para alimentos funcionales dirigidos a prevenir e incluso paliar ciertas enfermedades.

Actualmente ya hay algunas microalgas que son comercializadas para su uso gastronómico, pero no son objeto de investigación, y por lo que conocemos, sus cualidades nutraceuticas no son especialmente extraordinarias, ya que están al nivel de algunas frutas y verduras ordinarias. Hoy se comercializan apenas una decena del millón y medio aproximado de microalgas existentes en el planeta (fundamentalmente como biomasa para principios activos), de ahí el interés en la posible incorporación de la *Coccomyxa onubensis*. Más aún cuando es un mercado que mueve alrededor de los 2.000 millones de euros.

En este sentido, en el presente capítulo, hemos abordado la posibilidad de utilizar una microalga acidófila (*Coccomyxa onubensis*) procedente de Río Tinto, como fuente de sustancias bioactivas de interés para la salud.

Desde hace varios años, venimos trabajando en colaboración los grupos de investigación SEJ-523 y BIO-214 pertenecientes al Centro de Investigación en Recursos Naturales, Salud y Medioambiente (RENS-MA) de la Universidad de Huelva. Dentro de dichos grupos, dirigen los estudios que más adelante pasaremos a describir en detalle, los Dres. Carlos Vílchez y Francisco Navarro, profesores de la Universidad de Huelva, a los que se les suman el Dr. Eduardo Forján, del Servicio Andaluz de Salud de la Junta Andalucía, el Profesor Dr. José M^a Vega de la Universidad de Sevilla y el Dr. Miguel Ángel Castaño, facultativo del Hospital Juan Ramón Jiménez.

[3.1]

Actividad antimicrobiana de la microalga eucariota acidófila *Coccomyxa onubensis*

Los estudios sobre microalgas destinados a encontrar moléculas farmacológicamente activas, y especialmente con actividad antibiótica, comenzó en la década de 1950. Desde entonces, una amplia gama de actividades farmacológicas se ha observado en los extractos de microalgas, aunque en la



mayoría de los casos los principios activos permanecen aún desconocidos (Borowitzka, 1995). Estos estudios también han aumentado en la última década, llevando al descubrimiento de un gran número de nuevos compuestos con actividad farmacológica que actualmente están siendo examinados para su posible aplicación médica (Guedes *et al.*, 2011). Dada la gran diversidad de microalgas existente en la naturaleza, estimada entre 500.000 y un millón (Norton *et al.*, 1996), con una gran variedad de compuestos químicos, no es de extrañar que se hayan descrito una amplia diversidad de actividades biológicas de interés para el hombre, como antitumoral, antibacteriana, antiviral, analgésica, antiinflamatoria, etc., Sin embargo, en la actualidad, menos de una docena de microalgas se explotan comercialmente.

Como ya se ha indicado, las microalgas extremófilas están aun prácticamente inexploradas como fuente de productos farmacéuticos, a pesar del hecho de que su biomasa puede producirse a gran escala con un bajo riesgo de contaminación.

Fruto de las investigaciones sobre ésta microalga acidófila originaria del río Tinto, hemos publicado un artículo en el que se describe que dicha microalga presenta actividad inhibidora del crecimiento de determinadas bacterias patógenas, lo que postula a éste organismo como posible fuente novedosa de sustancias antibióticas de interés farmacológico. (doi: 10.1111/pre.12158)

El auge demográfico que se está produciendo en nuestro planeta requiere alimentos, atención médica y protección del medio ambiente, y existe una necesidad urgente de encontrar nuevas fuentes de estos productos. El número creciente de bacterias resistentes a los antibióticos, que es particularmente relevante en el ámbito hospitalario, es un problema de salud que puede alcanzar un nivel alarmante. Se han encontrado bacterias Gram-negativas pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Escherichia* o *Salmonella*, así como bacterias Gram-positivas pertenecientes a los géneros *Staphylococcus*, *Enterococcus* o *Streptococcus* entre las que muestran resistencia a un gran número de antibióticos (Martínez y Rojo, 2011).

Así, en los últimos años, la industria farmacéutica ha centrado sus esfuerzos en la investigación para detectar organismos unicelulares para la producción de compuestos naturales con actividad antimicrobiana. En este contexto, se han publicado varios artículos de revisión que destacan a las microalgas como productores antimicrobianos eficaces [39-41]. Además, las microalgas también se han referido como fuentes naturales de proteínas de alta calidad para alimentos y moléculas valiosas con aplicaciones en la salud humana, como la actividad antiinflamatoria o antitumoral [42, 43] tal y como hemos descrito anteriormente.

En cuanto a la producción de nutraceuticos, *Coccomyxa onubensis* ha sido ampliamente estudiada como fuente natural de la luteína, pigmento carotenoide (Forján *et al.*, 2015), un fuerte antioxidante presente en la mácula ocular humana. Y como fuente de agentes antimicrobianos, hemos seguido el enfoque desarrollado por el Instituto de Investigación de Farmacología Marina de Roche (RRIMP, Australia), que fue pionera en la selección de extractos de bioactividad (Borowitzka, 2013), y que describimos a continuación.

En primer lugar, se creció la biomasa suficiente a partir de un cultivo puro de la microalga, a pH 2.5 en reactores discontinuos de 5L a 25°C, burbujeando aire con un 5% (v/v) de CO₂ y continuamente iluminado bajo las condiciones descritas por Forján *et al.* (2015).

Las células de microalga se recolectaron mediante centrifugación a 19,000 g durante 5 min en la fase de crecimiento estacionario temprano del cultivo, en la que se espera que la acumulación de compuestos bioactivos sea máxima (Aremu *et al.*, 2014). Seguidamente, la biomasa se homogeneizó en un mezclador Waring Ultra-Turrax T-25 a fin de romper la pared celular y las endomembranas de forma que todo el contenido soluble pudiese separarse del resto insoluble mediante centrifugación siguiendo



el procedimiento descrito por Navarro *et al.* (2017). El material así obtenido fue empleado como fuente de los extractos bioactivos con diferentes disolventes, obteniéndose finalmente un concentrado que se empleó para las determinaciones de la actividad antimicrobiana frente a diferentes patógenos humanos así como para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

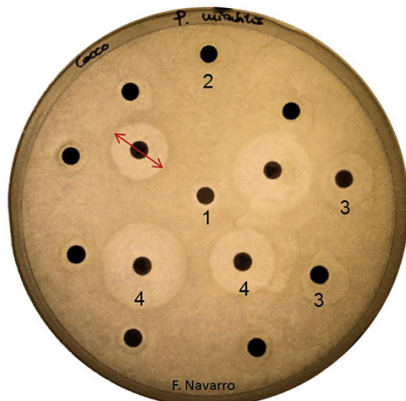
En la figura siguiente se muestran los halos de lisis en una placa de Petri con *Proteus mirabilis* en presencia de los extractos de la microalga y en la TABLA 4 se recoge el efecto de la actividad inhibitoria del crecimiento de los diferentes extractos obtenidos a partir de la microalga con varios solventes empleados como agente extractante, frente al crecimiento de los patógenos hospitalarios más frecuentes.

FIGURA
02-4

Halos de lisis en una placa de Petri con *Proteus mirabilis* crecida en césped

FOTO: Francisco Navarro

Puede observarse cada uno de los discos de antibiograma (círculos oscuros) cómo se rodea o no de un “halo” (flecha roja) según la mayor o menor efectividad del extracto empapado en ellos.



- (1): Control negativo
- (2): Extracto sin efecto (agua)
- (3): Efecto positivo del extracto de la microalga
- (4): Efecto positivo de antibióticos comerciales

A partir de la tabla 4 podemos deducir tres hechos: (1) Todos los extractos celulares obtenidos de *Coccomyxa onubensis*, excepto los extractos acuosos y etanólicos, mostraron efectos antimicrobianos. Los diferentes efectos inhibitorios de diferentes disolventes indican que las moléculas bioactivas que están presentes en los extractos son diferentes o están más o menos concentradas. (2) Los solventes menos polares (hexano, cloroformo y diclorometano, Celdillas color rojo en la tabla) mostraron los halos de inhibición más grandes, comparables con los efectos producidos por los antibióticos comerciales ampliamente utilizados en la práctica clínica. (3) Por otro lado, los mayores efectos antimicrobianos se obtuvieron contra *E. coli*, *Salmonella sp.* y *Proteus mirabilis*, todas ellas bacterias Gram (-). Mientras que no se encontró actividad comparable con antibióticos comerciales contra bacterias Gram (+), lo que sugiere que el mecanismo antibiótico de los extractos bioactivos podría dirigirse contra la pared celular de las bacterias.


**TABLA
02-4**
Comparación de la composición bioquímica de fuentes nutricionales convencionales y algunas microalgas comestibles marinas y de agua dulce
FUENTE: Navarro *et al.* 2017 [45]

Zona de inhibición, incluyendo el diámetro del disco de antibiograma (6 mm). Hex, hexano; DEth, diethyl ether; Chlf, chloroform; Dich, dichloromethane; EtAcet, ethyl acetate; Met:Dich; methanol- dichloromethane 1:1; Acet, acetone; Met, methanol; Phos, phosphomycin; Amox, amoxicillin-clavulanate; Ciprofx, ciprofloxacin. Diámetros de inhibición: -, sin efecto inhibitorio; +, diámetro 6 – 7.9 mm; ++, diámetro 8 – 13.9 mm; +++, diámetro > 14 mm. La actividad antimicrobiana fue medida por triplicado mediante el método de difusión en disco- placa (Collins y Lyne, 1989) y la zona de inhibición del crecimiento se interpretó según Abdel-Raouf *et al.* (2011). Para descartar que los solventes orgánicos tuviesen actividad antimicrobiana, se ensayaron discos cargados con los solventes orgánicos sin los extractos. Para comparar la actividad antimicrobiana se ensayaron los antibióticos comerciales: Fosfomicina, Amoxicilina, Cefoxitina y Ciprofloxacino.

Coccomyxa onubensis
Inhibition zone diameters (mm)³

Microorganism	Extracts (25 µl/disc)								Commercial antibiotics		
	Hex	DEth	Chlf	Dich	EtAcet	Met:Dich	Acet	Met	Phos	Amox	Ciprofx
<i>Pseudomonas areuginosa</i>	-	-	-	+	+	-	+	+	+++	-	+++
<i>Escherichia coli S</i>	+	++	+++	++	+	-	+	++	++	++	+++
<i>Escherichia coli ESBL</i>	+	++	-	+	+	-	++	+	++	-	-
<i>Salmonella sp.</i>	+++	++	+++	+++	++	++	+	++	+++	+++	+++
<i>Proteus mirabilis</i>	+++	+	+++	+	+	+	++	+	+++	+++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	++	-	-	+	+	++	++	+++	+++	+++
<i>Staphylococcus aureus MB</i>	++	++	+	-	+	-	+	++	+++	+++	+++
<i>Candida albicans</i>	++	+	-	+	++	-	++	++	+++	+++	+++

El análisis de los extractos de *Coccomyxa onubensis* con mayor actividad antimicrobiana, como se observa en el siguiente cromatograma, presenta un importante contenido en ácido palmítico (C16: 0), oleico (C18: 1), linoleico (C18: 2) y linolénico (C18: 3).

Muchos de estos ácidos grasos presentes en los extractos de la microalgas han sido descritos como agentes antimicrobianos (Navarro *et al.*, 2017). El ácido linolénico se identificó como un agente antimicrobiano en el extracto de espirulina (Kaushik y Chauhan, 2008), en el caso de *Phaeodactylum tricornutum Bohlin*, el ácido graso responsable de la actividad antibiótica contra las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas fue el ácido eicosapentaenoico (Desbois *et al.*, 2009). Además, otros compuestos con propiedades antimicrobianas pueden incluir indoles, terpenos, acetogeninas, fenoles e hidrocarburos halogenados volátiles (Sing *et al.*, 2005). Por su parte, Molnár *et al.* (2010) encontraron que una molécula relacionada con la luteína mostró un poderoso efecto anti-*Helicobacter pylori*, con

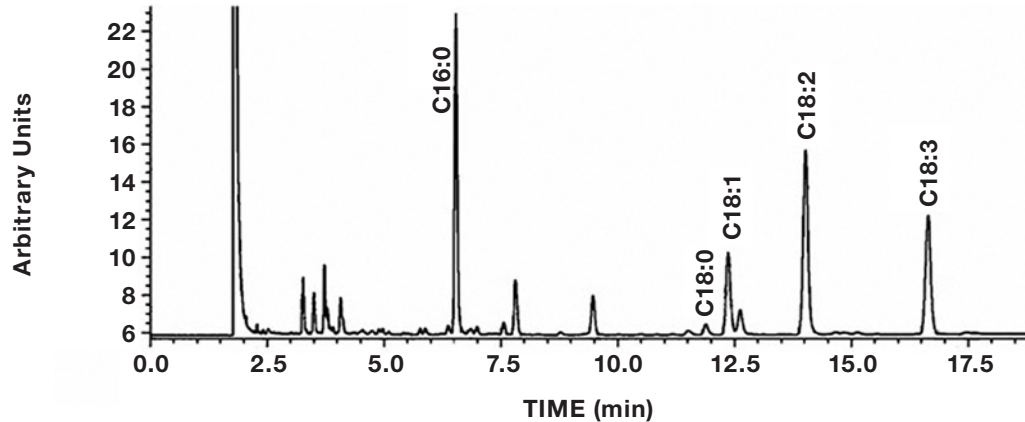


FIGURA
02-5

Cromatograma de gases obtenido a partir de extracto bioactivo de *C. onubensis* empleando exano como agente extractante

FUENTE: Navarro *et al.* 2017 [45]

Ácidos grasos principales: C16: 0, ácido palmítico; C18: 1, ácido oleico; C18: 2, ácido linoleico; C18: 3, ácido linolénico.



una actividad, comparable al metronidazol, el compuesto farmacológico antimicrobiano utilizado para el tratamiento contra esta bacteria. Si bien el mecanismo a través del cual los ácidos grasos pueden ejercer su actividad bactericida no se conoce completamente, se sabe que puede promover el daño a la membrana celular bacteriana, lo que resulta en la alteración de la absorción de nutrientes y la inhibición de la respiración celular (Smith *et al.*, 2010).

Como conclusión final a este trabajo cabe destacar que en él se describe por primera vez, una actividad antimicrobiana procedente de la microalga acidófila *Coccomyxa onubensis*. Al contrario de lo observado en otras microalgas de ambientes no extremos como por ejemplo *Chlorella sorokiniana*, la intensa actividad antimicrobiana encontrada en *Coccomyxa* frente a microorganismos patógenos, sugiere que esta microalga puede ser una fuente de nuevos antibióticos de aplicación humana. A partir de este momento se requiere estudiar la efectividad de esta microalga frente a una mayor variedad de diferentes cepas que resulten de interés clínico, así como estudiar también la posible bioactividad antimicrobiana de diferentes especies extremófilas.

[3.2]

Microalgas como fuente de alimentación segura para animales: características nutricionales de la microalga acidófila *Coccomyxa onubensis* y sus posibles beneficios para la salud.

Las propiedades bioquímicas y el comportamiento biológico de las microalgas han sido poco investigados aún, aunque se han hecho algunos estudios sobre la influencia de las algas en el crecimiento de los animales y sobre la biodisponibilidad de componentes de la dieta para evaluar su uso potencial como ingredientes en la industria alimentaria (Gudiel-Urbano y Goñi, 2002a).



Las algas marinas se consumen con frecuencia en Asia y de vez en cuando en el resto del mundo. Desde un punto de vista nutricional, las algas comestibles son ricas en polisacáridos no almidonados, proteínas, minerales y vitaminas. Tienen un bajo contenido de lípidos y proporcionan una cantidad muy baja de calorías. Sin embargo, la composición de las algas podría interferir con la biodisponibilidad de otros nutrientes (Gudiel-Urbano y Goñi, 2002b). Además se ha descrito que las algas comestibles pueden influir en la composición y en las actividades metabólicas de la microflora intestinal de la rata (Gudiel-Urbano y Goñi, 2002a) lo que hace obligado su detenido estudio como posible suplemento alimenticio en humanos.

Debido a que el hábitat natural de *C. onubensis* es compatible con condiciones de alta irradiación y de elevado estrés oxidativo, los parámetros fisicoquímicos y nutricionales pueden fijarse adecuadamente para producir biomasa con un alto contenido de nutracéuticos como carotenoides (principalmente luteína) y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (Ruiz-Domínguez *et al.*, 2015). En la siguiente tabla se muestra la composición nutricional de la biomasa de *C. onubensis* que junto a su contenido en moléculas biosaludables la convierte en un buen modelo para investigar el papel potencial de una microalga fotosintética acidófila para ser utilizada en la alimentación animal. La microalga encontrada en el río Tinto, genera una biomasa rica en proteínas (44,60% del peso seco) y fibras dietéticas (15,73%), moderada en hidratos de carbono (24,8%) y tiene un bajo contenido de lípidos (5,4%), de los cuales los ácidos grasos poliinsaturados representan el 65% del total (Navarro *et al.*, 2016). Por lo tanto, hemos llevado a cabo un estudio para dilucidar los efectos de las dietas suplementadas con microalgas en la salud de animales modelo de laboratorio, cuyos resultados nos permitan extrapolarlos a otros animales, como los propios de explotación ganadera, o incluso a humanos.

TABLA
02-5

Composición nutricional de la biomasa seca* de *C. onubensis*

FUENTE: Navarro *et al.* (2017) [54]

(*) El peso seco representa el 24,35% de la biomasa.

PARÁMETROS	Composición de la Fracción (%)	Composición de la Subfracción (%)
Proteínas	44.60	---
Carbohidratos	24.80	---
Azúcares solubles	---	4.11
Fibra dietética	15.73	---
Triglicéridos	5.40	---
Grasas saturadas	---	17.55
Grasas monoinsaturadas	---	17.45
Grasas poliinsaturadas	---	65.00



Igualmente, hemos podido comprobar la existencia de lípidos de alto valor en alimentación humana saludable, como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) o hidratos de carbono como el β -1,3-glucano, una fibra natural soluble con actividad estimuladora del sistema inmune.

Como es lógico, en todos los casos, hemos de demostrar la inocuidad de la ingesta de estos “nuevos alimentos” antes de poder aprovechar sus posibles beneficios. En este sentido, el proceso pasa por abordar la denominada **fase preclínica** consistente en comprobar sus efectos sobre animales de experimentación, siendo los roedores los animales de laboratorio más utilizados en estas investigaciones biomédicas. La forma habitual de testar en animales estos productos, es la fabricación de piensos modificados, de forma que éstos han sido mezclados con las dietas habituales y después suministrados a ratas o ratones (Van Haver, 2008). De esta forma, nuestro equipo de investigación abordó el **estudio de bioseguridad** de ingesta de la microalga *Cocomyxa onubensis* empleándola como suplemento alimenticio, mediante la elaboración de dietas modificadas.

Durante la administración de la dieta modificada a testar, parámetros tales como el peso corporal, consumo de alimento, bioquímica de la sangre, peso de los órganos, histopatología, etc., han sido profundamente analizados para comprobar sus efectos sobre la salud tal y como recomienda Van Haver (2008).

A la hora de decantarnos por un modelo animal de laboratorio para nuestro estudio, consideraremos que la anatomía y la fisiología de la rata y el ratón son muy similares, sin embargo la ventaja del empleo de las ratas respecto de los ratones en experimentación, radica en su mayor tamaño (mayores órganos, mayor volumen de sangre, etc.). A demás, las ratas no pueden regurgitar ni vomitar por lo que son muy sensibles a los tóxicos y a las dosis y podemos estar seguros de que retienen todo el alimento que ingieren, el cual toman de forma semicontinua en condiciones *ad libitum*.

Por otro lado, siempre que sea posible, hay que considerar también factores como la docilidad que nos permita su manipulación con el mínimo riesgo, el tamaño máximo que pueden alcanzar, a fin de requerir más o menos cantidad de alimento, que no siempre es fácil ni económico de producir. Si son cepas consanguíneas, además, nos permitirán reducir el número necesario de ejemplares por grupo, ya que la variabilidad genética está reducida, lo que reduce nuevamente el gasto de los ensayos y sobre todo, el menor número posible de animales para obtener datos fiables, para así limitar o evitar potencialmente el uso posterior de otros animales, sin comprometer el bienestar animal, tal y como se recoge en el “*Principio de las tres erres en la experimentación animal*” (Russell y Burch, 1959).

Dependiendo de las características de los ensayos diseñados, cabe la elección de ejemplares exclusivamente machos, lo que garantiza que su composición hormonal no varía a lo largo de la vida adulta, muy a tener en cuenta en ensayos nutricionales y de estrés oxidativo (Navarro *et al.*, 1999).

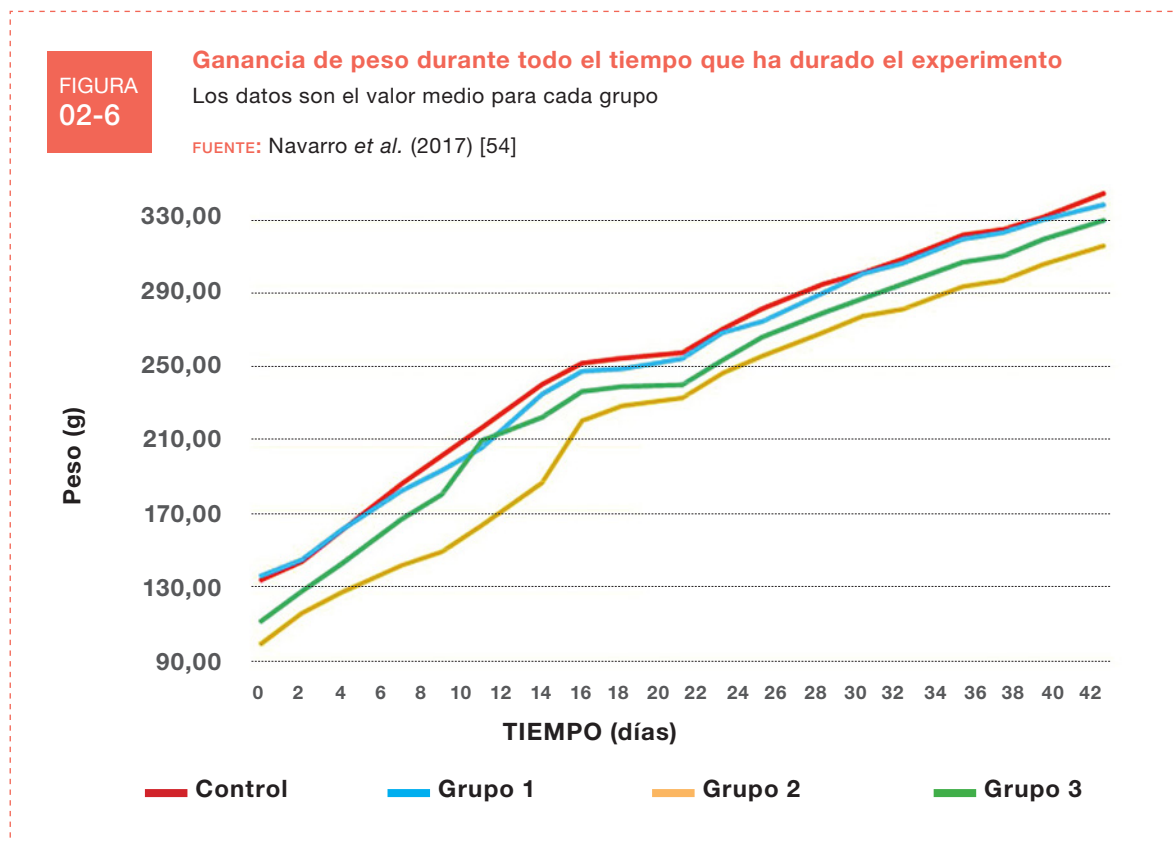
Por último, consideraremos que la cepa Long Evans para la experimentación (Orden Rodentia, Suborden Myomorpha, Familia Muridae, Género/especie *Rattus norvegicus*) suministrada por “Charles River Laboratories” (Francia), es utilizada para estudios de nutrición, ya que poseen un metabolismo constante (Salvador Cabos, 2012), con lo que alcanzado este punto tendremos definido cuál sería el modelo que más se adecúa al estudio planteado.

El estudio de bioseguridad alimentaria consistió en establecer cuatro grupos de ratas organizados al azar ($n = 6$) que fueron alimentados con una dieta estándar (Control) o con una dieta en la que el 0,4% (Grupo2); el 1,25% (Grupo3); ó el 6,25% (Grupo4) (w/w) del peso de la dieta estándar, fue sustitui-



do por polvo de la microalga seca respectivamente. Los cuatro grupos de animales fueron alimentados *at libitum* durante 45 días.

Tras el estudio se comprobó que ninguna de las dietas empleadas origina disminución en la ganancia de peso durante el transcurso del experimento. El incremento del peso de los animales en los cuatro grupos, no presenta diferencias ni entre sí ni con respecto al control. En consecuencia, la sustitución de parte del pienso convencional por la microalga no afecta a la tasa de crecimiento de los animales.



Las ratas no mostraron alteraciones fisiológicas o de comportamiento visibles durante el período experimental. La ingesta de la microalga, aún a dosis muy elevadas, no induce alteraciones significativas en los parámetros de la bioquímica sanguínea relacionados con el daño hepático, pancreático o renal, manteniéndose todos los respectivos marcadores bioquímicos dentro de los límites saludables en los cuatro grupos de ratas.

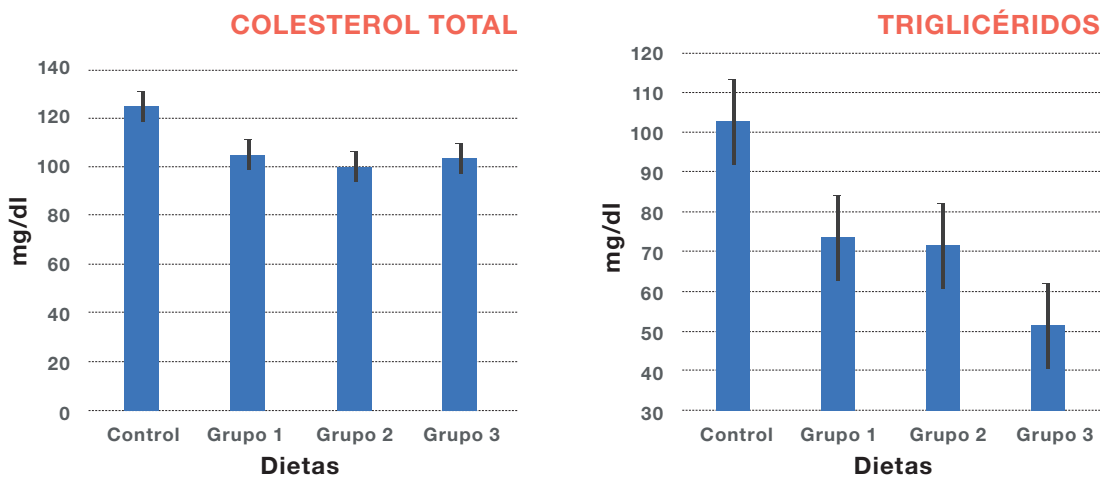
Los parámetros hematológicos y bioquímicos se analizaron en paralelo con los estudios histológicos, y los resultados no mostraron efectos adversos en la salud de los modelos animales de laboratorio analizados. Además, las dietas suplementadas con *C. onubensis* exhibieron un potente **efecto hipocolesterolémico** e **hipotriglicéridémico** en los animales del estudio, induciendo respecto del control una disminución de triglicéridos y de colesterol VLDL y además disminuye la actividad de las transaminasas hepáticas, pudiéndosele otorgar un cierto papel hepatoprotector.



FIGURA
02-7

Valores de Colesterol total y Triglicéridos durante el experimento

La microalga induce un suave efecto dislipemiante, que se alcanza a pequeñas dosis. Los triglicéridos, procedentes de las calorías sobrantes tomadas en los alimentos, son almacenados en los adipocitos para su uso posterior. Alcanzan niveles altos cuando la ingesta de calorías es mayor que la que el organismo necesita. La administración de la microalga induce una bajada en los niveles séricos de hasta el 50.18% respecto de los valores control [54].



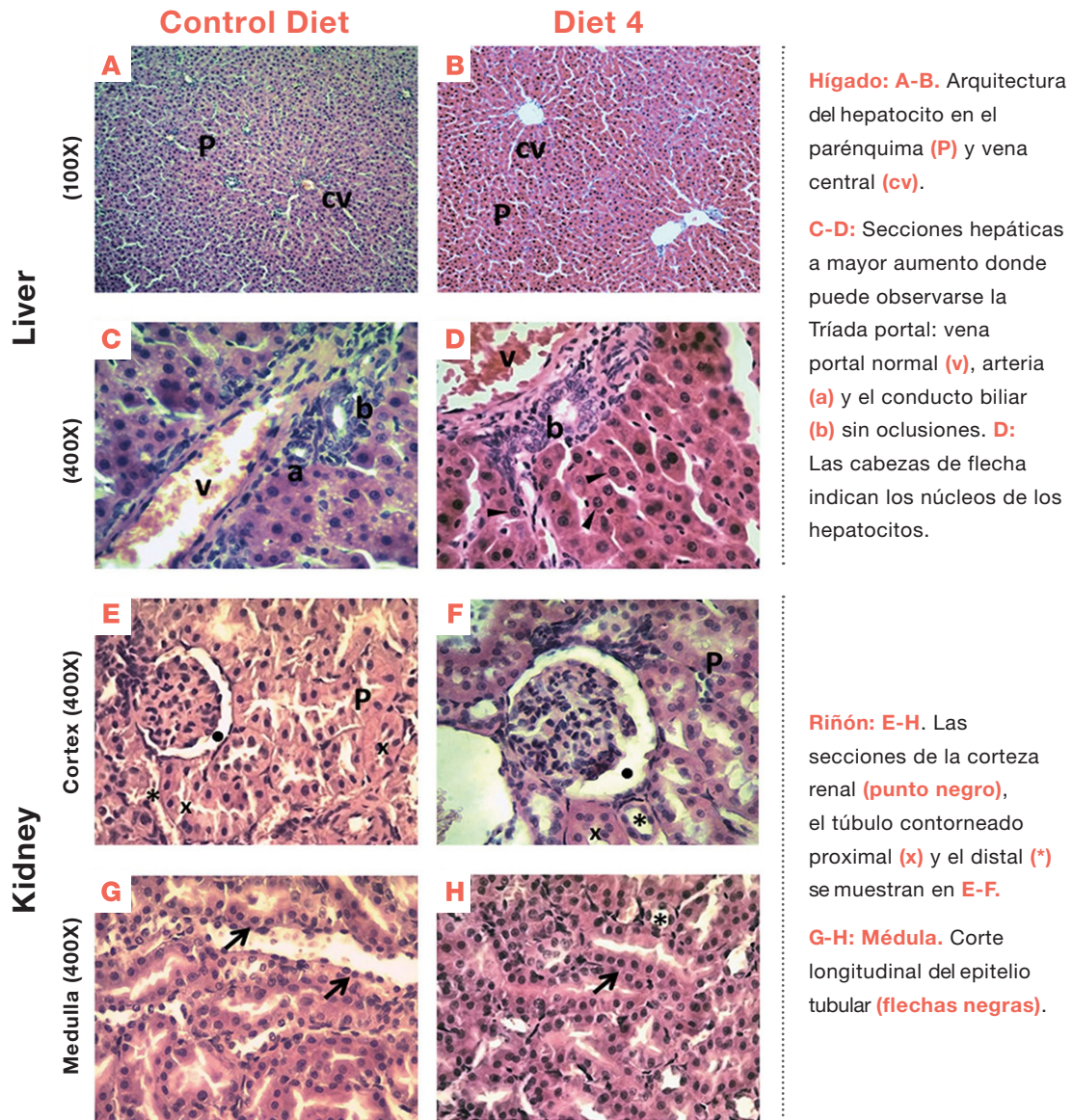
A nivel histopatológico, no se aprecian alteraciones ni en el hígado ni en el riñón, revelando órganos sanos en todos los animales, lo que corrobora los resultados obtenidos en la bioquímica sanguínea. El grosor y la configuración de las trabéculas, la presencia de cambios regenerativos y una evaluación inicial de la fibrosis en el hígado se llevaron a cabo sin que se observaran cambios patógenos en ninguno de los grupos (Histopatología A-D).

Además, los parámetros indicativos de degeneración y deposición de sustancias, como la degeneración en globo (hinchazón), la presencia de colestasis y la esteatosis macro y micro vesicular, se encontraron normales en todos los grupos. Todas las secciones estudiadas mostraron una arquitectura de hepatocitos saludables en el parénquima y la vena central, con grados similares de esteatosis entre los diferentes grupos de ratas. Sin embargo, se identificaron alteraciones en el patrón de cromatina de los núcleos de hepatocitos del grupo Dieta 4 (Histopatología 1D), que no afectó la salud de los animales. Asimismo, el citoplasma presentó una distribución de manera normal, independientemente de la dieta recibida por la rata (Histopatología 1E y F). Los túbulos contorneados distales y proximales también mostraron una distribución normal de células epiteliales. La mayoría de los túbulos en la médula (Histopatología 1G y H) presentaban una sección longitudinal y un epitelio de túbulos colectores intactos. Se prestó atención a la estructura de los vasos sanguíneos para identificar la posible presencia de vasculitis, trombos, hialinización o esclerosis, pero todas las secciones histológicas estudiadas parecían normales según los parámetros de Kierszenbaum (2013), lo que indica una falta de toxicidad de las dietas que contienen microalgas en polvo.



FIGURA
02-8

Histopatología: Secciones de hígado y riñón de rata, teñidas con Hematoxilina y Eosina



Hígado: A-B. Arquitectura del hepatocito en el parénquima (P) y vena central (cv).

C-D: Secciones hepáticas a mayor aumento donde puede observarse la Tríada portal: vena portal normal (v), arteria (a) y el conducto biliar (b) sin oclusiones. **D:** Las cabezas de flecha indican los núcleos de los hepatocitos.

Riñón: E-H. Las secciones de la corteza renal (punto negro), el túbulo contorneado proximal (x) y el distal (*) se muestran en E-F.

G-H: Médula. Corte longitudinal del epitelio tubular (flechas negras).

Todos los ensayos fueron diseñados siguiendo el principio de las tres erres de Russel y Burch (1959) y las ratas fueron manejadas y cuidadas en todo momento de acuerdo con las normas establecidas por la Comunidad Europea descritas en la Directiva 2010/63/UE. Toda la investigación se llevó a cabo después de la aprobación por el Comité Ético correspondiente.



[4]

Conclusión

Todos los datos obtenidos parecen indicar la ausencia de toxicidad en las ratas por la ingesta de *C. onubensis* y apoyan que la biomasa de esta microalga puede ser un suplemento seguro en la dieta de ratas y tiene las propiedades nutricionales adecuadas de los alimentos funcionales. La biomasa es consumida y bien tolerada por los animales de experimentación, los cuales la ingieren a una tasa similar a la del pienso control.

De este modo queda demostrada la inocuidad de la ingesta de *C. onubensis* en una fase preclínica, sin embargo, y en segundo lugar, ahora es necesario realizar una **fase clínica** con voluntarios humanos para comprobar los mismos resultados. Una labor que se lleva a cabo siempre bajo la supervisión médica, que en este caso, desde el Hospital Infanta Elena y su Unidad de Cardiología y Lípidos, con quien mantenemos una estrecha relación.

[5]

Bibliografía

- ! https://es.wikipedia.org/wiki/R%C3%ADo_Tinto (enero de 2019).
- | Elena González-Toril, E.; Rodríguez, N.; Gómez, F.; Amils, R.; Aguilera A.; Fernández Remolar, D. (2004), Boletín informativo de la SEA, 12, págs. 19-26.
- | Forján Lozano, E.; Vílchez Lobato, C.; Vega Piqueres, J.M. *Biología de microalgas*. Ed. CEPISA (2014) ISBN: 978-84-617-2314-0. 318 pgs.
- | Amaral Zettler, L.A.; Gómez, F.; Zettler, E.; Keenan, B.G.; Amils, R.; Sogin, M.L. (2002). *Microbiology: eukaryotic diversity in Spain's River of Fire*. Nature, 417: 137.
- | Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E.; Isambet, A., (2006). *Commercial applications of microalgae*. J. Biosci. Bioeng., 101 (2): 87-96
- | Jensen, G.S.; Ginsberg, D.I.; Drapeau, M.S. (2001) *Blue-Green Algae as an Immuno-Enhancer and Biomodulator*. J. Amer. Nutr. Ass. 3: 24-30.
- | Olaizola, M. (2003) *Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace*. Biomol Eng. 20 (4-6): 459-66.
- | Pulz O and Gross W. (2004). *Valuable products from biotechnology of microalgae*. Appl Microbiol Biotechnol. Nov; 65 (6): 635-48.
- | Borowitzka, M.A. (1995). *Microalgae as a source of pharmaceuticals and other biologically active compounds*. J. Appl. Phycol., 7: 13-15.
- | Plaza, M.; Herrero, M.; Cifuentes A.; Ibáñez, E. (2009). *Innovative natural functional ingredients from microalgae*. J. Agric. Food Chem., 57 (7): 159-170.
- | Blom, J.F.; Perenthaler, J. (2010). *Antibiotic effects of three strains of Chrysophytes (Ochromonas, Poterioochromonas) on freshwater bacterial isolates*. FEMS Microbiol. Ecol., 71: 281-290.
- | Vega, J.M.; Cárdenas, J.; Castillo F. (1983) *La bioconversión de la energía*. Ed. Pirámide. ISBN: 84-368-0229-2.



- | Guil-Guerrero, J.L.; Navarro-Juarez, R.; Lopez-Martinez, J.C.; Campra-Madrid, P.; Reboloso-Fuentes, M^a.M. (2004). *Functional properties of the biomass of three microalgal species*. Journal Food Engineering. 65: 511-517.
- | Becker, W. (2004) *Microalgae in Human and Animal Nutrition*. In: Richmond, A., Ed., Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, Blackwell Science, London, 566 p.
- | Metting, F. Jr. (1996) *Biodiversity and application of microalgae*. Journal of industrial microbiology and biotechnology 17(5-6): 477-489.
- | Borowitzka, M.A. (1988). *Fats, oils and hydrocarbons*. In: Borowitzka, M.A. and Borowitzka, L.J., (eds.) Micro-algal Biotechnology. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 257-287.
- | Tzovenis, I.; De Pauw, N.; Sorgeloos, P. (2003) *Optimisation of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids: I. Effect of different light regimes on growth and biomass production*. Aquaculture 216 (1-4): 203-222.
- | Torres, M.L.; Francés, M. (2007). *The balanced diet*. Spanish Society of Dietetics and Food Sciences. Legal deposit: Z-1789-2007.
- | Layman, D.K. (2014). *Eating patterns, diet quality and energy balance. A perspective about applications and future directions for the food industry*. Physiol. Behav., 134: 126-130.
- | Gómez-Ariza, J.L.; García-Barrera, T.; Gómez-Jacinto, V.; Garbayo, I.; Vilchez, C. (2010). *Microalgae, new paths to functional foods*. I Jornadas del Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario. University of Huelva.
- | Sloan, A.E. (2000). *The Top Ten Functional Food Trends*. Food Technol., 54: 33-62.
- | Ferreira Montero, J.; Luengo Fernández, E. (2007). *La dieta como concepto terapéutico. Conceptos de alimento funcional y de nutracéutico. Situación actual de los alimentos funcionales y nutracéuticos. Aspectos legales*. En: Alimentos funcionales y nutracéuticos. Coord. E. Luengo Fernández. Sociedad española de cardiología. Sección de cardiología preventiva y rehabilitación, 2007, 82 pags.
- | Urala, N.; Lähteenmäki, L. (2007). *Consumers changing attitudes towards functional foods*. Food Quality and Pref., 18: 1-12.
- | Ames, B.N.; Shigenaga, M.K.; Hagen, T.M. (1993). *Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 90 (17): 7915-7922.
- | Devasagayam, T.P.A.; Tilak, J.C.; Boloor, K.K.; Sane, K.S.; Ghaskadbi, S.S.; Lele, D.D. (2004) *Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects*. JAPI, (52): 794-804.
- | Alvarado, C.; Álvarez, P.; Puerto, M.; Gausserès, N.; Jiménez, L.; De la Fuente, M. (2006). *Dietary supplementation with antioxidants improves functions and decreases oxidative stress of leukocytes from prematurely aging mice*. Nutr. 22: 767-777.
- | Kay RA. (1991). *Microalgae as food and supplement*. Crit Rev Food Sci Nutr., 30: 555-573.
- | Gantar, M.; Svircev, Z. (2008). *Microalgae and cyanobacteria: Food for thought*. J Phycol., 44: 60-68.
- | Bishop, W.M.; Zubeck, H.M. (2012). *Evaluation of microalgae for use as nutraceuticals and nutritional supplements*. J Nutr Food Sci., 2: 147-152.
- | Yaajob, Z.; Ali, E.; Zainai, A.; Mohamad, M.; Takriff, M.S. (2014). *An overview: biomolecules from microalgae for animal feed and aquaculture*. J Biol Res., 21: 6-15.
- | Vaquero, I.; Mogedas, B.; Ruiz-Domínguez, M.C.; Vega, J.M.; Vilchez, C. (2014). *Light-mediated lutein enrichment of an acid environment microalga*. Algal Res., 6: 70-77.
- | Buono, S.; Langelotti, A.L.; Martello, A.; Rinna, F.; Fogliano, V. (2014). *Functional ingredients from microalgae*. Food Funct., 5: 1669-1685.



- | Becker, E.W. (2007). *Micro-algae as a source of protein*. Biotechnol., 25: 207-210.
- | Gouveia, L.; Marques, A.E.; Sousa, J.M.; Moura, P.; Bandarra, N.M. (2010). *Microalgae-source of natural bioactive molecules as functional ingredients*. Food Sci Technol Bull: Funct Foods., 7: 21-37.
- | De Jesús-Raposo, M.F.; De Morais, A.M.; De Morais, R.M. (2015). *Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications*. Mar Drugs., 13: 2967-3028.
- | Martínez, J. L.; Rojo, F. (2011). *Metabolic regulation of antibiotic resistance*. FEMS Microbiol. Rev. 35: 768–89.
- | Guedes, A.C.; Amaro, H.M.; Malcata, F.X. (2011). *Microalgae as sources of high added- value compounds-A brief review of recent work*. Biotechnol.Prog., 27: 597-613.
- | Norton, T.A.; Melkonian, M.; Andersen, R.A. (1996). *Algal biodiversity*. Phycologia, 35: 308-326.
- | Plaza, M.; Santoyo, S.; Jaime, L.; García-Blairsy, G.; Herrero, M.; Señorans, F.J.; Ibáñez, E. (2010). *Screening for bioactive compounds from algae*. J Pharm Biomed Anal., 51: 450-455.
- | Najdenski, H.M.; Gigova, L.G.; Iliev, I.; Pilarski, P.S.; Lukavský, J.; Tsvetkova, I.V.; Ninova, M.S.; Kussovski, V.K. (2013). *Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria*. Int. J. Food Sci. Technol., 48: 1533–1540.
- | Senhorinho, G.N.A.; Ross, G.M.; Scott, J. A. (2015). *Cyanobacteria and eukaryotic microalgae as potential sources and antibiotics*. Phycologia, 54: 271–82.
- | Borowitzka, M.A. (2013). *High-value products from microalgae – their development and commercialization*. J. Appl. Phycol., 25: 743–756.
- | Forján, E.; Navarro, F.; Cuaresma, M.; Vaquero, I.; Ruíz-Domínguez, M.C.; Gojkovic, Z.; Vázquez, M.; Márquez, M.; Mogedas, B.; Bermejo, E.; Girlich, S.; Domínguez, M.J.; Vílchez, C.; Vega, J.M.; Garbayo, I. (2015). *Microalgae: fast growth sustainable green factories*. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol., 45: 1705–1755.
- | Aremu, A.O.; Masondo, N.A.; Stirk, W.A.; Ordog, V.; Staden, V.A.N. (2014). *Influence of culture age on the phytochemical content and pharmacological activities of five Scenedesmus strains*. J. Appl. Phycol., 26: 407-415.
- | Navarro, F.; Forján, E.; Vázquez, M.; Toimil, A.; Montero, Z.; Ruiz-Domínguez, M.C.; Garbayo, I.; Castaño, M.A.; Vílchez, C.; Vega, J.M. (2017). *Antimicrobial activity of the acidophilic eukaryotic microalga Coccomyxa onubensis*. Phycol. Res., 65: 38-43.
- | Kaushik, P.; Chauhan, A. (2008). *In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of Spirulina platensis*. Indian J. Microbiol., 48: 348-352.
- | Desbois, A.P.; Mearns-Spragg, A.; Smith, V.J. (2009). *A fatty acid from the diatom Phaeodactylum tricornutum is antibacterial against diverse bacteria including multi-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Mar. Biotechnol., 11: 45-52.
- | Sing, S.; Kate, B.N.; Banerjee, U.C. (2005). *Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview*. Crit. Rev. Biotechnol., 25: 73-95.
- | Molnár, P.; Deli, J.; Tanaka, T.; Kann, Y.; Tani, S.; Gyémánt, N.; Molnár, J.; Kawase, M. (2010). *Carotenoids with anti-Helicobacter pylori activity from Golden delicious apple*. Phytother. Res., 24: 644–648.
- | Smith, V.J.; Desbois, A.P.; Dyrinda, E. A. (2010). *Conventional and unconventional antimicrobials from fish, marine invertebrates and micro-algae*. Mar. Drugs, 8: 1213–1262.
- | Gudiel-Urbano, M.; Goñi, I. (2002-a). *Effect of edible seaweeds (Undaria pinnatifida and Porphyra tenera) on the metabolic activities of intestinal microflora in rats*. Nutrition Research, 22 (3): 323-331.
- | Gudiel-Urbano, M.; Goñi, I. (2002-b). *Bioavailability of nutrients in rats fed on edible seaweeds, Nori (Porphyra tenera) and Wakame (Undaria pinnatifida), as a source of dietary fibre*. Food Chemistry 76: 281-286.



- | Ruiz-Domínguez, M.C.; Vaquero, I.; Obregón, V.; De la Morena, B.; Vilchez, C.; Vega, J.M. (2015). *Lipid accumulation and antioxidant activity in the eukaryotic acidophilic microalga Coccomyxa sp. (strain onubensis) under nutrient starvation*. J Appl Phycol., 27: 1099-1108.
- | Navarro, F.; Forján, E.; Vázquez, M.; Montero, Z.; Bermejo, E.; Castaño, M.A.; Toimil, A.; Chagüaceda, E.; García-Sevillano, M.A.; Sánchez, M.; Domínguez, M.J.; Pásaro, R.; Garbayo, I.; Vilchez, C.; Vega, J.M. (2016) *Microalgae as a safe food source for animals: nutritional characteristics of the acidophilic microalga Coccomyxa onubensis*. Food Nutr Res., 60: 30472.
- | Van Haver, H. (2008). *Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: The role of animal feeding trials*. Food and Chemical Toxicology, 46: S2–S70.
- | Russell, W.M.S.; Burch, R.L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. London UK: Methuen.
- | Navarro, F.; Arroyo-Luque, A.; Martín-González, S.F.; Bello-Gomez, R.I.; De Cabo-Moreno, R.C.; Burgess, J. R.; Navas-Lloret, P.; Villalba-Montoro, J.M. (1999). *Protective role of ubiquinone in vitamin e and selenium-deficient plasma membranes*. BioFactors (Oxford). 9 (2-4): 163-170.
- | Salvador Cabos, N. (2012). *Biología general del reactivo biológico*. Unidad de Producción Animal. Instituto Santiago Ramón y Cajal, CSIC, Madrid.
- | Kierszenbaum AL. *Histología y Biología Celular: introducción a la anatomía patológica*. Barcelona: Elsevier España; 2013.



Linaria tursica

FOTOGRAFÍA: A. F. Muñoz-Rodríguez



Se terminó de editar el libro
Biología de Huelva
Naturaleza, Biodiversidad,
Bioindicadores y Biomarcadores
el 12 de mayo de 2022,
estando al cuidado de la edición
el Servicio de Publicaciones
de la Universidad de Huelva





DIPUTACIÓN
DE **HUELVA**



Universidad
de Huelva



CÁTEDRA
DE LA PROVINCIA