



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

"CUANTIFICACION Y CARACTERIZACION ESTACIONAL DE
LOS CARRAGENANOS DE *Gigartina pectinata* DAWSON
(RHODOPHYTA, GIGARTINALES) EN MUESTRAS
DE CAMPO Y DE CULTIVO".



TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

OCEANOLOGO

PRESENTA

Lus Mercedes López Acuña

ENSENADA, B.C.

MAYO DE 1990.

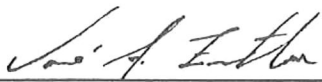
"CUANTIFICACION Y CARACTERIZACION ESTACIONAL DE LOS CARRAGENANOS DE
Gigartina pectinata DAWSON (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) EN MUESTRAS DE
CAMPO Y DE CULTIVO".

TESIS

QUE PRESENTA

Lus Mercedes López Acuña

Aprobada por :



Presidente del Jurado

Dr. José Antonio Zertuche González



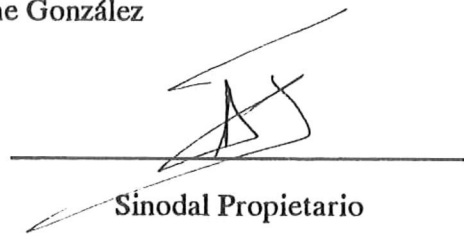
Sinodal Propietario

Oc. Isai Pacheco Ruiz



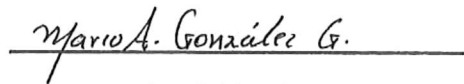
Sinodal Suplente

Quim. Irma Esthela Soria Mercado



Sinodal Propietario

Oc. Felipe Correa Díaz



Sinodal Suplente

Oc. Marco Aurelio González Gómez

RESUMEN

Gigartina pectinata (Harv.) se analizó en sus diferentes fases de reproducción (plantas colectadas en 1988), muestras estacionales de campo y cultivo en tanques exteriores (colectadas en 1986).

El rendimiento del carragenano presentó los porcentajes máximos en invierno (campo), con un promedio de 72 % y el mínimo en primavera (cultivo) con un promedio de 57 % . Las plantas tetraspóricas presentaron mínimos para la 3,6-anhidrogalactosa (9 %) y máximos en los grupos sulfatos (25 %) respecto a las otras muestras en estudio. Los carbohidratos totales presentaron su máximo para las muestras de campo, con un promedio de 75 % .

En el análisis físico, la muestra de cultivo primavera mostró los máximos en fuerza del gel de 350 g.

En el análisis de infrarrojo el estadio de vida tetraspórico presentó ξ -carragenano y todas las demás muestras presentaron κ -carragenano.

A ti Señor que permitiste
que lograra uno de mis sueños.

A ti Hermano porque estarías orgulloso de mi
.... me haces mucha falta.

A mis padres

Rosa, por tu sacrificio, apoyo incondicional, amor y una gran amistad.

Santiago, por inculcarme superación, trabajo, honradez y apoyo en todo momento.

Tío Enrique, por tu entrega incondicional y dedicación a todas nosotras.

A mis hermanas y cuñados

Meli y Jorge

Bety y Bernardo

Celcy, Cuky y Brenda.

por su cariño y mantener esta unidad familiar tan bella.

A mis sobrinos

Arlem, Conchito, Jorgito, Rosita, Bernardito, Santi
y esa luz que empieza a brillar, por esas sonrisas
y palabras llenas de amor tía!!

A toda esta familia tan linda que la vida me ha dado.

A ti Nenito por tu espera callada, por tu amor.

A ustedes "dos" que me mostraron lo que se tiene que sacrificar para lograr el amor de los verdaderos amigos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California, a la Facultad de Ciencias Marinas y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas de Ensenada, por haber facilitado sus instalaciones, el material necesario para la realización de esta investigación y por la beca otorgada.

Al director de tesis, Dr. José A. Zertuche González, por su motivación a la mitad del camino para concluir éste trabajo, sugerencias y observaciones.

A los sinodales Oc. Isaí Pacheco Ruíz, Oc. Felipe Correa Díaz, Oc. Marco A. González y Quím. Irma E. Soria Mercado por su paciencia y tiempo invertido en la corrección de este trabajo, por su compañerismo y disposición incondicional.

A mis colegas del proyecto de Macroalgas y muy especialmente a Israel E. Vega Castro que fue el causante de que me apasionara la química de algas.

Al departamento de Oceanografía Física del I.I.O. por su compañerismo y ayuda incondicional en el uso de las computadoras.

Muchas gracias Luis Felipe por estar cerca cuando te necesité y brindarme siempre lo mejor de ti.

A ti Hairy, porque siempre que necesite a una hermana, amiga ahí estabas, por esos momentos inolvidables.

A mis compañeas y amigas de todo momento Lupita, Aida, Ana Luisa, Ana María, Pili, Yolanda y Silvia

A la familia Iñiguez Martínez, muy especialmente a la Sra. Edelmira porque todos estos años me brindó su cariño y consejos de madre.

A todos mis compañeros de Ciencias Marinas.

LISTA DE FIGURAS

	PAGINA
FIGURA 1.- Representación de secuencias de unidades en la cadena del polímero y estructuras idealizadas de carragenano (Rees, 1969; Stancioff y Stanley, 1969; McCandless <i>et al.</i> , 1983).....	3
FIGURA 2.- Esquemmatización del alga <i>G. pectinata</i> (Dawson).	6
FIGURA 3.- Localización del área de colecta.....	11
FIGURA 4.- Espectro de infrarrojo (IR) del carragenano de <i>Gigartina pectinata</i> de las muestras estacionales de campo (primavera CP, verano CV e invierno CI) y de cultivo en tanques exteriores (primavera TP, verano TV, otoño TO, e invierno TI).....	22
FIGURA 5.- Espectro de infrarrojo (IR) del carragenano de <i>Gigartina pectinata</i> en sus fases reproductivas: tetraesporico FT, estéril FE y femenino (carposporico) FF. Las letras a, b y c indican réplicas.....	23

LISTA DE TABLAS

PAGINA

TABLA I.- Composición química de carragenano de <i>G. pectinata</i> , basado en el peso seco del alga. Las muestras corresponden a campo CP (primavera), CV (verano) y CI (invierno); fases reproductivas FT (tetraespórica), FF (femenina (carpospórica)) y FE (estéril); muestras de cultivo en tanques TP (primavera), TV (verano), TO (otoño) y TI (invierno).	16
TABLA II.- Resultados del análisis de varianza y comparación de medias para el rendimiento de carragenano y sus componentes químicos (3,6-anhidrogalactosa (3,6-AG), sulfatos y carbohidratos) de <i>G. pectinata</i> (NS = no significativo; * = 0.05. Las muestras corresponden a campo CP (primavera), CV (verano) y CI (invierno); fases reproductivas FT (tetraespórica), FF (femenina (carpospórica)) y FE (estéril) y muestras de cultivo en tanques TP (primavera), TV (verano), TO (otoño) y TI (invierno).	17
TABLA III.- Análisis físico de los carragenanos de <i>G. pectinata</i> . Las muestras corresponden a campo CP (primavera), CV (verano) y CI (invierno) y muestras de cultivo en tanques TP (primavera), TV (verano), TO (otoño) y TI (invierno).	20
TABLA IV.- Recobro (Carbohidratos + Sulfatos) y GS (grado de sulfatación del carragenano) de <i>G. pectinata</i> . Las muestras corresponden a campo CP (primavera), CV (verano) y CI (invierno); fases reproductivas FT (tetraespórica), FF (femenina (carpospórica)) y FE (estéril) y de cultivo en tanques TP (primavera), TV (verano), TO (otoño) y TI (invierno).	34

TABLA DE CONTENIDO

PAGINA

1.-INTRODUCCION	1
1.1 Objetivo.	9
2.- MATERIALES Y METODOS	10
2.1 Obtención de muestras de campo.	10
2.2 Obtención de muestras de cultivo.	10
2.3 Extracción del carragenano.	12
2.4 Análisis físico-químico del carragenano.	12
2.4.1 Contenido de 3,6-anhidrogalactosa.	12
2.4.2 Contenido de grupos sulfatos.	13
2.4.3 Determinación de carbohidratos totales.	13
2.4.4 Fuerza de gel.	14
2.4.5 Análisis de infrarrojo.	14
2.5 Análisis estadístico.	14
3.- RESULTADOS	16
3.1 Rendimiento.	16
3.2 3,6-anhidrogalactosa.	18
3.3 Grupos sulfatos.	18
3.4 Carbohidratos totales.	19
3.5 Fuerza de gel.	20
3.6 Análisis de infrarrojo.	21
4.- DISCUSIONES	24
5.- CONCLUSIONES	35
6.- LITERATURA CITADA	36

1.- INTRODUCCION

La importancia comercial de las algas marinas, radica en los ficocoloides que de ella se extraen; los más importantes son el agar, ácido alginico y el carragenano (Percival y McDowell, 1967).

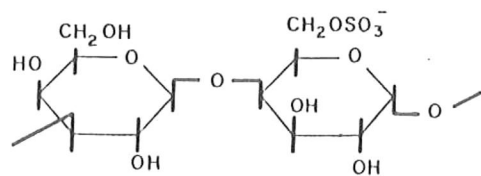
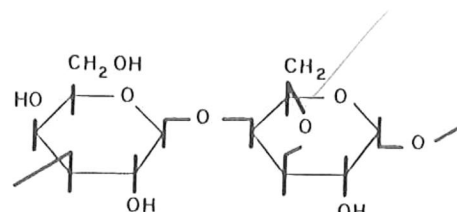
En particular, el carragenano es un polisacárido hidrocoloide miembro de la familia de los galactanos, tiene una amplia aplicación en la industria alimenticia y farmacéutica por sus propiedades estabilizadoras, espesantes, gelificantes, etc. (FMC-Marine Colloids, 1977). Su estructura química está compuesta de proporciones variantes de β -D-galactopiranososa y α -D-galactopiranososa enlazados alternantemente por uniones glicosídicos en las posiciones $1 \rightarrow 4$ y $1 \rightarrow 3$ respectivamente, con grupos ésteres sulfatos en diferentes posiciones de la molécula. En algunos tipos de carragenanos la unidad α -D-galactopiranososa se encuentra en forma 3,6-anhídrido (Percival y McDowell, 1967; Towle, 1973).

El carragenano es soluble en agua caliente y se extrae de algunas Rhodophytas, especialmente de las familias: Gigartinaceae, Phyllophoraceae, Hypneaceae y Solieriaceae (Hansen *et al.*, 1981). Estos polisacáridos son de alto peso molecular (10^5 - 10^6 daltons) y su contenido de sulfatos (en forma de $-\text{OSO}_4\text{Na}$) oscila entre un 20% y 50% (Craigie y Leigh, 1978).

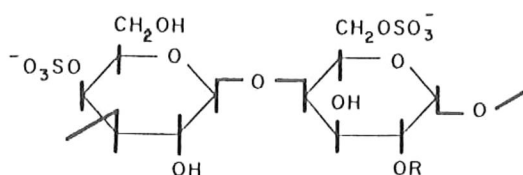
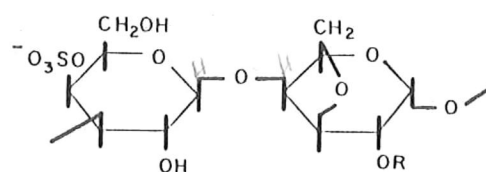
Greer y Yaphe (1984a,b) clasifican los carragenanos en varias familias de acuerdo al grado y forma de sulfatación de las unidades de galactosa. La familia kappa está compuesta por los carragenanos kappa (κ), iota (ι), mu (μ) y nu (ν), donde el residuo β -D-galactopiranososa está sulfatado en el C4, la familia lambda esta compuesta por los carragenanos lambda (λ), xi (ξ), theta (θ) y pi (π) donde los residuos de β -D-galactopiranososa están sulfatados en el C2. Señalando también que la familia beta (β) y gamma (γ) esta compuesta por carragenanos que contienen residuos de β -D-galactopiranososa y no se encuentra sulfatada, (fig. 1).

Las propiedades físicas como la fuerza de gel esta estrechamente correlacionada con el contenido de 3,6-anhidrogalaactosa y grado de sulfatación (Smidsrod *et al.*, 1967; Asare, 1980; Santos, 1980), se ha encontrado que mientras exista mayor contenido de 3,6-anhidrogalaactosa habrá una menor solubilidad y mayor fuerza de gel. Los carragenanos del tipo κ y ι son capaces de formar geles con diferentes propiedades, mientras que los λ -carragenanos no gelifican (FMC-Marine Colloids Division, 1977; Sandford y Baird, 1983).

La espectroscopía de infrarrojo ha sido utilizada en la identificación de polisacáridos sulfatados, para caracterizar carragenano y agar (Stancioff y Stanley, 1969). La absorbancia

FAMILIA - β  γ -carragenano β -carragenano

FAMILIA - K

 μ -carragenano : R = H γ -carragenano : R = SO_3^- 

K - carragenano : R = H

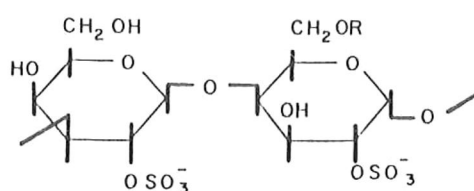
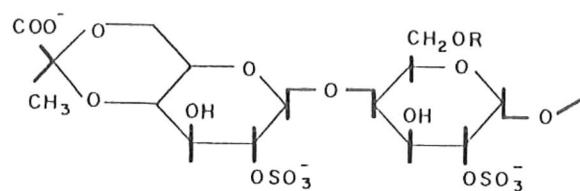
 λ -carragenano : R = SO_3^- FAMILIA - λ  λ -carragenano : R = SO_3^- ϕ - " : R = H θ - " : R = O π -carragenano : β -galactosa-4,6-carboxietil dieno
: R = H

FIGURA 1.- Representación secuencial de unidades en la cadena del polímero y estructuras idealizadas del carragenano (Rees, 1969; Stancioff y Stanley, 1969; McCandless *et al.*, 1983).

de las bandas de infrarrojo proveen información sobre la presencia de grupos sulfatos en los polímeros, a un número de onda de 1250 cm^{-1} y 1370 cm^{-1} ; una banda de absorción a los 930 cm^{-1} se atribuye a 3,6-anhidro- α -D-galactosa; a los 845 cm^{-1} , β -galactosa-4-sulfato; a 830 cm^{-1} , α -galactosa-2-sulfato; a los 820 cm^{-1} , α -galactosa-6-sulfato y a los 805 cm^{-1} , 3,6-anhidro- α -D-galactosa-2-sulfato (Lloyd *et al.*, 1961; Zundel, 1969; citados por Rochas y Yaphe, 1986).

En estudios realizados en algunas *Gigartinales* de distintas localidades y diferentes épocas del año, se han encontrado variaciones en rendimiento, tipo y calidad de los carragenanos (Doty y Santos, 1978). Fuller y Mathieson (1972), reportan variaciones estacionales en *C. crispus*, con máximos en verano (76 %) y mínimos en invierno (62 %). *E. uncinatum* de Bahía de los Angeles presenta variación estacional con máximos en verano-otoño (42 %) y mínimos en invierno-primavera (32 %) (Correa-Díaz, 1987).

Pickmere *et al.* (1973), al analizar el rendimiento del carragenano encuentra pequeñas fluctuaciones entre plantas femeninas, masculinas y tetraspóricas con niveles que van de 50 a 60 % , al analizar cuatro especies de *Gigartinas*. Plantas gametofitas haploides contienen predominante κ -carragenano y tetrasporofitas diploides contienen predominante λ -carragenano

(McCandless *et al.*, 1973).

Abbott (1980) ha observado en el campo que en muchas especies de carragenofitas la fase de reproducción gametofita es más común que la tetrasporofita. Además señala que ésta es la razón por la que no se puede hacer una generalización válida, de patrones de comportamiento de rendimiento y calidad de carragenanos.

Gigartina pectinata es una carragenofita endémica del Golfo de California, ocurre comunmente desde la zona de entremareas hasta los 7.5 m de profundidad (Norris, 1975). El talo consiste en láminas planas y delgadas abundantemente ramificadas. Su grosor es aproximadamente de 12 mm donde se reduce hasta llegar a ramificaciones agudas (fig. 2) (Dawson, 1944, 1961).

G. pectinata es una especie anual que aparece en invierno y desaparece a mediados de verano, alcanzando su máxima abundancia en primavera con biomasa máxima de 398.5 ± 119 g (peso seco)/m²; durante este período, junto con *E. uncinatum* son las especies dominantes en Bahía de los Angeles (Pacheco-Ruiz *et al.*, en prensa).

El máximo crecimiento *in situ* reportado para *G. pectinata* es en el mes de abril (11 %/día) a 2 m de profundidad, siendo afectado significativamente por la intensidad de luz (Cabello-Pasini,

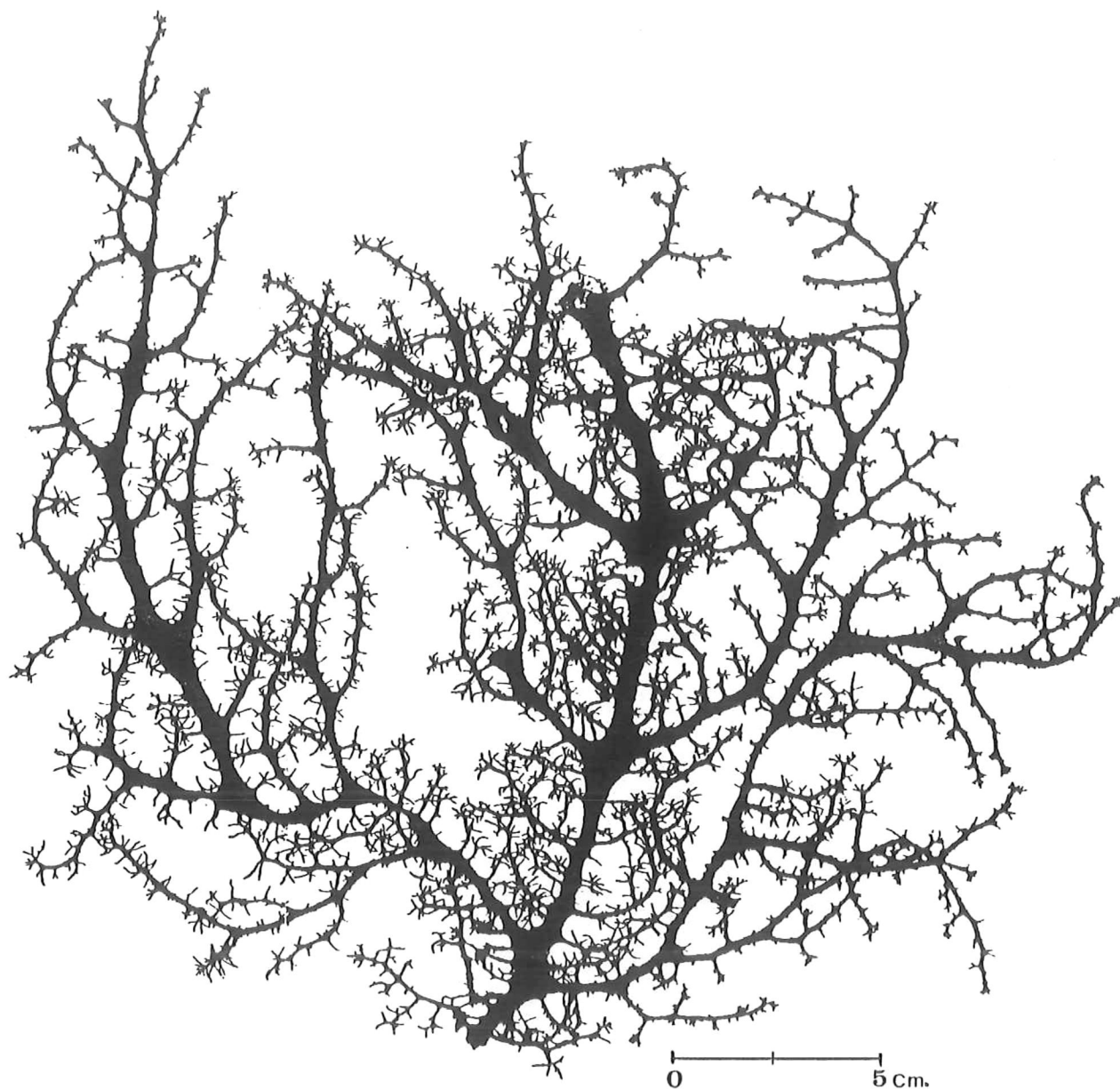


FIGURA 2.- Esquematización del alga *Gigartina pectinata* (Dawson).

1988). Bajo condiciones controladas se reporta un crecimiento de 7 %/día a irradiancias entre 50 y 100 $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y temperaturas entre 18 y 22 °C, siendo afectado drásticamente a irradiancias de 113 $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y a temperaturas de 26 °C (Pacheco-Ruíz y Zertuche-González, 1988).

Bajo condiciones semicontroladas (cultivos en tanques exteriores) su máximo crecimiento es en invierno (10.5 %/día) y el mínimo en otoño (3 %/día), a temperaturas entre 8 y 20 °C; durante el cultivo el alga es perene y además, se tiene crecimiento todo el año a diferencia del material *in situ* (Pacheco-Ruíz y Zertuche-González, 1988).

G. pectinata posee altas tasas fotosintéticas, los máximos valores de productividad neta, se reportan a finales de invierno, siendo de 192 y 280 mg c/g seco/h para el 88 y 40 % de I_0 y esta varía de acuerdo a como varía la intensidad de luz durante la época del año (Cabello-Pasini, 1988).

El potencial reproductivo de *G. pectinata* es alto, la máxima expulsión de esporas se presenta en el mes de mayo con $2,360 \times 10^3$ carposporas/g de alga peso húmedo y de 142×10^3 tetrasporas/g

de alga peso húmedo, de las cuales más del 50 % son viables, siendo expulsadas en un período de 35 días (Pacheco-Ruíz ¹ com. pers.).

El único reporte que se tiene sobre el rendimiento de carragenano de *G. pectinata* es de 39 % , estando constituidos de un híbrido κ - ι , con la característica de formar geles, por lo que se puede considerar a esta especie como fuente de carragenano (Zazueta-Gutiérrez, 1988).

Al comparar a *G. pectinata* con otras algas productoras de carragenano, es notorio que esta especie presenta un rápido crecimiento, alta productividad, alto potencial reproductivo y que es además una fuente importante del carragenano tipo κ .

El presente trabajo pretende determinar la cantidad y calidad de los carragenanos en plantas colectadas estacionalmente (*in situ*) y plantas en sus diferentes fases reproductivas (tetraspórica, femenina (cistocárpica) y estéril); así como en plantas cultivadas bajo condiciones semicontroladas.

¹ Investigador del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la U.A.B.C., México.

1.1 Objetivo.

a) Conocer la variación en el rendimiento y calidad del carragenano en poblaciones "*in situ*" de *G. pectinata*.

i.- En diferentes estaciones del año.

ii.- En diferentes fases reproductivas (tetraspórica, fremenina (carpospórica) y estéril).

b) Efecto del cultivo sobre la calidad y rendimiento del carragenano de *G. pectinata*.

2.- MATERIALES Y METODOS

2.1 Obtención de muestras de campo.

G. pectinata fue colectada estacionalmente (mayo de 1985 a mayo de 1986) sobre un manto situado entre Punta Gringa y Punta Arena en Bahía de los Angeles, localizada en la Costa Noroeste del Golfo de Baja California, México (28.66° y 29.02° N y los 113.5° y 113.58° W), (fig. 3). Las colectas fueron entre los dos y seis metros de profundidad con buceo autónomo, cortando aleatoriamente ápices de plantas, sin distinguir las fases sexuales; posteriormente las plantas se secaron al sol y se transportaron al laboratorio donde se guardaron para su análisis posterior. En marzo de 1988, se colectaron al azar diferentes fases reproductivas (tetraspórica, femenina (carpospórica) y estéril). En el laboratorio las plantas estériles se rehidrataron para verificar si se presentarón fases masculinas.

2.2 Obtención de muestras del cultivo.

Las muestras estacionales fueron obtenidas de un cultivo experimental sobre *G. pectinata* realizado en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Oceanológicas por Zertuche-González (en prensa).

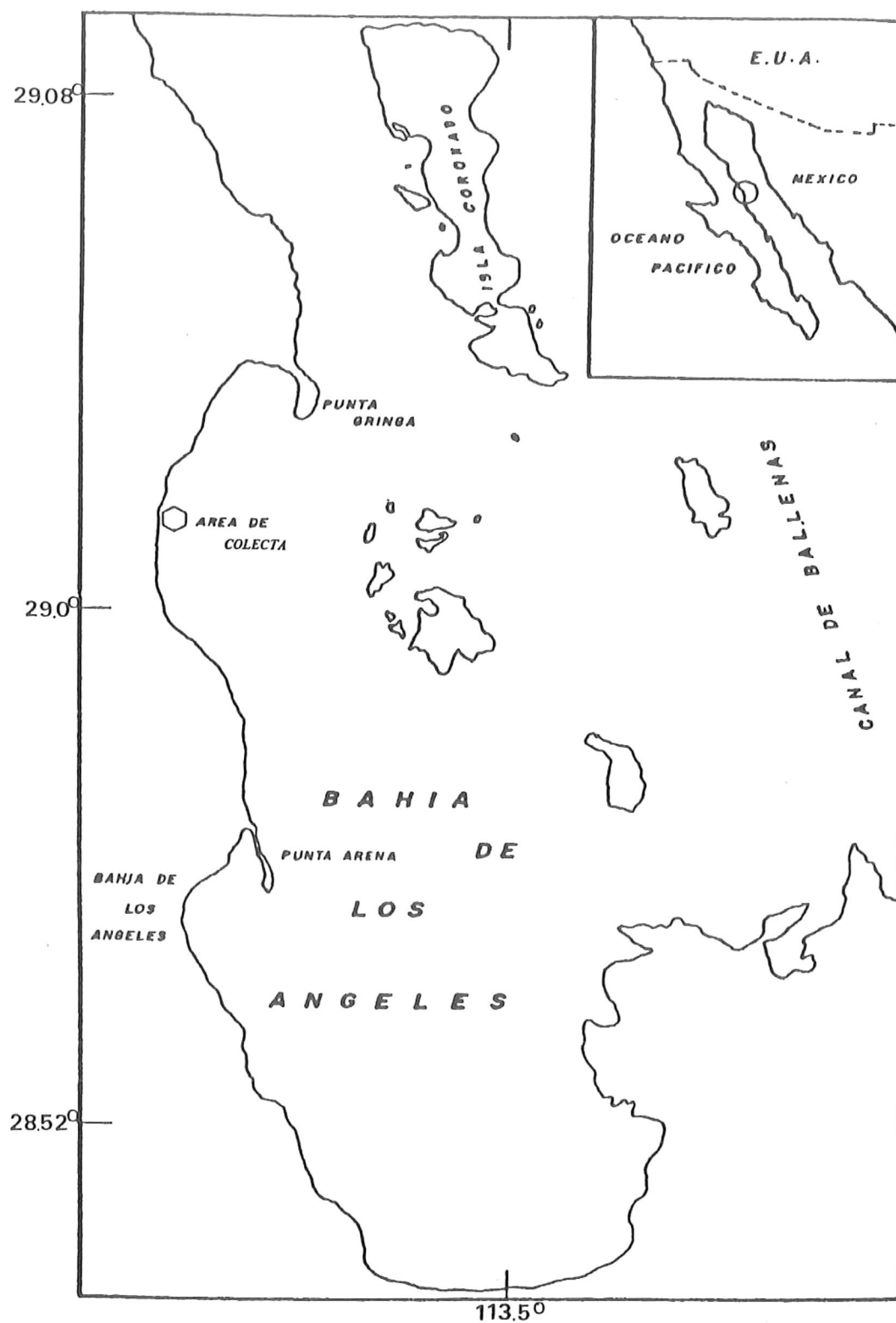


FIGURA 3.- Localización del área de colecta.

2.3 Extracción del carragenano.

Para la extracción del carragenano se utilizó una modificación del método descrito por Craigie y Leigh (1978). Tres gramos de alga seca y molida se lavaron con acetona, etanol y éter etílico, para extraer pigmentos y sales; un gramo del alga despigmentada se suspendió en 500 ml de NaHCO_3 (0.5 M) y se extrajo el carragenano por calentamiento de 85 a 90 °C por dos horas con agitación continua.

El carragenano extraído se precipitó con una solución acuosa de cloruro de cetilpiridina al 2 % y se purificó con agua destilada, con solución de alcohol saturada de acetato de sodio y con alcohol al 95 % (omitándose el éter etílico). Una vez purificado se seco en estufa de vacío sobre CaSO_4 (diedrita) hasta peso constante. El rendimiento se determinó por gravimetría.

2.4 Análisis físico-químico del carragenano.

2.4.1 Contenido de 3,6-anhidrogalactosa.

Fue determinada mediante el método descrito por Yaphe y Arsenault (1965), con las modificaciones adoptadas por Craigie

y Leigh (1978). Se utilizó fructuosa como estandar con concentraciones de 4 a 60 $\mu\text{g/ml}$ para la elaboración de la curva de calibración y 1.087 como factor de corrección.

2.4.2 Contenido de grupos sulfatos.

Se obtuvieron mediante una modificación del método turbidimétrico con BaCl_2 de Tabatabai descrito por Craigie *et al.* (1984), con sulfato de potasio como estandar a concentraciones de 30 a 600 $\mu\text{g/ml}$.

El grado de sulfatación (GS) se calculó a partir de la razón entre el número de moles de sulfato por moles de unidad disácarida (Peats, 1981). De acuerdo a la siguiente formula:

$$\text{GS} = \frac{(\% \text{SO}_4 / 96.06)}{\{(100 - \text{SO}_4) / (289)\}} = \frac{\text{mol SO}_4}{\text{mol de unidad disacárida}}$$

2.4.3 Determinación de carbohidratos totales.

Se realizó de acuerdo al método descrito por Dubois *et al.* (1956), con la prueba del Fenol-Sulfúrico, utilizando la galactosa como estandar para la curva de calibración a concentraciones de 10 a 90 $\mu\text{g/ml}$.

2.4.4 Fuerza de gel.

Se efectuó siguiendo el método de Pernas *et al.* (1967), diluyendo 0.2 g de carragenano en 10 ml de agua destilada. Dicha solución se vertió en cápsulas de plástipack cerradas por los extremos con bolsas de diálisis; dializando con KCl (1 M), por un período de 24 horas.

La fuerza del gel se midió en base a los gramos requeridos para romper un gel que media 1.1 cm de diámetro por 1 cm de altura (colocado en una balanza de dos platos), usando una varilla de 1.05 cm de diámetro.

2.4.5 Análisis de infrarrojo.

Para el análisis de los espectros de infrarrojo se utilizó una solución de carragenano al 2 % . De ésta se tomaron 2 ml y se depositaron en una navecilla de poliestireno, evaporando la solución a 60 °C por 12 horas. Con las películas obtenidas se corrieron los espectros de infrarrojo en un espectrofotómetro Perkin Elmer 1330.

2.5 Análisis estadístico.

A los resultados obtenidos para rendimiento, 3,6-anhidrogalaactosa, grupos sulfatos y carbohidratos en el

carragenano de *G. pectinata* se les aplicó el análisis de distribución normal de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett (Zar, 1984). Todos aquellos datos que mostraron distribución normal y homogeneidad de varianzas fueron sometidos a un análisis de varianza para comprobar si existían diferencias significativas entre los componentes. Posteriormente se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Student-Newman-Keuls, para comparar las medias entre cada uno de los tratamientos (Zar, 1984).

Los datos que no mostraron normalidad ni homogeneidad de varianzas, fueron probados por un análisis de varianza no paramétrico Kruskal-Wallis. Posteriormente se les aplicó la prueba de comparación múltiple no paramétrica de Wilcoxon-Mann-Whitney (Zar, 1984). Estas pruebas se realizaron con el paquete estadístico BIOMETRY (Brinkhuis, 1984).

3.- RESULTADOS

3.1 Rendimiento.

El rendimiento de carragenano de las muestras estacionales de campo fluctuó entre el 66 y 72 % . Las diferentes fases reproductivas tuvieron un rendimiento de 68 a 70 % (tabla, I). No se encontraron diferencias significativas entre las muestras estacionales, ni entre las fases reproductivas (tabla II).

Tabla I.- Composición química del carragenano de *G. pectinata*, basado en el peso seco del alga. Las muestras corresponden a campo CP (primavera), CV (verano) y CI (invierno); fases reproductivas FT (tetraespórica), FF (femenina (carpospórica)) y FE (estéril); muestras de cultivo en tanques TP (primavera), TV (verano), TO (otoño) y TI (invierno).

AG = anhidrogalaactosa.

± = error estandar.

N = 2 ^

N = 6 ^^

MUESTRA	RENDIMTO (%)	3,6 - AG (%)	SULFATOS (%)	CARBOHIDRATOS (%)
^CP	68 ± 1.36	26 ± 0.40	17 ± 0.38	76 ± 3.60
^CV	66 ± 1.90	23 ± 0.50	22 ± 0.92	72 ± 1.53
^CI	72 ± 1.60	25 ± 0.09	20 ± 1.18	77 ± 0.97
^^FT	68 ± 0.59	9 ± 0.22	25 ± 0.24	68 ± 1.26
^^FF	70 ± 0.25	25 ± 0.44	21 ± 0.14	70 ± 0.25
^^FE	70 ± 0.72	26 ± 0.63	21 ± 0.63	70 ± 0.33
^TP	57 ± 0.62	25 ± 0.85	13 ± 0.17	80 ± 2.06
^TV	71 ± 0.18	21 ± 0.02	19 ± 1.65	71 ± 0.43
^TO	71 ± 0.11	24 ± 1.30	21 ± 0.09	71 ± 0.26
^TI	65 ± 0.11	21 ± 0.45	21 ± 0.38	66 ± 0.02

Los máximos rendimientos en los cultivos se presentaron en verano y otoño (71 %), y el mínimo en primavera (57 %). El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre la producción de carragenano de verano (71 %) y primavera (57 %), (tabla II).

Tabla II.- Resultados del análisis de varianza y comparación de medias para el rendimiento de carragenano y sus componentes químicos (3,6-anhidrogalactosa (3,6-AG), sulfatos y carbohidratos) de *G. pectinata* (NS = no significativo; * = 0.05). Las muestras corresponden a campo CP (primavera), CV (verano) y CI (invierno), fases reproductivas FT (tetrasporofita), FF (femenina (carpospórica)) y FE (estéril), cultivo en tanques TP (primavera), TV (verano), TO (otoño) y TI (invierno).

@ Análisis de varianza (ANOVA) no paramétrico de Kruskal-Wallis y comparación de medias no paramétrico de Tukey. Y se comparó la H calculada contra la H crítica a un nivel del 0.05.

VARIABLE	F cal.	F crítica *	ANOVA	COMPARACION DE MEDIAS
Muestras de campo				
Rendimiento	6.9	9.55	NS	
3,6-AG	9.2	9.55	NS	
Sulfatos	9.7	9.55	*	CP < CV
Carbohidratos	1.3	9.55	NS	
Muestras de fases reproductivas				
Rendimiento	0.5	3.68	NS	
3,6-AG	506.7	3.68	*	FT < FF = FE
Sulfatos	54.3	3.68	*	FE = FF < FT
Carbohidratos	1.7	3.68	NS	
Muestras de cultivo				
Rendimiento	417.40	6.59	*	TP < TI < TO = TV
3,6-AG	6.80	6.59	*	TV = TI < TO = TP
Sulfatos @	6.23	6.17	*	TP < TO
Carbohidratos @	6.73	6.17	*	TI < TP

3.2 3,6-anhidrogalaactosa.

En muestras de campo no se encontraron diferencias significativas en el contenido de 3,6-anhidrogalaactosa; con valores máximos en primavera (26 %) y mínimos en verano (23 %), (tablas I y II).

El contenido de 3,6-anhidrogalaactosa de las plantas tetraspóricas (9 %) fue diferente significativamente al de las plantas femeninas (carpospóricas) (25 %) y estériles (26 %) (tablas I y II).

En los cultivos, el contenido de 3,6-anhidrogalaactosa presentó diferencias significativas entre las estaciones de primavera-otoño (25 y 24 %) y verano-invierno (21 y 21 %), (tablas I y II).

3.3 Grupos sulfatos.

En las muestras de campo existen diferencias significativas en el contenido de grupos sulfatos para las estaciones de primavera (17 %) y verano (22 %).

En las muestras de las fases reproductivas se observaron diferencias significativas en el contenido de sulfatos en las plantas tetraspóricas, respecto a las femeninas, con promedios

de 25 % y 21 % respectivamente.

Para el contenido de sulfatos de las muestras estacionales de cultivo se realizó un análisis de varianza de Kruskal-Wallis y una comparación de medias no paramétrico, se encontraron diferencias significativas entre las muestras de primavera (13 %) y otoño (21 %), tabla I.

El grado de sulfatación (GS) nos indica la cantidad de moles de SO_4 por cada mol de unidad disácarida. En muestras tetraspóricas el GS fue de 0.99 y en el resto de las muestras fue de 0.60 a 0.87.

3.4 Carbohidratos totales.

El contenido de carbohidratos totales, en las muestras de campo, no fue significativamente diferente. Los máximos valores se encontraron en invierno (77 %) y primavera (76 %) y los mínimos en verano (72 %), tabla I.

Las diferentes fases reproductivas no mostraron ser significativamente distintas en el contenido de carbohidratos. Los máximos valores se encontraron en las plantas femeninas (carpospóricas) y estériles (70 %) y mínimos en las tetraspóricas (68 %), (tabla I).

El contenido de carbohidratos en las plantas cultivadas en tanques presentaron máximos valores en primavera (80 %), y mínimos en invierno (66 %). Un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis arrojó diferencias significativas entre las variaciones estacionales (tabla II).

3.5 Fuerza de gel.

Los máximos valores en fuerza de gel para las muestras de campo se encontraron en verano (203 g) y mínimos en invierno (12 g). En muestras estacionales de cultivo en tanques, el máximo valor fue encontrado en primavera (350 g) y el mínimo en verano (22 %). El carragenano de las muestras de invierno no gelificó, tabla III. La muestra de otoño (cultivo) se terminó, por lo que no se le efectuó el análisis de fuerza de gel.

Tabla III.- Análisis físico de los carragenanos de *G. pectinata*. Las muestras corresponden a campo CP (primavera), CV (verano) y CI (invierno) y muestras de cultivo en tanques TP (primavera), TV (verano) y TI (invierno). Los resultados son valores promedio.

$\pm$ = error estandar.

N = 3

MUESTRA	FUERZA DEL GEL (g)
CP	143 $\pm$ 2.04
CV	203 $\pm$ 2.05
CI	12 $\pm$ 0.12
TP	350 $\pm$ 4.08
TV	22 $\pm$ 0.76
TI	no gelificó

3.6 Análisis de infrarrojo.

Los espectros de infrarrojo de los carragenanos de muestras estacionales de campo y de cultivo (fig. 4) y plantas femeninas (carpospóricas) y estériles (fig. 5), mostraron señales características del κ -carragenano, con bandas fuertes a los 930 cm^{-1} (3,6-anhidro- α -D-galactosa), 845 cm^{-1} (β -D-galactosa-4-SO₄), además se presentaron señales débiles a los 805 cm^{-1} (α -3,6-anhidro-D-galactosa-2-sulfato) y 970 cm^{-1} (atribuida a la pérdida del grupo 6-SO₄ de la α -D-galactosa-2,6-disulfato).

El estadio de reproducción tetraspórico presentó señales características de un carragenano tipo ξ con bandas agudas a los 830 cm^{-1} (fig. 5).

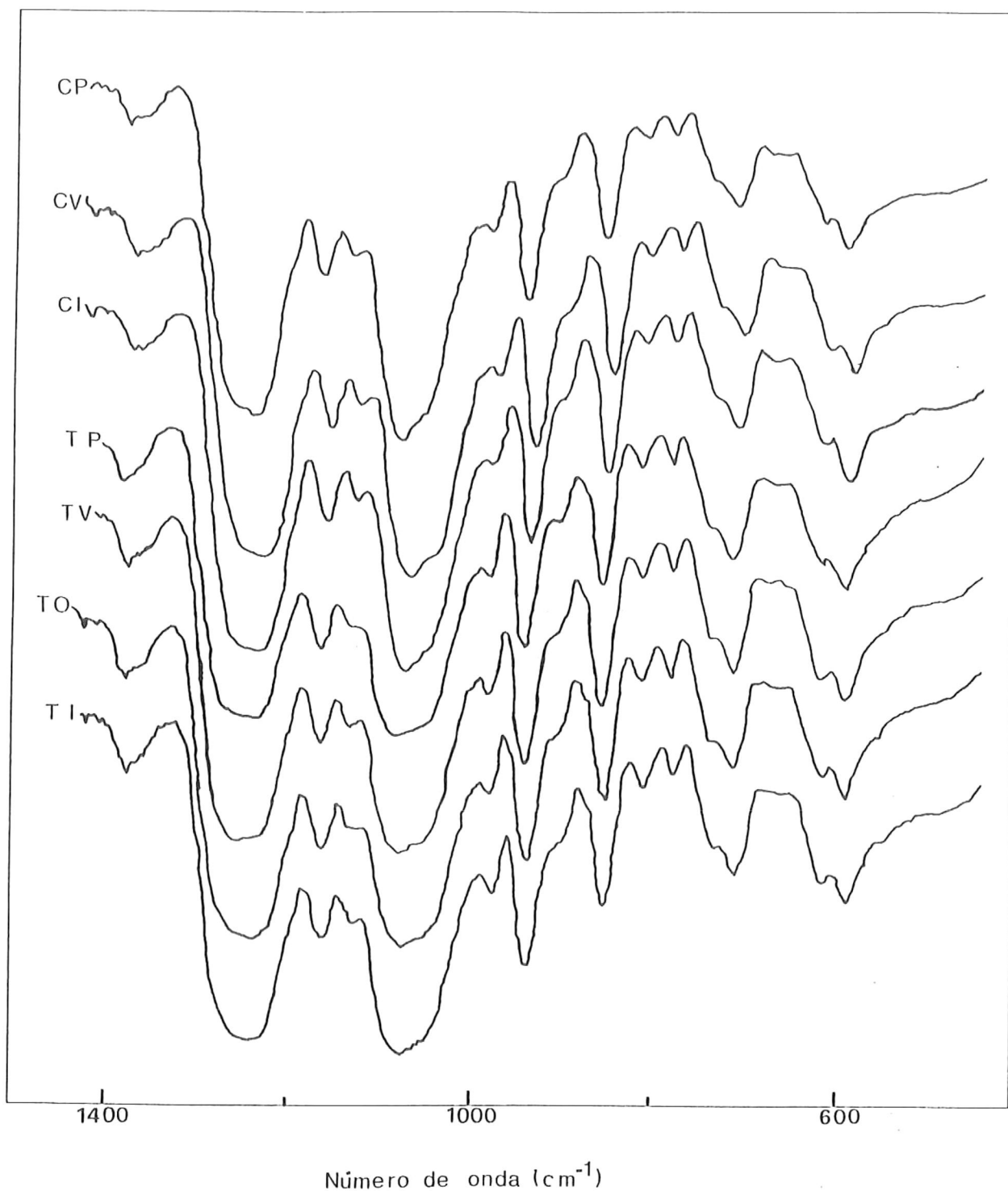


FIGURA 4.- Espectro de infrarrojo (IR) del carragenano de *Gigartina pectinata* de las muestras estacionales de campo (primavera CP, verano CV, e invierno CI) y de cultivo en tanques exteriores (primavera TP, verano TV, otoño TO e invierno TI).

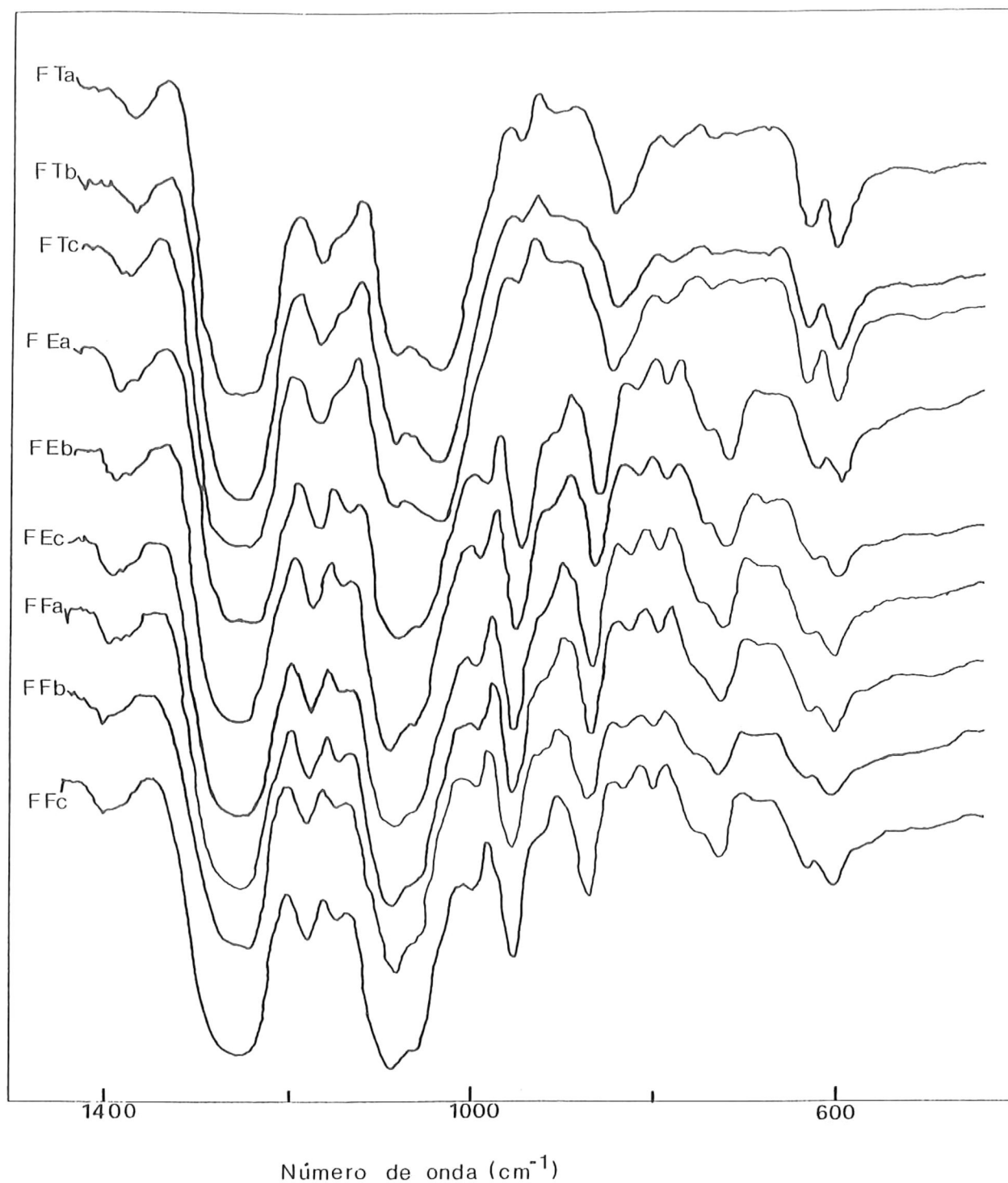


FIGURA 5.- Espectro de infrarrojo (IR) del carragenano de *Gigartina pectinata* en sus fases reproductivas: tetraespórico FT, femenino (carpospórico) FF y estéril FE. Las letras a, b y c indican réplicas.

4.- DISCUSIONES

En la mayoría de las carragenofitas y agarofitas se ha observado que los rendimientos varían estacionalmente, debido a las condiciones ambientales (Fogg, 1964; Neish y Shacklock, 1971; Dawes et al 1977a, Penniman, 1983; Zertuche-González, 1988). En este trabajo no se presentaron diferencias significativas en el rendimiento de los carragenanos de *G. pectinata* en muestras estacionales de campo (tablas I y II), a pesar de que en esta región del Golfo de California las variaciones en los parámetros físico-químicos son drásticos a lo largo del año y principalmente en las estaciones de verano e invierno (Robinson, 1973; Bray y Robles, 1989). El comportamiento anterior es opuesto al encontrado en *E. uncinatum*, que se desarrolla junto con *G. pectinata* donde si se han encontrado diferencias significativas, con máximos en verano (42 %) y mínimos en invierno (32 %) Correa-Díaz (1987). El comportamiento de *G. pectinata* es similar al reportado por Pickmere et al. (1975) donde no observaron diferencias significativas en el rendimiento, durante un período anual de muestro, en tres especies de *Gigartina*; esto es importante ya que al comercializar el carragenano se garantiza la producción permanente en cualquier época del año (muestras cultivadas).

G. pectinata se caracteriza por tener rápido crecimiento y alta productividad (Pacheco-Ruíz *et al.*, en prensa; Cabello-Passini, 1988), a pesar de lo anterior, en este trabajo no se observa un decremento en el rendimiento del carragenano, este comportamiento es anómalo a lo observado en otras especies, ya que en general cuando existe alto crecimiento, se tiene como consecuencia una baja en el rendimiento y esto se puede deber a que cuando existe un medio rico en nutrientes el carbón, producido en la fotosíntesis, que entra al ciclo de Krebs sea destinado en su mayor parte hacia la síntesis de compuestos precursores de aminoácidos (proteínas) y una menor parte destinada a la síntesis de carbohidratos (DeBoer, 1979; Raven, 1974; Neish *et al.*, 1977).

Los valores de rendimiento de carragenano encontrados entre las diferentes fases de reproducción no fueron significativos, mostrando máximos en las plantas estériles (70 %) y mínimos en tetraspóricas (68 %). Este mismo comportamiento ha sido reportado para otras carragenofitas de importancia económica como *Gigartina* (Pickmere *et al.*, 1975 y McCandless *et al.*, 1983) y *Eucheuma* (Dawes *et al.*, 1977b y Correa-Díaz, 1987).

El rendimiento de carragenano en *G. pectinata* es alto (66 a 72 %) comparado con otras especies de importancia comercial como *C. crispus* (30 a 70 %), *E. uncinatum* (32 a 42 %), *G. canaliculata*

(37 a 46 %) (Fuller y Mathieson, 1972; Corre-Díaz, 1987; Sánchez-Rodríguez, 1989). Además de no poseer variaciones amplias a lo largo del año, ni entre fases sexuales. Todo esto situa a *G. pectinata* como una especie de importancia comercial, ya que es posible obtener altos rendimientos de carragenano en cualquier época del año; siempre y cuando se cultive.

Las plantas cultivadas en tanques exteriores presentaron una variabilidad significativa en el rendimiento de los carragenanos, con máximos en verano y otoño (71 y 71 %) y mínimos en primavera e invierno (57 y 65 %). Los rendimientos de las muestras estacionales de cultivo fueron menores respecto a las muestras colectadas *in situ*, pero en las plantas cultivadas los nutrientes no fueron un factor limitante, quizá este resultado se deba al efecto de dichos nutrientes ya que el contenido más alto de carragenano se da en plantas que crecen en un medio ambiente no enriquecido (DeBoer, 1979). Aún así, se observa que los rendimientos de las muestras de cultivo son iguales o mayores, respecto a otras especies cultivadas como *E. cottonii* $\approx$ 29 %, *E. spinosum* $\approx$ 34 % ; *G. canaliculata* (44 a 49 %); *C. crispus* (16 a 69 %) y *E. uncinatum* (32 a 42 %) (Adnan y Parse, 1987; González-Gómez, 1988; Mathieson y Teveter, 1975; Vega-Castro y Martínez-Rochas, 1989).

No se observaron diferencias significativas en el contenido de 3,6-anhidrogalactosa en las muestras estacionales de campo, su porcentaje fue alto, con un máximo de 26 % y un mínimo de 23 % . Este mismo comportamiento ha sido observado por Dawes *et al.*, (1974) en *Eucheumas* de Florida, con valores máximos en primavera y verano (13 y 12.5 %) y los mínimos en invierno (8.6 %). Sin embargo Zertuche-González (1988) si encuentra variaciones significativas a lo largo del año (23 y 14 %) en *E. uncinatum* de Bahía de los Angeles.

En las plantas femeninas (carpospóricas) y estériles analizadas en el presente estudio se observan altas concentraciones de 3,6-anhidrogalactosa ($\approx$ 25 %); en contraste las plantas tetraspóricas mostraron concentraciones bajas ($\approx$ 9 %). Trabajos realizados sobre *Eucheumas* y *Gigartinas* han reportado el mismo comportamiento, es decir menores concentraciones de 3,6-anhidrogalactosa en la fase tetraespórica y mayores en plantas estériles y cistocárpicas (Dawes *et al.*, 1977a; McCandless *et al.*, 1973; Correa-Díaz, 1988).

En contraste con los valores obtenidos en el campo, la 3,6-anhidrogalactosa en muestras estacionales de cultivo si presentaron variaciones significantivas, con máximos en primavera y otoño (25 y 24 %) y mínimos entre las estaciones de verano e

invierno (21 y 21 %), tablas I y II. Esta variación en 3,6-anhidrogalactosa es menor que la reportada para otras carragenofitas; por otro lado su contenido fue mayor, respecto a muestras de cultivo de *E. uncinatum*, con máximos en otoño e invierno (21 y 24 %) y mínimos en verano (15 y 16 %) (Dawes *et al.*, 1977a; Vega-Castro y Martínez-Rocha, 1988).

En los resultados anteriores, se muestra que en todas las plantas analizadas (campo, fases de vida y cultivo) los niveles de 3,6-anhidrogalactosa fueron altos y constantes, con excepción a la fase tetraespórica. Esto demuestra que la mayoría de las plantas colectadas y analizadas no correspondieron a esta fase, sino a plantas femeninas (cistocárpicas) y estériles. Esto es posible dado que en las poblaciones naturales de *G. pectinata* se ha encontrado dominancia de 10:1 en plantas haploides y diploides (Pacheco-Ruiz ², com. pers.).

Ya se ha mencionado que el obtener rendimientos altos y permanentes de carragenano revisten en importancia comercial, aunado a esto el tener carragenanos de buena calidad y sin variación estacional como los encontrados en *G. pectinata* incrementan el valor potencial de su ficocoloide.

² Investigador del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la U.A.B.C., México.

Los grupos sulfatos, en todas las muestras analizadas presentaron variaciones significativas con máximos en la fase tetraespórica (25 %) y mínimos en las muestras de primavera (13 y 17 %). Las muestras estacionales de campo y de cultivo presentaron un comportamiento similar, una posible razón es que los sulfatos no se vieron afectados por las diferentes condiciones de su medio ambiente a que fueron sometidas estas plantas.

Se observó una relación inversa entre el contenido de sulfatos y la 3,6-anhidrogalactosa, reafirmando con esto el porque de una alta fuerza de gel en estas estaciones (primavera y verano); ya que las altas concentraciones de 3,6-anhidrogalactosa y baja concentraciones de sulfatos son aparentemente propicias para la formación de un gel de buena calidad (Sandford y Baird, 1983). Por el contrario Asare (1980) encuentra una relación directamente proporcional entre la 3,6-anhidrogalactosa y grupos sulfatos, este comportamiento indica la formación de la 3,6-anhidrogalactosa-2-sulfato, como podría ser el caso de la muestras de verano e invierno (cultivo).

En el carragenano de *G. pectinata*, de muestras no tetraspóricas siempre fue mayor la concentración de 3,6-anhidrogalactosa que la de sulfatos, esto indica, independientemente de que se colecte o se cultive, se obtendrá una fracción κ que puede producir un

gel de buena calidad.

Cuando lo que se requiere es formar soluciones viscosas se recomienda separar la fase tetraespórica ya que es la que presenta en sus carragenanos baja concentración de 3,6-anhidrogalactosa y alta de grupos sulfatos.

La concentración de carbohidratos del carragenano de las muestras de campo y fases reproductivas no presentan variaciones significativas; observando los máximos para las estaciones de primavera e invierno (76 y 77 %) y los mínimos para las plantas tetraspóricas (68 %). Estos resultados no concuerdan con el comportamiento en especies de *Eucheuma* de Florida y Bahía de los Angeles, las cuales presentan máximos en verano y otoño (54 y 69 %, respectivamente) y mínimos en invierno y primavera (24 y 61 %, resp.), Dawes *et al.* (1977a); Zertuche-González (1988).

Los valores de carbohidratos en el carragenano para las muestras de cultivo fueron diferentes significativamente, con máximos en primavera (80 %) y mínimos en invierno (66 %). Variaciones estacionales en el contenido de carbohidratos para muestras de cultivo también han sido reportadas por Vega-Castro y Martínez-Rocha (1989) en *E. uncinatum*, con máximos en invierno (78 %) y mínimos en verano (54 %).

Si se comparan las razones estacionales de porciento de carbohidrato, para las diferentes especies, entonces existe una correlación con el estado fisiológico de las plantas, donde aparentemente los carbohidratos están siendo utilizados durante el crecimiento Dawes *et al.* (1977a). Este mismo comportamiento se presentó en las muestras de primavera e invierno (cultivo); en donde los máximos (80 %) en el nivel de carbohidratos fueron observados en la época de menor crecimiento (2.5 % /día) y los mínimos (66 %) durante el período de rápido crecimiento (10.5 % /día), Pacheco-Ruíz y Zertuche-González (1988).

Se conoce que el κ -carragenano es un polisacárido capaz de formar geles, mientras que el λ y el ξ no lo son (Sandford y Baird, 1983). Las muestras con ξ no gelificaron y no todas las muestras de κ fueron capaces de gelificar. Para que una muestra de carragenano gelifique existen diversos factores: un alto contenido de 3,6-anhidrogalactosa (arriba del 25 %), un bajo porciento de sulfatos (17 a 22 %), pH del medio (8), temperatura del medio 45 °C y una alternancia regular de conformación (1C_4 - 4C_1) en las unidades. Como es el caso de la muestra de cultivo primavera que presentó una fuerza de gel de 350 g (tabla 3) con concentraciones de 25 % de 3,6-anhidrogalactosa y 13 % de sulfatos (tabla I). Todas las condiciones para la obtención de un buen gel fueron controladas con excepción de la alternancia regular de conformación

ya que esta se presenta en el carragenano por una alta heterogeneidad de las unidades disacáridas que lo componen (aunque el tipo predominante sea κ).

Los espectros de infrarrojo de los carragenanos en las muestras tetraspóricas presentaron bandas agudas con máximos a los 830 cm^{-1} características de un carragenano tipo ξ . En todos los ξ -carragenano se observó una señal débil a los 930 cm^{-1} ; lo cual indica un contenido de 3,6-anhidrogalactosa (figs. 4 y 5). Los espectros de infrarrojo de las muestras femenina (carpospórica), estéril y muestras estacionales, de campo y de cultivo, presentaron señales características de un carragenano híbrido $\kappa(\iota)$.

Rochas *et al.* (1980) y Peats (1981), publican una metodología con la cual mediante la correlación entre los grados de sulfatación de los carragenanos y las razones de las absorbancias de los picos a $845/2920$ y/o $805/2920$ es posible calcular el porcentaje de sulfatación de una muestra desconocida mediante el análisis de infrarrojo. En este trabajo las correlaciones entre estos dos factores fueron bajas, lo cual nos indica que para lograr un porcentaje de correlación (entre estos dos factores) alto, se requiere de una extracción que asegure la homogeneidad de las unidades disacáridas del carragenano a estudiar, (por ejemplo

tratamiento alcalino y fraccionación con KCl). Comportamientos similares son publicados por Correa-Díaz *et al.* (1989). Dichas diferencias son debidas posiblemente a el método de extracción.

El análisis de recobro esta determinado por la suma de las proporciones de carbohidratos y sulfatos en el carragenano. La diferencia en el 100% de recobro es debido principalmente a que en los polisacáridos que no contienen un solo tipo de unidad (como es el caso del carragenano) la 3,6-anhidrogalactosa, de este, reacciona fuertemente con el fenol-sulfúrico, e interfiere en la medición de la galactosa (utilizada como estandar, Craigie y Leigh, 1978), además se puede considerar que las diferencias con el 100% pueden atribuirse a sales adventicias (Painter, 1983) y también posiblemente a la presencia de diferentes unidades como es el caso de κ -carragenano que contiene piruvato, tabla IV (Macandless *et al.*, 1983).

Tabla 4.- Recobro (Carbohidratos + Sulfatos) y GS (grado de sulfatación del carragenano) de *G. pectinata*. Las muestras corresponden a campo CP (primavera), CV (verano) y CI (invierno); fases reproductivas FT (tetrasporofita), FF (femenina (carpospórica)) y FE (estéril) y de cultivo en tanques TP (primavera), TV (verano), TO (otoño) y TI (invierno).

MUESTRA	RECOBRO	GS
CP	93	0.60
CV	98	0.86
CI	97	0.77
FT	83	0.99
FF	91	0.81
FE	91	0.79
TP	93	0.87
TV	89	0.70
TO	92	0.83
TI	87	0.79

5- CONCLUSIONES

G. pectinata presentó un contenido de carragenano (72 al 57 %) con mayores concentraciones en muestras de campo que de cultivo.

No se observaron variaciones estacionales en los rendimientos de carragenano de las muestras de campo y de fases reproductivas.

Las plantas tetrasporofitas contienen bajos niveles de 3,6-anhidrogalaactosa y altas concentraciones de grupos sulfatos, con respecto a todas las demás muestras.

La fase tetraspórica de *G. pectinata* fue el único estadio que presentó el carragenano tipo (ξ) y en todas las demás predominó el carragenano tipo κ.

La máxima fuerza de gel se presentó en muestras de verano (campo) y primavera (cultivo).

6.- LITERATURA CITADA

- Abbott, I.A. 1980. Some fields and laboratory studies on colloids producing red algae in Central California. *Aquat. Bot.*, 8:255-266.
- Adnan, H. y H. Parse. 1987. Culture of *Eucheuma cottonii* and *E. spinosum* in Indonesia. *Proc. Intl. Seaweed Symp.* 12:355-358
- Asare, O.S. 1980. Seasonal changes in sulphate and 3,6-anhydrogalactose content of phycocolloids from two red algae. *Bot. Mar.*, 23:595-598.
- Bird, K.T. 1984. Seasonal variation in protein:carbohidrate ratios in a subtropical estuarine algae, *Gracilaria verrucosa*, and the determination of nitrogen limitation status using these ratios. *Bot. Mar.*, 27:111-115.
- Bray, N.A. y J.M. Robles. 1989. Physical Oceanography of the Gulf of California, to appear in: The Gulf and Peninsular Province of the Californias Memoir of the American Association of Petroleum Geologist.
- Brinkhuis, B. 1984. User guide to "Biometry". A package of statistical programs for the Rainbow 100. State University of New York. Stony Brook, New York, 11:794-93.
- Cabello-Pasini A. 1988. Fotosíntesis, respiración y crecimiento *in situ* de *Gigartina pectinata* (DAWSON) en Bahía de Los Angeles. Tesis de Maestria. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California Méx. 42 pp.
- Correa-Díaz, F. 1987. Variación estacional del rendimiento de carragenano extraído de *Eucheuma uncinatum*, Setchell & Gardner

- (Rhodophyta) de Bahía de los Angeles, Baja California. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. 35 pp.
- Correa-Díaz, F., R. Aguilar-Rosas y L.E. Aguilar-Rosas. 1990. Infrared analysis of eleven carrageenan algae from California, México. *Hydrobiology*. (in press).
- Craigie, J.S. y C. Leigh. 1978. Carrageenans and agars. In "Handbook of Phycological and Biochemical Methods". Hellebust and Craigie (Eds.). Cambridge Univ. Press, 109-131 pp.
- Craigie, J.S., Z.C. Wen y J.P. Van Der Meer. 1984. Interspecific, intraspecific and nutritionally determined variations in the composition of agar from *Gracilaria* sp. *Bot. Mar.* 27:55-61.
- Dawes, C.J., J.M. Lawrence, D.P. Cheney y A.C. Mathieson. 1974. Ecological studies of Floridian *Eucheuma* (Rhodophyta, Gigartinales). III. Seasonal variation of carrageenan, total carbohydrate, protein and lipid. *Bull. Mar. Sci.*, 24:286-299.
- Dawes, C.J. N.F. Stanley y D.J. Stancioff. 1977a. Seasonal and reproductive aspect of plant chemistry, and κ -carrageenan from floridian *Eucheuma* (Rhodophyta, Gigartinales). *Botanica Marina* 20:137-147.
- Dawes, C.J., N.F. Stanley y R.E. Moon. 1977b. Physiological and biochemical studies on the κ -carrageenan producing red alga *Eucheuma uncinatum* Setchell and Gardner, from the Gulf of California. *Bot. Mar.*, 20:437-442.
- Dawson, E.Y. 1944. The marine algae of the Gulf of California. *Allan Hancock Pacific Expeditions* 3:189-453.
- Dawson, E.Y. 1961. Marine red algae of Pacific Mexico. Part 4. *Gigartinales*. *Pac. Naturalist* 2:189-343.

- DeBoer, J.A. 1979. Effects of nitrogen enrichment on growth rate and phycocolloid content in *Gracilaria foliifera* and *Neogardhiella baileyi* (Florideophyceae). Proc. Intl. Seaweed Symp. 9:263-271.
- Doty, M.S. y G.A. Santos. 1978. Carrageenan from tetrasporic and cystocarpic *Eucheumas* species. Aquat. Bot. 4:143.
- Dubois M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers y S. Smith. 1956. Clorimetric method for the determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28:350-356.
- FMC-Marine Colloids. 1977. Carragennans, marine colloid. Monograph number one. Rockland, Marine. U.S.A. 36 pp.
- Fogg, G.E. 1964. Environmental conditions and the pattern of metabolism in algae. In: Jackson, D. (Ed.), "Algae and Man". Plenum Press, New York, N.Y., 77-85 pp.
- Fuller, S.W. y A.C. Mathieson. 1972. Ecological studies of economic red algae. IV. Variations of carrageenan concentration and properties in *Chondrus crispus* Stackhouse. J. exp. mar. Biol. Ecol., 10:49-58.
- González-Gómez, M.A. 1988. Efecto de los nitratos en el crecimiento y producción de carragenano de *Gigartina canaliculata* Harv. en tanques de cultivo. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California, Méx. 35 pp.
- Greer C.W. and W. Yaphe. 1984a. Characterization of hybrid (Betha, Kappa and Gamma) carrageenan from *Eucheuma gelatinae* J. Agardh (Rhodophyta, Solieriaceae) using carragenases, infrared and C-NMR spectroscopy. Bot. Mar. 27:473-478.

- Greer C.W. and W. Yaphe. 1984b. Hybrid (Iota, Nu and Kappa) carrageenan from *Eucheuma nudum* (Rhodophyta, Solieriaceae) identified using iota and kappa carragenases and C-NMR spectroscopy. Bot. Mar. 27:479-484.
- Hansen J.E., J.E. Packard and W.T. Doyle. 1981. Mariculture of red seaweeds. California Sea Grant College Program Publication. 7-13 pp.
- Mathieson, A.C. y E. Tveter. 1975. Carrageenan ecology of *Chondrus crispus* Stackhouse. Aquat. Bot., 1:25-43.
- McCandless, E.L., J.S. Craigie, & J.A. Walter. 1973. Carrageenans in the gametophytic and sporophytic stages of *Chondrus crispus*. Planta 112: 201-212.
- McCandless, E.L. 1983. Carrageenan patterns Gigartinaceae. Biochem. Syst. Biol. 2(3):175-182.
- Neish, A.C. y P.F. Shacklock. 1971. Greenhouse experiments on the propagation of strain T4 of Irish moss. Atlantic reg. Tech. Report. Serial. 14:25.
- Neish, A.C., P.F. Shacklock, C.H. Fox y S.F. Simpson. 1977. The cultivation of *Chondrus crispus*. Factors affecting growth under greenhouse conditions. Can. J. Bot., 55:2263-2271.
- Norris, J.N. 1975. The marine algae of the Northern Gulf of California, Ph.D. Dissertation, Univ. California, Santa Barbara. XX + 575 pp.
- Pacheco-Ruíz, I. y J.A. Zertuche-González. 1988. Variación estacional de la biomasa y estadios reproductivos de *Gigartina pectinata* Dawson (Gigartinales; Rhodophyta) en el Golfo de California, México, Ciencias Marinas.

- Pacheco-Ruiz, I., J.A. Zertuche-González, B.H. Brinkhuis, A. Cabello-Pasini. (En prensa). Seasonal variation in biomass and growth of *Gigartina pectinata* Dawson (Gigartinales : Rhodophyta) in the gulf of California. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.
- Painter, T.J. 1983. Algal Polysaccharides. In: "The Polysaccharides". Vol 2. Aspinall G O (Ed) Academic Press
- hampshire. Thesis Doctoral (Ph. D.) B. S. (Biology), University of Marine al Orono. 181 pp.
- Percival E. y H. McDowell. 1967. Chemistry and enzymology of marine algae polisaccharides. Academic Press. London. pp. 319.
- Pernas, A.J., O. Smidsrod, B. Larsen y A. Haug. 1967 Chemical heterogeneity with potassium chloride. Acta Chem. Scand. 21(1): 98-110.
- Pickmere, S.E., M.J. Parsons y R.W. Bailey. 1975. Variations in carrageenans levels and composition in three New Zealand species of *Gigartina*. N.Z.J. Sci., 18: 585-595.
- Peats S. 1981. The infrared spectra of carrageenans extracted from various algae. Proc. Int. Seaweed Symp. 10:495-502.
- Raven, J.A. 1974. Carbon dioxide fixation. In: Algal Physiology and Biochemistry. Ed. W. D. P. Stewart. Blakwell Scientific Publications, Oxford. 443-455.
- Robinson M.K. 1973. Atlas of monthly mean surfase and subsurfase temperatures in the Gulf of California México. San Diego Society and Natural Histoty, memour 5, 97 pp.

- Rochas, C., M. Rinaudo y M. Vincendon. 1980. Structural and conformational investigation of carrageenans. *Biopolymers* 19:2165-2175.
- Rochas, C.M. y W. Yaphe. 1986. Sulfate content of carrageenan and agar determined by infrared spectroscopy. *Bot. Mar.* 29:335-340.
- Sanchez-Rodriguez, J. 1989. Caracterización de carragenanos del alga *Gigartina canaliculata* (Harv. Rhodophyceae, Gigartinales), a lo largo de un ciclo anual, en la Bahía San Quintín, Baja California, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California, Méx. 39 pp.
- Sandford P.A. y J. Baird. 1983. Industrial utilization of polysaccharides. In "The polysaccharides". Aspinall G.O. (Ed.) Chapt. 7. Academic Press. New York.
- Santos G.A. 1980. Quality of carrageenan and agar. In "Pacific Seaweed Aquaculture". Abbott I.A., M.S. Foster and L.F. Eklund (Eds.). California Sea Grant Collage Program. University of California. 123-129 pp.
- Smidsrod, O., B. Larsen, A.J. Pernas and A. Haug. 1967. The effect of alkali treatment on the chemical heterogeneity and physical properties of some carrageenans. *Acta Chem. Scand.*, 21:2585-2598.
- Stancioff, D.J. y N.F. Stanley. 1969. Infrared and chemical studies on algal polysaccharides. *Proc. Intl. Seaweed Symp.* 6:595-609.
- Towle G.A. 1973. Carrageenan. In "Industrial gums polysaccharides and derivatives". Whistler R.L. (Ed.). Chapter 5. Academic Press. New York.

- Vega-Castro I.E y I.A. Martínez-Rocha. 1989. "Cuantificación y caracterización de los carragenanos de *Eucheuma uncinatum* Setchelly Gardner (Rhodophyta, gigartinales) cultivada en tanques bajo diferentes condiciones de luz y nutrientes ". Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California, Méx. 58 pp.
- Yaphe, W. y G.P. Arsenault. 1965. Improved resorcinol reagent for the determination of fructose and of 3,6-anhydrogalactose in polysaccharides. Anal. Biochem., 13:143-148.
- Zar J.H. 1984. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Inc. New Jersey. 718 pp.
- Zazueta-Gutiérrez E. 1988. " Un estudio químico de los carragenanos de cuatro especies de *Gigartina*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, Baja California Méx. 42 pp.
- Zertuche-González, J.A. 1988. *in situ* life history, growth and carragennan characyeristics of *Eucheuma uncinatum* (SETCHELL & GARDNER) DAWSON from the Gulf of California. Ph.D. Dissertation, State University of New York at Stony Brook. 162 pp.
- Zertuche-González, J.A. (en prensa). In: Cultivation of seaweeds in Latin America (N. Kautsk & E.C. de Oliveira, eds.) International Foundation for Science, Stockholm Sweden.