



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES IZTACALA

ACTIVIDAD DE ATPasa MITOCONDRIAL Y MICROSOMAL
EN TRES ESPECIES DE MANGLE

INFLUENCIA DE UN GRADIENTE SALINO NATURAL
SOBRE LA ACTIVIDAD DE ATPasa
EN Rhizophora mangle, Avicennia germinans
Y Laguncularia racemosa

T E S I S
Que para obtener el Título de
B I O L O G O
p r e s e n t a

SERGIO ROSALES LEDEZMA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A MI MAESTRO SERGIO
GONZALEZ MORENO.
CON PROFUNDO
AGRADECIMIENTO.

El trabajo experimental de esta Tesis, se --
llevó a cabo en el laboratorio de Bioquímica
de la Unidad de Morfofisiología de la Escue-
la Nacional de Estudios Profesionales ----
Iztacala - U.N.A.M.

Bajo la asesoría y supervisión del
M. en C. SERGIO GONZALES MORENO.

CONTENIDO:

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

RESULTADOS

ANÁLISIS DE RESULTADOS

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

APÉNDICE

AGRACECIMIENTOS

BIBLIOGRAFÍA

INDICE

I.	RESUMEN -----	1
II.	INTRODUCCIÓN -----	3
1.1	GENERALIDADES -----	3
1.2	ANTECEDENTES -----	4
2.	EL ATP -----	11
2.1	Fig.1 ESTRUCTURA DEL ATP -----	13
3.	FOSFORILACION OXIDATIVA (Un resumen). -----	14
3.1	Fig.2 DIBUJO ESQUEMATICO DE UNA MITOCONDRIA -----	15
3.2	Fig.3 ESQUEMA DE LA MEMBRANA INTERNA MITOCONDRIAL Y EL GRADIENTE E LECTROQUIMICO -----	16
4.	COMPLEJO Fo - F ₁ ATPasa -----	17
4.1	PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS SUBUNIDADES DEL COMPLEJO Fo - F ₁ ATPasa -----	18
4.2	Fig.4 ESQUEMA DE LA ATPasa MITOCONDRIAL -----	21
III.	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS -----	22
1.	Fig.5 ZONA DE ESTUDIO. TECOLUTLA - VERACRÚZ -----	23
1.1	Fig.6 ESTERO DE TECOLUTLA - VERACRÚZ -----	24
IV.	MATERIAL Y MÉTODOS -----	25
1.	TRABAJO DE CAMPO -----	25
1.1	PROCEDIMIENTO PARA EL AISLAMIENTO DE MITOCONDRIAS VEGETALES -----	26
1.2	Fig.7 ESQUEMA GENERAL QUE ILUSTRA LA METODOLOGIA UTILIZADA -----	27

1.3	Fig.8 ESQUEMA QUE ILUSTRAS LAS CONDICIONES NECESARIAS PARA EL AISLAMIENTO DE MITOCONDRIAS VEGETALES -----	28
2.	DETERMINACION DE PROTEINA -----	29
3.	ESTUDIO POLAROGRAFICO DE MITOCONDRIAS DE HOJAS DE MANGLE	
4.	CONDICIONES PARA EL ENSAYO DE LA ACTIVIDAD DE ATPasa ---	29
5.	SECUENCIA DE FORMULAS ESTADISTICAS DE LA ANOVA 2 FACTORES Y ANOVA 3 FACTORES -----	31

V. RESULTADOS

1.	Fig.9 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Avicennia germinans</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DEL TIEMPO -----	34
1.1	Fig.10 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Avicennia germinans</u> (FRAC. MICROSOMAL) EN FUNCION DEL TIEMPO -----	35
2.	Fig.11 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Rhizophora mangle</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DEL TIEMPO -----	36
2.1	Fig.12 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Rhizophora mangle</u> (FRAC. MICROSOMAL) EN FUNCION DEL TIEMPO -----	37
3.	Fig.13 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Avicennia germinans</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -----	38
3.1	Fig.14 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Avicennia germinans</u> (FRAC. MICROSOMAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -----	39

4.	Fig.15 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Rhizophora mangle</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -----	40
4.1	Fig.16 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Rhizophora mangle</u> (FRAC. MICROSOMAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -----	41
5.	Fig. 17 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Laguncularia racemosa</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -----	42
5.1	Fig. 18 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Laguncularia racemosa</u> (FRAC. MICROSOMAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -----	43
6.	Fig. 19 ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>A. germinans</u> , <u>R. mangle</u> Y <u>L. racemosa</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -----	44
6.1	Fig.20 ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>A. germinans</u> , <u>R. mangle</u> Y <u>L. racemosa</u> (FRAC. MICROSOMAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -	45
7.	Fig.21 CURVA PATRON PARA CUANTIFICAR PROTEINA -----	46
8.	Fig.22 CURVA PATRON PARA CUANTIFICAR FOSFORO INORGANICO- 47	
9.	Fig.23 ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Avicennia germinans</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA CONCENTRACION.DE NaCl Y DE SACAROSA (CONTROL DE TONICIDAD) -----	48

9.1	Fig.24	ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Rhizophora mangle</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA CONCENTRACION DE NaCl Y DE SACAROSA (CONTROL DE TONICIDAD) -----	49
10.	Fig.25	ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Avicennia germinans</u> (FRAC. MITOCONDRIAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LAS UNIDADES DE pH -----	50
10.1	Fig.26	ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>Avicennia germinans</u> (FRAC. MICROSOMAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LAS UNIDADES DE pH -----	51
11.	Fig.27	CONSUMO DE OXIGENO DE MITOCONDRIAS POR MITOCONDRIAS DE HOJAS DE MANGLE (TRAZO POLAROGRAFICO) -	52
12.	Fig. 28	ESQUEMA COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE MANGLE DE <u>A. germinans</u> , <u>R. mangle</u> Y <u>L. racemosa</u> (FRAC. MITOCONDRIAL Y FRAC. MICROSOMAL) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] -----	53
13.	Fig.29	CUANTIFICACION DE Na^+ Y K^+ DE AGUA INTERSTICIAL DE LA ZONA DE ABUNDANCIA DEL MANGLE <u>A. germinans</u> -----	54
13.1	Fig.30	CUANTIFICACION DE Na^+ Y K^+ DE AGUA INTERSTICIAL DE LA ZONA DE ABUNDANCIA DEL MANGLE <u>R. mangle</u> -----	55
14.	Fig.31	CUANTIFICACION DE LA [Na ⁺] % DE HOJAS DE MANGLE DE <u>A. germinans</u> -----	56
14.1	Fig.32	CUANTIFICACION DE LA [Na ⁺] % DE HOJAS DE MANGLE DE <u>R. mangle</u> -----	57

VI. ANALISIS DE RESULTADOS

1. TABLA No.1. ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE A. germinans (FRAC. MITOCONDRIAL) A DOS CONCENTRACIONES DIFERENTES DE NaCl Y EN DIFERENTE ESTACION DE MUESTREO ----- 58
 - 1.1 APLICACION DEL ESTADISTICO ANOVA 2 FACTORES CON REPETICION PARA A. germinans (FRAC. MIT.). TABLA No.1 -- 59
2. TABLA No.2. ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE A. germinans (FRAC. MICROSOMAL) A DOS CONCENTRACIONES DIFERENTES DE NaCl Y EN DIFERENTE ESTACION DE MUESTREO ----- 64
 - 2.1. APLICACION DEL ESTADISTICO ANOVA 2 FACTORES CON REPETICION PARA A. germinans (FRAC. MICRO). TABLA No.2 - 65
3. TABLA No.3. ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE R. mangle (FRAC. MITOCONDRIAL) A DOS CONCENTRACIONES DIFERENTES DE NaCl Y EN DIFERENTE ESTACION DE MUESTREO ----- 70
 - 3.1 APLICACION DEL ESTADISTICO ANOVA 2 FACTORES CON REPETICION PARA R. mangle (FRAC. MIT.). TABLA No.3----- 71
4. TABLA No.4. ACTIVIDAD DE ATPasa DE HOJAS DE R. mangle (FRA. MICROSOMAL) A DOS CONCENTRACIONES DIFERENTES DE NaCl Y EN DIFERENTE ESTACION DE MUESTREO ----- 76
 - 4.1 APLICACION DEL ESTADISTICO ANOVA 2 FACTORES CON REPETICION PARA R. mangle (FRAC. MICRO). TABLA No.4 ---- 77
5. TABLA No.5. ESQUEMA COMPARATIVO QUE MUESTRA LA ACTIVIDAD DE ATPasa DE A. germinans, R. mangle y L. racemosa (FRAC. MIT.) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] Y EN DIFERENTE ESTACION DE MUESTREO ----- 82

5.1	APLICACION DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA 3 FACTORES CON REPETICION (TABLA No. 5)	83
6.	TABLA No. 6. ESQUEMA COMPARATIVO QUE MUESTRA LA ACTIVIDAD DE ATPasa DE <u>A. germinans</u> , <u>R. mangle</u> y <u>L. racemosa</u> (FRAC. MICRO.) EN FUNCION DE INCREMENTAR LA [NaCl] Y EN DIFERENTE ESTACION DE MUESTREO	84
6.1	APLICACION DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA 3 FACTORES CON REPETICION (TABLA No. 6)	85
7.	PROBLEMAS QUE SE TUVIERON DURANTE EL AISLAMIENTO DE LAS MITCONDRIAS DE HOJAS DEL MANGLE <u>L. racemosa</u> .	86
VII.	DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	88
VIII	APÉNDICE	94
IX.	AGRADECIMIENTOS	102
X.	BIBLIOGRAFÍA	103

ABREVIATURAS

ADP - Difosfato de Adenosina.
ATP - Trifosfato de Adenosina.
ATPasa - ATPhidrolasa. ATPsistetasa. Adenosin trifosfatasa.
BSA - Albumina de suero bobino.
C. R. - Contról Respiratorio.
CaCl₂ - Cloruro de Calcio.
Cal - Caloría.
Cys - Cisteina.
DCCD - Díciclo-hexilcarbodimida.
EDTA - Etilendiaminotetraacetato.
kcal - Kilocaloría.
kDa - Kilodaltones.
KOH - Hidróxido de potasio.
PVP - Polivinilpirrolidona.
K⁺ - Potasio.
Na⁺ - Sodio.
NaCl - Cloruro de Sodio.
OSCP - Proteína que confiere sensibilidad a la oligomicina.
Pi - Fósforo inorgánico.
TCA - Acido tricloro acético.
Tris - Tris(hidróximetil)aminometano.
Otras abreviaturas aparecen en el texto con su respectiva explicación.

RESUMEN

Entre las especies vegetales dominantes del manglar se encuentran *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa*. Las tres son plantas halófitas distribuidas en un gradiente salino natural del litoral a tierra firme y otro a lo largo del estero (Fig. 6). Poseen una gran capacidad de adaptación a cambios continuos de salinidad y en conjunto con otras especies del manglar constituyen uno de los ecosistemas más productivos del planeta.

La actividad de ATPasa de plasmalema de plantas glicófitas y halófitas es dependiente del tipo y concentración de sales del medio en que éstas se desarrollan.

Son escasos los reportes y prácticamente se desconocen los mecanismos bioquímicos implicados en la adaptación de los mangles a su medio ambiente salino natural de crecimiento. Este trabajo trata de explicar la actividad de ATPasa de fracción microsomal y mitocondrial de tres de las especies halófitas más abundantes y distribuidas en el manglar en un gradiente de salinidad del litoral a tierra firme y a lo largo del estero de Tecolutla, Veracruz.

Los resultados de Horovitz y Waisel (31) indican que existen diferencias cualitativas en la actividad de ATPasa en fracciones microsomales de raíces de dos glicófitas y dos halófitas. La adición de NaCl en el medio de crecimiento y en la mezcla de reacción enzimática estimuló la actividad de ATPasa en las especies glicófitas en contraste con la ATPasa de las especies halófitas que fue inhibida.

Se midieron las actividades de ATPasa mitocondrial y microsomal de *Avicennia germinans*, *Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa* en función de la concentración de sodio (NaCl) en el medio de incubación y se compararon las actividades de la enzima de una misma especie creciendo naturalmente en medios de salinidad diferentes en el estero de Tecolutla Veracruz.

Se muestran los cambios de actividad de ATPasa de dos especies de mangle en un ciclo anual.

Los resultados nos muestran que existen diferencias de actividad de ATPasa en fracción microsomal y mitocondrial entre las tres especies de mangle; también se observan diferencias de actividad de la misma enzima en una sola especie en función de su localización dentro del estero.

Jennings (35, 36) sugirió que la actividad de ATPasa tiene una función importante en la adaptación de las plantas a medios salinos y que posiblemente pueda participar en un mecanismo bioquímico básico de resistencia contra la salinidad en especies glicófitas y halófitas.

INTRODUCCION

Los manglares son comunidades vegetales extendidas por todo el cinturón tropical, formando inmensos bosques y dilatados matorrales anfibios, que adornan con sus tonos siempre verdes los márgenes del océano y del complicado sistema de canales que forman en los estuarios (1, 13).

Es un sistema dinámico en su estructura florística y faunística, en los procesos de transformación continua de suelos, en su capacidad de fijación de energía y síntesis de materia orgánica (11).

Dentro de las costas mexicanas y en particular en el estero de Tecolutla - Veracruz, se pueden encontrar cuatro especies de mangle: *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans*, *Laguncularia racemosa* y *Conocarpus erectus*. Se ha observado que los mangles presentan una distribución típica a lo largo de los litorales, encontrándose a *Rhizophora* más próxima al mar en tanto que *Avicennia*, *Laguncularia* y *Conocarpus* crecen más al interior de la playa, por lo general en la secuencia indicada (53, 58, 68).

Estos árboles propios de los litorales tropicales desarrollan su ciclo de vida normalmente en un medio ambiente hidro-salino fluctuante (hidrohalófitas) gracias a una serie de mecanismos bioquímicos que les permiten adaptarse a este sistema ecológico cambiante, mejorando así sus oportunidades de competencia, reproducción y sobrevivencia (8, 18, 20, 42, 54).

En varias revisiones se ha observado que bajo condiciones de salinidad, en un rango de 200 a 500 mM de NaCl, algunas

halófitas terrestres - *Suaeda maritima* y *Atriplex numularia* -, así como el género de mangle *Avicennia* tienden a crecer óptimamente, aún más, el crecimiento es mayor a medida que la salinidad (NaCl) se incrementa dentro de este rango (24, 26).

También se conoce que las sales de sodio potasio, calcio y magnesio tienen influencia sobre la actividad de ciertas enzimas que están involucradas en la adaptación de los vegetales (a su medio ambiente), en la captación, almacenamiento y utilización de energía (3 - 7, 9, 15, 16, 20, 21, 22, 25, 27, 28, 31, 34 - 40, 42 - 45, 48, 49, 52, 54, 55, 56, 62, 64, 66, 67, 70), aunque en mangles la información es escasa.

De ésta información se sabe que la actividad de ATPasa de plasmalema en plantas glicófitas y halófitas es dependiente del tipo y concentración de sales del medio en que éstas especies se desarrollan (3 - 7, 9, 15, 16, 20, 21, 22, 25, 27, 28, 31, 34 - 40, 43 - 45, 48, 49, 52, 54, 55, 56, 62, 64, 66, 67, 70).

Los resultados de Horovitz y Waisel (31) nos indican que existen diferencias cualitativas en la actividad de ATPasa en fracciones microsomales de raíces de dos glicófitas (*Phaseolus vulgaris* y *Zea mays*) y dos halófitas (*Suaeda monoica* y *Atriplex halimus*) ya que en el primer caso la actividad de la enzima se estimuló y en el segundo se inhibió por efecto de la concentración de cloruro de sodio (NaCl) en el medio de crecimiento y en la mezcla de reacción enzimática.

De manera diferente, los resultados obtenidos por Vakhmistrov, Tikhaya y Natalia Mishustina (66), que habiendo comparado las actividades de ATPasa en fracciones microsomales de raíces de una planta halófito (*Halocnemum strobilaceum* L.) y una glicófita (*Hordeum vulgare* L.) nos indican que en ambos casos la actividad de la enzima se estimuló por efecto de incrementar la concentración de NaCl y/o KCl en la mezcla de reacción enzimática.

Porath y Poljakoff (54), reportan que la fosforilación oxidativa en raíces de chicharo (una glicófita) se inhibe con dos tipos de sales (*In vitro*), siendo más sensible al cloruro de sodio; en tanto que Livne y Levin (50) observaron estimulada la fosforilación oxidativa en hojas de chicharo por efecto de incrementar la concentración de cloruro de sodio en el medio de crecimiento.

Los resultados de Porath y Poljakoff-Mayber (54), acerca del efecto de la salinidad (NaCl) sobre la fosforilación oxidativa, los niveles de ADP, ATP y la actividad de ATPasa en fracción soluble (fracción microsomal) y mitocondrial en raíces de chicharo muestran disminución en los niveles de ATP, estimulación en la actividad ATPasa en ambas fracciones, así como inhibición de la fosforilación oxidativa, aunque el proceso podría también estar influenciado por los niveles de NAD.

Al parecer la actividad de ATPasa depende de muchos factores incluyendo el medio ambiente iónico; de acuerdo a Waisel (67), László y Kuiper (44, 45), Briskin y Poole (4, 5, 6), Vakmistrov, et-al (66) y Dominy et-al (16), las ATPasa (de algunas plantas glicófitas) exhiben un alto grado de actividad cuando al menos uno de sus sitios está ocupado por el ión sodio y muestran una menor actividad cuando ambos sitios están ocupados por iones potasio (20, 66, 67, 70), sin embargo en este punto la información no es precisa, mencionándose que se requieren de mayores estudios.

Jenning (35, 36), sugirió que la actividad ATPasa tiene una función importante en la adaptación de las plantas superiores a medios ambientes salinos y que las diferencias encontradas en la actividad de ATPasa entre glicófitas y halófitas son unicamente cuantitativas (35,36).

Vakhimistrov, Tinkhaya y Natalia Mishutina (66), Skou, J. C. (62), Fisher y Hodges (21, 22), Kylin y Gee (39), László, E. y Kuiper, P. (45), Kylin y Hanson (27), Lindberg, S (49), Wingstrand, G. y Lindberg, S. (70) postulan que el transporte de sodio y potasio por una ATPasa activada por Na^+ , K^+ -es un mecanismo básico de resistencia contra la salinidad en plantas superiores.

Algunos datos anteriormente señalados apoyan la sugerencia de participación de procesos mitocondriales y asociados a membrana en la resistencia de estos mangles a la salinidad (NaCl) natural que impera y fluctua en el estero.

De las especies que se estudian en el presente trabajo se sabe que tienen que sobrevivir a cambios bruscos de salinidad (NaCl) dentro del manglar. De estas tres especies *Rhizophora* y *Laguncularia* son menos tolerantes a la salinidad que *Avicennia* (8, 10). *Avicennia* el género más tolerante entre estos mangles a condiciones climáticas y adápticas rigurosas, es la especie dominante o exclusiva de ambientes marginales en los límites latitudinales y en áreas donde los suelos contienen altas concentraciones de sal (NaCl), aproximadamente entre 4 y 9% (o sea entre 1.2 y 2.5 veces la salinidad "normal" del agua de mar) (8, 10, 11).

Además los estudios de Scholander en base a la secreción de sales y a la diferencias morfofisiológicas que existen entre los mangles, éstas halófitas han sido clasificadas en dos grupos: Un grupo secretor de sales en el cual se pueden citar al género *Avicennia* y un grupo no secretor de sales en el cual se incluye a *Rhizophora* y a otros géneros más (59, 60, 61).

Según los datos de Scholander dentro del grupo secretor de sales se reportan altas presiones negativas en el xilema de aproximadamente 30 a 60 ATM. La concentración salina dentro del grupo no secretor de sales es de aproximadamente 10 veces menos en comparación con el grupo secretor.

Así la tolerancia de *Avicennia* le permite sobrevivir en habitats hipersalinos, que serían potencialmente dañinos para *Rhizophora* y *Laguncularia* (8, 59, 60, 61).

Por otra parte se presupone generalmente que el primer paso de absorción de sal o sales a través de las raíces es la acumulación de iones en las células radicales y un segundo paso es el movimiento radical de iones hacia dentro a través de las células vivas y hacia el xilema (12, 41, 57).

Hay tres caminos posibles para el movimiento de iones desde la superficie de la raíz hacia dentro del xilema y posteriormente hacia las hojas.

- 1.- Movimiento de vacuola en vacuola.
- 2.- Movimiento a través del simplasto rodeando las vacuolas.
- 3.- Movimiento a través del apoplasto (movimiento entre el espacio libre de las paredes), o alguna combinación de estos tres caminos (41, 57).

Una vez que los iones entran al pelo radical o célula epidérmica según los tres caminos anteriormente señalados, deben llegar al xilema para ser transportados hacia las hojas, que son los órganos vegetales donde se efectúa la asimilación de los iones al incorporarlos en moléculas en el metabolismo foliar (nutrientes, enzimas, glucoproteínas etc.) (57).

Un primer paso para evadir la sal es la acumulación de iones en las vacuolas (a nivel raíz), probablemente funcionando como vertederos de desviación para la sal (sales) por lo menos en plantas de bajo contenido salino (como los mangles dentro del grupo no secretores de sal) y no como camino para el movimiento (19, 60). Sin embargo algunas plantas como los mangles secretores de sal pueden absorber del 10 al 20 % de

NaCl presente en el medio natural de crecimiento por dos mecanismos: uno pasivo (no metabólico) y uno activo (metabólico) y excretarlo por "glandulas salinas" de las hojas (41, 60).

La hipersalinidad en el suelo es un tensor crónico que puede estar asociado a mayores gastos respiratorios, mayor síntesis de ATP, una menor actividad de ATPasa (8, 10, 31, 50, 51, 54, 57, 66, 67), como resultado esta energía puede ser utilizada para evitar un aumento progresivo de solutos en el xilema, que a su vez pueden incrementar el potencial osmótico negativo a nivel foliar; también tal energía puede ser utilizada para síntesis de altas concentraciones de prolina, la cual se puede acumular en las vacuolas y quizá en el citoplasma celular; este resultado da un incremento del potencial osmótico negativo, sin los efectos tóxicos de los iones sodio y mantener así una tonicidad adecuada a nivel celular (8, 10, 11, 12, 24, 26, 35, 36, 41, 51, 54, 57, 67).

Tal síntesis de ATP puede ser además utilizada para el crecimiento adicional vegetal; esto explica como el crecimiento es estimulado por el cloruro de sodio en algunas halófitas (8, 24, 26, 41, 57).

En base a lo anterior se espera que la actividad ATPasa (mitocondrial y/o microsomal) sea menor en *Avicennia* (género secretor de sales y más halotolerante) y más alta en *Laguncularia* y *Rhizophora* (género no secretor de sales) respectivamente; ya que se considera a *Avicennia* el género más hidrohalófito, en tanto que a *Laguncularia*

y *Rhizophora* se le consideran "menos" halófitas (8, 10, 24, 26, 59, 60, 61).

También se espera que la actividad ATPasa (mitocondrial y/o microsomal) de una sólo especie de mangle en relación al gradiente salino natural que es característico en el litoral del estero de Tecolutla-Veracruz (Fig. 6), sea más alta en aquella especie que por su ubicación edafológica se registre una menor salinidad (menor concentración de Na^+); es decir, que se espera una mayor actividad de ATPasa cuando las condiciones de salinidad sean bajas e inversamente que la actividad de la enzima sea menor cuando en los parámetros físico-químicos se registre una mayor salinidad (mayor $[\text{Na}^+]$).

Por ultimo se espera que la actividad ATPasa mitocondrial y microsomal (frac. soluble) de hojas de mangle disminuya en función de un incremento de NaCl en el medio de ensayo (mezcla de reacción enzimática).

EL ATP

La energía puede tomar muchas formas. Existe energía luminosa, energía calorífica, energía eléctrica, energía química, energía osmótica, energía atómica, etc., pero para que una máquina funcione se requiere que se le proporcione un determinado tipo de energía. Por ejemplo los automóviles de nuestra época están diseñados para utilizar la energía almacenada en los enlaces químicos de las moléculas que forman la gasolina; el motor de ese automóvil no puede utilizar otro tipo de energía (por ejemplo la solar), a menos que se modifiquen drásticamente sus sistemas de conversión de la energía química en mecánica. En este sentido los seres vivos somos semejantes a una máquina, ya que sólo podemos utilizar un tipo particular de energía. Sólo hasta hace unas cuantas décadas se encontró cuál era la forma que la energía debería tomar para que fuera aceptada y utilizada por los sistemas moleculares de los seres vivos. Ahora sabemos que para realizar todos sus procesos, que requieren energía (endergónicos), los seres vivos utilizan la energía almacenada en dos uniones químicas que se encuentran en una molécula universalmente conocida como ATP (trifosfato de adenosina o adenosin trifosfato).

El primer indicio de la existencia de esta molécula lo obtuvieron Fiske y Subbarow (23) al encontrar que ciertos compuestos nitrogenados en homogeneizados de músculo precipitaban al añadir calcio Ca^{2+} . Al analizar estos compuestos con mucho más detalle, Fiske y Subbarow encontraron que uno de ellos estaba formado por una adenina, un carbohidrato y tres moléculas de

fosfato; más adelante se estableció la estructura del ATP que se muestra en la figura 1. En los años siguientes a estos descubrimientos se encontró que las uniones entre el fosfato α y B, y B y γ del ATP presentan ciertas peculiaridades, y que cuando estas uniones se rompen por medio de una reacción hidrolítica, se desprende una cantidad de energía mayor que cuando se rompe una unión común del fosfato con un compuesto orgánico.

De los cambios energéticos que ocurren durante la hidrólisis de determinados compuestos surgió el concepto -elegantemente descrito por Fritz Lipmann (23) - de uniones de alta y baja energía. Después de numerosas observaciones en muchos laboratorios del mundo, se hizo evidente, que en aquellas reacciones o procesos intracelulares que requieren un aporte energético, la energía para llevarlos a cabo proviene de las uniones de pirofosfato entre los fosfatos α y B o B y γ del ATP. En una forma u otra, al romperse estas uniones, su energía se utiliza para impulsar cualquier proceso intracelular que requiere energía (14, 23).

Fig. 1. Estructura del ATP. Cuando la unión entre los fosfatos α y β del ATP se rompe mediante una acción hidrolítica, se liberan unas 7 000 calorías. En la terminología bioquímica, éstas se llaman "uniones de alta energía".

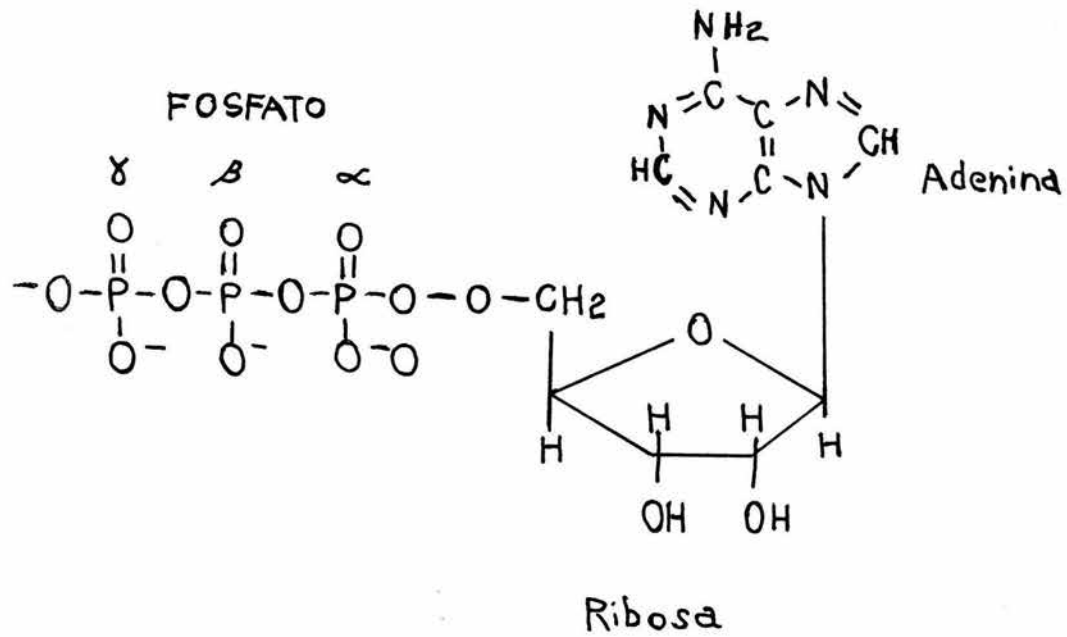
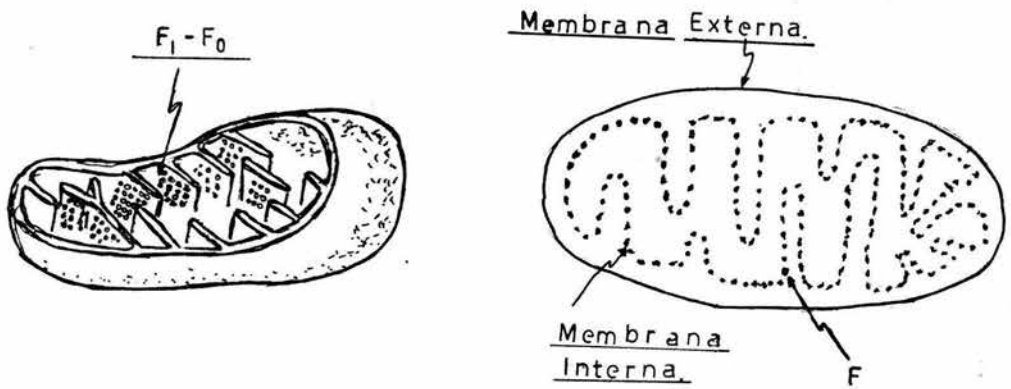


Fig. 1.

En la mitocondria, los átomos de hidrógeno eliminados de los diversos sustratos por la acción de deshidrogenasas, donan sus electrones a la cadena transportadora de electrones, la cual los transfiere al oxígeno molecular, reduciendolos a agua. La energía liberada en el transporte de electrones es utilizada para la fosforilación oxidativa de ADP a ATP, proceso que se verifica en la membrana interna de la mitocondria.

Los equivalentes reductores provenientes de la deshidrogenación del NADH, son transferidos a la NADH deshidrogenasa, que contiene FMN como grupo prostético. Posteriormente son transferidos a la ubiquinona que, a su vez, los dona al citocromo b. Los electrones son transportados sucesivamente por citocromo c_1 y c para llegar al citocromo aa_3 (citocromo oxidasa) que contiene cobre. La citocromo oxidasa requiere 4 electrones y cuatro H^+ , para reducir el O_2 completamente a dos H_2O . El transporte de electrones puede ser inhibido por rotenona, antimicina A y cianuro. La gran disminución de energía libre del transporte de electrones es retenida por tres sitios, que conservan la energía en la cadena respiratoria; cada uno de ellos es capaz de generar ATP a partir de ADP y P_i . La fosforilación oxidativa puede ser desacoplada del transporte de electrones por agentes específicos o por ionóforos como la valinomicina. La teoría quimio-osmótica de la fosforilación oxidativa propone la creación de un gradiente de H^+ , que es generado a través de la membrana interna por el transporte de electrones, lo cual conduce a la formación de ATP mediante la participación de la ATPasa F_0-F_1 en la matriz mitocondrial.

Fig. 2. La fosforilación oxidativa acopla la liberación de energía procedente de moléculas derivadas de hidratos de carbono y de lípidos con la síntesis de ATP. En las células nucleadas, la fosforilación oxidativa tiene lugar sólo en las mitocondrias. Los electrones y los protones procedentes de diversos sustratos son conducidos através de la cadena respiratoria por una serie de reacciones enzimáticas hasta alcanzar al oxígeno, que de cierta forma es reducido a agua.



MITOCONDRIA

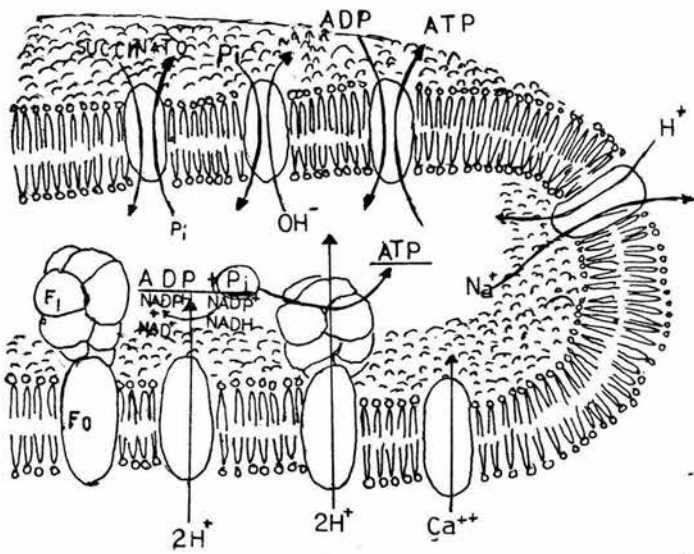


Fig. 2.

Fig. 3. Durante el transporte de electrones en la cadena respiratoria se inician mecanismos que inducen la transferencia de H^+ del lado interno de las mitocondrias hacia el exterior (espacio intermembranal). De esta forma la energía de los procesos oxidativos se transforman en la energía de un gradiente electroquímico. A esta última la capta la llamada ATPsintetasa o ATPasa de H^+ y la utiliza para promover la unión entre el fosfato inorgánico (P_i) y ADP, y formar ATP.

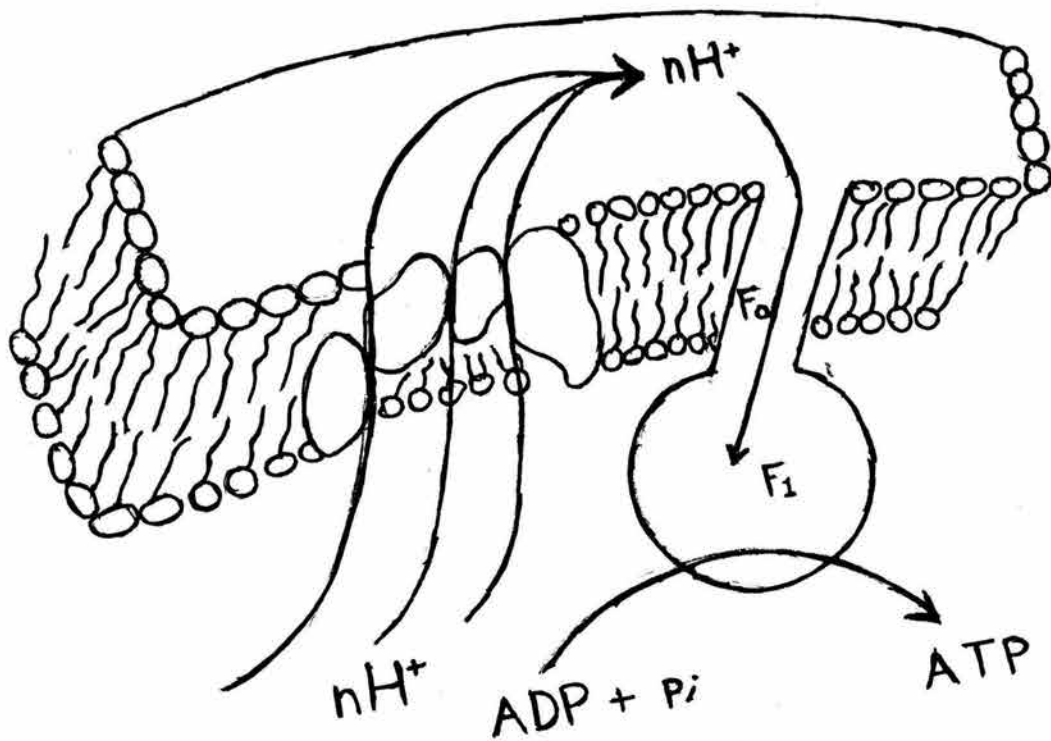
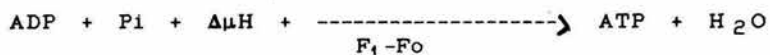


Fig. 3.

F₀ - F₁ - ATPasa

Este complejo enzimático está formado por una parte hidrófoba membranal, denominada F₀, por ser el sitio de interacción del inhibidor oligomicina, y por una parte hidrofílica, fácilmente desprendible de la membrana interna mitocondrial, denominada F₁. El complejo F₁-F₀ cataliza la siguiente reacción:



La F₁-ATPasa, esto es, la parte hidrofílica, ha sido purificada a partir de mitocondrias de diferentes tejidos de mamíferos así como también de cloroplastos, bacterias como *E. coli* y de hongos como levadura y *Neurospora*. El peso molecular de ésta enzima que casi no varía entre las especies examinadas, es de 3-4 x 10³ Kdaltones y está formada por 5 subunidades diferentes, denominadas α , B, γ , δ , ϵ . La estequiometría de las subunidades es todavía motivo de controversia, pero las principales alternativas son: α_2 B₃ y α_2 B₂ γ -2 δ 2 ϵ . En mitocondrias de mamíferos existe una sexta subunidad, la cual se disocia fácilmente del complejo F₁; ésta subunidad es conocida como el inhibidor de la F₁-ATPasa y tiene un peso molecular de aproximadamente 10 000 daltones.

El sector membranal hidrofílico del complejo ATPasa, el complejo F₁, está formado por tres subunidades, que tienen pesos moleculares de 19 kDa, 13.5 kDa y una subunidad pequeña, un proteolípido de 7.3 kDa. La estequiometría de estas subunidades es 1:2. 4:3.4.

Entre el sector membranal hidrófobo F_o y el sector hidrofílico F_1 (Fig. 3, 4), se encuentra un puente proteico de unión, formado por dos subunidades distintas. Una proteína, formada por 190 aminoácidos, que pesa 21 kDa y que le confiere al sistema de ATPasa, sensibilidad al inhibidor oligomicina. Este péptido es conocido por sus siglas en inglés como OSCP (oligomycin sensitivity conferring protein), y el factor de acoplamiento 6, que pesa 8kDa y se requiere para la unión de la F_1 al sector F_o .

Propiedades funcionales de las subunidades del complejo F_o - F_1 -ATPasa

El conocimiento que se tiene del papel fisiológico de las distintas subunidades del complejo F_oF_1 -ATPasa, ha sido obtenido gracias a la utilización de análogos estructurales del ADP y ATP, los cuales no pueden ser transformados enzimáticamente, y al uso de reactivos marcados, que se fijan firmemente a las distintas regiones del complejo e inhiben su actividad.

Utilizando un derivado dialdehídico del ATP, el Dial-ATP, que se une a la subunidad B de la porción F_1 del complejo, se demostró que es en esta subunidad en donde se encuentra localizado el sitio activo de la enzima.

Con reactivos modificadores de grupos químicos funcionales se ha logrado establecer un esquema del sitio catalítico de la subunidad B y los residuos de aminoácidos que lo conforman, que son esenciales para la síntesis e hidrólisis de ATP.

De esta manera se sabe que el grupo guanidino del aminoácido arginina, la región aromática de la tirosina, el grupo $-\text{NH}_3^+$ de la lisina y dos grupos carboxilo, probablemente del glutámico o aspártico, intervienen en la fijación del substrato a la enzima.

La utilización de las moléculas semejantes en estructura a ADP y ATP, permitió también conocer que en la subunidad α existen sitios de fijación para estos nucleótidos, que sirven para la regulación de la síntesis del ATP.

Con base en estudios de reconstrucción del complejo F_1-F_0 a partir de subunidades aisladas, se ha establecido que la subunidad δ del componente F_1 -ATPasa sirve como valvula selladora para impedir que los H^+ se fuguen (y en consecuencia se pierda energía) cuando no se está formando ATP. La subunidad γ es probablemente la responsable, a través de cambios conformacionales, de producir el cierre y la apertura del canal. La síntesis del ATP se lleva a cabo como un trabajo conjunto entre las subunidades α y β .

El sector membranal del complejo, el F_0 , además de servir de unión de la F_1 a la membrana, funciona como tunel para el paso de H^+ a través de ella. La estructura del tunel está constituida por 4 a 6 subunidades del proteolípido de peso molecular de 7000; esta estequiometría ha sido obtenida mediante el marcaje isotópico de las subunidades de la F_0 con diciclo-hexilcarbodimida radiactiva (^{14}C -DCCD). Este reactivo, modificador de grupos carboxilo, bloquea completamente el canal de H^+ y se fija a un residuo de $-\text{COO}^-$ del aminoácido glutámico que se encuentra localizado hacia la mitad del canal.

La oligomicina, inhibidor de la fosforilación oxidativa, también tiene su sitio de acción en el proteolípido e impide el paso de H^+ por fijarse a una región muy hidrófoba, que se localiza aproximadamente a 6 residuos de aminoácidos del sitio de fijación del CDDC.

Finalmente de todas estas observaciones lo que emerge es una imagen muy compleja de un sistema proteico que tiene que funcionar entre las dos fases de una membrana, con el único propósito de conservar y transformar la energía de un gradiente a energía química.

Fig. 4. Esquema de la ATPasa mitocondrial. El dibujo ilustra una de las ideas de cómo están colocadas las subunidades que componen a la enzima responsable de formar ATP con la energía del gradiente electroquímico. La función de las distintas subunidades se describe en el texto. I es la proteína inhibidora y que actúa como regulador de la función de la enzima.

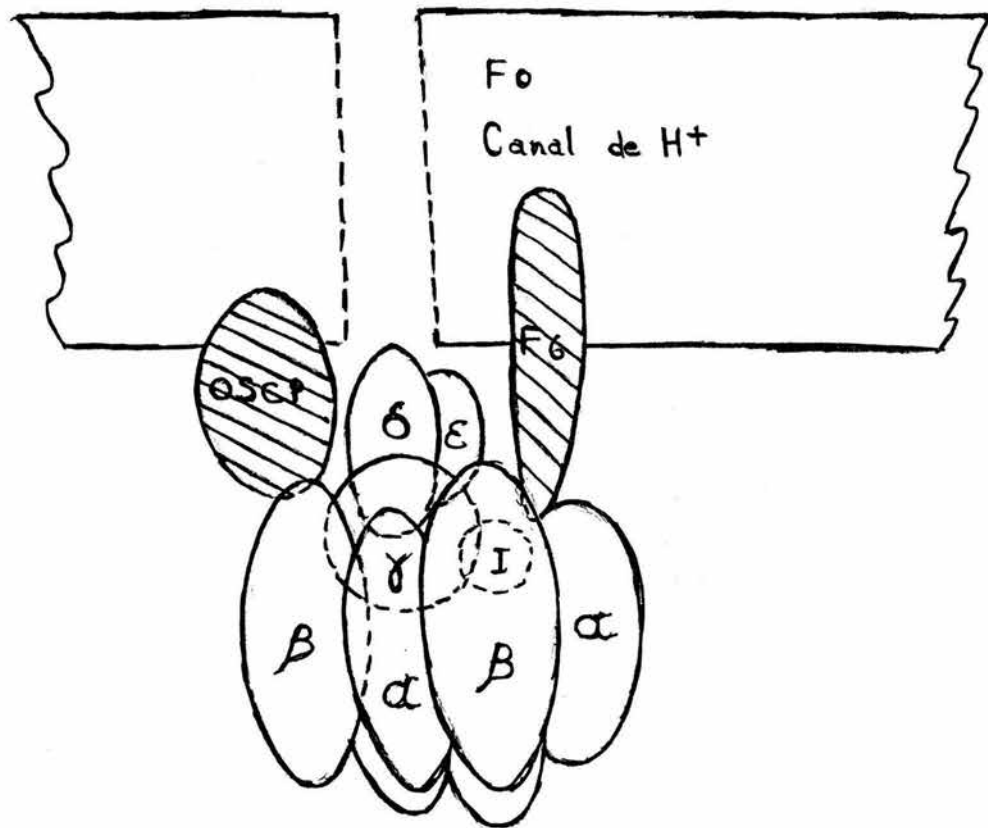


Fig. 4.

JUSTIFICACION

Y OBJETIVOS

Todo lo anterior se traduce en términos generales, y sabiendo que a lo largo de un manglar y en particular dentro de un estero se propicia un gradiente de salinidad natural (Fig. 5 y Fig. 6), y considerando que los mangles son árboles propios de los litorales tropicales, los cuales desarrollan su ciclo de vida en medio hidrosalino fluctuante (halófitas), el poseer una extraordinaria facultad de adaptación al mismo medio, su distribución característica en un gradiente salino natural, su elevada productividad fotosintética; así ante tal perspectiva y en vista de el desconocimiento de los mecanismos que propician esa elevada productividad, así como la falta de información de los mecanismos de adaptación bioquímica de los mangles a la salinidad; son las principales razones por las cuales en éste trabajo se plantean los siguientes objetivos:

- 1.- Evaluar y comparar las actividades ATPasa mitocondrial y microsomal de tres especies de mangle durante un ciclo anual.
- 2.- Comparar el comportamiento de ATPasa mitocondrial y microsomal de cada especie en relación al gradiente salino natural del estero de Tecolutla-Veracruz.
- 3.- Evaluar las actividades de ésta enzima en función de la concentración de NaCl en el medio de ensayo (mezcla de reacción enzimática) y observar las diferencias de comportamiento de ATPasa de cada especie con respecto a su ubicación dentro del estero (Fig. 6) .

ZONA DE ESTUDIO
=====

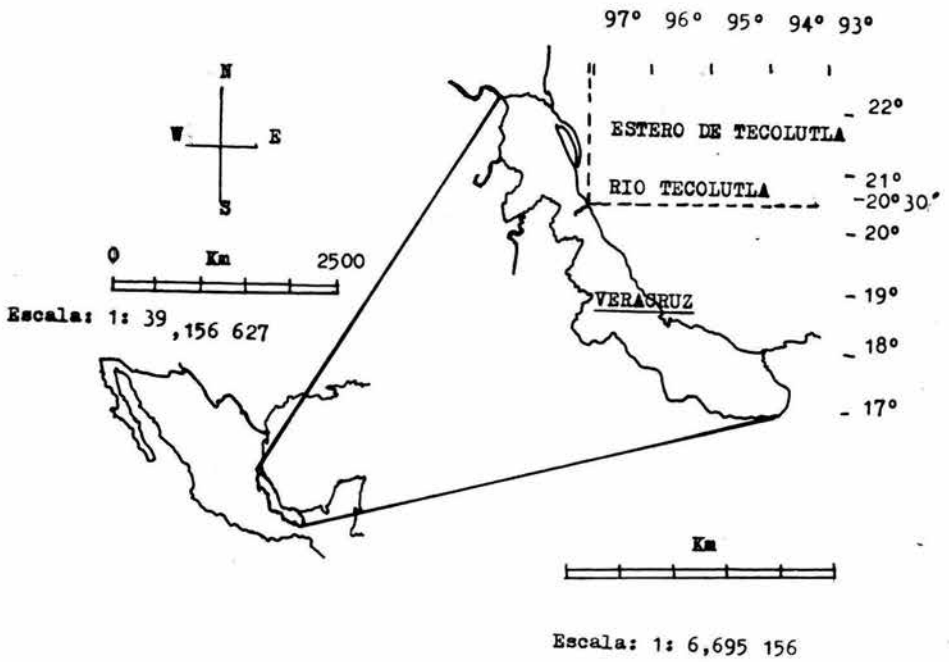


Fig. 5.

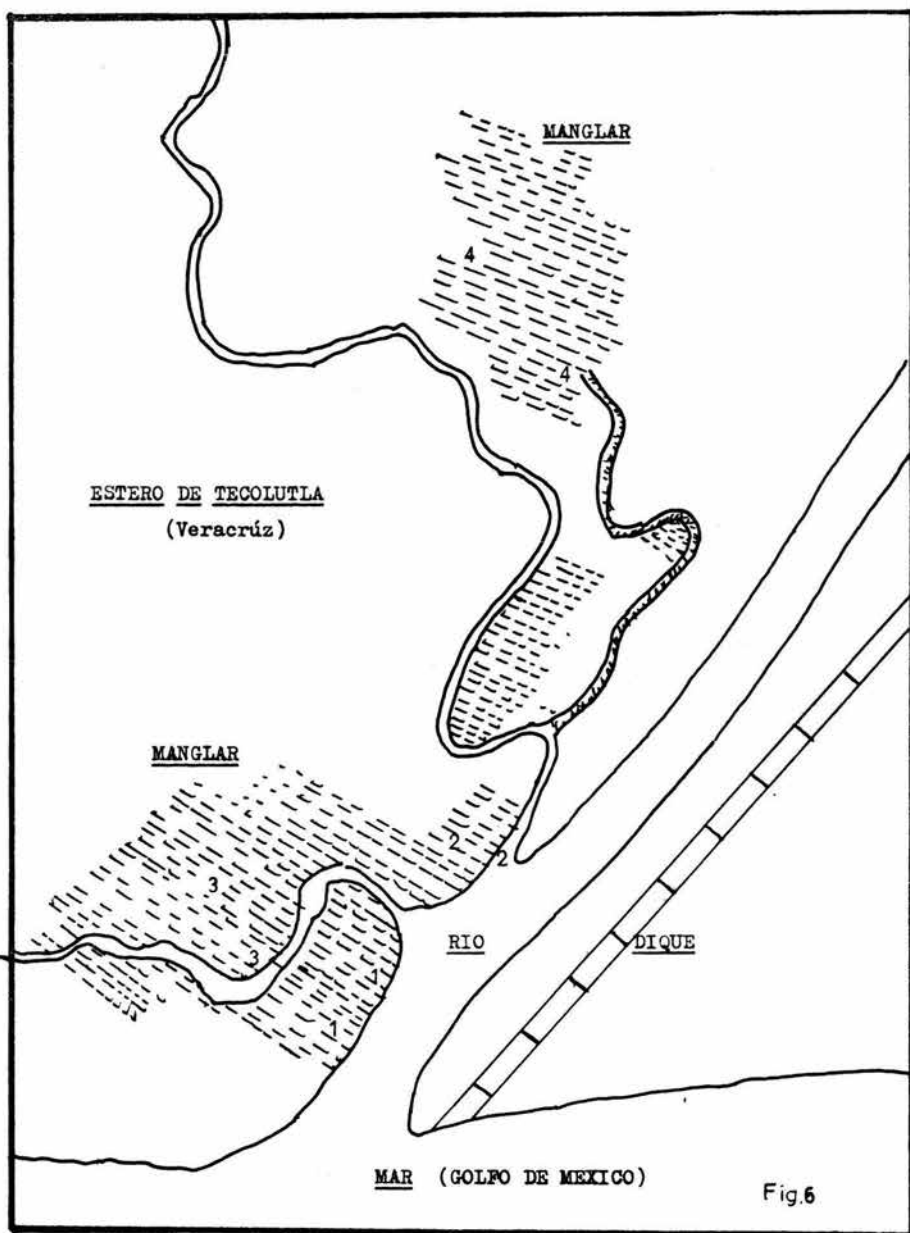


Fig.6

MATERIAL Y

METODOS

Se ubicaron cuatro estaciones de muestreo mediante el análisis previo de similitudes en composición florística y disimilitudes edáficas (ubicación edáfica de las especies de mangle estudiadas) (Fig. 6) (71, 72).

En cada estación se estableció un transecto partiendo del borde del estero y corriendo en dirección perpendicular a éste, tierra adentro. En cada transecto se delimitaron aproximadamente cuatro cuadrantes de 10 x 10 metros, separados entre si por una distancia de 20 metros.

En cada estación se tomarón dos muestras de agua intersticial, cada una correspondiente a la zona de abundancia de cada especie vegetal (de mangle), para su posterior cuantificación de cationes (Na^+ y K^+).

De las mismas zonas se colectarón tres muestras de aproximadamente 2 Kg de hojas por especie. Las hojas se tomarón de los extremos apicales de las ramas de árboles diferentes. Las hojas de las especies Rhizophora mangle, Avicennia germinans y Laguncularia racemosa se colectarón mensualmente durante un año como material de estudio y se colocaron en bolsas de plástico, las que se pusieron en charolas con hielo, para ser transportadas al laboratorio de la escuela (E.N.E.P-IZTACALA), donde se guardarón en refrigeración entre 4 y 5° C para su procesamiento y análisis.

Las hojas colectadas se lavarón con agua de la llave para remover las partículas gruesas de suelo y posteriormente se lavarón al menos dos veces con agua destilada fría (4 C).

A 75 g de hojas se les removió la nervadura central y se cortaron en fragmentos de aproximadamente dos centímetros. Las operaciones posteriores se llevaron a cabo entre 0 y 4° C.

Una vez cortadas las hojas se les añadió medio de homogeneización (0.3M de Manitol, 1mM de EDTA, 0.05% de cisteína, 0.3% de PVP, 0.05% de BSA; pH ajustado entre 7.2 a 7.4). Los fragmentos de hojas juntos con el medio (volumen 1:1) se colocaron en una licuadora (capacidad de 750 ml), la homogeneización se realizó en un rango de 15 a 20 segundos, posteriormente en ésta etapa el pH de la mezcla (tejido-medio), se mantuvo entre 7.2 a 7.4 por goteo adicional de KOH 10 N. El homogenizado resultante se filtró a través de ocho capas de gasa. El filtrado se sometió a centrifugación diferencial (Fig. 7 y Fig. 8).

La pastilla mitocondrial se colectó después de centrifugar a 500 x g (10 minutos) y 12,000 x g (15 minutos). (Fig. 8). El sedimento de la primera centrifugación se descartó (celulas enteras, membranas celulares, núcleos), la pastilla (mitocondrias) de la centrifugación alta (12,000 x g) se resuspendió y se le añadió más o menos 30 ml de medio de lavado (0.3 M de Manitol, 0.1 mM de EDTA, 0.025% de PVP, 0.1% de BSA pH entre 7.2 a 7.4), después se realizó una nueva centrifugación a velocidad baja 500 x g (10 minutos) y otra a velocidad alta 6,000 x g (15 minutos). La pastilla resultante se resuspendió en un pequeño volumen con medio de lavado (volumen 1:1), en seguida se agregó más medio de lavado (aproximadamente 30 ml), y se realizó una última centrifugación a 6,000 x g (15 minutos), la superficie de la

Fig. 7. Esquema general que ilustra la metodología utilizada en en presente trabajo.

MEDIO NATURAL DE CRECIMIENTO DE LOS MANGLES

AGUA INTERSTICIAL

CUANTIFICACION DE CATIONES

(Na⁺ ; K⁺)

HOJAS DE MANGLE

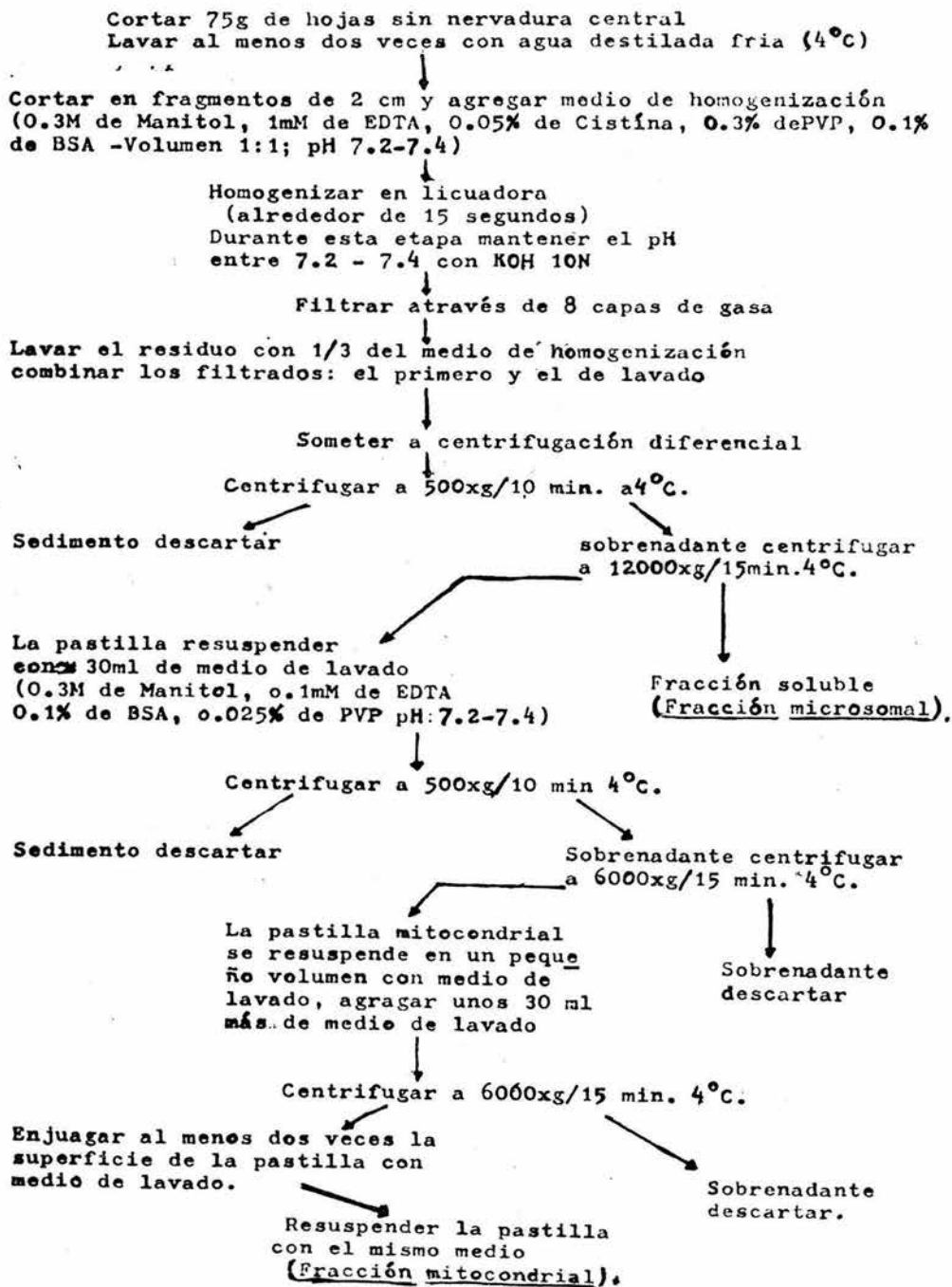
PREPARACION DEL EXTRACTO

CUANTIFICACION DE PROTEINA ← AISLAMIENTO DE FRAC. MIT. DE AISLAMIENTO DE FRAC. MICRO. DE CUANTIFICACION DE PROTEINA →

MEDICION DE LA
ACTIVIDAD DE ATPasa
(CUANTIFICACION DE Pi.)

CONDICIONES NECESARIAS PARA EL AISLAMIENTO DE

MITOCONDRIAS VEGETALES



pastilla mitocondrial se lavó al menos dos veces con medio de "lavado" para remover el material amarillo que sedimentó sobre la parte superior de la pastilla. El paquete mitocondrial finalmente se resuspendió en el mismo medio (medio de lavado) (17, 32, 33).

La determinación de proteína se realizó por el método escrito por Bradford (2).

El consumo de oxígeno por las mitocondrias de mangle (*Rhizophora mangle*) se realizó polarográficamente con un electródo para O_2 Clark. Las mitocondrias de mangle se agregaron a 0.9 ml de medio de reacción estandard (Sacarosa 0.25 M, KH_2PO_4 10 mM, $MgCl_2$ 5 mM pH=7.2); posteriormente se agregó Succinato 50 mM y ADP 10 mM (para observar la relación entre el estado 3 y el estado 4 de la respiración mitocondrial).

La actividad ATPasa para ambas fracciones (mitocondrial y microsomal - frac. soluble), se determinó cuantificando el fósforo inorgánico (Pi) de la hidrólisis del ATP, según el método de Taussky y Shorr (65).

Las condiciones para el ensayo de actividad de ATPasa se determinó en un sistema de reacción que contenía: Tris-HCl 25mM pH 8.0 - 8.5 (pH 6.5 *), $CaCl_2$ 2.0 mM, ATP 2.5 mM, NaCl desde 0.0 a 400 mM y 0.1 ml de cada fracción (por separado) obtenida **. El volumen de reacción total fue de un mililitro, el cual se completó con agua destilada. Posteriormente la mezcla de reacción se incubó una temperatura de $30^{\circ}C$ por un período de 30 minutos y después la reacción enzimática se detuvo por adición de 0.2 ml de TCA al 50% frío (31, 64).

Después se realizó una centrifugación a 2,500 x g durante 12 minutos y posteriormente se cuantificó por espectrofotometría el fósforo inorgánico por el método de Taussky y Shorr (65).

Los resultados obtenidos son al menos de dos repeticiones y se reportan en μ moles de Pi/ mg de Prot/ hr.

*En ensayos posteriores hemos observado que la mayor actividad de ATPasa para ambas fracciones (mitocondrial y microsomal) es a pH de 6.5.

**La suspensión final (proteína mitocondrial) contenía de 2 a 4 mg de proteína por mililitro (17, 32, 33).

La fracción microsomal (frac. soluble) contenía también entre 2 a 5 mg de proteína por mililitro (17, 32, 33).

Para la interpretación y análisis de resultados se aplicarán dos pruebas estadísticas: Una anova 2 factores y una anova 3 factores (71, 72).

- (a) [NaCl]-----A
- (b) Especies de mangle estudiadas-----B
- (c) Estaciones edafológicas-----C

Esto se refiere a las variables en las que estamos interesados como factores (71, 72).

Para el análisis de Varianza 2 factores y análisis de Varianza 3 factores con repetición se utilizarón la siguiente secuencia de fórmulas:

$$\sum_i \sum_j \sum_k X^2_{ijk} = (\text{Factores manejados}).$$

$$S C_{total} = \sum_i \sum_j \sum_k X^2_{ijk} - \frac{(T_{...})^2}{N} =$$

$$S C_A = \sum_i \frac{(\sum_j \sum_k X_{ijk})^2}{n_i} - \frac{(T_{...})^2}{N} =$$

$$S C_B = \sum_j \frac{(\sum_i \sum_k X_{ijk})^2}{n_j} - \frac{(T_{...})^2}{N} =$$

$$S C_A = \frac{\sum_i (\sum_j \sum_k x_{ijk})^2}{jk} - \frac{(\sum_{i,j,k} x_{ijk})^2}{N} =$$

$$S C_B = \frac{\sum_j (\sum_i \sum_k x_{ijk})^2}{ik} - \frac{(\sum_{i,j,k} x_{ijk})^2}{N} =$$

$$S C_C = \frac{\sum_k (\sum_i \sum_j x_{ijk})^2}{ij} - \frac{(\sum_{i,j,k} x_{ijk})^2}{N} =$$

INTERACCION ENTRE FACTORES

$$S C_{AB} = \frac{\sum_i \sum_j (\sum_k x_{ijk})^2}{kjkik} - \frac{\sum_i (\sum_j \sum_k x_{ijk})^2}{jk} - \frac{\sum_j (\sum_i \sum_k x_{ijk})^2}{ik}$$

$$+ \frac{(\sum_{i,j,k} x_{ijk})^2}{N} =$$

$$S C_{AC} = \frac{\sum_i \sum_k (\sum_j x_{ijk})^2}{jjkij} - \frac{\sum_i (\sum_j \sum_k x_{ijk})^2}{jk} - \frac{\sum_k (\sum_i \sum_j x_{ijk})^2}{ij}$$

$$+ \frac{(\sum_{i,j,k} x_{ijk})^2}{N} =$$

$$S C_{BC} = \frac{\sum_j \sum_k (\sum_i x_{ijk})^2}{iikij} - \frac{\sum_j (\sum_i \sum_k x_{ijk})^2}{ik} - \frac{\sum_k (\sum_i \sum_j x_{ijk})^2}{ij}$$

$$+ \frac{(\sum_{i,j,k} x_{ijk})^2}{N} =$$

TRIPLE INTERACCION

$$\begin{aligned}
 S C_{ABC} = & \sum_i \sum_j \sum_k x_{ijk}^2 - \frac{\sum_i \sum_j (\sum_k x_{ijk})^2}{kj} - \frac{\sum_i \sum_k (\sum_j x_{ijk})^2}{kj} - \\
 & \frac{\sum_j \sum_k (\sum_i x_{ijk})^2}{i} + \frac{\sum_i (\sum_j \sum_k x_{ijk})^2}{jk} - \frac{\sum_j (\sum_i \sum_k x_{ijk})^2}{ik} + \\
 & \frac{\sum_k (\sum_i \sum_j x_{ijk})^2}{ij} - \frac{(\sum_{i,j,k} x_{ijk})^2}{N} =
 \end{aligned}$$

$$S C_{error} = S C_{total} - S C_A - S C_B - S C_{AB} =$$

$$S C_{error} = S C_{total} - S C_A - S C_B - S C_C - S C_{AB} - S C_{AC} -$$

$$S C_{BC} - S C_{ABC} =$$

Los detalles de cálculo para la anova 2 factores y anova 3 factores con repetición en su forma más práctica de cómputo se muestra en los **Apendices C y D** (en lenguaje basic).

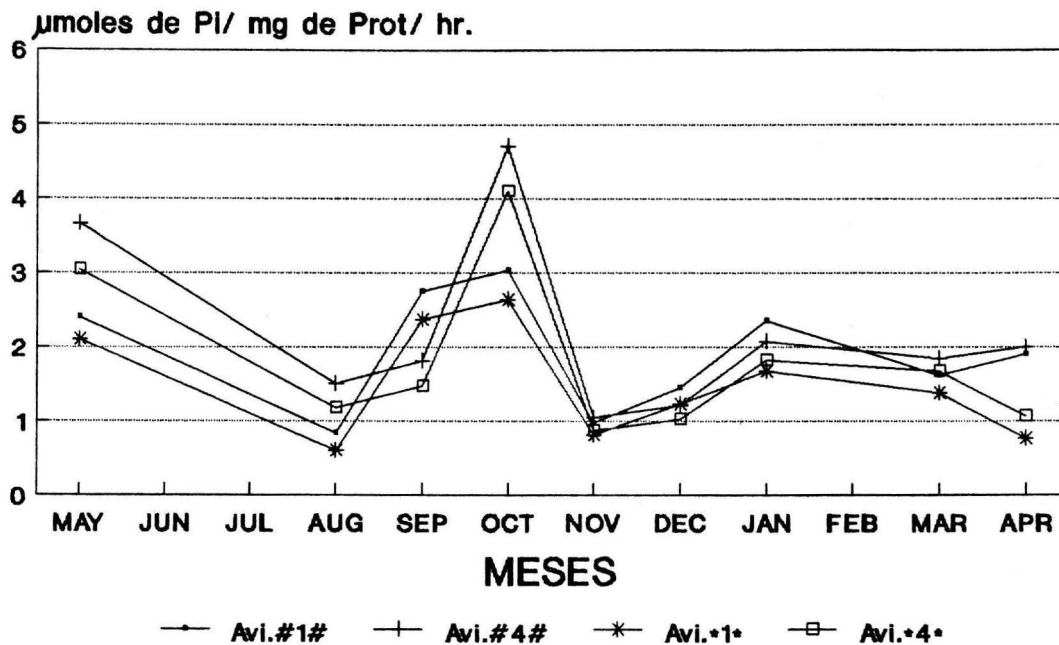
RESULTADOS

Fig. 9. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans* (Frac. Mitocondrial) en función del tiempo (Meses); a dos concentraciones diferentes de NaCl ([0.0] mM y [400] mM de NaCl).

ACTIVIDAD DE ATPasa

Avicennia germinans.

Frac. Mitocondrial.

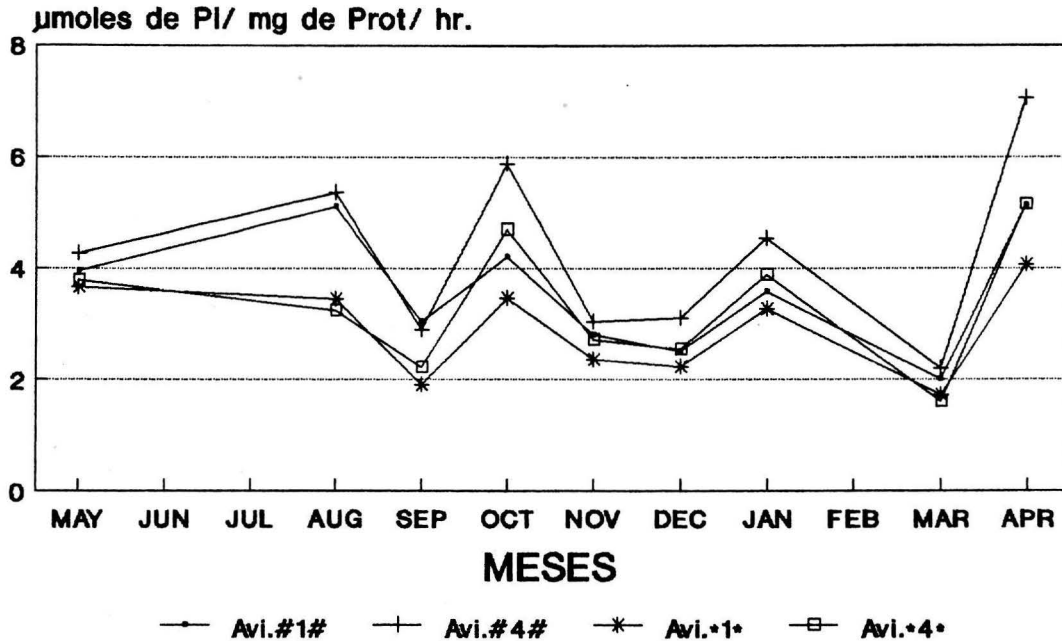


[0.0]mM de NaCl.
 * * [400]mM de NaCl.

Fig. 10. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi. / mg de Prot. / hr.) de *Avicennia germinans* (Frac. Microsomal) en función del tiempo (Meses); a dos concentraciones diferentes de NaCl ([0.0] mM y [400] mM de NaCl).

ACTIVIDAD DE ATPasa

Avicennia germinans.
Frac. Microsomal (Frac. Soluble).



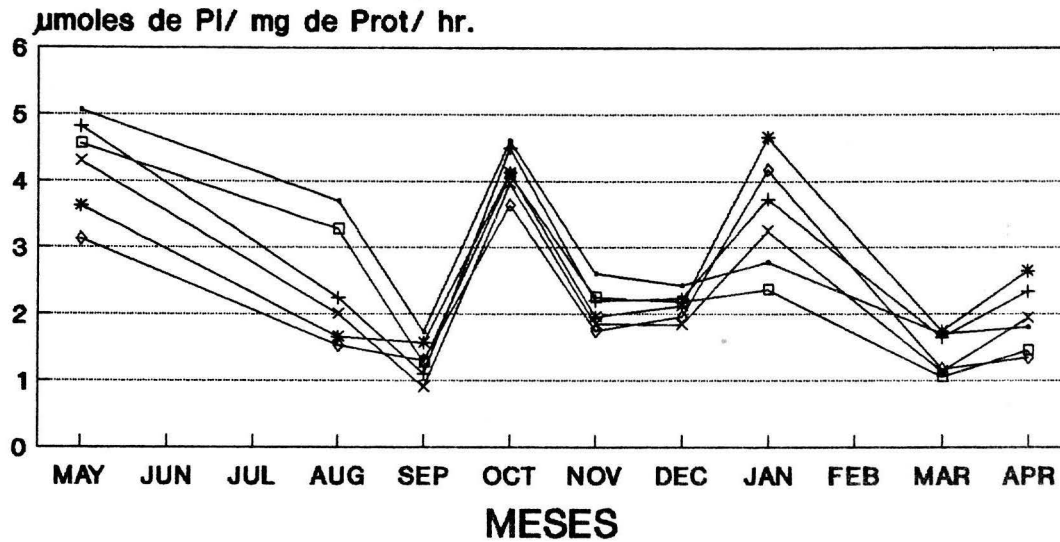
[0.0]mM de NaCl.
* * [400]mM de NaCl.

Fig. 11. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Rhizophora mangle* (Frac. Mitochondrial) en función del tiempo (Meses); a dos concentraciones diferentes de NaCl ([0.0] mM y [400] mM de NaCl).

ACTIVIDAD DE ATPasa

Rhizophora mangle.

Frac. Mitocondrial.



— Rhiz.#2# —+ Rhiz.#3# —* Rhiz.#4# —□ Rhiz.#2*

—x Rhiz.#3* —◇ Rhiz.#4*

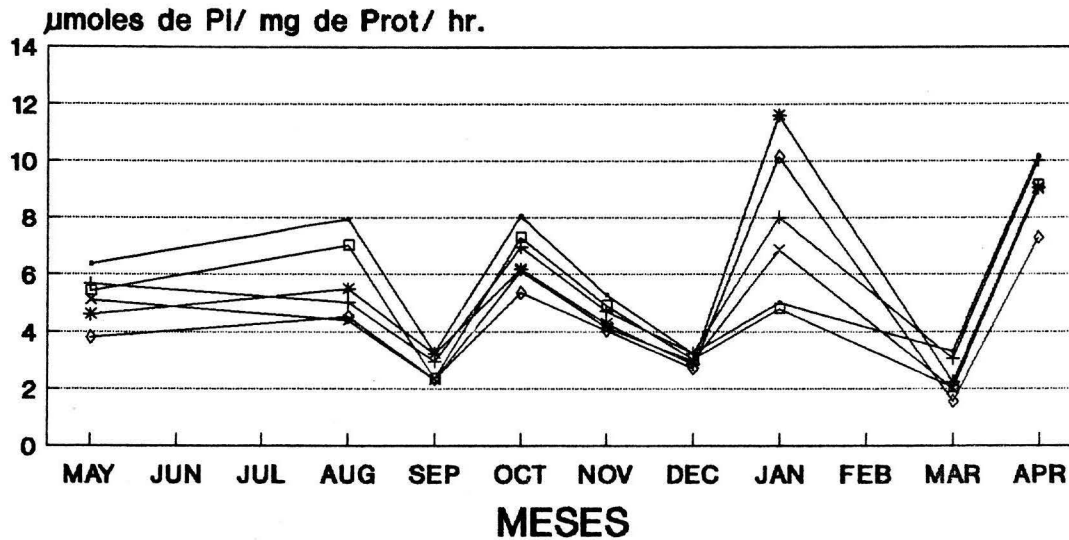
[0.0]mM de NaCl.
 * * [400]mM de NaCl.

Fig. 12. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Rhizophora mangle* (Frac. Microsomal) en función del tiempo (Meses); a dos concentraciones diferentes de NaCl ([0.0] mM y [400] mM de NaCl).

ACTIVIDAD DE ATPasa

Rhizophora mangle.

Frac. Microsomal (Frac. soluble).



—●— Rhiz.#2# —+— Rhiz.#3# —*— Rhiz.#4# —□— Rhiz.*2*
 —×— Rhiz.*3* —◇— Rhiz.*4*

[0.0]mM de NaCl.
 * * [400]mM de NaCl.

Fig. 13. Efecto observado por el incremento de la concentración de Na^+ (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) sobre la actividad de ATPasa (expresada en $\mu\text{moles de Pi.} / \text{mg de Prot.} / \text{hr.}$) de hojas de *Avicennia germinans* (Frac. Mitocondrial).

ACTIVIDAD DE ATPasa

Avicennia germinans.
Frac. Mitocondrial.

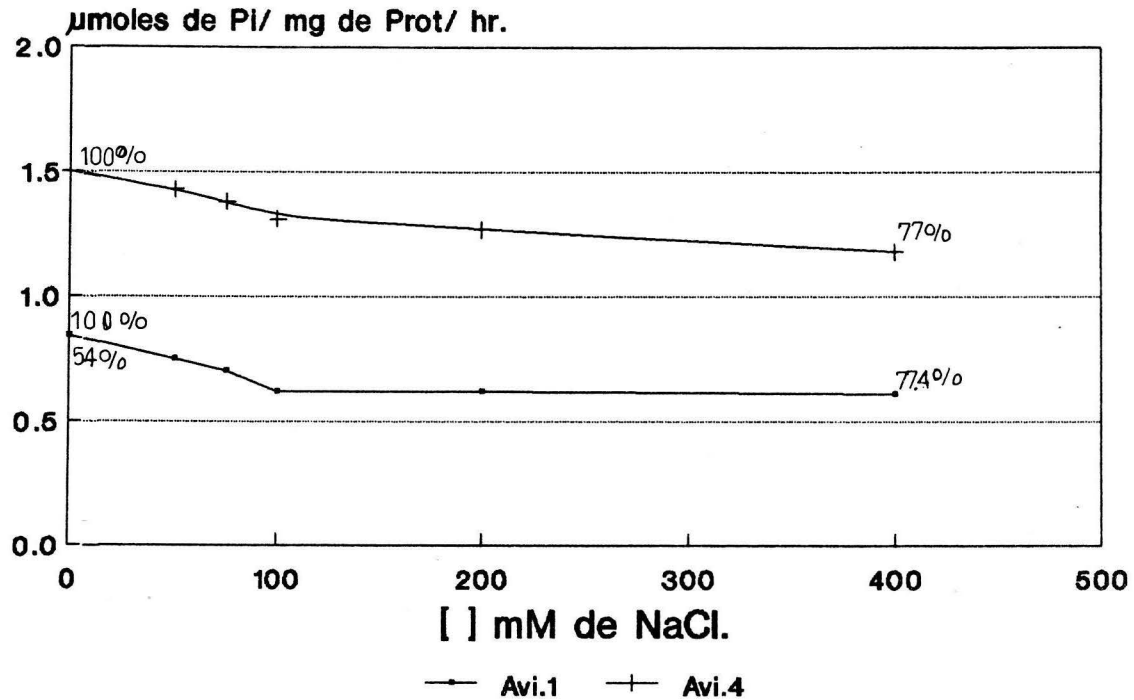


Fig. 14. Efecto observado por el incremento de la concentración de Na^+ (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) sobre la actividad de ATPasa (expresada en $\mu\text{moles de Pi.} / \text{mg de Prot.} / \text{hr.}$) de hojas de *Avicennia germinans* (Frac. Microsomal (Frac. soluble)).

ACTIVIDAD DE ATPasa
Avicennia germinans.
Frac. Microsomal (Frac. Soluble).

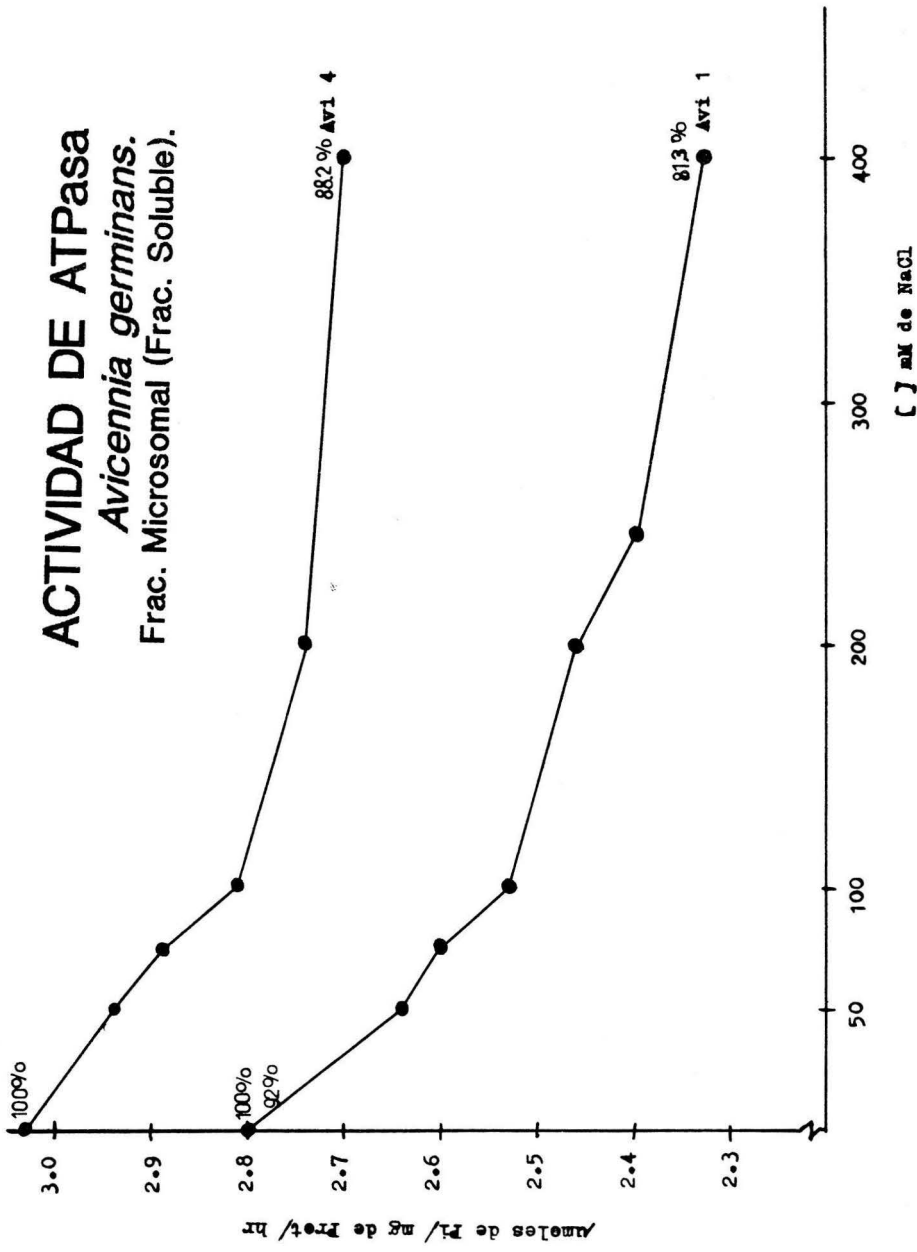


Fig. 15. Efecto observado por el incremento de la concentración de Na^+ (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) sobre la actividad de ATPasa (expresada en $\mu\text{moles de Pi.} / \text{mg de Prot.} / \text{hr.}$) de hojas de *Rhizophora mangle* (Frac. Mitocondrial).

ACTIVIDAD DE ATPasa

Rhizophora mangle
Frac. Mitocondrial.

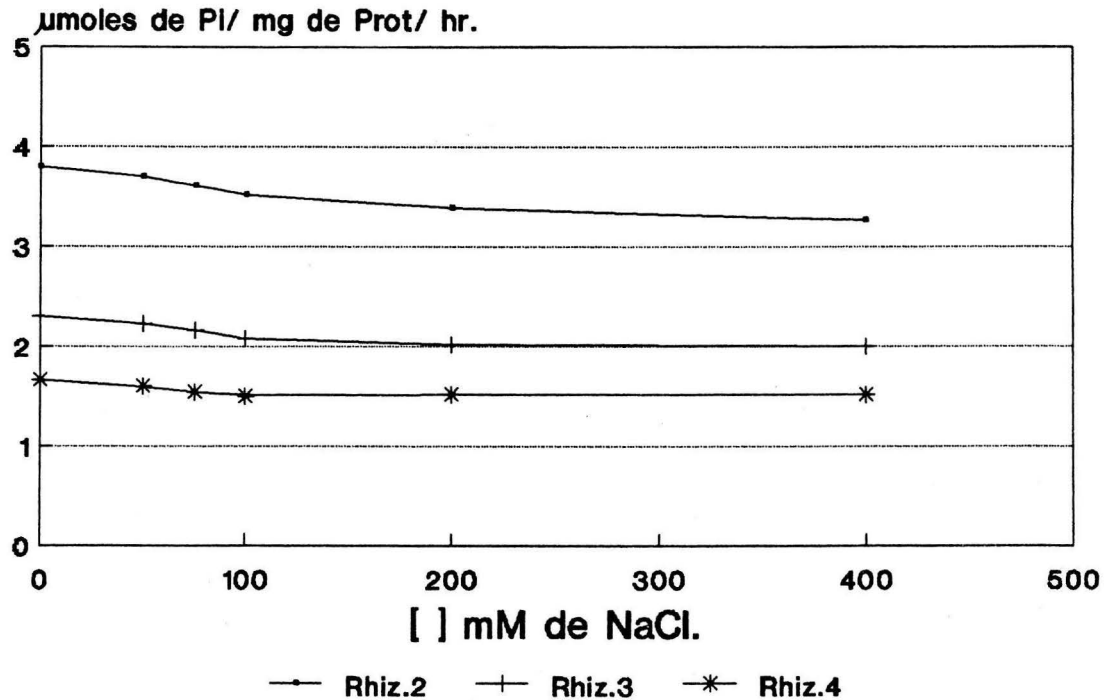


Fig. 16. Efecto observado por el incremento de la concentración de Na^+ (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) sobre la actividad de ATPasa (expresada en $\mu\text{moles de Pi.} / \text{mg de Prot.} / \text{hr.}$) de hojas de *Rhizophora mangle* (Frac. Microsomal (Frac. soluble)).

ACTIVIDAD DE ATPasa
Rhizophora mangle.
Frac. Microsomal (Frac. soluble).

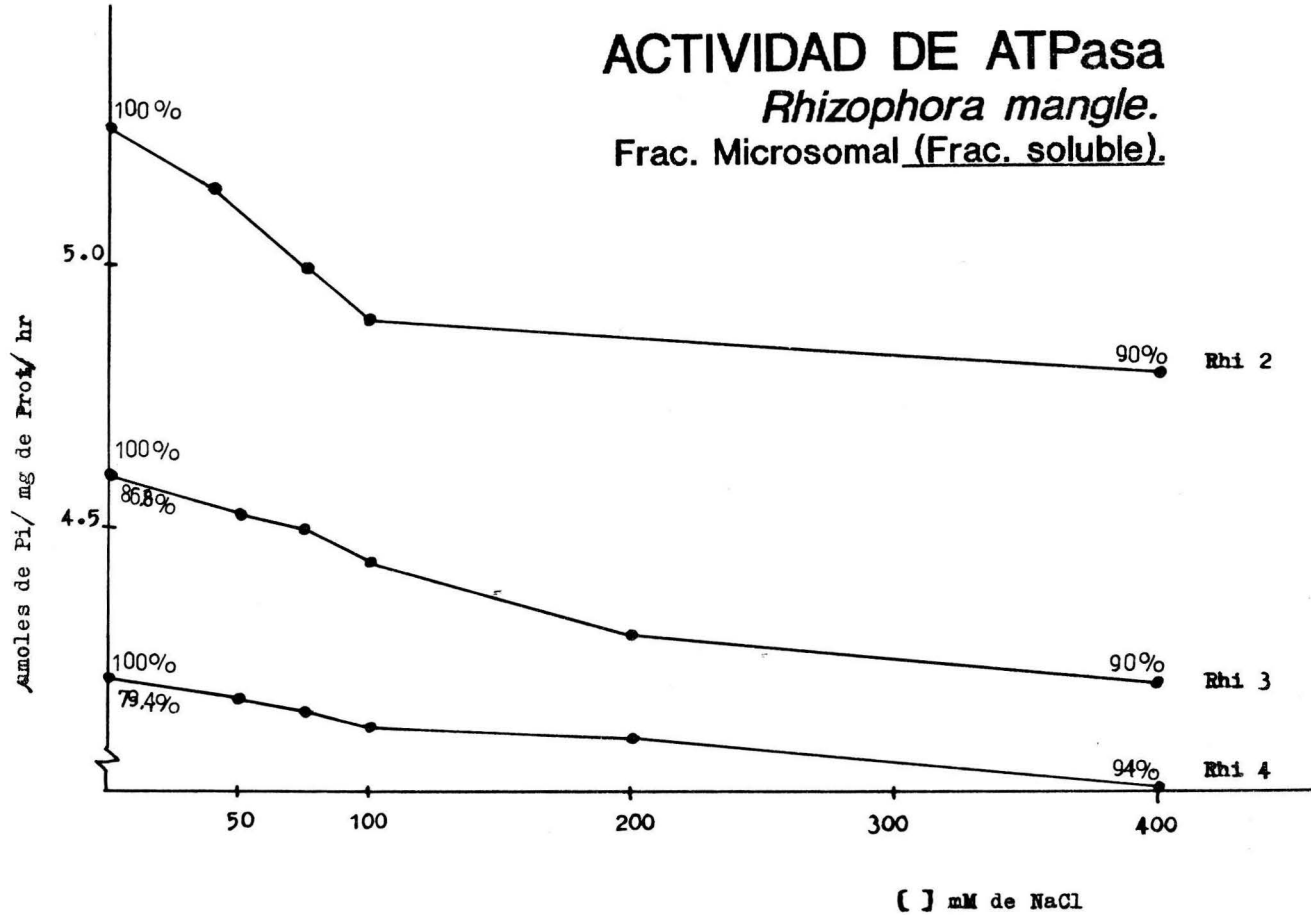


Fig. 17. Efecto observado por el incremento de la concentración de Na^+ (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) sobre la actividad de ATPasa (expresada en $\mu\text{moles de Pi.} / \text{mg de Prot.} / \text{hr.}$) de hojas de *Laguncularia racemosa* (Frac. Mitocondrial).

ACTIVIDAD DE ATPasa

Laguncularia racemosa.
Frac. Mitocondrial.

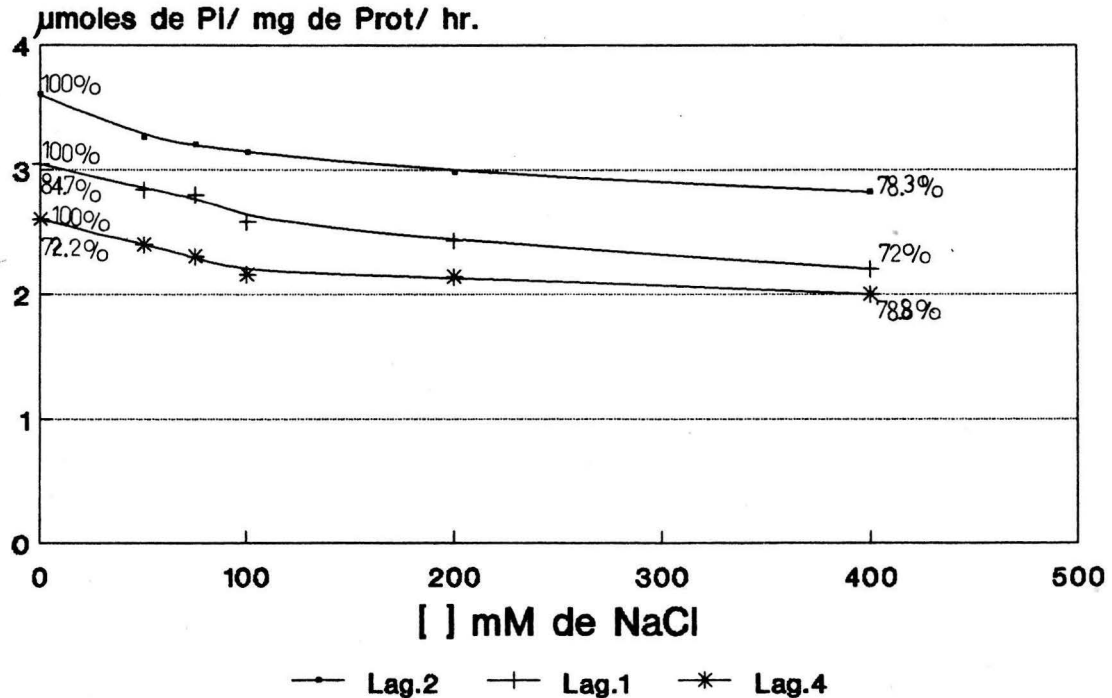


Fig. 18. Efecto observado por el incremento de la concentración de Na^+ (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) sobre la actividad de ATPasa (expresada en $\mu\text{moles de Pi.} / \text{mg de Prot.} / \text{hr.}$) de hojas de *Laguncularia racemosa* (Frac. Microsomal (Frac. soluble)).

ACTIVIDAD DE ATPasa

Laguncularia racemosa.
Frac. Microsomal (Frac. Soluble).

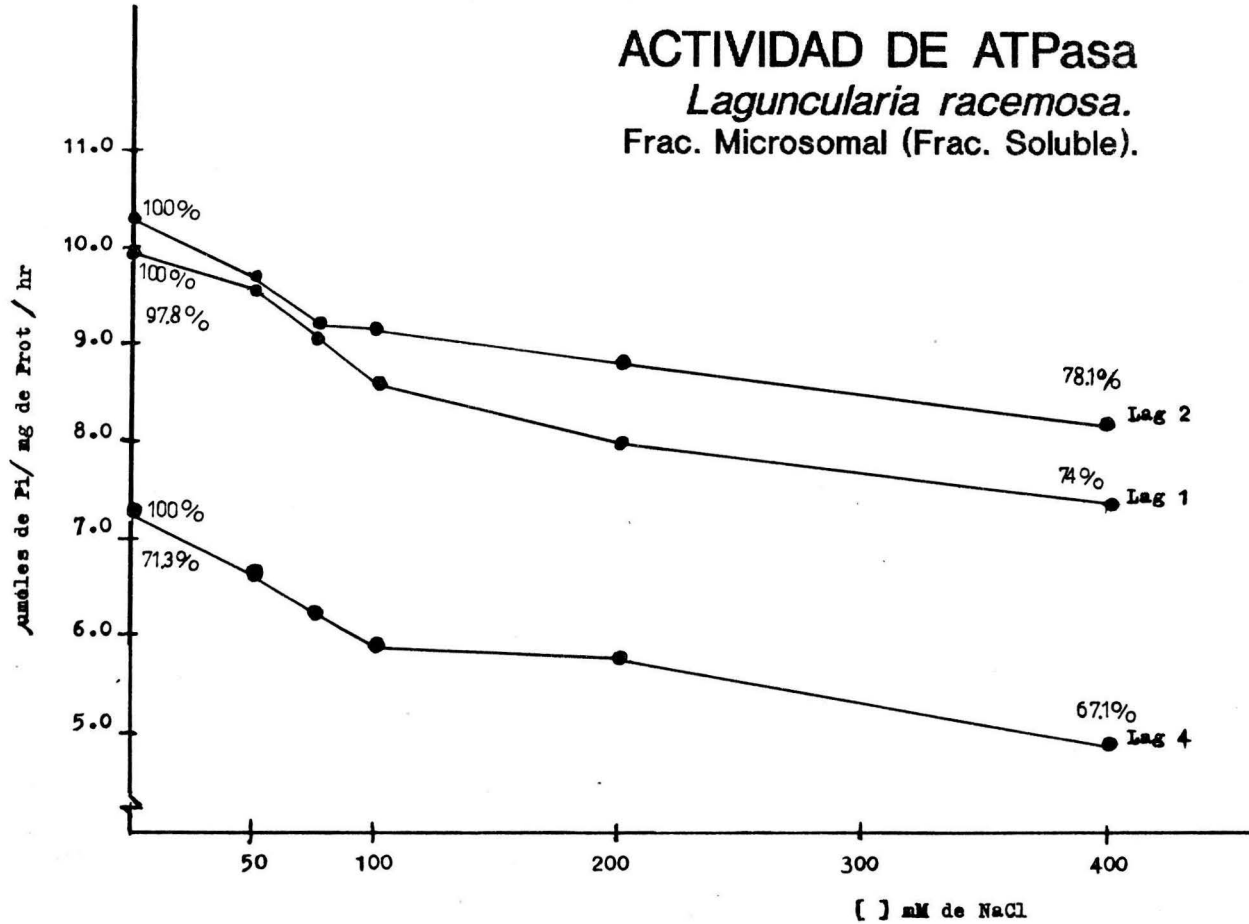


Fig. 19. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans*, *Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*, (Frac. Mitocondrial) en función de incrementar la concentración de cloruro de sodio (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) en la mezcla de reacción enzimática. (Ver. Material y Métodos).

ACTIVIDAD DE ATPasa Frac. Mitocondrial.

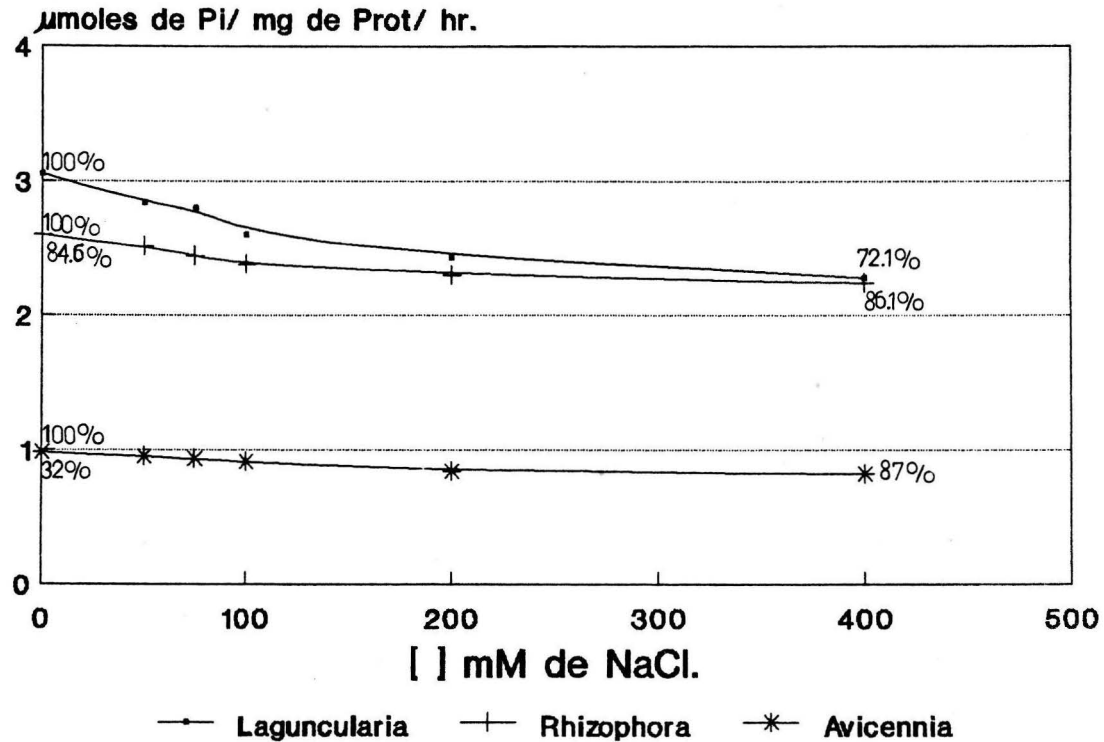


Fig. 20. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans*, *Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*, (Frac. Microsomal (Frac. soluble) en función de incrementar la concentración de cloruro de sodio (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) en la mezcla de reacción enzimática. (Ver. Material y Métodos).

ACTIVIDAD DE ATPasa Frac. Microsomal (Frac. soluble).

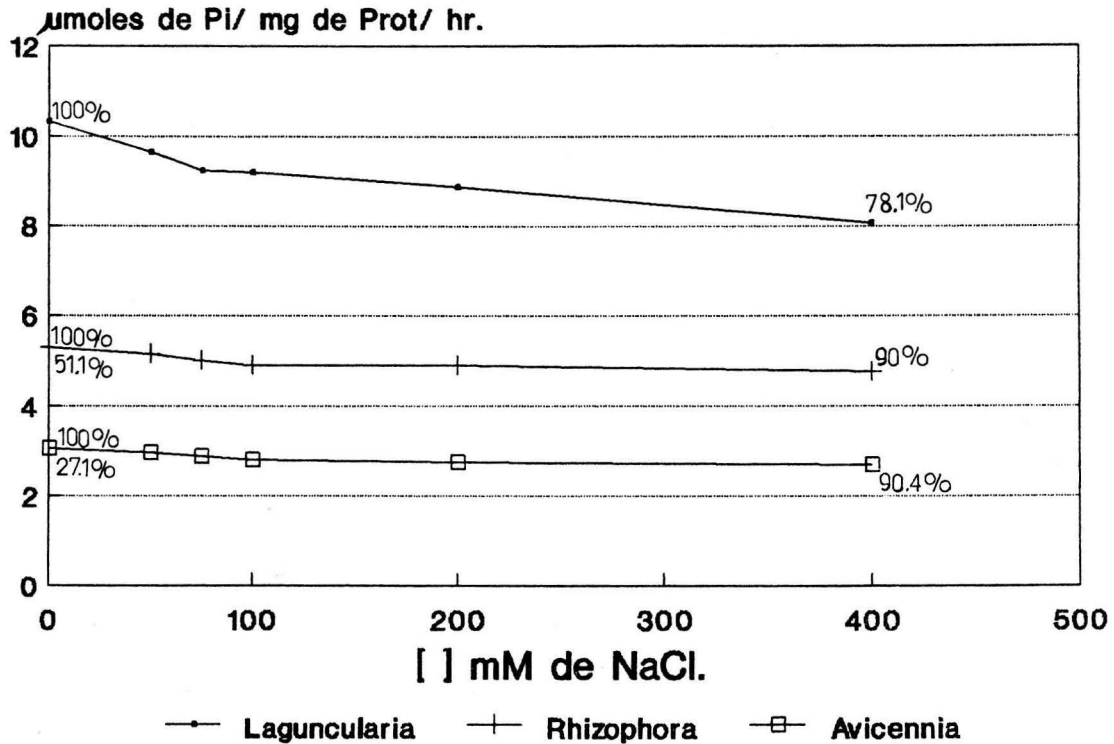


Fig. 21. CURVA PATRON PARA CUANTIFICAR PROTEINA.

Concentraciones crecientes de Albúmina se suero de bobino se tomarón y se ajustaron a un volumen de 100 μ l con solución 0.15 M de NaCl, posteriormente se le agregó 5 ml de reactivo de Bradford y la solución se mezcló.

Después se midió cada uno de los tubos a 595 η m, utilizando como blanco 100 μ l de NaCl 0.15 M + 5 ml de reactivo Bradford y se calculó la recta de regresión correspondiente. (Ver. Material y métodos).

CURVA PATRON PARA CUANTIFICAR PROTEINA (MÉTODO DE BRADFORD)

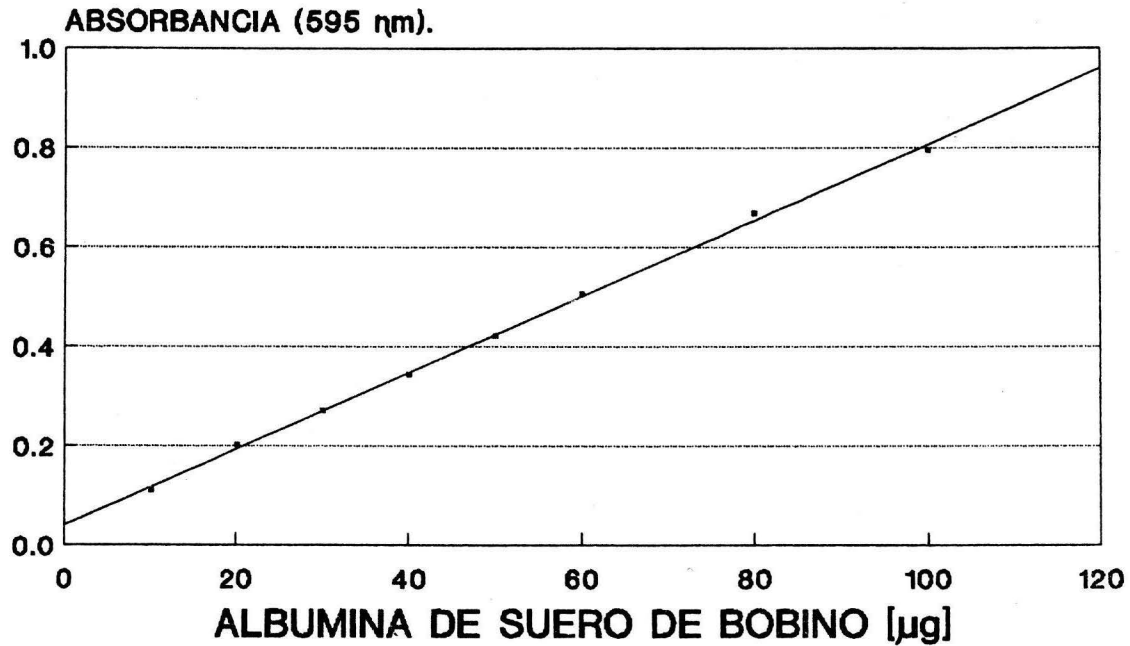


Fig. 22. CURVA PATRON PARA CUANTIFICAR FOSFOFO INORGANICO.

Concentraciones crecientes de fósforo inorgánico (se utilizó KH_2PO_4 1.0 mM como solución standard) se tomarón y se ajustaron a un volumen de 2 ml con solución de TCA 0.5 N, posteriormente se le adicionarón 1.0 ml de reactivo de Color y la solución se mezcló.

Después se midió cada uno de los tubos a 660 nm, utilizando como blanco 2 ml de TCA 0.5 N + 1.0 ml de reactivo de Color y se calculó la recta de regresión correspondiente. (Ver material y métodos).

CURVA PATRON DE FOSFORO INORGANICO (MÉTODO DE TAUSSKY Y SHORR).

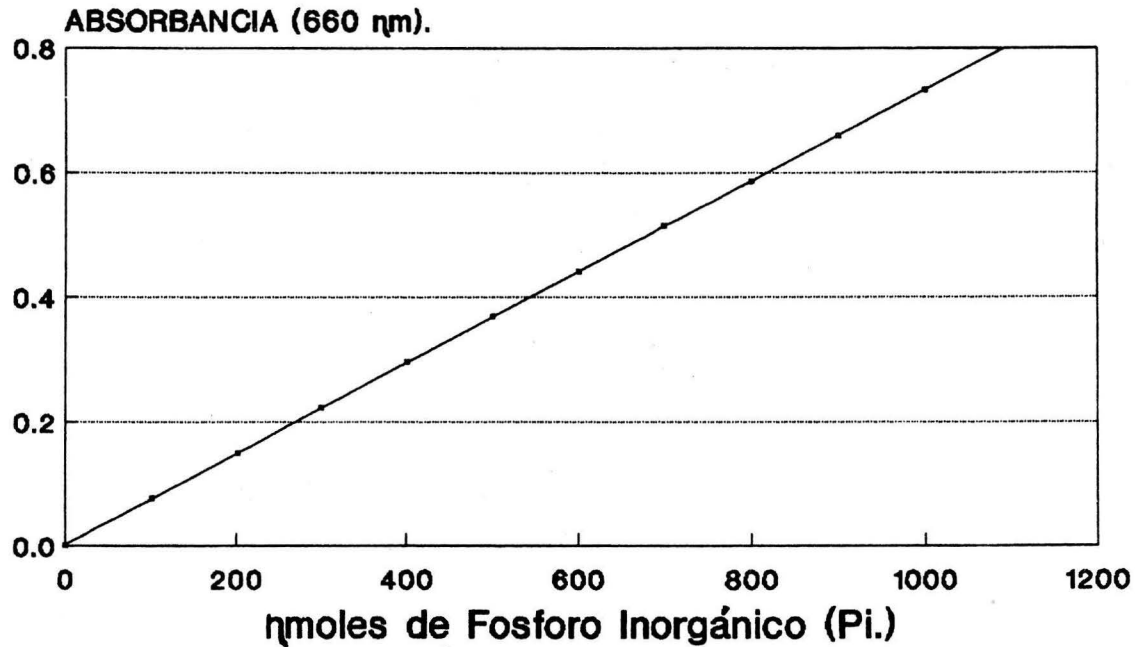


Fig. 23. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot. /hr.) de *Avicennia germinans* (Frac. Mitochondrial), en función de incrementar la [] mM de Sacarosa y NaCl.

ACTIVIDAD DE ATPasa

Avicennia germinans
Frac. Mitocondrial.

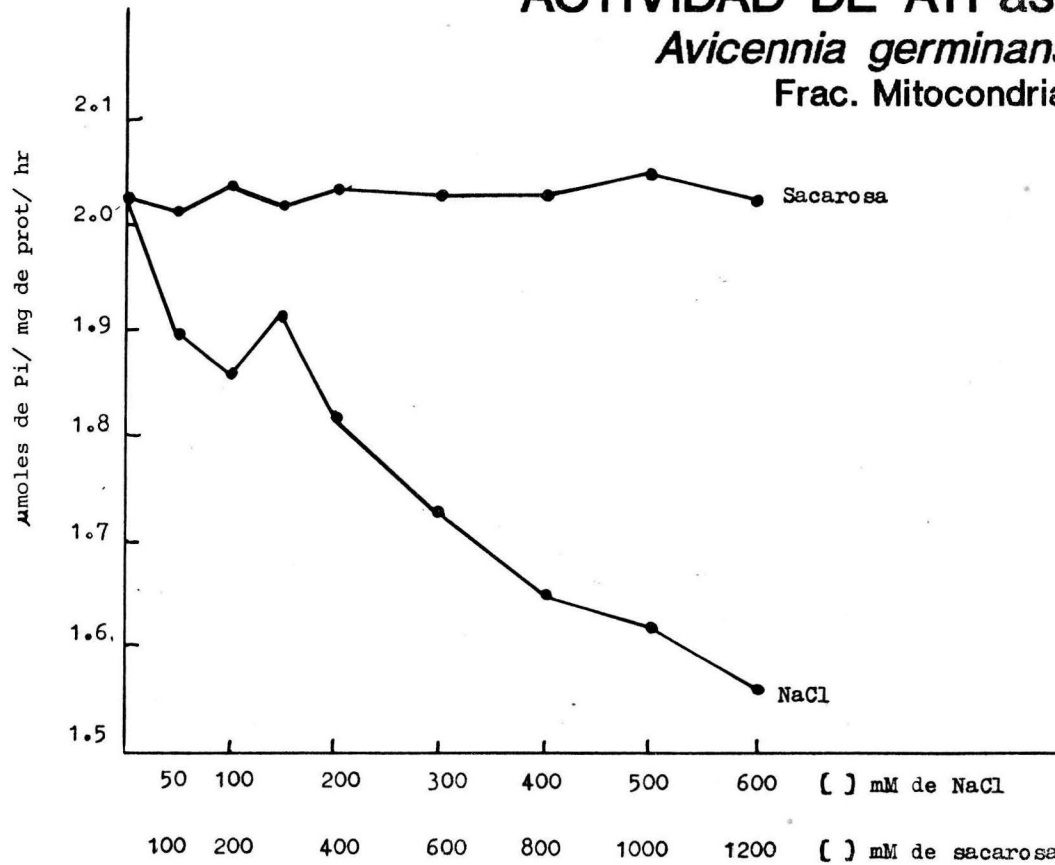


Fig. 24. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot. /hr.) de *Rhizophora mangle* (Frac. Mitochondrial), en función de incrementar la [] mM de Sacarosa y NaCl.

ACTIVIDAD DE ATPasa

Rhizophora mangle.
Frac. Mitocondrial.

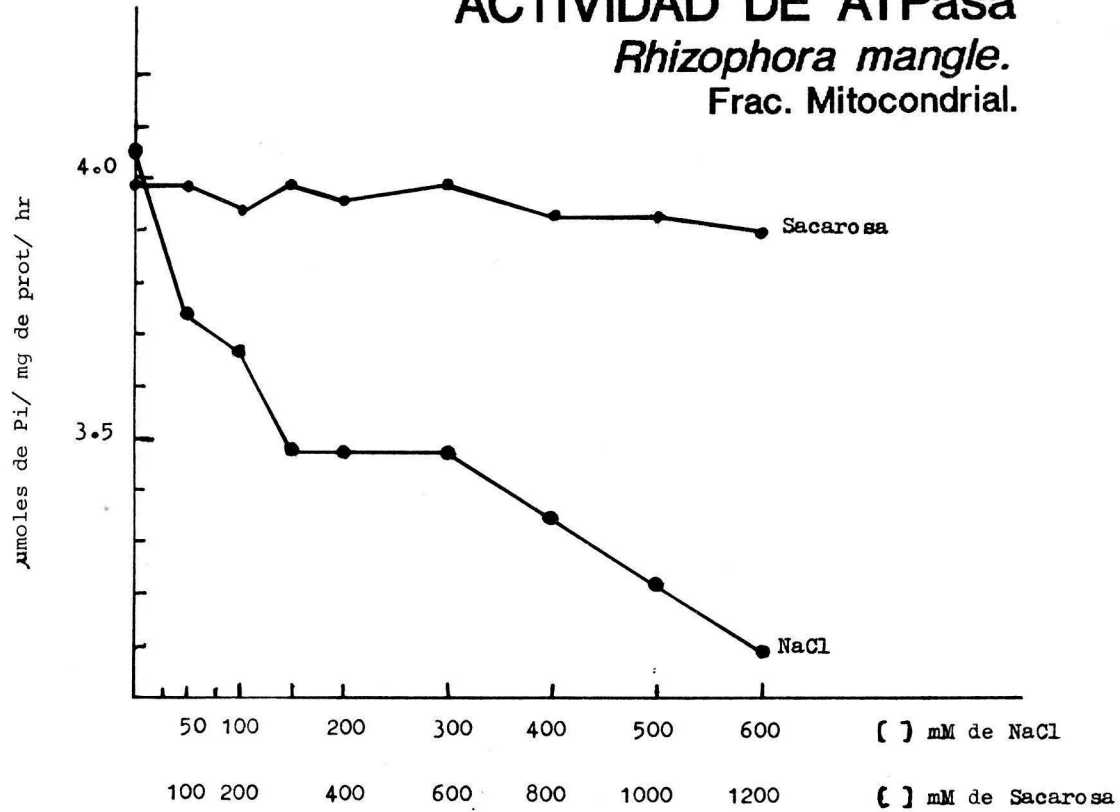


Fig. 25. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans* (Frac. Mitocondrial), en función de incrementar las unidades de pH.

ACTIVIDAD DE ATPasa
Avicennia germinans.
Frac. Mitocondrial.

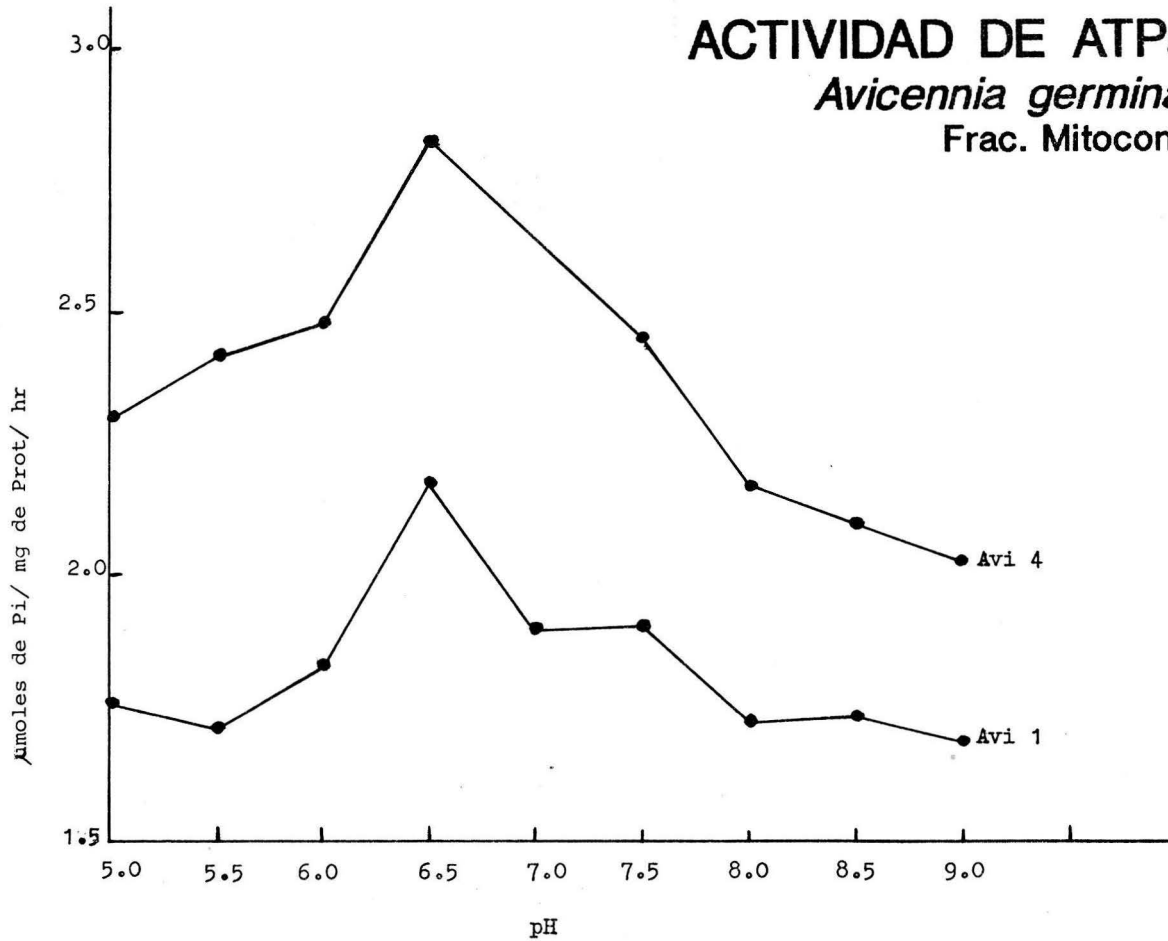


Fig. 26. Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans* (Frac. Microsomal (Frac. soluble)), en función de incrementar las unidades de pH.

ACTIVIDAD DE ATPasa
Avicennia germinans.
Frac. Microsomal (Frac. Soluble).

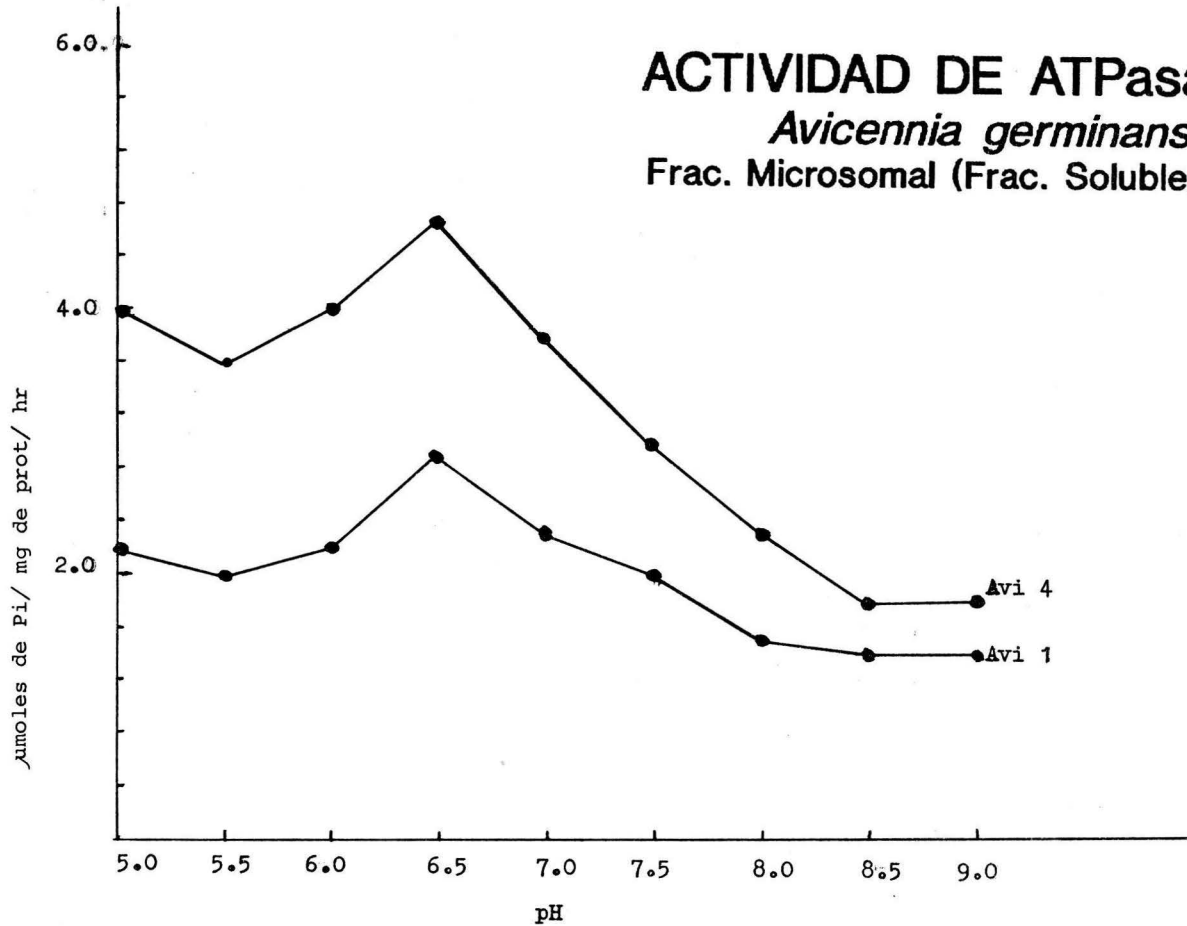


Fig. 27. Consúmo de oxígeno por mitocondrias de hojas de mangle: *Rhizophora mangle*.

Los trazos realizádos se obtuvieron en un polarígrafo marca *Gilson IC.Oxy.*, con un electródo para O_2 Clark.

Los números en círculo se refieren al contról respiratorio (R.C.).

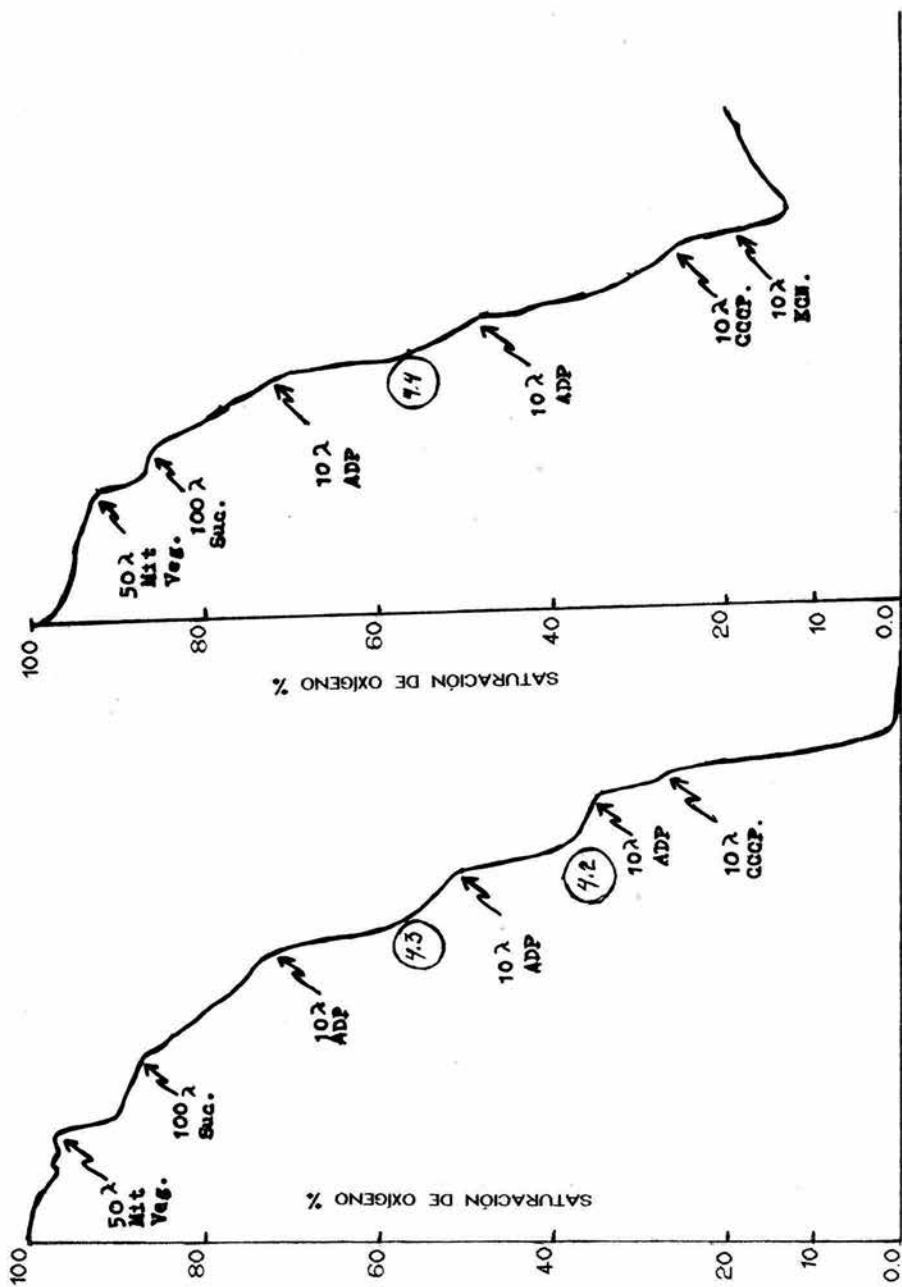


Fig. 28. Esquema comparativo donde se observa la actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans*, *Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*, (Frac. Mitocondrial y Frac. microsomal) en función de incrementar la concentración de cloruro de sodio (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) en la mezcla de reacción enzimática (Ver. Material y Métodos).

ACTIVIDAD DE ATPasa

NaCl mM	AVI	RHI	LAG
0	2.78	5.26	10.32
50	2.64	5.15	9.65
75	2.62	5.13	9.17
100	2.61	4.99	9.20
200	2.50	4.90	8.88
400	2.35	4.80	8.03

μ moles Pi/
mg prot
microsomal/hr

NaCl mM	AVI	RHI	LAG
0	0.81	3.68	9.10
100	0.62	3.55	8.24
200	0.62	3.37	7.63
400	0.65	3.31	7.39

μ moles Pi/
mg prot
mitocondrial/hr

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FD
TRAT	53	886.1925	16.72061	19567.9
F.A	5	9.152466	1.830493	2142.2
F.B	2	785.6017	392.8009	459689.2
F.C	2	53.56409	26.78204	31342.64
F.AB	10	10.06397	1.006397	1177.772
F.AC	10	.6103516	6.103516E-02	71.42858
F.BC	4	26.453	6.613251	7739.393
F.ABC	20	.7469483	3.734741E-02	43.70715
ERROR	54	4.614258E-02	8.544922E-04	
TOTAL	107	886.2386	8.282605	

ANOVA 3 FACTORES CON REPETICION.

(SRL).

FACTOR A: () DE NaCl. FACTOR B: ESPECIES. FACTOR C: ESTACIONES.

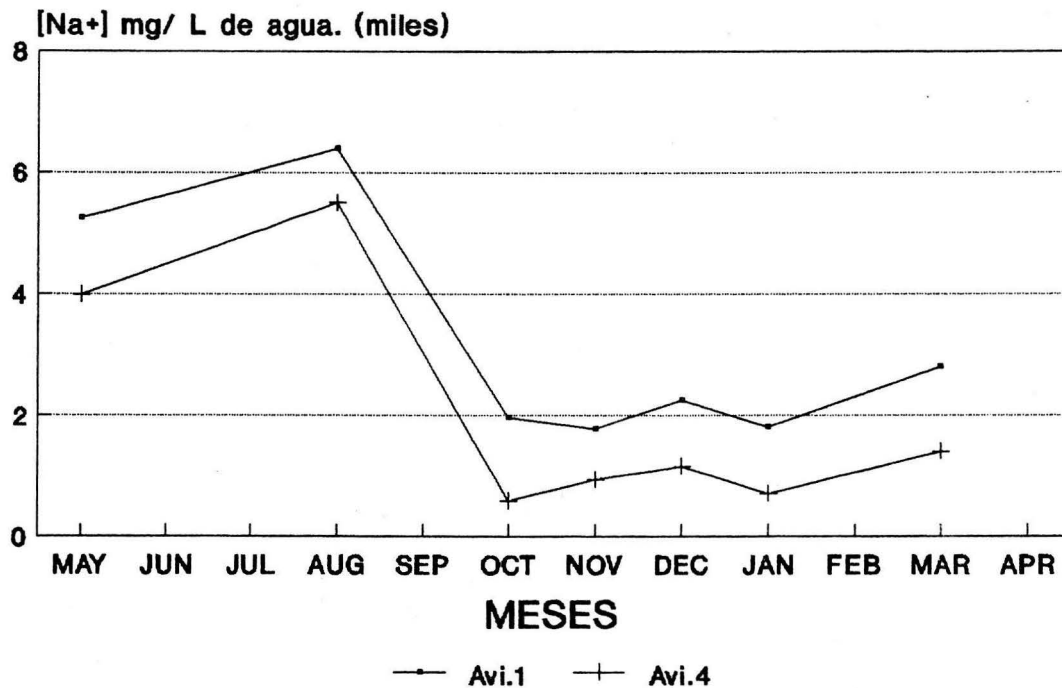
AVICENNIA GERMINANS. RHIZOPHORA MANGLE. LAGUNCULARIA RACEMOSA.

FRACCION MITOCONDRIAL..

Fig. 29. Cuantificación de la $[Na^+]$ y la $[K^+]$ mg/L de agua intersticial de la zona de abundancia del mangle *Avicennia germinans* (Avi. 1, Avi. 4).

Las mediciones se obtuvieron por espectrofotometría de absorción atómica. Para tal propósito se utilizó un espectrofotómetro PERKIN ELMER No. 5000.(*)

CUANTIFICACION DE [Na⁺] AGUA INTERSTICIAL *Avicennia germinans*.



CUANTIFICACION DE [K+] AGUA INTERSTICIAL *Avicennia germinans*.

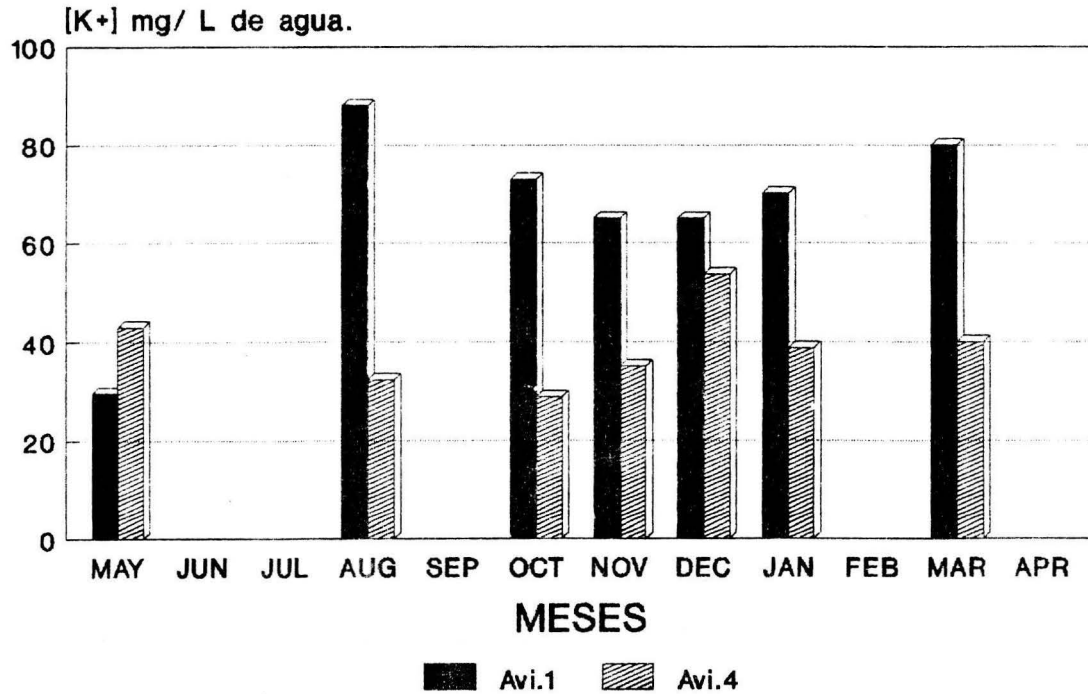
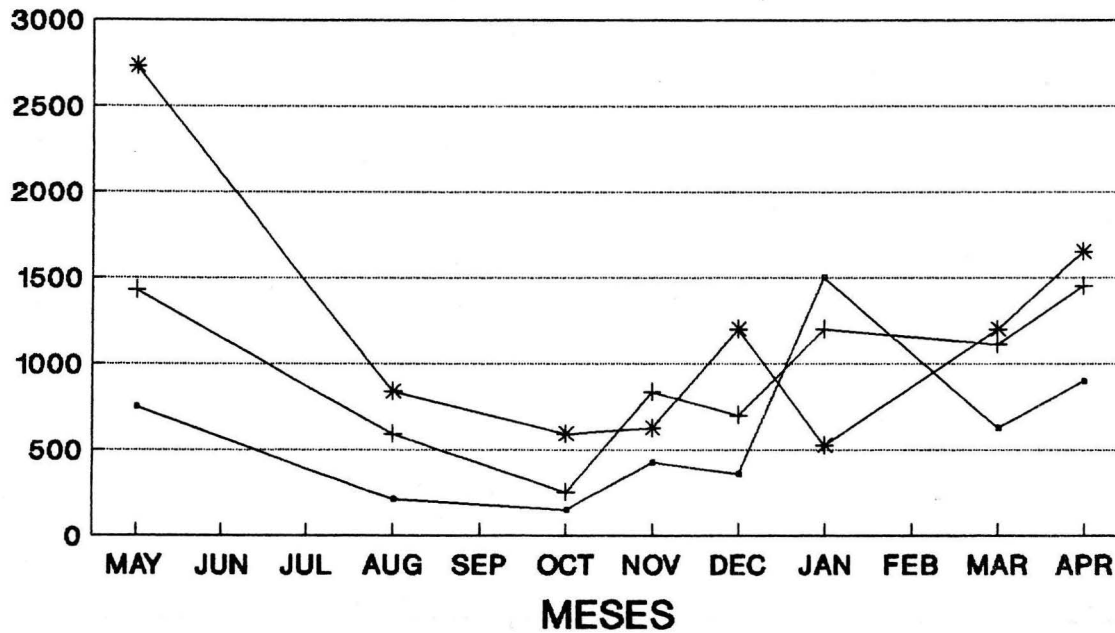


Fig. 30. Cuantificación de la $[Na^+]$ y la $[K^+]$ mg/L de agua intersticial de la zona de abundancia del mangle *Rhizophora mangle*. (Rhi. 2, Rhi. 3, Rhi. 4).

Las mediciones se obtuvieron por espectrofotometría de absorción atómica. Para tal propósito se utilizó un espectrofotómetro PERKIN ELMER No. 5000.(*)

CUANTIFICACION DE [Na⁺] AGUA INTERSTICIAL *Rhizophora mangle.*



—●— Rhiz.2 —+— Rhiz.3 —*— Rhiz.4

CUANTIFICACION DE [K+] AGUA INTERSTICIAL *Rhizophora mangle.*

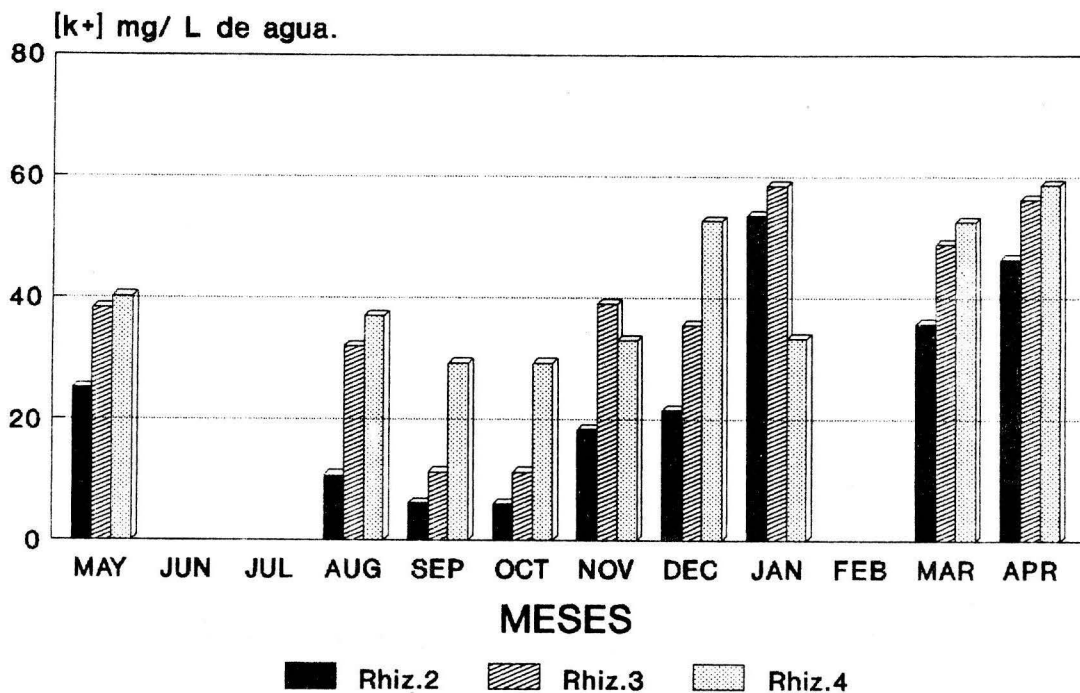


Fig. 31. Cuantificación de la $[Na^+]$ % de hojas de mangle de *Avicennia germians* (Avi. 1, Avi. 4.).

Las mediciones se obtuvieron por espectrofotometría de absorción atómica. Para tal propósito se utilizó un espectrofotómetro *PERKIN ELMER* No. 5000 (*).

CUANTIFICACION DE [Na+]

HOJA

Avicennia germinans.

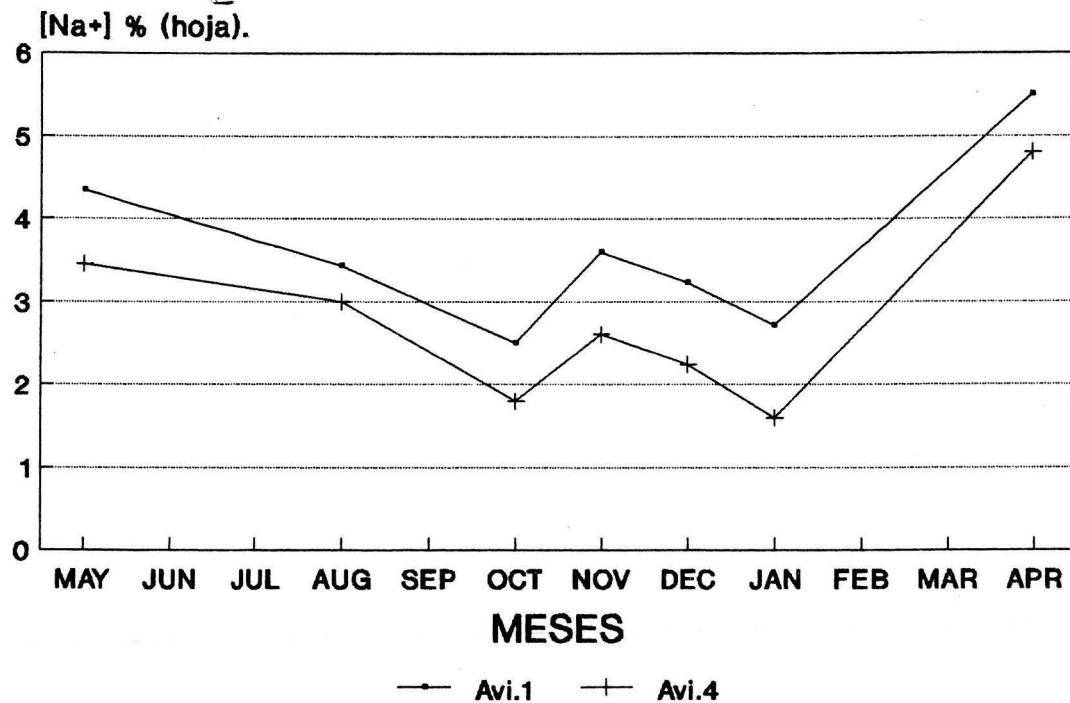
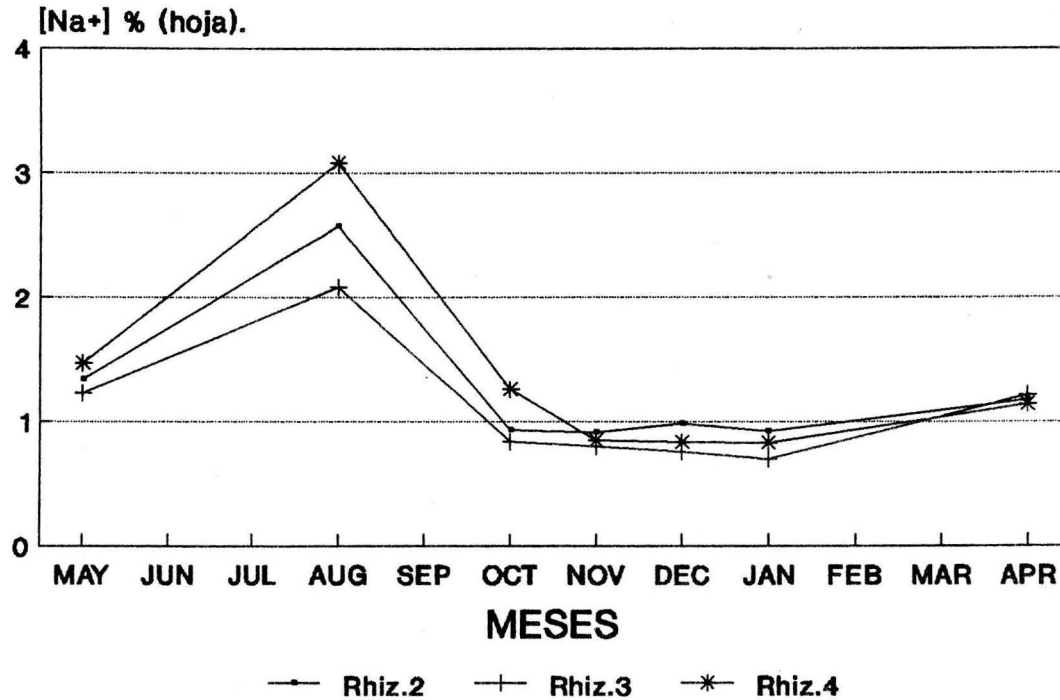


Fig. 32. Cuantificación de la $[Na^+]$ % de hojas de mangle de *Rhizophora mangle*. (Rhi. 2, Rhi. 3, Rhi. 4).

Las mediciones se obtuvieron por espectrofotometría de absorción atómica. Para tal propósito se utilizó un espectrofotómetro PERKIN ELMER No. 5000 (*).

CUANTIFICACION DE [Na⁺]

Rhizophora mangle.
HOJA



ANALISIS DE RESULTADOS

Tabla No. 1, donde se observa la Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans* (Frac. Mitocondrial) a dos concentraciones diferentes de NaCl ([0.0] mM y [400] mM de NaCl) y en función de su ubicación dentro del estero de Tecolutla - Veracruz (Ver. Material y Métodos y Fig. 6). Se aplicó el análisis de Varianza para 2 Factores con repetición para cada uno de los meses del año. Los resultados observados son de al menos dos repeticiones.

ACTIVIDAD DE ATPasa

umoles de Pi/ mg de prot/ hr

NaCl () mM

Avicennia germinans

medio de reacción

Fracción mitocondrial

MES		Est.	
		1	4
ENERO	0.0	2.35 2.30	2.03 2.07
	400	1.73 1.67	1.86 1.82
FEBRERO	0.0	==== ====	==== ====
	400	==== ====	==== ====
MARZO	0.0	1.60 1.62	1.83 1.84
	400	1.40 1.38	1.68 1.67
ABRIL	0.0	1.90 1.84	2.00 1.90
	400	0.77 0.82	1.07 1.08
MAYO	0.0	2.40 2.40	3.66 3.72
	400	2.10 2.11	3.10 3.04
JUNIO	0.0	==== ====	==== ====
	400	==== ====	==== ====
JULIO	0.0	==== ====	==== ====
	400	==== ====	==== ====
AGOSTO	0.0	0.84 0.82	1.50 1.46
	400	0.65 0.61	1.18 1.18
SEPTIEMBRE	0.0	2.75 2.71	1.81 1.76
	400	2.42 2.37	1.47 1.58
OCTUBRE	0.0	3.01 3.03	4.71 4.68
	400	2.66 2.63	4.15 4.10
NOVIEMBRE	0.0	0.98 0.97	1.03 1.05
	400	0.84 0.82	0.90 0.87
DICIEMBRE	0.0	1.45 1.42	1.20 1.21
	400	1.24 1.23	1.05 1.03

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	.4438381	.1479461	381.3175
FAC.A	1	.3486176	.3486176	299.5101
FAC..B	1	9.115219E-03	9.115219E-03	7.831217
FAC.AB	1	8.610534E-02	8.610534E-02	73.97625 *S*
ERROR	4	4.655838E-03	1.16396E-03	
TOTAL	7	.448494		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. ENERO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Fra. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	.2040482	6.801605E-02	1633.238
FAC.A	1	7.219887E-02	7.219887E-02	577.9084
FAC..B	1	.1300469	.1300469	1040.947
FAC.AB	1	1.802445E-03	1.802445E-03	14.42748 *S*
ERROR	4	4.997254E-04	1.249313E-04	
TOTAL	7	.2045479		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. MARZO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	1.986054	.6620178	980.9364
FAC.A	1	1.901255	1.901255	939.0532
FAC..B	1	6.480408E-02	6.480408E-02	32.00754
FAC.AB	1	1.999474E-02	1.999474E-02	9.875648 *S*
ERROR	4	8.098603E-03	2.024651E-03	
TOTAL	7	1.994152		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. ABRIL.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	2.997421	.9991404	3111.905
FAC.A	1	.4277954	.4277954	444.1347
FAC..B	1	2.519997	2.519997	2616.246
FAC.AB	1	4.962921E-02	4.962921E-02	51.52476 *S*
ERROR	4	3.852844E-03	9.632111E-04	
TOTAL	7	3.001274		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. MAYO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	.8470382	.2823461	1831.307
FAC.A	1	.1275129	.1275129	275.6846
FAC..B	1	.7140131	.7140131	1543.705
FAC.AB	1	5.512238E-03	5.512238E-03	11.91753 *S*
ERROR	4	1.850128E-03	4.625321E-04	
TOTAL	7	.8488884		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. AGOSTO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	1.826939	.6089795	781.5928
FAC.A	1	.1770172	.1770172	75.73072
FAC..B	1	1.647118	1.647118	704.6626
FAC.AB	1	2.803803E-03	2.803803E-03	1.199511 *NS*
ERROR	4	9.349823E-03	2.337456E-03	
TOTAL	7	1.836289		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. SEPTIEMBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	5.442536	1.814179	9264.468
FAC.A	1	.446518	.446518	760.078
FAC..B	1	4.977013	4.977013	8472.039
FAC.AB	1	1.900482E-02	1.900482E-02	32.35065 *S*
ERROR	4	2.349854E-03	5.874634E-04	
TOTAL	7	5.444886		

FACTOR A: [Na+] mg/L agua. FACTOR B: No. de Estación. OCTUBRE.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	5.225039E-02	.0174168	232.4009
FAC.A	1	4.499913E-02	4.499913E-02	200.1485
FAC..B	1	7.199765E-03	7.199765E-03	32.02333
FAC.AB	1	5.149842E-05	5.149842E-05	0.2290562 *NS*
ERROR	4	8.993149E-04	2.248287E-04	
TOTAL	7	.0531497		

FACTOR A: [Na+] mg/L agua. FACTOR B: No. de Estación. NOVIEMBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. <u>Avicennia germinans.</u> Frac. Mit.				
F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo.
TRAT	3	.1575346	5.251153E-02	838.5127
FAC.A	1	6.661129E-02	6.661129E-02	354.5533
FAC..B	1	9.030914E-02	9.030914E-02	480.6904
FAC.AB	1	6.141663E-04	6.141663E-04	3.269036 *NS*
ERROR	4	7.514954E-04	1.878738E-04	
TOTAL	7	.1582861		

FACTOR A: [Na⁺] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. DICIEMBRE.

Tabla No. 2, donde se observa la Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans* (Frac. Microsomal) a dos concentraciones diferentes de NaCl ([0.0] mM y [400] mM de NaCl) y en función de su ubicación dentro del estero de Tecolutla - Veracruz (Ver. Material y Métodos y Fig. 6). Se aplicó el análisis de Varianza para 2 Factores con repetición para cada uno de los meses del año. Los resultados observados son de al menos dos repeticiones.

ACTIVIDAD DE ATPasa

 μ moles de Pi/ mg de prot/hr

NaCl [] mM

medio de reacción

Avicennia germinans

MES

Frac. soluble (microsomal)

		Est.	1	4
ENERO	0.0		3.53	4.54
			3.58	4.45
	400		3.33	3.88
			3.26	3.90
FEBRERO	0.0		====	====
			====	====
	400		====	====
			====	====
MARZO	0.0		2.00	2.20
			2.00	2.17
	400		1.82	1.67
			1.72	1.61
ABRIL	0.0		5.13	7.05
			5.10	7.00
	400		4.11	5.15
			4.06	5.18
MAYO	0.0		3.95	4.27
			3.92	4.27
	400		3.71	3.82
			3.66	3.78
JUNIO	0.0		====	====
			====	====
	400		====	====
			====	====
JULIO	0.0		====	====
			====	====
	400		====	====
			====	====
AGOSTO	0.0		5.10	5.36
			4.94	5.31
	400		3.85	3.31
			3.45	3.24
SEPTIEMBRE	0.0		3.04	2.90
			3.00	2.81
	400		1.92	2.28
			1.91	2.22
OCTUBRE	0.0		4.20	5.82
			4.15	5.88
	400		3.50	4.78
			3.46	4.70
NOVIEMBRE	0.0		2.80	3.02
			2.76	3.04
	400		2.36	2.73
			2.37	2.72
DICIEMBRE	0.0		2.50	3.10
			2.51	3.05
	400		2.25	2.58
			2.23	2.54

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	1.611763	.5372543	812.527
FAC.A	1	.3741303	.3741303	188.6077
FAC..B	1	1.178139	1.178139	593.927
FAC.AB	1	5.949402E-02	5.949402E-02	29.99231 *S*
ERROR	4	7.934571E-03	1.983643E-03	
TOTAL	7	1.619698		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. ENERO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	.3556423	.1185474	190.8974
FAC.A	1	.308115	.308115	165.3862
FAC..B	1	1.016617E-03	1.016617E-03	0.5456872
FAC.AB	1	.0465107	.0465107	24.96545 *S*
ERROR	4	7.452011E-03	1.863003E-03	
TOTAL	7	.3630943		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. MARZO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	8.990509	2.996837	10521.46
FAC.A	1	4.176026	4.176026	4887.143
FAC..B	1	4.470032	4.470032	5231.215
FAC.AB	1	.3444519	.3444519	403.1072 *S*
ERROR	4	3.417969E-03	8.544922E-04	
TOTAL	7	8.993927		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. ABRIL.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	.3777313	.1259105	592.9341
FAC.A	1	.2556076	.2556076	401.2335
FAC..B	1	9.901428E-02	9.901428E-02	155.4252
FAC.AB	1	2.310944E-02	2.310944E-02	36.27545 *S*
ERROR	4	2.548218E-03	6.370545E-04	
TOTAL	7	.3802796		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. MAYO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	6.122315	2.040772	253.7436
FAC.A	1	5.882462	5.882462	243.8027
FAC..B	1	1.815796E-03	1.815796E-03	7.525691E-02
FAC.AB	1	.2380371	.2380371	9.865613 *S*
ERROR	4	9.651184E-02	2.412796E-02	
TOTAL	7	6.218827		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. AGOSTO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	1.601498	.5338326	956.3166
FAC.A	1	1.462051	1.462051	873.0479
FAC..B	1	1.445389E-02	1.445389E-02	8.630979
FAC.AB	1	.1249924	.1249924	74.63781 *S*
ERROR	4	6.698609E-03	1.674652E-03	
TOTAL	7	1.608196		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. SEPTIEMBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	6.022217	2.007406	3417.074
FAC.A	1	1.628998	1.628998	924.3117
FAC..B	1	4.307099	4.307099	2443.896
FAC.AB	1	8.612061E-02	8.612061E-02	48.86581 *S*
ERROR	4	7.049561E-03	1.76239E-03	
TOTAL	7	6.029267		

FACTOR A: [Na+] mg/L agua. FACTOR B: No. de Estación. OCTUBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	.451313	.1504377	1637.495
FAC.A	1	.2592163	.2592163	940.5121
FAC..B	1	.1860657	.1860657	675.1003
FAC.AB	1	6.031037E-03	6.031037E-03	21.88235 *S*
ERROR	4	1.102448E-03	2.756119E-04	
TOTAL	7	.4524155		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. NOVIEMBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Avicennia germinans. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	3	.7315064	.2438355	1272.04
FAC.A	1	.3042069	.3042069	528.995
FAC..B	1	.3960533	.3960533	688.7098
FAC.AB	1	3.124619E-02	3.124619E-02	54.33499 *S*
ERROR	4	2.300263E-03	5.750656E-04	
TOTAL	7	.7338066		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. DICIEMBRE.

Tabla No. 3, donde se observa la Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Rhizophora mangle* (Frac. Mitocondrial) a dos concentraciones diferentes de NaCl ([0.0] mM y [400] mM de NaCl) y en función de su ubicación dentro del estero de Tecolutla - Veracruz (Ver. Material y Métodos y Fig. 6). Se aplicó el análisis de Varianza para 2 Factores con repetición para cada uno de los meses del año. Los resultados observados son de al menos dos repeticiones.

ACTIVIDAD DE ATPasa

µmoles de Pi/ mg de prot/ hr

NaCl [] mM

Rhizophora mangle

MES

medio de reacción

Fracción mitocondrial.

		Est.		
		2	3	4
ENERO	0.0	2.77 2.83	3.73 3.60	4.51 4.66
	400	2.38 2.36	3.35 3.24	4.22 4.17
FEBRERO	0.0	==== ====	==== ====	==== ====
	400	==== ====	==== ====	==== ====
MARZO	0.0	1.70 1.66	1.65 1.66	1.62 1.74
	400	0.90 1.05	1.15 1.13	1.25 1.17
ABRIL	0.0	1.80 1.95	2.25 2.33	2.54 2.64
	400	1.45 1.45	1.94 1.97	1.40 1.34
MAYO	0.0	5.02 5.06	4.82 4.80	3.62 3.70
	400	4.56 4.57	4.34 4.30	3.13 3.16
JUNIO	0.0	==== ====	==== ====	==== ====
	400	==== ====	==== ====	==== ====
JULIO	0.0	==== ====	==== ====	==== ====
	400	==== ====	==== ====	==== ====
AGOSTO	0.0	3.70 3.80	2.24 2.30	1.66 1.62
	400	3.31 3.27	2.00 2.03	1.56 1.53
SEPTIEMBRE	0.0	1.73 1.72	1.10 1.08	1.57 1.58
	400	1.30 1.27	0.90 0.90	1.30 1.30
OCTUBRE	0.0	4.60 4.63	4.50 4.46	4.10 4.13
	400	4.10 4.14	4.00 3.96	3.71 3.64
NOVIEMBRE	0.0	2.60 2.58	2.20 2.17	1.95 1.94
	400	2.24 2.25	1.88 1.85	1.75 1.80
DICIEMBRE	0.0	2.42 2.45	2.16 2.22	2.12 2.10
	400	2.20 2.18	1.84 1.84	2.00 1.95

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	6.990097	1.398019	1445.88
FAC.A	1	.4720307	.4720307	97.63809
FAC..B	2	6.516205	3.258103	673.9285
FAC.AB	2	1.861572E-03	9.307861E-04	0.1925303 *NS*
ERROR	6	2.900696E-02	4.834493E-03	
TOTAL	11	7.019104		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. ENERO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	1.011105	.2022209	267.2824
FAC.A	1	.9520359	.9520359	251.6677
FAC..B	2	2.795601E-02	1.397801E-02	3.695042
FAC.AB	2	3.111267E-02	1.555634E-02	4.112269 * S*
ERROR	6	2.269745E-02	3.782908E-03	
TOTAL	11	1.033802		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. MARZO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	2.234345	.4468689	616.4392
FAC.A	1	1.313412	1.313412	362.3606
FAC..B	2	.4488182	.2244091	61.91283
FAC.AB	2	.4721146	.2360573	65.12646 *S*
ERROR	6	2.174759E-02	3.624598E-03	
TOTAL	11	2.256092		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. ABRIL.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	5.221375	1.044275	5687.335
FAC.A	1	.7301636	.7301636	795.3241
FAC..B	2	4.490433	2.245216	2445.582
FAC.AB	2	7.781983E-04	3.890991E-04	0.4238227 *NS*
ERROR	6	5.508423E-03	9.180705E-04	
TOTAL	11	5.226883		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. MAYO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	8.172661	1.634532	5268.232
FAC.A	1	.2186966	.2186966	140.9754
FAC..B	2	7.887017	3.943508	2542.05
FAC.AB	2	6.694794E-02	3.347397E-02	21.57787 *S*
ERROR	6	9.307861E-03	1.55131E-03	
TOTAL	11	8.181969		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. AGOSTO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	.903677	.1807354	4722.13
FAC.A	1	.2730065	.2730065	1426.585
FAC..B	2	.5964489	.2982245	1558.361
FAC.AB	2	3.422165E-02	1.711083E-02	89.41196 *S*
ERROR	6	1.148224E-03	1.913707E-04	
TOTAL	11	.9048252		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. SEPTIEMBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	1.161118	.2322235	1207.857
FAC.A	1	.6864014	.6864014	714.0318
FAC..B	2	.4725037	.2362518	245.7619
FAC.AB	2	2.212525E-03	1.106262E-03	1.150794 *NS*
ERROR	6	5.767823E-03	9.613037E-04	
TOTAL	11	1.166885		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. OCTUBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Mit.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	.9064446	.1812889	2217.285
FAC.A	1	.2324104	.2324104	568.507
FAC..B	2	.6561241	.3280621	802.4837
FAC.AB	2	.01791	8.955002E-03	21.90513 *S*
ERROR	6	2.45285E-03	4.088084E-04	
TOTAL	11	.9088974		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. NOVIEMBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION.			<u>Rhizophora mangle.</u>	Frac. Mit.
F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	.4226761	8.453522E-02	641.0916
FAC.A	1	.1800728	.1800728	273.1244
FAC..B	2	.2184029	.1092014	165.6307
FAC.AB	2	2.420044E-02	1.210022E-02	18.35294 *S*
ERROR	6	3.955841E-03	6.593068E-04	
TOTAL	11	.426632		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. DICIEMBRE.

Tabla No. 4, donde se observa la Actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Rhizophora mangle* (Frac. Microsomal) a dos concentraciones diferentes de NaCl ([0.0] mM y [400] mM de NaCl) y en función de su ubicación dentro del estero de Tecolutla - Veracruz (Ver. Material y Métodos y Fig. 6). Se aplicó el análisis de Varianza para 2 Factores con repetición para cada uno de los meses del año. Los resultados observados son de al menos dos repeticiones.

ACTIVIDAD DE ATPasa

 μ moles de Pi / mg de prot / hr

NaCl () mM

Rhizophora mangle

MES

medio de reacción

Frac. soluble (microsomal)

		Est.	2	3	4
		ENERO	0.0	5.00 5.04	7.96 8.01
	400	4.80 4.82	6.85 6.85	10.15 10.30	
FEBRERO	0.0	====	====	====	
	400	====	====	====	
MARZO	0.0	3.30 3.34	3.05 3.00	2.13 2.22	
	400	2.00 2.04	2.05 2.00	1.61 1.55	
ABRIL	0.0	10.16 10.04	10.00 10.00	9.04 8.80	
	400	9.01 9.15	9.00 9.10	7.33 7.30	
MAYO	0.0	6.30 6.37	5.65 5.67	4.60 4.61	
	400	5.43 5.44	5.11 5.12	3.90 3.80	
JUNIO	0.0	====	====	====	
	400	====	====	====	
JULIO	0.0	====	====	====	
	400	====	====	====	
AGOSTO	0.0	7.87 7.95	5.03 5.03	5.48 5.40	
	400	7.20 7.02	4.54 4.40	4.60 4.51	
SEPTIEMBRE	0.0	3.26 3.20	2.85 2.94	3.18 3.21	
	400	2.38 2.35	2.33 2.30	2.34 2.32	
OCTUBRE	0.0	8.00 8.06	6.88 6.96	6.17 6.06	
	400	7.36 7.30	6.25 6.12	5.40 5.36	
NOVIEMBRE	0.0	5.27 5.20	4.70 4.60	4.20 4.26	
	400	4.90 4.96	4.21 4.13	4.07 4.04	
DICIEMBRE	0.0	3.24 3.22	3.23 3.20	2.85 2.85	
	400	3.08 3.03	2.95 2.97	2.75 2.70	

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	73.56372	14.71274	7532.925
FAC.A	1	2.210205	2.210205	226.325
FAC..B	2	70.71942	35.35971	3620.835
FAC.AB	2	.6340943	.3170471	32.46563 *S*
ERROR	6	5.859375E-02	9.765625E-03	
TOTAL	11	73.62231		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. ENERO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	4.468498	.8936996	2696.984
FAC.A	1	2.793694	2.793694	1686.147
FAC..B	2	1.424469	.7122345	429.8726
FAC.AB	2	.2503357	.1251679	75.54566 *S*
ERROR	6	9.941101E-03	1.65685E-03	
TOTAL	11	4.47844		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. MARZO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION.

Rhizophora mangle.Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	10.09393	2.018787	1178.473
FAC.A	1	4.283936	4.283936	500.1521
FAC..B	2	5.556031	2.778015	324.3349
FAC.AB	2	.2539673	.1269836	14.82542 *S*
ERROR	6	.0513916	8.565267E-03	
TOTAL	11	10.14533		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua.

FACTOR B: No. de Estación.

ABRIL.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION.

Rhizophora mangle.Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	7.464234	1.492847	5732.532
FAC.A	1	1.613312	1.613312	1239.024
FAC..B	2	5.787201	2.893601	2222.285
FAC.AB	2	6.372071E-02	3.186035E-02	24.46875 *S*
ERROR	6	.0078125	1.302083E-03	
TOTAL	11	7.472046		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua.

FACTOR B: No. de Estación.

MAYO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	20.37778	4.075555	3349.861
FAC.A	1	1.6875	1.6875	277.4047
FAC..B	2	18.63535	9.317672	1531.713
FAC.AB	2	5.493164E-02	2.746582E-02	4.515051 * S*
ERROR	6	3.649902E-02	6.083171E-03	
TOTAL	11	20.41428		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. AGOSTO.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	1.916985	.3833969	1555.808
FAC.A	1	1.778702	1.778702	1443.579
FAC..B	2	8.412933E-02	4.206467E-02	34.13932
FAC.AB	2	5.415344E-02	2.707672E-02	21.97523 *S*
ERROR	6	7.392884E-03	1.232147E-03	
TOTAL	11	1.924378		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. SEPTIEMBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	9.108826	1.821765	2466.76
FAC.A	1	1.56958	1.56958	425.0579
FAC..B	2	7.538391	3.769196	1020.736
FAC.AB	2	8.544922E-04	4.272461E-04	0.1157025 *NS*
ERROR	6	2.215576E-02	3.692627E-03	
TOTAL	11	9.130981		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. OCTUBRE.

ANOVA PARA 2 FACTORES CON REPETICION. Rhizophora mangle. Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	2.230576	.4461151	910.7975
FAC.A	1	.30719	.30719	125.433
FAC..B	2	1.876495	.9382477	383.1091
FAC.AB	2	4.689026E-02	2.344513E-02	9.573209 *S*
ERROR	6	1.469421E-02	2.449036E-03	
TOTAL	11	2.24527		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua. FACTOR B: No. de Estación. NOVIEMBRE.

ANOVA PARA 2FACTORES CON REPETICION.

Rhizophora mangle.Frac. Micro.
Frac. Soluble.

F.V	G.L	S.C.	C.M.	Fo
TRAT	5	.4064865	.0812973	718.3686
FAC.A	1	.1008148	.1008148	178.1663
FAC..B	2	.2964325	.1482163	261.9371
FAC.AB	2	9.239197E-03	4.619599E-03	8.164046 *S*
ERROR	6	3.395081E-03	5.658468E-04	
TOTAL	11	.4098816		

FACTOR A: [Na+] mg/L. agua.

FACTOR B: No. de Estación.

DICIEMBRE.

Tabla No. 5, donde se observa la actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans*, *Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*, (Frac. Mitocondrial) en función de incrementar la concentración de cloruro de sodio (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) en la mezcla de reacción enzimática y en función de su ubicación dentro del estero de Tecolutla - Veracruz (Ver. Material y Métodos y Fig. 6). Se aplicó el análisis de Varianza para 3 Factores con repetición. Los resultados observados son de al menos dos repeticiones.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FD
TRAT	53	99.13361	1.870445	3426.191
F.A	5	2.124298	.4248596	778.2373
F.B	2	79.12515	39.56258	72468.81
F.C	2	11.49927	5.749634	10531.9
F.AB	10	1.323547	.1323547	242.441
F.AC	10	.2993164	2.993164E-02	54.82733
F.BC	4	3.960938	.9902344	1813.863
F.ABC	20	.8010865	4.005432E-02	73.36956
ERROR	54	2.947998E-02	5.459256E-04	
TOTAL	107	99.16309	.9267578	

ANOVA 3 FACTORES CON REPETICION

(SRL).

FACTOR A: [] DE NaCl. FACTOR B: ESPECIES. FACTOR C: ESTACIONES.

AVICENNIA GERMINANS. RHIZOPHORA MANGLE. LAGUNCULARIA RACEMOSA.

FRACCION MITOCONDRIAL.

Tabla No. 6, donde se observa la actividad de ATPasa de hojas de mangle (expresada en μ moles de Pi./ mg de Prot./ hr.) de *Avicennia germinans*, *Rhizophora mangle* y *Laguncularia racemosa*, (Frac. Microsomal) en función de incrementar la concentración de cloruro de sodio (desde [0.0] a [400] mM de NaCl) en la mezcla de reacción enzimática y en función de su ubicación dentro del estero de Tecolutla - Veracruz (Ver. Material y Métodos y Fig. 6). Se aplicó el análisis de Varianza para 3 Factores con repetición. Los resultados observados son de al menos dos repeticiones.

ACTIVIDAD DE ATPasa

Amoles de Pi / mg de prot / hr

Frac. soluble (microsomal)

NaCl [] mM	<u>Avicennia</u>				<u>Rhizophora</u>				<u>Laguncularia</u>				
	<u>germinans</u>		<u>mangle</u>		<u>racemosa</u>		<u>racemosa</u>		<u>racemosa</u>		<u>racemosa</u>		
medio de reacción	1	4	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
0.0	2.80 2.84	3.02 3.05	5.27 5.30	4.60 4.65	4.21 4.24	9.95 10.00	10.32 10.17	==== ====	7.25 7.30				
50	2.65 2.63	2.93 2.95	5.15 5.18	4.53 4.52	4.18 4.16	9.58 9.60	9.65 9.73	==== ====	6.73 6.62				
75	2.62 2.60	2.90 2.88	5.00 5.04	4.50 4.47	4.15 4.15	9.10 9.03	9.18 9.23	==== ====	6.31 6.22				
100	2.52 2.55	2.83 2.80	4.90 4.86	4.40 4.40	4.12 4.13	8.68 8.60	9.27 9.20	==== ====	5.90 6.00				
200	2.50 2.45	2.76 2.74	4.90 4.96	4.30 4.26	4.10 4.06	8.03 8.10	8.88 8.90	==== ====	5.83 5.78				
400	2.36 2.31	2.73 2.69	4.81 4.77	4.21 4.18	4.05 4.00	7.42 7.40	8.06 8.20	==== ====	4.90 4.94				
(+)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	====	0.0				
Control (-)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	====	0.0				

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FD
TRAT	53	861.1458	16.24803	14728.71
F.A	5	11.44214	2.288428	2074.441
F.B	2	707.2373	353.6187	320552.4
F.C	2	101.366	50.68299	45943.71
F.AB	10	10.61011	1.061011	961.7976
F.AC	10	.3745117	3.745117E-02	33.94918
F.BC	4	29.74487	7.436219	6740.871
F.ABC	20	.3710938	1.855469E-02	16.81967
ERROR	54	5.957032E-02	1.103154E-03	
TOTAL	107	861.2053	8.048648	

ANOVA 3 FACTORES CON REPETICION.

(SRL).

FACTOR A: [J] DE NaCl. FACTOR B: ESPECIES. FACTOR C: ESTACIONES.

AVICENNIA GERMINANS. RHIZOPHORA MANGLE. LAGUNCULARIA RACEMOSA.

FRACCION MICROSOMAL. (FRAC. SOLUBLE).

Por otro lado es necesario mencionar que hubo un problema (aún no conocido) durante la centrifugación diferencial para aislar el paquete mitocondrial de hojas del mangle *Laguncularia racemosa*. A las hojas colectadas de *L. racemosa*, una vez maceradas y homogeneizadas siguiendo la metodología ya mencionada, se sometieron a centrifugación diferencial.

Durante la primera centrifugación a 500 x g por 10 min. (2,500 rpm) con el objeto de descartar células enteras, membranas celulares y núcleos, se observó que todas las fracciones (organelos como: mitocondrias, cloroplastos, membranas celulares, núcleos, células enteras, frac. microsomal) se aglutinaron y precipitaron (a esta baja velocidad) en un paquete "chicoso", quedando el sobrenadante completamente claro (en el cual no se encontró actividad enzimática -de ATPasa).

Con respecto a lo anterior se sabe que los mangles (*R. mangle*, *L. racemosa*, *R. mucronata* y otros más) contienen una gran cantidad de taninos (\approx 30 al 40%) distribuidos en su corteza, hojas y frutos, así como en menor cantidad en todas las partes del mangle (68).

Los taninos son un grupo heterogéneo de compuestos polihidroxifenólicos cuyos pesos moleculares oscilan entre 600 y 2000 daltons.

La función de los taninos en los mangles es desconocida, pero les atribuyen funciones como agentes alelopáticos, (inhibiendo el crecimiento de otras especies). En condiciones *In Vivo* es posible que los taninos tengan una función de proteger a la planta contra hongos u otros agentes putrefactores (57, 68).

La mayor parte de los taninos de las hojas de los mangles se encuentran secuestrados en las vacuolas donde no pueden desnaturalizar las enzimas citoplasmáticas o inhibirlas (por su fuerte capacidad de unión hacia las proteínas) (57).

La habilidad de los taninos por su gran capacidad de unión hacia las proteínas, carbohidratos y alcaloides quizá sea una de las causas por, las cuales estos compuestos tiendan a formar precipitados gelatinosos o "chiclosos" (57, 68).

Necesariamente estos comentarios relativamente no estudiados e interesantes deben ser tratados y abordados experimentalmente.

DISCUSION Y
CONCLUSIONES

A la preparación mitocondrial de *Rhizophora mangle* se le realizó un estudio polarográfico con la finalidad de estimar su pureza, obteniéndose un C.R. de 4.65 y una relación P/O de 1.7 utilizando al succinato como sustrato (Ver. resultados).

Aunque no se estimó la pureza de las preparaciones mitocondriales en dos especies de mangle (*Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa*), la actividad de ATPasa en éstas preparaciones fue del 70 al 80 % sensible a *Oligomicina*.

La actividad ATPasa de la fracción microsomal (frac. soluble) no fue inhibida por oligomicina.

Se observó que la actividad de ATPasa no se ve alterada o modificada por el efecto secundario que pudiera ejercer el potencial osmótico creado al incrementar la concentración de Na^+ (NaCl) en el medio de incubación de la enzima (Ver. Resultados).

Se observó que la mayor actividad de ATPasa para ambas fracciones (mitocondrial y microsomal) se registró a un pH de 6.5.

Con respecto a los controles positivos y negativos que fueron los siguientes tenemos:

<u>MEDIO DE REACCIÓN [] MM</u>	<u>CONTROL (+)</u>	<u>CONTROL (+)</u>
Buffer Tris-HCl pH: 8.5	0.25	0.1 ml
CaCl ₂	0.020	0.1 ml
ATP	0.025	0.1 ml
H ₂ O	-----	0.6 ml
Muestra Mit. o Mic.	2 a 4 mg_Prot ml 1	0.1 ml
	↓	↓
	100% de Actividad Relativa.	No hay Actividad

<u>MEDIO DE REACCIÓN [] MM</u>	<u>CONTROL (-)</u>	<u>CONTROL (+)</u>
Buffer Tris-HCl pH: 8.5	0.25	0.1 ml
CaCl ₂	0.020	0.1 ml
ATP	0.025	0.1 ml
H ₂ O	-----	0.7 ml
Muestra Mit. o Mic.	2 a 4 mg_Prot ml 1	0.1 ml + 0.2 ml de TCA al 50%
	↓	↓
	No hay Actividad	No hay Actividad

<u>MEDIO DE REACCIÓN</u>	<u>[] MM</u>	<u>CONTROL (+)</u>	<u>CONTROL (+)</u>
Buffer Tris-HCl pH: 8.5	0.25	0.1 ml	0.1 ml
CaCl ₂	0.020	0.1 ml	0.1 ml
ATP	0.025	0.1 ml	0.1 ml
H ₂ O	-----	0.5 ml	0.5 ml
Muestra Mit. y Mic.	2 a 4 mg_Prot ml 1	0.1 ml +	0.1 ml +
		Oligomocina 10 µg/ml [] final.	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.1 mM [] final.
		↓	↓
		30% de Actividad Relativa.	85 - 90% Actividad Relativa.

<u>MEDIO DE REACCIÓN</u>	<u>[] MM</u>	<u>CONTROL (+)</u>
Buffer Tris-HCl pH: 8.5	0.25	0.1 ml
CaCl ₂	0.020	0.1 ml
ATP	0.025	0.1 ml
H ₂ O	-----	0.5 ml
Muestra Mit.	2 a 4 mg_Prot ml 1	0.1 ml +
		Quabaína 1.0 mM [] final.
		↓
		90 - 100% Actividad Relativa.

Se consideró el 100 % de Actividad Relativa de ATPasa para ambas fracciones: mitocondrial y microsomal (frac. soluble) de las tres especies de mangle estudiadas a aquella lectura expresada en actividad específica (μ moles de Pi/mg de Prot./ hr) en la cual las condiciones de la mezcla de reacción enzimática contenía todos los elementos esenciales (ver. *material y métodos*) excepto iones efectores (NaCl) e inhibidores (Oligomicina, Ouabaina).

El molibdato de amonio (0.1 mM) se usó en el medio de incubación de la enzima (de uno de los controles) para inhibir la actividad de fosfatasas (63).

La medición de la actividad ATPasa de todos los controles se realizó en ausencia de iones efectores (Sin NaCl).

Por otro parte observando el análisis de Varianza 2 factores y el análisis de varianza 3 factores tenemos que las interacciones: *Especies - Estaciones edafológicas*; $[Na^+]$ - *Estaciones edafológicas*; el efecto de la $[]$ de NaCl sobre las *Especies estudiadas*, así como su doble y triple interacción, en todos los casos fueron *significativas*.

Mientras más alto sea el valor de $F_{calculada}$, más significativos son los resultados, por supuesto los valores de (F) fueron comparados con los de tablas (F 0.95), (Ver. **Apendice E**).

Los resultados nos indican que:

La $[Na^+]$ (en el medio natural de crecimiento) inhibe la actividad de ATPasa mitocondrial y microsomal en las tres especies de mangle, siendo mayor la inhibición en la especie más halófito y menor en la más "glicófito" (menor halotolerante).

Sin embargo el incremento de la $[NaCl]$ en el medio de incubación de la enzima, inhibe la actividad de ATPasa mitocondrial y microsomal en las tres especies, siendo menor la inhibición en la especie más halófito y mayor en la menos "halófito" (menor halotolerante.)

Existen diferencias en la actividad de ATPasa (mitocondrial y microsomal) entre las tres especies, siendo menor en Avicennia, mayor en el Laguncularia e intermedia en Rhizophora.

En todos los casos, la actividad "normal" de ATPasa microsomal (frac. soluble) en ausencia o presencia de sodio ($NaCl$) es aproximadamente el doble que la mitocondrial.

Parece existir una relación inversa entre la actividad de la enzima y la concentración de sodio (Na^+) en el medio natural edáfico de crecimiento, así como en el medio de incubación de la enzima.

Por otra parte, Jennings (35,36) ha sugerido que el ATP es un factor unificador en la absorción de sodio e incremento en la succulencia y que un incremento de sodio (NaCl) en el medio natural de crecimiento revierte la actividad de una ATPasa activada por sodio localizada en el plasmalema de plantas superiores, originando la síntesis de ATP (ATP sintetasa), constituyéndose en una enzima importante en la adaptación de las plantas superiores a condiciones salinas naturales? (27, 35, 36, 39).

Jennings (35, 36) sugiere la presencia de una bomba de sodio a nivel tonoplasto, la cual consume el ATP sintetizado para transportar el sodio a nivel vacuolar. Este sistema utilizaría al ATP para mantener la turgencia celular, por regulación vacuolar y mantener una tonicidad adecuada contra la presión osmótica que pudiera ejercer el ión sodio? (27, 35, 36, 39, 56).

Se ha sugerido que la ATPasa (o ATP sintetasa) ¿podría ser una enzima importante en la adaptación de los vegetales (plantas superiores) a condiciones salinas y contribuya a dar resistencia a las plantas contra la salinidad? (27, 35, 36, 39, 56).

Por supuesto estos enunciados propuestos por Jennings (35, 36) son puramente teóricos y tienen que ser abordados y comprobados experimentalmente (67).

APENDICE

- A. Cuantificación de Proteína
- B. Cuantificación de Pi
- C. Análisis de Varianza para 2 Factores
- D. Análisis de Varianza para 3 Factores
- E. Percentiles de la distribución F 0.05

**CUANTIFICACION DE PROTEINA
POR EL METODO DE BRADFORD**

(Un método sensible y rápido para cuantificar proteína)

REACTIVOS:

Solución de azul de Coomassie G-250: Disolver 100 mg en 50 ml de etanol al 95%, agregar 100 ml de H_3PO_4 al 85% (W/V), aforar a un litro.

METODOLOGIA:

- 1.- Pipetear en un tubo de ensayo (de 12 X 100)mm 0.1 ml de la solución de proteína conteniendo entre 10 y 100 μ g.
- 2.- Agregar 5 ml de reactivo de azul de Coomassie y mezclar por inversión o vortex.
- 3.- Medir la absorbancia a 595 nm después de dos minutos y antes de media hora.
- 4.- El blanco deberá contener un buffer adecuado o solución salina 0.15 M y 5 ml de reactivo de azul de Coomassie brillante G-250.
- 5.- Elaborar la curva patrón, graficando absorbancia & concentración de proteína (μ g) utilizando como solución estándar albúmina de suero de bobino (BSA).

CUANTIFICACION DE FOSFORO INORGANICO

(Método de Taussky y Shorr)

REACTIVOS:

Reactivo de color (preparar cada vez que se utilice), mezclar 4 ml de molibdato de amonio al 16% en H_2SO_4 10N, 36 ml de H_2O destilada y 2g de $FeSO_4 \cdot 7H_2O$.

Acido tricloroacético 0.5N (TCA).

Fosfato monobásico de potasio 1.0 mM (KH_2PO_4).

METODOLOGIA:

- 1.- A la muestra que contiene hasta 1.0 μ moles de Pi (Fósforo inorgánico), agregar TCA 0.5N hasta que el volumen sea de 2.0 ml. Mezclar.
- 2.- Agregar 1 ml de reactivo de color. Mezclar.
- 3.- Preparar blanco de reactivo con 2 ml de TCA 0.5N y 1 ml de reactivo de color.
- 4.- Leer la absorbancia a 660 η m. El color es estable al menos durante 30 minutos a temperatura ambiente. Si la muestra contiene sustancias lábiles (como el ATP) con ácido, es recomendable almacenar los tubos en hielo después que el color se ha desarrollado.
- 5.- La curva patrón se contruye utilizando de 0.1 a 1.0 μ moles de Pi en incrementos de 0.1 μ mol.

LIST

```
LIST 100-5000
100 CLS
200 PRINT:PRINT:PRINT:PRINT
300 LOCATE 10,5:PRINT,, "ANALISIS DE VARIANZA PARA"
400 LOCATE 12,5:PRINT,, "      DOS FACTORES      "
410 LOCATE 14,5:PRINT,, "      PUEDES UTILIZAR ESTA PRUEBA CON 5 NIVELES DE CADA"
420 LOCATE 16,5:PRINT,, "      FACTOR Y HASTA 15 REPETICIONES      "
500 FOR Z=0 TO 4000:NEXT Z:CLS
600 A1=0:B1=0
700 H1=0:Y=0
800 Y2=0:Z2=0
900 LOCATE 12,5:INPUT"NUMERO DE NIVELES DEL FACTOR A";N1
1000 CLS
1100 LOCATE 12,5:INPUT"NUMERO DE NIVELES DEL FACTOR B";N2
1200 CLS
1300 LOCATE 12,5:INPUT"NUMERO DE REPETICIONES";N3
1400 CLS
1500 G=N1*N2*N3
1600 FOR I=1 TO N1
1700 FOR J=1 TO N2
1800 FOR K=1 TO N3
1900 LOCATE 12,5:PRINT"FACTOR A" I "FACTOR B" J "REPETICION" K:; INPUT X(I,J,K)
2000 CLS
2100 NEXT K:NEXT J
2200 NEXT I
2300 FOR I=1 TO N1
2400 FOR J=1 TO N2
2500 FOR K=1 TO N3
2600 LOCATE 12,5:PRINT"FACTOR A" I "FACTOR B" J "TRATAMIENTO" K: "X(I,J,K)
2700 FOR Z=0 TO 2000:NEXT Z:CLS
2800 NEXT K:NEXT J
2900 NEXT I
3000 LOCATE 12,5:PRINT"DESEAS HACER ALGUNA CORRECCION":; INPUT Q$
3100 IF Q$="N" OR Q$="n" THEN GOTO 3800
3200 IF Q$="S" OR Q$="s" THEN PRINT"CUAL ES EL ERROR"
3300 INPUT"NIVEL DEL FACTOR A";I
3400 INPUT"NIVEL DEL FACTOR B";J
3500 INPUT"NUMERO DE TRATAMIENTO";K
3600 PRINT"VALOR ACTUAL:"X(I,J,K):; INPUT
3700 CLS:GOTO 2300
3800 FOR I = 1 TO N1
3900 FOR K=1 TO N3
4000 Z=0
4100 FOR J=1 TO N2
4200 Y=Y+X(I,J,K)
4300 Y2=Y2+X(I,J,K)^2
4400 Z=Z+X(I,J,K)
4500 A(I)=A(I)+X(I,J,K)
4600 B(J)=B(J)+X(I,J,K)
4700 H(I,J)=H(I,J)+X(I,J,K)
4800 NEXT J
4900 Z2=Z2+Z^2
5000 NEXT K
0
```

```

LIST 5000-9650
5000 NEXT K
5100 A1=A1+A(I)^2
5200 NEXT I
5300 FOR J=1 TO N2
5400 FOR I=1 TO N1
5500 H1=H1+H(I,J)^2
5600 NEXT I
5700 B1=B1+B(J)^2
5800 NEXT J
5900 C=Y^2/G
6000 S1=S1+Z2/N2-C
6100 S2=Y2-S1-C
6200 T1=A1/(N2*N3)-C
6300 T2=B1/(N1*N3)-C
6400 T3=H1/N3-T1-T2-C
6500 E1=S1-T1
6600 E2=S2-T2-T3
6700 D0=N1*N2-1
6800 D1=N1-1:D2=N2-1
6900 D3=D1*D2
7000 D4=N1*N3-D1-1:D5=N1*N2*(N3-1)
7100 V1=T1/D1:V2=T2/D2
7200 V3=T3/D3:V4=E1/D4
7300 V5=E2/D5
7400 M=((H1/N3)-C)/(((Y2-C)-((H1/N3)-C))/D5)
7500 N=V1/(((Y2-C)-((H1/N3)-C))/D5)
7600 L=V2/(((Y2-C)-((H1/N3)-C))/D5)
7700 P=V3/(((Y2-C)-((H1/N3)-C))/D5)
7800 CLS
7900 PRINT:PRINT:PRINT
8000 PRINT"F.V","G.L","S.C. ","C.M. ","Fo"
8100 PRINT"-----"
"
8200 PRINT:PRINT:PRINT
8300 PRINT"TRAT",D0,(H1/N3)-C,((H1/N3)-C)/D0,M
8400 PRINT:PRINT
8500 PRINT"FAC.A",D1,T1,V1,N
8600 PRINT
8700 PRINT"FAC..B",D2,T2,V2,L
8800 PRINT
8900 PRINT"FAC.AB",D3,T3,V3,P
9000 PRINT
9100 PRINT"ERROR",D5,(Y2-C)-((H1/N3)-C),((Y2-C)-((H1/N3)-C))/D5
9200 PRINT
9300 PRINT"TOTAL",G-1,Y2-C,
9400 PRINT:PRINT
9500 PRINT"-----"
"
9600 INPUT"TECLE RETURN PARA REGRESAR AL MENU PRINCIPAL";S#
9650 CLS
0

```

LIST LIST

lcls

```
LIST 100-4100
100 CLS
200 PRINT:PRINT:PRINT:PRINT
300 LOCATE 10,5:PRINT,,"ANALISIS DE VARIANZA PARA"
400 LOCATE 12,5:PRINT,,"      TRES FACTORES      "
410 LOCATE 14,5:PRINT,"PUEDES UTILIZAR SOLO 5 NIVELES POR CADA FACTOR"
420 LOCATE 16,5:PRINT,"      COMO MAXIMO CON 20 REPETICIONES      "
500 FOR Z=0 TO 3000:NEXT Z:CLS
600 A1=0:B1=0
700 H1=0:Y=0
800 Y2=0:Z2=0
850 C1=0:O1=0
875 P1=0:Q1=0
900 LOCATE 12,5:INPUT"NUMERO DE NIVELES DEL FACTOR A";N1
1000 CLS
1100 LOCATE 12,5:INPUT"NUMERO DE NIVELES DEL FACTOR B";N2
1200 CLS
1210 LOCATE 12,5:INPUT"NUMERO DE NIVELES DEL FACTOR C";N3
1220 CLS
1300 LOCATE 12,5:INPUT"NUMERO DE REPETICIONES";N4
1400 CLS :DIM X(N1,N2,N3,N4)
1401 DIM A(N1),B(N2),H(N3),C(N3)
1402 DIM O(N1,N2),P(N1,N3),Q(N2,N3)
1500 G=N1*N2*N3*N4
1600 FOR I=1 TO N1
1700 FOR J=1 TO N2
1730 FOR K=1 TO N3
1800 FOR L=1 TO N4
1900 LOCATE 12,5:PRINT"FACTOR A" I "FACTOR B" J "FACTOR C" K "REPETICION" L
1910 INPUT X(I,J,K,L)
2000 CLS
2100 NEXT L:NEXT K
2200 NEXT J:NEXT I
2300 FOR I=1 TO N1
2400 FOR J=1 TO N2
2500 FOR K=1 TO N3
2550 FOR L=1 TO N4
2600 LOCATE 12,5:PRINT"FACTOR A" I "FACTOR B" J "FACTOR C" K "REPETICION" L: "X(I,J,K,L
)
2700 FOR Z=0 TO 2000:NEXT Z:CLS
2800 NEXT L:NEXT K
2900 NEXT J:NEXT I
3000 LOCATE 12,5:PRINT"DESEAS HACER ALGUNA CORRECCION";:INPUT Q$
3100 IF Q$="N" OR Q$="n" THEN GOTO 3800
3200 IF Q$="S" OR Q$="s" THEN PRINT"CUAL ES EL ERROR"
3300 INPUT"NIVEL DEL FACTOR A";I
3400 INPUT"NIVEL DEL FACTOR B";J
3450 INPUT"NIVEL DEL FACTOR C";K
3500 INPUT"NUMERO DE TRATAMIENTO";L
3600 PRINT"VALOR ACTUAL:"X(I,J,K,L);: INPUT"      NUEVO VALOR:";X(I,J,K,
L)
3700 CLS:GOTO 2300
3800 FOR I=1 TO N1
3900 FOR J=1 TO N2
4000 FOR L=1 TO N4:Z=0
4100 FOR K=1 TO N3
```

```

LIST 4200-8500
4200 A(I)=A(I)+X(I,J,K,L)
4300 B(J)=B(J)+X(I,J,K,L)
4400 C(K)=C(K)+X(I,J,K,L)
4450 H(K)=H(K)+X(I,J,K,L)
4500 O(I,J)=O(I,J)+X(I,J,K,L)
4600 P(I,K)=P(I,K)+X(I,J,K,L)
4700 Q(J,K)=Q(J,K)+X(I,J,K,L)
4800 Y=Y+X(I,J,K,L)
4900 Y2=Y2+X(I,J,K,L)^2
4950 Z=Z+X(I,J,K,L)
5000 NEXT K
5100 Z2=Z2+Z^2
5200 NEXT L
5300 FOR K=1 TO N3
5400 C1=C1+C(K)^2
5500 C(K)=O
5600 NEXT K
5700 O1=O1+O(I,J)^2
5800 NEXT J
5900 A1=A1+A(I)^2
6000 NEXT I
6100 FOR J=1 TO N2
6200 B1=B1+B(J)^2
6300 FOR K=1 TO N3
6400 Q1=Q1+Q(J,K)^2
6450 H1=H1+H(K)^2
6470 H(K)=O
6500 NEXT K:NEXT J
6600 FOR I=1 TO N1
6650 FOR K=1 TO N3
6700 P1=P1+P(I,K)^2
6750 NEXT K
6800 NEXT I
6900 FC=Y^2/G
7000 D=C1/N4
7100 D1=A1/(N2*N3*N4)
7200 D2=B1/(N1*N3*N4)
7300 D3=H1/(N1*N2*N4)
7400 D4=O1/(N3*N4)
7410 D5=Q1/(N1*N4)
7420 D6=P1/(N2*N4)
7500 SCTR=D-FC
7600 SCA=D1-FC
7700 SCB=D2-FC
7800 SCC=D3-FC
7900 SCAB=D4-D1-D2+FC
8000 SCAC=D6-D1-D3+FC
8100 SCBC=D5-D2-D3+FC
8200 SCABC=D-D4-D5-D6+D1+D2+D3-FC
8300 SCT=Y2-FC
8400 SCE=SCT-SCTR
8408 S=(N1*N2*N3)-1
8410 S1=N1-1
8412 S2=N2-1
8414 S3=N3-1
8416 S4=(N1-1)*(N2-1)
8418 S5=(N1-1)*(N3-1)
8420 S6=(N2-1)*(N3-1)
8422 S7=(N1-1)*(N2-1)*(N3-1)
8424 S8=(N1*N2*N3)*(N4-1)
8426 S9=(N1*N2*N3*N4)-1
8500 CLS

```

cls

LIST 5 500-10000

8500 CLS

8600 PRINT"F.V.", "G.L.", "S.C.", "C.M.", "FD"

8700 PRINT"

8800 PRINT

8900 PRINT"TRAT", S, SCTR, SCTR/S, (SCTR/S) / (SCE/S8)

9000 PRINT"F.A", S1, SCA, SCA/S1, (SCA/S1) / (SCE/S8)

9100 PRINT"F.B", S2, SCB, SCB/S2, (SCB/S2) / (SCE/S8)

9200 PRINT"F.C", S3, SCC, SCC/S3, (SCC/S3) / (SCE/S8)

9300 PRINT"F.AB", S4, SCAB, SCAB/S4, (SCAB/S4) / (SCE/S8)

9400 PRINT"F.AC", S5, SCAC, SCAC/S5, (SCAC/S5) / (SCE/S8)

9500 PRINT"F.BC", S6, SCBC, SCBC/S6, (SCBC/S6) / (SCE/S8)

9600 PRINT"F.ABC", S7, SCABC, SCABC/S7, (SCABC/S7) / (SCE/S8)

9700 PRINT"ERROR", S8, SCE, SCE/S8

9800 PRINT"TOTAL", S9, SCT, SCT/S9

9900 PRINT

10000 PRINT"

(Tabla J, continuación)

 $F_{.95}$

Grados de libertad del denominador	Grados de libertad del numerador								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.17	2.09	2.02	1.96
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88

AGRADECIMIENTOS

* Le doy las gracias al C. Téc. Académico *JOSE AGUIRRE S.* por su ayuda en la cuantificación de cationes. Las mediciones se obtuvieron por espectrofotometría de absorción atómica.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ayala Castañares A. (1969). An Inst. Biol. U.N.A.M. México.
40:1-40.
- 2.- Bradford, M. M. (1976). Anal. Biochem. 72:248-254.
- 3.- Braun, Y., Hassidim, M., Lerner, H. R., and Reinhold, L.
(1986). Plant Physiol. 81:1050-1056.
- 4.- Briskin, P. D., and Ronald, J. Poole. (1983). Plant Physiol.
71:350-355.
- 5.- Briskin, P. D., and Ronald, J. Poole. (1983). Plant Physiol.
71:969-971.
- 6.- Briskin, P. D., and Ronald, J. Poole. (1984). Plant Physiol.
76:26-30.
- 7.- Caldwell, C. R., and Haug, A. (1980). Physiol. Plant.
50:183-193.
- 8.- Calvin Mac. Millan. (1974). A review. Academic Press New
York and London.
- 9.- Chanson, A., McNaughton, E., and Taiz L. (1984). Plant
Physiol. 76:498-507.
- 10.- Cintrón, G., Lugo, A. E., y Morris , G. (1978). Biotrópica.
10(2):110-121.
- 11.- Cintrón, G., Schaeffer-Novelli, Y. (1983). Oficina Regional
de Ciencia y Tecnología de la UNESCO. Montevideo-Uruguay.
U.N.E.S.C.O.

- 12.- Cross, R. L. (1981). Ann Rev. Biochem. 50:681.
- 13.- Cuatrecasas, J. (1958). Boletín de la Sociedad Botánica de México. México. 23:84-98.
- 14.- Diaz Zagoya, J. C., y Hicks, J, J. (1988). Bioquímica e Inmunología. U.N.A.M. México. p.p:461-475.
- 15.- Dodds and Ells, R. J. (1966). Biochem. J. 101:31pp.
- 16.- Dominy, P. J., and Heath, L. R. (1985). Plant Physiol. 77:43-45.
- 17.- Douce, R., Moore, A. L., and Neubunger, M. (1977). Plant Physiol. 60:625.628.
- 18.- Drennan, P. and Pammenter, N. W. (1982). New Phytol. 91:597-606.
- 19.- Epstein, E. (1955). Plant Physiol. 30:529-535.
- 20.- Field, C. D. (1976). Nature. Vol:264. December.
- 21.- Fisher, J. and Hodges, T. K. (1969). Plant Physiol. 44:385-395.
- 22.- Fisher, J. D., Handen, D., and Hodges, T. K. (1970). Plant-Physiol. 46:812-814.
- 23.- Gómez Puyou, A., y Tuena de Gómez, M. (1983). Bioenergética en La Biología Contemporánea. U.N.A.M. México. p.p:133-158. Publishers, Inc.

- 24.- Flowers, T. J., Troke, P. F., Yeo, A. R. (1977). Ann Rev. Plant Physiol. 28:89-121.
- 25.- Gordon, E. Anthon., and Roger, M. Spanswick. (1968). Plant Physiol. 81:1080-1085.
- 26.- Greenwayand, H. R. (1980). Ann. Rev. Plant Physiol. 31:149-190.
- 27.- Hansoon, G., and Kylin, A. (1969). Physiol. Plant. 28:430-435.
- 28.- Havarstein, L. S., and Niseen, P. (1981). Plant Physiol. 68:597-604.
- 29.- Hafeti, Y. (1985). Ann Rev. Biochem. 54:1015.
- 30.- Hinkle, P. C., and McCarty, R. E. (1978). Scientific American. 238(3):104.
- 31.- Horovits, C. T., and Waisel, Y. (1970). Porc, 18th Internatl Hort. Congress Tel-Aviv. 89p.
Horivits, C. T., and Waisei, Y. (1970). Experientia. 26/9:941-942.
- 32.- Ikuma, Hiroshi., and Bonner, W. D. (1967). Plant Physiol. 42:67-75.
- 33.- Ikuma, Hiroshi. (1970). Plant Physiol. 45:773-781.
- 34.- Imbrie, W. C. and Murphy, M. T. (1984). Plant Physiol. 74:611-616.

- 35.- Jennings, D. H. (1967). *New Phytol.* 66:357-369.
- 36.- Jennings, D. H. (1968). *New Phytol.* 67:899-911.
- 37.- Kähr, Max Moller. (1976). *Physiol. Plant.* 38:153-158.
- 38.- Kathleen, A. Churchill., and Sze, Heven. (1983). *Plant Physiol.* 71:610-617.
- 39.- Kylin, A., and Gee, R. (1970). *Plant Physiol.* 45:169-172.
- 40.- Kylin, A., and Kähr, M. (1973). *Physiol. Plant.* 28:452-457.
- 41.- Kramer, P. J. (1974). *Relaciones Hidricas de Suelo y Plantas.* Edutex. México.
- 42.- Kramer, D. (1983). *Physiol. Plant.* 58:549-555.
- 43.- Kubowicz, B. D., Vanderhoef, L. N., and Hanson, J. B. (1982). *Plant Physiol.* 69:187-191.
- 44.- Kuiper, D. (1982). *Plant Physiol.* 56:436-443.
- 45.- László, E., and Kuiper, C. J. P. (1980). *Physiol. Plant.* 49:71-77.
- 46.- Lehninger, A. L. (1982). *Biochemistry.* 2th edition. Worth Publishers, Inc. New York.
- 47.- Lehninger, A. L. (1984). *Principles of Biochemistry.* 3th edition. Worth Publishers, Inc. New York.
- 48.- Leonard, R. T., Hotchkiss, C. W. (1976). *Plant Physiol.* 58:331-335.

- 49.- Lindberg, S. (1980). *Physiol. Plant.* 48:65-70.
- 50.- Livne, A., Levin, N. (1967). *Plant Physiol.* 42:407-414.
- 51.- Lugo, A. E., Cintrón, G., y Goena, C. (1980). *Oficina Regional de Ciencia y Tecnología para América Latina y el Caribe.* Montevideo.
- 52.- McMurchie, J. E., and Pomeroy, K. M. (1981). *Plant Physiol.* 68:626-630.
- 53.- Monserrad, L. S., Castellanos, T., Padilla, G., Romero, L. A. (1980). *Ciencia y Desarrollo. Conacyte.* No. 30.
- 54.- Porath, E. H., and Poljakoff-Mayber, A. (1971). *Plant Physiol.* 47:109-113.
- 55.- Perlin, S. D., and Spanswick, M. R. (1981). *Plant Physiol.* 68:521-526.
- 56.- Rains, D. W. (1972). *Ann. Rev. Plant Physiol.* 23:367-388.
- 57.- Salisbury, F. B. (1978). *Plant Physiol.* Wansworth Publishing Company, Inc.
- 58.- Sanchez, R. M. E. (1963). *Departamento de Botánica. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. I.P.N. México.*
- 59.- Scholander, P. F. et-al. (1962). *Plant Physiol.* 37:722-729.
- 60.- Scholander, P. F. et-at. (1966). *Plant Physiol.* 41:529-532.
- 61.- Scholander, P. F. (1968). *Plant Physiol.* 21:251-261.

- 62.- Skou, J. C. (1965). *Physiol. Rev.* 45:596-617.
- 63.- Stephen. K. Randall., Yanzhi. Wang., and Heven Sze. (1985).
Plant Physiol. 79:957-962.
- 64.- Stok, B. P., Tanczos, O. G., Kähr, M., (Bep) Stuijven, C. E.
E., Kylin, A., and Kuiper, P. J. C. (1981). *Phisio. Plant.*
52:115-123.
- 65.- Taussky, H., and Shorr, E. J. (1953). *J. Biol. Chem.*
202:670-675.
- 66.- Vakmistrov, D. B., Tikhaya, N. I. y Mishutina, N. E. (1982).
Physiol. Plant. 55:155-160.
- 67.- Waisel, Yoav. (1972). *Biology of Halophytes.* Academic Press
New York and London.
- 68.- Walsh, G. E. (1974). *Mangroves. A review. Ecology of*
Halophytes. Academic Press New York and London.
- 69.- White, A., Handler, P., Smith, E. L., Hill, R. L., and
Lehman, I. R. (1978). *Principles of Biochemistry.* 6th
edition. McGraw. Hill Book Company. U.S.A.
- 70.- Wingstrand, G., and Lindberg, S. (1982). *Physiol. Plant.*
56:333-338.
- 71.- Wayne, W. Daniel. (1983). *Bioestadística.* 4 ed. Limusa.
México. p.p:222-241.
- 72.- Zar, J. H. (1974). *Biostatiscal Analysis.* Prentice-Hall.
Englewood Cliffs, N, J.