

03067 2

CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE ALGUNOS ASPECTOS ESTRUCTURALES Y  
BIOQUIMICOS DEL PASTO MARINO *Ruppia maritima*.

TESIS DE MAESTRIA EN OCEANOGRAFIA BIOLOGICA Y PESQUERA  
UNIDAD ACADEMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES Y DE POSGRADO DEL  
COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

1993

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Biol. Ma. Bárbara Reveles González



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 está 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.

## RESUMEN

En el presente trabajo se utilizaron muestras de *Ruppia maritima* de los sistemas lagunares Alvarado, Sontecomapan y Nichupté. Se realizaron análisis de morfología y ultraestructura de *Ruppia maritima*; se estudió la relación entre el arreglo de cloroplastos y la actividad fotosintética y también se aislaron ácidos grasos y flavonas de la planta. Se obtuvo información referente al desarrollo de los frutos, el doble serrulamiento en el ápice de la hoja, la diferencia en el tamaño existente entre las células que rodean los canales aéreos y las de la epidermis; los septos que dividen en varios compartimientos los canales aéreos a lo largo de la hoja y los diferentes tamaños de los cloroplastos. Se describieron las tres fases del movimiento orientado de los cloroplastos (antistrophe, parastrophe y peristrophe) y se corroboró la relación entre estos movimientos y el incremento en la absorbancia. Se obtuvieron como ácidos grasos predominantes: palmítico, esteárico, palmitoléico, oléico, linoléico, arquídico y mirístico. Se determinaron como flavonas más representativas: flavonol, flavonas, isoflavonas, flavanonas (Liquiritigenina, Pinocembrina, Aureosidina y Acacetina) además de los esteroides: 26 amino 3,6 dihidroxi-colestano y 26 amino 3 hidroxicolest-5-en-7-ona.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DE ALGUNOS ASPECTOS ESTRUCTURALES Y  
BIOQUIMICOS DEL PASTO MARINO *Ruppia maritima*.

CONTENIDO

RESUMEN

INTRODUCCION

ANTECEDENTES

AREA DE ESTUDIO

MATERIAL Y METODOS

Técnicas fotográficas.

Movimiento de cloroplastos

Aislamiento de fracciones lipídicas y ácidos grasos

Aislamiento de flavonas

RESULTADOS

Parámetros ambientales

Aspectos estructurales de *Ruppia maritima*

Relación entre el arreglo de cloroplastos y la actividad  
fotosintética.

Aislamiento de ácidos grasos

Aislamiento de flavonas

DISCUSION

ABREVIATURAS UTILIZADAS

BIBLIOGRAFIA

## INTRODUCCION

La fotosíntesis es la primera etapa del flujo de energía a través de la biosfera y ha sido definida como el empleo de la luz solar por las células de las plantas para efectuar la biosíntesis que es fundamental para todos los organismos (Lehninger, 1978; Dring, 1982; Foyer, 1987).

Existe la concepción errónea de que la mayor parte de la fotosíntesis la realizan las plantas superiores. En realidad más de la mitad de toda la fotosíntesis que se produce sobre la superficie de la tierra, la realizan las algas microscópicas de los océanos (las diatomeas y los dinoflagelados), así como las plantas acuáticas vasculares entre las cuales predominan los pastos marinos (Dring, 1982).

Los responsables de la transducción de la energía en todos los organismos fotoautotróficos, son los pigmentos fotosintéticos que se encuentran unidos a estructuras membranosas. En las plantas superiores, estas estructuras membranosas se hayan concentradas en los cloroplastos, organelos celulares específicos. Las reacciones luminosas (producción de  $O_2$ , ATP y NADPH) y las oscuras (formación de glucosa) tienen lugar en los cloroplastos (Halliwell, 1984).

La transducción de energía en organelos celulares como cloroplastos y mitocondrias se encuentra acoplada al transporte de electrones por medio de una diferencia de potencial electroquímico (Halliwell, 1984; Hooper, 1984 y Foyer, 1987).

La captación de la energía luminosa y su almacenamiento en forma de ATP, se lleva a cabo en organelos con sistema de doble membrana como cloroplastos y mitocondrias; en los cloroplastos la obtención de la energía se realiza por medio de la fotosíntesis.

En el mundo existen cerca de 48 especies de pastos marinos (Phillips y Meñez, 1988) de los cuales en la Republica Mexicana encontramos 10 siendo los mejor representados y estudiados *Thalassia testudinum* y *Zostera marina* (De la Lanza y Tovilla, 1986). De los estudios realizados en estas especies se encontraron trabajos referentes a aspectos bioquímicos como contenido de flavonas, ácidos grasos y su distribución (Walsh y Grow, 1972; Mc Millan, et. al. 1980 a,b).

Los pastos marinos constituyen un habitat que es utilizado como área de crianza, reproducción, fuente de alimentación y en donde se almacenan nutrientes que sirven para que especies de importancia ecológica y/o económica encuentren un medio ambiente adecuado para su desarrollo (Phillips, 1960 y 1988; Wood et. al., 1969; Kikuchi y Pérés, 1977; Thayer et. al. 1984 y De La Lanza y Tovilla, 1986).

Los pastos marinos han sido catalogados como sistemas de alta productividad (Patrinquin, 1973, Zieman, 1974; Ibarra, 1985; de la Lanza y Tovilla, 1986) lo que está directamente relacionado con su alta tasa fotosintética y esto a su vez con procesos bioquímicos como: la transducción de la energía luminosa en energía química a través de los cloroplastos, la producción de compuestos como ácidos grasos, fracciones lipídicas y flavonoides (Markham, 1982; Thayer et. al., 1984).

Se estima que cerca del 2% de todo el carbon fotosintetizado por las plantas (o cerca del  $1 \times 10^9$  toneladas por año), se convierte en flavonoides o compuestos cercanamente relacionados a éstos (Markham, 1982). Este tipo de compuestos han sido estudiados de manera extensa en las plantas superiores terrestres, obteniéndose información de las multiples y variadas propiedades de los mismos: inhibidores de diversos sistemas enzimáticos como AMP cíclico, fosfodiesterasa, cicloxigenasa, lipoxigenasa. Así mismo, se les

atribuyen diversas actividades farmacológicas como antimicóticos y bactericidas, para el desarrollo o inhibición del crecimiento de nódulos en las raíces de varias especies. Según la clasificación de Wittaker y Feeny (1971) se les adjudican propiedades de repelentes, supresivos, venenos, autoinhibidores, inductores de crecimiento atractores para predadores entre otros. Los flavonoides que han sido relacionados directamente con las plantas acuáticas son los flavonoides sulfatados atribuyéndose a éste su alta solubilidad y polaridad (Harborne *et. al.*, 1975).

Las flavonas y los ácidos grasos han sido considerados como indicadores ecológicos (Whittaker, 1971; Barber, 1981) estando sus concentraciones directamente relacionadas con factores climáticos (García, *et. al.* 1989), así como porque las plantas que habitan en lugares salinos requieren de adaptaciones con las que puedan soportar las altas concentraciones de sales inorgánicas, considerandose a la vía de producción de flavonas como una ruta de inactivación o acumulación de sulfato inorgánico (Mc. Millan *et. al.*, 1980b). También tienen importancia como bactericidas y fungicidas, además de incrementar las concentraciones de amonio y nitrógeno en los sedimentos en donde las hojas pasan a un estado de descomposición (Phillips y Meñez, 1988).

El movimiento orientado de cloroplastos ha sido descrito por diversos autores y está regido por la luz (Seitz, 1971, 1979; Haupt, 1982, 1983; Takagi y Nagai, 1985; Benavides *et. al.* 1987, 36; Salcedo, 1991). Así mismo se ha descrito el movimiento citoplasmático, también conocido como ciclosis o rotacional; en general los movimientos pueden ocurrir en un sentido o al inverso, también pueden tener diversas velocidades y estos tienen patrones particulares para cada especie (Seitz, 1979; Haupt, 1983).

La luz afecta directamente a este movimiento de diferentes formas, este fenómeno lleva el nombre de fotocinesis. Lo más relevante en

este caso es que los cloroplastos siempre serán encontrados en posición diferente a la que se situaban antes del movimiento (Mohr, 1972)

Han sido estudiados tres patrones de distribución; uno ha sido llamado "antistrophe" o de cara y "parastrophe" o de canto, mostrando así la diferencia funcional con respecto a la habilidad para la absorción de luz (arreglos de baja y alta intensidad) (Haupt, 1982 y Benavides, 1987). El último patrón de distribución obedece a la obscuridad encontrándose los cloroplastos situados aleatoriamente en la célula ("peristrophe") (Haupt, 1983).

Como ya se mencionó todos estos arreglos o distribuciones están relacionados con la luz, el tiempo de exposición, su intensidad y también en la dirección en la que ésta es percibida por los cloroplastos relacionándose con el arreglo de cada uno de los fotopigmentos que contienen las células. Algo que no debemos olvidar es el mecanismo de movimiento a nivel molecular y que está regido por microfilamentos de actina dando como resultado un movimiento mecánico (Mohr, 1972; Takagi y Nagai, 1985; Anderson y Andersson, 1988).

Para éste trabajo se eligió a *Ruppia maritima* por ser una especie que no ha sido estudiada ampliamente; por presentar características morfológicas adecuadas para poder llevar a cabo las diferentes técnicas como son: el tamaño de las hojas y las dos capas de células que las constituyen; además de su fácil colecta y manipulación en el laboratorio.

Los procesos bioquímicos antes mencionados no han sido estudiados en el pasto marino *Ruppia maritima* al igual que parte de su ultraestructura, su distribución geográfica y el movimiento orientado de cloroplastos que no ha sido estudiado en ningún pasto marino por lo que se plantean para este trabajo como objetivos:



- a) Conocer los aspectos ultraestructurales de la hoja fruto, inflorescencia y polen de *Ruppia maritima*.
- b) Determinar la relación entre el arreglo de los cloroplastos y la actividad fotosintética.
- c) Aislar los tipos de ácidos grasos y fracciones lipídicas que contiene *Ruppia maritima* y poder establecer comparaciones entre los tres sistemas lagunares.
- d) Aislar los tipos de flavonas que contiene *Ruppia maritima* y poder establecer comparaciones entre los tres sistemas lagunares.
- e) Conocer algunos aspectos de la distribución geográfica de *Ruppia maritima* en base a los parámetros ambientales y a toda la información recopilada en este estudio.

## ANTECEDENTES

Como ya se mencionó anteriormente *Ruppia maritima* ha sido estudiada en menor grado que otros pastos marinos. Dentro de los estudios realizados se pueden señalar los que se relacionan con aspectos morfológicos (Sauvageau, 1891; Phillips, 1960; Gamarro, 1968; McRoy y McMillan, 1977; Dahlgren, et.al., 1985 Seeliger et. al., 1984; Novelo, 1991) que tratan en su mayoría la forma, tamaño, aspectos fenológicos y germinación.

Aspectos abióticos como son el tipo de sedimento, parámetros ambientales como la temperatura, salinidad, profundidad han sido abordados por autores como Phillips (1960), González (1977) y Felger et. al. (1980) y su contenido de proteínas, carbohidratos y elementos traza por Walsh y Grow (1972).

Parámetros ecológicos como productividad, cadenas tróficas, aspectos de distribución geográfica de esta especie han sido mencionados por Jordán et. al. (1978); Amezcua y Yáñez (1980); Dring (1982); Ibarra (1985); Lot et. al. (1986); Reyes (1988) y Novelo (1991).

Algo que permite destacar la relevancia de esta investigación es el hecho de que no fueron encontradas referencias bibliográficas en las que se incluyera a *Ruppia maritima* como especie en estudio.

Los trabajos que sirven de referencia para poner en práctica técnicas así como algunas de las teorías que sustentan esta investigación son: en lo referente a movimiento orientado de cloroplastos Smith y Epstein (1971); McRoy y McMillan (1977); Benedict y Scott (1976); Browse et. al. (1977, 1980); Andrews y Abel (1979); Macko (1981); Nultsch et. al. (1981); Haupt (1982, 1983); Benavides et. al. (1987); Anderson y Andersson (1988). Para

el estudio de flavonas se consultaron los trabajos de McMillan (1980a, b y 1981); Markham (1982); Barbier (1981); Hooper (1984); Hartwig et. al. (1990). Para ácidos grasos se utilizaron los trabajos de: Jamieson y Reid (1965); Jellum y Worthigton (1966); Pielou (1979); Thayer et. al. (1984) y García et. al. (1989).

## AREA DE ESTUDIO

Para el presente trabajo se utilizó *Ruppia maritima* colectada en tres sistemas lagunares pertenecientes al Golfo de México y el Mar Caribe (Sistema Lagunar Alvarado-Buen-País-Camaronera; la laguna de Sontecomapan y la laguna de Nichupté Fig. 1) con el fin de establecer comparaciones en la composición química de ésta especie.

### SISTEMA LAGUNAR ALVARADO-BUEN PAIS-CAMARONERA:

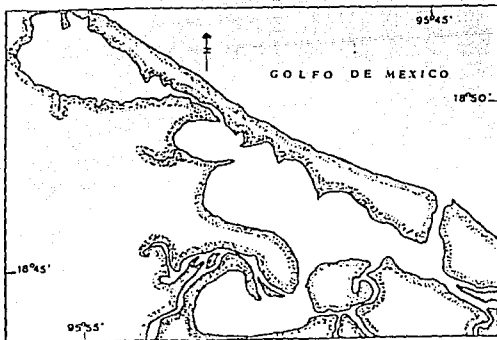
El sistema lagunar Alvarado-Buen-País-Camaronera se encuentra localizado al sureste del estado de Veracruz entre los paralelos 18° 46' y 18° 42' latitud norte y los meridianos 95° 34' y 95° 58' de longitud oeste.

Este sistema tiene una forma alargada, su longitud aproximada es de 26 km desde la punta oeste de la Isla de Vives hasta el extremo noreste de la laguna Camaronera (Flores y Méndez, 1982) y abarca un área de 86,609 km<sup>2</sup> (Villalobos et. al. 1966).

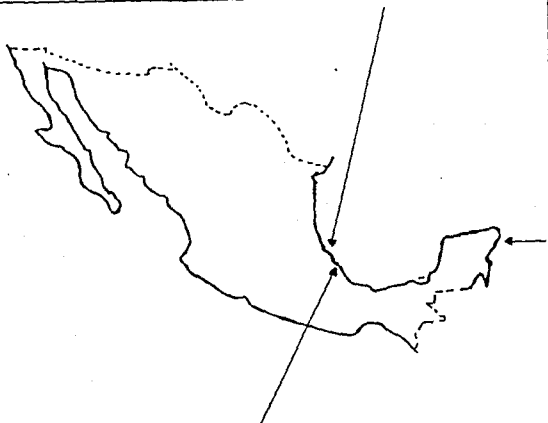
García (1973) sitúa a este sistema dentro de la región hidrológica 28 con un clima Aw''(i). Con respecto al tipo de sedimentos Carranza, et. al. (1975) incluye a este sistema dentro de la unidad morfoestructónica II y Lankford (1977) dentro de los tipos II-B y I-D.

Los principales ríos que desembocan en este sistema lagunar son el río Blanco, río Camarón y el río Acula dentro del sistema Tlaliscoyan y directamente en Alvarado descarga el río Papaloapan con el mayor de los aportes de agua dulce, que tiene un promedio diario de 40 millones de m<sup>3</sup>.

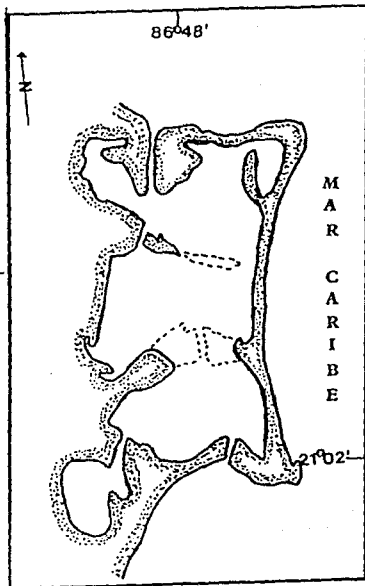
La comunicación al mar de este sistema se realiza básicamente por una sola boca localizada en la Laguna de Alvarado. Existe en la



Sistema Lagunar Alvarado



Sistema Lagunar Nichupté



Sistema Lagunar Sontecomapan

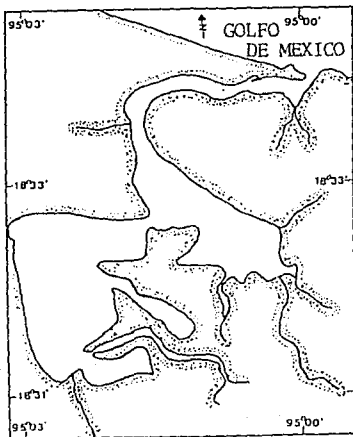


Fig. 1 Areas de Estudio

Laguna Camaronera una boca artificial construida por dos tubos que permiten el paso del agua cuando sube la marea (Contreras, 1985).

Este sistema se encuentra circundado por manglar y pastos halófitos. La vegetación sumergida está constituida fundamentalmente por *Ruppia maritima* y en ciertas epocas también encontramos *Ceratophyllum demersum*.

#### LAGUNA DE SONTECOMAPAN:

Esta laguna se encuentra localizada entre los 18° 30'N y los 94° 02'W, en el estado de Veracruz. Tiene un origen tectónico y una forma irregular con una extensión de 12 km. de largo y 1.5 km de ancho. Se comunica con el mar por medio de un canal angosto. Tiene una profundidad promedio de 1.5 m (Reguero y García-Cubas, 1989).

Esta laguna ha sido considerada por Carranza et. al (1975) dentro de la unidad morfotectónica II y dentro de la clasificación de costas primarias, volcánicas, de flujo de lava y de tefra.

El tipo de clima se considera cálido húmedo con régimen de lluvias en verano y parte del otoño, con influencia de monzón y un alto porcentaje de lluvia invernal. La temperatura de la región se considera isotermal con un máximo de 26°C en mayo y 22°C en enero (Meave et. al 1991).

Existen datos reportados referentes a la temperatura de la columna de agua y que oscilan entre un máximo de 32.0°C julio y 18.0°C como mínimo en el mes de febrero. En los datos reportados sobre salinidad se observa un gradiente decreciente de la barra hacia la zona sur donde se encuentra la desembocadura del Coscuapan Meave et. al. (1991).

La laguna está bordeada por manglares y fanerógamas halófitas y se encuentra presente el pasto marino *Ruppia maritima* la que se presenta con una distribución en parches (González, 1977).

#### SISTEMA LAGUNA DE NICHUPTE:

El Sistema Lagunar de Nichupté se encuentra localizado a los  $86^{\circ}47'$  de longitud oeste y  $21^{\circ}31'$  de latitud norte en el noreste del estado de Quintana Roo (Jordan et. al. 1978 y Collado, 1989).

Este sistema está compuesto por siete cuerpos de agua de los cuales la laguna de Somosaya y Río Inglés resultan de interés por los aportes dulceacuícolas que reciben y por la notoria cantidad de taninos provenientes de los manglares que dan un color café rojizo obscuro a estos sistemas (Jordan et. al. 1978). También existe la presencia de dos canales de comunicación con el mar (Canal Nizuc al sur y Canal Can-Cun al norte).

Dentro de la clasificación de las lagunas de México de Lankford (1977) es del tipo IV-B. Los sedimentos de la región son de carbonato de calcio y en el sistema también se encuentran fondos lodosos aragoníticos de origen biológico (Jordan et. al. 1978 y Collado, 1989).

Los aportes dulceacuícolas al sistema lagunar son por vía de escurrimientos de la llanura de inundación adyacente, lluvias y afluentes de los depósitos acuíferos subterráneos. Esto es debido a que todo el suelo de la región es de naturaleza cárstica e impide la formación de ríos (Collado, 1989; Merino et. al., 1990).

El sistema se encuentra localizado bajo un régimen climático de tipo subhúmedo con lluvias aisladas de clasificación AW (García, 1973). Se observa la dominancia de masas de aire tropical marítimo

proveniente del este, la mayor parte del año, y la temporada de nortes que abarca los meses de noviembre, diciembre y enero (Collado, 1989 y Reyes, 1988). Merino et. al. (1990) realizaron una descripción morfológica, de las variaciones diurnas, distribución espacial de la salinidad y temperatura, intercambio de agua y tiempo de residencia de todo el sistema lagunar. El sistema es considerado somero con una profundidad promedio de 2 m. se describen las dos bocas con las que el sistema intercambia sus aguas; la boca de Can-Cun tiene una profundidad de 4 m. y un ancho de 30-40 m. y la de Nizuc su profundidad es de 3 m. y su ancho de 20-30 m.

Con relación a las variaciones diurnas Merino et. al. (1990) refiere una variación en la temperatura de 5°C dependiendo de la estación en que se haya realizado el muestreo. La variación en la salinidad es pequeña, se plantea que la salinidad del sistema lagunar es el resultado de un balance entre la entrada de agua dulce, evaporación y el intercambio con el oceano por transporte advectivo y turbulencia. El oxígeno presenta variaciones importantes entre las estaciones; las localizadas a mitad del sistema mantienen una concentración constante cercana a 6.6 mg/l<sup>-1</sup>.

Este sistema se caracteriza por tener como especie dominante en el fondo a *Thalassia testudinum*, la cual presenta una distribución en manchones que comparte tanto con especies de algas así como en zonas que se pueden llamar específicas (laguna de Somosaya y zona sur oeste de la laguna de Bojórquez) con *Ruppia maritima* (Jordan et. al. 1978 y Collado, 1989). Jordan et. al. (1978) menciona la presencia del pasto *Syringodium filiforme* en zonas expuestas (sobre bajos), donde domina en pequeños parches.

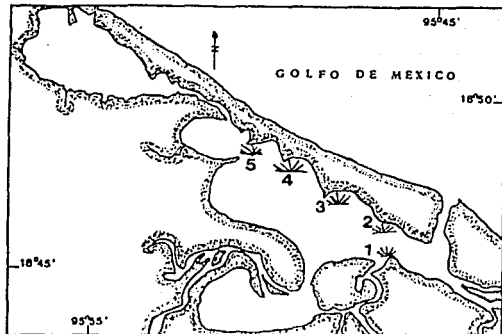


## MATERIALES Y METODOS

El material se colectó en los sistemas lagunares Alvarado, Sontecomapan y Nichupté manualmente, después de haber establecido las áreas en las que se distribuye *Ruppia maritima* en cada sistema lagunar (Fig. 2) tratando siempre que las muestras (tanto de hojas como rizomas) se encontraran en buen estado y evitando ser transportadas con residuos de lodos o con gran cantidad de algas depositadas en las mismas. Al mismo tiempo se registraron la temperatura, salinidad, profundidad y tipo de sedimento. Se trasladaron al laboratorio en cubetas de plástico y con agua del lugar en donde fueron colectadas.

Las colectas fueron realizadas para la laguna de Alvarado en abril, mayo, julio de 1986 y febrero, octubre de 1987. Bojorquez fue muestreada en julio de 1986 y septiembre de 1990. Por último se muestreo Sontecomapan en febrero de 1991.

En el laboratorio, se les cambio el agua y se separaron las hojas y rizomas para llevar a cabo los diferentes estudios; de las colectas realizadas se consideraron varios ejemplares para una colección de referencia. También se llevó a cabo un experimento de crecimiento en hojas de *Ruppia*, este consistió en colocar dentro de tubos de ensayo con agua del lugar de colecta dos nódulos con su respectivo grupo foliar. Se tomaron las medidas de las hojas más jóvenes (largo) y después de 15 y 30 días se midieron nuevamente. Con estos resultados se realizó un diagrama de Tallo y Hoja (Curts, 1985) con el fin de evaluar si el experimento de crecimiento proporciona datos confiables. Del material que resta como residuo de la técnica de aislamiento de ácidos grasos se obtuvo el peso seco para rizomas y hojas así como para la planta completa.

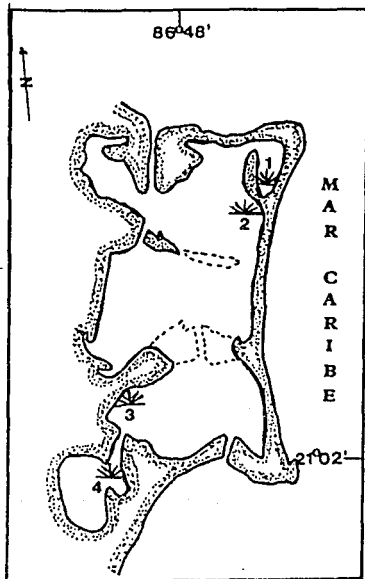


#### SISTEMA LAGUNAR ALVARADO

- 1) Papaloapan
- 2) El Chiquero
- 3) Punta Grande
- 4) Punta Arbolillo
- 5) Punta Buen País

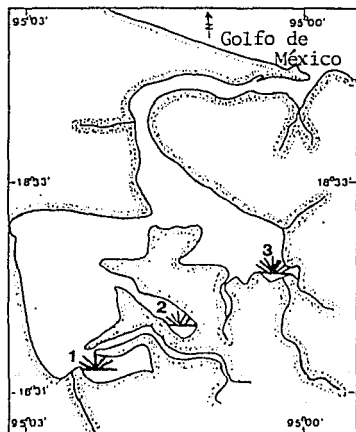


Fig. 2 Localidades de Muestreo



#### SISTEMA LAGUNAR NICHUPTÉ

- 1) Bojorquéz
- 2) Cuenca Norte
- 3) Cuenca Sur
- 4) Río Inglés



#### SISTEMA LAGUNAR SONTECOMAPAN

- 1) Embarcadero
- 2) Arroyo del Fraile
- 3) Río Hueltajapan

#### TECNICAS FOTOGRAFICAS:

El material utilizado para la toma de fotografías en los microscopios óptico y estereoscópico se mantuvo inmerso en su medio de colecta.

Del material colectado fueron seleccionadas hojas para ser expuestas a diversas intensidades y períodos luminosos llevandose a cabo la observación del movimiento orientado de los cloroplastos (Benavides, 1986). Al mismo tiempo se realizó la evaluación de la absorbancia en hojas de *Ruppia maritima* sirviendo esto para establecer la relación entre movimiento de cloroplastos y absorbancia.

Los aspectos morfológicos fueron estudiados en plantas deshidratadas con alcohol y acetona técnica utilizada para microscopía electrónica de barrido (MEB). En el caso de observaciones y toma de fotografía en microscopio óptico y estereoscópico se utilizaron plantas fijadas con formol al 4%.

Para el microscopio electrónico de barrido las hojas se deshidrataron con alcohol y acetona, y después se fijaron con glutaraldehído toda la noche y se transfirieron a tetra-óxido de osmio por 2.5 horas. Las hojas se secaron, cubrieron con polvo de oro y se observaron al MEB (de 44 x hasta 1800 x) según el método propuesto por Trocine et. al. (1981); Tomlison (1969); Benedict y Scott (1976) y Hatch et. al. (1975).

#### MOVIMIENTO DE CLOROPLASTOS:

Para evaluar los cambios en la orientación de los cloroplastos se utilizó la técnica descrita por Benavides (1986), la cual consistió en determinar el efecto de la luz sobre las hojas por

medio de la absorbancia (nm), aplicando a las hojas diferentes períodos de obscuridad. Para ello se emplearon celdas desechables de polipropileno marca Kartell, en las que se colocó la hoja de *Ruppia* sujeta a los extremos superior e inferior por medio de unicel. La celda se llenó con agua y la hoja se ajustó de modo que su superficie fuera perpendicular a la dirección del haz de luz del espectrofotómetro para su penetración, a una distancia de 10cm y con  $\pm 4$  nm de precisión en la lectura de longitud de onda.

En todos los experimentos se utilizó un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 552-UV-VIS. Se llevaron a cabo varias determinaciones a lo largo del espectro de luz visible (400 a 900 nm) con el fin de seleccionar el pico de absorbancia óptimo para la realización de nuestras observaciones. La absorbancia se midió a los nanómetros que señalan las bandas de absorción en las hojas vivas de *Ruppia* las que pueden ser atribuidas a los diferentes fotopigmentos (clorofila "a" 420 y 680; clorofila "b" 448 y 643; carotenos 480 y 500; flavinas 370 y 450; citocromos 554 a 603; fitocromos de 660-680 y 700-730).

#### AISLAMIENTO DE FRACCIONES LIPIDICAS Y ACIDOS GRASOS:

La muestra aproximadamente de 30 g de hojas y rizomas (limpias de organismos epífitos) se mezcló con 10 ml de metanol y se formó una pasta. Este material se extrajo por medio de un Soxhlet primero con metanol y después con cloroformo. Los solventes orgánicos se eliminaron por medio de un baño de vapor con secado por nitrógeno (Jellum y Worthington, 1966).

El metanol y el cloroformo en la porción soluble están definiendo la fracción lipídica y el residuo insoluble que será el resto en el Soxhlet está definiendo la fracción de las proteínas y carbohidratos.

La fracción de los lípidos fue el material inicial para el aislamiento de los ácidos puros. Los residuos lípidicos se saponificaron por 2 horas con un 5% de solución de hidróxido de potasio en metanol y se acidificaron con ácido sulfúrico; los ácidos grasos fueron extraídos con cloroformo (Jellum y Worthington, 1966).

La transesterificación se realizó con metóxido de sodio como catalizador en metanol bajo reflujo como es referido por Jamieson y Reid (1965). Esta solución final fue una mezcla de ésteres metílicos de diversos ácidos grasos así como algunas impurezas del método químico. La separación y purificación de la mezcla de ésteres en los esteres específicos fue realizada por cromatografía de gases (Jamieson y Reid, 1965).

#### AISLAMIENTO DE FLAVONAS:

Se tomó como base que estos compuestos son moderadamente solubles en disolventes polares como etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), acetona, dimetil sulfóxido (DMSO), dimetil formaldehído (DMF) y agua entre otros; y que existen diversas técnicas de análisis las que en general son complementarias como: la cromatografía en papel, cromatografía en columna, cromatografía en capa fina, electroforesis en papel, cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y recristalización (Markham, 1982).

Se seleccionó para el presente estudio la cromatografía en papel y la cromatografía líquida de alta resolución. En el caso de la primera por ser la más general y usada; esta fue bidimensional; en la primera dimensión se usó como disolvente terbutanol (TBA) y en la segunda un solvente acuoso como ácido acético al 15%. Esta técnica es básicamente de separación; se ubicó la posición de cada compuesto en el papel y se identificaron los mismos por medio de su color a la luz normal y por fluorescencia, en la luz ultravioleta.

Del extracto obtenido de la planta por medio de acetona se corrió una columna de acuerdo al peso de la muestra obteniéndose diversas fracciones con acetato de etilo y acetona.

La segunda técnica (HPLC) tiene una gran efectividad tanto en el número como en el tipo de compuestos que se pueden separar. En este caso se utilizó una columna MCH-10 de 15 cm de largo con un flujo de 1.5 ml/min y se cuantificaron las muestras en UV a 250 nm los eluyentes fueron MeOH y H<sub>2</sub>O.

## RESULTADOS

### PARAMETROS AMBIENTALES:

Los resultados referentes a profundidad, salinidad, temperatura y tipo de sedimento se muestran en la tabla 1. Las fechas de muestreo abarcaron las épocas de secas, lluvias y nortes; la profundidad fue de 14 a 70 cm; la salinidad de 3.5 a 36.7 ‰; la temperatura de 23.0 a 30.0 °C y los sedimentos predominantes fueron las arenas. Tomando en cuenta que algo que estaremos tratando continuamente son las épocas de verano e invierno debemos notar que éstas se encuentran bien representadas en nuestros muestreos. Las diferencias básicas entre estos sistemas pueden enfocarse a los intervalos de precipitación pluvial a lo largo del año. Comparando los resultados obtenidos en este trabajo con los obtenidos en trabajos anteriores (Tabla 2). Las profundidades se caracterizan por ser someras. En el caso de la salinidad se puede advertir que el sistema con mayor influencia de aguas marinas es Nichupté y el menor es Sontecomapan de acuerdo a los resultados obtenidos.

De las anotaciones que realizaron García, (1973); González (1977); Contreras, (1985), Collado (1989); Merino et. al. (1990) y Reguero (1993) y los resultados recopilados en este trabajo podemos afirmar que los sistemas lagunares estudiados son distintos aunque estas diferencias no se puedan establecer concretamente ya que la mayoría de los trabajos son puntuales. Así Sontecomapan es más fría, advirtiéndose este efecto por estar enclavada en medio de una zona montañosa. Para el caso de Alvarado tiene más comunicación con el mar, es más cálida. García (1973) menciona que existe mayor precipitación pluvial en Sontecomapan que en Alvarado. El caso que referimos totalmente diferente es Bojorquez (Nichupté) para el que Merino et. al. (1990) refiere como

TABLA 1

VARIABLES AMBIENTALES OBTENIDAS DE LOS MUESTREOS REALIZADOS  
EN LOS SISTEMAS LAGUNARES ALVARADO, BOJORQUEZ Y SONTECOMAPAN

Localidad	Fecha	Profundidad (m)	Salinidad (ppm)	Temperatura (°C)	Sedimento
Alvarado. Ver.	abril 1986	0.60	8.0	30.0	arena
Alvarado. Ver.	mayo 1986	0.14	24.0	23.0	arena
Alvarado. Ver.	julio 1986	0.50	3.5	30.0	arena
Alvarado. Ver.	feb. 1987	0.50	14.0	26.0	lodos
Alvarado. Ver.	oct. 1987	0.15	13.68	28.25	arena
Bojorquez. Q. Roo	julio 1985	0.50	36.70	30.43	arena
Bojorquez. Q. Roo	sep. 1990	0.50	32.0	29.65	arena
Sontecomapan. Ver.	feb. 1991	0.70	8.6	26.00	arena



TABLA 2

PROMEDIOS DE LAS VARIABLES AMBIENTALES ESTUDIADAS PUBLICADOS POR  
 DIFERENTES AUTORES PARA LOS SISTEMAS LAGUNARES ALVARADO.

SONTECOMAPAN Y BOJORQUEZ

Localidad	Autor	Profundidad (m)	Salinidad (ppm)	Temperatura (°C)	Sedimento
Alvarado. Ver.	Contreras (1985)	0.50	13.5	28.30	arena
Sontecomapan. Ver.	Reguero (1991)	1.00	17.0	24.77	arena
Bojorquez. Q. Roo	Collado (1989)	0.96	31.00	30.0	arena
	Merino (1986)	0.50	35.66	29.2	arena
	Reyes (1987)	0.50	35.21	28.72	arena

PROMEDIOS DE LOS PARAMETROS AMBIENTALES OBTENIDOS EN EL PRESENTE  
 ESTUDIO PARA LOS SISTEMAS LAGUNARES ALVARADO, SONTECOMAPAN Y BOJORQUEZ

Alvarado. Ver	0.37	12.63	27.45	arena
Sontecomapan. Ver.	0.70	8.60	26.00	arena
Bojorquez. Q. Roo	0.50	24.35	30.04	arena

parámetros que están regulando el sistema, la entrada de agua dulce subterránea, la evaporación y el intercambio con el océano por transporte advectivo y turbulencia.

#### ASPECTOS ESTRUCTURALES DE *Ruppia maritima*:

*Ruppia maritima* se encontró enraizada y sumergida en su totalidad; ha sido considerada perenne (González, 1977; Gamarro, 1968) tiene tallos de dos tipos: el que en principio funciona como la base estructural y que sirve para fijarse al sustrato; de este tallo estructural nacen a razón de 2 a 4 raíces simples en cada uno de los nudos (Fig 3a).

Sobre los tallos estructurales en los nudos y a una distancia de entre 4 y 5 cm nacen los tallos erectos compuestos por grupos de 2 a 5 hojas y, en este caso se encontró que las hojas adultas tienen una longitud de entre 10 a 15 cm y un ancho de 1.3 a 2 mm (Fig 3a). En la tabla 3 se muestra el diagrama de Tallo y Hoja en espejo (Curts, 1985) para los datos de crecimiento de las hojas de *Ruppia* en el que se observa que las medidas iniciales se agruparon de 3 a 12 cm en el primer caso y en el segundo variaron de 2 a 7 cm. En las medidas tomadas después de 15 días el rango se mantuvo y en las de 30 días la variación fue de 1 a 7 cm. La variación de "n" (número de muestras) se atribuye a condiciones experimentales en las que la planta sufrió deterioro y el diagrama no muestra una distribución normal de los datos en ninguno de los casos.

Las hojas son sesiles, alternas y subopuestas en la parte superior; envainándose hacia la base. Las estípulas son de 0.7 a 1 cm de longitud; el ápice es aguzado y en el margen superior serrulado; a diferencia de otros autores este serrulamiento se muestra doble en el ápice de la hoja no conservándose éste en el resto de la misma. (Figs. 4a, b y c).

Tabla 3. Diagramas de Tallo y Hoja en espejo para datos de crecimiento de Ruppia maritima.

Medida Inicial	Medida 15 días después	Medida Inicial	Medida 30 días después
0	3		1 5
3	4 8	6 4 3 2 0	2
3 2 0	5 4 7 7	5 5 1	3 0 3 7
9 5	6 7	5 1	4 0 0 0 0 5
6 6 2 1	7 0 3 8	4	5
7 1	8 5		6 5 5 5
9 0	9 9	8	7 8
7 0	10 0 7		
5 3	11 4		
0	12 0		
n = 20	n = 14	n = 12	n = 13
M = 7.6	M = 7.5	M = 3.3	M = 4.0
$\bar{X}$ = 7.8	$\bar{X}$ = 8.0	$\bar{X}$ = 3.61	$\bar{X}$ = 4.5

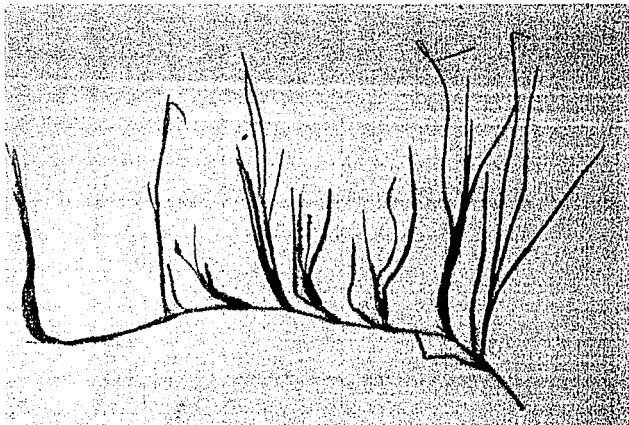


Fig. 3a *Ruppia maritima* hábito de la planta.

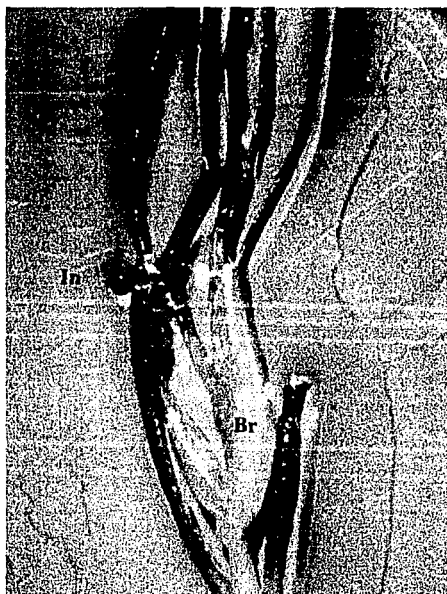


Fig. 3b Inflorescencia (In) en desarrollo saliendo entre las brácteas (Br).

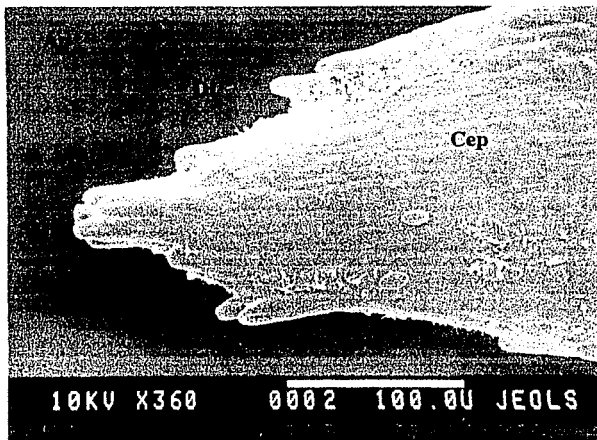


Fig. 4a Apice (Ap) de la hoja (Ho) de *Ruppia maritima* en donde se observa a 360x que está constituida por una doble hilera de dientes (Di) también se advierte la presencia de células de la epidermis (Cep).

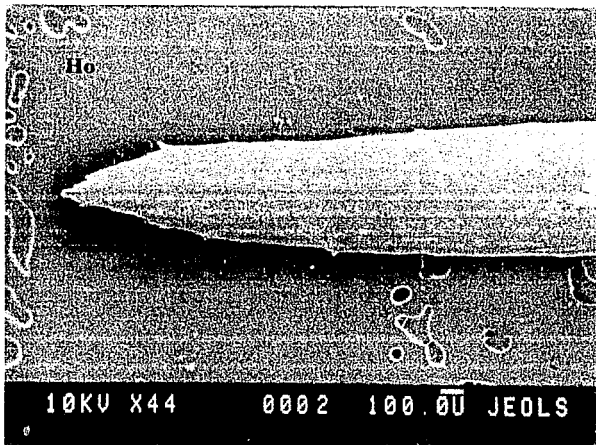


Fig. 4b Hoja (Ho) de *Ruppia maritima* vista al Microscopio Electrónico de Barrido a 44x.

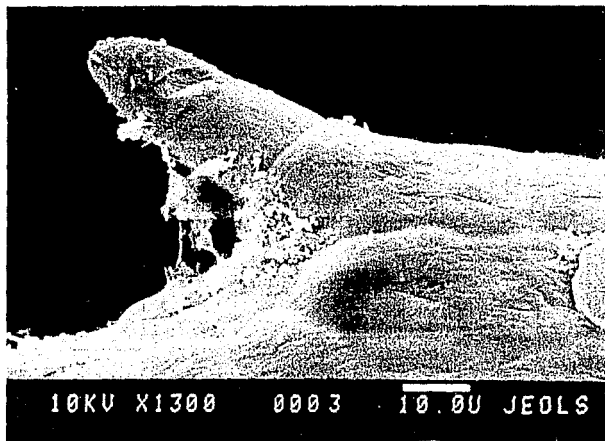


Fig. 4c Vista de uno de los dientes (Di) del borde de la hoja de *Ruppia maritima* a 1300x.

En su estructura interna las hojas presentan una nervadura central y dos conductos aéreos laterales (Fig 5a); en estos conductos se presentan septos a lo largo de la hoja. La forma de la hoja es filiforme. En la figura 5b, c y d se puede observar que en un corte transversal existen dos capas celulares en las zonas que rodean a los canales aéreos y que las células que rodean a éstos son de mayor tamaño que el resto, además de contener los cloroplastos en mayor número y dimensión (Figs. 6a, b, c y d).

La inflorescencia es espiciforme, terminal, pedunculada y se encontró situada entre las brácteas (Figs. 7a, b). En la inflorescencia se encontraron dos flores con pistilos y estambres (Figs. 7c, d y e). El pedúnculo a diferencia de otras especies como *Ruppia didyma* Sw. (Novelo, 1991) se elonga hasta 15 y 20 cm (Fig.3a).

El número de frutos que se desarrollan es en grupos de cuatro (Fig. 8a y b), con un pedículo de 2.5 cm de largo de forma ovoide con una concavidad y un ápice en forma de estilete. En la figura 8c, d y e se presenta un corte transversal y longitudinal de un fruto y se puede observar el pedículo, el epicarpo, endocarpo y los inicios de la formación de la semilla.

Los granos de polen tienen tres lóbulos con una superficie rugosa (Fig. 9a, b y c).

De todas las colectas realizadas en las diversas localidades solamente en la laguna de Alvarado (julio, 1986 y febrero, 1987) y Nichupté (septiembre, 1990) se encontró *Ruppia* con inflorescencia, también se observó que *Ruppia* colectada en Nichupté presentó hojas más anchas y en general se encontraron poblaciones más sanas.

En la tabla 4 se presentan los datos obtenidos en este estudio respecto al peso húmedo y peso seco y se establece la comparación

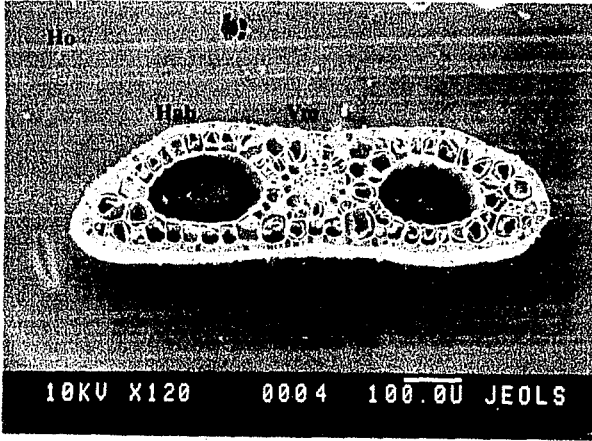


Fig. 5a Corte transversal de la hoja (Ho) de *Ruppia maritima* en donde se observan dos canales aéreos (Cae), la parte abaxial (Hab) y adaxial (Had) así como la vena media (Vm).

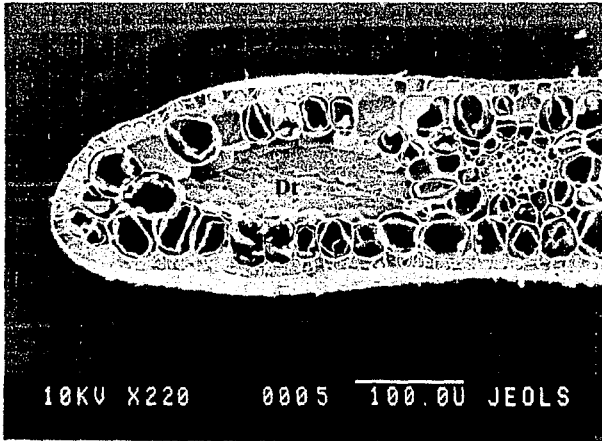


Fig. 5b Corte transversal de la hoja (Ho) en donde se observa un diafragma transverso (Dt) que divide en varias secciones a las hojas. Vena media (Vm).



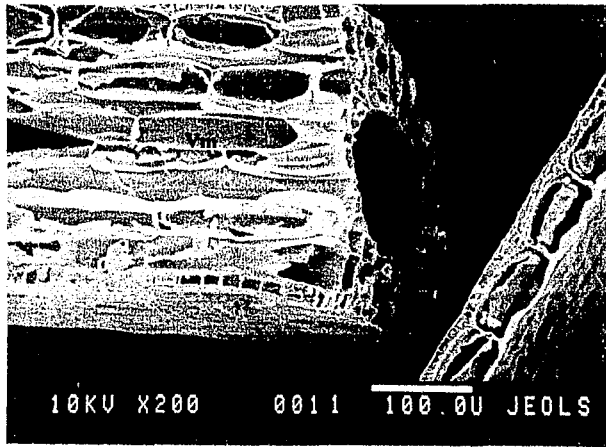


Fig. 5c Corte longitudinal de la hoja (Ho) pasando por la vena media (Vm), en donde se observan las células del mesófilo (Cem) y la alternancia de estas. Se identifican canal aéreo (Cae) y células de la epidermis (Cep).

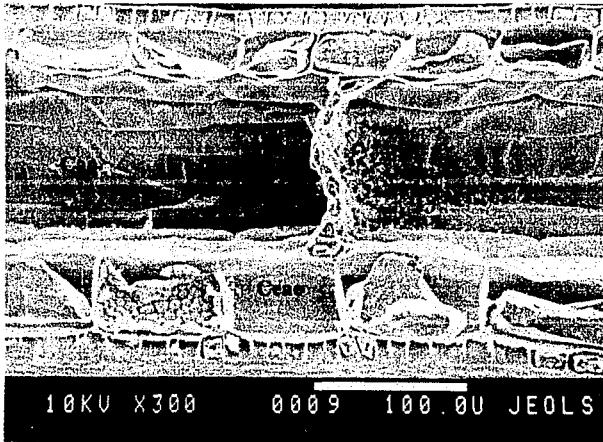


Fig. 5d Corte longitudinal de la hoja en donde se observa uno de los diafragmas transversos que separa en dos secciones a la hoja (Dt). Se advierte la diferencia en tamaño de las células adyacentes al canal aéreo (Cae) con respecto a las de la epidermis (Cep) .

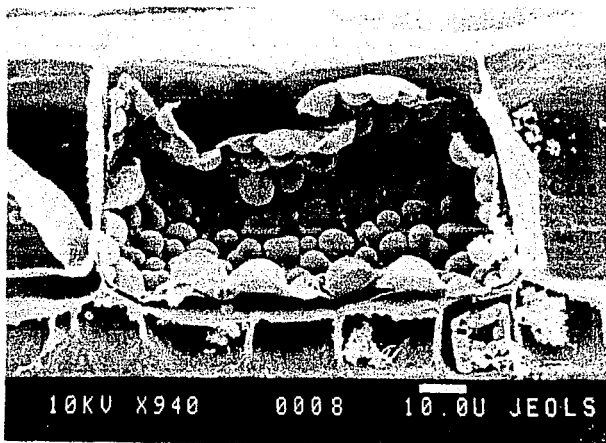
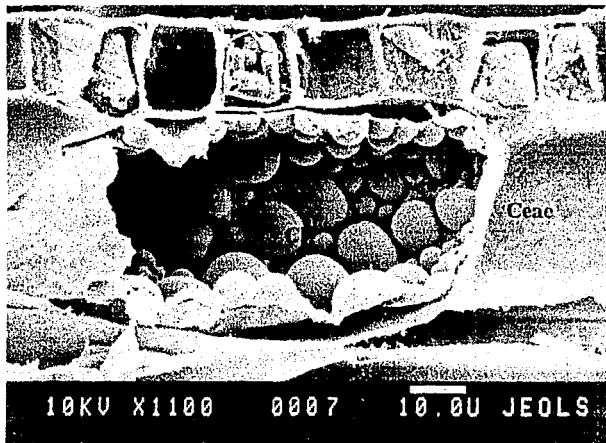


Fig. 6a y b Estas micrograffas muestran la posición y tamaño de los cloroplastos (Cl) en ambas capas celulares (células adyacentes al canal aéreo (Ceac) y células de la epidermis (Cep)).

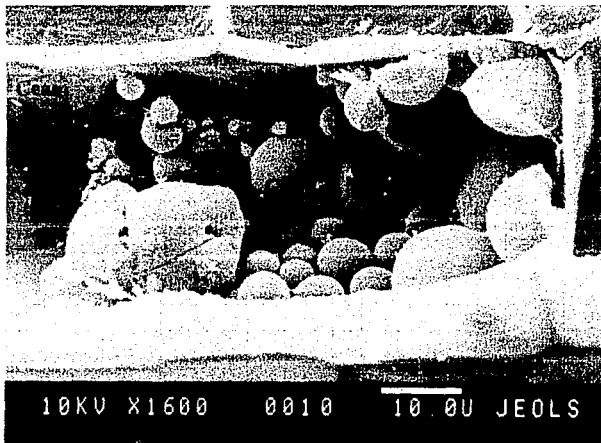
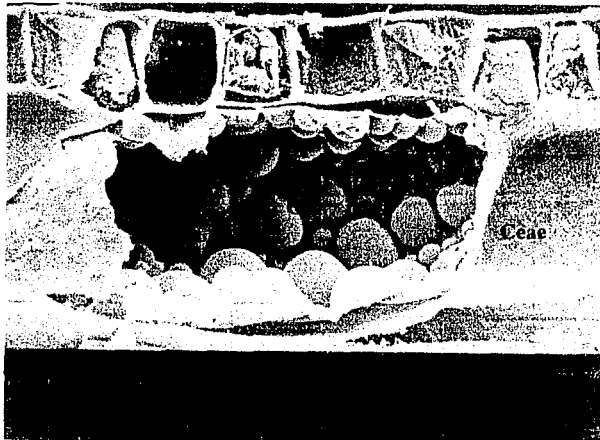


Fig. 6c y d Ambas micrografías muestran las diferencia de tamaños de los cloroplastos (Cl).

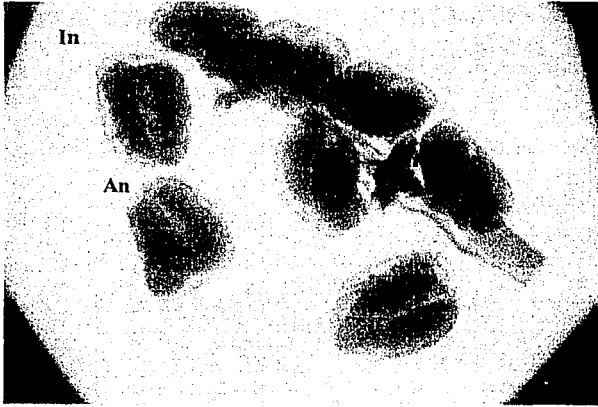


Fig. 7a Inflorescencia (In) de *Ruppia maritima* en donde se observan varias anteras (An) desprendidas y los carpelos de una

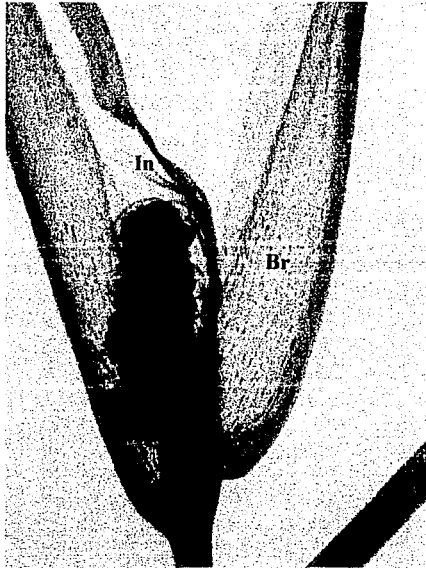


Fig. 7b Inflorescencia joven (In) saliendo entre las brácteas (Br).

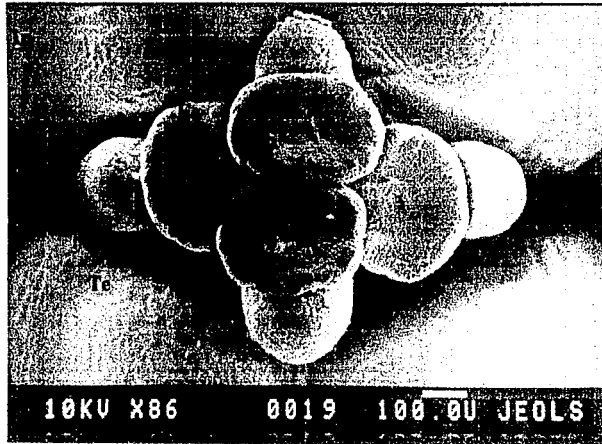


Fig. 7c Vista frontal de una de las flores donde destacan los estigmas peltados (Es), parte del ovario (Ov), anteras (An) de una inflorescencia (In).

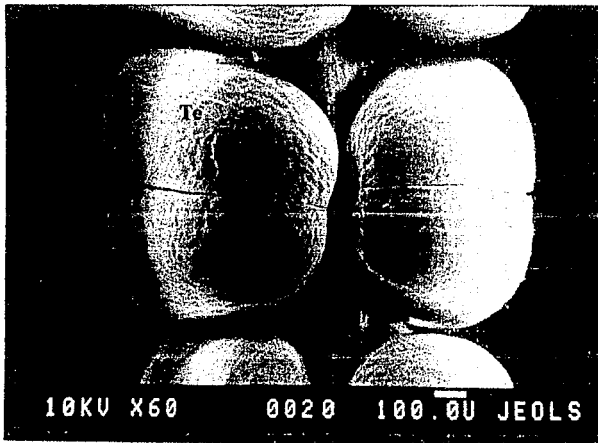
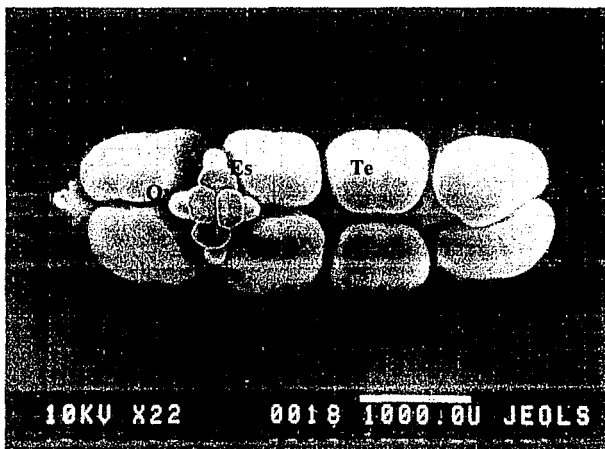


Fig. 7d Acercamiento de una antera en donde destacan las tecas (Te) y sus suturas (Su).



**Fig. 7e** Vista general de la inflorescencia (In) en donde se observa una flor (Fl), estigmas (Es), ovario (Ov), tecas (Te) y antera (An).

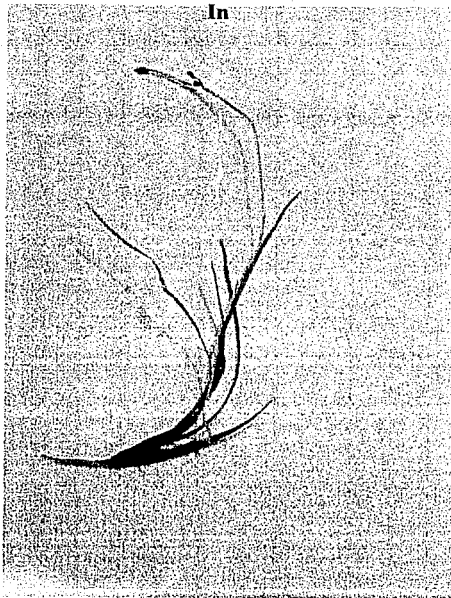


Fig. 8a Desarrollo de la infrutescencia de *Ruppia maritima*

Fig. 8b Frutos (Fr) en donde se observa su punta aguzada (Pa) y su concavidad en el epicarpo (Cpe).



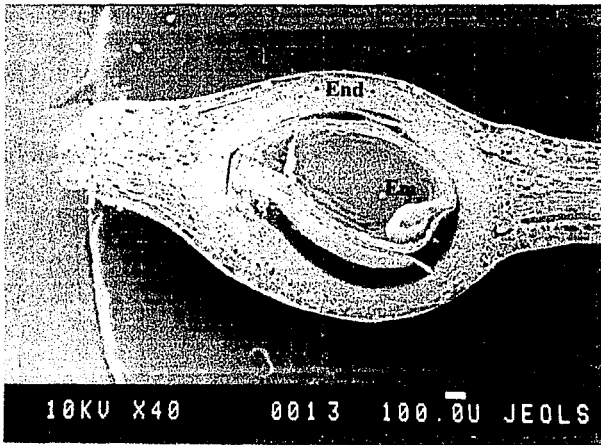


Fig. 8c Corte longitudinal de un fruto (Fr) de *Ruppia maritima* se observa el embrión (Em), pericarpio (Per) y el endocarpo (End).

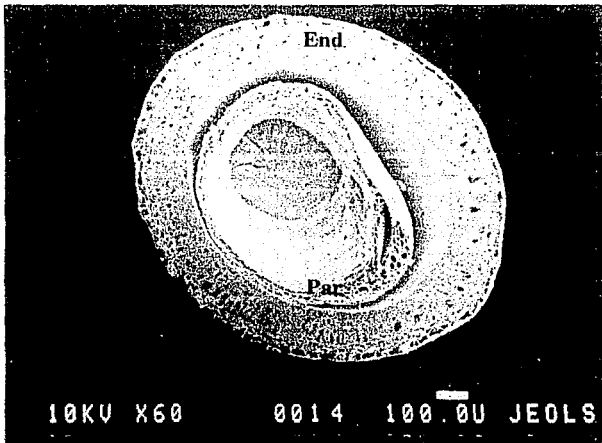


Fig. 8d Corte transversal de un fruto (Fr), se observa el endocarpo (End), pericarpio (Per) y el tejido parenquimatoso perforado (Par).



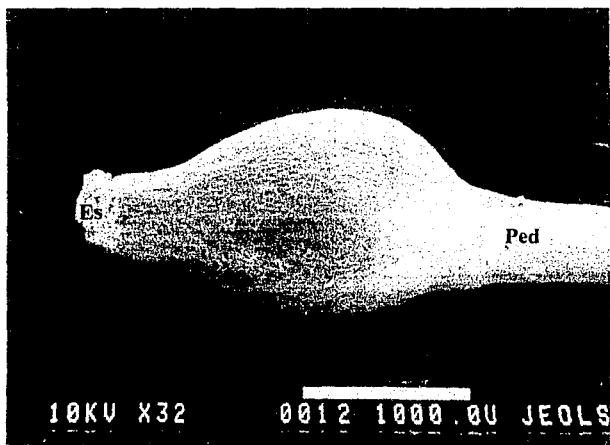


Fig. 8e Fruto joven (Fr) de *Ruppia maritima*, se observa la parte del pedículo (Ped) y estigma (Es).

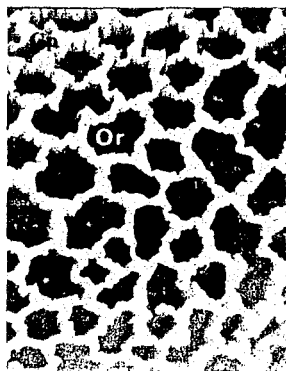
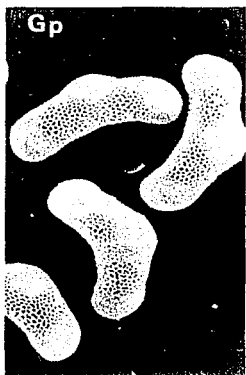
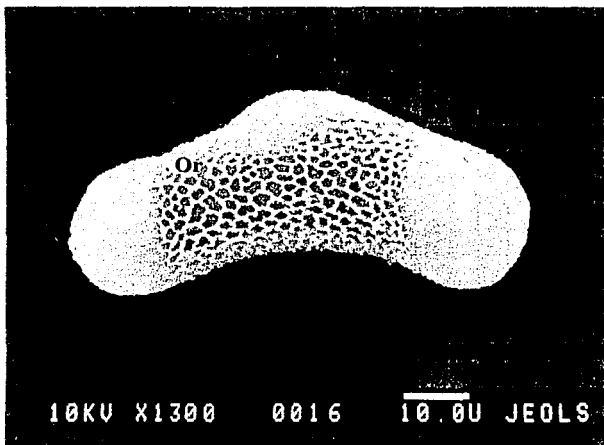


Fig. 9a, b y c. a) Vista general de un grano de polen (Gp) de *Ruppia maritima*, se observa su ornamentación (Or). b) Granos de polen (Gp) vistos a 480x . c) Acercamiento de la ornamentación (Or) a 4800x (sin acetolizar).

con los encontrados por Escobar (comunicación personal); observándose que los porcentajes varían dependiendo de si se toma a la planta completa o se tratan por separado las hojas de los rizomas; tal vez este sea el factor que está contribuyendo de forma importante a la obtención de resultados diferentes.

#### RELACION ENTRE EL ARREGLO DE LOS CLOROPLASTOS Y LA ACTIVIDAD FOTOSINTETICA.

En los resultados obtenidos por fotomicrografía se observó que la distribución de los cloroplastos tiene un comportamiento ordenado; este se inicia con una fase de aleatoriedad obtenida después de un período previo de obscuridad (19 y 120 horas); en segundo lugar se desplazan hacia el margen de la célula y tienden a presentar movimientos de circulación ciclica éste fenómeno se observó después de someter a la hoja a períodos de iluminación de 15 min. hasta 1.30 horas (Figs. 10a, b y c). Como última fase tenemos que los cloroplastos forman conglomerados en el centro de la célula estando estos arreglados de manera diagonal en toda la hoja y habiendo dejado de moverse obteniéndose así un mayor paso de luz ésto sucede después de un período de irradiación largo (desde 40 min. hasta 2.15 horas) (Fig. 10d).

Como paso siguiente se realizaron espectros de absorción en la sección media de hojas juvenes. Para poder obtener el espectro correspondiente abarcando toda la franja del visible que va de 380 a 800 nm. De este trabajo fueron obtenidos como longitudes de onda que presentaron picos de actividad o absorbancia importantes a 409 y  $698 \pm 4$  nm (Fig. 11). También se obtuvo que los períodos de obscuridad deben ser no menores de 12 horas y que entre más tiempo pase la hoja se deteriorará y esto se ve reflejado en el tiempo que la hoja tarda en alcanzar su máxima absorbancia. Los factores antes mencionados pueden observarse en la figura 12a; en donde una



Fig-10a Cloroplastos de la primera capa celular de Ruppia maritima en fase de total aleatoriedad después de un período de obscuridad de 19 horas.



Fig. 10b Cloroplastos de la primera capa celular de Ruppia maritima que comienzan a colocarse en los extremos de la pared celular habiendo sido iluminados durante 15 minutos.



Fig. 10c Cloroplastos de Ruppia maritima pasando de la distribución de "peristrophe" a la de "racimo".



Fig. 10d Cloroplastos de Ruppia maritima en posición de "racimo" o "conglomerados" al centro de la célula.

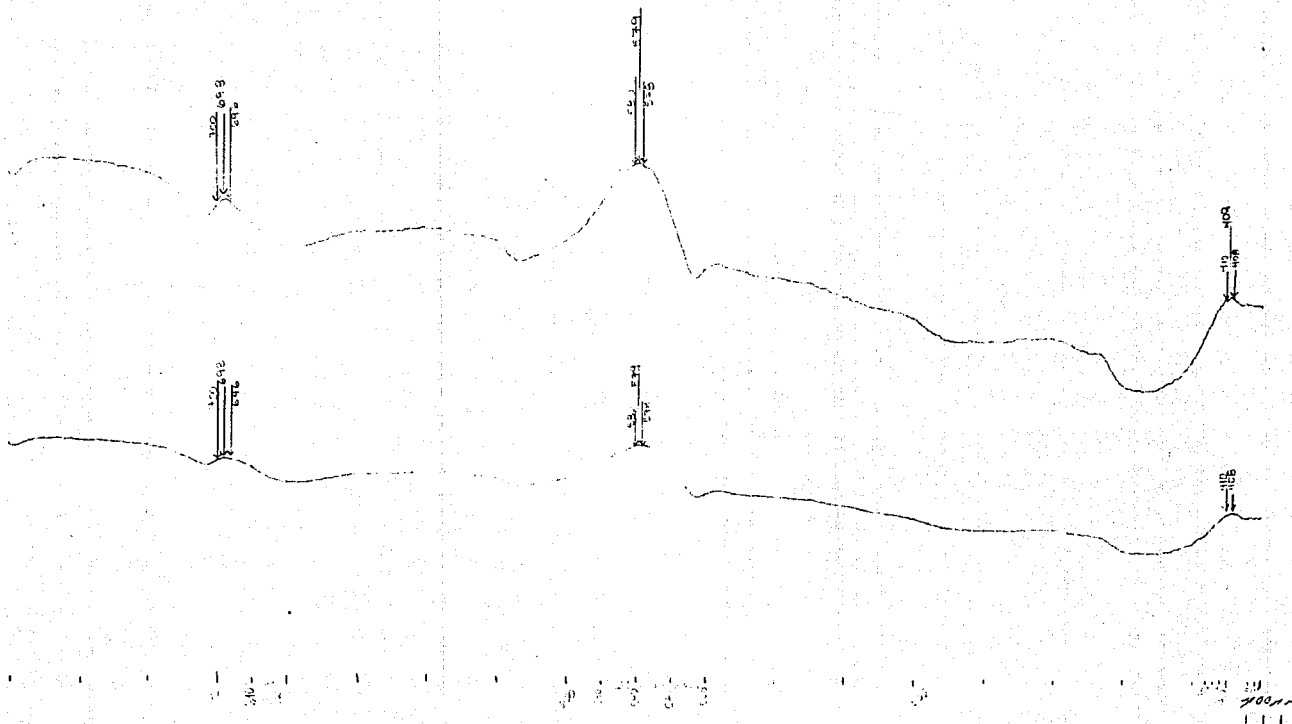


Fig. 11 Espectro de absorción de hojas de Ruppia maritima en la franja del visible.

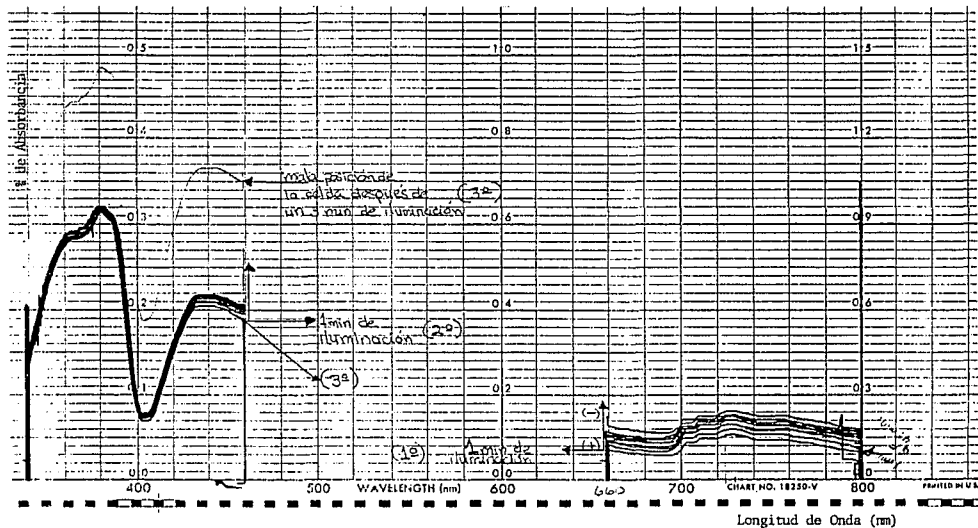
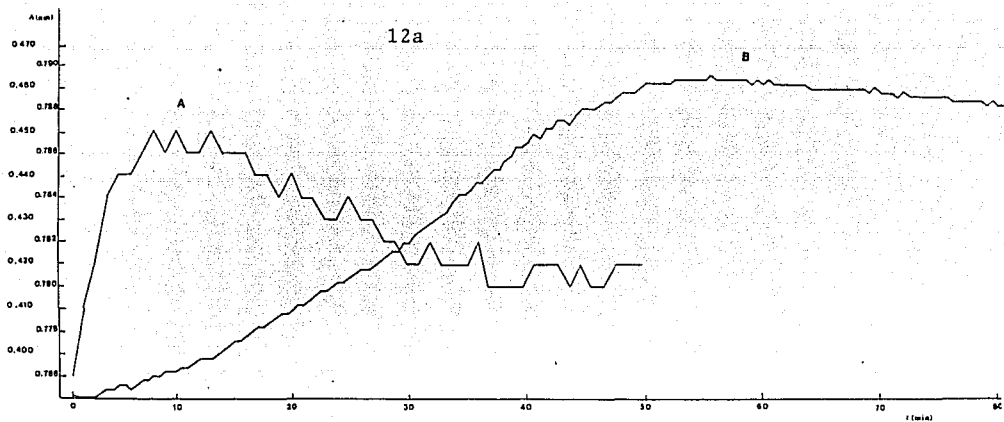


Fig. 12. a) Porcentajes de absorbancia con respecto al tiempo en hojas de *Ruppia maritima* con un periodo previo de oscuridad de 19 (A) y 120 (B) horas. b) Incremento en el porcentaje de absorbancia para diferentes longitudes de onda con respecto al tiempo. Se puede observar que al paso del tiempo y manteniendo la hoja iluminada existe un incremento en la absorbancia indicando que se está llevando a cabo la fotosíntesis y el movimiento orientado de los cloroplastos.

de las hojas fue expuesta a un periodo de obscuridad de 19 horas y la otra a 120 horas obteniéndose así sus máximos de absorbancia a los 8 y 55 minutos respectivamente.

En la figura 12b se observa el incremento en el porcentaje de absorbancia para diferentes longitudes de onda con respecto al tiempo. Al paso del tiempo y manteniendo a la hoja iluminada existe un incremento en la absorbancia indicando en primer instancia que se está trabajando con material vivo y que el movimiento orientado de cloroplastos se está realizando.

Combinando los resultados obtenidos por medio de las microfotografías y los espectros de absorbancia se puede decir que existe una relación directa entre la absorbancia y la distribución de los cloroplastos dentro de la célula; teniendo que para la mayor absorbancia la distribución de los cloroplastos se da en la periferia de la célula "antistrophe". La menor absorbancia se registra cuando los cloroplastos se sitúan en el centro de la célula "parastrophe" tal y como ha sido observado en otras especies como *Egeria densa* (Benavides, 1986 y Haupt, 1982, 1983).

#### AISLAMIENTO DE ACIDOS GRASOS

En la tabla 5 se presentan los productos que se identificaron para hojas y rizomas de las muestras obtenidas en Alvarado y Nichupté. Cabe mencionar que en ambas muestras y en sus repeticiones se obtuvieron siempre mayor número de compuestos en las hojas que en los rizomas y que también se presentaron más abundantes (Figs. 13, 14 y 15).

Los ácidos grasos mejor representados son: palmítico, esteárico, oléico, linoléico, linolénico y mirístico en las muestras de Alvarado; para el caso de Nichupté fueron los mismos excepto el



Tabla 5. Tiempos de retención determinados para los ácidos grasos de hojas y rizomas de Ruppia maritima.

ACIDOS PRESENTES	ALVARADO, VER.		ALVARADO, VER.		NICHUPTE, Q. ROO.		Halodule wrightii NICHUPTE	
	HOJAS	RIZOMAS	HOJAS	RIZOMAS	HOJAS	RIZOMAS	HOJAS	RIZOMAS
MIRISTICO	2.25	2.07	2.16	2.08	3.23	3.20	3.23	3.23
PALMITICO	2.37	2.24	2.40	2.24	3.74	3.38	3.73	3.74
ESTEARICO	2.49	2.70	2.93	2.71	6.61	6.56	6.56	6.44
PALMITOLEICO	2.63	2.55	3.37	2.93	----	----	3.95	----
OLEICO	2.96	2.87	3.56	2.88	6.79	6.67	----	----
LINOLEICO	3.44	3.27	3.96	3.28	-----	----	----	----
LINOLENICO	3.92	3.99	4.36	4.01	-----	----	8.40	----
ARQUIDICO	4.35	4.46	4.74	----	-----	----	----	----

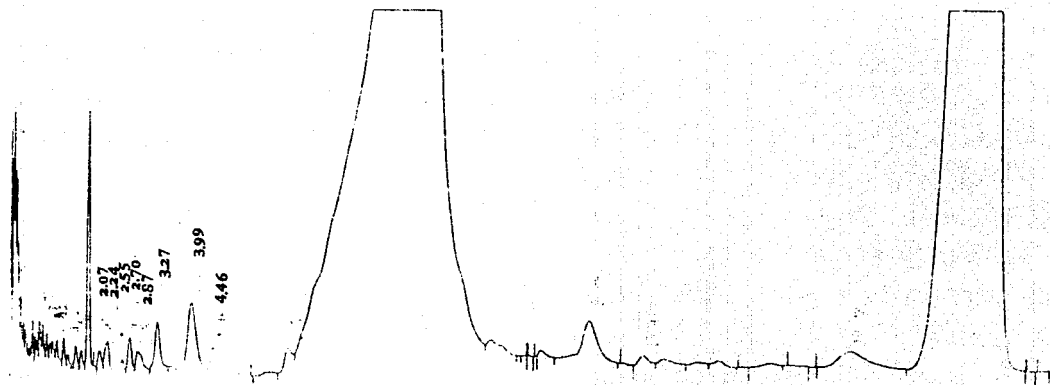
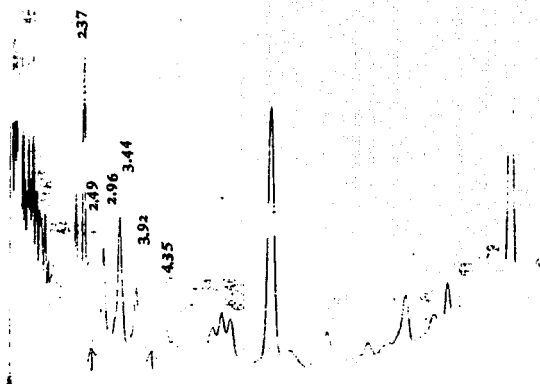


Fig. 13 Composición de ácidos grasos para hojas y rizomas de Ruppia maritima colectada en el sistema lagunar Alvarado.



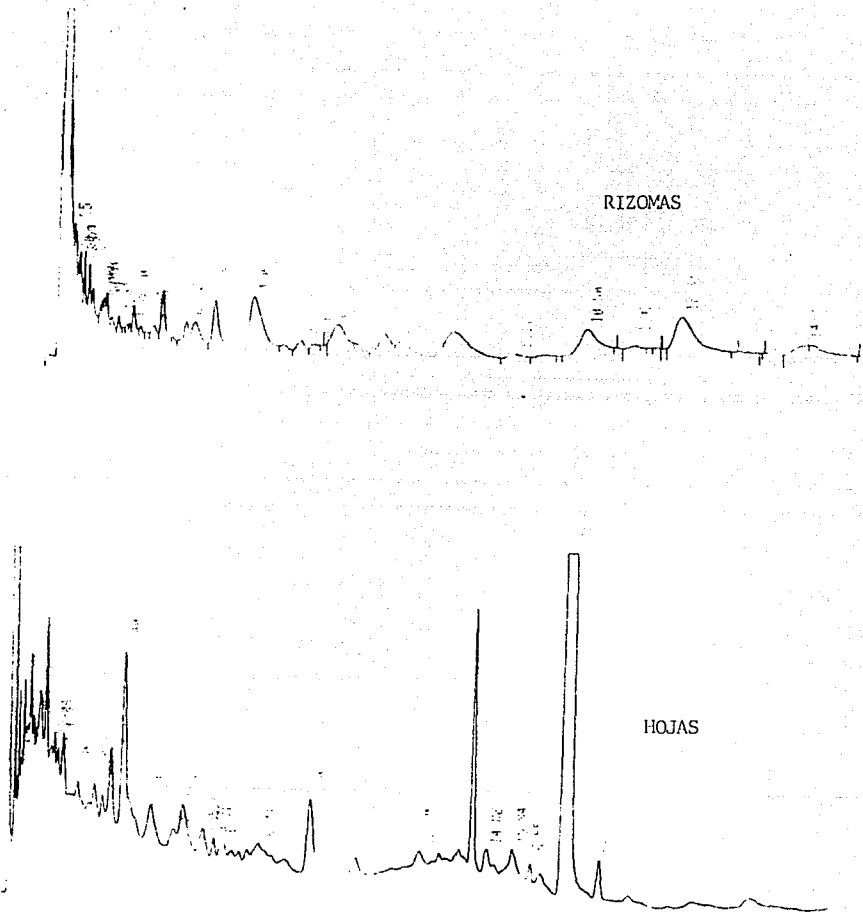


Fig. 14. Composición de ácidos grasos para hojas y rizomas de Ruppia maritima colectada en el sistema lagunar Alvarado.

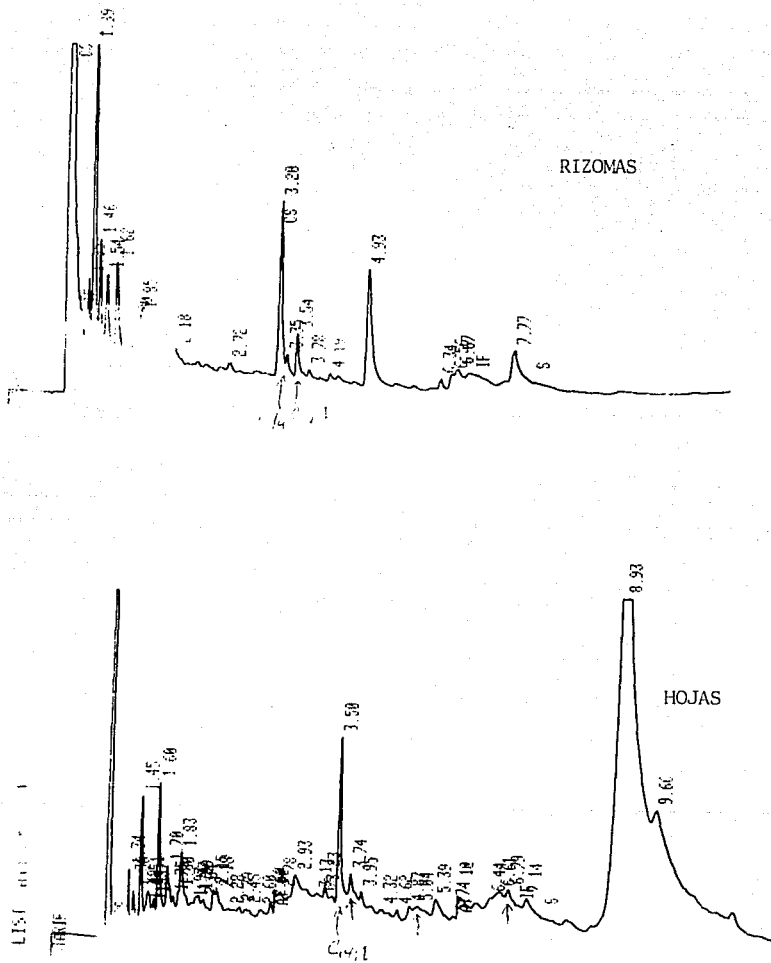


Fig. 15. Composición de ácidos grasos para rizomas y hojas de Ruppia maritima colectada en el sistema lagunar Nichupté.

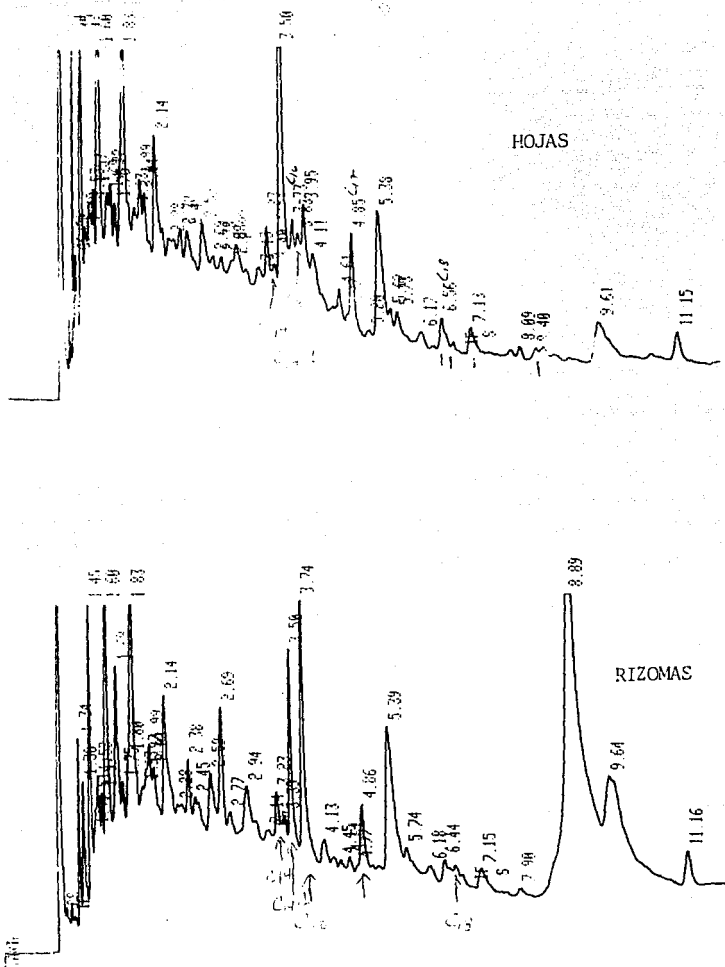


Fig. 16. Composición de ácidos grasos para hojas y rizomas de Halodule wrightii colectado en el sistema lagunar Nichupté.

linoléico y linolénico y además se acentuó la presencia de ácidos de cadena corta como el ácido butírico, ambos efectos son indicios de temperaturas medias ambientales más elevadas (Lehninger, 1978; García, 1989).

En la figura 16 se muestran los compuestos antes mencionados en otra especie (*Halodule wrightii*) que fue colectada en Nichupté y que comparte el mismo habitat con *Ruppia maritima* presentando el mismo patrón de composición de ácidos grasos.

#### AISLAMIENTO DE FLAVONAS

Del análisis por cromatografía en papel se realizaron tres réplicas para el caso de hojas y rizomas de Nichupté (Figs. 17 y 18); en el caso de Sontecomapan fueron cuatro réplicas de hojas (Fig. 19).

En la observación a simple vista se encontró que en Nichupté se obtuvieron un menor número de manchas en hojas que en rizomas y al ser expuestas a la luz de longitud de onda larga se presentaron manchas con fluorescencia verde, azul y amarilla básicamente, encontrándose éstas muy bien localizadas y guardando un mismo patrón de distribución en el papel en todos los casos.

Para cada mancha obtenida por cromatografía en papel se realizaron corrimientos en UV (ultravioleta) para evaluar los picos de absorbancia; esto se realizó primeramente con el extracto simple y después agregando una gota de metóxido de sodio, observándose el incremento en la absorbancia en algunas de las fracciones esto sirve para determinar la presencia de grupos fenólicos. Del análisis de las absorbancias para cada fracción, el color de la mancha y su distribución en el cromatograma se obtuvo una lista de compuestos probables (tabla 6).

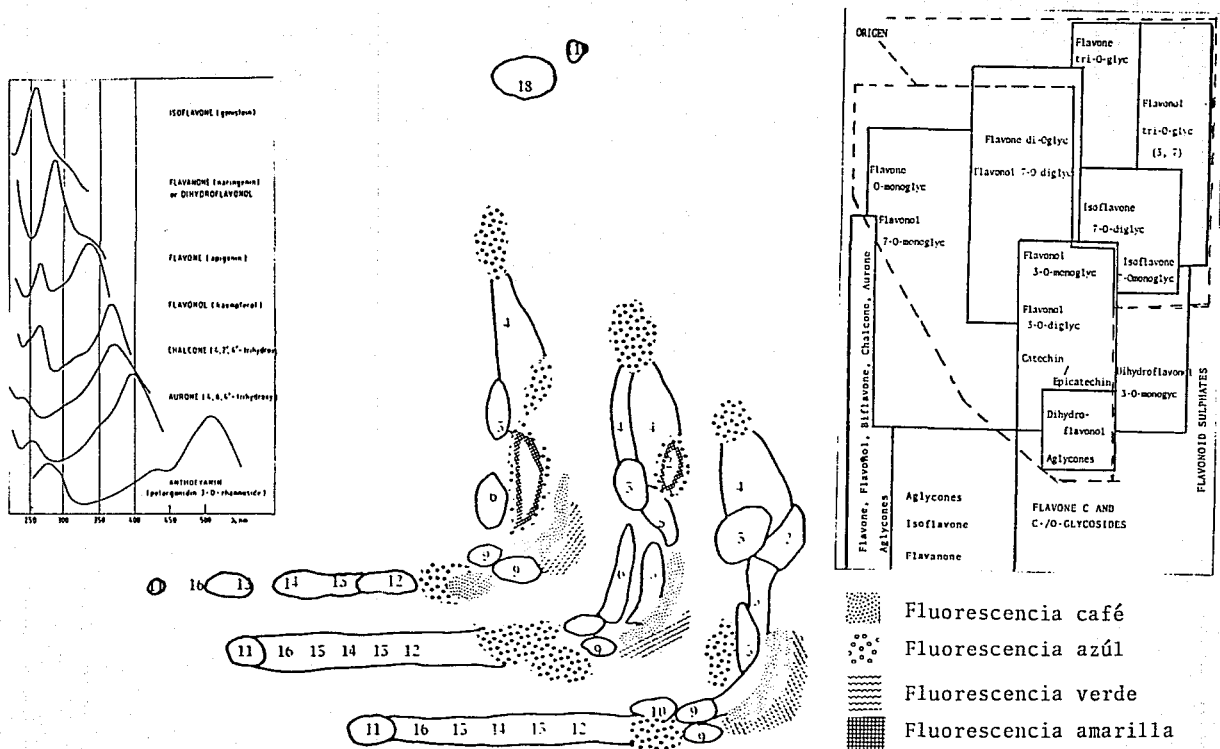
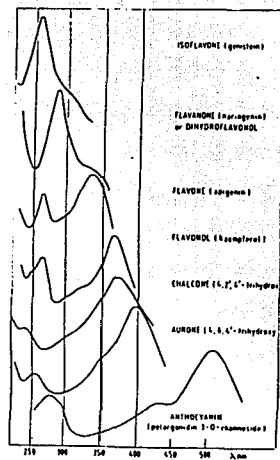
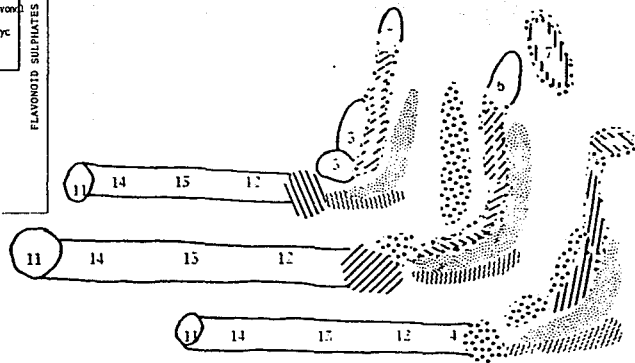
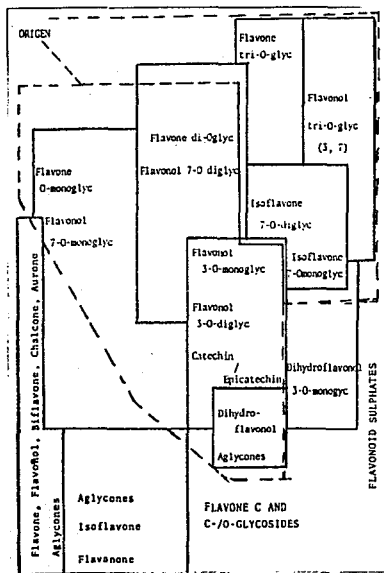


Fig. 17 Distribución de 3 cromatografías en papel de los rizomas de *Ruppia maritima* del sistema lagunar Nichupté.






-  Fluorescencia azul
-  Fluorescencia verde
-  Fluorescencia anaranjada

Fig. 18 Distribución de manchas de tres cromatografías en papel de hojas de *Ruppia maritima* del sistema lagunar Nichupté.



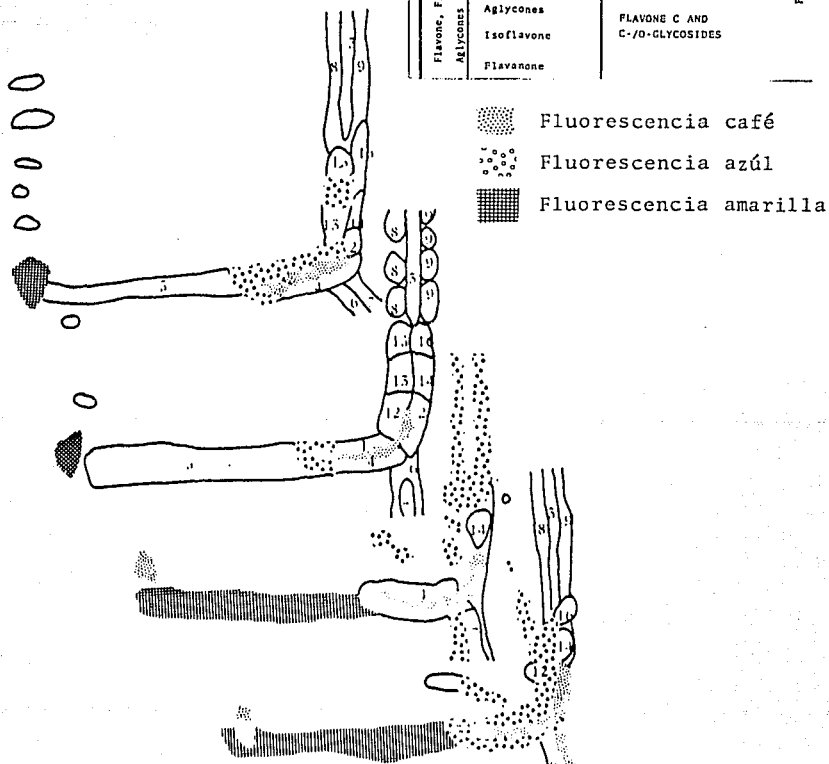
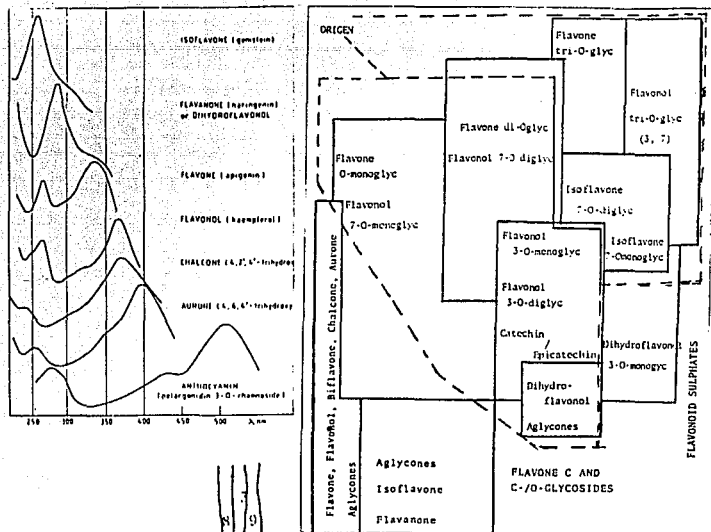


Fig. 19 Distribución de manchas de 4 cromatografías en papel de hojas de Ruppia maritima colectada en el sistema lagunar Sontecomapan.

Tabla. 6 Metodologías utilizadas para el análisis de flavonas en Ruppia maritima colectada en los sistemas lagunares Alvarado, Sontecomapan y Nichupté.

Método Utilizado	# de Réplicas Trabajadas	# de fracciones Obtenidas	Localidad de Colecta	Estructura	Posibles Compuestos
Cromatografía en papel	3	14	Nichupté	Hojas	Flavonol + Flavonas (Bractea-tina, Kampferol, Acacetina)
Espectros de Absorción	1 por cada fracción	14	Nichupté	Hojas	Flavonol + Flavonas
Cromatografía en papel	3	19	Nichupté	Rizomas	Flavona + Isoflavona (Luteolí-na, Diosmetina, Patuletina)
Espectros de Absorción	1 por cada fracción	19	Nichupté	Rizomas	Flavonoles + Flavanona + Isoflavanona + Flavona
Cromatografía en columna	1	12	Alvarado	Hojas	
Cromatografía en columna	1	17	Alvarado	Rizomas	
Cromatografía en papel	4	18	Sontecomapan	Hojas	Flavonas + Isoflavonas (Apigenina, Sulfuretina)

Con el fin de poder corroborar los datos ya obtenidos se realizó una cromatografía en columna para extractos de hojas y rizomas obteniéndose 17 fracciones para rizomas y 12 para hojas.

Las fracciones obtenidas fueron seleccionadas en base a su peso (mayor de 0.02 g) para llevar a cabo el proceso de silanización y concluir con la cromatografía preparativa de alta resolución.

Con base en los espectros de ultravioleta (Fig. 20) y masas (Fig. 21) se obtuvo para la fracción de hojas de *Ruppia maritima* un peso molecular de 256 y un pico de absorbancia en 398 nm. Estos espectros correspondieron a Liquiritigenina y/o Pinoembrina (Fig. 22a y b).

También se encontró una sustancia de peso molecular de 284 según el espectro de masas y con picos de absorbancia en 402 (Figs. 23 y 24) proponiéndose como estructuras la Aureosidina y Acacetina (Fig. 22c y d).

Se separaron dos sustancias de peso molecular elevado con 415 y 419, para ambas se determinaron espectros de masas (MS), resonancia ( $^1\text{HNRM}$ ) e infrarojo (IR). En el espectro de IR se identificaron las siguientes señales para diversos grupos; alcohol (3330), alcano (2910), lactona (1730); aromáticos, eter (1255); metil cetonas, acetales, alcohol (1452) y esterres (2800-2910) (Figs. 25 y 28). En los espectros de masas se estimaron pesos moleculares elevados de 415 y 419, los tiempos de retención van de 4.3 para PM de 415 y 8.8 para PM de 419. Se obtuvieron señales para metilos, ácidos aromáticos, hidroxiaminas, alcoholes terciarios, sulfóxidos, 2-metil-aromáticos, propilo, cicloalcanos, metilcetonas, acetatos y esterres metílicos aromáticos (Figs. 26 y 29).

En los espectros de  $^1\text{HRMN}$  se tienen evidencias de la silanización, existen OH de tipo fenólico, metilos alifáticos, evidencia de

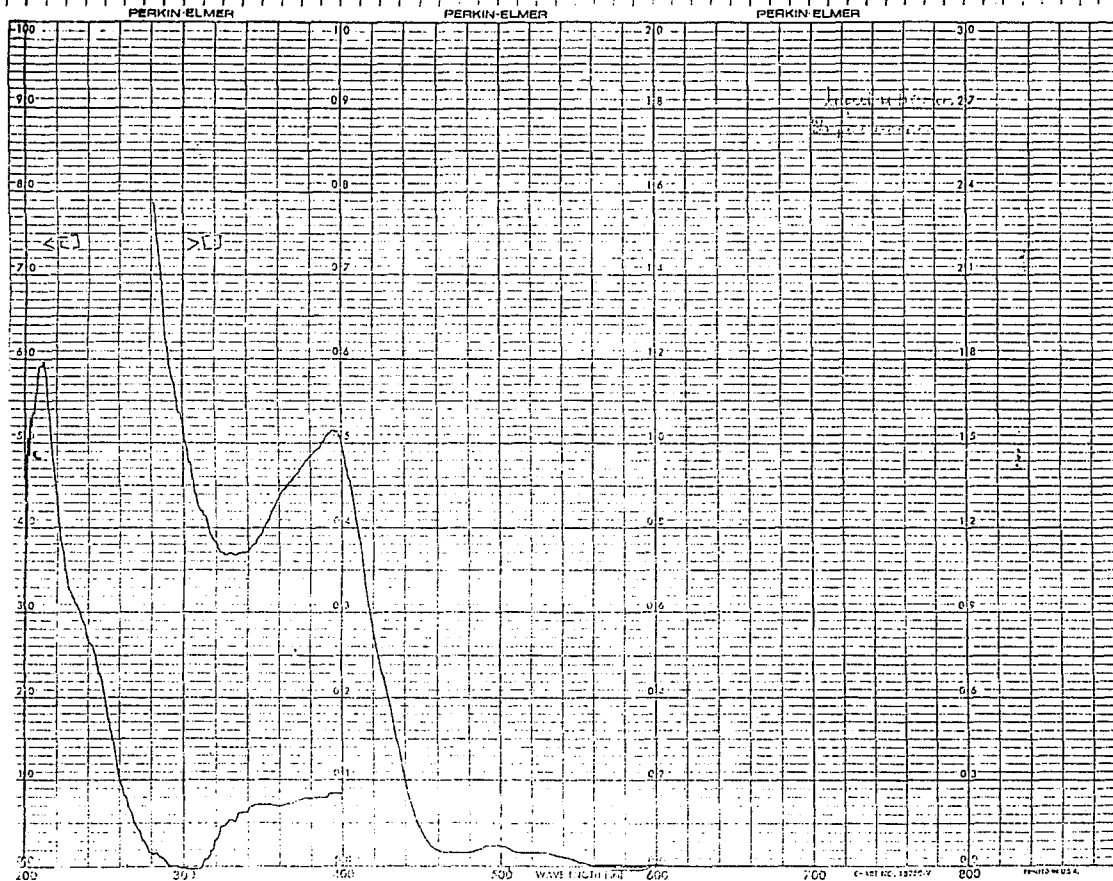


Fig.20 Espectro en UV de fracción de hojas de Ruppia maritima correspondiente a Liquiritigenina y/o Pinocembrina.

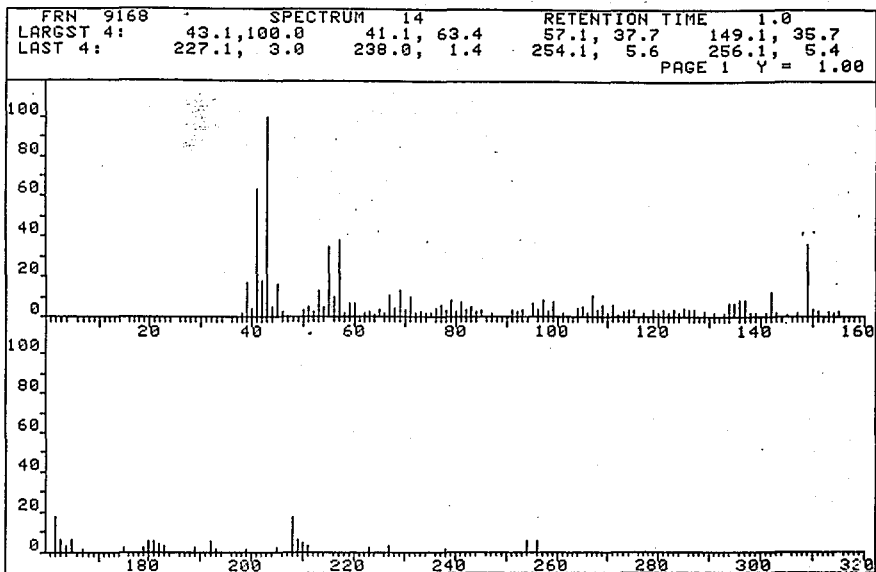


Fig.21 Espectro de masas de fracción de hojas de Ruppia  
maritima correspondiente a Liquiritigenina y/o  
 Pinocebrina.

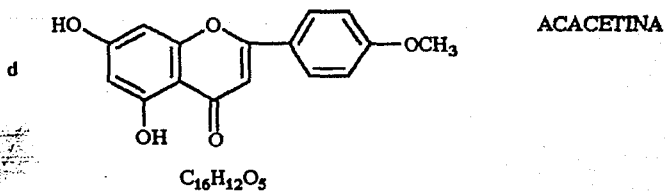
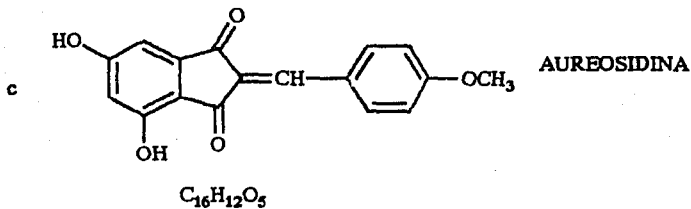
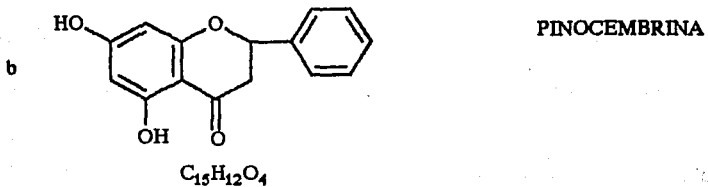
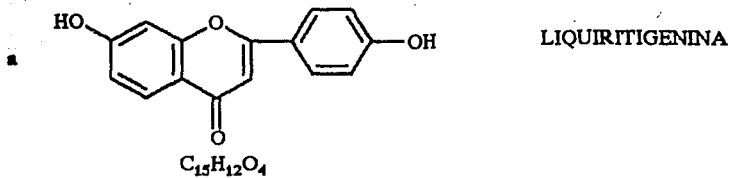


Fig. 22 a, b, c y d. Flavonas obtenidas en hojas de *Ruppia maritima*.

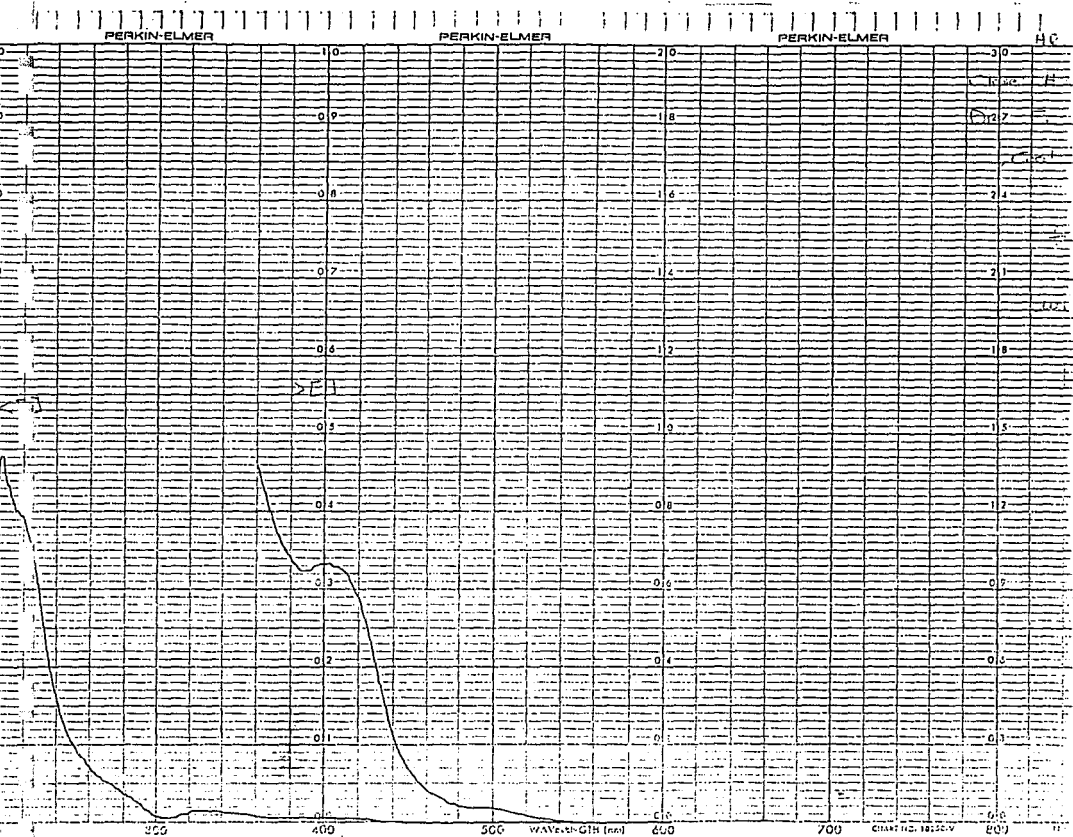


Fig. 23 Espectro en UV de fracciones de hojas de Ruppia maritima correspondiente a Auresidina y/o Acetina.

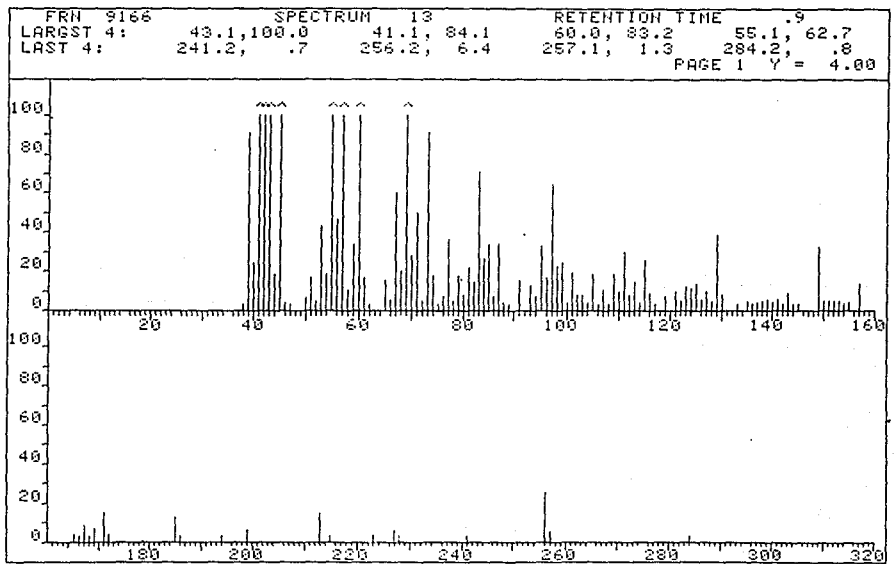
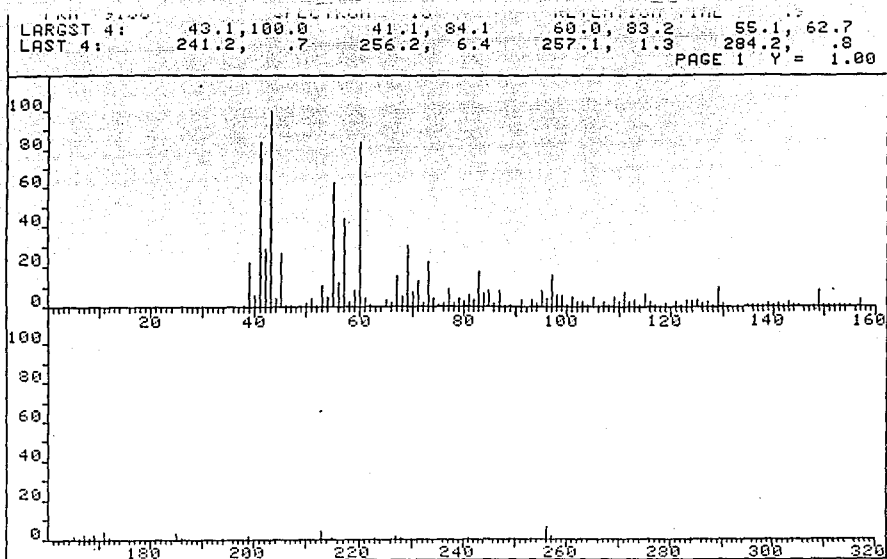


Fig.24 Espectro de masas de fracciones de hojas de Ruppia maritima correspondiente a Aureosidina y/o Acacetina.



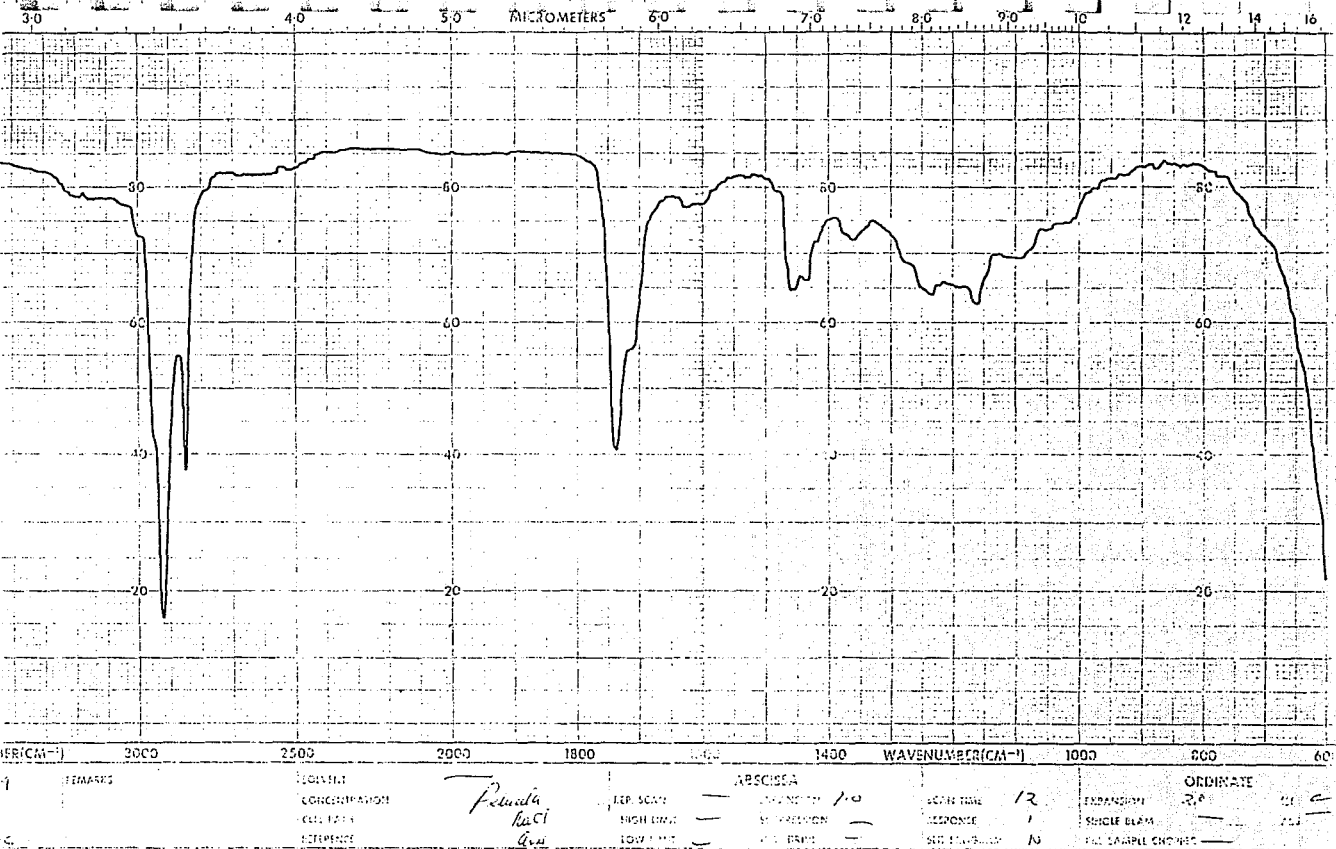


Fig. 25 Espectro de infrarojo de fracciones de rizomas de *Ruppia maritima* correspondiente a 23 a'mino 3,6 dihidroxi-colestano.

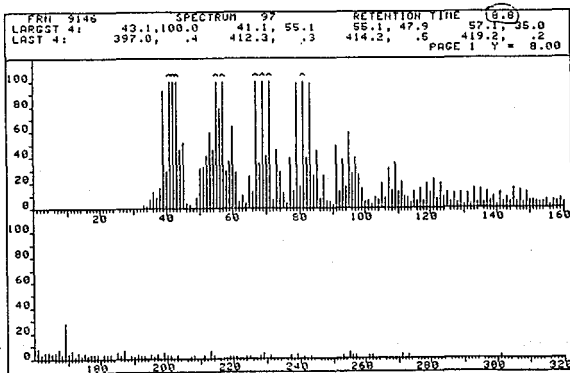
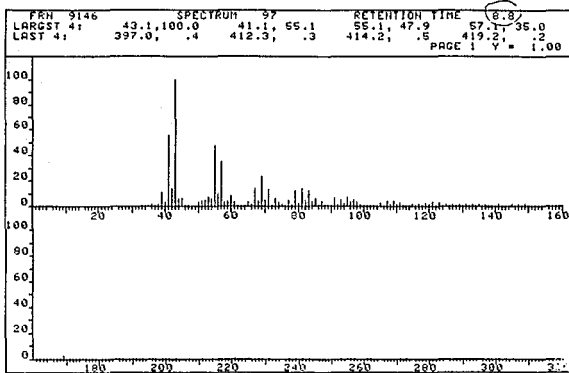
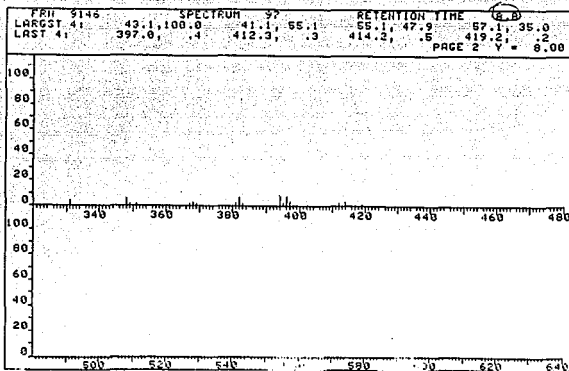


Fig. 26 Espectro de masas de fracciones de rizomas de Ruppia maritima correspondiente a 23 amino 3,6 dihidroxi-colestano.

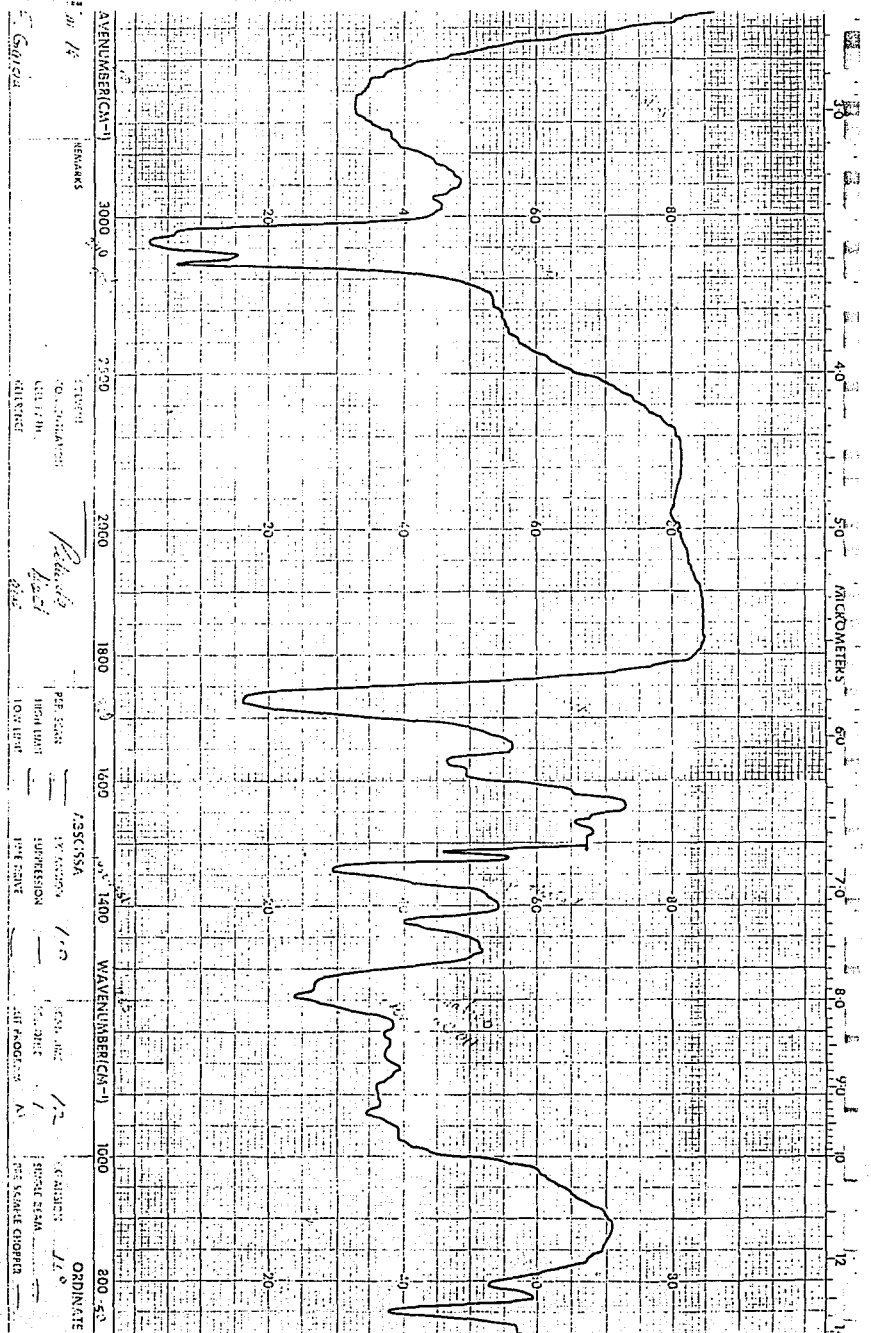


Fig. 28 Espectro de infrarojo de fracciones de rizomas de Ruppia maritima correspondiente a 23 amino 3 hidroxi colest-5-en-7-ona.

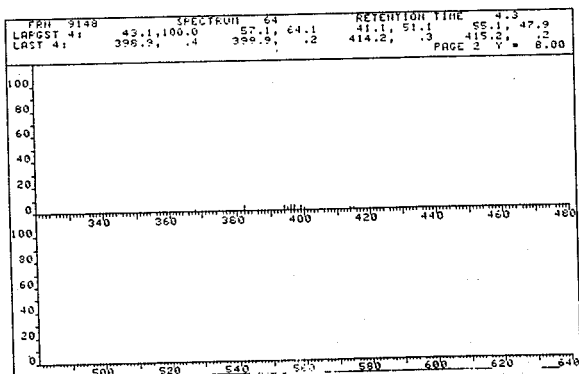
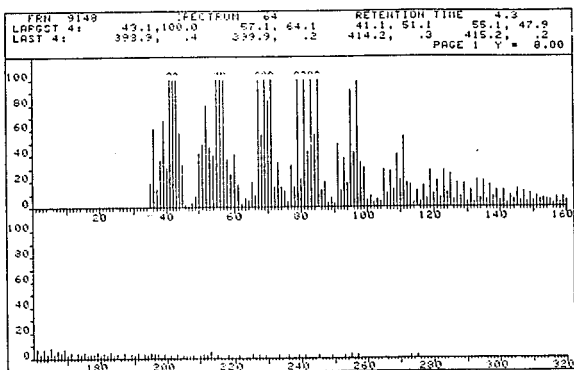
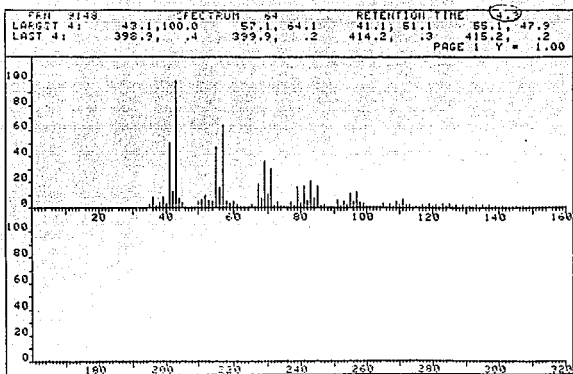


Fig. 29 Espectro de masas de fracciones de rizomas de Ruppia maritima correspondiente a 23 amino 3 hidroxi colest-5-en-7-ona.

hidrógenos diferentes a metilenos, evidencia de  $\text{CH}_2\text{-C-}$  ; hidrogenos en base de oxígeno (lactona); existen metóxilos en 4.35, triplete (lactona o eter) y protones vinílicos en 5.3 (Figs. 27 y 30).

De los análisis realizados a los diferentes tipos de espectros se proponen los siguientes compuestos: 26 amino 3,6 dihidroxi-colestano y 26 amino 3 hidroxi coles-5 en 7-ona (fig. 31a y b).

Con respecto a todos los compuestos obtenidos cabe mencionar que se requieren algunos otros estudios así como la repetición de los ya realizados para poder tener una confirmación absoluta de las estructuras antes propuestas.

U.N.A.M. Instituto de Química  
RM-3 y 4  
OBSERVE H:  
FREQUENCY 299.948 MHz

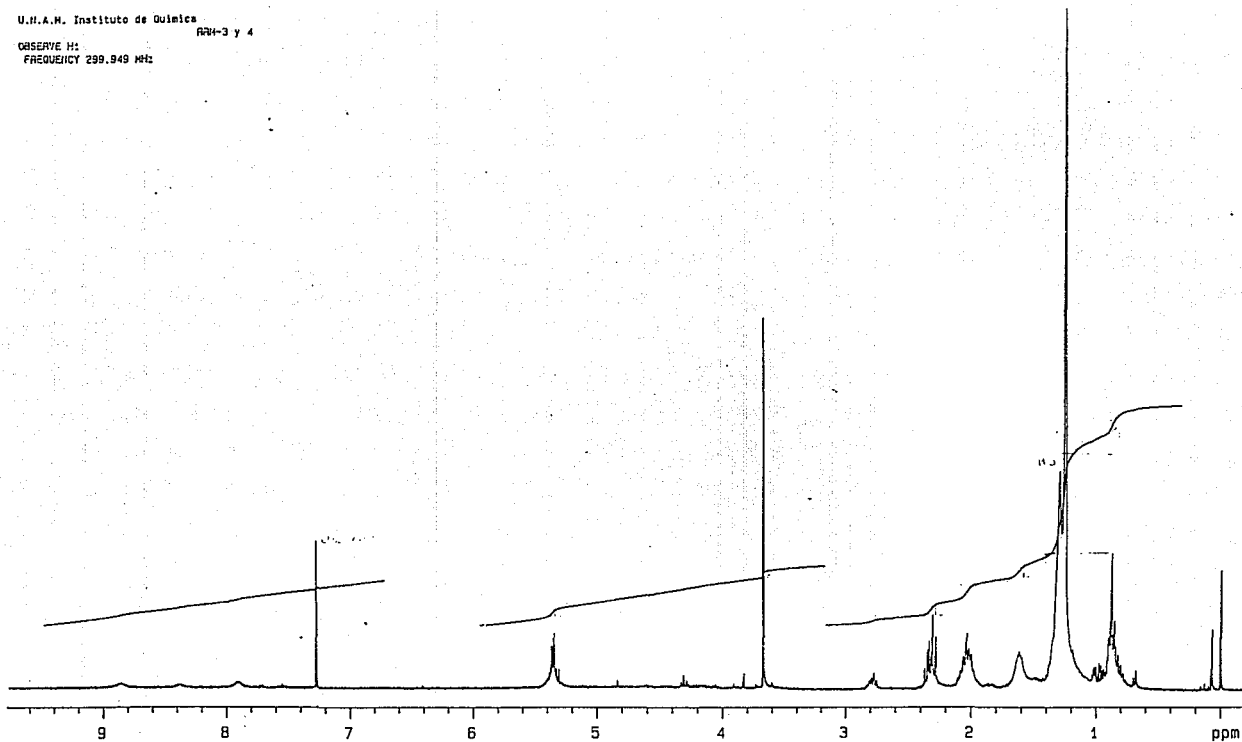


Fig. 27 Espectro de resonancia de fracciones de rizomas de Ruppia maritima correspondiente a 23 amino 3,6 dihidroxi-colestano.

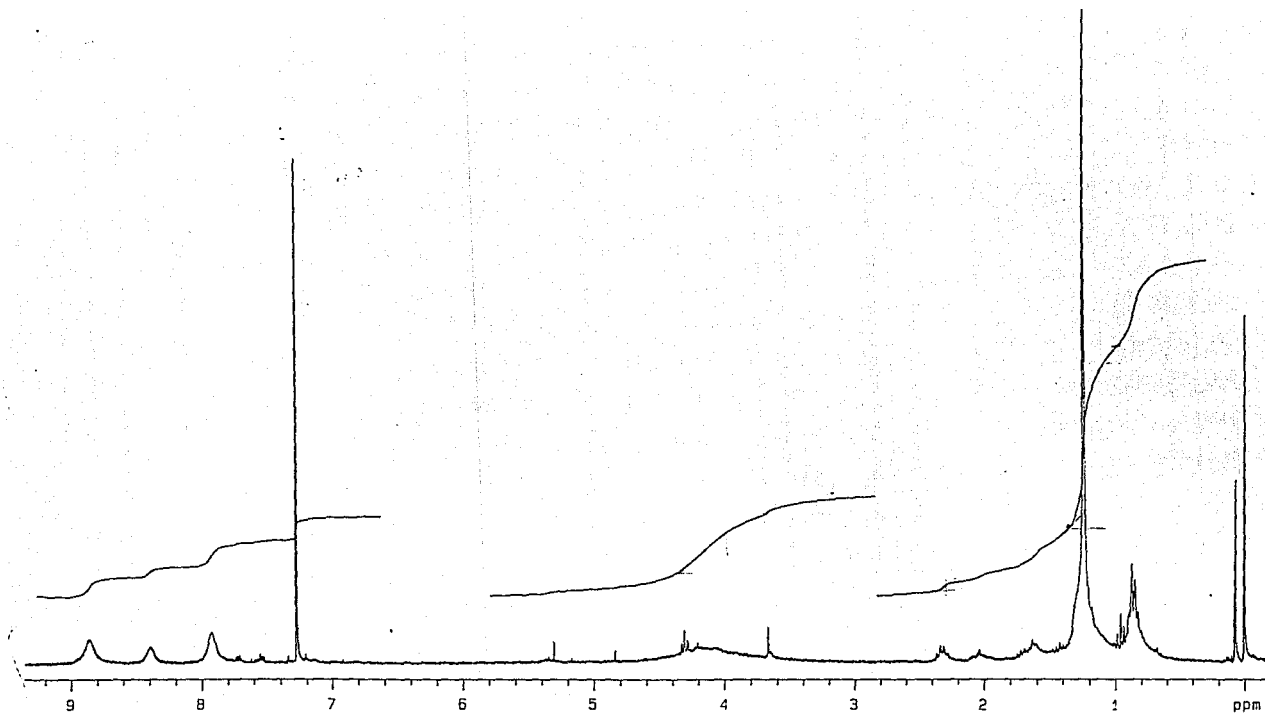


Fig. 30 Espectro de resonancia de fracciones de rizomas de Ruppia maritima correspondiente a 23 amino 3 hidroxí colest-5-en-7-ona.

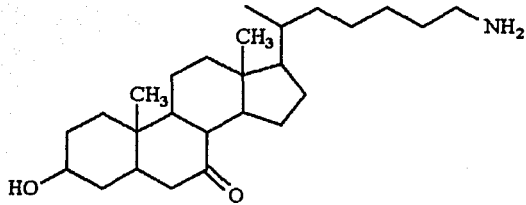


Fig. a 26-amino-3-hidroxi-colest-5-en-7-ona

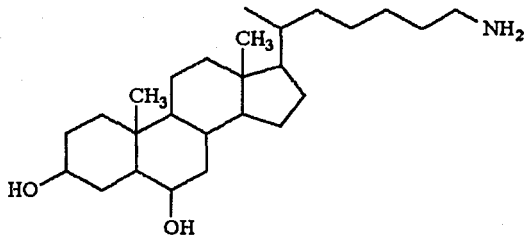


Fig. b 26-amino-3,6-dihidroxi-colestano

Figs. 31 a y b Esteroides obtenidos de rizomas de *Ruppia maritima*.



## DISCUSION

En el presente trabajo se observaron las diferencias ambientales entre los tres sistemas lagunares estudiados, estas diferencias estan afectando a nuestra planta ya que la *Ruppia maritima* colectada en la laguna de Nichupté tuvo hojas más anchas pero menos largas que la colectada en Alvarado. Autores como Phillips (1960); Thayer et. al. (1984) y Phillips y Meñez (1988) han dado a conocer que la temperatura es un factor preponderante para la subsistencia de algunas especies de pastos marinos; de hecho la distribución de las especies está directamente relacionada con la temperatura (Hartog, 1970).

Tomando en cuenta a los regímenes pluviales, salinos, la temperatura, la profundidad y la turbidez en donde fue encontrada *Ruppia* podemos observar que la distribución de esta especie está restringida a zonas muy someras, con alta turbidez, salinidades por debajo de las 35 ‰ y manchones no muy grandes mezclados en algunos casos con otros pastos tales como *Thalassia testudinum*.

Un aspecto de importancia es la reproducción en esta especie (su plasticidad genética), ya que las condiciones ambientales estarán determinando por ejemplo su floración, su tasa reproductiva y otros aspectos; así pues la distribución puede ser muy amplia pero solamente en ciertas areas encontrará el medio adecuado para poder llevar a cabo sus funciones; pudiendo llegar a modificarse su distribución drásticamente al paso del tiempo (Pielou, 1979).

La duración de la vida de una especie en relación con los principales ciclos ambientales, tiene consecuencias genéticas. Si la duración de la vida es más corta que los períodos principales de los ciclos ambientales, las sucesivas generaciones se desarrollan sometidas a condiciones distintas y los ciclos

ambientales funcionan como una serie de filtros de distinta selectividad. Su resultado son especies relativamente plásticas desde el punto de vista de la fenogénesis como podría ser la ciclomorfosis. Si la duración de la vida se extiende a más de un período del ciclo ambiental, las sucesivas generaciones se desarrollan bajo condiciones equivalentes y se puede seleccionar un desarrollo canalizado a una fenogénesis menos variable. El resultado son especies de menor plasticidad, pero de mayor tendencia a la diferenciación genética de expresión geográfica (Margalef, 1979; Pielou, 1979). Esto se ve reflejado en nuestra especie encontrando que las diferencias existentes entre especies de *Ruppia* son muy específicas y obedecen a cambios meramente ambientales (Novelo, 1991).

La ciclomorfosis es un fenómeno general manifiesto igualmente en organismos bentónicos y terrestres, este es un cambio fenogenético que se ha observado en algas. La temperatura es determinante y fundamental en la ciclomorfosis pero no se excluye la influencia de otros factores, la fotoperiodicidad es un factor que la influye directamente. La inactividad periódica no es siempre de período anual; los cambios periódicos pueden ser respuestas directas o bien estar basadas en ritmos endógenos, por ejemplo la deshidratación de algunos organismos que habitan lugares en donde existe una alta evaporación y desaparición del agua o por una concentración salina excesiva, es una respuesta directa entrando en estado de anabiosis o de vida latente, de metabolismo prácticamente nulo, hasta que el medio es adecuado. En muchas especies, la anabiosis, criptobiosis, hipnobiosis o vida latente, es un fenómeno regular y periódico, inserto profundamente en la organización de la especie y que en el curso de la evolución se ha acoplado a una ritmicidad general, de tipo endógeno y gobernada con frecuencia por un fotoperíodo o por un termoperíodo (Pianka, 1978; Margalef, 1979; Pielou, 1979).

~~El presente trabajo tiene como objetivo principal  
establecer la relación entre el número cromosómico y  
la morfología de las especies de Ruppia que habitan en  
relación a la latitud en el océano Pacífico. Se ha observado  
en el estudio de las especies de Ruppia que existen  
especificaciones de color que han sido muy interesantes y que en  
relación directamente con ellas como la coloración de los  
terceros periodos.~~

Dentro de estos aspectos es de suma importancia citar un estudio  
muy reciente de Novelo (1991) en el que se presenta una  
comparación realmente significativa entre las diferentes especies  
de Ruppia que han sido reportadas incluyendo aspectos como el  
número cromosómico y por el que esto ayuda a intentar  
establecer diferencias concretas y algunas localizadas. En este estudio  
Novelo (1991) hace énfasis en aspectos como la distribución de  
Ruppia didyma la cual se encuentra como el primer tipo de  
continental encontrándose localizada en las costas del Pacífico y  
más de 2500 km de distancia. Debe hacerse mención que en el mapa  
de distribución que se presenta para este tipo de Ruppia  
similares a Ruppia maritima presentándose en el Pacífico y también  
tanto en el Pacífico como en el Atlántico, también intentando poder  
establecer las diferencias morfológicas que han surgido para  
identificar las diferentes especies.

Novelo (1991) hace énfasis respecto al hecho de que las diferencias  
de la inflorescencia (especies de Ruppia maritima), que habitan más  
comúnmente cerca de aguas profundas en el océano Pacífico. Novelo  
(1991) menciona que: "La especie de Ruppia que habita en aguas profundas  
no puede ser un taxón secundario, y probablemente represente uno de  
muchas otras especies de Ruppia que habitan en aguas profundas.  
Mientras el grupo de Ruppia maritima habita en aguas superficiales  
ser muy interesante de que el número de cromosomas y el color de los  
terceros periodos de las especies de Ruppia que habitan en aguas profundas  
sean diferentes a las de las especies de Ruppia que habitan en aguas superficiales".

Aplicando las consideraciones hechas anteriormente a *Ruppia* podemos decir que tenemos una especie que si bien presenta una distribución muy amplia podemos observar diferencias de tamaño con relación a la latitud en donde ésta fue colectada. En lo referente a su floración también se observa que solamente en condiciones muy específicas sus flores han podido ser colectadas y esto se relaciona directamente con factores como la fotoperiodicidad o los termoperíodos.

Dentro de estos aspectos es de suma importancia citar un trabajo muy reciente de Novelo (1991) en el que se presenta una comparación realmente significativa entre las diferentes especies de *Ruppia* que han sido reportadas incluyendo aspectos como el número cromosómico y por el que sin lugar a dudas se pueden establecer diferencias concretas y significativas. En este trabajo Novelo (1991) hace énfasis en aspectos como la distribución de *Ruppia didyma* la cual se reconoce como el primer reporte continental encontrándose localizada en las Islas del Mar Caribe a más de 2500 km de distancia. Debe hacerse mención que en el mapa de distribución que se presenta parece tener características similares a *Ruppia maritima* presentándose en latitudes similares tanto en el Pacífico como en el Golfo, resulta interesante poder establecer las diferencias morfológicas que han servido para identificar las diferentes especies.

Novelo (1991) hace referencia especial al largo de los pedúnculos de la inflorescencia (mayores en *Ruppia maritima*), los carpelos que comúnmente crecen en pares compartiendo el mismo pedículo. Novelo (1991) menciona que: "la espiralización del pedúnculo creemos que no puede ser un caracter distintivo y constante puesto que en muchas otras familias de plantas acuáticas esto mismo ocurre cuando el fruto madura debajo del agua"; esta anotación resulta ser muy significativa ya que lo espiralado y su largo parecen ser

caracteres no determinantes; estos pueden ser producto solamente de respuesta a cambios meramente ambientales. Si analizamos la función del pedúnculo de la inflorescencia podemos decir que éste se define como eje portador de una inflorescencia y se ha reportado que en algunas especies se presenta fototropismo positivo; esto puede aplicarse al caso de nuestra especie, encontrándose ella en ambientes con poca incidencia de luz en el fondo, esta especie desarrolla sus pedúnculos, lo que le permite acercarse a la superficie y obtener así una mayor captación de luz, la cual se puede considerar un factor ambiental disparador de procesos como la heterofolia o polimorfismo foliar, crecimiento y germinación entre otros (Margalef, 1979). Esta capacidad de poder modificar la forma o el tamaño de diversas estructuras en la planta depende de su eficiencia y economía, ya que se selecciona al estímulo que reúne más ventajas para la planta, existiendo así una asociación entre el estímulo eficaz y el cambio respecto al cual tiene sentido la morfosis producida.

Al respecto de lo anteriormente mencionado se podría relacionar con las diversas especies que viven ya sea en el trópico o en latitudes mayores, teniendo así respuestas más rápidas las del trópico que las de latitudes mayores, pero esto está también relacionado con la duración de los inviernos, primaveras y veranos en las distintas latitudes (Mohr, 1972). La pregunta sería que tan adaptadas están unas especies con respecto a otras así como cuales son sus mecanismos de respuesta tanto para la captación de luz, la reserva de energía, cambios de temperatura y otros factores.

Con respecto a capacidad de penetración de la luz resulta de gran importancia tomar en cuenta la gran cantidad de organismos que habitan sobre la superficie de las hojas de *Ruppia* y que en este caso en su mayoría fueron algas y briozoarios. Estos organismos de algún modo también están afectando la llegada de luz sobre la

superficie de la hoja. podría pensarse que de acuerdo a los pigmentos que estas algas posean entonces dejarán pasar solamente cierto tipo de longitudes de onda pudiéndose intuir que éste es un tipo de simbiosis reguladora de los efectos de la luz sobre el pasto.

Estudiando los mecanismos de respuesta para la captación de luz, tenemos que el movimiento orientado de los cloroplastos resulta ser muy importante, ya que si nosotros consideramos la estructura molecular de la pared celular de éstos y la posición o acomodo que cada uno de los fotopigmentos (complejos antena) adquiere durante las diferentes orientaciones de los cloroplastos ("antistrophe, parastrophe y peristrophe") y que éste está relacionado con la intensidad lumínica que ellos perciben así como los períodos de obscuridad a los que puedan estar sometidos; resulta de gran interés el poder establecer los mecanismos de respuesta ante la variación de estos factores para cada una de las especies y en nuestro caso una especie de pasto marino; planta acuática que es considerada cosmopolita, lo que implicaría que puede estar en latitudes muy al norte o en el Ecuador abarcando períodos de iluminación, temperaturas y en general ambientes muy diversos.

En nuestro caso algo que resulta interesante es el factor tiempo, el cual se ha observado varía con respecto a cada uno de los patrones ("antistrophe" y "parastrophe") y de la especie que se esté estudiando; siendo mucho más largo que en otras especies como *Egeria* y mostrando que entre más tiempo pase nuestra especie en obscuridad previa a la irradiación también tardará más en llegar a los diferentes patrones de distribución de los cloroplastos.

En este trabajo coincidimos con Benavides (1986) en que para *Egeria* así como en *Ruppia* se incrementa la absorbanza en todas las longitudes de onda pudiéndose establecer que los

fotoreceptores pueden variar en su posibilidad de captación de luz estando esto directamente relacionado con el tiempo de exposición y el período de obscuridad previo; además de que esto variará de acuerdo a cada especie, en cuanto a la rapidéz de los cambios.

Relacionando el movimiento orientado de los cloroplastos a la fotomorfogénesis que ha sido definida como el control del desarrollo vegetal y de la diferenciación por medio de luz, independientemente de la fotosíntesis, sin olvidar que todos estos fenómenos dependen de la información genética que se tenga y también del medio ambiente (Mohr, 1972; Vogel y Angerman, 1979).

En el desarrollo de la fotomorfogénesis se han visto involucrados el fitocromo Pr 630-660 y Pfr 700-730 los que han sido definidos como cromoproteínas las que son importantes para la fotomorfogénesis como la clorofila para la fotosíntesis. Se puede decir que la cualidad de mayor importancia en este sistema del fitocromo es la capacidad de reversibilidad que existe entre el Pr 630 a Pfr 730 o al inverso Pfr 730 a Pr 630, estando este proceso directamente ligado a factores como el tiempo de irradiación (Mhor, 1972).

En el presente estudio el proceso de fotomorfogénesis lo encontramos relacionado con la posibilidad de captación de luz por medio del movimiento orientado de los cloroplastos, ya que la captación de luz por medio de Pr y Pfr está ligado a la posición de estos fotoreceptores en la membrana de los tilacoides. Anderson y Andersson (1988), mencionan que además de que las plantas estén genéticamente adaptadas a lugares con mucha luz o sombra muchas pueden lograr subsistir a estas condiciones por medio del cambio (o alterando) la composición y estructura de las membranas tilacoides de hoja a hoja o a través de una misma hoja. El planteamiento de esta teoría es muy importante para las plantas acuáticas ya que estas perciben diferentes tipos y cantidades de

luz según la profundidad y turbidez existente en el medio; esto a su vez se ve reflejado en aspectos como el tamaño de las hojas, o el desarrollo de estructuras como el pedúnculo de la inflorescencia que en el caso de nuestra especie lo encontramos muy desarrollado.

En este trabajo se abarcaron algunos aspectos de la fitoquímica de *Ruppia* y de los cuales vale la pena hacer mención ya que existen muy pocos trabajos a este respecto. Ciertamente esta parte fue la más difícil con respecto a la metodología utilizada para la obtención de moléculas químicamente puras.

Con respecto a los ácidos grasos extraídos de rizomas y hojas tenemos una mayor diversidad dentro de los rizomas y además podemos observar variaciones con respecto a las proporciones de los ácidos en muestras tomadas en dos zonas o latitudes distintas (laguna de Alvarado y Nichupté) y en diferentes épocas del año (primavera y verano).

Este punto resulta interesante comparado con otros estudios que se han realizado en especies terrestres (García, 1989) en donde los porcentajes de ácidos grasos varían de acuerdo a factores ambientales relacionados directamente con la latitud y altitud además de con las variaciones estacionales anuales. Para nuestra especie el factor latitud y los parámetros ambientales como la temperatura son los que consideramos determinantes para las variaciones de ácidos grasos.

Dentro de los ácidos grasos que encontramos en nuestro estudio tenemos principalmente ácidos como: palmítico, esteárico, palmitoléico, oléico, linoléico, linolénico, arquídico y mirístico; teniendo cada uno de éstos diversas funciones y características.



Podemos decir que en general todos poseen una cadena hidrocarbonada larga con un grupo carboxilo terminal, esta cadena puede ser saturada como el caso del ácido palmítico o pueden tener uno o más enlaces dobles como el ácido oléico siendo este insaturado. Así nuestra especie contiene de los dos tipos de ácidos y se puede decir que en mayor proporción los saturados.

Los ácidos grasos insaturados predominan sobre los saturados, especialmente entre las plantas superiores terrestres que viven en temperaturas bajas, estos poseen puntos de fusión más bajos que los saturados de una misma longitud de cadena; así también los ácidos grasos con un número impar de carbono aparecen con bastante frecuencia en organismos marinos, los ácidos linolénico y linoléico son tomados por diversos organismos de vegetales ya que ellos no los pueden sintetizar, estos ácidos son precursores de ácido arquidónico que no se encuentra en las plantas (Lehninger, 1978).

Diversos autores (Felger y Moser, 1980; Thayer et.al., 1984; Phillips y Meñez, 1988) hacen referencia a la importancia que estos compuestos tienen como fuente de energía para los organismos que los consumen como por ejemplo las especies de tortuga (*Chelonia mydas* y *Chelonia agassizei*) que ingieren a *Ruppia maritima*.

Como ya se mencionó anteriormente también fueron estudiadas en este trabajo las flavonas y se obtuvieron compuestos tales como Liquiritigenina, Pinocembrina, Aureosidina, Acetina, 26 amino 3,6-dihidro-colestano y 26 amino 3-hidroxi-coles-5-en-7-ona; las dos últimas sustancias son esteroides; se puede decir que estos dos compuestos se sintetizan básicamente por la misma ruta metabólica.

En la ruta metabólica para la síntesis de flavonoides también se parte de la energía luminosa a partir del Pr y Pfr vía las enzimas

PAL (fenilalanina amoníaco-lyasa) y CAH (ácido transcinámico 4-hidroxi-lyasa) jugando un papel importante la malonil-CoA para la formación de flavonoides al igual que el ácido cumárico. Estos compuestos en algunos casos son los que dan como efectos fisiológicos el color a las semillas (rojo, café, etc.) (Mohr, 1972).

La importancia de que en este estudio se hayan encontrado una variedad de flavonas relativamente más amplia en hojas puede ser relevante en el sentido de que estos compuestos sirven como bactericidas, fungicidas, repelentes, atrectores para predadores o para que organismos epífitos no se sitúen sobre las hojas del pasto. El número de compuestos de este tipo está relacionado con la inhibición de la herbivoría (Thayer et al., 1984). Comparando nuestros resultados con los de Mc. Millan et al. (1981) en otras especies de pastos marinos encontramos que nuestra especie tiene mayor número de compuestos y que esto es un reflejo de las condiciones ambientales del lugar en donde fueron colectadas las muestras, mostrándonos de nueva cuenta que los parámetros ambientales influyen en el comportamiento de nuestra especie.

Como hemos visto a lo largo de este trabajo todos y cada uno de los procesos que hemos tratado de un modo u otro, indirecta o directamente tienen que ver o se ven afectados por la luz. Se puede decir que la luz sea cual sea su longitud de onda es el factor disparador de diversos procesos y en este caso específicamente en la bioquímica del transporte de electrones partiendo de la captación de un fotón por medio de un fotopigmento receptor y el transporte de este electrón para la producción de diversos compuestos que sirven como materia prima para otros procesos o como sustancias de deshecho, esto es bastante complicado y ha sido poco estudiado en un sentido más amplio.

Algo muy importante que debemos remarcar es el hecho de que la célula funciona con una gran eficiencia para lograr obtener los

mejores rendimientos desde diversos puntos de vista, ésto esta basado en la especificidad que maneja cada uno de los organos que la conforman y a su vez cada uno de los procesos que en ellos se llevan a cabo.

Autores como Seitz (1971), Barber (1976), Krause y Heber (1977), Dring (1982), Haupt (1983), Halliwell (1984), Hooper (1984), Takagi y Nagai (1985), Benavides (1986) et. al. (1987), Foyer (1987), Anderson y Andersson (1988), han realizado diversos trabajos que involucran procesos como el funcionamiento de los fotosistemas I y II, las rutas metabólicas  $C_3$  y  $C_4$ , la participación del  $CO_2$ , del  $Ca^{+2}$ , de las relaciones  $Mg^{2+}/H^+$  y  $K^+/H^+$ ; del pH y del funcionamiento de los fotopigmentos en la fotosíntesis.

De los trabajos y procesos antes mencionados que están relacionados con el movimiento orientado de los cloroplastos y por consiguiente con la fotosíntesis podemos hacer mención del  $Ca^{+2}$  que junto con los microfilamentos de actina son los responsables del movimiento orientado de los cloroplastos (Haupt, 1983); pero indudablemente estos parámetros están relacionados con el ATP y es esta molécula la que parece brindar la energía necesaria para dicho movimiento.

También la gran variedad de fotopigmentos receptores reportados en la literatura, y el rango que ocupa cada uno de ellos dentro del espectro de luz y el organelo en el que realizan sus funciones de captación de luz, indican que todos los procesos que tienen como inicio la captación de luz están directamente relacionados o interconectados; aunque por ejemplo la fosforilación oxidativa en mitocondrias se puede dar a intensidades bajas y dentro de los 300 a 500 nm (luz ultravioleta o azul). En este caso podemos observar la relación entre la intensidad y las diversas funciones y lo específico que resulta ser cada proceso.

Las conclusiones de este trabajo son en lo referente a los aspectos ultraestructurales de *Ruppia* que las estructuras que habían sido reportadas con anterioridad como el tipo de grano de polen, la forma y color del fruto, ancho y forma de las hojas, forma y disposición de la inflorescencia coinciden con los resultados obtenidos en este trabajo; pero algo que cabe hacer notar es la estructura interna de la hoja con referencia en especial a los dos canales aéreos y los diafragmas transversos que existen a lo largo de la hoja; así como el doble serrulamiento en la parte apical de la hoja no habían sido reportados con anterioridad. También el tamaño de las células en el que se nota que las que están más externas son de mucho menor tamaño que las que están pegadas a los canales aéreos. Es de importancia hacer notar que en nuestras micrografías de microscopía electrónica se pueden observar cloroplastos dentro de las células siendo estos de diferentes tamaños.

Con respecto a la evaluación entre el arreglo de los cloroplastos y la actividad fotosintética podemos referirnos en primera instancia a las fotomicrografías en las que por primera vez son reportados los diversos tipos de movimiento orientado de cloroplastos en *Ruppia maritima* encontrándose que por la relación que existe entre las micrografías y los espectros de absorción y de acuerdo a un tiempo de exposición creciente que estos movimientos orientados son: aleatorios (peristrophe), de canto (parastrophe) y de cara (antistrophe).

Otro de los elementos básicos en este estudio son los ácidos grasos y las flavonas los que como ya se mencionó anteriormente de un modo u otro son producto de la utilización de la luz en la síntesis de éstos, en este trabajo se dan a conocer como compuestos que constituyen a *Ruppia maritima*: Liquiritigenina, Pinocebrina, Aureosidina, Acacetina, 26 amino 3 hidroxí

colest-5-en-7-ona y 26 amino 3,6 dihidroxi-colestano. Se encontró que la presencia de ácidos grasos insaturados y saturados tiene relación directa con el medio ambiente en el que fueron colectadas las muestras, siendo el parámetro que influye directamente para la obtención de éste resultado la temperatura.

En lo referente a la distribución de *Ruppia*; en este trabajo se hace incapie en la amplia distribución geográfica de esta especie y a la que estamos contribuyendo con los reportes para las lagunas de Alvarado, Sontecomapan y Nichupté por medio del aporte de material al herbario nacional.

En este trabajo nos queda además muy claro que existen problemas desde la definición de las unidades que se utilizan, hasta todo lo que implica el tratar de trasladar una porción de laguna a un laboratorio sin que ésto deje de ser un reto que nos motive a seguir realizando este tipo de investigaciones, procurando siempre mejorar las condiciones de laboratorio obteniéndose así una cercanía mayor entre éste y las condiciones ambientales naturales; y de ser posible resulta interesante el poder realizar algunos experimentos en el medio ambiente natural.

## ABREVIATURAS UTILIZADAS

A = Absorbancia

Af(m) = Clima de Selva

ATP = Adenosina-5'-trifosfato

Aw = Clima de Sabana

Aw''(i) = Lluvia marcada en invierno y  
corta en verano.

BuOH = Butanol

CAH = Acido transcinámico 4-hidroxilasa

CoA = Coenzima A

DMF = Dimetil formamida

DMSO = Dimetil sulfóxido

EtOH = Etanol

FI = Fotosistema I

FII = Fototsistema II

HCO<sub>3</sub> = Bicarbonato

HPLC = Cromatografía líquida de  
alta resolución

IR = Infrarojo

MEB = Microscopía electrónica de barrido

MeOH = Metanol

EM = Espectro de masas

NADP = Nicotinamida-adenin-dinucleotido-fosfato

NADPH = Nicotinamida-adenin-dinucleotido-fosfato reducido

nm = Nanómetros

OsO<sub>4</sub> = Tetróxido de osmio

PAL = Fenilalanina amonia-lyasa

Pfr o P730 = Fitocromo del rojo lejano

Pr o P680 = Fitocromo del rojo cercano

TBA = Terbutanol

UV = Espectro de ultravioleta

VIS = Espectro visible

## BIBLIOGRAFIA

- Amezcuca, L. y A. Yáñez. (1980). Ecología de los sistemas lagunares asociados a la Laguna de Terminos. El habitat y estructura de las comunidades de peces. An. Centro de Ciencias del Mar y Limnología. Univ. Nal. Autón. México. 7(1):69-118.
- Anderson, J. & B. Andersson. (1988). The dynamic photosynthetic membrane and regulation of solar energy conversion. TIBS 13:351-355.
- Andrews, T.J. & K.M. Abel. (1979). Photosynthetic carbon metabolism in seagrass <sup>14</sup>C labelling evidence for the C<sub>3</sub> pathway. Plant Physiol. (63):650-656.
- Barber, J. (1976). Topics in photosynthesis. Vol. 1 Elsevier. Science Publ.
- Barbier, M. (1981). Marine chemical ecology: the roles of chemical communication and chemical pollution. In: Marine Natural Products. Academic Press Inc. 147-169pp.
- Benavides, V.D. (1986). Captación del carbono y movimientos orientados de los cloroplastos en Egeria densa. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. Univ. Nal. Autón. México. 37pp.
- Benavides, D., F. García y C. Pérez. (1987). Movimiento de los cloroplastos en Egeria densa Planch. Øyton 47(1/2):95-101.

- Bender, M.M. (1971). Variations in the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios of plants in relation to the pathway of the photosynthetic carbon dioxide fixation. Phytochemistry (10):1239-1249.
- Benedict, C.R. & J.R. Scott. (1976). Photosynthetic carbon metabolism of a marine grass. Plant. Physiol. (57):876-880.
- Britz, S. & W. Briggs. (1976). Circadian rhythms of chloroplast orientation and photosynthetic capacity in *Ulva*. Plant. Physiol. (58):22-27.
- Britz, S., J. Pfau, W. Nultsh & W. Briggs. (1976). Automatic monitoring of a circadian rhythm of change in light transmittance in *Ulva*. Plant. Physiol. (58):17-21.
- Browse, J.A., F.I. Dromgoole & M.A. Brown. (1977). Photosynthesis in the aquatic macrophyte *Egeria densa* I.  $\text{CO}_2$  fixation at natural  $\text{CO}_2$  concentration. Aust. Jour. Plant Physiol. (4):169-176.
- Browse, J.A., J.M. Brown & F.I. Dromgoole. (1977). Photosynthesis in the aquatic macrophyte *Egeria densa* II. Effects of inorganic carbon conditions on  $^{14}\text{C}$  fixation. Aust. Jour. Plant. Physiol. (6):1-9.
- Browse, J.A., F.I. Dromgoole & M.A. Brown. (1977). Photosynthesis in the aquatic macrophyte *Egeria densa* III. Gas exchange studies. Aust. Jour. Plant. Physiol. (6):499-512.
- Browse, J.A., J.M. Brown & F.I. Dromgoole. (1980). Malate synthesis and metabolism during photosynthesis in *Egeria densa* Planch. Aquatic Botany (8):295-305.



- Carranza, E. A., M. Gutiérrez y R. Rodríguez. (1975). Unidades morfotectónicas continentales de las costas mexicanas. An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México. 2(1):81-88.
- Contreras, F. (1985). Las Lagunas Costeras Mexicanas. Centro de Ecodesarrollo, Secretaría de Pesca. 263pp.
- Collado, L. (1989). Estudio ecológico de las algas filamentosas como un grupo funcional de la laguna de Bojorquez, Can-Cun. Tesis de Maestría. UACPyP-CCH, ICML: Univ. Nal. Autón. México. 102p.
- Curts, G. J. (1985). El diagrama de tallo y hoja. Biología, 15 (1-4):7-12.
- Dahlgren, R., H. Clifford y P. Yeo. (1985). The families of the Monocotyledons. Structure, evolution and taxonomy. Springer-Verlag, Berlin. 503pp.
- De la Lanza, E.G. y C. Tovilla. (1986). Una revisión sobre taxonomía y distribución de pastos marinos. Universidad y Ciencia, 3(6):17-38.
- Dring, M.J. (1982). The biology of marine plants. Edward Arnol Publishers, Great Britain. 199pp.
- Escobar, E.G. (1987). Flujo de energía y estructura trófica de la comunidad de macroinvertebrados epibénticos asociados a *Thalassia testudinum* en una laguna costera tropical Laguna de Términos, Campeche. Tesis de Doctorado. UACPyP-CCH, Univ. Nal. Autón. México. 244pp.

- Faure, G. (1977). Principles of isotope geology. Ed. John Willey & Sons, Inc. 379-401.
- Felger, S., M. Moser & E. Moser. (1980). Seagrasses in Seri Indian Culture. In: Hand book of seagrass biology and ecosystem perspective. Phillips R. & P. McRoy Eds. Garland STPM Press, New York.
- Flores, C.C. y M.L. Méndez. (1982). Contribución al conocimiento del ictioplancton de la laguna de Alvarado, Veracruz, México. An. Inst. de Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México (9):141-160.
- Foyer, C. (1987). Fotosíntesis. Ed. CECSA, México. 212pp.
- Gamerro, J. (1968). Observaciones sobre la biología floral y morfología de la Potamogetonacéa *Ruppia cirrhosa* (Petag.) Grande (=R. *spiralis* L. ex Dum). Darwiniana. Tomo 14(4):575-608.
- García, E. (1973). Modificaciones al sistema de clasificación de Koppen (para adaptar a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía. Univ. Nal. Autón. México. 65p.
- García, F., O. Collera, C. Marquez y R. Sanabria. (1989). Fatty acid variation in oils from different races of maize from México. Rev. Soc. Quím. Mex. 33(6):353-356.
- González, G.M. (1977). Observaciones sobre un comportamiento atípico de *Ruppia maritima* L. en una laguna costera tropical. Boletín de la Sociedad de Botánica de México. 37:53-68.

- González, M.L. (1979). Cambios de volumen en cloroplastos de *Spinacea oleracea* clase II con aminas, diaminas y aminas unidas a sefarosa 4B. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, Univ. Nal. Autón. México. 65pp.
- Halliwell, B. (1984). Chloroplast metabolism. Clarendon Press, Oxford 259pp.
- Harborne, J., B. Mabry & H. Mabry. (1975). The Flavonoids. Chapman and Hall Eds. London, England.
- Hartog, C.D. (1970). The seagrasses of the world. North Holland Publ. Amsterdam. 275pp.
- Hatch, M.D., T. Kagawa & S. Craig. (1975). Subdivision of the C<sub>4</sub> pathway species bases on differing, C<sub>4</sub> acid decarboxilating systems and ultrastructural features. Aust. Jour. Plant. Physiol. (33):111-128.
- Haupt, W. (1970). Über den dichroismus von phytochrom<sub>660</sub> und phytochrom<sub>730</sub> bei *Mougeotia*. Z. Pflanzen Physiol. Bd. 62. S:287-298.
- Haupt, W. (1982). Ligth mediated movement of chloroplast. Ann. Rev. Plant. Physiol. (33):205-233.
- Haupt, W. (1983). Movement of chloroplasts under the control of light. Progress in Phycological Research, Vol 2. Elesvier Science Publ.228-277pp.
- Hartwig, U., C. Maxwell, C. Joseph & D. Phillips. (1990). Chrysoeriol and luteolin released from alfalfa seeds induce nod genes in *Rhizobium meliloti*. Plant Physiol. 92:116-122.

- Hooper, J.K. (1984). Chloroplast. Plenum Press, New York. 280pp.
- Hough, R. & R. Wetzel. (1972). A  $^{14}\text{C}$  assay for phorespiration in aquatic plants. Plant. Physiol. (49):987-990.
- Ibarra, O. (1985). Introducción al método de marcado para medir la producción de pastos marinos. Ed. UABC, 30p.
- Jamieson R. & E.Reid. (1965). The analysis of oils and fats by gas chromatography. The Journal of Chromatography (17):230-237.
- Jellum, M.d. & R.E. Worthigton. (1966). Rapid gas liquid chromatographic procedure for the analysis of methyl ester of long chain fatty acid. The Journal of the American Oil Chemist's Society (43):661-664.
- Jordán, E., M. Angot y R. de la Torre. (1978). Prospección biológica de la Laguna de Nichupte, Cancun, Q.R. México: nota científica. An. Centro Cienc. del Mar y Limnología. Univ. Nal. Autón. México. 5(1):179-188.
- Kikuchi, T. & J. Pérés. (1977). Consumer ecology of seagrass beds. In: Seagrass ecosystems a scientific perspective. P. McRoy y C. Hellfferich. Marcel Dekker Inc. N.Y., E.U.A.
- Krause, G. & U. Heber. (1976). The intact chloroplast. In: Topics in photosynthesis Vol. 1. Ed. J. Barber Elsevier, Amsterdam. 171-214pp.
- Lanckford, R. (1977). Coastal lagoons of México. Their origin and classification. In: Crinon, L.E. Eds. Estuarine processes, circulation sediments and transfer of material in the estuary. Academic Press. Inc. New York. (2):182-215.

- Lehninger, A. (1978). Bioquímica. Ediciones Omega, Barcelona 1117pp.
- Lot, H.A., A. Novelo y P. Ramírez. (1986). Listados florísticos de México V. Angiospermas acuáticas mexicanas 1. Inst. de Biología. Univ. Nal. Autón. México. 60pp.
- Macko, S.A. (1981). Stable nitrogen isotope ratios as tracers of organic geochemical processes. Ph.D. Dissertation. The University of Texas, Austin. 181pp.
- Markham, K. R. (1982). Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press. London, England. 113pp.
- Margalef, R. (1977). Ecología. Ed. Omega, Barcelona, España.
- McMillan, C. (1980). Isozymes of tropical seagrasses from the Indo-Pacific and the Gulf of México-Caribbean. Aquatic Botany, 8:163-172.
- McMillan, C., P. Parker & B. Fry. (1980a).  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios in seagrasses. Aquatic Botany. 9:237-249.
- McMillan, C., O. Zapata & L. Escobar. (1980b). Sulphated phenolic compounds in seagrasses. Aquatic Botany. 8:279-284.
- McMillan, C., S. Williams, L. Escobar & O. Zapata. (1981). Isozymes, secondary compounds and experimental cultures of Australian seagrasses in *Halophila*, *Halodule*, *Zostera*, *Amphibolis* and *Posidonia*. Aust. J. Bot. 29:247-260.

- McRoy, P. & C. McMillan. (1977). Production ecology and physiology of seagrasses. In: Seagrass ecosystems a scientific perspective. McRoy, P. & C. Helfferich Eds. Marcel Dekker, Inc. New York & Basel: 53-88.
- Meave, M. , M. Lara, K. Dreckman y L. Collado. (1991). Dinámica de las comunidades algales bentónicas y fitoplanctónicas de la laguna de Sontecomapan, Veracruz, México. Proyecto de Investigación UAM, Xochimilco 13pp.
- Merino, M., S. Czitrom, E. Jordan, E. Martin, P. Thomé & O. Moreno. (1990). Hydrology and rain flushing of the Nichupté lagoon system, Cancún, México. Estuarine, Coastal and Shelf Science. (30):223-237.
- Merino, M., A. González, E. Reyes, M. Gallegoz & S. Czitrom. (1992) Eutrophication in the lagoon of Cancún, México. Science of the Total Environment (en prensa).
- Mohr, H. (1972). Lectures on Photomorphogenesis. Springer-Verlag Eds. Berlín 237pp.
- Novelo, A. (1991). *Ruppia didyma* (Potamogetonaceae) en México y las Antillas. Anales Instituto de Biol. Univ. Nal. Autón. México. Ser. Bot. 62(2):173-180.
- Nugent, R., E. Jordán y R. de la Torre. (1978). Investigaciones preliminares de la biomasa de *Thalassia testudinum* König, en la costa de Caribe Mexicano: Nota científica. An. Centro Cienc. del Mar y Limnol. Univ. Nal. Autón. México. 5(1):247-254.
- Nultsh, W., J. Pfau & U. Ruffer. (1981). Do correlations exist between chromatophore arrangement and photosynthetic activity in sea weeds?. Marine Biology (62):111-117.

- Nultsh, W., U. Ruffer & J. Pfau. (1984). Circadian rhythms in the chromatophore movements of *Dictyota dichotoma*. Marine Biology (81):217-222.
- Parker, P.L. (1964). The biogeochemistry of the stable isotopes of carbon in a marine bay. Geochemica et Cosmochemica acta (28):1155-1164.
- Patrinquin, D. (1973). Estimation of growth rate production and age of the marine angiosperm *Thalassia testudinum* Koning. Carib. J. Sci. 13 (1-2):111-123.
- Phillips, C.R. (1960). Observation on the ecology and distribution of the Florida seagrasses. Fla. St. Bd. Conserv. Mar. Lab. Profesional Pap. Ser. (2):1-72.
- Phillips, R. & E. Meñez. (1988). Seagrasses. Smithsonian contributions to the marine sciences. No.34. Smithsonian Institution Press. Washington, D.C. 104pp.
- Pianka, E. (1978). Evolutionary Ecology. Harper & Row Publishers Second Edition. New York. 397pp.
- Pielou, E. C. (1979). Biogeography. Wiley-Interscience Publication. John Wiley and Sons. New York.
- Portis, A. & H. Heldt. (1976). Biochem. Biophys. Acta. 449.
- Reguero, M. y A. García-Cubas. (1989). Moluscos de la Laguna de Alvarado, Veracruz: sistemática y ecología. Ann. Inst. de Ciencias del Mar, UNAM. 16(2):279-306.
- Reguero, M. (1993). Estructura de la comunidad de moluscos en las lagunas costeras de Veracruz y Tabasco, México. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM. 213pp.

- Reyes, E. (1988). Evaluación de la productividad primaria en la laguna de Bojorquez, Can-Cun Quintana Roo. Tesis de Maestría. UACPYP-CCH, ICML, Univ. Nal. Autón. México. 50p.
- Reyes, E. y M. Merino. (1991). Deal dissolved oxigen dinamic and eutrophication in a shallow well-mix tropical lagoon (Can-Cun México). Estuaries 14(4):372-381.
- Salcedo, C. (1991). Absorción y movimiento de los cloroplastos en la macrofita acuática *Egeria densa* Planch. Tesis de licenciatura. ENEP Zaragoza, UNAM.
- Sauvageau, C. (1891). Sur les feuilles de quelques monocotyledones aquatiques. Ann. Sci. Nat. Bot. t.7 Ser. XIII:103-296.
- Seeliger, U., C. Cordazzo & E. Wysk. (1984). Germination and algal free laboratory culture of widgeon grass *Ruppia maritima*. Estuaries 7(2):176-178.
- Seitz, K. (1971). Primary process controlling the light-induced movement of chloroplast. Ann. Protozool. 11(26):225-235.
- Seitz, K. (1979). Cytoplasmatic streaming and Cyclosis of chloroplasts. In: Enciclopedia of plant physiology. New Series. 7 Cap. 3.
- Smith, H. (1982). Light quality photoperception and plant strategy. Ann. Rev. Plant. Physiol.(33):481-518.
- Smith, B. & Epstein. (1971). Two categories of  $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$  ratios for higher plants. Plant Physiol. (47):380-384.



- Strain, H., B. Cope & W. Svec. (1971). Analytical procedures for the isolation, identification, estimation and investigation of the chlorophylls. In: Methods in Enzimology vol. XXIII. Photosynthesis Parte A. Academic Press. New York. 452-476p.
- Takagi, S. & R. Nagai. (1985). Light controlled cytoplasmatic streaming in *Vallisneria mesophyll* cells. Plant. Cell. Physiol. 26(5):941-952.
- Takaoki, T., J. Torres & L. Packer. (1974). Factors affecting the stability of chloroplast membranes in vitro. Biochem. Biophys. Acta. (352):260-267.
- Taylor, G., K. Bjorndal, J. Ogden, S. Williams & J. Zieman. (1984). Role of larger herbivores in seagrass communities. Estuaries 7(4a):351-376.
- Tomlinson, P.B. (1969). On the morphology and anatomy of turtle grass *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae). III Floral morphology and anatomy. Bulletin of Marine Science 19(2):286-305.
- Trocine, R., J. D. Rice & G.N. Wells. (1981). Inhibition of seagrass photosynthesis by ultraviolet B-radiation. Plant Physiol. (68):74-81.
- Villalobos, A., A. Suarez, S. Gómez, G. de la Lanza, M. Aceves, F. Manrique y J. Cabrera. (1966). Consideration on the hydrography and productivity of Alvarado Lagoon, Veracruz México. Proc. Gulf. Carib. Fish. Inst. Ninteenth Anual. Sess:75-85.

- Vogel, G. y H. Angerman (1979). Atlas de Biología. Ed. Omega. Barcelona España.
- Walsh, G. & T. Grow. 1972. Composition of *Thalassia testudinum* y *Ruppia maritima*. Quart. Jour. Florida Acad. Sci. 35(2):97-108.
- Whittaker, R. & P. Feeny. (1971). Allelochemicals: chemical interactions between species. Science 171:757-770.
- Whittaker, R. (1975). Communities and Ecosystems. Mc. Millan Publishing CO., Inc. New York. 385pp.
- Wood, E., W. Odum & C. Zieman. (1969). Influence of seagrass on the productivity of coastal lagoons. In. Memoirs Symposium Internacional Costeras (UNAM-UNESCO) Nov. 28-30, 1967:495-502.
- Zieman, J. (1974). Methods for the study of the growth and production of turtle grass, *Thalassia testudinum* Koning. Aquaculture (4):139-143.