

VARIACIÓN ESTACIONAL DEL RENDIMIENTO Y CALIDAD DE AGAR DE *Gracilaria* *lemaneiformis* (BORY) DAWSON, ACLETO *et* FOLDVIK, DEL GOLFO DE CALIFORNIA, MÉXICO

SEASONAL VARIATION IN AGAR YIELD AND QUALITY OF *Gracilaria* *lemaneiformis* (BORY) DAWSON, ACLETO *et* FOLDVIK, FROM THE GULF OF CALIFORNIA, MEXICO

Fausto Arellano-Carbajal¹

Isaí Pacheco-Ruiz²

Felipe Correa-Díaz¹

¹ Facultad de Ciencias Marinas

² Instituto de Investigaciones Oceanológicas

Universidad Autónoma de Baja California

Apartado postal 453

Ensenada, CP 22800, Baja California, México

Recibido en julio de 1998; aceptado en noviembre de 1998

RESUMEN

Se estudió la variación estacional del agar de *Gracilaria* *lemaneiformis* (Bory) Dawson, Acleto *et* Foldvik de Bahía de las Ánimas, Baja California, México, en muestras recolectadas entre agosto de 1995 y mayo de 1996. El mínimo rendimiento de 8.16% se obtuvo en verano y el máximo de 15.37% en otoño. El contenido de 3,6-anhidrogalactosa (3,6-AG) fluctuó de 35.5% a 47.8% entre otoño e invierno. El grado de sustitución por sulfatos fue de 0.8% en invierno y 2.7% en otoño. La menor fuerza de gel de 217 g cm⁻² se localizó en otoño y la mayor de 892 g cm⁻² en primavera. La temperatura de fusión fluctuó de 92°C en verano a 98°C en primavera, mientras que la temperatura de gelificación fue de 34.3°C en otoño y 37.0°C en invierno. Se encontró una correlación positiva entre la fuerza de gel, el contenido de 3,6-AG y la temperatura de fusión, y de verano a invierno para la temperatura de gelificación. La correlación con los sulfatos fue negativa y no se encontró correlación con el rendimiento. La mayor calidad de agar en *G. lemaneiformis* coincidió con la máxima biomasa *in situ*.

Palabras clave: *Gracilaria* *lemaneiformis*, Golfo de California, agar.

ABSTRACT

Seasonal variation in agar from *Gracilaria* *lemaneiformis* (Bory) Dawson, Acleto *et* Foldvik from Bahía de las Ánimas was studied; samples were collected between August 1995 and May 1996. Minimum yield (81.6%) occurred in summer and maximum (15.37%) in autumn; 3,6-anhydromalactose content (3,6-AG) fluctuated from 35.5% to 47.8% between autumn and winter. The sulfate percentage was 0.8% in winter and 2.7% in autumn. The lowest gel strength (217 g cm⁻²) was recorded in autumn and the highest in spring (892 g cm⁻²). Melting temperature varied from 92°C in summer to 98°C in spring, while gelling temperature was 34.3°C in autumn and 37°C in winter. Gel strength was positively correlated with 3,6-AG and melting temperature, and from summer to winter with gelling temperature.

Correlation with sulfates was inverse and did not correlate with yield. Higher quality of agar in *G. lemaneiformis* coincides with the maximum *in situ* biomass.

Key words: *Gracilaria lemaneiformis*, Gulf of California, agar.

INTRODUCCIÓN

De las 19 especies de algas rojas con potencialidad de ser explotadas en el Golfo de California, los géneros *Gracilaria*, *Gracilaropsis* y *Pterocladia* son los que tienen más posibilidades de ser usados como fuentes de agar. De éstas, la más abundante es *Gracilaropsis lemaneiformis* (Bory) Dawson, Acelto *et al.* Foldvik (Pacheco-Ruiz y Zertuche-González, 1996; Zertuche-González *et al.*, 1998; Pacheco-Ruiz *et al.*, en prensa). Su máxima biomasa ocurre en primavera y tiene relación con la baja temperatura de la zona (Zertuche-González *et al.*, 1998), la cual en el Golfo de California presenta altas variaciones a lo largo del año, con valores máximos (28–31°C) en verano y otoño, y mínimos (14–22°C) en invierno y primavera (Zertuche-González, 1988; Pacheco-Ruiz *et al.*, 1992; Delgadillo-Hinojosa *et al.*, 1997).

Las agarofitas (Gelidiales y Gracilariales) presentan variación estacional en su rendimiento y calidad del agar (Oza, 1978; Yang y Wang, 1983; Cote y Hanisak, 1986; Luhan, 1992; Bird y Hinson, 1992; Rebello *et al.*, 1996; Freile-Pelegrín y Robledo, 1997), por el efecto de factores ambientales (temperatura, nutrientes, etc.) que modifican la fisiología y bioquímica del alga y la calidad de su agar (Bird, 1988; Lahaye y Rochas, 1991; Luhan, 1992). En *Gracilaria tikvahiae* (McLachlan) en cultivo, se han obtenido modificaciones en la calidad del agar por cambios de temperatura del agua (Craigie y Wen, 1984). Bajo contenido de 3,6-anhidrogalactosa e incremento en la concentración de sulfatos es el resultado de altas temperaturas en el agua de mar, dando como consecuencia baja fuerza de gel (Craigie y Wen, 1984; Freile-Pelegrín y Robledo, 1997).

Por lo anterior, este trabajo plantea la hipótesis de que las más altas biomassas de *G.*

INTRODUCTION

Of the 19 species of red algae that are potentially exploitable in the Gulf of California, the genera *Gracilaria*, *Gracilaropsis* and *Pterocladia* are those most likely to be used as sources of agar. The most abundant of these is *Gracilaropsis lemaneiformis* (Bory) Dawson, Acelto *et al.* Foldvik (Pacheco-Ruiz and Zertuche-González, 1996; Zertuche-González *et al.*, 1998; Pacheco-Ruiz *et al.*, in press). Its maximum biomass occurs in spring and is related to the low temperature of the area (Zertuche-González *et al.*, 1998), which varies greatly throughout the year in the Gulf of California, with maximum values (28–31°C) in summer and autumn, and minimum values (14–22°C) in winter and spring (Zertuche-González, 1988; Pacheco-Ruiz *et al.*, 1992; Delgadillo-Hinojosa *et al.*, 1997).

Agarophytes (Gelidiales and Gracilariales) present seasonal variations in agar yield and quality (Oza, 1978; Yang and Wang, 1983; Cote and Hanisak, 1986; Luhan, 1992; Bird and Hinson, 1992; Rebello *et al.*, 1996; Freile-Pelegrín and Robledo, 1997), due to environmental factors (temperature, nutrients, etc.) that modify the physiology and biochemistry of the alga and the quality of the agar (Bird, 1988; Lahaye and Rochas, 1991; Luhan, 1992). In cultures of *Gracilaria tikvahiae* (McLachlan), improvements have been achieved in agar quality by changing the water temperature (Craigie and Wen, 1984). High sea water temperatures produce a low 3,6-anhydrogalactose content and an increase in sulfate concentration, resulting in a low gel strength (Craigie and Wen, 1984; Freile-Pelegrín and Robledo, 1997).

This work proposes the hypothesis that maximum biomass of *G. lemaneiformis* in the Gulf of California should coincide with maximum

lemaneiformis en el Golfo de California deberían coincidir con la máxima calidad de agar, ya que las altas biomassas están relacionadas con bajas temperaturas y ésta con la calidad de agar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Gracilaria sp. se recolectó de la zona infralitoral (≈ 3 m de profundidad) de Bahía de las Ánimas, Baja California, México, ubicada en la costa oeste del Golfo de California ($28^{\circ}48'$ y $28^{\circ}53'N$, $113^{\circ}15'$ y $113^{\circ}23'W$) (fig. 1). Se realizaron cuatro recolecciones en las siguientes fechas: agosto (verano) y noviembre (otoño) de 1995, y febrero (invierno) y mayo (primavera) de 1996.

Las muestras se secaron al sol y se transportaron a la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California, donde se lavaron con agua dulce y se secaron a $60^{\circ}C$, reduciéndose posteriormente a un tamaño de partícula menor que 2 mm.

La extracción de agar se realizó utilizando 10 g de materia prima, tratamiento alcalino con 200 mL de NaOH al 2.5% por 1 h a $90^{\circ}C$, neutralización con 120 mL de H_2SO_4 al 0.02%, blanqueado con 120 mL de hipoclorito de sodio (3 g Cl activo L $^{-1}$) y extracción en 300 mL de agua destilada, modificado del método descrito por Ávila *et al.* (1989). Las extracciones se realizaron por triplicado.

El agar se secó a $65^{\circ}C$ hasta obtener peso constante y el rendimiento se calculó en términos de base seca.

La fuerza de gel se evaluó con geles de agar al 1.5%. Se utilizó la metodología descrita por Correa-Díaz (1996), que consiste en registrar las señales de esfuerzo y deformación generadas por la compresión de un gel, por un émbolo de 0.1237 cm^2 sobre un sensor de presión a una velocidad constante de 0.254 mm s^{-1} . Los datos procesados (Excel) resultan en una gráfica de esfuerzo vs deformación (fig. 2), de donde se obtiene el esfuerzo de ruptura del gel (fuerza de gel) y la penetración del émbolo (mm) hasta la ruptura.

agar quality, since high biomass is related to low temperature and the latter to agar quality.

MATERIALS AND METHODS

Gracilaria sp. was collected from the infralittoral zone (≈ 3 m depth) at Bahía de las Ánimas, Baja California, Mexico, located on the west coast of the Gulf of California ($28^{\circ}48'$ and $28^{\circ}53'N$, $113^{\circ}15'$ and $113^{\circ}23'W$) (fig. 1). Four samplings were conducted in: August (summer) and November (autumn) 1995, and February (winter) and May (spring) 1996.

The samples were dried in the sun and transported to the Facultad de Ciencias Marinas of the Universidad Autónoma de Baja California, where they were washed with fresh water and dried at $60^{\circ}C$, and then reduced to a particle size of less than 2 mm.

Agar extraction was carried out using 10 g of raw material, an alkaline treatment of 200 mL of 2.5% NaOH for 1 h at $90^{\circ}C$, neutralization with 120 mL of 0.02% H_2SO_4 , bleaching with 120 mL of sodium hypochlorite (3g Cl active L $^{-1}$) and extraction in 300 mL of distilled water, modified from the method of Ávila *et al.* (1989). The extractions were made in triplicate.

The agar was dried at $65^{\circ}C$ until constant weight and the yield was calculated in terms of dry base.

Gel strength was measured with 1.5% agar gels. The method of Correa-Díaz (1996) was used, which records the strength and deformation signals generated during the compression of a gel on a pressure sensor, with a plunger of 0.1237 cm^2 advancing at a constant speed of 0.254 mm s^{-1} . A graph of strength vs deformation was plotted with the processed data (Excel) (fig. 2), indicating the rupture strength of the gel (gel strength) and the penetration of the plunger (mm) up to rupture. Gel strengths are expressed in Nikan units (g cm $^{-2}$).

The melting and gelling temperatures were determined with the method of Armisén (1993).

The colorimetric method of Yaphe and Arsenault (1965), modified by Craigie and Leigh

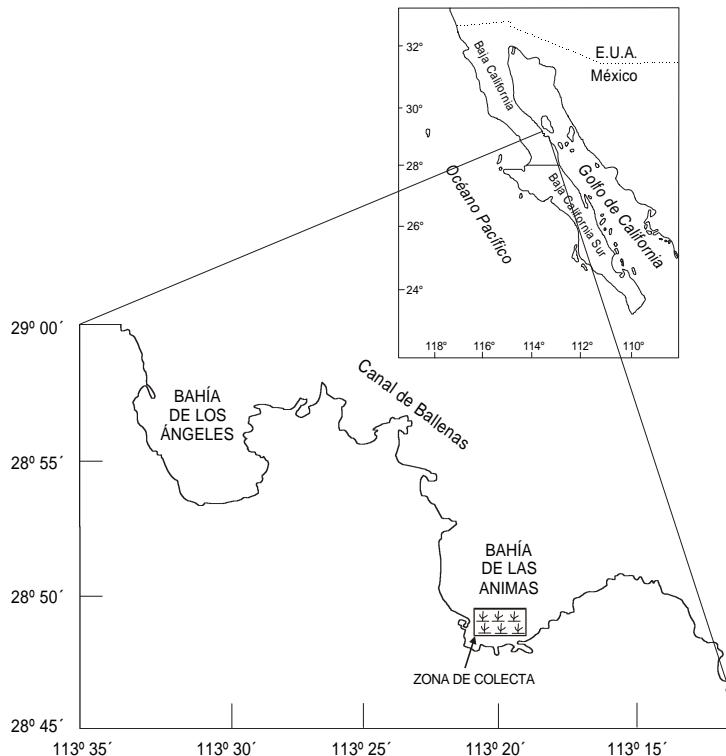


Figura 1. Bahía de las Ánimas, zona de recolección de *Gracilariaopsis lemeneiformis*.
Figure 1. Bahía de las Ánimas, collection area of *Gracilariaopsis lemeneiformis*.

Las fuerzas de gel se expresan en unidades Nikan (g cm^{-2}).

La temperatura de fusión y gelificación se determinó por el método de Armisen (1993).

La 3,6-anhidrogalactosa (3,6-AG) se estimó por el método colorimétrico de Yaphe y Arsenault (1965), modificado por Craigie y Leigh (1978).

El contenido de sulfatos se calculó por el método turbidimétrico de Tabatabai (1974), con modificaciones de Craigie y Wen (1984).

Los datos de biomasa se obtuvieron de Pacheco-Ruiz *et al.* (en prensa).

A los resultados se les aplicó una prueba de Kruskal-Wallis ($\alpha = 0.05$) y una prueba de comparaciones múltiples no paramétrica ($\alpha = 0.05$). La fuerza de gel se correlacionó con el

(1978), was used to determine the 3,6-anhydrogalactose (3,6-AG) content.

Sulfate content was calculated with the turbidometric method of Tabatabai (1974), with modifications by Craigie and Wen (1984).

The biomass data were obtained from Pacheco-Ruiz *et al.* (in press).

The Kruskal-Wallis test ($\alpha = 0.05$) and a non-parametric test of multiple comparisons ($\alpha = 0.05$) were applied to the results. Gel strength was correlated with agar yield and the other variables by means of Spearman's rank correlation test ($\alpha = 0.05$) (Zar, 1984). The Statistica program (version 4.2) was used for the statistical analysis.

Temperature was measured at 3 m depth during the samplings.

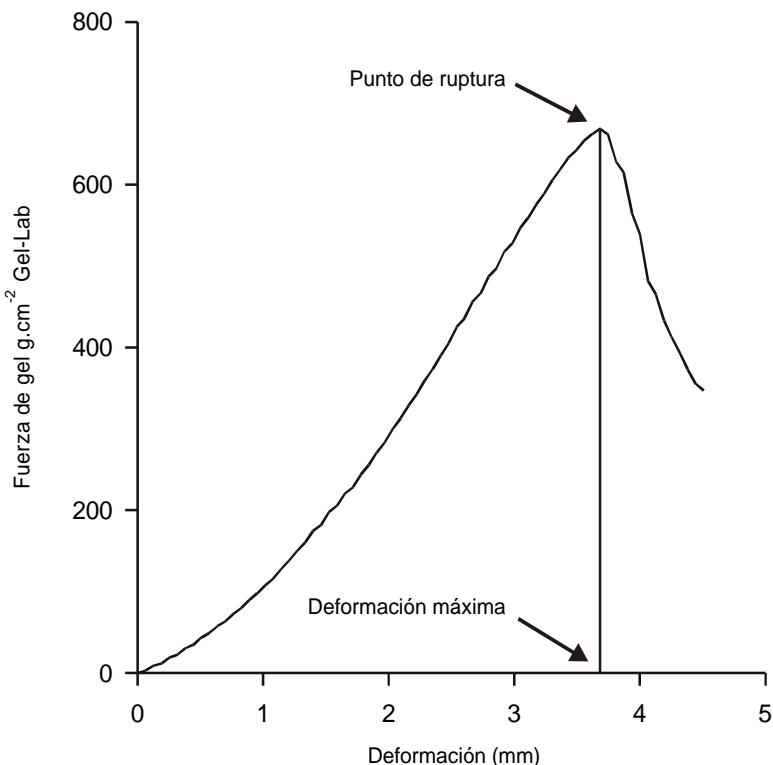


Figura 2. Fuerza de gel vs deformación para un gel de agar al 1.5% de *Gracilariaopsis lemaneiformis*.
Figure 2. Gel strength vs deformation for a 1.5% agar gel of *Gracilariaopsis lemaneiformis*.

rendimiento de agar y las otras variables por medio de una prueba de correlación de Spearman ($\alpha = 0.05$) (Zar, 1984). Para todos los análisis estadísticos se utilizó el paquete Statistica (versión 4.2).

La temperatura se midió a 3 m de profundidad durante cada recolección.

RESULTADOS

El menor rendimiento de agar fue de 8.2% en verano y el máximo de 15.4% en otoño (fig. 3a). Se encontró una diferencia significativa en el rendimiento ($P = 0.0188$), con excepción de las muestras de otoño y primavera, las cuales fueron similares.

RESULTS

The lowest agar yield was 8.2% in summer and the greatest, 15.4% in autumn (fig. 3a). Yield varied significantly ($P = 0.0188$), except in the autumn and spring samples, which were similar.

The maximum gel strength was 892 g cm^{-2} in spring and the minimum was 217 g cm^{-2} in autumn (fig. 3b). A significant difference was found between the values of gel strength ($P = 0.0156$). Yield and gel strength showed low correlation (-0.2000).

The highest 3,6-AG content was 47.8% in winter and the lowest, 35.5% in autumn (fig. 3c). There was a significant difference in the 3,6-AG content among seasons ($P = 0.0197$), except in the

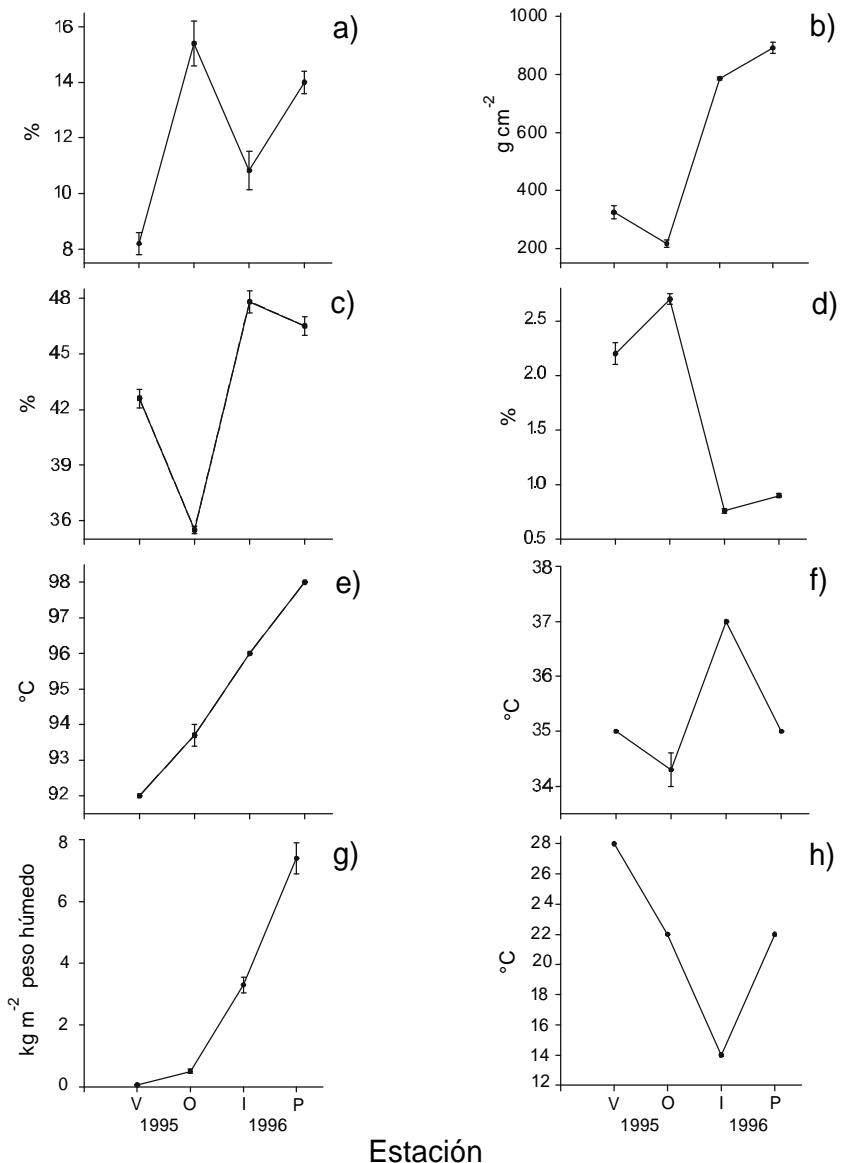


Figura 3. (a) Variación estacional del rendimiento, (b) fuerza de gel, (c) 3,6-anhidrogalactosa, (d) contenido de sulfatos, (e) temperatura de fusión, (f) temperatura de gelificación en el agar de *Gracilariaopsis lemaneiformis*, (g) variación estacional de la biomasa y (h) temperatura del agua en Bahía de las Ánimas durante 1995 y 1996.

Figure 3. (a) Seasonal variation in yield, (b) gel strength, (c) 3,6 anhydrogalactose, (d) sulfate content, (e) melting temperature, (f) gelling temperature in agar of *Gracilariaopsis lemaneiformis*, (g) seasonal variation in biomass and (h) water temperature in Bahía de las Ánimas during 1995 and 1996.

La máxima fuerza de gel fue de 892 g cm⁻² en primavera y la mínima de 217 g cm⁻² en otoño (fig. 3b). Se encontró una diferencia significativa entre los valores de fuerza de gel ($P = 0.0156$). El rendimiento y la fuerza de gel mostraron baja correlación (-0.2000).

El mayor contenido de 3,6-AG fue de 47.8% en invierno y el mínimo de 35.5% en otoño (fig. 3c). El contenido de 3,6-AG fue significativamente diferente entre estaciones ($P = 0.0197$), con excepción de las muestras de primavera e invierno, las cuales no presentaron diferencia significativa.

Se encontró una alta correlación (0.8000) entre la fuerza de gel y el contenido de 3,6-AG.

El mayor contenido de sulfatos fue de 2.7% en otoño y el mínimo de 0.8% en invierno (fig. 3d). Se encontró una diferencia significativa en el contenido de grupos de sulfatos de todas las muestras ($P = 0.0156$) y alta correlación negativa (-0.8000) entre la fuerza de gel y el contenido de sulfatos.

La mínima temperatura de fusión fue de 92°C en verano y la máxima de 98°C en primavera. La temperatura mínima de gelificación fue de 34.3°C en otoño y la máxima de 37°C en invierno (fig. 3e, f). Se encontró una diferencia significativa entre estaciones, tanto en la temperatura de fusión ($P = 0.0124$) como de gelificación ($P = 0.0215$), con excepción de las muestras de primavera y verano que fueron iguales.

La correlación entre la fuerza de gel y la temperatura de gelificación y de fusión fue de 0.8000 y 0.6320, respectivamente.

La máxima biomasa húmeda se encuentra en primavera ($\approx 7.4 \pm 0.5$ kg m⁻²) y la mínima en verano ($\approx 0.055 \pm 0.027$ kg m⁻²) (fig. 3g). La planta presentó un 83% de humedad (Pacheco-Ruiz *et al.*, en prensa).

La máxima temperatura se presentó en verano (28°C) y la mínima en invierno (14°C) (fig. 3h).

DISCUSIÓN

Sólo el agar de *G. lemaneiformis* de invierno (febrero) y primavera (mayo) presentó calidad suficiente para comercializarse bajo

spring and winter samples, which were not significantly different.

High correlation (0.8000) was observed between gel strength and 3,6-AG content.

The maximum sulfate content was 2.7% in autumn and the minimum was 0.8% in winter (fig. 3d). Sulfate content varied significantly among the samples ($P = 0.0156$) and there was a high negative correlation (-0.8000) between gel strength and sulfate content.

The minimum melting temperature was 92°C in summer and the maximum was 98°C in spring. The minimum gelling temperature was 34.3°C in autumn and the maximum was 37°C in winter (fig. 3e, f). A significant difference was observed among seasons, for both melting temperature ($P = 0.0124$) and gelling temperature ($P = 0.0215$), except for the spring and summer samples, which were the same.

The correlation between gel strength and gelling and melting temperatures was 0.8000 and 0.6320, respectively.

The greatest wet biomass is reported in spring ($\approx 7.4 \pm 0.5$ kg m⁻²) and the lowest in summer ($\approx 0.055 \pm 0.027$ kg m⁻²) (fig. 3g). The plant contained 83% of moisture (Pacheco-Ruiz *et al.*, in press).

The highest temperature (28°C) was recorded in summer and the lowest (14°C) in winter (fig. 3h).

DISCUSSION

Only the winter (February) and spring (May) agar of *G. lemaneiformis* met the market quality standards for commercialized agar of *Gracilaria* or *Gracilariaopsis*: a gel strength of 650 g cm⁻², a melting temperature not lower than 90°C, a gelling temperature not higher than 38°C, and a 3,6-AG content of 39.6% (Bird, 1988). It is important to note that spring is also when the greatest *in situ* biomass ($\approx 7.4 \pm 0.5$ kg m⁻² wet weight) of *G. lemaneiformis* was recorded, which is susceptible to commercial exploitation; this has also been observed in other bays of the northeast coast of Baja California (Zertuche-González *et al.*, 1998; Pacheco-Ruiz *et al.*, in press).

especificaciones de agar comercial de *Gracilaria* o *Gracilaropsis* del mercado: fuerza de gel de 650 g cm^{-2} , temperatura de fusión no menor que 90°C , temperatura de gelificación no mayor que 38°C y una concentración de 3,6-AG del 39.6% (Bird, 1988). Lo trascendente es que también en primavera, se encontró *in situ* la mayor biomasa ($\approx 7.4 \pm 0.5 \text{ kg m}^{-2}$ peso húmedo) de *G. lemaneiformis* susceptible de ser explotada comercialmente y lo mismo se ha observado en otras bahías de la costa noreste de Baja California (Zertuche-González *et al.*, 1998; Pacheco-Ruiz *et al.*, en prensa).

Los rendimientos obtenidos (8.2% a 15.4%) de *G. lemaneiformis* del Golfo de California fueron más bajos que los reportados para *G. lemaneiformis* de otras localidades geográficas, de 9.6% a 23.7% (Bird y Hinson, 1992) y 40.3% (Chirapart *et al.*, 1995). Esta variación puede atribuirse a los distintos procedimientos de extracción (McLachlan y Bird, 1986), diferencias genéticas entre poblaciones, o a las distintas condiciones ambientales a las que estuvieron sometidas las plantas antes de su recolección (Chennubhotla *et al.*, 1986). La variación estacional en el rendimiento de agar de *G. lemaneiformis* fue similar a lo observado en otras especies de *Gracilaria* y *Gracilaropsis* (Hoyle, 1978; Whyte *et al.*, 1981; Bird y Hinson, 1992; Price y Bielig, 1992; Pondevida y Hurtado-Ponce, 1996; Rebello *et al.*, 1996; Freile-Pelegrín y Robledo, 1997); esto se atribuye a cambios estacionales en la irradiancia y temperatura a lo largo del año (Bird y Hinson, 1992; Hurtado-Ponce y Pondevida, 1997).

Se detectó una alta variación estacional en la fuerza de gel en *G. lemaneiformis*, la cual fue similar a la de otras agarofitas (Hoyle, 1978; Whyte *et al.*, 1981; Bird y Hinson, 1992; Luhan, 1992; Pondevida y Hurtado-Ponce, 1996). Tal variación se atribuye a cambios ambientales (Craigie y Wen, 1984; Bird, 1988) o a la edad del tejido (Craigie y Wen, 1984). En otoño, *G. lemaneiformis* presentó la menor fuerza de gel pero el mayor rendimiento; este comportamiento se debe a que las algas estuvieron sometidas a

The yields obtained (8.2% to 15.4%) of *G. lemaneiformis* in the Gulf of California were lower than those reported for this species in other geographic locations, 9.6% to 23.7% (Bird and Hinson, 1992) and 40.3% (Chirapart *et al.*, 1995). This variation may be attributed to different extraction procedures (McLachlan and Bird, 1986), genetic differences among populations, or different environmental conditions surrounding the plants before they were collected (Chennubhotla *et al.*, 1986). The seasonal variation in the agar yield of *G. lemaneiformis* is similar to that of other species of *Gracilaria* and *Gracilaropsis* (Hoyle, 1978; Whyte *et al.*, 1981; Bird and Hinson, 1992; Price and Bielig, 1992; Pondevida and Hurtado-Ponce, 1996; Rebello *et al.*, 1996; Freile-Pelegrín and Robledo, 1997); this is attributed to seasonal changes in light and temperature throughout the year (Bird and Hinson, 1992; Hurtado-Ponce and Pondevida, 1997).

A high seasonal variation in gel strength was detected in *G. lemaneiformis*, which is similar to that of other agarophytes (Hoyle, 1978; Whyte *et al.*, 1981; Bird and Hinson, 1992; Luhan, 1992; Pondevida and Hurtado-Ponce, 1996). This variation is attributed to environmental changes (Craigie and Wen, 1984; Bird, 1988) or to tissue age (Craigie and Wen, 1984). In autumn, *G. lemaneiformis* had the lowest gel strength but the greatest yield. This is because the alga was subjected to lower levels of nitrogen, a common occurrence during this season in the Gulf of California: 1–7.5 μM of NO_3 and 0.13–0.45 μM of NO_2 (Álvarez-Borrego *et al.*, 1978; Delgadillo-Hinojosa *et al.*, 1997). Chiles *et al.* (1989) attribute this behavior to the high starch content in the agar extracts, which increases yield but decreases the mechanical property of the gel; however, the alkaline treatment of the sample before extraction eliminates the florideous starch, and thus does not interfere with the agar extracted.

The seasonal variation in the 3,6-AG content of *G. lemaneiformis* was similar to that reported for this same species from North Carolina:

deficiencia en nitrógeno, algo que es común en esta época del año en el Golfo de California: 1–7.5 μM de NO_3 y 0.13–0.45 μM de NO_2 (Álvarez-Borrego *et al.*, 1978; Delgadillo-Hinojosa *et al.*, 1997). Chiles *et al.* (1989) adjudican este comportamiento al alto contenido de almidón en los extractos de agar, el cual incrementa el rendimiento pero hace decrecer la propiedad mecánica del gel; sin embargo, el tratamiento alcalino al que fue sometida la muestra previa a la extracción elimina el almidón florideano, por lo que no interviene en el agar extraído.

La variación estacional en el contenido de 3,6-AG en *G. lemaneiformis* fue similar a la que se reporta en *G. lemaneiformis* de Carolina del Norte, con máximos en invierno y primavera (39.6% a 39.9%) y mínimos en verano y otoño (31.7% a 32.4%) (Bird y Hinson, 1992). Esta variación depende de cambios en los parámetros ambientales como temperatura, luz y nutrientes (Craigie y Wen, 1984), que varían drásticamente entre estaciones en el Golfo de California: 16–17°C, 6.0 mL/L O_2 , 1.7–2.0 μM PO_4 , 13.0 μM NO_3 en primavera y 25–26°C, 4.0 mL/L O_2 , 0.9–1.5 μM PO_4 , 1.0–7.5 μM NO_3 en otoño (Álvarez-Borrego *et al.*, 1978; Zertuche-González, 1988; Pacheco-Ruiz *et al.*, 1992; Delgadillo-Hinojosa *et al.*, 1997; Zertuche-González *et al.*, 1998).

Respecto al contenido de sulfatos, Craigie y Wen (1984) reportan que el tejido joven contiene una mayor concentración de grupos de sulfatos lábiles que pueden ser removidos por tratamiento alcalino antes de la extracción del agar, mientras que el tejido viejo contiene una alta concentración de grupos de sulfatos estables, los cuales no pueden ser removidos con hidróxido de sodio (NaOH). Lo anterior confirma que la muestra de febrero fue de tejido más joven y que éste, al envejecer, incrementó su contenido de sulfatos estables (verano y otoño). En el Golfo de California, es común encontrar tejido joven en invierno y primavera y envejecido en verano y otoño (Zertuche-González, 1988; Pacheco-Ruiz *et al.*, 1992; Zertuche-González *et al.*, 1998).

maximum variation in winter and spring (39.6% to 39.9%), and minimum in summer and autumn (31.7% to 32.4%) (Bird and Hinson, 1992). This variation is due to changes in environmental parameters, such as temperature, light and nutriments (Craigie and Wen, 1984), which vary greatly among seasons in the Gulf of California: 16–17°C, 6.0 mL/L O_2 , 1.7–2.0 μM PO_4 , 13.0 μM NO_3 in spring and 25–26°C, 4.0 mL/L O_2 , 0.9–1.5 μM PO_4 , 1.0–7.5 μM NO_3 in autumn (Álvarez-Borrego *et al.*, 1978; Zertuche-González, 1988; Pacheco-Ruiz *et al.*, 1992; Delgadillo-Hinojosa *et al.*, 1997; Zertuche-González *et al.*, 1998).

With respect to sulfate content, Craigie and Wen (1984) report that young tissue has a greater concentration of labile sulfate groups that can be removed with alkaline treatment before agar extraction, whereas old tissue has a high concentration of stable sulfate groups that cannot be removed with sodium hydroxide (NaOH). This confirms that the February sample consisted of young tissue that, with age, showed an increase in the stable sulfate content (summer and autumn). In the Gulf of California, it is common to find young tissue in winter and spring and old in summer and autumn (Zertuche-González, 1988; Pacheco-Ruiz *et al.*, 1992; Zertuche-González *et al.*, 1998).

A negative correlation has also been observed between gel strength and sulfate content in *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Craigie and Wen, 1984) and *Gracilaria bailiniae* Zhang *et al.* (Pondevida and Hurtado-Ponce, 1996). This inverse correlation is due to the ionic character of the sulfates that makes the polymer more hydrophilic and inhibits the grouping of chains, resulting in weaker gels (Craigie and Wen, 1984; Pondevida and Hurtado-Ponce, 1996).

With respect to the seasonal variation in melting and gelling temperatures of agar of *G. lemaneiformis*, Pondevida and Hurtado-Ponce (1996) report similar seasonal variations in agar of *Gracilaria changii* (Xia *et al.*) Abbott, Zhang *et al.*, *Gracilaria manilaensis* Yamamoto *et al.* and *G. bailiniae*. Roleda *et al.*

También se detectó una correlación negativa entre la fuerza de gel y el contenido de grupos de sulfatos en *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Craigie y Wen, 1984) y *Gracilariaopsis bailinae* Zhang et Xia (Pondevida y Hurtado-Ponce, 1996). Esta correlación inversa se debe a que el carácter iónico de los sulfatos hace al polímero más hidrofílico, inhibiendo el agrupamiento de cadenas, y se obtienen geles más débiles (Craigie y Wen, 1984; Pondevida y Hurtado-Ponce, 1996).

Respecto a la variación estacional en la temperatura de fusión y gelificación del agar de *G. lemaneiformis*, Pondevida y Hurtado-Ponce (1996) reportan variaciones estacionales similares en agar de *Gracilaria changii* (Xia et Abbott) Abbott, Zhang et Xia, *Gracilariaopsis manilaensis* Yamamoto et Xia y *G. bailinae* Zhang et Xia. Roleda et al. (1997) observan que la variación en la temperatura de gelificación y de fusión está relacionada con el incremento y decremento en fuerza de gel, y Freile-Pelegrín y Robledo (1997) reportan que el tratamiento alcalino incrementa la temperatura de fusión y gelificación.

La fuerza de gel se correlacionó con la temperatura de fusión y de verano a invierno con la temperatura de gelificación. Correlaciones de este tipo se reportan para *G. bailinae* Zhang et Xia, *Gelidiella acerosa* (Forsskal) Feldmann et Hamel y *Gracilaria cornea* J. Agardh (Cote y Hanisak, 1986; Pondevida y Hurtado-Ponce, 1996; Freile-Pelegrín y Robledo, 1997; Roleda et al., 1997). Pondevida y Hurtado-Ponce (1996) mencionan que la presencia de cadenas largas de polímeros en muestras de agar con una alta fuerza, causan que el agar gelifique a más baja temperatura, mientras que cadenas cortas en agar con baja fuerza de gel podrían gelficar a temperaturas más altas, lo anterior, tomando en cuenta que el proceso de fusión es dependiente del peso molecular del polímero (Selby y Wynne, 1973), el cual está asociado con la fuerza de gel (Bird et al., 1981).

Por las características biológicas descritas por Zertuche-González et al. (1998) y Pacheco-Ruiz et al. (en prensa) para *G. lemaneiformis* y las fisicoquímicas del agar de este trabajo, se

(1997) report that the variation in gelling and melting temperatures is related to the increase and decrease in gel strength, and Freile-Pelegrín and Robledo (1997) indicate that alkaline treatment increases the melting and gelling temperatures.

Gel strength was correlated to melting temperature and from summer to winter to gelling temperature. This type of correlation is reported for *G. bailinae*, *Gelidiella acerosa* (Forsskal) Feldmann et Hamel and *Gracilaria cornea* J. Agardh (Cote and Hanisak, 1986; Pondevida and Hurtado-Ponce, 1996; Freile-Pelegrín and Robledo, 1997; Roleda et al., 1997). Pondevida and Hurtado-Ponce (1996) state that the occurrence of long polymer chains in agar samples with high gelling strength causes the agar to gel at lower temperatures, whereas short chains in agar with low gelling strength could gel at higher temperatures, considering that the melting process is dependent on the molecular weight of the polymer (Selby and Wynne, 1973), which is associated with gel strength (Bird et al., 1981).

As a result of the biological characteristics reported by Zertuche-González et al. (1998) and Pacheco-Ruiz et al. (in press) for *G. lemaneiformis* and the physicochemical characteristics of the agar reported in this work, the private company PHYCOS S.A. de C.V. was established, which harvests the beds at Bahía de las Ánimas and exports an annual average of 50 t dry weight of this agarophyte to Japan.

Therefore, *G. lemaneiformis* is the first alga of the Gulf of California to be exploited commercially, unlike the northwest coast of Baja California, where *Gelidium robustum* (Gardn.) H. & A., *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Ag. and, occasionally, *Chondracanthus canaliculatus* (Harv.) Guiry are exploited (Zertuche-González, 1994).

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financed by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) through the regional program Sistema de Investigación del Mar de Cortés (SIMAC/94/CM-11) and the Universidad Autónoma de Baja California

constituyó la empresa privada PHYCOS S.A. de C.V., la cual explota en forma racional y sustentable los mantos de Bahía de las Ánimas y exporta al Japón un promedio de 50 t peso seco anuales de esta agarofita.

Por lo tanto, *G. lemaneiformis* es la primer alga del Golfo de California que se explota comercialmente, a diferencia de la costa noroeste de Baja California, donde esto se realiza con *Gelidium robustum* (Gardn.) H. & A., *Macrocytis pyrifera* (L.) C. Ag. y, esporádicamente, *Chondracanthus canaliculatus* (Harv.) Guiry (Zertuche-González, 1994).

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación la financió el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a través del programa regional Sistema de Investigación del Mar de Cortés (SIMAC/94/CM-11), y la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Los autores agradecen a Enrique Hernández sus comentarios y sugerencias, a Jennifer Davis la traducción al inglés y a los revisores anónimos sus excelentes sugerencias.

REFERENCIAS

- Álvarez-Borrego, S., Rivera, J.A., Gaxiola-Castro, G., Acosta-Ruiz, M.J. y Schwartzlose, R.A. (1978). Nutrientes en el Golfo de California. Ciencias Marinas, 5(2): 53–71.
- Armisén (1993). Curso 4. In: Master, Degree Course in Applied Algology. Univ. de Las Palmas de Gran Canaria, España. Tomo III, pp. 45–62.
- Ávila, M., Badilla, M.J., Cortés, C., Jelcez, C. y Aranda, E. (1989). Resultados generales. En: Investigación, Desarrollo, Cultivos y Uso Industrial de Algas *Gracilaria*. Inst. de Fomento Pesquero, Santiago de Chile, pp. 16–25.
- Bird, K.T. (1988). Agar production and quality from *Gracilaria* sp. strain G-16: Effects of environmental factors. Bot. Mar., 31: 33–39.
- Bird, K.T. and Hinson, T.K. (1992). Seasonal variations in agar yields and quality from North Carolina agarophytes. Bot. Mar., 35: 291–295.
- Bird, K.T., Hanisak, M.D. and Rhyther, J. (1981). Chemical quality and production of agars extracted from *Gracilaria tikvahiae* grown in different (UABC). We thank Enrique Hernández and the anonymous reviewers for their comments and suggestions.
- English translation by Jennifer Davis.
-
- nitrogen enrichment conditions. Bot. Mar., 24: 441–444.
- Chennubhotla, V.S., Kalimuthu, S., Najmuddin, M., Panigraphy, R. and Selvaraj, M. (1986). Changes in growth and phycocolloid content of *Gelidiella acerosa* and *Gracilaria edulis*. Seaweed Res. Utiliz., 9: 45–48.
- Chiles, T.C., Bird, K.T. and Koehn, F.E. (1989). Influence of nitrogen availability on agaropolysaccharides from *Gracilaria verrucosa* strain G-16: Structural analysis by NMR spectroscopy. J. Appl. Phycol., 1: 53–58.
- Chirapart, A., Ohno, M., Ukeda, H., Sawamura, M. and Kusunose, H. (1995). Chemical composition of agars from a newly reported Japanese agarophyte, *Gracilaria lemaneiformis*. Appl. Phycol., 7(4): 359–365.
- Correa-Díaz, F. (1996). Manual de Laboratorio de Fitoquímica Marina. Fac. de Ciencias Marinas, Univ. Autónoma de Baja California, México, 22 pp.
- Cote, G.L. and Hanisak, H.D. (1986). Production and properties of native agars from *Gracilaria tikvahiae* and other red algae. Bot. Mar., 29: 359–366.
- Craigie, J.S. and Leigh, C. (1978). Carrageenans and agars. In: J.A. Hellebust and J.S. Craigie (eds.), Handbook of Phycological Methods; Physiological and Biochemical Methods. Cambridge Univ. Press, pp. 110–131.
- Craigie, J.S. and Wen, Z.C. (1984). Effects of temperature and tissue age on gel strength and composition of agar from *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae). Can. J. Bot., 62: 1665–1670.
- Delgadillo-Hinojosa, F., Gaxiola-Castro, G., Segovia-Zavala, J.A., Muñoz-Barbosa, A. and Orozco-Borbón, M.V. (1997). The effect of vertical mixing on primary production in a bay of the Gulf of California. Estuar. Coast. Shelf Sci., 45: 135–148.
- Freile-Pelegrín, Y. and Robledo, D. (1997). Effects of season on the agar content and chemical characteristics of *Gracilaria cornea* from Yucatán, Mexico. Bot. Mar., 40: 285–290.

- Hoyle, M.D. (1978). Agar studies in two *Gracilaria* species (*G. bursapastoris* (Gmelin) Silva and *G. coronopifolia* J. Ag.) from Hawaii. II. Seasonal aspects. Bot. Mar., 21: 347–352.
- Hurtado-Ponce, A.Q. and Pondevida, H.B. (1997). The interactive effect of some environmental factors on the growth, agar yield and quality of *Gracilaria* *bailinae* (Zhang et Xia), cultured in tanks. Bot. Mar., 40: 217–223.
- Lahaye, M. and Rochas, C. (1991). Chemical structure and physico-chemical properties of agar. Hydrobiologia, 221: 137–148.
- Luhan, Ma.R.J. (1992). Agar yield and gel strength of *Gracilaria heteroclada* collected from Iloilo, central Philippines. Bot. Mar., 35: 169–172.
- McLachlan, J. and Bird, C.J. (1986). *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) and productivity. Aquat. Bot., 26: 27–49.
- Oza, R.M. (1978). Studies on the Indian *Gracilaria*. IV. Seasonal variation in agar and gel strength of *Gracilaria corticata* J. Ag. occurring on the coast of Veraval. Bot. Mar., 21: 165–167.
- Pacheco-Ruiz, I. and Zertuche-González, J.A. (1996). The commercially valuable seaweeds of the Gulf of California. Bot. Mar., 39: 201–206.
- Pacheco-Ruiz, I., Zertuche-González, J.A., Cabello-Passini, A. and Brinkhuis, B.H. (1992). Growth responses and seasonal biomass variation of *Gigartina pectinata* Dawson (Rhodophyta) in the Gulf of California. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 157: 263–274.
- Pacheco-Ruiz, I., Zertuche-González, J.A., Correa-Díaz, F., Arellano-Carbajal, F. and Chee-Barragán, A. *Gracilaria* *lemaneiformis* (Bory) Dawson, Acleto et Foldvik beds along the west coast of the Gulf of California, Mexico. Hydrobiologia (in press).
- Pondevida, H.B. and Hurtado-Ponce, A.Q. (1996). Assessment of some agarophytes from the coastal areas of Iloilo, Philippines. II. Seasonal variations in the agar quality of *Gracilaria changii*, *Gracilaria manilaensis* and *Gracilaria* *bailinae* (Gracilariales, Rhodophyta). Bot. Mar., 39: 123–127.
- Price, I.R. and Bielig, L.M. (1992). Agar yield from *Gracilaria edulis* (Gracilariales, Rhodophyta) in the Townsville Region, eastern tropical Australia. Bot. Mar., 35: 457–460.
- Rebello, J., Ohno, M., Critchley, A.T. and Sawamura, M. (1996). Growth rates and agar quality of *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft from Namibia, southern Africa. Bot. Mar., 39: 273–279.
- Roleda, M.Y., Ganzón-Fortes, E.T., Montaño, N.E. and de los Reyes, F.N. (1997). Temporal variability in the biomass, quantity and quality of agar from *Gelidiella acerosa* (Forsskal) Feldmann et Hamel (Rhodophyta: Gelidiales) from Cape Bolinao, NW Philippines. Bot. Mar., 40: 487–495.
- Selby, H.H. and Wynne, W.H. (1973). Agar. In: R.L. Whistler (ed.), Industrial Gums, Polysaccharides and Derivatives. Academic Press, New York, pp. 29–48.
- Tabatabai, M.A. (1974). Determination of sulphate in water samples. J. Sulphur Inst., 10: 11–13.
- Whyte, J.N.C., Englär, J.R., Saunders, R.G. and Lindsay, J.C. (1981). Seasonal variations in the biomass, quantity and quality of agar, from the reproductive and vegetative stages of *Gracilaria verrucosa* type. Bot. Mar., 24: 493–501.
- Yang, S.S. and Wang, C.Y. (1983). Effect of environmental factors on *Gracilaria* c.f. *verrucosa* (Rhodophyta) in Shantou District, Guandong, PROC. Bot. Mar., 27: 265–268.
- Yaphe, W. and Arsenault, G.P. (1965). Improved resorcinol reagent for the determination of fructose and of 3,6 anhydrogalactose in polysaccharides. Anal. Biochem., 13: 143–148.
- Zar, J.H. (1984). Biostatistical Analysis. Prentice Hall, New Jersey, 718 pp.
- Zertuche-González, J.A. (1988). *In situ* life history, growth and carrageenan characteristics of *Eucheuma uncinatum* (Setchell and Gardner) Dawson from the Gulf of California. Ph.D. dissertation, State University of New York at Stony Brook, 162 pp.
- Zertuche-González, J.A. (1994). Situación actual de la industria de las algas marinas productoras de ficoloides en México. En: J.A. Zertuche-González (ed.), Situación Actual de la Industria de las Algas Marinas Productoras de Ficoloides en América Latina y el Caribe. FAO, México, pp. 33–37.
- Zertuche-González, J.A., Pacheco-Ruiz, I., Correa-Díaz, F. and Arellano-Carbajal, F. (1998). *Gracilaria* *lemaneiformis* (Bory) Dawson, Acleto et Foldvik from the west coast of the Gulf of California. XVI Int. Seaweed Symp., Cebu, Philippines, 12–17 April 1998, 64 pp.