

ESTUDIO QUIMIOTAXONÓMICO, EN BASE A HIDROCARBUROS, DE *IRIDAEA LAMINARIOIDES* BORY, *IRIDAEA CILIATA* KÜTZING, *GIGARTINA CHAMISSOI* (C. AGARDH) J. AGARDH Y *RHODYMENIA PALMATA* GREVILLE (RHODOPHYTA), DE LA BAHÍA DE CONCEPCION

POR

PATRICIO HENRIQUEZ S. (*) e IVAN L. BENOIT (**)

RESUMEN

Se presenta un estudio comparativo de los hidrocarburos presentes en las ceras de cuatro Rhodophyta, *Iridaea laminarioides* Bory, *Iridaea ciliata* Kützing, *Gigartina chamissoi* (C. Agardh) J. Agardh y *Rhodymenia palmata* Greville, de la Bahía de Concepción, Chile, colectadas en los meses de enero, febrero y marzo de 1971. Este estudio cualitativo se realizó con objetivos quimiotaconómicos. Los resultados muestran diferencias significativas en la composición de las ceras estudiadas.

ABSTRACT

A comparative study of the hydrocarbons present in the waxes of four Rhodophyta, i.e., *Iridaea laminarioides* Bory, *Iridaea ciliata* Kützing, *Gigartina chamissoi* (C. Agardh) J. Agardh and *Rhodymenia palmata* Greville, from the Concepción Bay, Chile, collected during January, February and March, 1971, has been carried out. This qualitative analysis has been done for quimiotaconomic reasons. The results showed significant differences in the composition of the waxes studied.

INTRODUCCION

Un concepto familiar y ampliamente aceptado por los botánicos modernos, es el de incluir en sus trabajos un estudio quimiotaconómico del vegetal (Lodge, 1961), con el objeto de llegar a detectar algún tipo de molécula que ayude a la clasificación sistemática de él.

(*) Dpto. de Biología Celular, Instituto Central de Biología "Ottmar Wilhelm Grob", Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

(**) Dpto. de Zoología, Instituto Central de Biología "Ottmar Wilhelm Grob", Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Entre las moléculas más usadas para este tipo de estudios, debemos destacar los hidrocarburos que aparecen como constituyentes obligados de las ceras vegetales. Estos compuestos van a representar verdaderos "marcadores biológicos", por una serie de características muy propias, las que se analizan en profundidad en los trabajos de Purdy y Truter, en el año 1961.

Si además de lo anterior, consideramos las facilidades existentes hoy en día, para el uso de técnicas apropiadas de extracción y análisis de compuestos del tipo hidrocarburos, presentes en las ceras vegetales, como lo son la cromatografía de gases, la espectrometría de masa o una combinación de ambas (Eglinton *et al*, 1962), podemos asegurar que un estudio en tal sentido, ayudará en mayor o menor grado a la solución de algunos problemas taxonómicos en el campo de la botánica.

MATERIALES Y METODOS

MUESTRAS Y ZONAS DE MUESTREO.

La selección de las muestras y de las áreas de muestreo se realizó en base a la calidad, abundancia y facilidad de acceso de las praderas, obteniéndose material limpio, desprovisto de epifitas y otras impurezas.

TABLA N^o 1

ALGAS	FECHA	LUGAR	COORENADAS
<i>I. laminarioides</i>	Enero 1971	Caleta Leandro	36 38 S
		BAHIA CONCEPCION	73 05 W
<i>I. ciliata</i>	Enero 1971	Cocholgüe	36 35 S
		BAHIA CONCEPCION	72 57 W
<i>G. chamosoi</i>	Febrero 1971	Dichato	36 33 S
		BAHIA CONCEPCION	72 56 W
<i>R. palmata</i>	Marzo 1971	Dichato	36 33 S
		BAHIA CONCEPCION	72 56 W

OBTENCION DE EXTRACTOS.

Se tomaron aproximadamente 10 Kg de alga fresca para cada muestra y se sometieron a secado por aire a 40°C en una estufa Heraeus durante 24 horas.

El porcentaje de alga seca obtenida fue de un 10% del peso fresco.

Se tomaron las siguientes cantidades de algas secas:

<i>I. laminarioides</i>	600 g.
<i>I. ciliata</i>	800 g.
<i>G. chamosoi</i>	800 g.
<i>R. palmata</i>	500 g.

posteriormente se molieron y se separaron fracciones de 200-300 g que se sometieron a una hidrólisis alcalina en alcohol 98%, calentando a reflujo durante 90 minutos. El hidrolizado se diluyó a volumen doble con agua destilada y se procedió a su extracción, con tres porciones de benceno fresco.

Los extractos fueron transferidos a un evaporador para eliminar el solvente orgánico.

Las cantidades de extracto indicadas en la Tabla Nº 2, se pusieron en la parte superior de una columna de vidrio (2,5 cm de diámetro) que contenía Silica-Gel (Mesh 0,05-0,20 mm.) Merck, en las cantidades también indicadas en la Tabla Nº 2.

TABLA Nº 2

ALGAS	EXTRACTO TRABAJADO	SILICA GEL
<i>I. laminarioides</i>	1 gramo	50 gramos
<i>I. ciliata</i>	2 gramos	75 gramos
<i>G. chamissoi</i>	8 gramos	150 gramos
<i>R. palmata</i>	2 gramos	75 gramos

Posteriormente se procedió a filtrar el extracto, con éter de petróleo (60-80°) que se dejó escurrir a través de la columna. Se empleó éter de petróleo por ser éste un solvente apropiado para los requerimientos de este trabajo.

Se eluyeron fracciones de 100 ml, que se fueron concentrando en evaporadores. Las ceras se cristalizaron de estos concentrados mediante la adición de gotas de etanol.

Las ceras obtenidas aparecieron como compuestos de aspecto grasoso y de color pardo-amarillento.

ANALISIS DE LAS MUESTRAS.

Cada muestra se analizó siguiendo la misma técnica. Se disolvió la cera correspondiente a cada alga en éter de petróleo (60-80°) Merck y se inyectó en un cromatógrafo de gas Varian Aerograph modelo Autoprep 700, con una columna de aluminio de 5 mm de diámetro y 1,5 m de longitud, que contenía 21 g de Chromosorb W zilanizado (45/60 mesh) y 0,5 g de Apiezon "L" Grease. Como gas transportador se usó Helio y se trabajó con un detector de conductividad térmica.

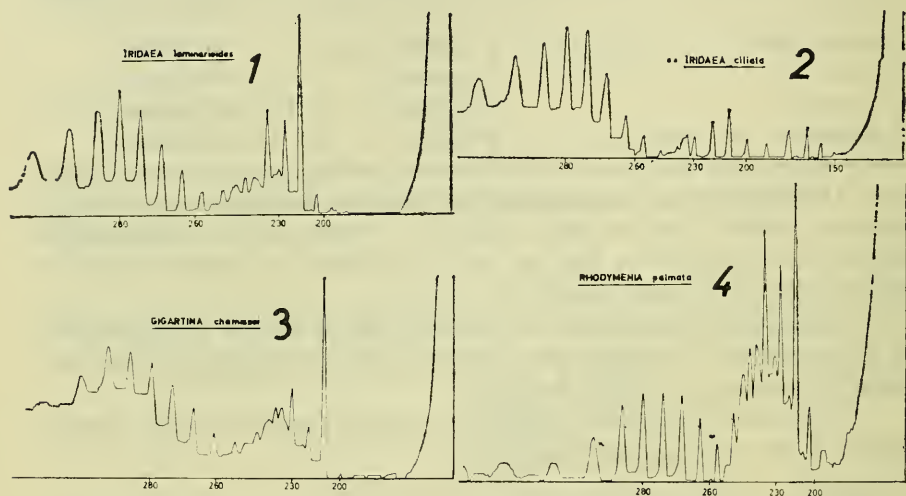
Se inició el trabajo con la columna 80°C y se elevó la temperatura a 280°C en 12,8 mn. en cada determinación.

RESULTADOS

Los resultados aparecen en las Tablas 3, 4, 5 y 6 y Fig. 1, donde se indican el número de compuestos de cada una de las ceras por alga y la temperatura a la cual aparecieron.

Con los resultados se hizo un cuadro general que muestra tanto semejanzas como diferencias en las cuatro algas en estudio. Los compuestos se pusieron en orden correlativo de aparición de acuerdo con las temperaturas a que fueron detectados. El resultado final de este ordenamiento está dado en la Tabla 7, donde aparece el número de compuestos, la especie a la cual pertenecen y la temperatura a la cual se detectaron.

La comparación final mediante análisis de los componentes de las ceras vegetales de las cuatro especies en estudio se realizó por superposición de espectros. La Tabla 9 muestra solamente los compuestos no comunes a estas cuatro especies, con su respectivas temperaturas de detección, resultado final que se discutirá en las conclusiones del presente trabajo.



Comparación de cromatogramas en fase gas líquida de las cuatro especies.

Fig. 1.—*Iridaea laminarioides* Bory.

Fig. 2.—*Iridaea ciliata* Kützting.

Fig. 3.—*Gigartina chamissoi* (C. Agardh) J. Agardh.

Fig. 4.—*Rhodymenia palmata* Greville.

Las temperaturas están dadas en grados Celcius.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El análisis de las ceras vegetales indicó que la separación de sus constituyentes permite hacer una buena diferenciación de las especies tratadas en este trabajo.

En la Tabla 8 podemos observar de que existen algunos compuestos que sólo aparecen detectados para una sola especie, como es el caso de los compuestos 1, 2, 3 y 4 comunes solamente a *Iridaea ciliata*. Por otra parte, el compuesto 7 fue detectado solamente en

Rhodymenia palmata y el compuesto 15 sólo apareció en *Gigartina chamissoi*. Se puede comprobar entonces la relativa facilidad que existe para separar estas especies. El problema reside ahora en la identificación de el o los compuestos, lo cual, para el caso de hidrocarburos, no es difícil si se cuenta con los patrones de comparación y se usan técnicas de espectrometría de masa.

Desde el punto de vista quimiotaxonomico, la presencia de hidrocarburos en las ceras vegetales es, sin lugar a dudas, un aporte positivo en la solución de algunos problemas taxonomicos en Botánica. Y este tipo de investigación, por su rapidez y seguridad, sería conveniente hacerlo extensivo en todas las algas de nuestro litoral. De esta forma se lograría tener una gran cantidad de información que iría en beneficio de los especialistas en este campo.

A P E N D I C E

<i>I. lam.</i>	TQC	<i>I. cil.</i>	TQC	<i>G. cham.</i>	TQC	<i>R. pal.</i>	TQC
1	200	1	162	1	200	1	200
2	210	2	165	2	219	2	210
3	219	3	175	3	221	3	212
4	227	4	185	4	230	4	219
5	230	5	200	5	235	5	221
6	235	6	210	6	240	6	227
7	240	7	221	7	243	7	230
8	245	8	230	8	245	8	235
9	249	9	235	9	251	9	240
10	251	10	240	10	260	10	243
11	257	11	251	11	271	11	249
12	265	12	257	12	276	12	251
13	271	13	265	13	280	13	257
14	276	14	271	14	280	14	260
15	280	15	276	15	280	15	265
16	280	16	280	16	280	16	271
17	280	17	280			17	276
18	280	18	280			18	280
		19	280			19	280
						20	280
						21	280
TABLA Nº 3		TABLA Nº 4		TABLA Nº 5		TABLA Nº 6	

I. lam. = *Iridaea laminarioides*

I. cil. = *Iridaea ciliata*

G. cham. = *Gigartina chamissoi*

R. palm. = *Rhodymenia palmata*

TABLA GENERAL

Comp.	<i>I. lam.</i>	<i>I. cil.</i>	<i>R. pal.</i>	<i>G. cham.</i>	Temp. °C
1	O	X	O	O	162
2	O	X	O	O	165
3	O	X	O	O	175
4	O	X	O	O	185
5	X	X	X	X	200
6	X	X	X	O	210
7	O	O	X	O	212
8	X	O	X	X	219
9	O	X	X	X	221
10	X	O	X	O	227
11	X	X	X	X	230
12	X	X	X	X	235
13	X	X	X	X	240
14	O	O	X	X	243
15	X	O	O	X	245
16	X	O	X	O	249
17	X	X	X	X	251
18	X	X	X	O	257
19	O	O	X	X	260
20	X	X	X	O	265
21	X	X	X	X	271
22	X	X	X	X	276
23	X	X	X	X	280
24	X	X	X	X	280
25	X	X	X	X	280
26	X	X	X	X	280

TABLA N° 7

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Dr. Mario Silva O., Profesor del Departamento de Botánica del Instituto de Biología, Universidad de Concepción, en cuyo laboratorio se llevó a efecto este trabajo.

COMPUESTOS NO COMUNES

Comp.	<i>I. lam.</i>	<i>I. cil.</i>	<i>R. pal.</i>	<i>G. cham.</i>	Temp. °C
1	O	X	O	O	162
2	O	X	O	O	165
3	O	X	O	O	175
4	O	X	O	O	185
6	X	X	X	O	210
7	O	O	X	O	212
8	X	O	X	X	219
9	O	X	X	X	221
10	X	O	X	O	227
14	O	O	X	X	243
15	X	O	O	X	245
16	X	O	X	O	249
18	X	X	X	O	257
19	O	O	X	X	260
20	X	X	X	O	265

TABLA N° 8

BIBLIOGRAFIA

- Brown, A. C. y Knights, B. A. 1969. Hydrocarbon content and its relationship to physiological state in the green alga *Botryococcus braunii*. *Phytochem.* 8:543.
- Eglinton, G.; González, A. G.; Hamilton, R. J. y Raphael, R. A. 1962. Hydrocarbon constituents of the wax coating of plants leaves: a taxonomic survey. *Phytochem.* 1:89.
- Lodge, E. 1961. *Sci. Progr. Twent. Cent.* 49:497.
- Maxwell, J. R.; Douglas, A. G.; Eglinton, G. y McCornick, A. 1968. The Botryococcenes, hydrocarbons of novel structure from the alga *Botryococcus braunii* Kützing. *Phytochem.* 7:2157.
- Purdy, S. J. y Truter, E. V. 1961. Taxonomic significance of surface lipids of plants. *Nature.* 190:554.