

FOTOPROTECCIÓN EN UN AMBIENTE TROPICAL HOSTIL: EL CASO DE ESPECIES DEL MANGLAR Y DEL BOSQUE SECO DE NICARAGUA



ZTF-FCT
Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología



eman ta zabal zazu
Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

Claudia María Dolmus Bustillo
Tesis Doctoral 2019-UPV/EHU

A Adrián
A Mis padres

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos formales

Quiero agradecer al Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Biología Vegetal y Ecología de la Universidad del País Vasco (UPV/EHU), en especial a mis directores, Dr. Raquel Esteban y Dr. Antonio Hernández por darme la oportunidad de realizar este trabajo.

Así mismo quiero agradecer:

A la AECID (Agencia Española de Cooperación para el Desarrollo), Proyecto PCI-Iberoamérica D/025486/10 y A/9675/07 por el financiamiento para el comienzo de este trabajo. Y al Ministerio de Asuntos Exteriores y Cooperación (AECID) B/024455/09 y B/032065/10 por la ayuda para la realización del Máster y la subvención del equipamiento científico a la UNAN-León.

Al Ministerio de Ciencia e Innovación (BFU2010-15021) y al Gobierno Vasco por la financiación al Grupo de Investigación Consolidado y de Alto Rendimiento de la UPV/EHU Ecofisiología del Estrés y de la Contaminación en Plantas - EKOFISKO (GIC07/23-IT-299-07, GIC07/23- IT-624-13 y IT1018-16) en el cual se han realizado parte de la experimentación.

A la Universidad del País Vasco por otorgarme en dos ocasiones la ayuda para facilitar la estancia en la UPV/EHU de investigadores en formación de países latinoamericanos matriculados en doctorados en la UPV/EHU. Gracias a esta ayuda realicé dos estancias una para continuar con la parte experimental y la segunda para poder culminar con el documento y presentar el trabajo final de mi tesis.

Agradecimientos Personales

Primeramente, doy gracias a Dios por permitirme haber llegado hasta esta etapa y por tener una buena experiencia en la Universidad del País Vasco, gracias a cada maestro que hizo parte de este proceso integral de formación desde el principio de la realización del Máster.

El largo viaje que me ha llevado el terminar esta tesis comenzó desde el 2011, cuando ingresé al Máster de Agrobiología Ambiental de la UPV/EHU, gracias al apadrinamiento de **Sofía García-Mauriño, Arantxa León y Eduardo Jiménez** que sin su apoyo no hubiera sido posible mis comienzos en la investigación en el área de Ecofisiología Vegetal. Así mismo agradezco a los profesores **Ignacio García Plazaola, Antonio Hernández, José María Becerril y a mis vascas favoritas Raquel y Bea**, que gracias a ellas la distancia de mi tierra se hacía sentir menos.

Gracias a los que se arriesgaron a adoptarme y hacerme aventurar en este largo camino que ha sido realizar esta tesis, gracias, **Raquel y Antonio**, por darme la noticia un octubre del 2012

que me habían inscrito en el doctorado, gracias por ser mis guías y apoyo, pero sobre todo gracias por siempre haber estado pendiente de mí, más que mis directores son familia. Gracias **Raquel** por siempre ser positiva y transmitir buenas vibras, hace 10 años que te conocí y dije me gustaría ser como ella siempre positiva y alegre. Gracias por que, aunque nos separa un Océano siempre estuvieron alentándome a continuar y sin ustedes no hubiera sido posible terminar, gracias por su tiempo y paciencia, mil gracias

En mi Nicaragua, Nicaragüita a los Doctores María Eugenia Cerda y al Doctor Oscar González, a la Doctora por siempre animarme a no dejar de seguir con el doctorado, por haberme apoyado en la realización de parte de hongos formadores de micorrizas arbusculares, al Doctor por facilitar las gestiones de visitar y sacar muestras de suelo de la Reserva Isla Juan Venado.

Gracias...

...a las profes **Claudia y Rebeca** por siempre estar a la disposición de apoyarme y poner el laboratorio de Fisiología Vegetal a mi disposición, a **Marvin y Martha** por ayudarme siempre en los primeros muestreos, igual a los chicos de la comunidad Las Peñitas y Salinas Grandes.

...a **Isaac** por apoyarme en la colecta de muestra de suelo en la isla, en el laboratorio de Biología Molecular del departamento de Biología de la UNAN-León y por salvarme de no quedar enterrada en el fango eternamente.

...a la generación de ingenieros acuícola 2014-2019, por apoyarme en el procesamiento de muestras en especial a **Carito y Enrique**.

...a mis estudiantes de la carrera de Biología a **Joseling Tatiana, Daleska, Jennifer, Gerald, Fernanda, Glenda y Valeska** por el apoyo en el muestreo en los dos sitios, se que no fue fácil tratar de salvarse de no hundirse en el fango, pero muchos lo lograron excepto yo. Gracias a la generación 2016-2020 de Biología por sus buenos deseos hacia mi persona y por su cariño, el sentimiento es mutuo.

... a mi madre **Inés Bustillo**, mi padre **Rolando Dolmus**, mi hermano **Rubén** por siempre apoyarme.

...a **Adrián Catín**, mi esposo, gracias por estar en mi vida, por estar siempre pendiente de mí, por apoyarme en mis decisiones, a alentarme a seguir con el doctorado, por animarme a la distancia, gracias por creer en mí.

... a mis amigos y todas aquellas personas que de una u otra forma ayudaron a realizar este trabajo.

RESUMEN

La costa pacífica de Nicaragua se caracteriza por una cordillera de volcanes y un clima tropical seco con alta irradiación solar y temperaturas elevadas durante todo el año, con una estación seca desde noviembre hasta abril. Estas características hacen posible la existencia de dos formaciones vegetales únicas y de gran importancia tanto biológica, ecológica como social: i) el bosque seco, ecosistema que forman parte del corredor seco centroamericano el cual tienen interés biológico debido a la interacción de elementos del norte y sur de América; y ii) el manglar, que forma parte del ecosistema terrestre-acuático, donde la distribución de las especies arbóreas está influenciada por la salinidad del estero. Ambos ecosistemas poseen especies que han desarrollado mecanismos morfológicos y fisiológicos para adaptarse a las condiciones ambientales hostiles. Es por ello que el objetivo principal de la presente tesis doctoral fue evaluar los mecanismos fotoprotectores de las especies más características del bosque seco y del manglar. El estudio se realizó en la Reserva de Juan Venado en la costa pacífica de Nicaragua. Los resultados de este trabajo muestran la importancia de los pigmentos del ciclo de las xantofilas en la aclimatación a diferentes ambientes lumínicos y al estrés por sequía. Por otro lado, se concluyó que la salinidad afecta a la capacidad de respuesta fenotípica de las especies del bosque de mangle de manera diferencial. Las especies responden con gran plasticidad mediante atributos fisiológicos inter-específicos, los cuales cambian dependiendo del estadio de desarrollo de la especie. Un ejemplo de esta plasticidad es la acumulación de sal como fotoprotección a la alta irradiación en las hojas de *Avicennia germinans*. Además, en esta tesis se discute la naturaleza halófita estricta o facultativa de las especies del manglar. Por último, se establecen marcadores de estrés relacionados con la salinidad, como el γ -tocoferol en la especie *Rhizophora mangle*, que además sirve como herramienta de identificación inter-específica. Este trabajo servirá como base para las decisiones de gestión del manglar y del bosque seco en la Reserva de Juan Venado, así como base para los estudiantes de Biología nicaragüense en educación ambiental y ecofisiología de las especies de bosque seco y manglar.

CONTENIDO

Capítulo I. INTRODUCCION GENERAL

1. Los bosques en el mundo	3
1.1 Formaciones vegetales en el bioclima seco tropical.....	4
1.2 Distribución, características y tipos de formaciones vegetales en el bioclima seco....	5
2. Dos bosques importantes en el mundo tropical estacional seco y bosque de mangle...8	
2.1 Bosque seco en Nicaragua.....	8
2.2 Bosque de manglar.....	12
2.2.1 Características generales.....	12
2.2.2 Distribución de los manglares a nivel mundial.....	13
2.2.3 Factores ecológicos que determinan la distribución de los manglares.....	14
2.2.4 Especies en el bosque de mangle.....	15
2.2.5 Los bosques de manglares en Nicaragua.....	15
2.2.6 Factores abióticos estresantes en los manglares y sus adaptaciones.....	21
2.2.6.1 Alta irradiancia.....	21
2.2.6.2 Salinidad.....	21
2.2.6.3 Anoxia.....	22
2.2.6.4 Adaptaciones fisiológicas.....	23
2.2.6.4.1 Adaptaciones fisiológicas al exceso de luz.....	23
a) Evitar exceso de la luz.....	23
b) Disipación del exceso de energía mediante mecanismos de fotoprotección	24
c) Metabolismo antioxidante.....	28
2.2.6.4.2 Adaptaciones fisiológicas a la salinidad.....	28
2.2.6.4.2.1 Exclusión de sal.....	29
2.2.6.4.2.2 Extrusión de sal.....	29
2.2.6.4.2.3 Almacenamiento de sal.....	30
3. ¿Por qué están en peligro el bosque seco y el manglar?.....	30

Capítulo II. OBJETIVOS

1. Objetivo General.....	35
2. Objetivos Específicos.....	36
2.1 Objetivo 1 (Capítulo IV).....	36
2.2 Objetivo 2 (Capítulo V).....	37
2.3 Objetivo 3 (Capítulo VI).....	37
2.4 Objetivo 4 (Capítulo VII).....	37

Capítulo III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de Estudio.....	41
2. Material vegetal y procedimiento de recolección de muestras.....	42
3. Especies muestreadas y sus características biológicas.....	44
3.1 Especies del manglar.....	44
✓ <i>Avicennia bicolor</i> Stand L.....	44
✓ <i>Avicennia germinans</i> L.....	44
✓ <i>Conocarpus erectus</i> L.....	44
✓ <i>Laguncularia racemosa</i> L.G. F. Gaerth.....	44
✓ <i>Rhizophora mangle</i> L.....	45
✓ <i>Rhizophora harrisonii</i> Leechman.....	45
✓ <i>Rhizophora racemosa</i> (Hochr.) Salvoza.....	45
3.2 Especies del bosque seco.....	47
✓ <i>Andira inermis</i> (W. Wright) Kunth ex DC.....	47
✓ <i>Annona glabra</i> L.....	47
✓ <i>Calycophyllum candidissimum</i> (Vahl) DC.....	48
✓ <i>Cassia fistula</i> L.....	48
✓ <i>Cordia dentata</i> Poir.....	49
✓ <i>Dalbergia retusa</i> Hemsl.....	49
✓ <i>D. robinoides</i> Benth.....	50
✓ <i>Gliricidia sepium</i> (Jacq.) Kunth ex Walp.....	50
✓ <i>Guzuma ulmifolia</i> Lam.....	51
✓ <i>Haematoxylum brasiletto</i> H. Karst.....	51

✓	<i>Hymenaea courbaril</i> L.....	52
✓	<i>Pithecellobium oblongum</i> Benth.....	52
✓	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC. var. Juliflora.....	53
✓	<i>Pterocarpus robrii</i> Vah.....	53
✓	<i>Simarouba amara</i> Aubl.....	54
✓	<i>Swietenia humilis</i> Zucc.....	54
4.	Medidas morfológicas y características de las especies.....	55
4.1	Definiendo las características de las especies.....	55
4.2	Reparto de Biomasa.....	55
5.	Medidas Ambientales.....	55
5.1	Transparencia de Dosel.....	55
5.2.	Salinidad del suelo.....	55
5.3	Condiciones climáticas.....	56
5.4	Medidas de reflectancia.....	56
6.	Fluorescencia de la clorofila a.....	56
6.1.	Medidas puntuales de Fv/Fm.....	56
6.2.	Mediciones de inducción de la fluorescencia de la clorofila a.....	57
6.3.	Fluorescencia en imágenes.....	57
7.	Temperatura foliar.....	58
8.	Determinaciones analíticas: pigmentos y tocoferoles.....	58
8.1	Extracción.....	58
8.2	Sistema cromatográfico del laboratorio de UPV/EHU.....	59
a)	Reactivos y estándares.....	59
8.3	Procedimiento cromatográfico.....	59
8.4	Detección de carotenoides y clorofilas.....	60
8.5	Análisis de Tocoferoles.....	60
9.	Análisis estadístico.....	60
<u>Capítulo IV. Fotoprotección en el bosque seco</u>		
1.	Introducción.....	63
2.	Materiales y Métodos.....	66
2.1	Diseño experimental y especies de estudio.....	66

a) Respuestas de las hojas de sol y sombra de especies del bosque seco en la estación seca y en la estación lluviosa.....	66
b) Evaluación de la presencia de Lx en el bosque seco y analizar la respuesta de los ciclos VAZ y ciclo LxL al gradiente de iluminación en especies de la familia Fabaceae en el periodo de estación seca.....	67
c) Comparación de la abundancia de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) en suelo del manglar y bosque seco de la Isla Juan Venado.....	68
2.2 Determinación de la irradiancia relativa.....	70
2.3 Determinación de pigmentos.....	71
2.4 Determinación del DAP.....	71
2.5 Evaluación de la presencia de esporas de micorrizas en el manglar y bosque seco de la IJV.....	72
2.6 Estadística.....	73
3. Resultados y Discusión.....	74
3.1 Respuestas de las hojas de sol y sombra en la estación seca y en la estación lluviosa.....	74
3.1.1 Seguimiento anual: respuesta de las hojas de sol y sombra (de la estación lluviosa a la estación seca).....	74
3.1.2 Respuesta de hojas de sol y sombra durante la estación lluviosa y estación seca.....	78
3.2 Presencia de Lx y ciclo LxL en las especies del bosque seco.....	83
3.2.1 ¿Las especies del bosque presentan Lx?.....	83
3.2.2 ¿Existe ciclo LxL en las especies del bosque seco?.....	85
3.3 Evaluación de la presencia de esporas de micorrizas en el manglar y bosque seco de la IJV.....	88
4. Conclusiones.....	93

Capítulo V. Respuestas fotoprotectoras de las especies del manglar

1. Introducción.....	97
2. Materiales y Métodos	99
2.1 Diseño experimental.....	99

a) Experimento 1. Efecto de la salinidad en las especies del manglar en condiciones semi-controladas.....	99
b) Experimento 2. Respuesta de las hojas de sol y sombra en las especies del manglar durante la estación lluviosa (más favorable).....	100
c) Experimento 3. Pigmentos fotosintéticos en hojas de sol y sombra en las especies del manglar durante la estación seca.....	101
2.2 Determinación de la salinidad del suelo.....	101
2.3 Determinación del reparto de biomasa y medidas biométricas.....	102
2.4 Determinación de la eficiencia fotoquímica.....	102
2.5 Determinación de las curvas de inducción de la clorofila a.....	103
2.6 Determinación de pigmentos.....	104
2.7 Análisis estadístico.....	105
3. Resultados y Discusión	106
3.1 Zonación del manglar.....	106
3.2 Evaluar las respuestas fisiológicas a la salinidad creciente del suelo del manglar.....	108
3.2.1 Supervivencia de propágulos de <i>L. racemosa</i> y <i>A. germinans</i> en diferentes concentraciones de salinidad.....	108
3.2.2 Respuesta fotosintética de <i>L. racemosa</i> y <i>R. mangle</i> a un gradiente de salinidad.....	113
3.3 Efecto combinado de los estreses de luz y salinidad en la respuesta de las hojas en las especies del manglar.....	116
4. Conclusiones.....	123

Capítulo VI. Morfología del género *Rhizophora*

1. Introducción.....	127
2. Materiales y Métodos.....	130
2.1 Material Vegetal y lugar de estudio.....	130
2.2 Diseño Experimental.....	130
2.2.1 Transparencia del Dosel.....	130

2.2.2 Morfología Vegetal.....	130
2.2.3 Fluorescencia de la clorofila.....	131
2.2.4 Medida de pigmentos.....	131
2.2.5 Análisis de pigmentos.....	131
2.2.6 Análisis de Tocoferoles.....	132
2.2.7 Reflectancia.....	132
2.2.8 Estadística.....	133
3. Resultados.....	134
3.1 Comparación de la Morfología de las tres Especies.....	134
3.2 Fotoprotección en las especies de <i>Rhizophora</i>	137
4. Discusión.....	140
5. Conclusión.....	143

Capítulo VII. Los cristales de sal en la fotoprotección del mangle negro

1. Resumen.....	147
2. Introducción.....	148
3. Materiales y Métodos.....	149
3.1 Especies de estudio, área de estudio y muestreo.....	150
3.2 Condiciones climáticas.....	151
3.3 Propiedades ópticas de las hojas.....	151
3.4 Fluorescencia de la Clorofila a.....	151
3.5 Temperatura de la hoja.....	152
3.6 Métodos analíticos.....	153
3.7 Estadística.....	154
4. Resultados.....	155
4.1 Caracterización Meteorológica de IJV.....	155
4.2 Efectos de la deposición de cristales de sal en los parámetros fotosintéticos....	155
5. Discusión.....	158

Capítulo VIII. DISCUSIÓN GENERAL

1. Antecedentes: fortalecimiento de la UNAN-León.....	165
2. Mi experiencia personal: cómo comenzó todo.....	165
3. Ambiente hostil en la Reserva Juan Venado y estrategias de supervivencia.....	166
4. Las especies del manglar son tolerantes a la salinidad, pero presentan diferentes grados de tolerancia.....	166
5. Plasticidad de las especies del manglar: respuesta morfológica.....	167
5.1 Plasticidad de las especies del manglar: respuesta bioquímica.....	168
6. Importancia de la presente tesis doctoral	168

Capítulo IX. CONCLUSIONES GENERALES

1. Conclusiones Generales.....	173
--------------------------------	-----

Capítulo X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Referencias Bibliográficas.....	177
------------------------------------	-----

Capítulo XI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Anexo	213
----------------	-----

Capítulo I.

INTRODUCCION GENERAL

1. Los bosques en el mundo

Los bosques (entendidos como tales tanto los bosques naturales como las plantaciones forestales) han sufrido cambios a lo largo de los últimos 25 años, si bien según las estadísticas su superficie total apenas ha disminuido un 3%. En 1990, el planeta tenía 4128 millones de hectáreas de bosque; en 2015 esa área había disminuido a 3999 millones de hectáreas. Esto representa una disminución del 31.6 por ciento de la superficie mundial de tierras ocupadas por bosques en 1990 al 30.6 por ciento en 2015 (FAO 2016) (Fig. 1)

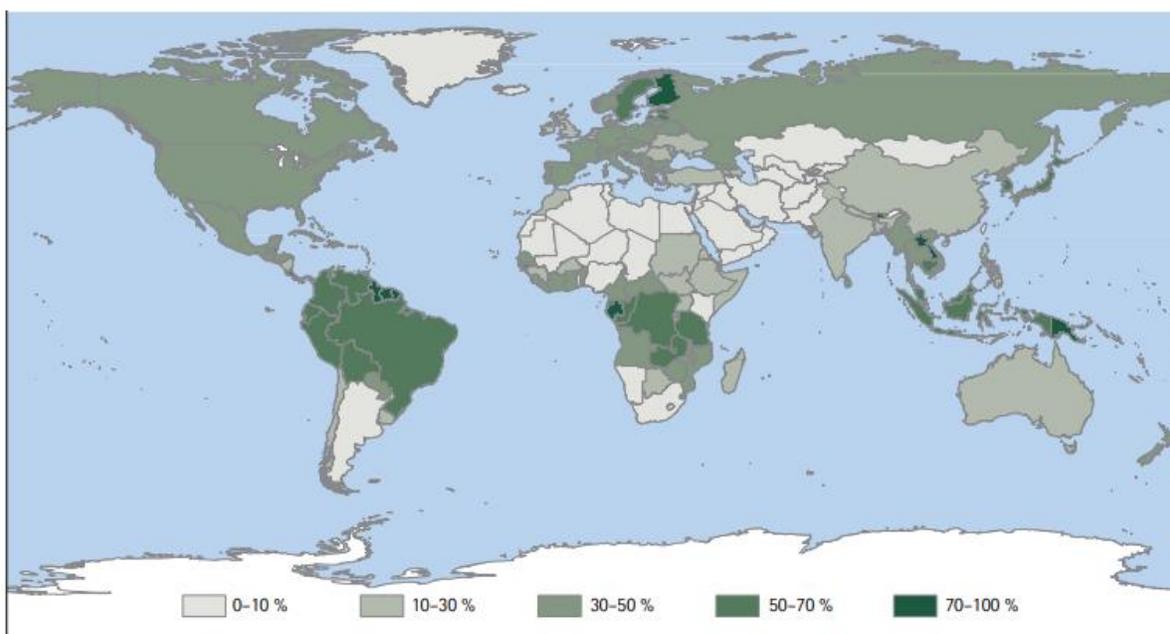


Figura 1. Evaluación mundial del área de bosque como porcentaje de la superficie de tierra total en 2015. Imagen obtenida de FAO (2016).

Los 5 países con mayor riqueza forestal, para el periodo que abarca desde el 2010 al 2015 son: Rusia, Brasil, Canadá, Estados Unidos de América y China (FAO 2016), los cuales suman un 54% del área total del bosque mundial (Fig. 1). La latitud, elevación y lluvia afectan al tipo de bosque que crece de manera natural, de modo que los bosques a lo largo del eje polo-ecuador pueden ser clasificados de acuerdo a la influencia de la temperatura y presencia de lluvias en: tundra, bosque boreal, bosque caducifolio, bosque tropical seco y bosque tropical húmedo (FAO 2008).

1.1. Formaciones vegetales en el bioclima seco tropical

La presente tesis doctoral se centra en los bosques del mundo tropical, por lo que se detallarán las características principales de este singular bioma. Los bosques tropicales cubren solo un 10% de la superficie terrestre, pero tienen una gran importancia a escala global porque capturan y procesan grandes cantidades de carbono (Wright 2010) y alberga entre la mitad y dos tercios del total de las especies del planeta (Malhi and Grace 2000; Groombridge and Jenkins 2003). La mayor superficie de bosque tropical se encuentra en el continente americano (55.0%), seguido de Asia (33.8%) y África (11.2%) (Achard et al. 2007). Los bosques tropicales y subtropicales incluyen cuatro biomas: el bosque tropical húmedo, el bosque tropical de coníferas, el bosque tropical estacionalmente seco y el manglar (Olson et al. 2001).

Según la clasificación climática de Köppen, los climas tropicales se dividen en tropical húmedo (Af), tropical húmedo-seco (de invierno seco, Aw o de verano seco; As) (Fig. 2). La diferencia entre las condiciones ambientales en las regiones tropicales (diferencia entre clima tropical húmedo y tropical seco) se basa en la distribución de comunidades vegetales que se han adaptado a largos periodos de sequía. A estas comunidades o ecosistemas diferentes autores (Rzedowski 1978; Gentry 1982; Murphy and Lugo 1986; Bullock et al. 1995; Mooney et al. 1995; Pennigton et al. 2000; Olson et al. 2001) se han referido mediante términos como bosque seco, bosque seco estacional, bosque tropical caducifolio, bosque tropical estacional seco, entre otros. En el presente trabajo se denominará **Bosque seco tropical (Bs-T)**. Este bioma se define como aquella formación vegetal que presenta una cobertura boscosa continua y que se distribuye entre los 0-1000 m de altitud. Generalmente, son los bosques caducifolios y semicaducifolios que crecen en áreas tropicales sujetas a una severa estacionalidad climática. Presenta temperatura media superior a los 24 °C (piso térmico cálido) y precipitaciones entre los 700 y 2000 mm anuales, con uno o dos periodos marcados de sequía al año (Espinal 1985; Murphy and Lugo 1986). Según la clasificación climática de Köppen estos bosques están clasificados en clima Tropical húmedo-seco. (Fig. 2). De hecho, estos bosques reciben alrededor de 80% de la precipitación durante cuatro meses, a lo largo de los cuales la media de precipitación puede sobrepasar los 200 mm por mes (Maass and Burgos 2011). Por otro lado, el periodo de sequía se prolonga entre 5 a 6 meses al año; creando un déficit hídrico (Gotsch et al. 2010; Lima and Rodal 2010) lo cual determina una de las características del Bs-T. La fenología distintiva de la mayoría de las plantas está por lo tanto ligada a la pérdida estacional de las hojas. Estos bosques

presentan una época sin hojas durante la estación seca y una fisionomía de bosque siempre verde a lo largo de la estación lluviosa. Es importante destacar que los bosques secos del Neotrópico (región tropical del continente americano) han recibido poca atención científica en comparación con los bosques lluviosos tropicales de la región (Bullock et al. 1995; Sánchez-Azofeifa et al. 2005).

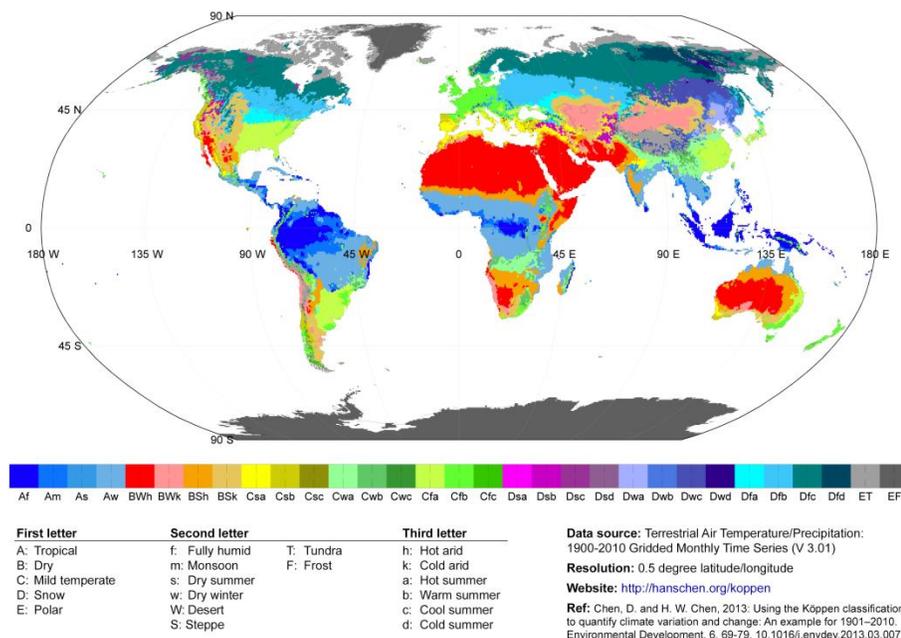


Figura 2. Clasificación climática de Köppen-Geiger. Fuente: incluida en el gráfico.

1.2 Distribución, características y tipos de formaciones vegetales en el bioclima seco tropical.

A nivel mundial, las zonas Bs-T cubren grandes áreas del Centro y Sur del continente de América, el suroeste de África y partes del suroeste de Asia; ocupando el 42% de la superficie de los bosques tropicales (Miles et al. 2006). En Latinoamérica, las zonas de Bs-T y subtropical cubren el 25% de la superficie, a pesar de esta considerable extensión y del hecho de que estos ecosistemas mantengan una importante población humana. Las formaciones vegetales secas actuales en Centro y Sudamérica probablemente se originaron y evolucionaron independientemente desde hace cerca de 1.8 millones de años, de cuatro grandes comunidades florísticas. La primera está ubicada en México y a lo largo de Centroamérica, la segunda ubicada

en el centro de Brasil, la tercera en la región del Chaco entre Bolivia y Paraguay, y la cuarta localizada en la región central y sur de Chile (Sarmiento 1975).

Los bosques tropicales estacionalmente secos forman cuatro grandes grupos en base a su afinidad florística. El primer grupo Mesoamérica y el Caribe lo conforman la costa del Caribe de Colombia y Venezuela (Fig. 3A), los Llanos venezolanos (Fig. 3B), México y América Central (Fig. 3C y 3D) (Gentry 1982; Linares-Palomino et al. 2010). El bosque seco en Centroamérica se extiende a lo largo de la costa del Pacífico desde Guatemala a Costa Rica, que va desde el nivel del mar hasta unos 400 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Murphy and Lugo 1995). El segundo grupo, Pacífico Ecuatorial (Peralvo et al. 2007) está conformado por los núcleos denominados valles interandinos y costas del Pacífico de Perú y Ecuador. Gentry (1995), menciona que el tercer grupo, el de América del Sur es el que presenta mayor extensión geográfica con una marcada diferencia florística del resto (Fig. 4). El cuarto grupo lo conforma la Caatinga (bioma exclusivo de Brasil) (Fig. 5), los bosques secos de Misiones, Piedemontes que incluye el norte del bosque tropical seco boliviano y el Cerrado.

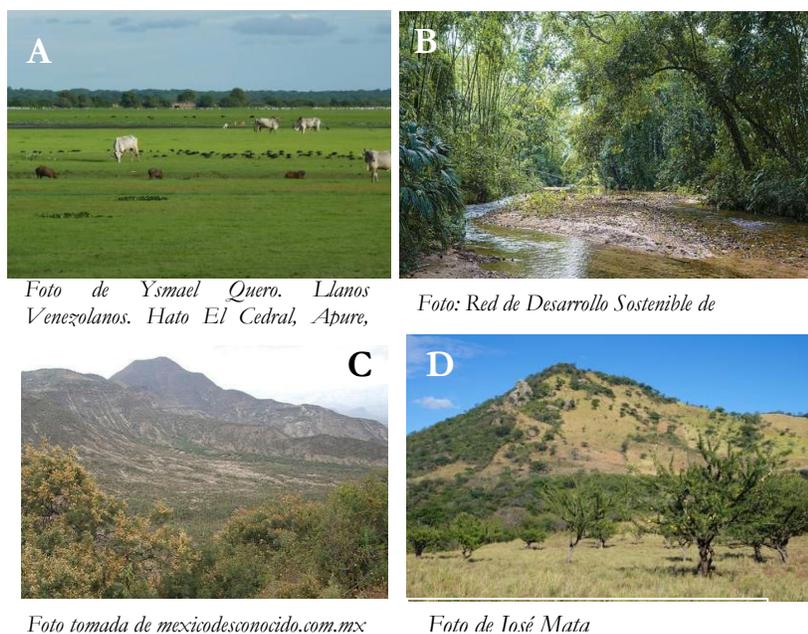


Figura. 3. Primer grupo de bosques estacionalmente seco según la afinidad florística explicada anteriormente. En detalle, vista de los valles venezolanos (A), Bosque tropical seco de Colombia (B), México (C), Bosque seco característicos de la región Centroamericana (D)

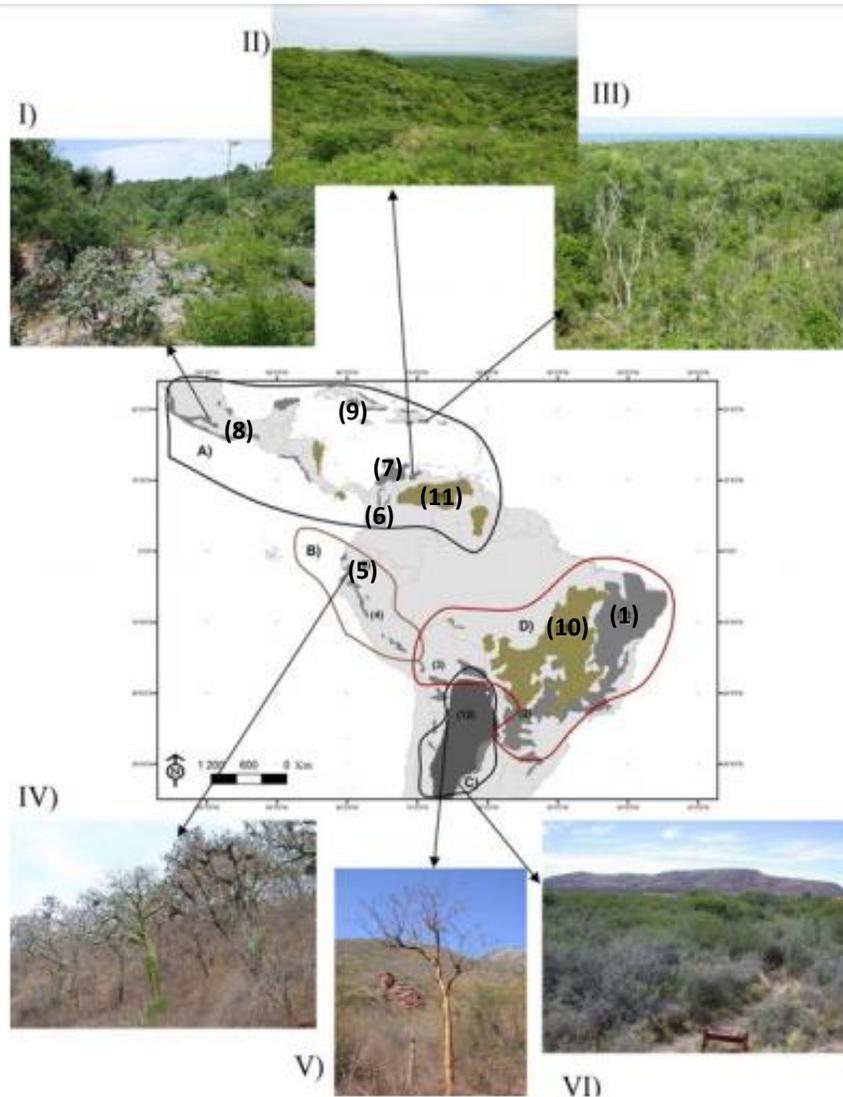
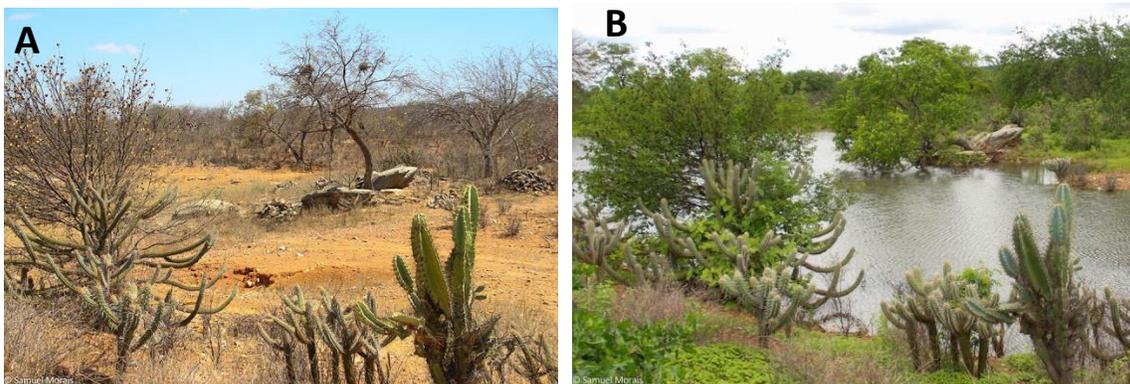


Figura 4. Distribución de núcleos de los Ecosistemas Tropicales Estacionalmente Secos en el Neotrópico. Los colores de los núcleos representan los tres tipos de vegetación de los BTES según Pennington et al. (2000); gris oscuro el Chaco, gris los bosques secos y oliva las sabanas. Los números indican los principales núcleos biogeográficos de los ecosistemas secos tropicales según Pennington et al. (2000): 1) la Caatinga, 2) Misiones, 3) Pie de Monte, 4) valles interandinos del norte de Perú, Bolivia y Ecuador, 5) costa del Pacífico de Ecuador y Perú, 6) valles interandinos de Colombia y Venezuela, 7) costa del Caribe y Venezuela, 8) México y América Central, 9) islas del Caribe, 10) Cerrado, 11) los Llanos venezolanos, 12) el Chaco. Los polígonos muestran los grupos con mayor afinidad florística según Linares-Palomino et al. (2011); A) grupo Mesoamérica y el Caribe, B) grupo Pacífico Ecuatorial, C) grupo Sur de América del Sur, D) grupo Brasileño. Las fotos muestran ejemplos de algunos ecosistemas de los BTES: I) Matorral seco San Luis Potosí, México; II) Matorral seco, Venezuela; III) Bosque seco, República Dominicana; IV) Bosque seco, Pacífico Ecuatorial, Ecuador; V) Bosque Chaqueño, Argentina; VI) Caldenar, Argentina.



Fotos de Samuel Morais

Figura 5. La Caatinga en estación seca (A) y estación lluviosa (B) (Brasil).

2. Dos bosques importantes en el mundo tropical estacional seco: bosque seco y bosque de mangle

A continuación, se describirán los bosques en los que se ha trabajado en la presente tesis doctoral: el bosque seco y el manglar, dos ecosistemas de la región seca tropical.

a. Bosque seco de Nicaragua

El bosque seco está determinado por un concepto climático al referirse a aquellas zonas geográficas donde la baja humedad la baja precipitación, las altas temperaturas, los vientos y en ocasiones, los suelos pobres en materia orgánica dan como resultado una biodiversidad característica (Ulloa-Delgado 2016). Este bosque, mayormente con árboles de 20 a 25 m de alto en el caso particular de Nicaragua, los podemos encontrar en su mayoría en la zona del Pacífico con elevaciones por debajo de los 500 metros sobre el nivel del mar, con una marcada estación seca de seis meses. Durante la época de lluvia ocurre con frecuencia un periodo seco corto que puede ser desde una semana hasta un mes de duración. La precipitación es variable de un año a otro (con un rango hasta de 30 %), tanto en intensidad, como en distribución (Muluenda and Araquistáin 2002). (Fig. 6). La precipitación anual es entre 800 a 1600 mm y la temperatura media oscila anualmente de 25 a 30 °C (Filomeno 1996). Durante la época de lluvia, ocurre con

frecuencia un período seco corto que puede ser desde unas pocas semanas hasta más de un mes de duración (MARENA / INAFOR 2002).

En Nicaragua, este bosque se sitúa en las siguientes regiones ecológicas: Región Ecológica I (Sector del Pacífico), Región Ecológica II (Sector Norcentral), Región Ecológica III (Sector Central. Bocay) y Región Ecológica IV (Sector del Caribe) (MARENA / INAFOR 2002). La Región Ecológica I, que engloba a la región sobre la que se ha hecho el presente estudio es, en términos generales, la más seca y caliente del país (Fig. 6, más detalles en Materiales y Métodos). Su extensión es de unos 28042 km². Desde el punto de vista de la fisonomía de la vegetación y de su composición florística, la Región Ecológica I comprende diferentes categorías de vegetación (formaciones forestales caducifolias, subcaducifolias y perennifolias) (Fig. 7 y Fig. 8) y una gran diversidad de especies vegetales nativas y de asociaciones vegetales cuya presencia en cada localidad responde a los factores (MARENA / INAFOR 2002). La región ecológica I engloba alrededor de 45 especies forestales (de las cuales 17 especies son características de bosques naturales autóctono).

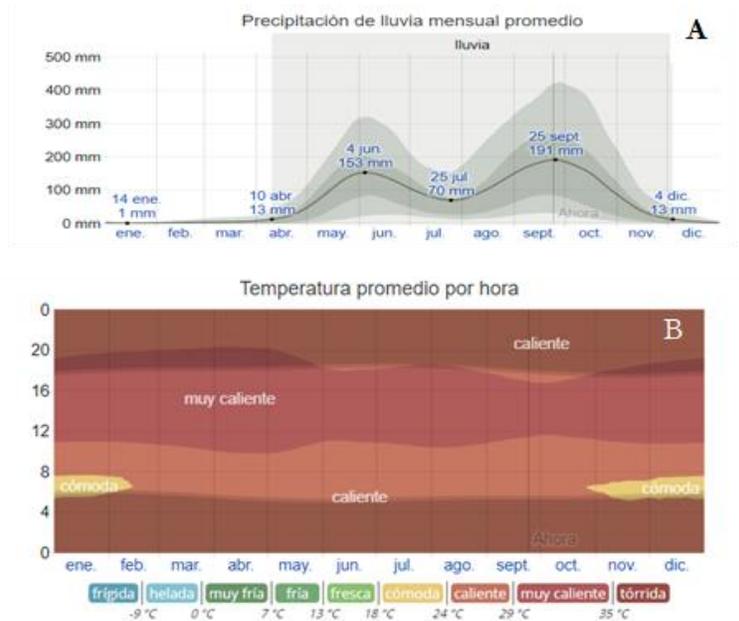


Figura 6. Precipitación y temperatura anual para la Región Ecológica I. La precipitación promedio (línea sólida) acumulada en un periodo de 31 días. Se muestran también los percentiles mediante sombreado. La temperatura promedio por hora, codificada por colores en bandas. Las áreas sombreadas superpuestas indican la noche y el crepúsculo (B)

Las especies de plantas presentes en el bosque seco presentan adaptaciones morfológicas y fisiológicas generalizadas que son importantes en la estructuración de comunidades (Vickery 1987), y además que les permiten sobrevivir a condiciones extremas. Una de las estrategias clave es el deshacerse de sus hojas para lograr que la pérdida de agua de estos tejidos sea menor en los meses más estresantes (diciembre-mayo; Espinosa et al. 2012). Entre otras estrategias que han desarrollado, está la adaptación de su corteza, con textura rugosa y gruesa, cuya función es dar protección en caso de incendios. Además, las raíces comúnmente son más grandes y profundas, ya que esto les permite alcanzar los depósitos de agua que se localizan en el subsuelo. (Ceballos et al. 2010).



Foto de Adrián Catin Chiong

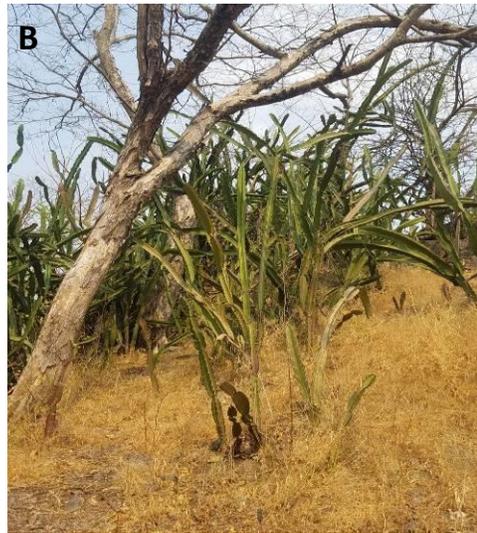


Foto de Adrián Catin Chiong

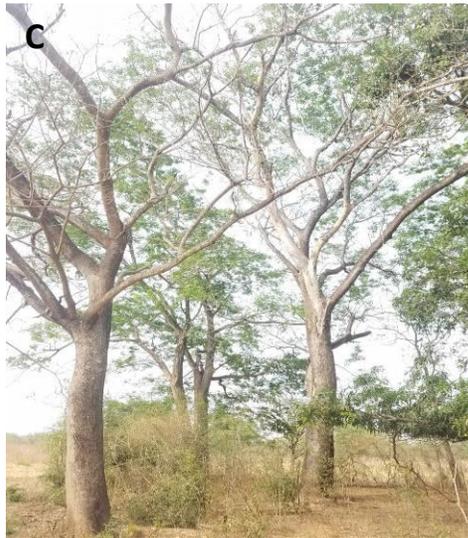


Foto de Claudia Dolmus Bustillo



Foto de Claudia Dolmus Bustillo

Figura 7. Región Ecológica I, región Chinandega (A)(B) y León (C)(D). Zona perturbada por incendios para cazar mamíferos y reptiles presentes en la zona (A) Bosque seco donde abundan cactáceas (B) Bosque seco con predominancia de *Albizia niopoides* (Spruce ex Benth.) Burkart (C), árboles de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp. (D).



Foto de Claudia Dolmus Bustillo



Foto de Adrián Catin Chiong



Foto tomada de sanjuandelaisla.com

Figura 8. Especies presentes en el bosque de la Región Ecológica I del Pacífico de Nicaragua *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. (A), *Albizia niopoides* (Spruce ex Benth.) Burkart (B) y *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (C)

2.2 Bosque de Manglar

2.2.1. Características generales

El manglar es un ecosistema constituido por árboles o arbustos que crecen en zonas costeras de las regiones tropicales, el cual está determinado por el intervalo de mareas (Flores et al. 2003) el crecimiento típico de las especies del manglar se realiza en el espectro salino intermedio de la mezcla de aguas dulce y salada teniendo este último como promedio 35 g/L de sal (SEACAMP 1998).

Los bosques de manglar o bien llamados manglares son un grupo taxonómico de vegetales que se asocian entre sí, que crecen en aguas salobres (Hayes-Conroy 2000; Jan de Vos 2004;

Mitsch and Gosselink 2000) característicos en líneas costeras (FAO 1994) principalmente en las regiones tropicales y subtropicales (Walsh 1974; Ellison and Stoddart 1991). Estos crecen sobre sitios planos, suelos fangosos y aguas relativamente tranquilas en bahías, estuarios, lagunas costeras, ensenadas y esteros (Sánchez-Páez et al. 2000) (Fig. 9). Los bosques de manglares se pueden encontrar en distintas formas, ya sea en forma de parches aislados con árboles enanos, expuestos a muy alta salinidad o condiciones perturbadas; o bien como bosques exuberantes con un dosel en condiciones ambientales adecuadas donde pueden alcanzarlos 30 y 40 metros de altura. (The World Mangroves 1980-2005. 2007). Los manglares al estar bajo la influencia de niveles variables de agua del mar y agua dulce (en tiempo y en concentración) presentan adaptaciones especiales que permiten tolerar la falta de oxígeno, elevados niveles de salinidad y variables patrones de inundación (Zamora-Trejos 2006, más detalles a continuación).



Fotos de Claudia Dolmus Bustillo

Figura 9. Manglares del Pacífico de Nicaragua

2.2.2 Distribución de los manglares a nivel mundial

Los manglares se localizan en sectores donde las condiciones se caracterizan por temperaturas altas y constantes; normalmente están restringidos a latitudes entre los 30° norte y 30° sur (West 1956, Kathiresan and Qasim 2005); aun así, existen formaciones de manglar en zonas que exceden estos límites latitudinales (Bermudas y Japón, al hemisferio norte; Nueva Zelanda, Australia y Sudáfrica, hemisferio Sur) (Fig. 10) (Choudhury 1997).

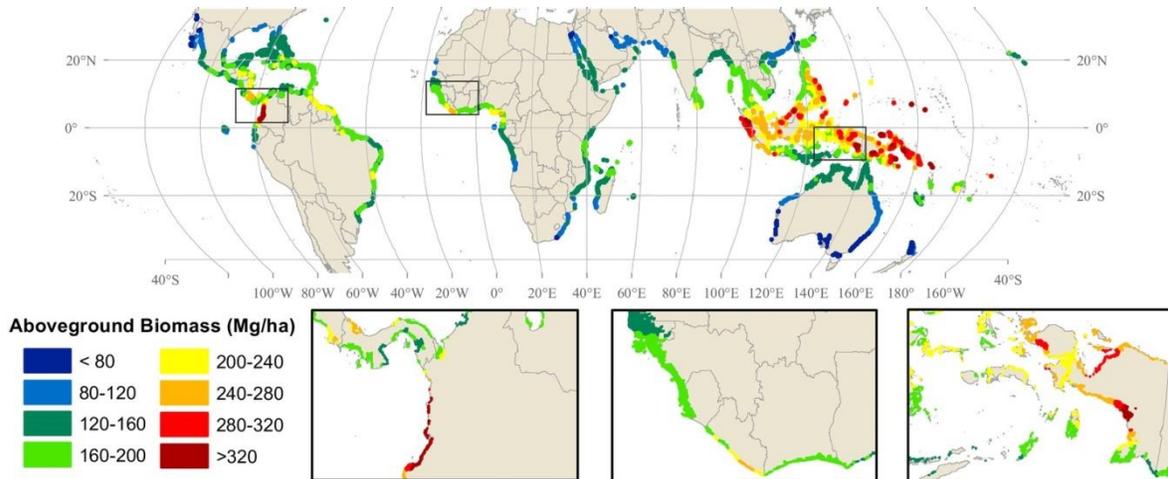


Figure 10 Distribución y densidad de biomasa de los manglares del mundo. Fuente: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/db/The_global_distribution_of_carbon_stored_in_mangroves.jpg

En América, los encontramos en ambas costas: el 70% de ellos se ubican en la costa Atlántica-Caribe y el 30% restante en el Pacífico. En las costas Atlántica-Caribe se ubican desde los 32° N en Isla Bermuda hasta los 28°,30' S en Brasil, y en el Pacífico su distribución es desde el Golfo de Baja California en 28°54' N hasta los 3°30' S en Perú. (Yáñez-Arancibia and Lara-Domínguez 1999). Basado en *The World Mangroves 1980-2005*, en la zona Norte y Central de América la región más extensa cubierta de manglares está en México y Cuba. Estos países tienen el quinto y séptimo lugar con más grande extensión de manglares en todo el mundo.

En la zona de América del sur se encuentran, en bahías y estuarios de ocho países, de los cuales Brasil tiene la mayor superficie, ocupando el tercer lugar con mayor área de manglares en el mundo (Fig. 10). La superficie total de los manglares de América es de aproximadamente 4133216 hectáreas (41332 km²), de las cuales América del Norte y Centro América, con las islas del Caribe suman 2102886 hectáreas y América del Sur cubre 2030330 hectáreas (Sánchez-Páez et al. 2004).

2.2.3. Factores ecológicos que determinan la distribución de los manglares

La extensión de los bosques en la línea de costa y su estructura dependen de factores biológicos y ambientales. Los más citados son el flujo de marea, la salinidad del suelo, el clima y la disponibilidad de agua dulce y de nutrientes (Cuatrecasas 1958; Thom 1967). Las características del sustrato son consideradas determinantes de la productividad y diversidad de los manglares

(Boto and Wellington 1984), aunque en zonas áridas e hipersalinas la limitación de agua dulce y el escaso intercambio de nutrientes con la zona costera juegan un papel clave en el funcionamiento de los manglares (Sánchez-Andrés et al. 2010).

2.2.4 Especies en el bosque de mangle

Hogarth (1999), ha clasificado las distintas familias de mangles en dos grupos. El primer grupo o grupo mayor, agrupa a la mayoría de las especies pertenecientes a cinco familias (Avicenniaceae, Combretaceae, Palmae, Rhizophoraceae y Sonneratiaceae); por otra parte, el segundo grupo contiene menos especies, pero más familias (Bombacaceae, Euphorbiaceae, Lythraceae, Meliaceae, Myrsinaceae, Pellicieraceae, Plumbaginaceae, Ptiradeceae, Rubiaceae y Sterculiaceae). En la ecología del bosque de manglar algunos autores han descrito una zonificación dentro del manglar, iniciando con el mangle rojo en el borde (especies del género *Rhizophora*), en contacto directo con los aportes de agua; luego el mangle negro (especies del género *Avicennia*) y el blanco (especies del género *Laguncularia*); y por último el mangle botoncillo (especies del género *Conocarpus*). Esta zonación no se cumple en muchos sitios debido a que tanto la ubicación como la composición, la estructura y el funcionamiento del manglar dependen de la combinación del conjunto de los factores físicos, químico (Thom 1967; Twilley 1999) e incluso biológicos relacionados con la capacidad de dispersión y colonización de los propágulos en función de su peso (Rabinowitz 1978), y las interacciones vegetación-fauna que se presentan en el manglar (McKee 1995).

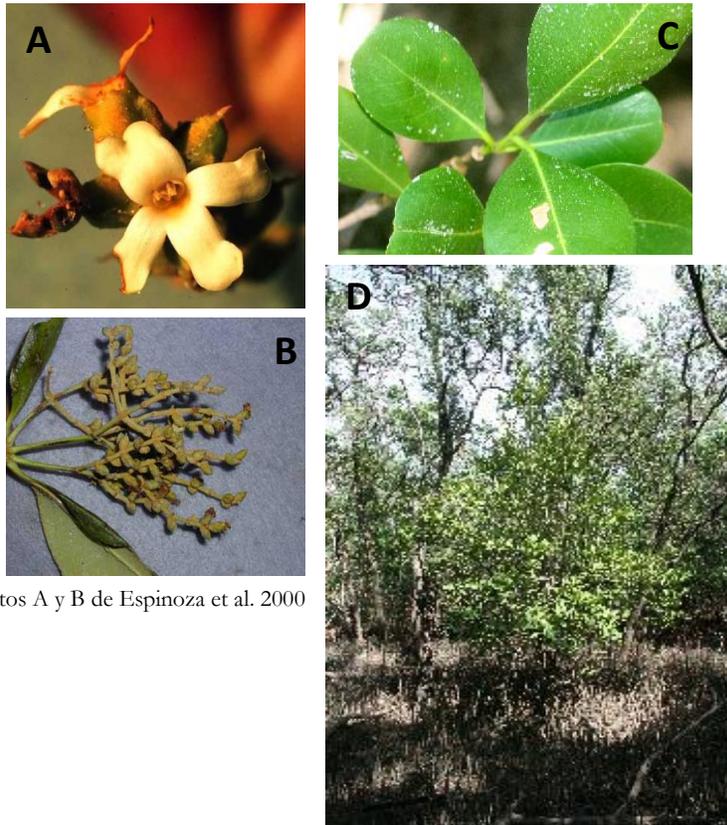
2.2.5. Los bosques de manglar en nicaragua

En Nicaragua los bosques de manglares crecen a lo largo de aproximadamente el 30 por ciento de sus costas, distribuyéndose entre los litorales del Pacífico y Caribe. Los bosques extensamente más desarrollados se sitúan la costa del Pacífico, los árboles alcanzan una altura promedio de 15 metros. En la costa del Caribe, los manglares están asociados con deltas y lagunas, formando bosques más altos de los del Pacífico, alcanzando alturas de 25 m (Bégué 1966).

Según FAO (2005), en Nicaragua las especies del manglar presentes son: *Acrostichum aureum* L., *A. bicolor* Standl. (Fig. 11) *Avicennia germinans* (L) (Fig. 12), *Conocarpus erectus* L (Fig. 13), *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth (Fig. 14) *Pelliciera rhizophorae* Triana & Planch., *Rhizophora*

harrisonii Leechm, *Rhizophora mangle* (L.) y *Rhizophora racemosa* G. Mey (Fig. 15). La Región del caribe tiene aproximadamente 600 Km² de bosque de manglar (CIDCA 1996). Con cinco diferentes especies de mangle, mangle rojo (*R. mangle*), es el más abundante, el mangle negro (*A. germinans*), mangle blanco (*L. racemosa*), mangle de gambas (*P. rhizophorae*) y botoncillo (*C. erectus*) (MAIZCo 1997).

En la región del Pacífico los ecosistemas de manglares de mayor importancia están en bloques: Estero Real (72.6 %), Estero Padre Ramos (8.5 %), Aserradores-Corinto (11.2 %); Poneloya - Puerto Sandino (7.7 %). En estos bloques de manglares están presentes las siguientes especies: *R. mangle*, *R. harrisonii*, *R. racemosa*, *A. germinans*, *A. bicolor*, *L. racemosa* y *C. erectus* (UICN 1992; CATIE/UICN1991).



Fotos A y B de Espinoza et al. 2000

Fotos C y D de Daniel H. Janzen,

Figura 11. *Avicennia bicolor* (palo de sal). Flores (A), Frutos inmaduro (B), árbol maduro (C)



Fotos A y B tomadas de CONAFOR



Foto de: Chad Zuber

Figura. 12. *Avicennia germinans* (palo de sal o mangle negro), Flores (A), Frutos maduros (B) y árbol adulto (C)



Foto de Claudia Dolmus Bustillo

Fotos A y B tomadas de www.plantasyhongos.es

Figura 13. *Conocarpus erectus* (botoncillo). Inflorescencia y polinizador (A), Frutos verdes y maduros (B) y un parche de botoncillo frente a la isla Santa Lucia, León Nicaragua.



Foto de Bob Gibbons N item:9985854

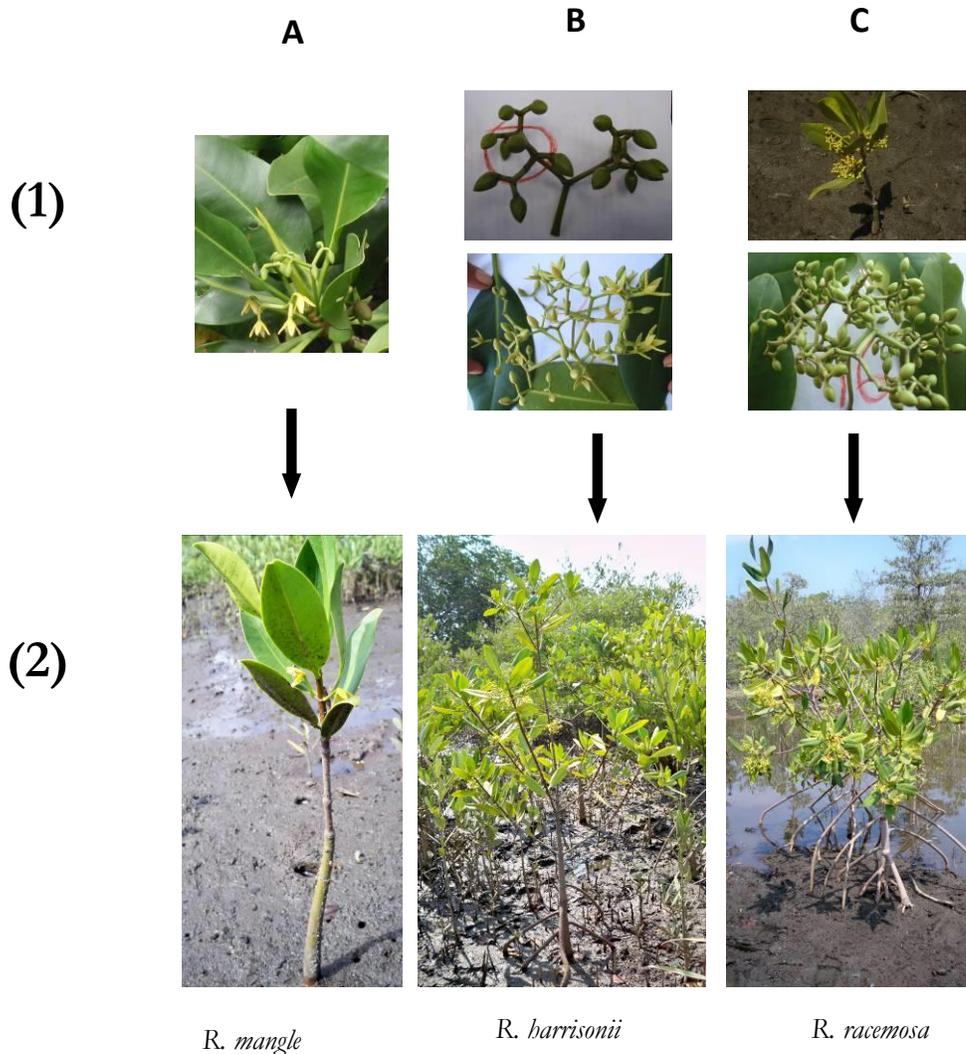


Foto de Rick Poley. Número de artículo: 6011292



Foto de Claudia Dolmus Bustillo

Figura 14. *Laguncularia racemosa* (mangle blanco). Inflorescencia (A), frutos (B) y un parche de varias plantas de mangle blanco en la isla Santa Lucía, León Nicaragua.



Fotos de Claudia Dolmus Bustillo

Figura 15. Las tres especies de *Rhizophora* presentes en el Pacífico de Nicaragua. (1) Inflorescencia. (2) Plantas jóvenes de las tres especies, en estas fotos se ve que las plantas tienen su primera inflorescencia a temprana edad. *R. harrisonii*, la inflorescencia puede presentar entre 3 a 5 ramificaciones lo cual se puede apreciar en la foto 1 (B). En cambio *R. racemosa* siempre presentará más de 5 ramificaciones en su inflorescencia 1(C) y *R. mangle* 1(A) el máximo de ramificaciones presente en la inflorescencia de esta especie serán 2.

2.2.6 Factores abióticos estresantes en los manglares y sus adaptaciones

2.2.6.1 Alta irradiancia

El crecimiento de las plantas es dependiente de la variación genética y de las condiciones ambientales (relación planta-suelo-atmósfera). Por tanto, la cantidad de radiación disponible influye en los procesos fisiológicos, morfogenéticos y reproductivos de plantas, afectando así de forma significativa al funcionamiento general del ecosistema (Kohen et al. 1995). Si bien la luz resulta fundamental para la realización de la fotosíntesis, una intensidad luminosa que sobrepase el nivel de adaptación de los vegetales, combinada con otros factores causantes de estrés, causa reducción en la actividad fotosintética. (Deming-Adams and Adams 1992; Horton et al. 1994; Lucinski and Jackowski 2006).

Kraus et al. (2008) indican que la intensidad lumínica afecta el crecimiento de los manglares. Kathiresan and Bingham (2001) mencionan que la tasa fotosintética de los manglares tiende a estabilizarse en niveles relativamente bajos de luz e incluso pueden llegar a presentar un mayor crecimiento con bajos niveles de irradiación que con radiación de la luz directa (Kathiresan and Moorthy 1993; Farnsworth and Ellison 1996; McGuinness 1997).

2.2.6.2. Salinidad

Uno de los factores que influye de forma directa reduciendo el crecimiento de la planta es la salinidad del suelo, un problema que se incrementa año a año sobre todo en las regiones áridas y semiáridas del mundo como consecuencia de una baja precipitación (Villa et al. 2006). El efecto de las sales en la planta se manifiesta a dos niveles, por una parte, creando un estrés osmótico que afecta la retención osmótica del agua y por la otra mediante un estrés iónico causado por la toxicidad dependiente de los efectos de los iones particulares implicados, específicamente sobre el citoplasma y las membranas de las células (Larcher 1995). En los manglares, la marea ejerce su influencia sobre la vegetación a través de factores como la saturación del suelo (los poros donde el agua substituye a los espacios aéreos), la forma y disponibilidad de nutrientes y la salinidad del agua superficial y del suelo, de manera que estos factores pueden afectar directa o indirectamente en el crecimiento de la vegetación presente en los manglares. (Watson 1928; Chapman 1944; Macnae 1968). De hecho, la sal es la característica más importante del ambiente del manglar y los manglares inevitablemente absorben algunos

iones de sodio y cloruro del agua del mar. El hecho de que los mangles puedan crecer en sustratos altamente salinos, indica que son capaces de controlar la absorción de sal y mantener un equilibrio hídrico (Connor 1969; Downton 1982; Ball and Pidsley 1995; Aziz and Khan 2001).

2.2.6.3 Anoxia

Un segundo factor que afectan en el crecimiento de las plantas de mangle es la falta de oxígeno por las frecuentes inundaciones a los que son sometidos. Estas especies han desarrollado una serie de adaptaciones fisiológicas (en su funcionamiento) y morfológicas (en su forma o estructura) o bien en su estrategia de vida, que les permiten tolerar el estrés o bien evitarlo. Una de las principales es la formación de tejido de aerénquima y la producción de órganos o respuestas especiales en raíces y tallos. El aerénquima es un tejido lleno de espacios aéreos que permite la aireación del tejido sumergido y el transporte de oxígeno. Las raíces sufren transformaciones para lidiar con la falta de oxígeno con adaptaciones específicas como, raíces aéreas y neumatóforos (Fig. 16) (Moreno-Casasola 2016).



www.tropicalrainforestem.com

Fuente: deskgram.net

Figura 16. Raíces aéreas en *Rhizophora sp.* (A)(C) y neumatóforos en *Avicennia germinans* (B) (D)

2.2.6.4 Adaptaciones fisiológicas

Sin embargo, y a pesar de la influencia de los factores antes mencionado han logrado colonizar las zonas marinas costeras con éxito gracias al desarrollo de numerosas adaptaciones morfológicas, reproductivas y fisiológicas (Saenger 1983, Clough 1984; Tomlinson 1986; Hutchings and Saenger 1987, Naskar and Mandai 1999), algunas ya descritas en los apartados anteriores. A continuación, se describen algunas adaptaciones fisiológicas al exceso de luz y salinidad.

2.2.6.4.1 Adaptaciones fisiológicas al exceso de luz:

Las plantas han desarrollado mecanismos para evitar efectos dañinos de la luz excesiva, desarrollando varios mecanismos que les permiten lograr el uso eficiente y seguro de la luz y al mismo tiempo proteger los tejidos fotosintéticos de los daños que puede ocasionarle el exceso de luz (Demmig-Adams 1996). Los mecanismos son 1) Evitar el exceso de luz, 2) Disipación de la energía absorbida y 3) Mecanismos antioxidantes (Esteban 2009).

a) Evitar el exceso de luz

Es por ello que la fuerte intensidad lumínica del ambiente donde se desarrollan los manglares ha provocado que adquieran una serie de características xeromórficas, tales como la disminución en la superficie foliar, pocos estomas por unidad foliar, mesófilo empalizado y cutícula más gruesa en las hojas que están más expuestas al sol (Tomlinson and Wheat 1979). Las especies de mangles son plantas con metabolismo C3, sin embargo, presentan un uso eficiente del agua y de la luz solar muy parecido a los de las C4 (Ball 1988). Una adaptación que se discutirá en detalle en el capítulo “Cristales de sal en *Avicennia germinans*”, incluye la acumulación en la epidermis de sustancias, como la sal en *Avicennia*, que reflejen o filtren la luz, cuyo resultado global es reducir la cantidad de energía que llega a los tejidos fotosintéticos.

Por otro la del desarrollo de las hojas es afectado por la luz presente en el ambiente, formándose hojas de sol o de sombra. Las hojas de sol y de sombra presentan diferente posición en el dosel, lo cual hace que el gradiente de absorción de luz entre las dos hojas difiera. (Niinemets et al. 1998). La capacidad de aclimatación de las diferentes especies de mangle a los gradientes de luz varía de una especie a otra e incluso dentro de la misma especie.

La variación en la cantidad y proporción de componentes presentes en la fotosíntesis (principalmente proteínas y pigmentos) también pueden crear desequilibrio entre la absorción y el uso de energía lumínica. Existen tres mecanismos principales que pueden reducir la energía lumínica de los centros de reacción en los fotosistemas: (i) la reducción del tamaño de las antenas, (ii) el aumento de pigmentos fotoprotectores como las antocianinas y carotenoides y (iii) reducir el contenido de clorofilas (Chl). Por otro lado, la síntesis de proteínas solubles involucradas en la fotosíntesis, la cadena de transporte de electrones fotosintéticos y los complejos pigmento-proteínas (los cuales modifican el tamaño de la antena) pueden ajustar el uso de energía en función de la radiación recibida y el nivel de estrés soportado (Murchie and Niyogi 2011).

b) Disipación del exceso de energía mediante mecanismos de fotoprotección

En los complejos antena, la energía de un fotón absorbido se trasfiere a la de la molécula de pigmento que la absorbe, quedando ésta en un estado excitado inestable, con marcada tendencia a ceder este exceso de energía denominado energía de excitación o excitón y volver al estado fundamental de energía mínima. La desexcitación se efectúa por tres rutas: a) pérdida de energía como calor, b) como transferencia de energía a otras moléculas suficientemente cercanas y c) liberación de energía radiante como fotón visible de menor energía (fluorescencia) que el que causó la formación del estado excitado (Maxwell & Johnson 2000; Strasser et al. 2000; Brack and Frank 1998; Appenroth et al. 2001).

A continuación, se explicará el mecanismo de fluorescencia de la clorofila:

La fluorescencia de la clorofila está considerada una herramienta útil para distinguir los efectos estomáticos y no estomáticos en la limitación de la fotosíntesis (Maxwell and Johnson 2000). La fluorescencia de la clorofila es una medida no destructiva, de fácil manejo y rápida respuesta. Esta técnica suministra información acerca de, su organización y sobre diversas reacciones de transferencias de electrones específicas del fotosistema II (PSII). La medición de la fluorescencia de la clorofila puede ser un método para la valoración de la tolerancia de las plantas a condiciones medioambientales propias del medio o bien inducidas. La emisión de fluorescencia ocurre en la región roja del espectro (680-800 nm) debido a la fluorescencia de la clorofila. Kaustky et al (1960) encontraron un incremento de rendimiento de la fluorescencia de la clorofila (en un periodo de 0.5-2 s) (Fig. 17) al momento de transferir el material fotosintético de oscuridad a luz.

Este aumento se debe a una reducción de aceptores de electrones en la vía fotosintética de PSII en particular Plastoquinona A (QA). Una vez que QA ha aceptado un electrón, no es capaz de aceptar un segundo electrón hasta que haya pasado el primer electrón a Plastoquinona B. Durante este tiempo el centro de reacción es cerrado lo cual lleva a una reducción general en la eficiencia de la fotoquímica y un incremento en el rendimiento de la fluorescencia (Maxwell and Johnson 2000). Kaustky et al (1960) observaron que cuando se analiza con detalle la curva de fluorescencia de Fo a Fm tiene varios pasos que varían dependiendo en el estado redox de los componentes de la cadena de transporte de electrones fotosintéticos (PETC). A estos fragmentos de inducción de fluorescencia cinética la llamaron curva OJIP. Se consideran tres periodos en la cinética de la fluorescencia emitida por la clorofila: cinética rápida, cuando alcanza el valor máximo (Fm), expresando los resultados mediante la relación con la fluorescencia variable ($F_v = F_m - F_o$). La razón F_v/F_m es proporcional a la máxima eficiencia fotoquímica primaria de las hojas (Demmig-Adams and Adams 1992), y es una de las variables de fluorescencia más estudiada por numerosos autores (Björkman and Demming 1987) que han encontrado buenas correlaciones entre este parámetro y el estrés hídrico (Filippa et al. 1998).

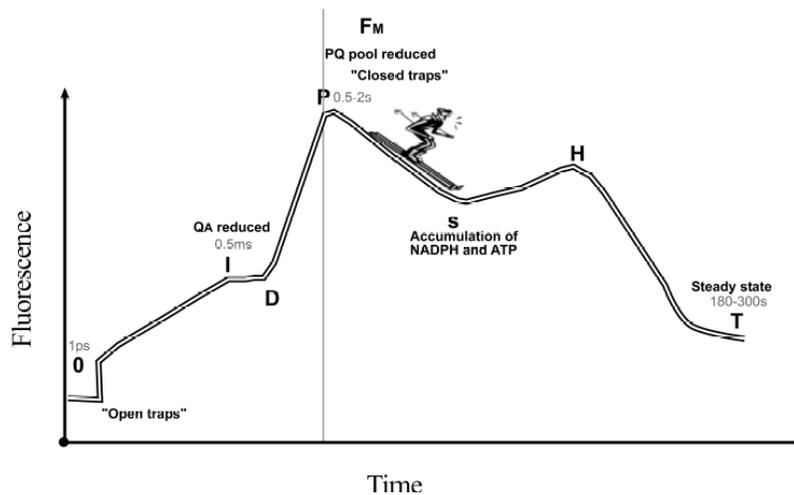


Figura 17. Efecto Kaustky de material fotosintético al pasar de oscuridad a luz, lo cual produce un aumento en el rendimiento de la fluorescencia de la clorofila en un corto período de tiempo (0.5-2.0s). (Adaptado de Esteban, 2009).

Desde el punto de vista de la emisión de la fluorescencia existen fundamentalmente dos mecanismos que compiten durante los procesos de disipación. Estos son la conversión fotoquímica de energía en los centros de reacción del fotosistema II y los mecanismos no fotoquímicos al nivel de antena y centros de reacción (Horton et al. 1996).

La disipación fotoquímica (qP) se inicia debido al aumento de electrones exportados por el PSII, a la activación de las enzimas implicadas en el metabolismo del carbono y la apertura de los estomas (Baker and Rosenqvist 2004; Flexas et al. 2002). Por tanto, qP cuantifica la capacidad fotoquímica del PSII, y corresponde a la cantidad de centros de reacción del PSII abiertos. Por su parte, la disipación no fotoquímica (qN) refleja la activación de los procesos no fotoquímicos que conducen principalmente a la disipación de energía no radiante (calor), tales como cambios en el gradiente de pH transtilacoidal, fotoinhibición por medio de la desconexión de los complejos captadores de luz, formación de zeaxantina, etc (Rohaček 2002).

En los procesos de disipación participan los carotenoides. Los carotenoides son junto con las clorofilas los pigmentos más ampliamente distribuidos en los vegetales (Emodi 1978) y están caracterizados como derivados isoprenoides (Badui 1993). Deben su nombre al β -caroteno, primer carotenoide en ser aislado de la zanahoria (*Daucus carota*). Se han dividido en dos grandes grupos de acuerdo con la estructura química: carotenoides y xantofilas. Los primeros tienen características de hidrocarburos, son solubles en éter de petróleo, tetrahidrofurano y entre ellos están α -caroteno, β -caroteno, γ -caroteno y licopeno.

Por su parte, las xantofilas son la forma oxidada de los carotenoides y se presentan como aldehídos, ácidos, ésteres y alcoholes, son solubles en metanol y algunos ejemplos son β -criptoxantina, β -apo-8-carotenal, anteraxantina (A), luteína (L), violaxantina (V), neoxantina (N), zeaxantina (Z), etc. (Bauernfeind 1981).

Los carotenoides actúan como pigmentos antena en la captación de la energía solar en todos los tejidos que llevan a cabo el proceso de fotosíntesis y en ausencia de ellos se destruye el aparato fotosintético por fotooxidación, ya que los carotenoides tienen un efecto fotoprotector por su habilidad de inactivar oxígeno reactivo formado por exposición al aire y la luz. Además, algunos carotenoides están presentes en raíces y hojas y sirven como precursores del ácido abscísico el cual funciona como mensajero químico y regulador del crecimiento (Von Elbe and Schwartz 1996).

Las xantofilas, fundamentalmente conocidas por el ciclo VAZ (V+A+Z), juegan un papel fundamental al regular con gran precisión la eficiencia de la transformación de luz lumínica a química, respondiendo bien a las variaciones en las condiciones ambientales. (Demmig-Adams and Adams, 1992).

Thayer and Björkman (1990) indican que el contenido de pigmentos VAZ, expresado por clorofila, es relativamente estable en distintas especies que se desarrollaron en idénticas condiciones luminosas, pero varía en especies que crecen en diferentes ambientes luminosos, encontrándose valores de VAZ superiores en hojas expuestas al sol que hojas de sombra de la misma especie.

El ciclo de las xantofilas está ampliamente distribuido en la naturaleza y se localiza en las membranas tilacoidales de plantas superiores y algas. Existen dos variantes del ciclo: el de la violaxantina (o ciclo VAZ) que es el más común y se da en las plantas superiores, y el ciclo de la diadinoxantina en algunos tipos de algas (Adamska 1997).

Cuando la energía absorbida por la clorofila resulta excesiva, bien por un aumento de la intensidad de radiación o porque el aparato fotosintético haya sufrido algún cambio y no esté operativo al 100 %, el pH del lumen disminuye hasta 5 (valor óptimo de la enzima violaxantina desepoxidasa), produciéndose la conversión de violaxantina en anteraxantina y posteriormente en zeaxantina (Fig. 18). Existen evidencias de que ambos pigmentos, zeaxantina y anteraxantina, actúan como intermediarios en el proceso de fotoprotección del aparato fotosintético (Verhoeven et al. 1999). Cuando las condiciones se vuelven favorables y la energía recibida no excede a la que puede ser utilizada en la fotosíntesis, la zeaxantina vuelve a convertirse en anteraxantina y violaxantina por la acción de la enzima zeaxantina oxidasa (Adams and Demmig-Adams 1994).

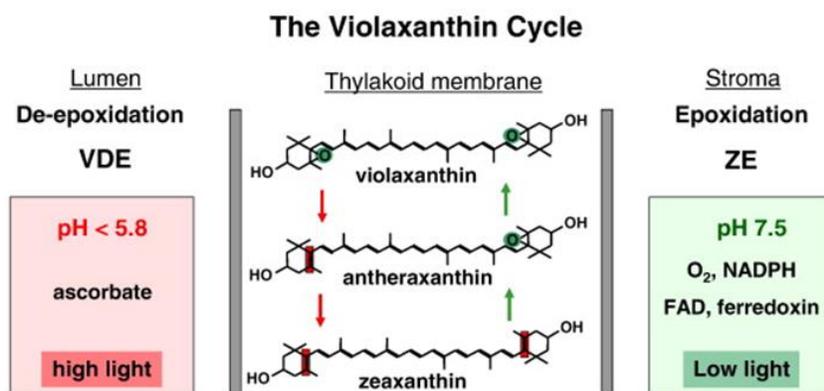


Figura 18. Interconversión de los pigmentos VAZ en condiciones de luz elevada (pH intratilacoidal bajo) y luz baja (pH intratilacoidal alto). Fuente: Peter Jahns <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2008.09.013>

c) Metabolismo antioxidante

La energía no disipada genera especies reactivas del oxígeno (ROS). Las plantas poseen un set de antioxidantes para desintoxicar directamente estas especies reactivas las cuales incluyen un mecanismo enzimático y no enzimático (Mitler 2002). Entre las moléculas antioxidantes están los tocoferoles, que son moléculas liposolubles y son de cuatro tipos α , β , γ y δ . Están presentes en gran variedad de tejidos. Los podemos encontrar en hojas, semillas, frutos, raíces, cotiledones, hipocótilos, flores y en los diferentes órganos florales y la cantidad y composición pueden variar enormemente entre unos y otros (Munné Bosh 2010). Tienen un papel importante en como antioxidante debido a que pueden desactivar química y físicamente el oxígeno singlete (Munné Bosh and Alegre 2002).

2.2.6.4.2 Adaptaciones fisiológicas a la salinidad

En un bosque de manglar a primera vista, se observa la adaptación más reconocible desarrollada por mangles para adaptarse a un medio ambiente marcado por la sucesión de las mareas, que es el sistema de enraizamiento aéreo, que está completa o parcialmente expuesto a la atmósfera, al menos una parte del día (The World Mangroves 1980-2005. 2007). Según Tomlison (1986), solamente los mangles estrictos o verdaderos han desarrollado este sistema de raíces las cuales tienen como principales funciones el intercambio gaseoso, el anclaje del árbol en el suelo fangoso y la absorción de nutrientes. Este sistema de raíces aéreas puede tener diferentes estructuras de acuerdo con la especie.

Popp (1995) ha señalado que los mangles, al estar expuestos al agua de mar, han desarrollado distintos mecanismos de resistencia o tolerancia consistentes en evitar/ regular /tolerar o acomodarse a la sal. En general, los mangles son fisiológicamente tolerantes a altos niveles de sal (Ball 1996), y en general todos los mangles excluyen sal con mayor o menor eficiencia sal a nivel de las raíces (Scholander et al 1962, 1966; Scholander 1968; Clough 1984), y la fracción absorbida se concentra en el interior del tejido de la planta variando las cantidades acumuladas de acuerdo a cada especie. Esta sal interior es necesaria en los tejidos al contribuir a disminuir el valor del potencial hídrico por debajo del que presenta el agua del mar /suelo sobre el que enraízan, haciendo así que fluya el agua desde las raíces hasta las yemas (Field 1995). En géneros como *Avicennia*, *Laguncularia* y *Rhizophora*, el fruto contiene semillas que se desarrollan precozmente, de manera que la semilla germina aún unida al árbol madre. El embrión de las

semillas se convierte en una plántula sin periodo inactivo (Gill and Tomlinson 1969). Al fenómeno que se produce cuando el embrión rompe el pericarpio y crece más allá de este alcanzando longitudes considerables, mientras permanece unido al árbol madre, se le conoce como viviparidad. Basado en el factor salinidad las especies de manglares han sido clasificadas de acuerdo con tres estrategias de tolerancia a la salinidad: (i) las que excluyen sales a nivel de las raíces, (ii) las que acumulan sales en las vacuolas, y por último (iii) las que secretan a través de las hojas mediante glándulas especializadas (Ball 1988).

2.2.6.4.2. 1 Exclusión de sal

Mecanismo que se utiliza para controlar la absorción de sal del medio salino, siendo por tanto la primera barrera para evitar la toxicidad de la sal, que consiste en excluir sus iones de la savia del xilema. Este mecanismo es efectivo en las raíces, donde el agua se absorbe al simplasto y la sal se excluye en gran medida (Rains and Epstein 1967; Scholander 1968; Werner and Stelzer 1990; Popp et al. 1993). En el caso del género *Avicennia* posee un sistema muy especializado, sus raíces en forma de estrella se anclan al suelo bajo la superficie, elevándose unos segmentos esponjosos llamados neumatóforos, los cuales permiten tomar aire de la atmosfera mientras sus raíces principales están inundadas por la marea (Prah 1989).

2.2.6.4.2.2 Extrusión de sal

La extrusión de sal ocurre a través de las glándulas salinas en hojas de *Avicennia*. (Baylis 1940; Fitzgerald et al. 1992) y posiblemente a través de las lenticelas de las hojas de *Rhizophora* (Bajjnath and Charles 1980). Las lenticelas son estructuras que facilitan el transporte de oxígeno a las raíces, contribuyendo a la recuperación y mantenimiento de la respiración aeróbica en plantas sometidas a inundación (Ferreira et al. 2009), además ayudan en la liberación de compuestos tóxicos (Cao and Conner 1999). Las lenticelas son hidrofóbicas, permeables al aire pero no al agua, y se abren y cierran de acuerdo al nivel de inundación presente. *Avicennia*, forma glándulas de sal de manera constitutiva, haya o no presencia de sal en el medio y es la especie más eficiente entre todas las que expulsan sal, de manera que puede crecer en condiciones altamente salinas (Joshi et al. 1975).

2.2.6.4.2.3 Almacenamiento de sal

Popp et al. (1993) and Popp (1995) no encontraron evidencia de que el movimiento interno de la sal sea regulado una vez excluida del xilema de la hoja. Algunas especies de mangles a menudo depositan sodio y cloruro en la corteza de tallos y raíces, y en hojas más viejas (Atkinson et al. 1967; Joshi et al. 1975; Clough and Attiwill 1975; Wang and Lin 1999).

El almacenamiento de sal (particularmente del ion Na) se acompaña de suculencias, para permitir la dilución de la sal acumulada, aumentando el contenido de agua por área foliar. En estudios de *Rhizophora* (Bowman 1921, Camilleri and Ribí 1983) y *Sonneratia* (Walter and Steiner 1936) indican que la suculencia es una respuesta principalmente a la presencia de Na y Cl.

Los efectos metabólicos del NaCl a nivel citoplasmático no se conocen adecuadamente. La sal puede influir potencialmente en el funcionamiento de enzimas metabólicas, y, por lo tanto, afectar procesos vitales como respiración, fotosíntesis y síntesis de proteínas (Akatsu et al. 1996).

Las adaptaciones a la anoxia, se han descrito en el apartado 2.2.6.3

3. ¿Por qué están en peligro el bosque seco y el manglar?

Algunos consideran que el bosque tropical seco de América Central es uno de los ecosistemas más amenazados de la región tropical y argumentan que merecen alta prioridad para la conservación (Janzen 1986). El deterioro que presentan actualmente las áreas boscosas tropicales como consecuencia de acciones antrópicas ha traído como resultado la fragmentación y reducción a pequeños parches o sistemas de bosques aislados (Wright and Muller-Landau 2006). La pérdida de hábitat genera una rápida desaparición de especies y por consiguiente daños irreversibles en los ecosistemas y en la estabilidad del planeta. Uno de los ecosistemas que se ha visto más afectado es el Bosque Seco Tropical, el cual se ha convertido en uno de los más amenazados, encontrándose al borde de la extinción en la mayoría de las regiones del planeta. (Janzen 1998).

En las últimas dos décadas la superficie forestal ha disminuido en América Central y América del Sur debido a la deforestación causada por la conversión de tierras forestales a la agricultura y la urbanización; siendo América Central la región que registró la mayor pérdida de área de bosque, pasando de las 25717 hectáreas en 1990 a 19499 hectáreas en el 2010.

Los bosques de manglar son uno de los ecosistemas más productivos del mundo y generan gran productividad que exportan hacia los ecosistemas vecinos como los pastos marinos y los arrecifes de coral (Kathiresan and Bingham 2001; Krumholz and Jadot 2009; Valle et al. 2011). No obstante, estos bosques son uno de los más amenazados por el intenso aprovechamiento de su madera, la explotación minera y las construcciones con fines turísticos (Álvarez-León 2003).

Capítulo II.

OBJETIVOS

1. Objetivo general

Este trabajo empezó en 2011, enmarcado en el proyecto de cooperación financiado por la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID). Un puntal importante de este proyecto fue promover el desarrollo y fortalecimiento del Departamento de Biología Vegetal de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León (UNAN-León), tanto desde un punto de vista académico como investigador, con el objetivo que ésta se convirtiese en institución de referencia en la conservación de los manglares. Además, una de las líneas estratégicas de este proyecto fue promover el desarrollo de docencia de postgrado. Por lo que, dentro del proyecto se financió y apoyó académicamente la realización de una tesis doctoral de la masteranda Claudia María Dolmus Bustillo, actual autora de la presente tesis doctoral, en el Dpto. Biología Vegetal y Ecología de la Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU). Esto se realizó con el propósito promover la formación de personal en Biología Vegetal con un acervo de conocimientos de Ecofisiología, lo cual podría ser aplicado a un fomento de la mejora en la conservación de los ecosistemas tropicales nicaragüenses. Los participantes de este proyecto fueron profesorado e personal investigador de la UNAN-León, junto con el personal docente e investigador de tres universidades españolas: la Universidad de Sevilla (US), Universidad de la Laguna (ULL) y Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Pero también se implicaron estudiantes de la US, UNAN-León, jóvenes comunitarios de las Peñitas y Salinas Grandes, y otros colaboradores con perfiles diversos.

Además, de lo anterior, Nicaragua es una zona experimental ideal, ya que presenta clima tropical seco (precipitaciones promedio anuales comprendidas entre 750-6000 mm en los distintos ecosistemas y alta radiación) y la Reserva Isla de Juan Venado (RJV) es un ecosistema único, diverso y frágil. Es una zona frágil por los fenómenos naturales como huracanes y por la degradación y pérdida de los recursos por la falta de conocimiento y uso irracional de los recursos al ser la fuente de sobrevivencia de los pobladores aledaños.

Dentro de las formaciones vegetales se encuentran los bosques secos y el manglar, con especies que han desarrollado adaptaciones fisiológicas para enfrentar el estrés ambiental ocasionado por las condiciones climáticas. Es por ello que el objetivo principal de este trabajo es **entender los mecanismos fisiológicos de adaptación de las especies leñosas del bosque tropical seco de Nicaragua y manglar a los estreses ambientales,**

Capítulo II

en particular al exceso de luz, temperatura y la salinidad. Esto podría ayudar en el futuro a diseñar planes de gestión adecuada a estos recursos para su protección y usos sostenible de las especies presentes.

2. Objetivos específicos

El objetivo central del estudio (indicado en el apartado 1) se desarrolló a través de los siguientes objetivos específicos que corresponden a cada capítulo (indicado entre paréntesis).

2.1. Objetivo 1 (capítulo IV)

El bosque seco tiene una gran diversidad de especies vegetales, desde especies ornamentales hasta especies de aprovechamiento forestal. Una característica común es que todas tienen mecanismos para adaptarse a los ambientes con poca disponibilidad de agua dulce y gran irradiación, marcada esta disponibilidad por la estacionalidad del clima tropical seco (estación seca y estación húmeda). Por lo que, el objetivo que nos planteamos es determinar e indagar en las adaptaciones fotoprotectoras de las especies arbóreas del bosque seco, tanto en la estación seca como en la lluviosa. Se hipotetiza que existe una diferencia significativa en la activación de los mecanismos fotoprotectores asociado a la estacionalidad y además, que existirán diferencias en las rasgos funcionales de las hojas de sol y sombra de estas especies, asociado a la gran irradiación solar de este ecosistema,

2.2. Objetivo 2 (capítulo V)

Las especies de mangle se distribuyen conforme al gradiente de salinidad del suelo en la RJV. Sin embargo, la salinidad es un factor variable a lo largo de la época del año, debido a la presencia o ausencia de precipitaciones (marcado por la estacionalidad). Por lo que nos proponemos el objetivo de describir la respuesta fotoprotectora en relación a la salinidad de las especies de los mangles de la RJV en la estación seca y lluviosa. La hipótesis planteada para este capítulo es la respuesta a la salinidad es dependiente de la especie y la estacionalidad.

2.3. Objetivo 3 (capítulo VI)

Las tres especies del género *Rhizophora* (*R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa*) presentan en principio características fenotípicas similares, las cuales hacen difícil su separación como especie a nivel fenotípico. Por lo que el objetivo propuesto es testar los rasgos funcionales

óptimos para diferenciar morfofisiológicamente las tres especies del género *Rhizophora*. Se hipotetiza que existan marcadores bioquímicos para la diferenciación de las especies.

2.4. Objetivo 4 (Capítulo VII)

Avicennia germinans es una especie del manglar que logra desarrollarse en ambientes con altas concentraciones de salinidad gracias a que sus hojas excretan la sal que no ha sido excluida por las raíces. El objetivo de este capítulo es evaluar si la formación de cristales de sal en la superficie de la hoja del mangle negro (*Avicennia germinans* L.) puede representar un mecanismo fotoprotector dinámico a la alta irradiancia del ecosistema. Se hipotetiza que la sal en el haz de la hoja de *A. germinans* tiene una función fotoprotectora.

Capítulo III.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de estudio

El estudio de la presente tesis doctoral se llevó a cabo en la zona Pacífica de Nicaragua, en dos ecosistemas diferentes, el bosque seco y el manglar (ver detalles en la Introducción y en los capítulos correspondientes). Las muestras utilizadas del manglar se obtuvieron en la Reserva Natural Isla Juan Venado, (IJV) ($12^{\circ}22'N$, $87^{\circ}01'W$), que ocupa una barrera arenosa de noreste a suroeste paralela al litoral del Pacífico en la ubicación costera del Municipio de León. Esta reserva mide unos 22 Km, de longitud y un ancho entre 30 m, en la parte más angosta y 1000-1250 m en la parte más ancha (MARENA 2002). Con una estación seca que abarca los meses de noviembre a abril y una estación lluviosa que va desde mayo a octubre (ver Figura 6 en la introducción). En la isla podemos encontrar diferentes ecosistemas, bosque de manglar, bosque seco y áreas abiertas con pastizales. Esta reserva es considerada como refugio para aves migratorias, especies silvestres amenazadas y en peligro de extinción. Representa grandes posibilidades de desarrollo por las diferentes actividades económicas (turismo, pesca, explotación maderera...) que realiza la población local. Además, cuenta con sitios escénicos, considerados como potencial ecoturístico. Todo esto ha llevado a que la reserva sea una zona altamente intervenida por las actividades de la población, pero pocos estudios ecofisiológicos se han realizado en la zona.

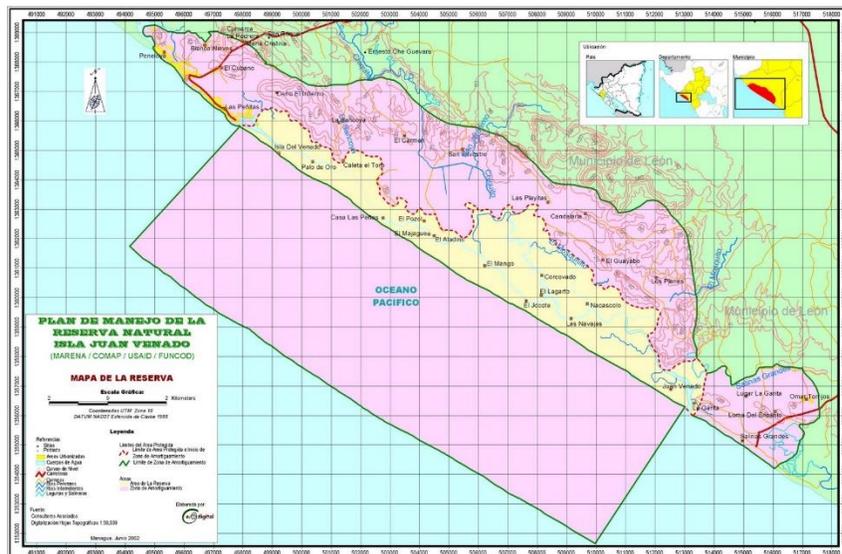


Figura 1. Mapa de la Reserva Isla Juan Venado, Nicaragua, representado entre las dos zonas de color rosa. Fuente: <http://rnislajuanvenado.blogspot.com>

2. Material vegetal y procedimiento de recolección de muestras

Las muestras recolectadas del bosque de mangle fueron de diferentes especies arbóreas de los géneros *Rhizophora*, *Avicennia*, *Laguncularia*, y *Corocarpus* (Tabla 1). En concreto, se utilizaron muestras de hojas para todas las especies arbóreas del manglar, propágulos y plántulas para las especies de *Rhizophora mangle*, *Avicennia germinans* y *Laguncularia racemosa* (Tabla 1).

En el bosque seco se recolectaron especies arbóreas de los géneros *Andira*, *Annona*, *Cahycophyllum*, *Cassia*, *Cordia*, *Dalbergia*, *Diphysa*, *Gliricidia*, *Guazuma*, *Haematoxylum*, *Hymenaea*, *Pithecellobium*, *Prosopis*, *Pterocarpus*, *Pterocarpus*, *Simarouba* y *Swietenia* (Tabla 1). Se utilizaron muestras vegetales provenientes de hojas, tomando el criterio de la posición del sol (el tránsito solar en la estación seca está ubicado al norte y en la lluviosa al sur, este fenómeno se debe a los solsticios de junio y diciembre). De manera, que se muestrearon hojas de sol (estación seca con orientación norte y estación lluviosa orientación sur) y hojas de sombra (estación seca posición sur y estación lluviosa posición norte).

De las hojas, se tomaron discos para llevar a cabo el análisis bioquímico. Se recogieron y almacenaron en silica gel tal y como se describe en Esteban et al. (2009). Este método alternativo es adecuado para la conservación de pigmentos fotosintéticos y tocoferoles de lugares remotos, tales como IJV, donde el nitrógeno líquido no está disponible. Este método proporciona resultados confiables, sin embargo, posee la limitación de que el índice de epoxidación no puede determinarse en muestras, ya que existe una formación residual de zeaxantina durante el proceso de conservación (para más información, ver Esteban et al. 2009). Es por ello, que no se tendrá en cuenta el índice de epoxidación, pero sí los contenidos totales de violaxantina+anteraxantina+zeaxantina. Las muestras fueron transportadas al laboratorio analítico (Dpto. Biología Vegetal y Ecología, UPV/EHU, Leioa, Bizkaia), donde se congelaron en nitrógeno líquido y se conservaron en un congelador a -80 °C hasta su análisis.

Tabla 1. Resumen de las principales especies muestreadas en la presente tesis doctoral. Ver detalles en los capítulos

Ecosistema	Especies	Órgano	Estación	Capítulo
Manglar	<i>Avicennia germinans</i> L	Hojas, Raíces Propágulos	Seca y lluviosa	V, VII
Manglar	<i>Avicennia bicolor</i>	Hojas	Seca	V
Manglar	<i>Conocarpus erectus</i> L.	Hojas	Seca	V
Manglar	<i>Laguncularia racemosa</i> L. C.F. Gaerth	Hojas, Raíces Propágulos	Seca y lluviosa	V
Manglar	<i>Rhizophora mangle</i> L	Hojas y Propágulos	Seca y lluviosa	V, VII
Manglar	<i>Rhizophora barrisonii</i> Leechman	Hojas	Seca	V, VI
Manglar	<i>Rhizophora racemosa</i> (Hochr.) Salvoza	Hojas	Seca	V, VI
Bosque seco	<i>Andira inermis</i> W. Wright	Hojas	Seca	IV
Bosque seco	<i>Annona glabra</i> L	Hojas	Seca y lluviosa	IV
Bosque seco	<i>Calycophyllum candidissimum</i> (Vahl) DC	Hojas	Seca y lluviosa	IV
Bosque seco	<i>Cassia fistula</i> L	Hojas	Seca y lluviosa	IV
Bosque seco	<i>Cordia dentata</i> Poiret	Hojas	Seca y lluviosa	IV
Bosque seco	<i>Dalbergia</i> sp	Hojas	Seca	IV
Bosque seco	<i>Diphysa americana</i> (Mill.)	Hojas	Seca	IV
Bosque seco	<i>Gliricidia sepium</i> (Jacq.)	Hojas	Seca y lluviosa	IV
Bosque seco	<i>Guaçuma ulmifolia</i> Lam	Hojas	Seca y lluviosa	IV
Bosque seco	<i>Haematoxylum brasiletto</i> H. Karst	Hojas	Seca	IV
Bosque seco	<i>Hymenaea courbaril</i> L	Hojas	Seca y lluviosa	IV
Bosque seco	<i>Pithecellobium oblongum</i> Benth	Hojas	Seca	IV
Bosque seco	<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC	Hojas	Seca	IV
Bosque seco	<i>Pterocarpus robrüi</i> Vah	Hojas	Seca	IV
Bosque seco	<i>Simarouba amara</i> Aubl	Hojas	Seca y lluviosa	IV
Bosque seco	<i>Swietenia humilis</i> Zucc	Hojas	Seca y lluviosa	IV

3. Especies muestreadas y sus características biológicas

A continuación, se describen con más detalle las especies utilizadas en esta tesis doctoral

3.1 Especies del manglar:

✓ ***Avicennia bicolor* Stand L**

Árbol de porte pequeño, con copa irregular, hojas son elípticas, de haz brillante y totalmente sin pelos, con presencia de sal en el envés de la hoja, con inflorescencia en panícula terminal o axilar de flores blancas y sin pelos. El fruto es una cápsula redondeada y lisa. Con distribución desde México hasta Colombia (OFI-CATIE 2003)

✓ ***Avicennia germinans* L.**

Avicennia germinans conocido como “mangle negro” suelen alcanzar alturas entre los 3 y 10 m, sus raíces son conocidas como neumatóforos, los cuales crecen con geotropismo negativo. Hojas coriáceas. Flores pequeñas de corola casi coriácea en panícula de espiga. Frutos vivíparos llegan alcanzar una longitud entre los 1.5 a 2 cm (Ronquillo 1851; Lindorf et al. 2006). Las hojas presentan glándulas de secreción salina, ubicadas en la epidermis superior e inferior de la hoja, las glándulas son las encargadas de liberar a la planta de importantes cantidades para evitar que la acumulación de sal sea perjudicial o letal para esta especie (Lindorf et al. 2006).

✓ ***Conocarpus erectus* L.**

Árbol o arbusto siempre verde con alturas de 3 a 6 metros, hojas dispuesta en espiral, inflorescencia en panículas axilares con flores verdosas, blanquecinas olorosas. Son especies muy resistente, gusta de suelos arenosos y sueltos, muy húmedos o encharcados, pueden plantarse en tierra seca, resistiendo muy bien la sequía gusta de exposiciones bien soleadas. Se distribuye desde México hasta Ecuador, Perú y Brasil; también presente en el oeste de África Tropical (www.arbolesornamentales.es).

✓ ***Laguncularia racemosa* L. C.F. Gaerth**

Laguncularia racemosa conocido como el “mangle blanco” árbol que su altura oscila entre los 3 a 11 m. Las hojas se caracterizan por la presencia de un par de glándulas en la base de la lámina, glándulas que ayudan a excretar sales (Graham 1964). Las flores aparecen en unas panículas terminales o en una espiga solitaria que emerge de la axila foliar (Chapman 1944). Existe una incidencia de viviparidad en los frutos que es menor que la de otras especies de mangle, los frutos son aplanados, con longitud de 2 cm (Rehm 1976).

✓ ***Rhizophora mangle* L.**

Árbol que oscila entre los 4 a 15 m de altura (Stevens et al. 2001). Sus hojas presentan lenticelas. La inflorescencia puede tener una ramificación y presenta de 2 a 4 flores. Frutos vivíparos con radícula que miden entre 15 a 25 cm de longitud. Especie común en pantanos costeros salobres con distribución de México hasta Ecuador por la zona del Océano Pacífico y desde Estados Unidos (Florida) hasta el sur de Brasil en el Océano Atlántico, también se encuentra en la zona costera de África.

✓ ***Rhizophora harrisonii* Leechm**

Árbol que alcanza hasta 20 m de altura. Hojas con presencia de lenticelas. A diferencia de *R. mangle*, *R. harrisonii* presenta inflorescencia entre 2 a 5 ramificaciones. Frutos vivíparos con radícula que pueden medir entre los 11 a 25 cm de longitud. Especie rara del Pacífico, se encuentra en Nicaragua hasta Ecuador en el Pacífico y desde el Caribe hasta las Guayanas. (Stevens et al. 2001).

✓ ***Rhizophora racemosa* (Hochr.) Salvoza**

Rhizophora racemosa no se ha diferenciado claramente de *R. harrisonii*, pero se caracteriza por ser árboles con alturas de 16 a 22 m, hojas con presencia de lenticelas, inflorescencia con más de 5 ramificaciones frutos con radículas de unos 25 a 65 cm de longitud. Es una especie que la encontramos tierra adentro en los litorales de del Pacífico de Nicaragua y Ecuador y desde el Caribe hasta Brasil (Maranhão) (Stevens et al. 2001).

A las tres especies del género *Rhizophora* se les denominan “Mangle Rojo”

A continuación en la Tabla 2 se detallan las adaptaciones que presentan las especies del manglar antes descritas

Tabla 2. Adaptaciones de raíces, excreción de sal y viviparidad de especies al entorno del manglar.

Especie	Raíz fúlcrea ⁽¹⁾	Neumatóforos ⁽²⁾	Lenticelas ⁽³⁾	Excreción de sal ⁽⁴⁾	Viviparidad ⁽⁵⁾
<i>Rhizophora mangle</i>	+++		+++	+	+++
<i>Rhizophora harrisonii</i>	++		++	+	+++
<i>Rhizophora racemosa</i>	+		+	+	+++
<i>Laguncularia racemosa</i>		++	+	++	++
<i>Avicennia germinans</i>		+++	+	+++	++
<i>Avicennia bicolor</i>		++	+	+++	++
<i>Conocarpus erectus</i>				++	

- (1) Raíz aérea que ayuda a la estabilización es sustratos fangosos, presente en las especies de *Rhizophora*, con mayor presencia (+++) en *R. mangle* por desarrollarse a la orilla del estero, en las otras dos especies hay menor presencia.
- (2) Raíces con geotropismo negativo, para evitar anoxia por las inundaciones de marea alta en el manglar. *A. germinans* (+++) presenta mayor presencia de neumatóforos.
- (3) Estructura que permiten el intercambio gaseoso en inundaciones, estas se encuentran exclusivamente en raíces (+) para algunas especies y en otras en raíces y hojas (++) , en mayor presencia en raíces y hojas en *R. mangle* (+++) por estar en mayor contacto con agua salada.
- (4) Poseen diferentes mecanismos para excreción de sal, *A. germinans* excreta cristales de sal por el haz de la hoja y *A. bicolor* por el envés, son las especies con mejor mecanismo de excreción (+++). *Laguncularia racemosa* igual que *Conocarpus erectus* poseen glándulas en sus hojas para excretar sal (++) . Las del género *Rhizophora* excretan a través de las lenticelas (+).
- (5) Semillas que germinan aun estando en el árbol madre, *Rhizophora* (+++) por ser las que estrictamente germinan aun en el árbol madre, *Avicennia* y *Laguncularia* (++) pueden o no germinar en el árbol madre.

3.2. Especies del bosque seco:

✓ *Andira inermis* (W. Wright) Kunth ex DC

Especie de la familia **Fabaceae**. Árboles medianos a grandes, hasta 30 m de alto, hojas imparipinnadas, inflorescencias panículas terminales de racimos densamente agrupados, flores morado oscuro, frutos drupáceos e indehiscente. Especie común en bosques secos y bosques de galería, también cultivada como árbol ornamental, en todo el país; con distribución subtropicos de América y el oeste de África (Tropicos.org).

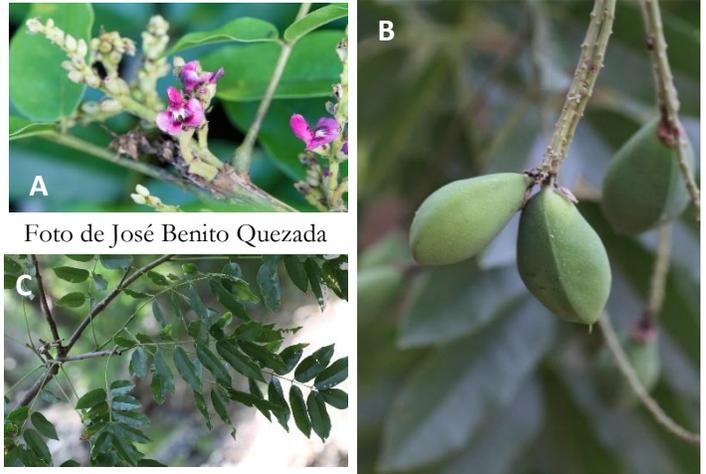


Foto de José Benito Quezada

Fotos de Indiana Coronado

Figura 2. *A. inermis*. Flores (A), Frutos (B) y Hojas (C)

✓ *Annona glabra* L



Fotos de Xavier Cornejo.

Figura 3. *A. glabra*. Flor y Hojas (A). Fruto (B)

Especie de la familia **Annonaceae**, es un árbol o arbusto con altura de 2 a 5 metros, con hojas simple, flores solitarias, fruto verde verde-brillante (Martinez and Fonseca 2017). Crece cerca del mar, en áreas temporal o permanentemente inundadas con agua salobre o salina. Esta especie muestra varias adaptaciones morfológicas como son el hábito de crecimiento con un

tronco hinchado o contrafuertes (Standley 1920). Se distribuye del sur de Florida (Estados Unidos), Centro América, Sur América, las Antillas y costa oeste de África (Martínez and Fonseca 2017).

✓ *Calycophyllum*

candidissimum (Vahl) DC.

Especie de la familia **Rubiaceae**. Alcanza alturas de hasta 30 m, más comúnmente de 15-20 m, hojas simples, flores en panículas terminales fragantes, con frutos en forma de cápsula. Forma parte del dosel superior del bosque seco tropical. Se adapta a una gran variedad de suelos. Es una planta melífera, se encuentra desde el sur de México, América Central y las Antillas hasta Colombia y Venezuela. Árbol nacional de Nicaragua (MARENA 1994).



Foto de Neptalí

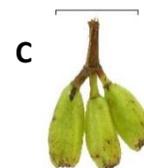


Foto de Manuel Viquez. www.elmundoforestal.com Foto de Steven Paton

Figura 5. *C. candidissimum*. Árbol joven (A), Inflorescencia (B) y Fruto (C)

✓ *Cassia fistula* L.

Originario de la India, distribuido y cultivado en América Central y las zonas costeras de las Antillas que pertenece a la familia **Fabaceae** (Gillman and Watson 1993). Es un árbol pequeño de hasta 5 m de altura. Las flores son de color amarillo intenso y sus frutos son vainas negras, alargadas, delgadas y cilíndricas (Sánchez and Cascante 2008). Abejas y abejorros se alimentan de su néctar y polen, y son utilizados como plantas ornamentales y por sus efectos laxantes (CONABIO).



Foto de www.spanishlibaba.com



Foto de www.etsy.com

Figura 6. *C. fistula*. Árbol joven (A), Inflorescencia (B) y Frutos (C)

Foto de www.ebay.com

✓ *Cordia dentata* Poiret

De la familia **Boraginaceae**, árbol pequeño, 2-10 m de altura, hojas simples, inflorescencias paniculadas con flores que producen néctar, frutos ovoides, apeticidos por aves, monos, murciélagos e iguana. Es característica de bosque seco, principalmente en áreas perturbadas como las orillas de caminos y carreteras. Ocasionalmente también se encuentra a las orillas de manglares o en terrenos temporalmente inundados. Se encuentra en zonas secas de México hasta Panamá, las Antillas, Colombia y Venezuela (OFI-CATIE 2003).



Tomado de www.toptropicals.com

Figura 7. *C. dentata*. Inflorescencia(A), Frutos (B) y Hojas (C)



✓ *Dalbergia retusa* Hemsl.

Genero de la familia **Fabaceae**. Árboles de 20 a 25 m de altura. Hojas imparipinnadas; folíolos: muchos, alternos, inflorescencia en racimos, panículas o cimbras, flores acampanadas, con frutos elípticos, oblongos, orbiculares. La madera es comercialmente importante (Tropicos.org).



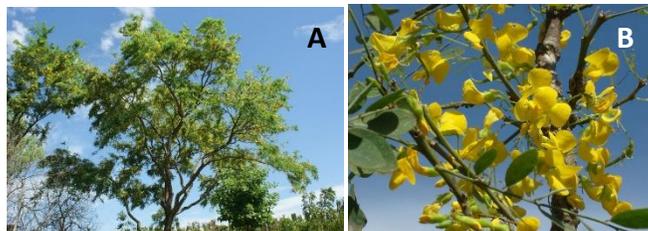
Fotos de Laurencio Martínez

Foto de APENAF

Figura 8. *Dalbergia retusa*. Árbol en floración (A), Inflorescencia (C) y Frutos (B)

✓ *Diphysa americana* (Mill.) (*D. robinoides* Benth.)

De la familia Fabaceae, árboles, 4–15 m de alto, hojas 8–14 cm de largo, inflorescencias glabras con flores amarillas, frutos en legumbres. Poco común, en pedregales, bosques perennifolios y sabanas, zonas pacífica y atlántica; distribución desde México a Panamá (Tropicos.org).



Fotos de José Benito Quezada



Foto de O.M. Montiel

Figura 9. *D. robinoides*. Árbol (A). Inflorescencia (B)

✓ *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp

Especie de la familia **Fabaceae**, puede ser un árbol o arbusto caducifolio, de 2 a 15 m, flores rosadas, fruto en vaina dehiscente. Se extiende naturalmente desde el sur de México, por toda América Central hasta Colombia, Venezuela y las Guayanas. Su capacidad de adaptación le ha llevado a ocupar dunas costeras ligeramente salinas, bancos ribereños, planicies inundables, faldas de montañas, barrancos, áreas perturbadas, terrenos abiertos y terrenos inestables de las orillas de los ríos (CONABIO).



Imágenes de CONAFOR. www.cnf.gob.mx

Figura 10. *G. sepium*. Inflorescencia (A), Hojas (B) y Frutos (C)

✓ *Guazuma ulmifolia* Lam

Especie de la familia **Malvaceae**. Árbol de porte pequeño a mediano, que puede alcanzar hasta 15 m de altura, Sus flores pequeñas y amarillas, se agrupan en panículas en la base de las hojas. Frutos son cápsulas verrugosas (SILVOENERGIA 1986). Originaria de América tropical. Se extiende desde México hasta América del sur (noroeste de Argentina, Ecuador, Perú, Paraguay, Bolivia, Brasil) y en el Caribe (Batis et al. 1999; Salazar 1991). Se establece en suelos de origen volcánico, lateríticos; desde textura liviana hasta pesada (Batis et al. 1999). Tolera suelos poco profundos, compactos y arcillosos; no tolera la salinidad (Von et al 1991).



Foto de Tarciso Leão



Foto de Mauricio Mercadante

Figura 11. *G. ulmifolia*. Inflorescencia y Hojas(A) y Frutos maduros (B)



Foto de Steven Mlodinow



www.cnf.gob.mx

www.acguanacaste.com

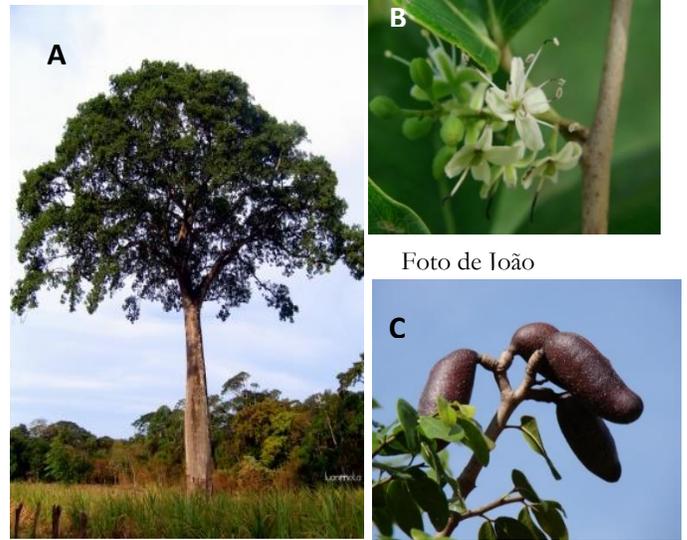
✓ *Haematoxylum brasiletto* H. Karst.

De la familia **Fabaceae**, es un árbol o arbusto de 2-12 m de alto, ramas con espinas y hojas paripinnadas inflorescencias en racimos axilares con pocas flores, fruto una legumbre (Stevens et al. 2001). Se encuentra en terrenos abiertos de suelos someros y pedregosos, en cañadas de suelos profundos (Olivares et al. 2011). Se distribuye de México a Costa Rica, Colombia y Venezuela, también en Haití.

Figura 12. *H. brasiletto*. Flores(A), Frutos (B) y Hojas (C)

✓ *Hymenaea courbaril* L.

De la familia **Fabaceae**. Los árboles pueden alcanzar los 40 metros de altura, los frutos son tipo legumbre, semillas con mesocarpo comestible (Barón and Morales 2005). Se cultiva en los países de la cuenca Mediterránea, en suelos poco aptos para otros (Tous and Batlle 1990). Se encuentra desde el sur de México hasta el Amazonas puede crecer en suelos ácidos muy pobres, soporta hasta cuatro meses de sequía (Ramos et al. 2002).



Fotos de Mauroguanandi (A)

Figura 13. *H. courbaril*. Árbol adulto (A), Flores (B) y Frutos maduros (C)

✓ *Pithecellobium oblongum* Benth.

(*Pithecellobium unguis-cati* L. Benth.)

De la familia **Fabaceae**, Arbustos o árboles hasta 6 m de alto, hojas pinnadas, inflorescencia de panículas de espiga, fruto enrollado, constricto entre las semillas, dehiscente en ambos lados con exocarpo y endocarpo rojizo. Común en bosques de galería, manglares, bosques secos, zona pacífica y se distribuye sureste de México al norte de Colombia. (Tropicos.org).



Foto de Chuck Sexton



Foto de Dra Mary Gillham

Figura 14. *P. oblongum*. Flores (A) y Frutos (B)

✓ *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. var. *Juliflora*

De la familia **Fabaceae**. Arbustos a árboles, 3–7 m de alto, hojas bipinnadas, inflorescencias axilares, en racimos cilíndricos con flores amarillo-verdosa, fruto un lomento drupáceo. Común en dunas, manglares, matorrales espinosos, bosques caducifolios, márgenes de ríos, zona pacífica. Con distribución desde el sur de los Estados Unidos hasta la Patagonia (Tropicos.org.)



Foto de Don Perucho

Figura 15. *P. juliflora*, donde se puede apreciar flores, hojas y frutos.

✓ *Pterocarpus rohrii* Vah

Plantas hasta 30 m de alto, especie de la familia **Fabaceae**, folíolos 5–12, ovados u oblongos inflorescencias racemosas, comúnmente más largas que las hojas más altas, con frutos ovalados, hasta 9.5 cm de diámetro. Común, bosques secos y bosques de galería, en toda Nicaragua. Con distribución desde México hasta Brasil. (Tropicos.org.)



Foto de Mauricio Mercadante



Foto de O. M. Montiel

Figura 16. *P. rohrii*. Inflorescencia (A) y Frutos con hojas(B)

✓ *Simarouba amara* Aubl.

Pertenece a la familia **Simaroubaceae**. Árbol que llega a medir entre los 15 y 25 metros de altura, especie resinosa, inflorescencia paniculada con flores verdes o amarillas, hojas discoloras muy brillantes en el haz (Quesada et al 1997). El fruto maduro parece una aceituna de color morado a negro y es muy apetecido por las aves (Flores and Obando 2003). Nativa de Belice a Brasil y en las Antillas.



Foto de Rafael Ocampo & L. Germosén-Robineau

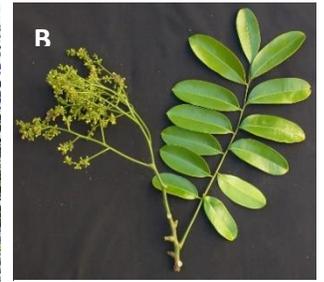


Foto de <https://biogeodb.stri.si.e>



Foto de Mauricio Mercadante

Figura 17. *S. amara*. Árbol joven (A), Inflorescencia (B) y Frutos (C)

✓ *Swietenia humilis* Zucc

Especie de la familia Meliaceae. Árbol de tamaño mediano a grande que alcanza alturas entre 25 y 40 m, flores amarillas en panícula terminal, frutos en capsulas grandes dehiscentes. Crece mejor en suelos profundos, ricos en materia orgánica y bien drenada. Planta melífera. Posee cualidades y características que le dan el calificativo de madera preciosa. Está considerada como una especie en vía de extinción Se distribuye en la zona Pacífica desde México hasta Costa Rica (MARENA / INAFOR 2002).



Foto de Ming-I Weng



Fotos (A) y (C) tomadas de Wikipedia.com

Figura 18. *S. humilis*. Árbol (A), Inflorescencia (B) y Fruto (C)

4. Medidas morfológicas y características de las especies

4.1. Definiendo las características de las especies

Definir las características morfológicas de las distintas especies ha sido necesario para realizar los diferentes ensayos que se presentan en esta tesis doctoral, entre ellos está (i) la presencia o ausencia de sales en las hojas de *Avicennia germinans*, lo cual se detalla en capítulo VII, (ii) el poder diferenciar las especies que tiene el género *Rhizophora* en la zona del Pacífico de Nicaragua, tomando en cuenta las características de altura total y raíz fúlcrea, inflorescencia y la presencia o ausencia de lenticelas, lo que se detalla en el capítulo VI. Así mismo la respuesta que tienen los propágulos y raíces en cuanto a su desarrollo en diferentes concentraciones de salinidad con las especies *A. germinans* y *L. racemosa*, este apartado está detallado en el capítulo V.

4.2. Reparto de Biomasa

Se determinó el peso fresco y peso seco de raíces, tallos y hojas de las especies *A. germinans* y *L. racemosa*, que con anterioridad fueron tratadas con diferentes concentraciones de salinidad en un periodo de 21 días. Al mismo tiempo se tomó el dato de masa foliar por área (**LMA**). Con mayor detalle en el capítulo V.

5. Medidas Ambientales

5.1. Transparencia de Dosel

El porcentaje de radiación cuantitativa de la radiación solar se realiza a través de fotografías hemisféricas mediante uso de la cámara con un objetivo ojo de pez acoplado y su análisis mediante el Software Canopy Gap Light Analyzer (GLA) Versión 2,0 (Frazer et al. 1999). Esta técnica se detalla en los capítulos IV y VII.

5.2. Salinidad del suelo

La salinidad del suelo y la influencia de las mareas que están en contacto continuo con las especies del manglar son factores determinantes para la colonización y el posterior desarrollo de las especies que se encuentran en el manglar. Para determinar los rangos de la salinidad que tiene el suelo del ecosistema del manglar se realizó tomas de muestras de suelo en transectos

desde la zona del estero a la zona interior de la isla donde comienza el bosque seco, el procedimiento se describe en detalle en el capítulo V.

5.3 Condiciones climáticas

Los datos climáticos se registraron durante un año mediante una estación meteorológica automática (Mini- Cube VV/VX16, EMS, Brno, CZ) cerca del sitio de muestreo. La densidad del flujo cuántico, precipitaciones diarias, temperatura del aire y humedad relativa) fueron monitoreados en el transcurso del año. Se describe en detalle en el capítulo VII.

5.4 Medidas de reflectancia

El índice de reflectancia fotoquímica de la hoja (PRI) fue medido en el campo en el curso del día hasta el mediodía en la estación seca (noviembre 2008) con un PRI-meter (PlantPen PRI 200, PSI, Brno, Czech) en hojas de *Avicennia germinans* y en especies de *Rhizophora mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa* siguiendo el protocolo descrito en Esteban (2008). Ver capítulos VII y VI respectivamente. Por otro lado, muestras de hojas de *Avicennia germinans* fueron colectadas en el campo en la estación seca y la reflectancia foliar se midió en el laboratorio antes y después de la eliminación de la sal. La reflectancia foliar, fue medido con un espectroradiómetro (UNISPEC™, FieldSpec UV/NIR portable spectral system, PP Systems, Amesbury, USA). Con más detalle capítulo VII.

6. Fluorescencia de la clorofila *a*

Se realizaron tres métodos diferentes de fluorescencia, eficiencia fotoquímica (Fv/Fm) mediante mediciones puntuales, Fv/Fm mediante fluorímetro de imagen y por lo tanto mediciones globales, y medición de inducción de la fluorescencia. A continuación, se describe:

6.1. Medidas puntuales de Fv/Fm

Se realizó para las especies de *R. mangle* y *R. harrisonii* en el capítulo VI. Las hojas se recolectaron siempre en el segundo verticilo de cada rama para asegurarse de que se trataba de hojas completamente desarrolladas y maduras. Los datos de Fv/Fm a lo largo de la hoja se obtuvieron con un fluorímetro PSI Modelo Flourpen FP 100 (Photon System Instrument, Brno, Republica Checa) tras someter a las hojas a un periodo de oscuridad (mínimo de 2h). Así se

obtuvo una completa relajación u oxidación de los centros de reacción para determinar la fluorescencia basal (F_0).

Después fue aplicado un pulso de saturación de $3000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para determinar la máxima fluorescencia (F_m). La máxima eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) fue estimado por el ratio $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$ según Genty et al. (1989). Más detalles en el Capítulo VI.

6.2. Mediciones de inducción de la fluorescencia de la clorofila *a*

Fue determinada con un fluorímetro portátil de clorofila (Fluorpen FP100, PSI, Brno, Czech Republic) en hojas sometidas a oscuridad. La transición de la clorofila fue inducida por una luz saturante de $3000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y la fluorescencia se registró cada 2 s a una frecuencia de 10 μs , 100 μs , 1 ms y 10 ms por intervalos de tiempo de 10–600 μs , 0.6–14 ms, 14–100 ms y 0.1–2s, respectivamente. Los valores de fluorescencia 0 μs (F_0 , step 0), 100 μs (F_{100}), 300 μs (F_{300}), 2 ms (step J), 30 ms (step I) y máxima (F_m , step P) fueron tomados en consideración. Los puntos cardinales de las curvas OJIP y los parámetros derivados fueron calculados con el software flourpen 2.0, basado en las fórmulas derivadas de Strasser et al. (2000, 2004) el resultado obtenido se representa en un gráfico de red de araña junto con otros caracteres fisiológicos. Los otros parámetros fueron fluorescencia relativa a 2 ms, V_j definido como $(F_j - F_0) / (F_m - F_0)$; fluorescencia variable a 30 ms, V_i , definida como $(F_i - F_0) / (F_m - F_0)$; y $P_i\text{-Abs}$, el cual es el índice de rendimiento (potencial) para la conservación de energía de los fotones absorbidos por el PSII para la reducción de los aceptores de los electrones intersistemas: $P_i\text{-Abs} = [RC/ABS][TR_0 / (ABS - TR_0)] [ET_0 / (TR_0 - ET_0)]$. El índice de rendimiento se obtiene según los principios de la ecuación de Nernst por la reacción Red-Ox (para más detalle de este parámetro ver Strasser et al 2000, 2004). Más detalles en el Capítulo V y VII.

6.3. Fluorescencia en imágenes

Se empleó un fluorímetro de imagen FluorCam FC 1000-H (Photon System Instrument, Brno, Czech Republic) como se describe en Nedbal et al. (2000). Se capturaron imágenes de eficiencia fotoquímica antes e inmediatamente después del tratamiento con luz en los propágulos de *Rhizophora mangle*. La fluorescencia se detectó mediante una cámara acoplada con alta sensibilidad y equipada con un objetivo F 4.5–10 mm, 1: 1.6 que produjo imágenes en una escala

de 12 bits. El instrumento funciona con el paquete de software FluorCam (FluorCam 7). Se capturaron imágenes de eficiencia fotoquímica antes e inmediatamente después del tratamiento con luz en propágulos de *Rhizophora mangle* como material vegetal, se describe con detalles en el capítulo V.

7. Temperatura foliar

La temperatura de la hoja se midió al mediodía con un termopar digital K (Thandar, TH302) en el lado adaxial y abaxial de hojas con sal y sin sal. El parámetro de aumento de la temperatura de la hoja fue calculado como la diferencia de temperaturas entre el lado adaxial y el abaxial. El calentamiento directo de los termopares por la luz directa del sol podría afectar la precisión de las mediciones, por lo que el parámetro $\Delta \text{leaf } T^\circ$; solamente resulta válido para fines comparativos. Ver más detalles en el capítulo VII

8. Determinaciones analíticas: pigmentos y tocoferoles

8.1 Extracción

La extracción se realizó bien con un homogeneizador eléctrico Tissue Tearor 985370 (BioSpec, Bartlesville, EE. UU.), o bien moliendo a mano en un mortero enfriado con 1 mL de acetona (100%) con 0.5 g/L de CaCO_3 , para evitar trazas ácidas que pudieran cambiar la composición del pigmento. Las muestras se centrifugaron a 13200 rpm durante 20 minutos a 4 °C y se filtró el sobrenadante a través de un filtro de PTFE de 0.22 μm (Whatman, Maidstone, Reino Unido) también se realizó antes de la separación por HPLC. Se realizó una comparación entre ambos métodos y no se encontraron diferencias en las determinaciones de pigmento entre los métodos ($p > 0.05$).

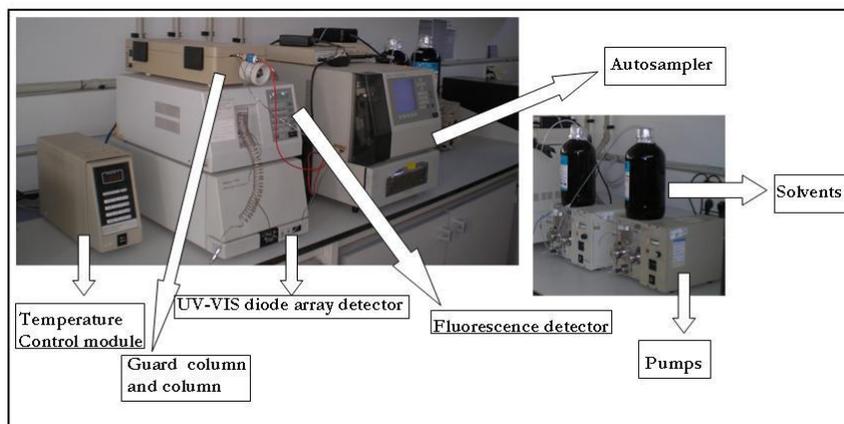


Figura. 19 Componentes del sistema HPLC empleado en la UPV/EHU. El sistema es controlado por ordenador.

8.2. Sistema cromatográfico del laboratorio de UPV/EHU

Los pigmentos fotosintéticos (carotenoides y tocoferoles) se determinaron por HPLC de fase reversa (Fig. 19) siguiendo el método descrito en García-Plazaola and Becerril (1999) con las modificaciones descritas por García-Plazaola and Becerril (2001). Este método permite la determinación simultánea de tocoferoles y pigmentos.

a. Reactivos y estándares

La acetona, el acetonitrilo, el metanol y el acetato de etilo eran de grado HPLC (Fisher Scientific International, Loughborough, Reino Unido). Los estándares de α -, γ - y δ -tocoferol se compraron en Sigma (Steinheim, Alemania). Los estándares de clorofilas (a y b) y los carotenoides se obtuvieron de VKI (Hørsholm, Dinamarca).

8.3. Procedimiento cromatográfico

El análisis cromatográfico se realizó utilizando un HPLC (Waters, Milford, EEUU.) equipado con dos bombas (Waters modelo 510), un detector de fluorescencia (Waters, modelo SFD 474) y un detector de diodos (PAD) (Waters modelo 996), que se utilizó en el rango de 270–700 nm (Fig.19). El inyector automático 717 plus está equipado con un termostato que mantiene la temperatura constante a 4 °C durante el análisis, evitando la degradación o la alteración del pigmento. El equipo está impulsado por el paquete de software Empower Pro (Waters Corporation). La cromatografía se realizó en una columna de fase inversa Spherisorb ODS-1 (tamaño de partícula de 5 μ m; 4,6 \times 250 mm) (Waters, Irlanda) precedida por una precolumna Nova-Pak C-18 (4 μ m; 3,9 \times 20 mm) (Waters, Irlanda). La fase móvil constaba de dos componentes: solvente A, acetonitrilo: metanol: tampón Tris (0.1 M pH 8) (84:2:14) y solvente B, metanol: acetato de etilo (68:32) (Polle et al. 2001). Los solventes se filtraron al vacío a través de una membrana de nailon de 0.2 μ m de tamaño de poro antes de su uso. Los pigmentos y tocoferoles se eluyeron usando un gradiente lineal de 100% de A a 100% de B durante los primeros 12 min, seguido de una elución isocrática con 100% de B durante los siguientes 6 min. Esto fue seguido por un gradiente lineal de 1 min de 100% de B a 100% de A y una elución isocrática con 100% de A durante otros 6 min para permitir que la columna se reequilibre con el solvente A antes de la siguiente inyección (Fig. 19.). El caudal de disolvente fue de 1.2 mL min⁻¹ con presiones de trabajo de alrededor de 1200 psi. El volumen de inyección fue de 15 μ L.

8.4. Detección de carotenoides y clorofilas

El eluyente fue escaneado rutinariamente por PAD en el rango de 250-700 nm. Típicamente, los picos se detectaron e integraron a 445 nm para medir el contenido de carotenoides y clorofila. Las clorofilas a y b, las xantofilas y los carotenos se identificaron y cuantificaron mediante el método descrito por García-Plazaola and Becerril (1999).

8.5. Análisis de Tocoferoles

La detección de Tocoferoles (Toc) se realizó con un detector de fluorescencia Waters 474. El método utilizado para la separación tocoferoles, la detección y cuantificación fue el mismo que en García-Plazaola and Becerril (1999, 2001).

9. Análisis estadístico

Consultar en cada capítulo la estadística que se utilizó en cada diseño experimental.

Capítulo IV.

FOTOPROTECCIÓN EN EL BOSQUE SECO

1. INTRODUCCIÓN

La luz constituye un recurso fundamental para los seres vivos autótrofos y para las plantas en particular. Por ello todos los organismos fotosintéticos han desarrollado una serie de pigmentos y estructuras (eg. centros de reacción, complejos antena) para la captura y la utilización fotoquímica de la luz (Zubik et al. 2011, Esteban et al., 2014). Sin embargo, la luz, o más exactamente el exceso de ella, produce fotoinhibición (Rohaček 2002), lo que puede generar efectos indeseables si el exceso de energía no es eficientemente disipado en forma de calor (Zubik et al. 2011). Esto es así porque cuando existe una sobreexcitación de los fotosistemas y la luz absorbida no puede ser eficientemente conducida a realizar trabajo fotoquímico (ATP, poder reductor), aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (singlete, superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo) que dañan pigmentos, proteínas y las membranas y estructuras tilacoidales en lo que se conoce como estrés fotooxidativo (Demmig-Adams and Adams 2002).

Este exceso de luz se agrava cuando las plantas están sometidas a algún tipo de estrés (eg. estacionalidad tropical) que merma su capacidad fotosintética. Es por ello que las plantas han desarrollado una serie de adaptaciones a nivel morfológico y fisiológico para optimizar su crecimiento en el medio donde se desarrollan (Demmig-Adams 1996), aclimatándose asimismo a los cambios en las condiciones lumínicas. De esta manera a nivel ecológico el rango extremo de adaptación a la luz se manifiesta en la existencia de plantas o especies (Valladares 2004) (o incluso partes del mismo individuo, explicado a continuación) de sol y de sombra. Las plantas de sol plenamente adaptadas a crecer a altas intensidades de luz suelen ser intolerantes a la sombra, no pudiéndose desarrollar bajo un dosel vegetal denso. Las plantas de sombra por el contrario lo que no toleran es crecer continuamente bajo plena luz solar (Valladares et al. 1997).

Sin embargo, la mayoría de las plantas son capaces de tolerar un rango amplio de intensidades luminosas gracias a que una misma especie, e incluso un mismo organismo, puede producir modificaciones en su morfología, fisiología y composición bioquímica, en particular en lo referido a las hojas y estructuras fotosintéticas (Nicotra et al. 1999, Beckage et al. 2000, Beckage and Clark 2003). En este sentido, como parte de lo que se conoce como plasticidad fenotípica, un individuo que crece en un ambiente desigualmente expuesto a la luz solar desarrollará hojas de sol y hojas de sombra en función de la luz recibida por las distintas partes

de la planta (en función de la orientación sur o norte, grado de sombreado según se sitúe la hoja interior/exteriormente, en la parte basal o apical...). Las diferencias se manifiestan a distintos niveles: morfológico/anatómico, fisiológico y bioquímico (Lichtenthaler et al 1981, 2007). En cuanto a las diferencias anatómicas estas se manifiestan en hojas de sol, en comparación con las de sombra, en un mayor grado de esclerofilia, cutícula más gruesa, mayor número de estomas por área, una hoja de menor tamaño (superficie) y mayor grosor (más capas de parénquima de empalizada), resultando así en una menor área foliar específica (área/peso hoja). Fisiológicamente las hojas de sol resultan más eficientes a alta luz (punto de saturación de luz mayor), menos eficientes a baja luz que las hojas de sombra. Bioquímicamente, las hojas de sol tienen menor densidad de pigmentos por m², mayor relación Clorofila a /Clorofila b (Chl a/b), y de carotenoides en general cuando se expresan en relación a la Clorofila (Chl), en particular de aquellos implicados en fotoprotección y disipación térmica como la Luteína (L), Violanxantina+Anteraxantina+Zeaxantina (VAZ) y el beta-caroteno (β -caroteno). Algunas especies muestran en sus hojas algunos pigmentos no universalmente ubicuos (Esteban and García-Plazaola 2016) y que aparecen también en hojas de sombra, como son el α -caroteno y la Luteína epóxido (Lx). La Lx muestra una gran variación entre grupos taxonómicos estando asociada su presencia al carácter leñoso y alta longevidad (Esteban et al. 2009, 2014), siendo especialmente abundante en especies tropicales o subtropicales (Matsubara et al. 2009).

En general se admite que el contenido en pigmentos de las hojas es un mecanismo adaptativo y dinámico que varía en función de la intensidad de luz recibida resultado de un compromiso entre la captura eficiente de la luz y la pérdida o disipación en forma de calor, en función siempre de la capacidad fotosintética de la hoja, para optimizar el balance entre utilización fotoquímica y disipación, minimizando así los daños oxidativos. Es importante señalar que los mecanismos que se activan ante un exceso de luz se activan igualmente ante cualquier estrés que produzca un descenso en la actividad fotosintética, incluyendo anoxia y salinidad (Esteban et al. 2015). El mecanismo fundamental de disipación térmica se produce gracias a la formación de A y Z en lo que se conoce como ciclo VAZ (Demmig-Adams and Adams 1992). Además de este ciclo de presente en todas las plantas superiores, el ciclo luteína-luteína epóxido (LxL) constituye otro ciclo no ubicuo presente fundamentalmente más abundante en plantas de sombra (Esteban et al. 2007; García-Plazaola et al 2003 and 2007). Si bien la presencia de este pigmento es bastante frecuente en el Reino Vegetal (estando presente en 120 de 266 especies

estudiadas hasta el momento (Esteban et al. 2009), su concentración entre especies varía mucho. En cualquier caso, la presencia del pigmento Lx no indica necesariamente el funcionamiento del ciclo como mecanismo liberador del exceso de energía en forma de calor (Esteban et al. 2009). Para que esto suceda una fracción de la luteína epóxido debe ser fotoconvertible en L cuando la luz resulta excesiva. La L resulta más eficiente disipando la energía en forma de calor, contribuyendo a la conversión no fotoquímica (calor) del exceso de luz. La Lx por el contrario resulta más eficiente en la captura fotoquímica de la energía. A pesar que muchas de las especies que presentan Lx tienen naturaleza tropical, como el aguacatero y las especies de la Laurisilva (Esteban et al., 2009), su presencia en las especies del bosque tropical seco de Nicaragua no ha sido estudiada en profundidad, aunque sí en otras regiones neotropicales (Matsubara et al. 2009). Por lo que se desconoce si las especies del bosque seco de Nicaragua presentan Lx, y si es así, el funcionamiento del ciclo LxL en las especies del bosque seco no ha sido investigada.

Por otra parte, los organismos que habitan en el suelo están estrechamente ligados a las comunidades vegetales y determinan en gran medida su dinámica en el ecosistema. En los últimos años se ha reconocido el importante papel que juega la comunidad edáfica microbiana a través de las interacciones con la comunidad vegetal, tanto de forma directa como indirecta. Entre los microorganismos del suelo destacan por su abundancia e importancia los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA). Una micorriza es la relación simbiótica entre un hongo formador de micorrizas y las raíces de una planta. Generalmente, la relación que se establece entre el HFMA y la planta es mutualista, de manera que se favorece un intercambio bidireccional de nutrientes y de carbono (Martínez and Pugnaire 2009). Sin embargo, variaciones en los factores ambientales externos pueden modular esta interacción pasando a ser comensalista o incluso parásita. En ecosistemas con condiciones climáticas adversas, y en particular bajo estrés hídrico estos hongos cobran especial importancia ya que mejoran el establecimiento de algunas plántulas y las ayudan a superar las condiciones de estrés, aumentando la captación de nutrientes y agua (Martínez-García 2011). En este sentido las micorrizas podrían ser un mecanismo de adaptación a situaciones de estrés. Por otra parte, según Ipsilantis and Sylvia (2007) en estudios realizados en ecosistemas de ciénaga y ecosistemas acuáticos la cantidad de hongos micorrícicos arbusculares es más elevado en periodos de inundaciones. Esto puede estar relacionado con las adaptaciones radicales de plantas del manglar que han desarrollado adaptaciones morfológicas y fisiológicas para evitar anoxia. La presencia de raíces superficiales, la elevada porosidad radical y

el desarrollo de arénquima en las raíces son algunos mecanismos para aumentar la disponibilidad del oxígeno en la rizosfera (Justin and Armstrong 1987; Callaway et al. 2007) por lo que es posible que los hongos micorrícicos arbusculares que colonizan las plantas en estos suelos, obtengan de ellas no solo carbono, sino también oxígeno (Helgason and Fitter 2009).

Por ello el objetivo principal de este capítulo es estudiar la plasticidad fenotípica de las especies del bosque seco y su relación con el medio biótico y abiótico. Para ello se establecen tres objetivos específicos:

1- Estudiar las respuestas de las hojas de sol y sombra de especies del bosque seco en la estación seca (época más estresante para las especies) y en la estación lluviosa (época menos estresante).

2- Evaluar la presencia de Lx en el bosque seco y analizar la respuesta de los pigmentos del ciclo VAZ y ciclo LxL al gradiente de iluminación en especies de la familia Fabaceae en el periodo de estación seca (más estresante).

3- Comparar la abundancia de HFMA en suelo del bosque seco y en el manglar de la Isla Juan Venado.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 Diseño experimental y especies de estudio

Los diseños experimentales y las especies de estudio (Tabla 1) fueron los siguientes dependiendo el objetivo específico.

a) Respuestas de las hojas de sol y sombra de especies del bosque seco en la estación seca y en la estación lluviosa.

La toma de muestras vegetales de hojas de sol y sombra se realizó en el año 2012 en dos meses de la estación seca (Enero y Febrero; hojas de sol con orientación norte y sombra orientación sur), y en la estación lluviosa (mayo-octubre) (hojas de sol con orientación sur y sombra con orientación norte) de las especies *Annona glabra* L; *Gliricidia sepium* (Jacq.); *Guaesuma ulmifolia* Lam; en la Reserva Isla Juan Venado y *Calycophyllum candidissimum* (Vahl) DC; *Cassia fistula* L; *Cordia dentata* Poiret; *Hymenaea courbaril* L; *Simarouba amara* Aubl; *Swietenia humilis* Zucc, en una finca con presencia de bosque seco en León, Nicaragua (12°24' N, 86°52'W). Más detalles sobre

las especies muestreadas en la Tabla 1. Tras la incubación en oscuridad durante 12 h de las hojas muestreadas para garantizar las condiciones comparables se realizaron discos de hojas (5 mm diámetro) y se colocaron en sobres con silica gel, siguiendo el protocolo de Esteban et al. (2009) para su posterior determinación del contenido de pigmentos. Las muestras vegetales se transportaron al laboratorio analítico (Dpto. Biología Vegetal y Ecología, UPV/EHU, Leioa, Bizkaia) donde se congelaron en nitrógeno líquido y se guardaron a -80 °C hasta su análisis por HPLC.

b) Evaluación de la presencia de Lx en el bosque seco y analizar la respuesta de los ciclos VAZ y ciclo LxL al gradiente de iluminación en especies de la familia Fabaceae en el periodo de estación seca.

Para el estudio de la relación del contenido de pigmentos en relación con la irradiancia relativa se muestrearon especies de la familia Fabaceae en el periodo más estresante (estación seca; noviembre del 2008) pertenecientes al bosque seco. *Haematoxylum brasiletto* H. Karst; *Pithecellobium oblongum* Benth; *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp; *Prosopis juliflora* (SW) DC fueron colectadas en la Reserva Juan Venado (12°22'N, 87°01'W) y *Diphysa robinoides* Benth; *Andira inermis* (W. Wright) Kunth ex DC; *Pterocarpus robrii* Vahl, *Dalbergia retusa* Hemsl, en una finca en la ciudad de León (12°24' N, 86°52'W). Más detalles sobre las especies muestreadas en la Tabla 1. Para medir la máxima epoxidación de los contenidos de Lx y V, se cortaron ramas de varios árboles adultos y se almacenaron en bolsas de plástico durante 16 h en la oscuridad a temperatura ambiente (20 - 22 °C). Esto para reducir los efectos de variaciones diurnas en la composición del pigmento y proporcionar condiciones comparables (García-Plazaola et al. 2000; Tausz et al. 2003) con las del curso diario en composición de pigmentos, que fueron analizados entre 5-7 hojas de los mismos arboles adultos. Para la determinación del contenido de pigmentos y tocoferoles y se almacenaron en sobres de papel rellenos de silica gel hasta su transporte al laboratorio de análisis en la Universidad del País Vasco/EHU, España). Se congelaron con nitrógeno líquido a -80 °C hasta que se realizó la extracción de pigmentos. En paralelo a la colecta de muestra vegetal se realizaron las fotos hemisféricas de las ramas donde se recolectaban el material vegetal.

Tabla 1. Especies muestreadas de bosque seco donde se detalla la forma de vida, si son caducifolias (C) o perennes (P) y característica ecológica

Especie	Forma de vida	C	P	Característica ecológica
<i>Andira inermis</i>	Árbol	X		Requiere poca luz para su establecimiento, al crecer tolera moderadamente la sombra
<i>Annona glabra</i>	Árbol o arbusto	X		Prefiere lugares inundados como manglares.
<i>Calycophyllum candidissimum</i>	Árbol	X		Parte del dosel superior de bosque seco, de crecimiento lento, prefiere suelos bien drenados
<i>Cassia fistula</i>	Árbol		X	De crecimiento rápido, gusta de exposiciones soleadas.
<i>Cordia dentata</i>	Árbol	X		Subdosel de bosque, a veces en manglares
<i>Dalbergia retusa</i>	Árbol			Crecimiento lento, heliofita, prefiere bosques menos densos
<i>Diphysa robinooides</i>	Árbol	X		Crece mejor en sombra y soporta suelos poco fértiles
<i>Gliricidia sepium</i>	Árbol o arbusto	X		Pionera agresiva, tolerante al fuego
<i>Guazuma ulmifolia</i>	Árbol	X		Subdosel de bosque, pero pionera en áreas abiertas
<i>Haematoxylum brasiletto</i>	Árbol o arbusto	X		Típica de bosque seco, prefiere zonas áridas, secas y calientes
<i>Hymenaea courbaril</i>	Árbol	X		Prefiere bosques riparios, crece bien en suelos profundos
<i>Pithecellobium oblongum</i>	Árbol o arbusto		X	Demanda gran cantidad de luz, especie invasora
<i>Prosopis juliflora</i>	Árbol o arbusto	X		Crece en zonas costeras, tolera de 6 a 8 meses de sequía
<i>Pterocarpus robrui</i>	Árbol			Prefiere zonas inundadas y temperaturas altas
<i>Simarouba amara</i>	Árbol o arbusto		X	Crecimiento rápido, tolerante a la sombra
<i>Swietenia humilis</i> Zucc	Árbol	X		Tolera sequía y se regenera rápidamente

c) Comparación de la abundancia de esporas de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) en suelo del manglar y bosque seco de la Isla Juan Venado.

Se hizo un estudio de la abundancia de esporas de HFMA entre la zona de manglar y la zona del bosque seco de la Isla Juan Venado tomando suelo en dos zonas separadas (zona 1 y zona 2), con tres puntos de muestreo por zona un total de 6 puntos de muestreo, tomando muestra de suelo tanto del manglar como del bosque seco adyacente. En cada una de las dos zonas se realizó un transecto por la costa separando cada punto de muestreo por una distancia

de aproximadamente 200 metros. En cada punto muestreado se colectó suelo de 3 submuestras a distancias de 15 metros que se juntaron para hacer una única muestra de suelo. Es importante señalar que en los 6 puntos de muestreo la distancia desde la costa adyacente correspondiente al manglar hasta la formación vegetal de bosque seco fue distinta, en general bastante menor en la zona 2. Las zonas de muestreo (Fig. 1) se describen a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2. Resumen de las zonas de muestreo para la recolecta de HFMA, indicando la salinidad y pH del agua intersticial de las muestras, las especies del manglar y del bosque seco de cada una de las zonas, y algunas observaciones ambientales, como el Diámetro a la Altura del Pecho (DAP)

Punto de muestreo	Agua intersticial		Especies de manglar	Especies de bosque seco	Observaciones
	Salinidad (g/L)	pH			
Lagartillo	17.5	6.2	<i>A. germinans</i>	<i>Capparis flexuosa</i> , <i>Capparis indica</i> y <i>Guaazuma ulmifolia</i>	La especie <i>A. germinans</i> con DAP entre los 30 a 70 cm
El Bongo	21	6.6	<i>A. germinans</i>	<i>Cedrela odorata</i> , <i>Bursera simarouba</i> , <i>C. indica</i> y <i>G. ulmifolia</i>	Los arboles de <i>A. germinans</i> a la entrada de la isla con DAP entre los 25 a 80 cm, más adentrados en la isla <i>A. germinans</i> es un parche de árboles achaparrados.
El Toro	22	7.0	<i>R. mangle</i> , <i>L. racemosa</i> , <i>A. germinans</i> y <i>C. erectus</i>	<i>Lubea candida</i> , <i>C. flexuosa</i> , <i>C. indica</i> y <i>G. ulmifolia</i>	Especie dominante <i>A. germinans</i> DAP entre los 25 y 80cm, seguida por una vegetación achaparrada de <i>A. germinans</i> , <i>C. erectus</i> aparece como límite entre el manglar y bosque seco
Comején	11.6	6.2	<i>R. mangle</i> , <i>A. germinans</i> , <i>L. racemosa</i>	<i>B. simarouba</i> , <i>C. flexuosa</i> , <i>C. indica</i> , <i>G. ulmifolia</i> , <i>L. candida</i> , nopales y pasto	<i>L. racemosa</i> es la especie más frecuente en esta franja con grosor (DAP) entre los 15 y 50 cm
Cedro Espino	9.8	6.8	<i>R. mangle</i> , <i>A. germinans</i> <i>L. racemosa</i>	<i>Hippomane mancinella</i> y <i>C. flexuosa</i>	<i>A. germinans</i> solamente al principio en poca cantidad, el suelo en esta zona es más fangoso, con más entradas de agua que en todos los puntos muestreados, los neumatóforos de <i>L. racemosa</i> son más visibles con abundantes raicillas.
Casa Las Peñas	7.0	6.4	<i>R. mangle</i> , <i>A. germinans</i>	<i>B. simarouba</i> e <i>H. mancinella</i>	<i>Rhizophora mangle</i> y <i>A. germinans</i> con grosor (DAP) entre 30 a 40 cm y 50 a 90 cm respectivamente. En el bosque seco la especie más abundante <i>H. mancinella</i>

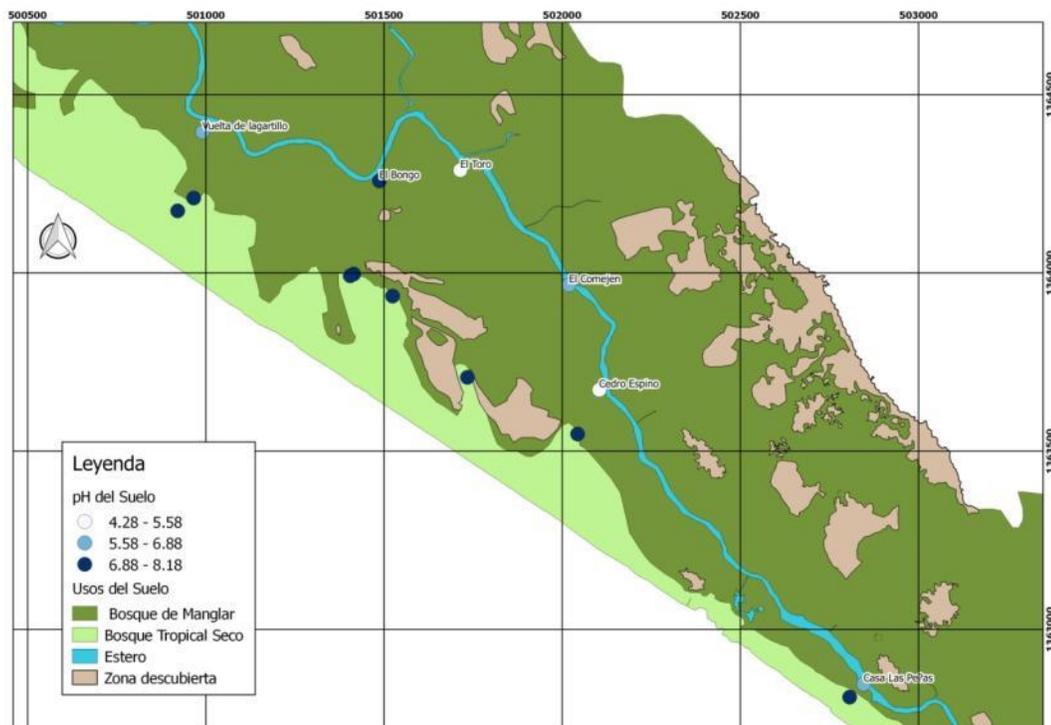


Figura 1. Localización de los 6 puntos de muestreo del manglar y zonas adyacentes del bosque seco.

2.2 Determinación de la irradiancia relativa

El porcentaje de radiación solar fue determinado mediante una cámara digital (Nikon Coolpix 4500) con un ojo de pez incorporado (Nikon Fisheye Converted FC-E8) (lente hemisférica de 180°), la cual produce imágenes hemisféricas (Fig. 2). La cámara convierte las imágenes hemisféricas en *bitmaps* que posteriormente son analizados usando un *software* especializado de análisis de imagen, *Gap light analyzer* (GLA) versión 2.0.



Figura 2. Fotos hemisféricas de *Haematoxylum brasiletto* de un ambiente soleado (derecha) y de un ambiente sombrío (izquierda), obtenidas mediante una cámara digital con un ojo de pez incorporado en la isla de Juan Venado.

2.3. Determinación de pigmentos.

Los compuestos fotoprotectores se extrajeron triturando las hojas en un mortero frío con 1 mL de acetona (100%) con 0.5 g/L de CaCO₃, para evitar trazas de ácido que podrían alterar los pigmentos. Las muestras se centrifugaron a 12000 rpm durante 20 min a una temperatura de 4 °C y filtrada en una jeringa a través de filtro PTFE de 0.22 µm (Whatman, Maidstone, UK). Los extractos se inyectaron (15 µL) en un HPLC equipado con una columna C18 de fase reversa (Waters, Milford, MA, USA) siguiendo el método de García-Plazaola and Becerril (1999) con algunas modificaciones (García-Plazaola and Becerril 2001; García-Plazaola and Esteban 2012). El autoinyector 717 plus fue equipado con un termostato que mantiene la temperatura constante a 4 °C evitando la alteración del pigmento. Los pigmentos fotosintéticos fueron medidos mediante un detector PDA (Waters modelo 996) en el rango de 250-700 nm. Los picos se detectaron e integraron a 450 nm para determinar el contenido de carotenoides y clorofila. Los pigmentos fueron identificados y cuantificados de acuerdo con García-Plazaola and Becerril (1999). Los tiempos de retención y los factores de conversión para los pigmentos fueron los mismos que los descritos por García-Plazaola and Becerril (1999, 2001). Para los tocoferoles, la detección se llevó a cabo con un detector de fluorescencia (Waters model 474) ajustado a una $\lambda_{exc} = 295$ nm y $\lambda_{em} = 340$ nm y calibrado con estándares de tocoferol (Calbiochem, San Diego, CA).

2.4 Determinación del DAP

El método para tomar las medidas del DAP de los árboles de manglar se realizó siguiendo el protocolo de Cintrón (1982). En detalle, Se realizó un cuadrante a un punto central por un transecto lineal de 200 m paralelo a línea de la costa de 10 puntos en total, dejando 20 metros entre puntos. Se identifica la especie de cada árbol y su altura aproximada, donde se medirán cuatro árboles por punto (Agraz- Hernández et al. 2006) (Fig. 3). Una vez identificada la especie se tomará la medida del DAP a una altura de 150 cm del suelo para las especies de *A. germinans* y *L. racemosa*, para *R. mangle* se realizó a partir de la altura de la primera raíz fúlcrea, siempre tomando como medida estándar los 150 cm.

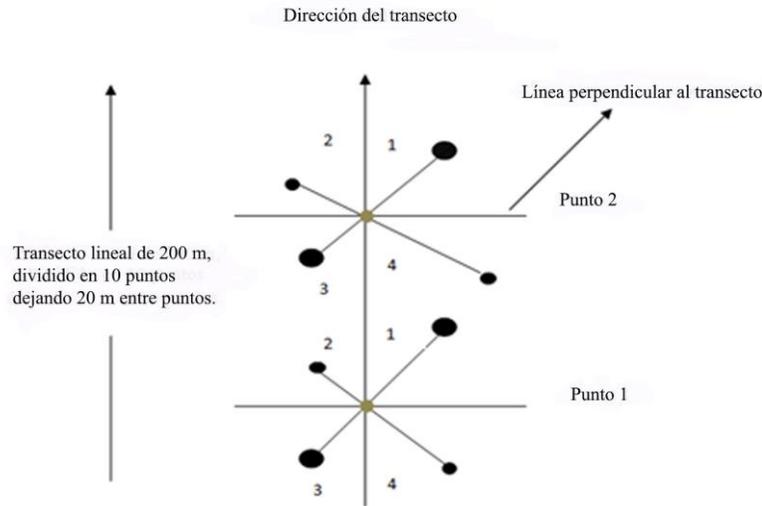


Figura 3. Esquema del método de muestreo (cuadrante a un punto central de Cottan y Curtis, modificado por Citrón) que fue utilizado en el estudio de la comunidad de manglar en la Bahía la Graciosa. Esquema modificado de Agraz-Hernández et al. (2006).

2.5 Evaluación de la presencia de esporas de micorrizas en el manglar y bosque seco de la IJV

Una vez el suelo seco se procedió a realizarse la técnica de tamizado en húmedo y decantación de Mckenney and Lindsey (1987) modificada. Se colocaron 100 g de suelo en un recipiente y se le agregaron 5 L de agua, se agitó dejando reposar por 1-2 min, se vertieron en una serie de tamices de forma consecutiva (425, 250, 63 y 45 μm). El sedimento de los últimos tres tamices se depositó en un tubo de 10 mL y luego se centrifugaron a 3000 rpm durante 1 min. El sobrenadante fue desechado sin perturbar el sedimento donde se asumió estaban las esporas mezcladas con el suelo. Este se suspendió en 3.5 mL de solución de sacarosa al 20 % (p/v) y 5.5 mL de agua, esto se mezcló para nuevamente proceder a centrifugarlo a 3000 rpm durante 1 min para remover la sacarosa. El sobrenadante se desechó y al sedimento se le agregó 3.5 mL de sacarosa al 60 % (p/v) y 5.5 mL de agua para centrifugarlo nuevamente. El sobrenadante se depositó en un tamiz de 45 μm y se lavó con agua destilada para eliminar la sacarosa. El sedimento del tamiz se vertió en un vial con agua para ser observado posteriormente en el estereoscopio. Para el conteo de esporas, el contenido del tamiz se vertió en una placa Petri con cuadrículas, en los cuales se le contaron el número de esporas presentes en 5 cuadros al azar.

La media obtenida fue multiplicada por el número de cuadros ocupado por el sedimento. El conteo se realizó usando un estereoscopio a 20 X – 4 X aumentos (Brundett et al. 1994).

2.6 Estadística

Usamos ANOVA de una vía y prueba post-hoc de Student-Newman-Keuls; para evaluar la diferencia entre el contenido de pigmentos en respuesta a hojas de sol y sombra tanto en la estación lluviosa como en la estación seca. La regresión lineal se utilizó para analizar la relación entre VAZ Chl y la irradiancia relativa del dosel. Así mismo la relación entre Lx Chl y la irradiancia relativa del dosel. Los valores p calculados, los coeficientes y la línea de regresión se consideran significativo $P < 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Respuestas de las hojas de sol y sombra en la estación seca y en la estación lluviosa

3.1.1 Seguimiento anual: respuesta de las hojas de sol y sombra (de la estación lluviosa a la estación seca).

A continuación, se analiza la respuesta de los pigmentos de fotoprotección (VAZ) y las clorofilas durante un ciclo anual (de mayo a febrero) comparando las hojas de sol y sombra en especies del bosque seco con diferentes requerimientos ecológicos.

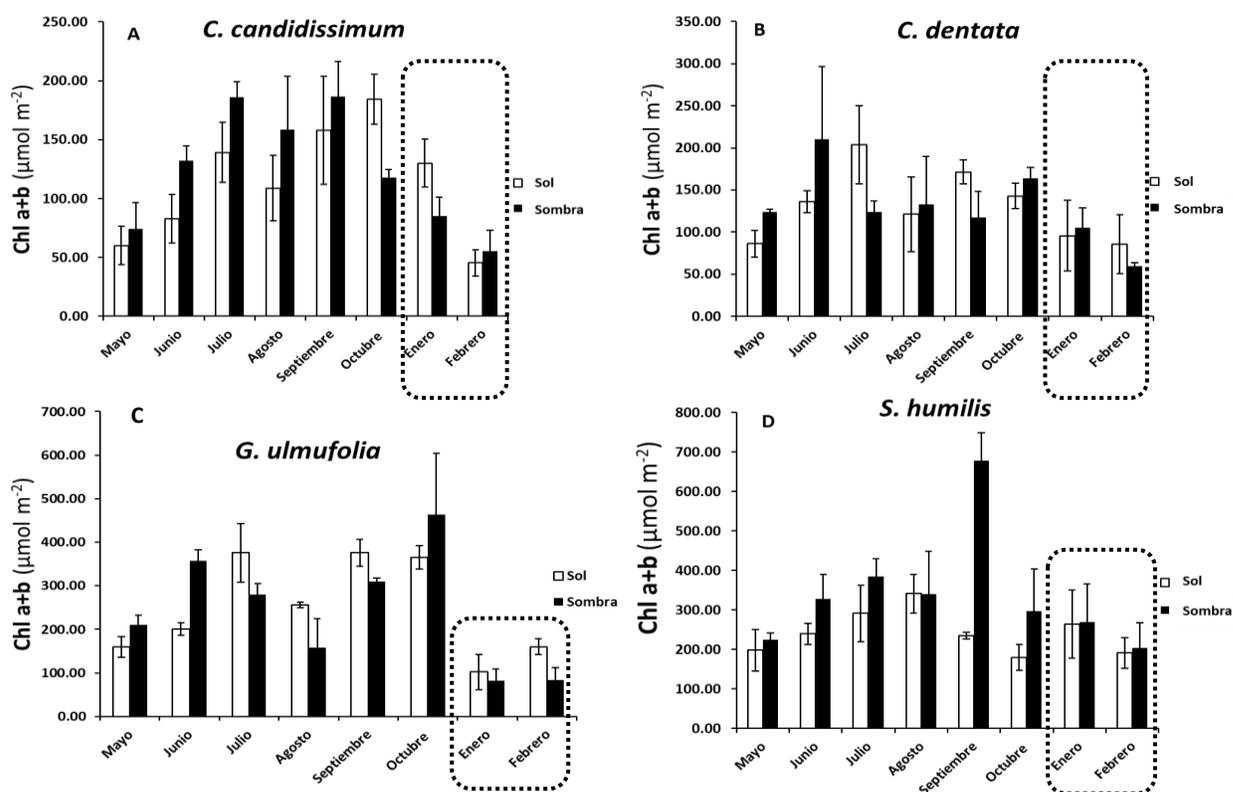


Figura 4. Seguimiento del contenido de Clorofila a + b (Chl a+b; $\mu\text{mol m}^{-2}$) en las especies de *C. candidissimum* (A), *C. dentata* (B), *G. ulmifolia* (C) y *S. humilis* (D) en hojas de sol (barras blancas) y sombra (barras oscuras) tanto en la estación lluviosa (mayo a octubre) como la estación seca (enero y febrero); indicado por un rectangular. Los datos son la media de 3-5 réplicas \pm E.S. El rectángulo de la figura indica los dos meses de muestreo en la estación seca.

El contenido en clorofila fue generalmente mayor en las hojas de sombra para las 4 especies estudiadas, excepto para *G. ulmifolia*. El contenido de Chl a+b varió entre las especies y cambió entre la estación lluviosa (mayo-octubre) y la estación seca (enero-febrero). Como se puede observar en la Fig. 4A, el contenido de Chl a+b disminuyó en la estación seca para todas las especies incrementándose progresivamente a lo largo de los primeros meses de la estación lluviosa. Así, en la estación seca, bajo circunstancias más desfavorables, el contenido de clorofila total se reduce a valores entre la mitad y un tercio de los valores alcanzados en la estación húmeda. La especie *C. candidissimum* tuvo un descenso en el contenido de las hojas de sombra en el mes de agosto, lo que ocurrió más tarde en las hojas de sol. De igual forma podemos observar que para esta especie las hojas de sombra tienen mayor contenido de Chl a+b en hojas de sombra que en las de sol entre los meses de mayo a septiembre, siendo diferente en los meses de octubre y enero donde las hojas de sol son las que tienen más Chl a+b. En particular, *C. candidissimum* (Fig. 1A) es una especie que regenera su dosel en los meses de septiembre a noviembre, para luego dar lugar a la floración entre noviembre y diciembre (OFI-CATIE 2003). Igualmente *C. dentata* y *S. humilis* y *G. ulmifolia* (Fig. 4B 4C y 4D) tuvieron contenido mínimo de Chl a+b durante los meses de enero y febrero, si bien en esta última especie las diferencias entre estación seca y húmeda no fueron tan grandes como en las otras 3 especies. En *G. ulmifolia* (Fig. 1C), de forma característica, se midieron durante la mayor parte del año mayores contenidos Chl a+b en hojas de sol que, en hojas de sombra, particularmente durante la estación seca. En *S. humilis* (Fig. 1D) al parecer las hojas de sombra son las que tienen mayor contenido Chl a+b que las de sol, lo cual podría estar relacionado con la estructuras e inclinación de sus hojas ya que son especies que tienen hojas pinnadas alternas (OFI-CATIE 2003) permitiendo el acceso de luz solar más directo a las hojas más bajas del dosel. Todo esto indica como de manera general el contenido de clorofilas foliares (Chl a+b) cambia entre las estaciones, incrementando en los meses de la estación lluviosa, este incremento se puede asociar con la expansión de nuevas hojas (Zhang et al. 2007) que se da en la estación lluviosa y la reducción en el contenido se da con mayor evidencia en los meses de enero y febrero que corresponden a la estación seca. Ya que se ha descrito que bajo situaciones de estrés, y de estrés hídrico en particular las plantas reducen el contenido en clorofila, como mecanismo de aclimatación a una reducción de la capacidad fotosintética y también para reducir los daños fotoquímicos que podrían producirse por el estrés fotooxidativo (García-Plazaola and Becerril, 2001; Poorter et al. 2006; Esteban et al. 2014).

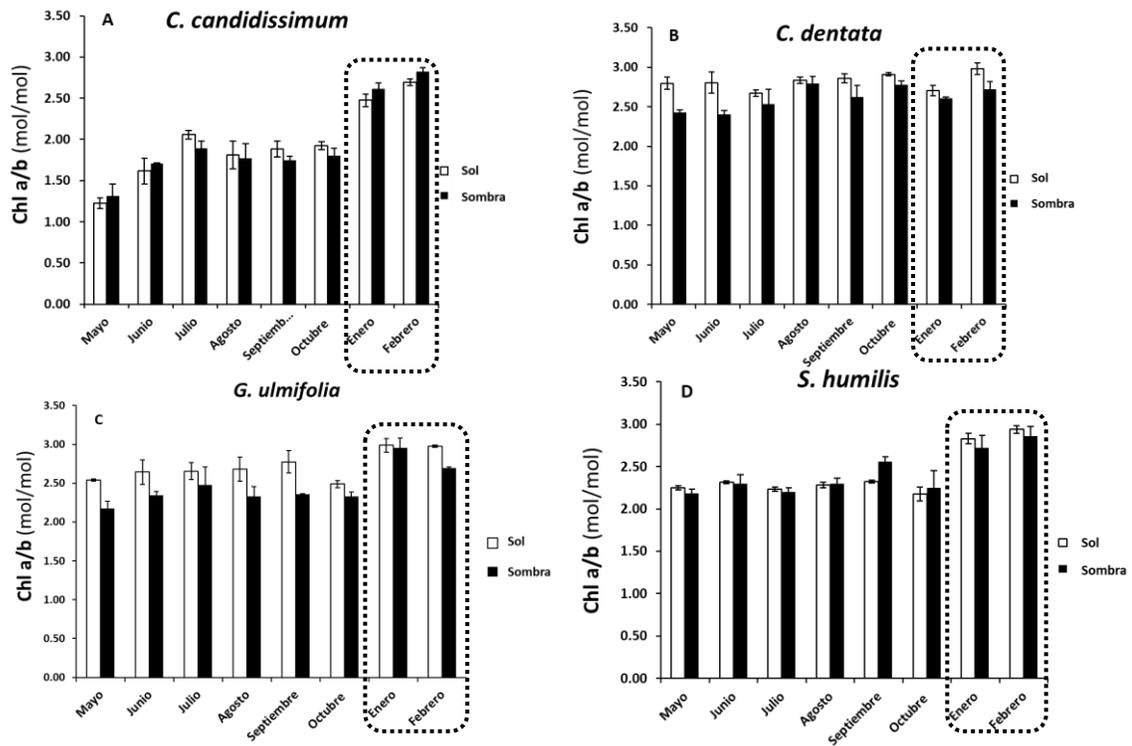


Figura 5. Seguimiento del contenido de Clorofila a/b (Chl a/b; mol/mol) en las especies de *C. candidissimum* (A), *C. dentata* (B), *G. ulmifolia* (C) y *S. humilis* (D) en hojas de sol (barras blancas) y sombra (barras oscuras) tanto en la estación lluviosa (mayo a octubre) como la estación seca (enero y febrero); indicado por un rectangular). Los datos son la media de 3-5 réplicas \pm E.S. El rectángulo de la figura indica los dos meses de muestreo en la estación seca.

En relación con el contenido de clorofila a/b (Chl a/b) en las especies estudiadas este resultó similar en los meses muestreados, salvo *C. candidissimum* (Fig. 5A) que presenta menores valores en el mes de mayo, la posible causa es una disminución de clorofila a por el estado del desarrollo de la planta (edad de la hoja) (Ustin et al. 1998) y disminución de la intensidad lumínica, considerándose una de las principales condiciones adversas que se le puede someter a una planta no tolerante a las condiciones sombrías (Cambrón et al. 2011) como es el caso de esta especie. De manera general, se ha descrito que la relación Chl a/b resulta un marcador de estrés (Esteban et al. 2015; Kitajima and Hogan 2003), debido a la disminución del tamaño de las antenas (menor contenido en Chl b), y al estar únicamente presente la Chl a (pero no la Chl b) en los centros de reacción de los fotosistemas resulta en un aumento de la relación Chl a/b.

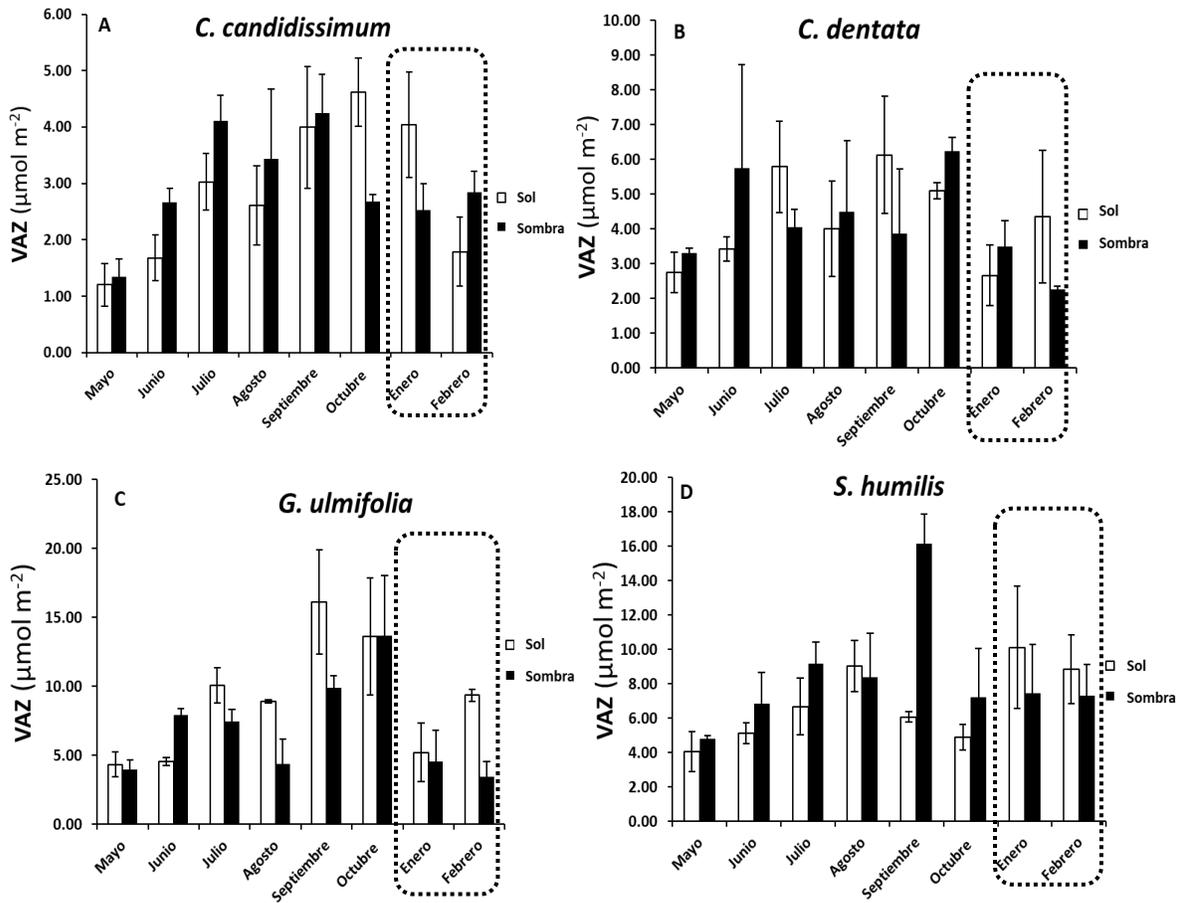


Figura 6. Seguimiento del contenido Violaxantina+Antheraxantina+Zeaxantina (VAZ; $\mu\text{mol m}^{-2}$) en las especies de *C. candidissimum* (A), *C. dentata* (B), *G. ulmifolia* (C) y *S. humilis* (D) en hojas de sol (barras blancas) y sombra (barras oscuras) tanto en la estación lluviosa (mayo a octubre) como la estación seca (enero y febrero); indicado por un rectangular. Los datos son la media de 3-5 réplicas \pm E.S. El rectángulo de la figura indica los dos meses de muestreo en la estación seca.

Los contenidos de VAZ en las especies varían a lo largo de los meses como se observa en la figura 3. Las especies *C. candidissimum* (Fig. 6A), *C. dentata* (Fig. 6B) y *G. ulmifolia* (Fig. 6C), tienen un comportamiento similar en cuanto al contenido de VAZ en sus hojas entre los meses de julio a octubre durante la estación húmeda. Es importante señalar que la distribución de las precipitaciones en ese año fue atípica, con una pluviosidad anormalmente baja durante ese periodo, lo que causaría valores altos del contenido de VAZ en la estación lluviosa, ya que este ciclo, además de la protección a exceso de radiación solar, también juegan un papel importante en respuesta al déficit hídrico (Kyparisis et al. 2000). Además, en el caso de *C. candidissimum*, es en estos meses donde se da la mayor formación de hojas y en los casos de *C. dentata* y *G. ulmifolia*

se le puede atribuir el cambio de su hábitat, ya que estas dos especies se desarrollan bajo el dosel de árboles (OFI-CATIE 2003) y en los meses de septiembre y octubre el dosel de los árboles que los rodeaban había sido removido. Los resultados de este apartado indican que la composición de principales pigmentos fotosintéticos cambia dependiendo la época del año, el tipo de hoja analizada (sol-sombra) y los requerimientos ecológicos de cada una de las especies. Es decir, la composición de pigmentos está afectada tanto por factores internos como externos (Esteban et al. 2014)

3.1.2 Respuesta de hojas de sol y sombra durante la estación lluviosa y estación seca

Debido a las diferencias encontradas en el apartado anterior en la composición de los pigmentos a continuación se muestran los resultados de los pigmentos en las especies *Annona glabra*, *Cassia fistula*, *Gliricidia sepium* y *Hymenaea coubaril* comparando la época seca (febrero) y la época lluviosa (mayo).

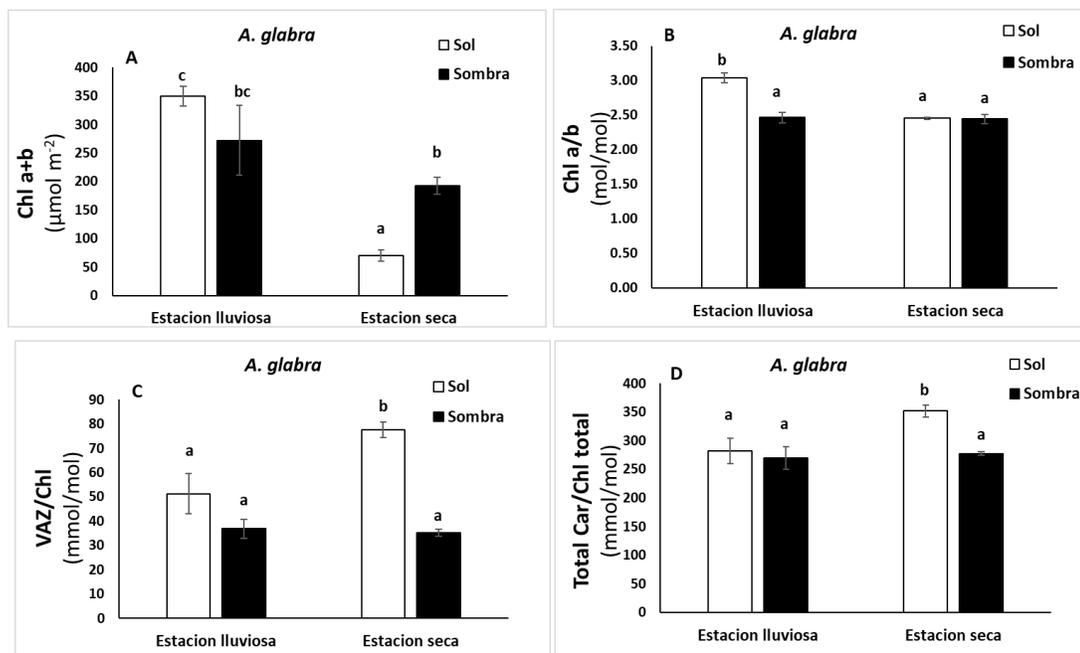


Figura 7. Contenido de pigmentos para Clorofila a + Clorofila b (Chl a+b; A) ($\mu\text{mol m}^{-2}$); Relación Clorofila a/Clorofila b (Chl a/b; B) (mol/mol); Violaxantina, Anteraxantina y Zeaxantina en relación al contenido de Clorofila (VAZ/Chl; C) (mmol/mol) y carotenoides totales en relación al contenido de Clorofila (Total Car/Chl total; D) (mmol/mol) en hojas de sol y sombra de *A. glabra*. En la estación lluviosa (mayor-octubre) y seca (noviembre-abril) ($n=3\pm\text{E.S.}$). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$) tras realizar el test post hoc SNK en los diferentes contenidos de pigmentos de hojas de sol y sombra colectadas en la estación lluviosa como en la estación seca.

Los contenidos de pigmentos de Chl a+b, Chl a/b, VAZ/Chl y Carotenoides totales en relación al contenido de clorofila (Total Car/Chl total) de *Annona glabra* (Fig. 7) presenta diferencias significativas entre las hojas de sol y sombra, y entre las estaciones lluviosa y seca. Los contenidos de clorofila a+b fueron significativamente menores en la época seca, mostrando las hojas de sol contenidos menores que las de sombra (Fig. 7A). Mientras que el ratio Chl a/b (Fig. 7B) solamente muestra diferencias significativas entre las hojas de sol y sombra en la estación lluviosa, siendo el ratio de las hojas de sol mayor en esta estación. Esto fue debido a la fenología de nuevas hojas y floración y el hábitat donde crece esta especie, que es muy diverso, desarrollándose en bosques caducifolios, bosques subcaducifolios, bosques siempre verdes e incluso se pueden observar en manglares (Romero-Soler and Cetzal-Ix 2015), siendo el factor limitante para su supervivencia la disponibilidad de agua durante la estación seca. Respecto a los pigmentos fotoprotectores (VAZ y carotenoides totales) fue su concentración mayor en la época seca y en las hojas de sol ($p < 0.05$). Lo cual está relacionado con el nivel de estrés soportado durante la estación seca. Es en esta estación cuando esta especie recibe mayor cantidad de luz solar y existe un déficit de agua ya. De esta manera cuando las plantas se someten a condiciones de estrés, se aumenta la relación carotenos/clorofila total, como reflejo de una mayor síntesis de carotenos que de clorofilas, con el propósito de proteger los tejidos contra el estrés ambiental (Ávila et al. 2012; Esteban et al. 2015.).

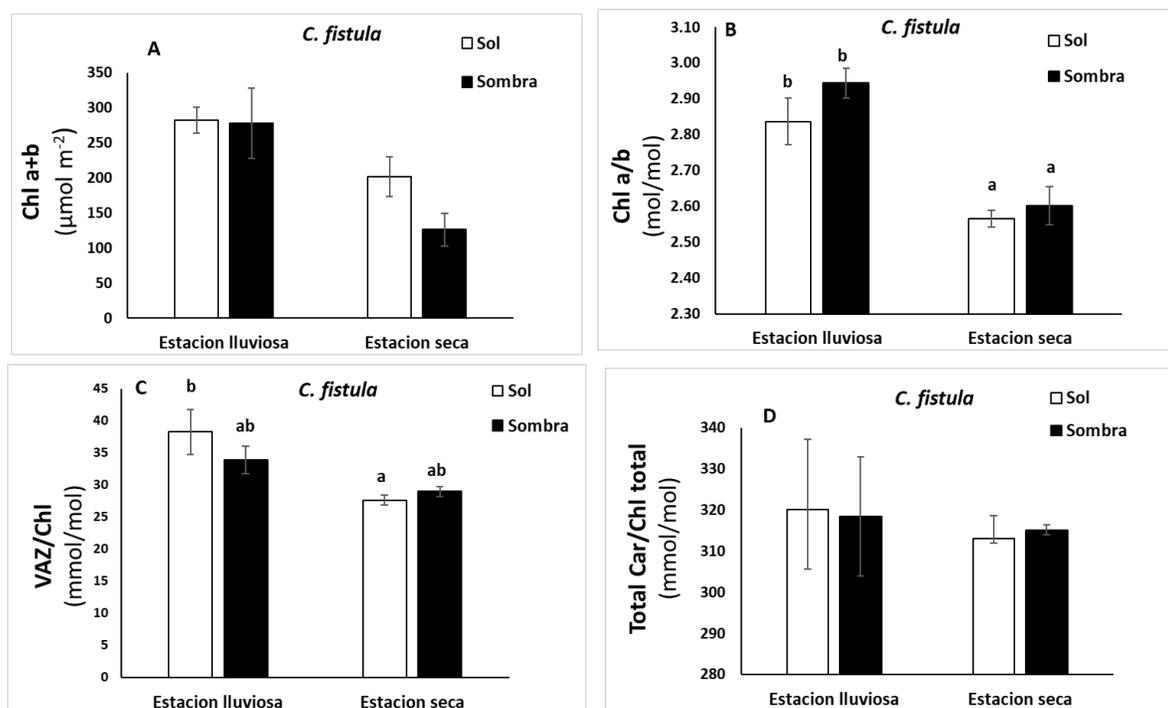


Figura 8. Contenido de pigmentos para Clorofila a + Clorofila b (Chl a+b; A) ($\mu\text{mol m}^{-2}$); Relación Clorofila a/Clorofila b (Chl a/b; B) (mol/mol); Violaxantina, Anteraxantina y Zeaxantina en relación al contenido de Clorofila (VAZ/Chl; C) (mmol/mol) y carotenoides totales en relación al contenido de Clorofila (Total Car/Chl total; D) (mmol/mol) en hojas de sol y sombra de *C. fistula*. En la estación lluviosa (mayor-octubre) y seca (noviembre-abril) ($n=3\pm\text{E.S.}$). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$) tras realizar el test post hoc SNK en los diferentes contenidos de pigmentos de hojas de sol y sombra colectadas en la estación lluviosa como en la estación seca.

Caso contrario es el de *C. fistula* (Fig. 8C) donde el mayor contenido de VAZ/Chl lo presenta en la estación lluviosa y no en la estación, lo cual es contrario a lo que se podría esperar por la mayor incidencia de luz sola y la falta de agua. Estos resultados pueden haber sido influenciado por otros factores ambientales, como la presencia de patógenos (Demmig-Adams and Adams 1992; Esteban et al. 2014). De hecho, pudo ser que la infección estuviese en una fase temprana, ya las hojas no mostraban signos aparentes de daño. El ratio Chl a/b disminuye en la estación seca, y la razón pueden ser las condiciones estresantes de esta estación, tal y como ocurre en la especie anterior.

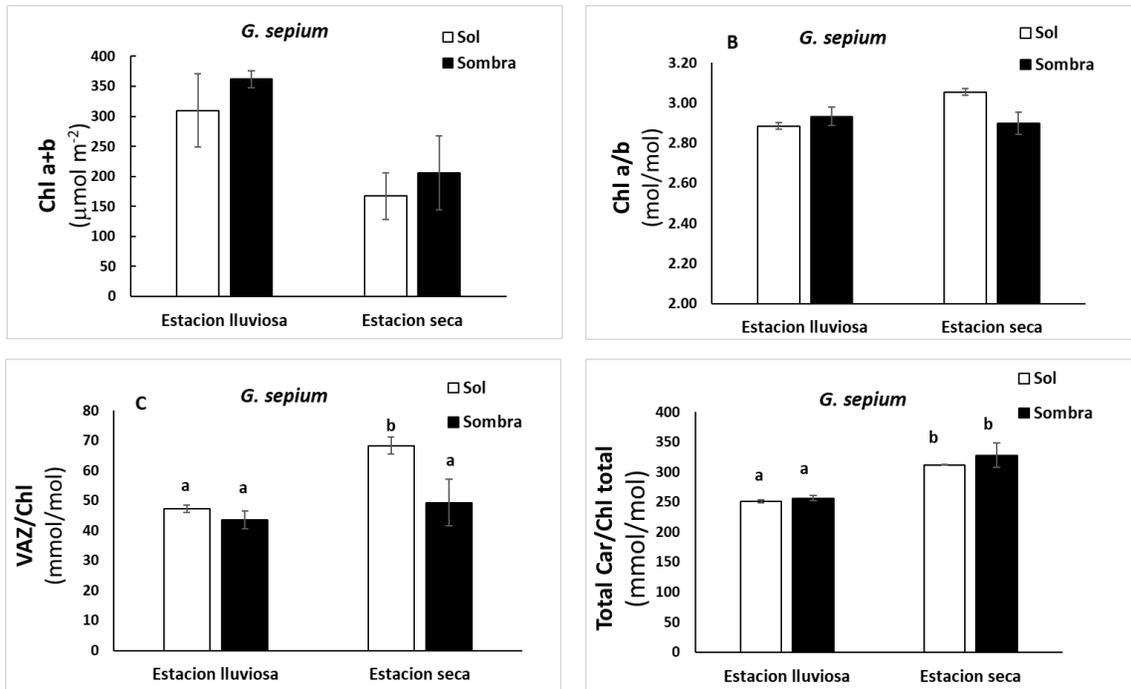


Figura 9. Contenido de pigmentos para Clorofila a + Clorofila b (Chl a+b; A) ($\mu\text{mol m}^{-2}$); Relación Clorofila a/Clorofila b (Chl a/b; B) (mol/mol); Violaxantina, Antheraxantina y Zeaxantina en relación al contenido de Clorofila (VAZ/Chl; C) (mmol/mol) y carotenoides totales en relación al contenido de Clorofila (Total Car/Chl total; D) (mmol/mol) en hojas de sol y sombra de *G. sepium*. En la estación lluviosa (mayor-octubre) y seca (noviembre-abril) ($n=3\pm\text{E.S.}$). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$) tras realizar el test post hoc SNK en los diferentes contenidos de pigmentos de hojas de sol y sombra colectadas en la estación lluviosa como en la estación seca.

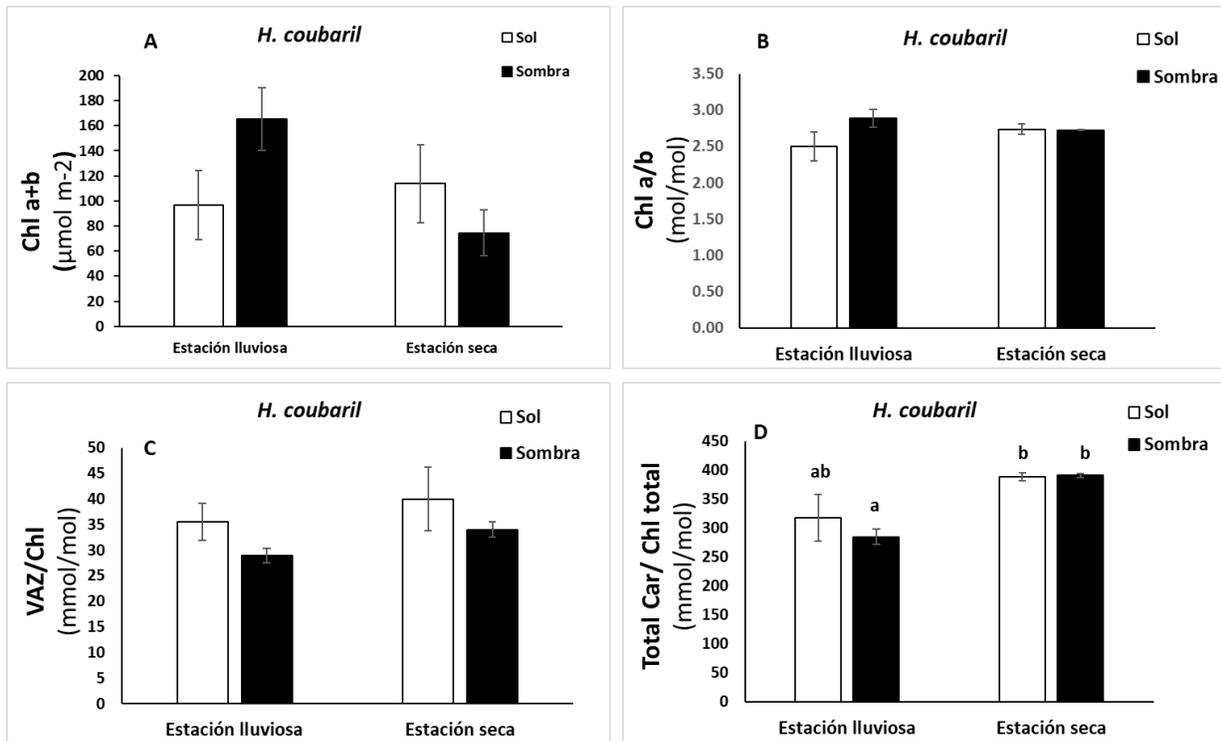


Figura 10. Contenido de pigmentos para Clorofila a + Clorofila b (Chl a+b; A) ($\mu\text{mol m}^{-2}$); Relación Clorofila a/Clorofila b (Chl a/b; B) (mol/mol); Violaxantina, Anteraxantina y Zeaxantina en relación al contenido de Clorofila (VAZ/Chl; C) (mmol/mol) y carotenoides totales en relación al contenido de Clorofila (Total Car/Chl total; D) (mmol/mol) en hojas de sol y sombra de *H. coubaril*. En la estación lluviosa (mayor-octubre) y seca (noviembre-abril) ($n=3\pm\text{E.S.}$). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$) tras realizar el test post hoc SNK en los diferentes contenidos de pigmentos de hojas de sol y sombra colectadas en la estación lluviosa como en la estación seca.

En la especie *G. sepium* las diferencias significativas que presenta son en el contenido de pigmentos VAZ/Chl (Fig. 9C) y Total Car/Chl Total (Fig. 9D) durante la estación seca. Estas diferencias pueden tener dos causas, la primera como fotoprotección (Demmig-Adams and Adams 1992); y la segunda debida a su fenología, ya que es un árbol que pierde sus hojas en la estación seca, cuando presenta su floración (OFI-CATIE 2003). La especie *H. coubaril* (Fig. 10), perennifolia, presenta diferencias significativas en cuanto al contenido de Total-Car/Chl total en la estación seca (Fig. 10D), debido de nuevo a un aumento de la fotoprotección en esta época menos favorable. En el caso de la especie *S. amara* (Fig. 11) los contenidos de Chl a+b (Fig. 11A) y VAZ/Chl (Fig. 11D), son inversamente proporcionales, teniendo mayor contenido de VAZ/Chl durante la estación seca, lo cual es una consecuencia adaptativa a su hábitat, ya que es una especie que crece bajo el dosel de otras especies que por lo general son caducifolias (OFIE-

CATIE 2003) perdiendo sus hojas en la estación seca, y por lo recibiendo *S. amara* de una forma directa la radiación solar en estación seca.

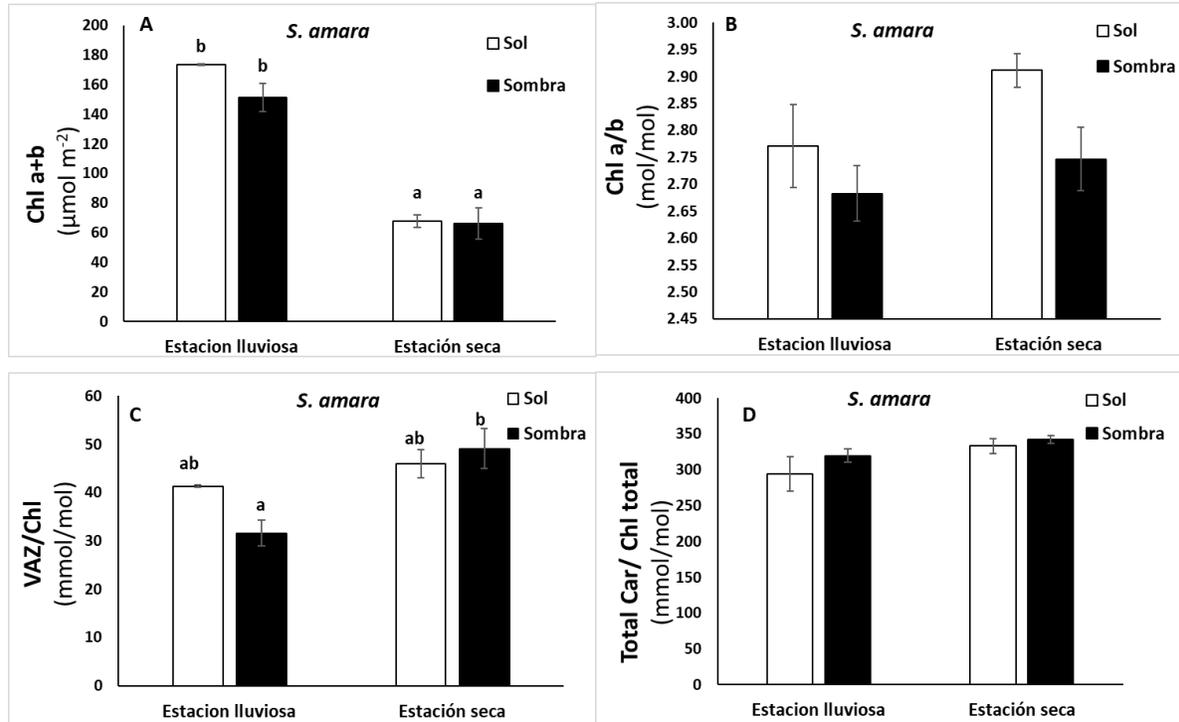


Figura 11. Contenido de pigmentos para Clorofila a + Clorofila b (Chl a+b; A) ($\mu\text{mol m}^{-2}$); Relación Clorofila a/Clorofila b (Chl a/b; B) (mol/mol); Violaxantina, Antheraxantina y Zeaxantina en relación al contenido de Clorofila (VAZ/Chl; C) (mmol/mol) y carotenoides totales en relación al contenido de Clorofila (Total Car/Chl total; D) (mmol/mol) en hojas de sol y sombra de *S. amara*. En la estación lluviosa (mayor-octubre) y seca (noviembre-abril) ($n=3\pm\text{E.S}$). Las diferentes letras indican diferencias significativas ($p<0.05$) tras realizar el test post hoc SNK en los diferentes contenidos de pigmentos de hojas de sol y sombra colectadas en la estación lluviosa como en la estación seca.

En general los resultados de este apartado confirman la necesidad de protección y por lo tanto un aumento de la capacidad fotoprotectora de las especies en la estación seca.

3.2. Presencia de Lx y ciclo LxL en las especies del bosque seco

3.2.1. ¿Las especies del bosque presentan Lx?

Un estudio de Matsubara et al. (2009) mostró que la mayoría de las especies muestreadas del neotrópico presentaba Lx, en concreto se encontró que la acumulación de Lx en las hojas se distribuía ampliamente entre los taxones. Siendo mayor de $5 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$ en el 20% de todas las especies examinadas y mayor de $10 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$ en el 10 % de especies leñosas. Teniendo en cuenta el gran número de especies Lx en el ecosistema tropical (en comparación con el

templado), se procedió a analizar la composición de pigmentos en 9 especies tropicales del bosque seco de Nicaragua (Tabla 3).

Tabla 3. Composición de pigmentos y α -tocoferol en las especies muestreadas en Nicaragua. Los valores indican la media \pm S.E. de especies de bosque seco en el periodo de estación seca. Relación de clorofila a/clorofila b (chl a/b) (mol/mol), Neoxantina en base al contenido de clorofila (N chl) (mmol/mol), Violaxantina en base al contenido de clorofila (V chl) (mmol/mol), Luteína epóxido en base al contenido de clorofila (Lx chl) (mmol/mol), Luteína en base al contenido en clorofila (L chl) (mmol/mol), Anteraxantina + Zeaxantina en base al contenido de clorofila (A+Z chl) (mmol/mol), α -caroteno en base al contenido de clorofila (α -C chl) (mmol/mol), β caroteno en base al contenido de clorofila (β -C chl) (mmol/mol), Violaxantina, Anteraxantina y Zeaxantina en base al contenido de clorofila (VAZ chl (mmol/mol).

Especie	Familia	Time of sampling	Ubicación	chl a/b	Neo chl	V chl	Lx chl	L chl	A+Z chl	α -C chl	β -C chl	VAZ chl	n
<i>Haematoxylum brasiletto</i>	Fabaceae	Nov	Isla Juan Venado	2.1 \pm 0.1	36.8 \pm 0.6	26.8 \pm 0.5	2.3 \pm 0.4	120.4 \pm 2.2	2.7 \pm 0.6	0.5 \pm 0.1	112.1 \pm 10.8	29.5 \pm 0.8	4
<i>Pithecellobium oblongum</i>	Fabaceae	Nov	Isla Juan Venado	2.0 \pm 0.0	39.1 \pm 1.9	31.7 \pm 1.1	21.9 \pm 3.7	110.1 \pm 5.0	3.5 \pm 0.9	15.9 \pm 4.5	90.4 \pm 5.8	35.2 \pm 1.9	4
<i>Glicicidia sepium</i>	Fabaceae	Nov	Isla Juan Venado	2.2 \pm 0.1	39.3 \pm 1.8	45.7 \pm 2.7	0.9 \pm 0.3	130.3 \pm 0.9	10.1 \pm 4.8	5.9 \pm 2.8	108.8 \pm 10.6	55.8 \pm 5.4	4
<i>Prosopis juliflora</i>	Fabaceae	Nov	Isla Juan Venado	2.5 \pm 0.0	33.6 \pm 0.9	69.5 \pm 4.6	2.4 \pm 0.2	109.6 \pm 3.5	8.2 \pm 1.0	0.5 \pm 0.1	128.2 \pm 5.4	77.8 \pm 4.9	4
<i>Diphysa robinoides</i>	Fabaceae	Nov	León	1.9 \pm 0.1	41.8 \pm 0.6	37.9 \pm 7.9	1.7 \pm 0.6	130.8 \pm 2.5	4.4 \pm 0.6	1.2 \pm 0.4	95.4 \pm 5.6	42.3 \pm 8.3	4
<i>Andira inermis</i>	Fabaceae	Nov	León	1.9 \pm 0.0	35.8 \pm 1.0	28.5 \pm 2.7	1.6 \pm 0.2	119.3 \pm 4.7	3.6 \pm 1.1	17.9 \pm 3.3	60.1 \pm 5.5	32.1 \pm 3.7	4
<i>Pterocarpus rohrii</i>	Fabaceae	Nov	León	1.8 \pm 0.0	38.3 \pm 0.6	23.3 \pm 2.2	37.7 \pm 6.2	97.0 \pm 3.0	1.3 \pm 0.2	36.1 \pm 1.6	54.5 \pm 2.6	24.6 \pm 2.0	4
<i>Dalbergia sp</i>	Fabaceae	Nov	León	1.8 \pm 0.0	38.9 \pm 1.3	29.5 \pm 1.7	5.5 \pm 0.9	121.6 \pm 8.1	3.9 \pm 0.9	31.8 \pm 0.6	62.1 \pm 4.6	33.4 \pm 2.4	3
<i>Dalbergia retusa</i>	Fabaceae	Nov	León	1.8 \pm 0.0	41.5 \pm 0.5	33.3 \pm 1.4	6.9 \pm 1.8	124.6 \pm 1.3	2.9 \pm 0.5	23.4 \pm 6.2	72.2 \pm 5.6	36.2 \pm 1.5	3

Lo más destacable es que en el 100% de especies muestreadas se encontró el pigmento Lx, y además su concentración fue extremadamente alta en dos de las especies muestreadas, *Pterocarpus rohrii* y *P. oblongum* con 37.7 y 21.9 mmol/mol Chl, respectivamente. Este porcentaje es muy alto comparado con el promedio de especies que presentan Lx (en torno al 45%) (Matsubara et al. 2009; Esteban et al 2010; Esteban et al. 2014). Entre las angiospermas, Lx es más frecuente en las angiospermas basales, con altos contenidos de Lx en especies de las familias Myristicaceae y Lauraceae (García-Plazaola et al. 2004; Matsubara et al. 2008; Esteban et al. 2009b) pero también en grupos avanzados como Rosidos (Fagaceae, Fabaceae) y Asteridos (Ericaceae, Cornaceae, Verbenaceae, Caprifoliaceae) (García-Plazaola et al. 2004; Esteban et al. 2009b; Matsubara et al. 2008, 2009). Nuestras especies pertenecen a la familia Fabaceae, por eso presentan estos altos contenidos. Las dos especies con los altos contenidos de Lx, también presentan concentraciones elevadas de alfa Caroteno (α -C), lo cual implica que estas especies favorecen la vía β , ϵ (que da lugar a la acumulación de Luteína y Lx), lo cual está descrito que ocurre en especies de sombra (Demmig-Adams and Adams 1992). Así el carácter de presentar una concentración elevada de α -C ha sido descrito como adaptación al crecimiento en condiciones de sombra (Demmig-Adams and Adams 1992; Esteban et al. 2014).

3.2.2 ¿Existe ciclo LxL en las especies del bosque seco?

Para estudiar el funcionamiento del ciclo Lx se analizó la composición de pigmentos en hojas intactas de las especies de la Tabla 1 (excepto *D. retusa*) muestreando a lo largo de un gradiente lumínico creciente (Fig. 12 y 13).

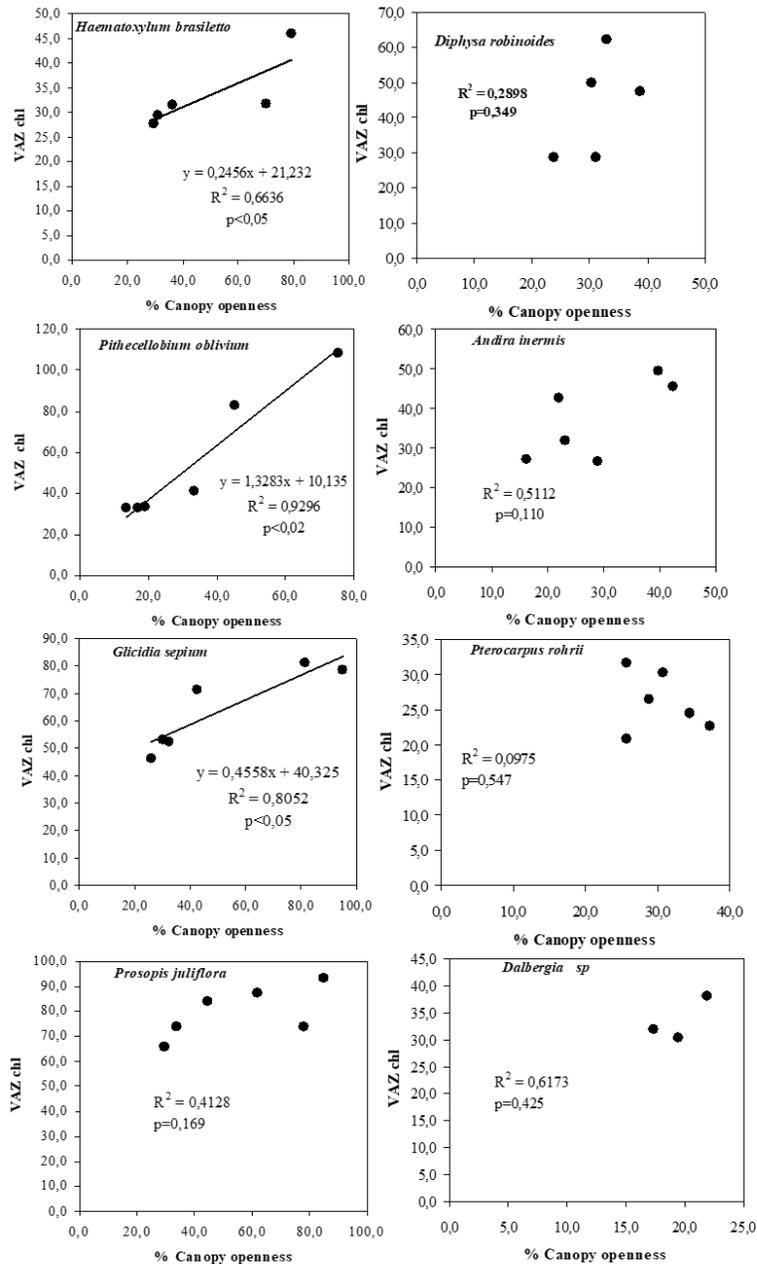


Figura 12. Relación entre las concentraciones Violaxantina+Anteraxantina+Zeaxantina (VAZ chl) (mmol mol⁻¹ Chl) y la apertura del dosel arbóreo (% canopy openness) en hojas intactas en diferentes especies del bosque seco de León. Las líneas de regresión se muestran cuando son significativas (p<0.05).

En la figura 12 se observa la relación de VAZ y la apertura del dosel arbóreo en hojas intactas en diferentes especies del bosque seco de León. Todas las especies aumentan el contenido en VAZ cuanto más luz reciben, pero las especies que muestran de forma inequívoca y estadísticamente significativa relación directa de la cantidad de VAZ con el porcentaje de la apertura del dosel son *Haematoxylum brasiletto*, *Pithecellobium oblongum* y *Gliricidia sepium*. Si nos fijamos en la pendiente de la recta podemos comprobar que la especie *H. brasiletto* es la que presenta menor grado de respuesta a la intensidad de luz recibida y *P. oblongum* es la especie que muestra mayor respuesta en el contenido de VAZ como mecanismo de aclimatación a la variación de intensidad de la luz. Esta respuesta coincide con el hecho demostrado que en doseles de bosque, la concentración de pigmentos VAZ aumenta con la cantidad de luz (Logan et al. 1996; Niinemets et al. 1999; García-Plazaola and Becerril 2001; Hansen et al. 2002). Las especies que no muestran un aumento significativo del contenido total de VAZ con la irradiancia, como su respuesta es también positiva, por lo que se propone aumentar el número de muestras a lo largo del gradiente en el futuro para que esta relación sea significativa, siempre que sea posible, ya que dependerá de la naturaleza de las especies. Por ejemplo, *P. oblongum* crece en ambientes con un rango de iluminación muy diverso, que abarca desde los muy sombreados (20% de apertura del dosel) hasta los muy iluminados (80%), pero no es el caso de todas las especies.

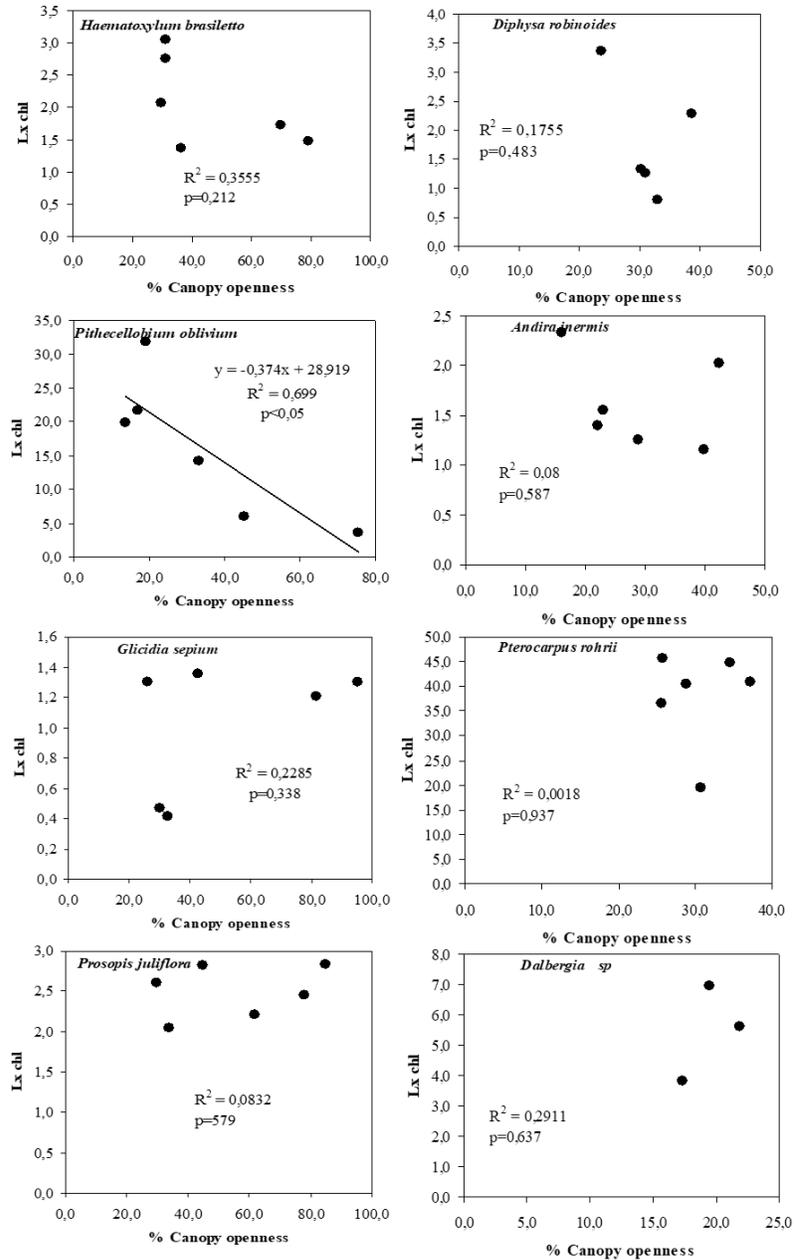


Figura 13. Relación entre las concentraciones Luteína epóxido (Lx chl) (mmol mol⁻¹ Chl) y la apertura del dosel arbóreo (% canopy openness) en hojas intactas en diferentes especies del bosque seco de León. Las líneas de regresión se muestran cuando son significativas (p<0.05).

En la figura 13 se muestra la relación de Lx y la apertura del dosel arbóreo en hojas de especies del bosque seco. De manera general el contenido en Lx no estuvo relacionado con la apertura del dosel, con la excepción de *P. oblongum* que mostró un descenso de Lx según aumentaba el porcentaje de transmitancia de luz (apertura del dosel) ($R^2=0.70$, $p<0.05$). Este hecho coincide con los experimentos llevados a cabo en la laurisilva y se observó que la relación entre el contenido de Lx y el gradiente lumínico varió entre especies (Esteban et al. 2007). Sin embargo, la mayoría de la concentración de Lx de las especies muestreadas es menor de $10 \text{ mmol mol}^{-1} \text{ Chl a+b}$ (a excepción de *P. oblongum* y *P. robrii*, por lo que esta concentración de Lx no es susceptible de fotoconvertirse en L (Esteban et 2014), ya que para que se dé el ciclo LxL los contenidos tienen que ser mayores de $10 \text{ mmol mol}^{-1} \text{ Chl a+b}$. En la especie *P. oblongum*, que si muestra cambios de concentración dependiendo el dosel, queda probado que la Lx esta participando en el ciclo LxL, y que por lo tanto pueda jugar un papel importante en la fotoprotección de esta especie (Matsubara et al. 2003), lo que indicaría que el funcionamiento del ciclo LxL podría ser de importancia en la supervivencia de esta especie (Hormaetxe et al. 2004).

3.4 Evaluación de la presencia de esporas de micorrizas en el manglar y bosque seco de la IJV.

Se ha descrito que las HFMA juegan un papel ecológico importante en los ecosistemas, de manera que la asociación simbiótica entre especies del phylum Glomeromycota y las raíces de plantas superiores trasciende incluso los beneficios individuales del macro y microsimbionte, actuando las HFMA incluso como especies bioingenieras en la rizosfera (D'Souza 2016; Kikvidze et al. 2011).

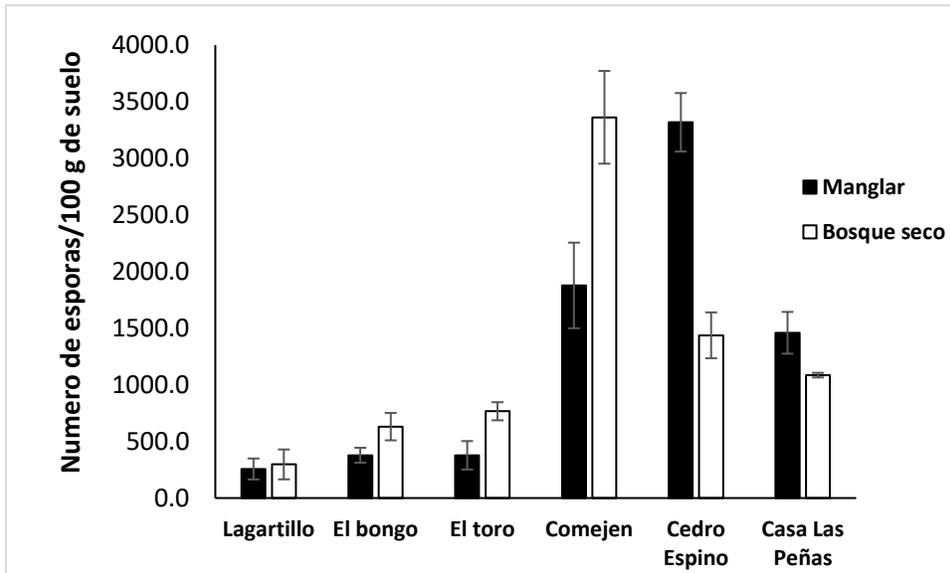


Figura 14. Número de esporas en suelo de manglar y bosque seco de la IJV en las zonas descritas en la Tabla 2. Las barras indican número promedio de esporas (n=3)

La figura 14 nos indica que en la Zona 1 Lagartillo es el que tiene menor cantidad de esporas tanto en el bosque seco, como en el manglar; en esta zona hubo más esporas en el bosque seco que en el manglar. En la zona 2, Comején tienen mayor cantidad en bosque seco seguido por Cedro Espino; siendo Cedro Espino es el sitio con mayor cantidad de esporas en el suelo de manglar de los 6 sitios muestreados, seguido por Comején. En la zona 2 el mayor número de esporas en el bosque seco fue en Comején, y para el manglar en Cedro Espino.

El contenido de esporas de HFMA en los 6 sitios estudiados de la IJV estuvo entre los 255-3362 esporas/100 g de suelo (Fig. 14). Esta densidad está dentro del rango descrito en la bibliografía (Picone 2000; Opik et al. 2006; D'Souza and Rodrigues 2013), si bien está descrito como el número y diversidad de las HFMA puede ser muy variable al verse fuertemente afectados por las propiedades del suelo, las condiciones ambientales (clima), manejo del suelo, interacciones con otros organismos y la diversidad vegetal (Jeffries and Barea 2001). Entre los factores edáficos destacan la textura y estructura del suelo, el pH, el contenido en materia orgánica y la concentración de elementos minerales y nutrientes, en particular el contenido de

fósforo disponible (Jeffries et al. 2003). En los sistemas acuáticos como los manglares la diversidad de HFMA es afectado además por aspectos como el nivel de las mareas, lo que afecta fundamentalmente a la salinidad y al grado de saturación y anoxia del suelo (D'Souza 2016).

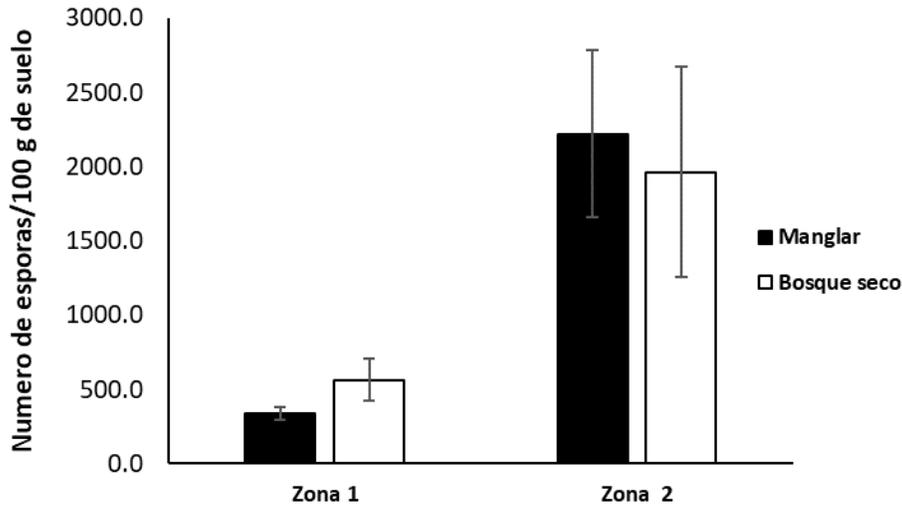


Figura 15. Comparación de número de esporas presentes en los suelos de manglar y bosque seco en dos zonas de la Isla Juan Venado, en las zonas descritas en la Tabla 2. Las barras indican el número promedio de esporas \pm S.E. (n=3).

Se han observado grandes diferencias en el número de esporas en los puntos muestreados tanto en zona de manglar como en bosque seco. La densidad de esporas fue en promedio 4 veces mayor en la zona 2 que en la zona 1 (Fig. 15). Dentro de cada una de estas zonas también hubo diferencias entre los tres sitios estudiados, si bien fueron bastante menores que las existentes entre la zona 1 y la zona 2. Con respecto a la abundancia de esporas en los dos ecosistemas bosque seco y manglar no se pudo encontrar un patrón, ya que, a pesar de que en la zona 1 existe un 67 % más esporas en el bosque seco que en el manglar, debido al bajo número de réplicas (n=3) esta diferencia no resultó significativa (Fig. 15). En la zona 2 tampoco existieron diferencias entre bosque seco y manglar. Tampoco se encontró relación entre el pH del suelo del manglar y la abundancia de esporas ($R^2=0.02$).

En varios estudios se ha descrito que el grado de colonización de las especies del manglar por los HFMA es muy variable. Así en un estudio de D'Souza and Rodrigues (2013) con 16 especies del manglar el rango de colonización estuvo entre el 6%–77%. La densidad de esporas y el grado de colonización de las HFMA fue dependiente tanto de las especies presentes (siendo la menor en *Avicennia marina*) como del lugar donde se hizo el muestreo. En nuestro caso, el

factor localización hizo aumentar la densidad de esporas hasta un 400% de la zona 1 a la zona 2. En otro estudio el grado de colonización de las HFMA por las especies del manglar fue aún más bajo, entre el 0 y 17%, apuntando además a que la presencia de HFMA en tejidos del cortex del aerénquima sugiere que los mangles podrían ayudar y favorecer la supervivencia de estas micorrizas al suministrarles oxígeno (Kothamasi et al. 2006). En general se ha descrito cómo el grado de colonización de las HFMA se ve afectado negativamente por el crecimiento en situaciones sumergidas tanto debido a la inundación (anoxia) como a la salinidad en medios salinos incluyendo a los manglares (Sengupta and Chaudhuri 2002; Sengupta and Chaudhuri 1990; Brown and Bledsoe 1996), si bien en nuestro estudio no aparecen diferencias significativas de densidad de esporas entre zonas de manglar sometidas a inundación y zonas de bosque seco adyacentes.

Un factor a tomar en cuenta que puede condicionar la presencia de esporas de HFMA es la diversidad de especies vegetales. En nuestro caso, en la zona 1 muestreada la especie predominante fue *Avicennia germinans* y en la zona 2 fue *Laguncularia racemosa*. Ambas especies tienen mecanismos para hacer frente a la salinidad presente en su entorno, siendo más efectiva *A. germinans* ya que es una de las especies que mejor crece y tolera ambientes con altas concentraciones de salinidad por tener la capacidad de excretar el exceso de sal a través de sus glándulas en las hojas. En cambio, *Laguncularia racemosa* es una planta halófito que crece en ambientes salinos, pero se desarrolla mejor en ambientes con concentraciones bajas de salinidad. Por tanto, la alta cantidad de esporas en la zona 2 podría estar relacionada con la mayor abundancia de *L. racemosa*, de hecho, hay estudios que atribuyen a los HFMA un efecto protector sobre la planta frente situaciones de estrés tanto biótico como abiótico (Davies et al. 1992). En este sentido Allen and Allen (1986) encontraron que el efecto positivo de la micorriza sólo se manifiesta durante periodo de estreses. Estudios realizados con lechuga expuestas a estrés salino aumentaron su contenido en prolina (osmolito importante para responder ante el estrés osmótico) como consecuencia de salinidad y fue considerablemente menor en plantas colonizadas por *Glomus*, sugiriendo que los mecanismos por los cuales estos hongos alivian el estrés salino puede estar basados en procesos fisiológicos como un incremento en la tasa de intercambio de CO₂, una mayor transpiración, conductancia estomática y eficiencia en la utilización de agua (Ruiz-Lozano et al. 1996). Esto podría indicar que *L. racemosa*, que crece en la zona 2 con una mayor cantidad de esporas en el suelo lo que sugiere mayor grado de micorrización, podría estar soportando un mayor estrés osmótico que *A. germinans* creciendo en

la zona 1, ya que no dispone de la capacidad excretora del exceso de sal de *L. racemosa*. Sin embargo, al comparar el contenido salino del medio con el número de esporas vemos que esto no es así.

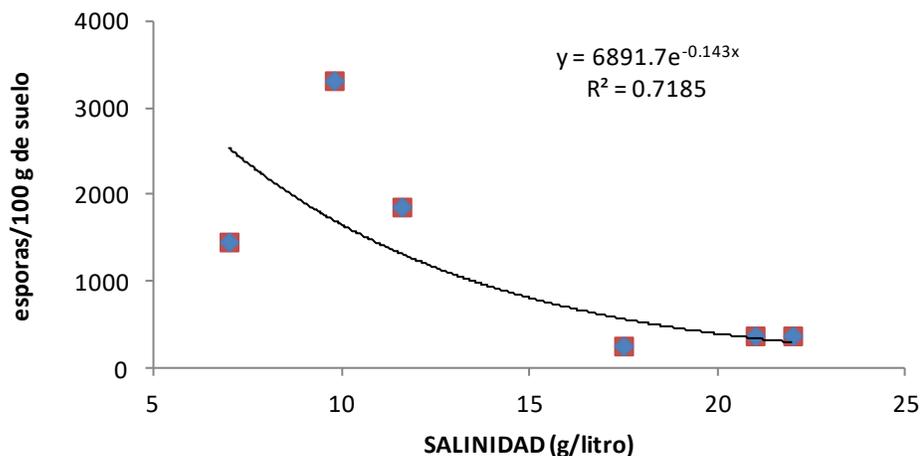


Figura 16. Relación entre la salinidad del suelo del manglar y el número de esporas en los 6 puntos muestreados.

Como la salinidad del medio puede tener un efecto directo en el contenido de esporas de HFMA se comparó el número de esporas con la salinidad en los 6 puntos del manglar donde se realizó el muestreo (zona 1 y zona 2) observándose una correlación inversa entre el número de esporas y la salinidad Fig. 16 ($R^2=0.72$, $p<0.05$), lo que parece indicar que la salinidad reduce proporcionalmente el número de esporas de HFMA. Este resultado concuerda con Roda et al. (2008) en los que describe que en general la abundancia de micorrizas se reduce en ambientes salinos. Igualmente ha sido descrito en condiciones de laboratorio que la salinidad inhibe la germinación de esporas de HFMA, la colonización de raíces por el hongo y la formación de estructuras funcionales (Juniper and Abbott 2006). Concretamente en manglar, la frecuencia de la colonización por HFMA aumentó cuanto menor fue la salinidad del medio (Sengupta and Chaudhuri 2002). Sin embargo, otros estudios han mostrado una gran abundancia de esporas y micorrizas en plantas de ambientes salinos (Carvalho et al. 2001; Neto et al. 2006). Nuestros resultados parecen indicar que la salinidad del suelo del manglar puede ser un factor decisivo y limitante en el establecimiento y éxito de la micorrización.

4. CONCLUSIONES

La composición de los pigmentos de las especies del bosque seco está afectada tanto por factores internos (la biología y ecología de las especies) como externos (condiciones ambientales) y en general este capítulo confirma la necesidad de protección y por lo tanto un aumento de la capacidad fotoprotectora de las especies del bosque seco de la estación seca. Es de destacar, la presencia del pigmento Lx (pigmento no ubicuo) que se ha encontrado en todas las especies muestreadas del bosque seco, confirmando la presencia cuasi-ubicua de este pigmento en las especies tropicales. Por último, nuestros resultados indican unas grandes diferencias en la densidad de esporas en suelos del bosque seco y manglar en las distintas zonas estudiadas, disminuyendo en el caso del manglar al aumentar la salinidad del suelo.

Capítulo V.

RESPUESTAS FOTOPROTECTORAS DE LAS ESPECIES DEL MANGLAR

1. INTRODUCCIÓN

Nicaragua alberga hasta 68 tipos de ecosistemas de los cuales destacan, los bosques y ecosistemas acuáticos, tanto de agua dulce como salada. Entre los bosques destacan por su singularidad los manglares en ambas costas del país. Los manglares del Pacífico se ubican desde el sur del Golfo de Fonseca hasta Puerto Sandino, formando parte del Bosque seco de Centro América. Los ecosistemas del manglar juegan un papel importante en la ecología de las costas, en la economía del país, y constituyen además un acervo genético fundamental para una comunidad diversa de plantas y animales que son importantes como patrimonio de la región, lo cual incrementa su valor científico, turístico y educativo (Yáñez–Arancibia and Lara–Domínguez 1999).

La salinidad es un factor vital que regula el crecimiento y distribución de los manglares (Ball et al. 1988), pero también influye la temperatura alta, el aporte de agua dulce y cualquier cambio a estas condiciones genera cambios en su zonación teórica. En general, dentro del bosque de mangle, se aprecian cuatro tipos de asociaciones de especies claramente definidos: *Rhizophora* ocupando la banda más cercana al mar, *Laguncularia* y *Avicennia* en la parte media y *Conocarpus* más al interior (MARENA 2010, Fig. 1). Es decir, las especies del género *Rhizophora*, la que alcanza su máximo desarrollo en los lugares donde hay más influencia de las mareas es *R. mangle*, no siendo así para *R. harrisonii* y *R. racemosa* que prefieren zonas con menor influencia de la marea. *Avicennia germinans* predomina en zonas áridas e hipersalinas (Cintron et al. 1978). *Laguncularia racemosa* soporta altos contenido de sedimentos y casi siempre situados en zona con inundación mareal muy limitada y *Conocarpus erectus* se desarrolla en zonas de influencia costera, pero rara vez inundada por el mar. Es de destacar, que la biomasa de los bosques de manglar varía con la edad, la especie dominante, e incluso la localidad, y de hecho su reparto de biomasa, junto con su producción primaria neta y la respiración del suelo les convierte en ecosistemas altamente productivos y en eficientes sumideros de carbono (Komiyama et al. 2007).

Las especies del manglar al estar en contacto continuo con agua de mar son especies halófitas, completando su ciclo vital en estos ambientes (Ortolá 2002). Pero no todas las plantas halófitas se comportan de la misma forma ante la salinidad. Algunas de ellas son capaces de tolerarla (halófitas estrictas), mientras que otras no necesitan la sal como factor imprescindible para su correcto funcionamiento (halófitas facultativas o de subsistencia) (Braun-Blanquet 1979). Las especies halófitas facultativas pueden crecer en ambientes salinos, pero su crecimiento

óptimo ocurre en ambientes libre de sal o con niveles de salinidad bajos. No requieren de agua salada para sobrevivir, pero son capaces de tolerar altas concentraciones de salinidad (Mitsch and Gosselink 2000). Las halófitas estrictas se definen como plantas que tienen un crecimiento óptimo con concentraciones moderadas o altas de salinidad y que son incapaces de crecer en bajas concentraciones de salinidad o agua dulce (Ungar 1978; Mitsch and Gosselink 2000; Sabovljević and Sabovljević 2007). Sin embargo, no existe un consenso respecto a la naturaleza halófitas estricta o facultativa (obligatoria o de subsistencia) de estas especies. Existen dos visiones (Wang et al. 2011):

i) Las especies arbóreas del manglar son halófitas facultativas, la sal no es requerimiento para su crecimiento (Chapman 1975; Mohammadzadeh et al. 2009). El agua dulce es un requerimiento fisiológico, mientras que el agua salada es un requerimiento ecológico (Saenger 2002). Lo primero evita el exceso de pérdidas respiratorias y este último evita la invasión y competencia de las no halófitas. Debido a que son capaces de crecer en áreas de agua dulce, la sal no es un elemento fisiológico requisito para su desarrollo (Chapman 1975; Mohammadzadeh et al. 2009). Los manglares no pueden desarrollarse en comunidades de agua estrictamente dulce, debido a la competencia por el espacio de plantas vasculares de agua dulce y porque los manglares tienen ventajas competitivas sobre otras plantas en áreas de agua salada. (Tomlinson 1986).

ii) Los manglares no pueden crecer permanentemente en agua dulce y la sal es un requerimiento fisiológico.

Por otro lado, la salinidad limita la fotosíntesis de los manglares (Ball and Pidsley 1988), y esta limitación vendrá determinada por la tolerancia interespecífica de cada una de las especies. Sin embargo, está descrito que esta tolerancia puede cambiar con la relación con la luz (Krauss et al. 2008), ya que por un lado existe la posibilidad de que las hojas se fotoinhiban (Björkman et al. 1988) y por otro, se ha descrito un efecto interactivo de la salinidad y la luz (Krauss and Allen 2003), por eso es imprescindible conocer la respuesta de las hojas de sol y sombra de las especies del manglar, expuestas a una salinidad creciente.

Es por ello, que el presente estudio presenta tres objetivos: I) evaluar la supervivencia, el crecimiento inicial y las respuestas fisiológicas, a la salinidad creciente del suelo del manglar en las especies presentes en IJV en condiciones semi-controladas, II) analizar la respuesta

fotoprotectora de las especies del manglar en campo, y III) definir la respuesta halófito-estricta o facultativa de las especies basándonos en su respuesta ecofisiológica.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Diseño experimental

Este capítulo es el compendio de 3 diseños experimentales encaminados a elucidar los objetivos planteados en el apartado de introducción. Los diseños experimentales se han ordenado en respuesta a los objetivos específicos antes expuestos.

a) Experimento 1. Efecto de la salinidad en las especies del manglar en condiciones semi-controladas (en respuesta al objetivo específico I y III)

Se recolectaron 100 propágulos de las especies *Rhizophora mangle* (L), *Avicennia germinans* (L) y *Laguncularia racemosa* L. C.F. Gaerth del estero de la Reserva Isla de Juan Venado (IJV), (Nicaragua, (12°22'N, 87°01'W). En paralelo se determinó la salinidad del estero (proporcional a la del suelo) en zonas cercanas a las especies. Estos propágulos se germinaron en placas Petri con un papel húmedo. Una vez germinados los propágulos se procedió a sembrarlos en suelo procedente del Jardín Botánico Ambiental de la UNAN-León, (suelo con bajo contenido de sal, 700 mg NaCl kg⁻¹ suelo) en un ambiente semicontrolado en macetas con medidas de 60x30x20 cm (largo/ancho/alto) y se colocaron en un invernadero donde la temperatura oscilaba entre los 30 y 35 °C. El ensayo se realizó en noviembre-diciembre del 2015, tiempo que abarca desde el día de la recolecta de propágulos hasta el último día de toma de datos en el experimento (21 días de tratamiento). Se utilizaron un total de 72 propágulos por especie, que se regaron durante 21 días con agua con 3 concentraciones de sal, equivalentes a 100, 50 y 0‰ (35 g/L, 17.5 g/L y 0 g/L respectivamente) de la salinidad del agua de mar.

Por otra parte en el laboratorio analítico del Dpto. Biología Vegetal y Ecología, UPV/EHU, Leioa, Bizkaia, se procedió a evaluar la sobrevivencia de propágulos de *L. racemosa* y *A. germinans* en 5 concentraciones de sal equivalentes a 200, 100, 50, 25 y 0‰ (70 g/L, 35 g/L, 17.5 g/L, 8.75 g/L y 0 g/L respectivamente) de la salinidad del mar, se utilizaron bandejas con perlita como sustrato para cada concentración de salinidad, colocándose por cada concentración 15 propágulos de cada especie, a los 10 días se tomaron los datos de sobrevivencia, mientras que la longitud del propágulo y longitud de la raíz principal se

realizaron a los 18 días. Los datos de sobrevivencia se obtuvieron a los 7 días de haber sido colocadas las semillas (Fig.1) en las bandejas con las diferentes concentraciones de salinidad; el criterio para tomar la sobrevivencia de ambas especies fue la presencia de propágulo.



Figura 1. Semillas con propágulo en *A. germinans* (A) y *L. racemosa* (B)

Este experimento, se completó con el análisis de la capacidad fotosintética y la capacidad de responder a la luz de los propágulos de *Rhizophora* (es decir, si eran fotosintéticamente activos). Para ello se realizaron discos mediante cortes trasversales y se midió la eficiencia fotoquímica en muestras en oscuridad (16 h) y tras exponer los propágulos a una irradiancia de $300 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 30 minutos. Esta dosis fue suficiente para inducir un decrecimiento significativo en la eficiencia fotoquímica en plantas adaptadas a oscuridad. La iluminación fue producida por un proyecto de metal halógeno de 500 W (modelo 906609, Massive, Barcelona, Spain). La radiación infrarroja se redujo usando un vidrio grueso cubierto con agua.

b) Experimento 2. Respuesta de las hojas de sol y sombra en las especies del manglar durante la estación lluviosa (más favorable) (en respuesta al objetivo específico II y III)

Se colectaron hojas de sol y sombra (hojas de sol con orientación al sur y las de sombra orientación al norte) de las especies *Avicennia germinans*, *Laguncularia racemosa* y *Rhizophora mangle* de la IJV en la estación lluviosa (mayo-octubre) (menos estresante en el clima tropical estacional). Las hojas se cosecharon y se determinó la máxima eficiencia fotoquímica del PSII mediante el

parámetro Fv/Fm (tras incubación en oscuridad 16 h), para obtener condiciones comparables (Tausz et al. 2003) y el índice de masa foliar basado en área (LMA; g m⁻²) de las hojas. Para la determinación del contenido de pigmentos y tocoferoles se obtuvieron discos de hojas con un sacabocados. El muestreo se realizó en mediodía. Se colocaron en sobres con silica gel, según el protocolo de Esteban et al. (2009a), para ser transportadas 2 semana después al laboratorio analítico (Dpto. Biología Vegetal y Ecología, UPV/EHU, Leioa, Bizkaia) donde se congelaron en nitrógeno líquido y se guardaron a -80 °C hasta su análisis por HPLC.

c) Experimento 3. Pigmentos fotosintéticos en hojas de sol y sombra en las especies del manglar durante la estación seca. (en respuesta al objetivo específico II y III).

El experimento b, se complementó con material recolectado en la estación seca. Está vez se utilizó un abanico más extenso de especies vegetales, en concreto se usó material vegetal de hojas de las siete especies de mangle presentes en la IJV *Rhizophora mangle*, *R. racemosa* G. Mey, *R. harrisonii* Leechm, *Avicennia germinans*, *A. bicolor* Standl, *Laguncularia racemosa* y *Conocarpus erectus* L. El muestreo se enfocó en los pigmentos fotosintéticos siguiendo el protocolo usado en el apartado b y se realizó en la época más estresante, la estación seca (abril-2014)

2.2. Determinación de la salinidad del suelo

La salinidad del suelo de la zona de manglar se realizó tomando muestras de suelo en tres zonas a lo largo de un transepto (partiendo del litoral del manglar junto al estero hacia el límite del bosque de manglar junto al bosque seco (Fig. 3). Las muestras de suelo fueron tomadas de los cuatros estratos de bosques de *Avicennia*, *Conocarpus*, *Laguncularia* y *Rhizophora*. En cada zona y especie se recolectaron 3 muestras independientes (n=3). El muestreo se llevó a cabo en la estación seca y en la estación lluviosa. Se realizó mediante unos cilindros de 10 a 20 cm de profundidad, y las muestras se colocaron en bolsas herméticas. Una vez en el laboratorio se limpió para que estuviese libre de hojarasca o cualquier residuo presente, luego se secó en un horno a 110 °C durante 72 h. Las muestras de suelo seco (25 g diluidas en 100 mL de agua destilada) se utilizaron posteriormente para determinar la conductividad eléctrica con un conductímetro (GLP 31/32, CRISON, ALELLA – Barcelona, España).

2.3. Determinación del reparto de biomasa y medidas biométricas

La toma de datos se realizó a los 21 días en distintas concentraciones de 100, 50 y 0 % de salinidad. Para tomar los datos de biomasa se efectuó el peso total de cada planta. Luego se seccionó cada planta en 3 partes, raíces, tallo y hojas, a los cuales se les hizo peso fresco para luego dejarlas secando en la estufa a durante 72 horas a 80 °C. Una vez seca las muestras se calculó el peso seco de estas para obtener el LMA (peso/área de hoja). Los datos de longitud del propágulo y longitud de raíz principal del experimento de los propágulos se realizaron con una regla milimetrada medidos a los 18 días del ensayo. En los resultados se han calculado los siguientes parámetros: fracción masa (FM, peso seco de los órganos entre el peso total) y fracción de masa foliar (LMF, peso seco de la hoja entre el peso total)

2.4. Determinación de la eficiencia fotoquímica

Se realizó en distintas especies y partes de la planta, según el diseño experimental (ver más detalles en el apartado 2.1). En experimento 2 se usaron hojas de *A. germinans*, *Laguncularia racemosa* y *R. mangle*; y en el experimento 1 se usaron propágulos de *R. mangle*.

Para el experimento 2 se empleó un fluorímetro portátil FluorPen FP 100 (Photon System Instrument, Brno, Czech Republic). El parámetro medido fue F_v/F_m , que estima la máxima eficiencia fotoquímica del PSII que indica la proporción de la luz captada por las antenas del PSII que alcanza el centro de reacción. Anterior a las medidas, las hojas fueron adaptadas a oscuridad por una noche (14 h), para permitir la completa relajación u oxidación de los centros de reacción para determinar F_o . Para la excitación, se utilizan filtros de paso de banda de diodos emisores de luz con 697-750 nm provisto de 3000 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en las muestras de hojas, y así se determinó F_m . La eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II se estimó mediante $F_v / F_m = (F_m - F_o) / F_m$.

Para el experimento de los tallos fotosintético se empleó un fluorímetro de imagen FluorCam FC 1000-H (Photon System Instrument, Brno, Czech Republic), siguiendo el protocolo de Nedbal et al. (2000) y usándose propágulos de *Rhizophora mangle* como material vegetal. Se hicieron dos tratamientos, plantas aclimatadas a la oscuridad por un período de 18 horas, y plantas expuestas a radiación (ver detalles en el diseño experimental). Las imágenes de eficiencia fotoquímica (F_v/F_m) fueron capturadas antes en plantas aclimatadas a la oscuridad y

después con tratamiento de luz. La fluorescencia fue detectada por una cámara de alta sensibilidad acoplada a una carga equipada con una F 4.5-10 mm, con objetivo 1:1.6, que produce imágenes en una escala de grises de 12 bits. Los pixeles de los parámetros de la fluorescencia se muestran como un código de color que varía de negro (0.4) a gris blanco (0.8), si bien pueden ser visualizados en escala de falso color. El instrumento es impulsado por el paquete de software FluorCam (FluorCam6). Las imágenes del nivel de la fluorescencia aclimatada a oscuridad F_0 , se determinaron utilizando mediciones de destellos. Luego un pulso de duración de 800 ms de radiación de luz saturada ($2000 \mu\text{mol fotón m}^2 \text{s}^{-1}$). El nivel de fluorescencia máxima F_m se midió durante el pulso de la luz saturante utilizando 12 mediciones para mejorar la relación señal/ruido, tanto F_0 como F_m , se promediaron. El equipo proporciona datos sobre la imagen de la planta que se realiza la medida y que pueden ser visualizados tanto numéricamente como en imagen de falso color (Fig. 2).

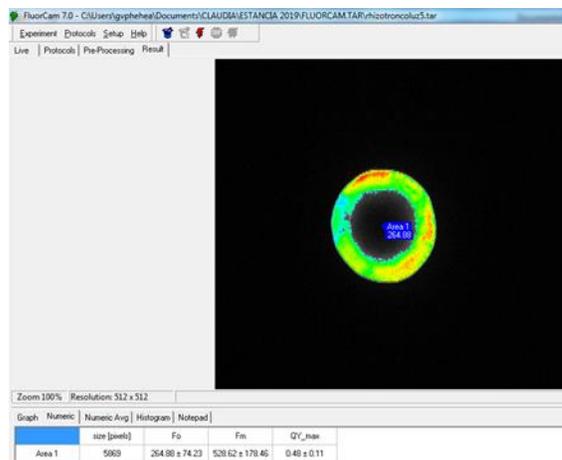


Figura 2. Ejemplo de la medición de F_v/F_m en discos del propágulo de *R. Mangle*. empleando el fluorímetro de imagen. Cada pixel de la foto se corresponde con un valor de F_v/F_m (Nedbal et al. 2000)

2.5. Determinación de las curvas de inducción de la clorofila *a*

Se emplearon las especies de *A. germinans*, *R. mangle* y *L. racemosa*, haciéndose medidas sobre las hojas. Antes de realizar las mediciones las plantas fueron tratadas con anticipación con salinidad, tal y como se ha descrito previamente. Antes de la medición de las curvas de inducción de la fluorescencia, las plantas se dejaron en oscuridad por un período de 18 horas y así obtener condiciones comparables (Tausz et al. 2003), para luego ser medidas con un FluorPen FP 100 (Photon System Instrument, Brno, Czech Republic). La determinación de la medida de curvas

de inducción de la fluorescencia imita el rendimiento fotosintético (Strasser et al. 2000). Esta técnica permite una estimación del rendimiento fotosintético y denota el flujo de energía a través del fotosistema II, que es una firma altamente sensible de fotosíntesis (Strasser et al. 2000). Para una revisión más detallada vea Strasser et al. (2000, 2004) y Stirbet and Govindjee (2011). La fluorescencia transitoria fue inducida y registrada durante 2 s a una frecuencia de 10 μ s, 100 μ s, 1 ms, y 10 ms por un intervalo de 10-600 μ s, 0.6-14 ms, 14-100 ms y 0.1-2s respectivamente. Los valores de fluorescencia a 40 μ s (F_0 , fase 0, todos los centros de reacción del fotosistema II son abiertos), 100 μ s (F_{100}), 300 μ s (F_{300}), 2 ms (fase J), 30 ms (fase I), y máxima (FM, fase P, cierre de todos los centros de reacción) fueron tomados en consideración. Los puntos cardinales de la curva OJIP y parámetros derivados fueron calculados con el Fluorpen 2.0 software, basado en la teoría de los flujos de energía en biomembranas por las fórmulas derivadas de Strasser et al. (2000, 2004). Se han considerado los siguientes parámetros de fluorescencia de los datos extraídos: 1) Datos normalizados V_j ($F_j - F_0 / FM - F_0$) y V_i ($F_i - F_0 / FM - F_0$); 2) rendimientos cuánticos y eficiencias; 3) flujos específicos por centro de reacción activo (RC), por absorción (ABS/RC), captura (TR0/RC), transporte de electrón (ET0/RC) y disipación (DI0/RC). Hemos analizado el índice de rendimiento $PiAbs$, el cual es el índice de rendimiento potencial para la conservación de energía de los fotones absorbidos por el fotosistema II para la reducción de aceptores de electrones entre sistemas. Los puntos de la curva de la inducción de la fluorescencia (OJIP) se calcularon con software Fluorpen 2.0 basado en la teoría de los flujos de energía en las biomembranas por las fórmulas derivadas de Strasser et al. (2000, 2004). Más detalles en el ANEXO I.

2.6. Determinación de pigmentos

Los compuestos fotoprotectores se extrajeron triturando las hojas en un mortero frío con 1 mL de acetona (100%) con 0.5 g/L de $CaCO_3$, para evitar trazas de ácido que podrían alterar los pigmentos. Las muestras se centrifugaron a 12000 rpm durante 20 min a una temperatura de 4 °C y filtrada en una jeringa a través de filtro PTFE de 0.22 μ m (Whatman, Maidstone, UK). Los extractos se inyectaron (15 μ L) en un HPLC equipado con una columna C18 de fase reversa (Waters, Milford, MA, USA) siguiendo el método de García-Plazaola and Becerril (1999) con algunas modificaciones (García-Plazaola and Becerril 2001; García-Plazaola and Esteban 2012). El autoinyector 717 plus fue equipado con un termostato que mantiene la temperatura constante a 4 °C evitando la alteración del pigmento. Los pigmentos fotosintéticos

fueron medidos mediante un detector PDA (Waters model 996) en el rango de 250-700 nm. Los picos se detectaron e integraron a 450 nm para determinar el contenido de carotenoides y clorofila. Los pigmentos fueron identificados y cuantificados de acuerdo con García-Plazaola and Becerril (1999). Los tiempos de retención y los factores de conversión para los pigmentos fueron los mismos que los descritos por García-Plazaola and Becerril (1999, 2001). Para los tocoferoles, la detección se llevó a cabo con un detector de fluorescencia (Waters model 474) ajustado a una $\lambda_{exc} = 295$ nm y $\lambda_{em} = 340$ nm y calibrado con estándares de tocoferol (Calbiochem, San Diego, CA). Es importante destacar que nuestro sistema cromatográfico no separa los isómeros γ y β del tocoferol. Por sencillez, se denominará γ -tocoferol a estos dos compuestos.

2.7. Análisis estadístico

Las diferencias entre los tratamientos se evaluaron con ANOVA de una vía y prueba post-hoc de Student-Newman-Keuls. Para comparar el efecto en los parámetros de las hojas de sol y sombra se realizó una prueba t-student. Para el apartado 3.3. se ha realizado un análisis de la varianza de doble vía, considerando la luz y la salinidad como factores fijos. Todos los datos fueron probados para normalidad (prueba de Kolmogorov–Smirnof) y homogeneidad de varianzas (prueba de Cochran) y transformación logarítmica si es necesario. Cuando esto no cumplió, se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Los valores p resultantes se consideraron estadísticamente significativos a $\alpha=0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Zonación del manglar

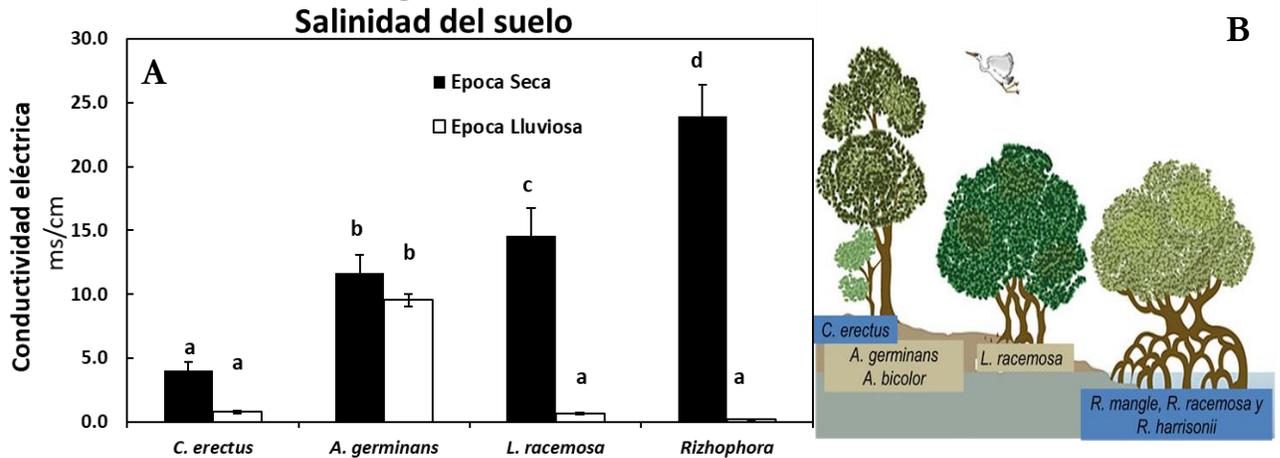


Figura 3. Zonación del manglar en RJV. Conductividad eléctrica (ms/cm) en el suelo de manglar en la estación seca y estación lluviosa para las especies *C. erectus*, *A. germinans*, *L. racemosa* y las tres especies del género *Rhizophora*. Media \pm SE (n=3). Las diferentes letras indican diferencias significativas $\alpha = 0.05$ tras realizar el test post hoc SNK. (A). Distribución de las especies del manglar (B), recuperado de <https://ecoexploratorio.org/vida-en-el-mar/ecosistemas-marinos/manglares/#prettyPhoto>.

Como se ha explicado en la introducción, las especies del manglar se distribuyen en relación a una zonación, tal y como se muestra en la figura 3B, donde se puede observar la distribución de las especies (empezando con *R. mangle* cerca del estero, terminando con *C. erectus*, especie que se encuentra más alejada del estero). Para comprobar que esta zonación se correspondía realmente con valores crecientes de salinidad en el estero de nuestra zona experimental (desde *C. erectus* hasta las especies de *Rhizophora*) se realizó la medida de la conductividad en el suelo cercano a cada uno de los grupos de especies, tanto en la estación seca, como en la lluviosa. Los valores de conductividad del manglar oscilaron entre 4.04 y 23.90 mS/cm en la época seca para *C. erectus* y *R. mangle* respectivamente. Mientras en la época lluviosa los valores bajaron entre los 0.19 para *C. erectus* y 9.53 mS/cm en *A. germinans*. En la época seca la especie con mayor presencia de salinidad fue *R. mangle*, seguida por *L. racemosa* y la menos afectada fue *C. erectus*. En cambio, para la época lluviosa *R. mangle* presentó la menor cantidad de sal en suelo mientras que *A. germinans* es la que tuvo mayor presencia de sal en el suelo en época lluviosa con 9.53 mS/cm. Sin embargo, su contenido de sal no varió significativamente en las dos épocas del año, a como sí se observó en las especies de *Rhizophora* y *Laguncularia* (Fig. 3A). De hecho, durante la estación seca se observó una clara relación entre la distancia al estero y el contenido salino del suelo del manglar, teniendo mayor concentración de salinidad la zona con

presencia de *Rhizophora* y *L. racemosa* lo que se debe a que estas especies al estar más cerca al estero son las que están en mayor contacto con el agua salina del estero que el resto de las especies. Estos datos muestran que efectivamente la salinidad va aumentando en el estero, y por lo tanto existe una zonación de la concentración de sal, a la que las especies están expuestas (Moreno-Casasola and Infante-Mata 2016).

Cualquier zonación está sujeta a la topografía local, la cual determina los patrones de escorrentía (agua salina y dulce), y por la composición y estabilidad del sedimento (Zinke 1976; Tomlinson 1986; McKee 1993) y de hecho el contenido salino del suelo del manglar obedece a dos factores fundamentales: (i) el primero es la influencia del agua dulce provenientes de ríos y la del agua salina del mar, el cual se ha descrito en el párrafo anterior. (ii) El segundo factor que determina el contenido salino del suelo en el manglar es el régimen de precipitaciones que sigue una dinámica estacional. Sólo se obtuvieron diferencias en la concentración de sal entre las dos estaciones (seca-húmeda) para las especies del género *Laguncularia* y *Rhizophora*. La razón por la que la salinidad varía de la estación seca a lluviosa, es que las lluvias lavan el contenido de sales del suelo y agua del estero. La alta salinidad en zona de manglares con abundantes *Rhizophora* se debe a que los suelos son moderadamente reductores y con baja concentración de sulfuros McKee (1993). En cambio, el contenido de salinidad del suelo en la estación lluviosa, la relación salinidad con el estero cambia y la zonación con mayor concentración de sales es la que tiene cobertura de *A. germinans*. Este hecho, explica el por qué esta especie presenta los valores más altos de conductividad en la época lluviosa. Esto es debido a la topografía del lugar donde se encuentran establecidos los rodales de *A. germinans*, que acompañado de mareas más altas y precipitaciones en la estación lluviosa el agua queda acumulada y con ello la evaporación hace la formación de costras de sal en el suelo donde predomina esta especie. Seguramente tal característica constituye un factor limitante para la existencia de las otras especies de mangle (Trejo-Torres et al. 1993; Jiménez-Bueno 1994; Sánchez-Argüelles 1994). Todo esto puede tener repercusiones en el crecimiento de las distintas especies de mangles que podrían mostrar distinto patrón de crecimiento en la estación seca y lluviosa. Y, además, ambas especies expuestas a concentraciones salinas estacionales (*Laguncularia* y *Rhizophora*) deberán ser suficientemente plásticas para adaptarse a esta variabilidad y cambio en sus condiciones ambientales (Nicotra et al. 2010).

3.2. Evaluar las respuestas fisiológicas a la salinidad creciente del suelo del manglar

3.2.1 Supervivencia de propágulos de *L. racemosa* y *A. germinans* en diferentes concentraciones de salinidad.

El océano tiene aproximadamente una concentración de sal de 35 g/L, que varía dependiendo las mareas, la evaporación y la entrada de agua dulce, pero en general la concentración de sal llega a un 86% de NaCl (Ball 1996), lo cual implica que las especies del manglar tienen mecanismos de evasión y tolerancia para poder sobrevivir en sus estados más sensibles (como pueden ser los estadios iniciales) a la salinidad (Krauss et al. 2008).

A continuación, se muestra el porcentaje de mortalidad (Fig. 4A), las longitudes de los propágulos y raíz principal (Fig. 4C) de las especies *A. germinans* y *L. racemosa* del experimento de salinidad en condiciones semi-controladas (ver más detalles en Materiales y Métodos).

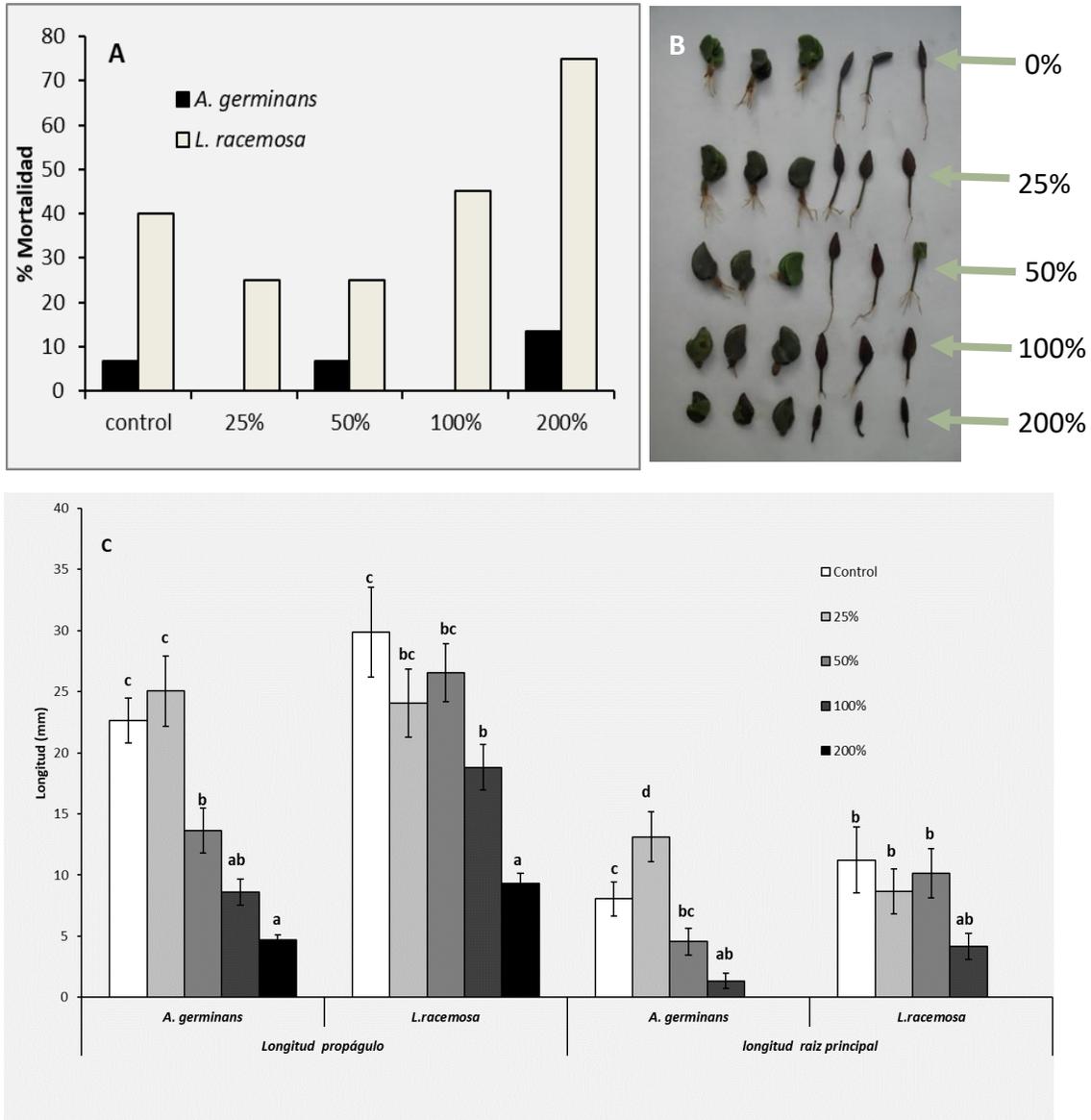


Figura 4. Porcentaje de mortalidad de *A. germinans* y *L. racemosa*. Los porcentajes de salinidad (control, 25, 50, 100 y 200%) están en relación con la salinidad del agua de mar (A). Propágulos de *A. germinans* y *L. racemosa* (de izquierda a derecha respectivamente) (B). Longitud de propágulos y de la raíz principal. Media \pm SE (n=15). Las diferentes letras indican diferencias significativas $\alpha = 0.05$ tras realizar el test post hoc SNK en cada una de las especies y cada uno de los parámetros.

En las distintas concentraciones de salinidad *L. racemosa* es la especie que presenta mayor porcentaje de mortalidad sobre todo en las concentraciones del 0, 100 y 200%, teniendo menor porcentaje de mortalidad en la concentración del 25%, indicándonos que es una especie que necesita una determinada concentración de salinidad para su sobrevivencia, es decir su estrategia

vital está ligada a la salinidad. Según las definiciones de Wang et al. (2011), esta especie será halófita estricta (al menos en su primera fase de crecimiento, durante la germinación), pero con concentraciones de sal de menores a la salinidad del mar. Esto coincide con el hecho de producción de semillas. Es decir, aunque esta especie presenta producción de semillas y germinación de éstas durante todo el año, es en la estación lluviosa cuando la especie presenta mayores tasas de germinación (observación personal). Además, basándonos en su distribución en el manglar, está descrito que los requerimientos salinos de esta especie son de bajas concentraciones (Weishaupl 1981).

Por otro lado, *A. germinans* mostró su mayor mortalidad en la concentración del 200%, seguida por la del 50 y 0%, teniendo mayor porcentaje de sobrevivencia en las concentraciones del 25 y 100%, aun teniendo mortalidad en las otras concentraciones. Estos resultados indican que *A. germinans* es una especie que puede tolerar mayor porcentaje de salinidad en comparación a *L. racemosa*, lo cual coincide con su distribución en el bosque de mangle, más expuesta a la salinidad. Nuestros datos también indican que esta especie es halófita estricta, al menos es sus primeras fases de germinación.

Tras el experimento de germinación, se seleccionaron los propágulos que sobrevivieron para evaluar su crecimiento a diferentes concentraciones de salinidad (ver más detalles en materiales y métodos). Los resultados mostraron que las diferentes concentraciones de salinidad afectaron en el desarrollo del propágulo y raíces de las distintas especies del manglar a salinidad en porcentajes mayores al 50% (Fig. 4B). La Figura 4C nos muestra que *A. germinans* tuvo mejor desarrollo de propágulo con 25 mm y raíz principal con 13 mm en la concentración del 25%. Mientras *L. racemosa* tuvo su mayor longitud de propágulo con 28 mm y raíz principal 10 mm en la concentración del 0%, seguida por la del 50%. *Laguncularia racemosa* y *A. germinans* no presentaron raíz en concentraciones del 200%. Parece indicar que *L. racemosa* cambie su estrategia frente a la salinidad una vez germinada, pasando a ser halófita facultativa, ya que crece más en condiciones sin sal. El cambio de estrategia de las especies en sus diferentes estadios (germinación, vegetativo y reproductivo), ha sido descrito para diversas especies halófitos (Debez et al. 2004), y también para las especies del manglar, en las que se concluyó que la salinidad óptima varía con la edad de la plántula (Kutchings and Saenger 1987). En resumen, *Avicennia germinans* sobrevive y crece bien a concentraciones medias de salinidad, tal y como se ha descrito en otros trabajos (Dangremound et al. 2015).

Por otro lado, se analizó el crecimiento en diferentes órganos (hojas, tallo y raíz; Tabla 1) y el reparto de biomasa (Fig. 5) tanto en *L. racemosa* y *A. germinans* a diferentes concentraciones de salinidad.

En general, se obtuvo poco incremento (longitud y peso seco) de los diferentes órganos y, además, la respuesta fue diferencial en ambas especies (Tabla 1). Es de destacar, el crecimiento del tallo de 1.1 cm en *L. racemosa* a la concentración de 0.5 respecto la salinidad marina y su nulo crecimiento a concentración de la salinidad del mar, lo que coincide con los resultados obtenidos en el apartado anterior. Además, se obtuvo un aumento en el peso seco de la raíz y del peso fresco (datos no mostrados), en ambas especies en todos los tratamientos. Esto tiene sentido, ya que se encontraban en el estadio vegetativo de plántula, y sus recursos estarían encaminados en dedicarlos a aumentar el sistema radicular. Además, Komiyana et al. (2007) describió que las especies de manglar acumulan grandes cantidades de su biomasa en las raíces, comparado con la acumulación de biomasa área en individuos adultos.

Tabla 1. Incremento promedio del crecimiento (tanto en longitud como en peso) durante el experimento en condiciones semi-controladas en las especies del manglar *L. racemosa* y *A. germinans* (n=8). El incremento se ha calculado como la resta promedio de los valores en el día 21 menos los valores al inicio del experimento. Los colores en la tabla indican si ha habido incremento (verde) o no (azul).

Salinidad (relat.)	Δ longitud (21 días)(cm)			Δ Peso Seco (21 días)(g)(*100)		
	0	0.5	1	0	0.5	1
<i>Laguncularia racemosa</i>						
Raíz	0	0.9	1.0	0.5	0.7	0.52
Tallo	0.8	1.1	0	0.2	0.0	-0.1
Hojas	----	----	----	0.3	0.0	0.5
<i>Avicennia germinans</i>						
Raíz	1.0	0.9	0.0	0.48	0.68	0.25
Tallo	0.0	-0.2	0.0	0.0	0.23	0.21
Hojas	----	----	----	0.3	0.0	0.4

La evaluación del reparto de biomasa en hojas, tallo y raíces en los estadios vegetativos de las plantas puede ser fundamental, ya que está influenciado por la forma de crecimiento, el tamaño de la planta, su historia y su competición con el resto de individuos (Poorter et al. 2011).

Es por ello, que la Figura 5 muestra el reparto de biomasa (MF) de raíz, tallo y hojas (LMF) a un gradiente de salinidad creciente. Como se puede observar las hojas son las que presentaron mayor cantidad de biomasa, seguida por el tallo y por último la raíz, con un peso seco del órgano/peso total de 0.6, 0.3 y 0.1 g respectivamente en ambas especies. A pesar de haber sido sometidas a tratamientos con sal, en los tres tratamientos (100, 50 y 0%), no se ve efecto directo de la salinidad en la distribución de la biomasa de las especies. El estudio meta-analítico realizado por Poorter et al. (2011), muestra que, aunque la salinidad influya negativamente en la fotosíntesis y en la transpiración de las especies, apenas tiene efecto en el reparto de biomasa.

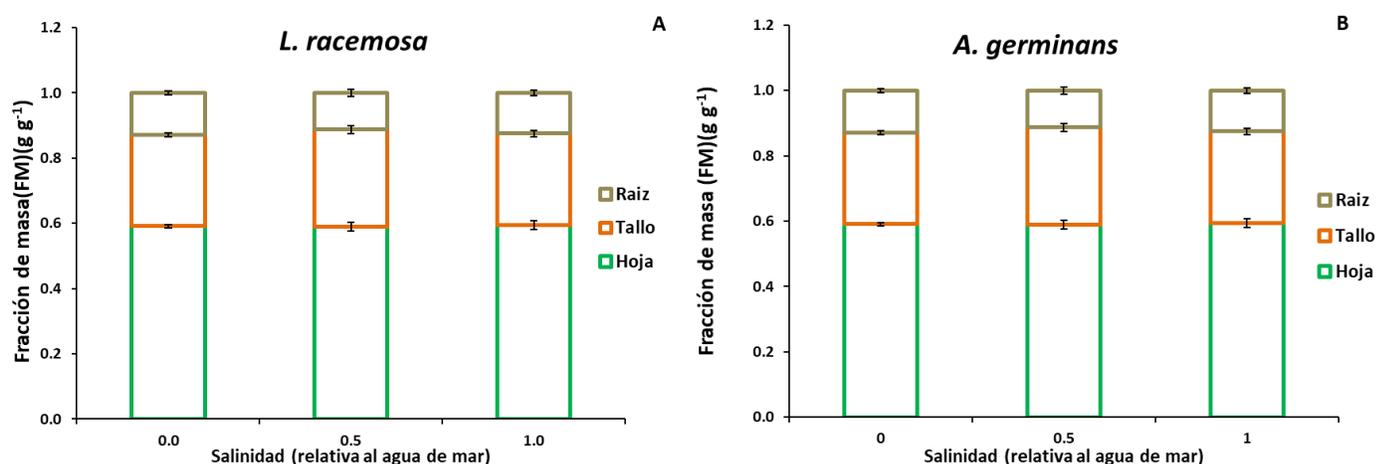


Figura 5. Distribución de biomasa, representado como fracción de masa, calculado como el peso seco del órgano entre el peso total (g g^{-1}), en diferentes órganos vegetales en tratamientos de salinidad del 100, 50 y 0%, para las especies de *L. racemosa* (A) y *A. germinans* (B). Media \pm SE ($n=8$). Tras realizar una ANOVA no se obtuvieron diferencias significativas entre el crecimiento a diferentes salinidades y en diferentes órganos.

En la tabla 2, se ha determinado el índice de plasticidad fenotípica (PI), como la división entre el valor más alto entre el valor más bajo para un rasgo funcional o parámetro vegetal (Valladares et al. 2006). Los PI obtenidos para la fracción de masa foliar (LMF) son iguales en ambas especies y además se asemejan al obtenido por Poorter et al. (2011), lo cual indica que las PI de estas dos especies es igual ante la salinidad creciente, y además que las especies tienen capacidad de adaptación fenológica a las condiciones ambientales. Este trabajo se ha realizado en 21 días, por lo que, al tratarse de especies arbóreas leñosas, se propone un futuro estudio a largo plazo como necesario para poder evaluar el reparto de biomasa y el crecimiento en las especies del manglar a diferentes concentraciones salinas.

Tabla 2. Índice de plasticidad al factor ambiental de la salinidad del rasgo de fracción de masa foliar (LMF) calculado el día 14 del experimento (grados de libertad=23). El índice de plasticidad se define como el mayor valor fenotípico entre el menor valor fenotípico en la respuesta de las especies al gradiente de salinidad. Se ha añadido el valor calculado por Poorter et al. (2011) para este rasgo mediante meta-análisis.

Índice de plasticidad	<i>Laguncularia racemosa</i>	<i>Avicennia germinans</i>
LMF	1.23	1.23
LMF (Poorter et al. 2011)		1.00

3.2.2. Respuesta fotosintética de *L. racemosa* y *R. mangle* a un gradiente de salinidad

Se considera que el fotosistema II desempeña un papel clave en la respuesta de la fotosíntesis al estrés ambiental (como puede ser el caso de la salinidad) y la inducción de la curva de la fluorescencia, la curva OJIP, es un método para investigar los eventos que ocurren en el fotosistema II (PSII). Esta técnica permite la evaluación *in vivo* del rendimiento de la planta en términos de parámetros biofísicos que cuantifican la conservación de la energía fotosintética (Strasser et al. 2000, 2004). La inducción de fluorescencia variable relativa (Fig. 6) no mostró diferencias entre los tratamientos de salinidad en la especie *L. racemosa* (Fig. 6A). Su respuesta es similar en las diferentes concentraciones de sal, lo cual indica que su aparato fotosintético no se ve afectado por la salinidad, aunque sí su crecimiento (resultados apartado 3.2.1). Se analizaron también los parámetros derivados de la curva (Fig. 7, Anexo I). En la figura 7 se observa que la especie *L. racemosa* (A) muestra valores de TRo/RC y ABS/RC más altos en valores obtenidos en muestras que estuvieron en 50% de salinidad, que las muestras control. Por otro lado, el parámetro ABS/RC fue más bajo a salinidad del 100%. Es de destacar, el parámetro Pi_abs, que es un parámetro que integra la densidad de los centros de reacción por PSII, la máxima eficiencia del PSII y el transporte de electrones en el PSII (Strasser et al. 2000), que disminuyó ligeramente en la salinidad al 100 % (si bien esta disminución no fue significativa). Por lo que *L. racemosa* presentó eficacia similar en la conservación de la energía desde los fotones absorbidos hasta su reducción en la cadena transportadora de electrones. Se ha descrito que las tasas fotosintéticas de las especies del manglar se sitúan en torno a 20 mmol CO₂ m⁻²s⁻¹ en condiciones favorables (Naidoo et al. 2002). Esta tasa a concentraciones salinas altas se ve restringida por las limitaciones estomáticas y no estomáticas (eg. bioquímicas) (Munns 2002), resultando en daños al PSII. En este trabajo, se ha demostrado que *L. racemosa* no presentó daños bioquímicos tal y como muestran los resultados del análisis de la curva de inducción de la clorofila. Este resultado está

en concordancia con los realizados por Ball (1999), en los que no se observó daño bioquímico en las especies de *Avicennia marina* y *A. germinans*, pero la reducción en la tasa fotosintética resultó en una mayor tasa fotorespiratoria (Sobrado and Ball 1999).

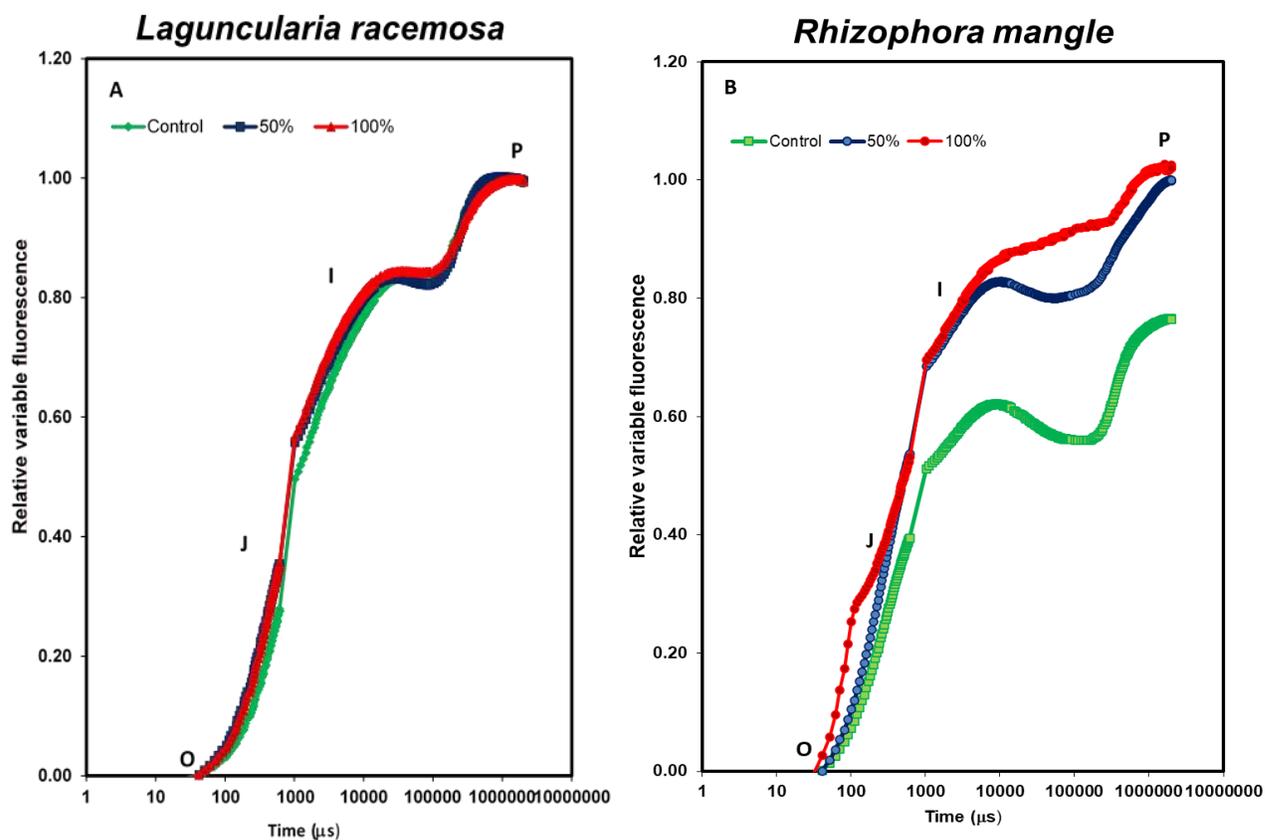


Figura 6. Efecto de la salinidad en la curva de inducción de la fluorescencia de la clorofila *a* (OJIP) en hojas adaptadas en oscuridad en plantas de *L. racemosa* y *R. mangle* bajo diferentes tratamientos de salinidad 100, 50 y 0%. Cada curva está expresada en escala logarítmica (de 40μs a 1s). Las medidas fueron realizadas en hoja de 3 plantas por tratamiento para cada especie.

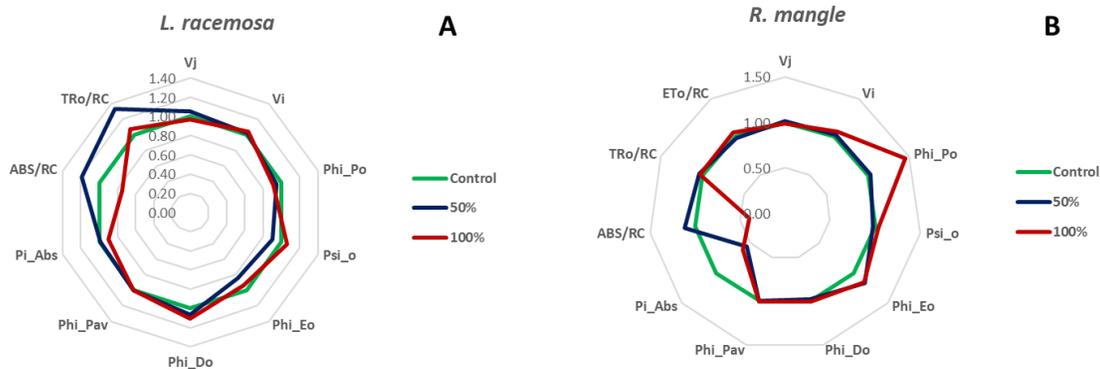


Figura 7. Gráfico “spider-plot” que muestra el efecto de salinidad en concentraciones del 100, 50 y 0% sobre los principales parámetros derivados de la curva de OJIP (n=3). Ver más detalles sobre los parámetros en el Anexo I de esta tesis. Los datos han sido estandarizados respecto al control (=1).

Los resultados obtenidos en *R. mangle* muestran diferencias en el funcionamiento de su aparato fotosintético en los diferentes tratamientos. Por un lado, se observa un claro efecto de la salinidad (Fig. 6B), como el indicado por la amplitud de la fase (J-P), sin embargo, en la salinidad del 100%, esta especie presenta valores de Fm menores (fase P de la curva OJIP) que en las otras salinidades. Esto se ve representado en los valores de Phi_Po (Fig. 7B), que son más altos con 100 % de salinidad. Esto indica que esta especie es más eficiente en la absorción de los fotones en el RC y su uso posterior en la fotosíntesis, sin embargo, como muestra el parámetro integrado Pi_Abs, también se observa una disminución significativa al 100%. Esto indica que el rendimiento potencial en la conservación de energía de los fotones absorbidos en el PSII y su posterior transporte de electrones está afectado. Es decir, aunque presente eficiencias fotosintéticas mayores a 100% de salinidad, su aparato fotosintético se satura antes en esta concentración. Todo esto implica que la especie más afectada por la salinidad fue *R. mangle* en comparación a *L. racemosa*. A pesar de que es la especie que se encuentra con mayor influencia de las mareas y con ello de salinidad (tal y cómo se ha descrito en la Fig. 3). Por lo que esta especie no debe ser considerada halófito estricta al menos en la fase de propágulo.

3.3. Efecto combinado de los estreses de luz y salinidad en la respuesta de las hojas en las especies del manglar

El ambiente salino y la gran radiación de las latitudes tropicales hacen que evitar la fotoinhibición sea un desafío particular para los manglares (Björkman et al. 1988). En consecuencia, los manglares presentan baja conductancia estomática, y saturación de la fotosíntesis a baja irradiancia ($\approx 40\%$ de tasa de saturación: Krauss et al. 2006). De hecho, los manglares se han descrito intrínsecamente como intolerantes a la luz debido a su alto coste fisiológico de mantener su funcionamiento en suelos inundados salinos (Dangremond et al. 2015). La medición de la fluorescencia de las clorofilas permite inferir la eficiencia cuántica del PSII, y detectar posibles daños producidos en las plantas en situaciones de estrés por exceso de radiación (Demmig-Adams and Adams 1992), y en nuestro caso, por el efecto combinado de radiación y salinidad. Es por ello que, en primer lugar, se evaluó la capacidad fotosintética de los propágulos de *Rhizophora mangle*, ya que estos propágulos son de color verde, por lo que nos preguntamos si son capaces de realizar fotosíntesis, y si lo son, si presentan síntomas de fotoinhibición (Fig. 8). Los datos que muestra la figura 8 nos indica que los propágulos de *R. mangle* no solo contienen clorofila, sino que son activos fotosintéticamente. Esta actividad fotosintética del propágulo puede contribuir a producir esqueletos carbonados a partir de la fotosíntesis durante el tiempo que transcurre desde el momento que se separa del árbol progenitor hasta que logra enraizar y desarrollar nuevas hojas. Este carácter, puede ser propio de otras especies vivíparas, y haber sido seleccionado como una ventaja adaptativa, si bien en manglares este carácter parece haber evolucionado de manera independiente al de la tolerancia a la salinidad (Shi et al. 2005).

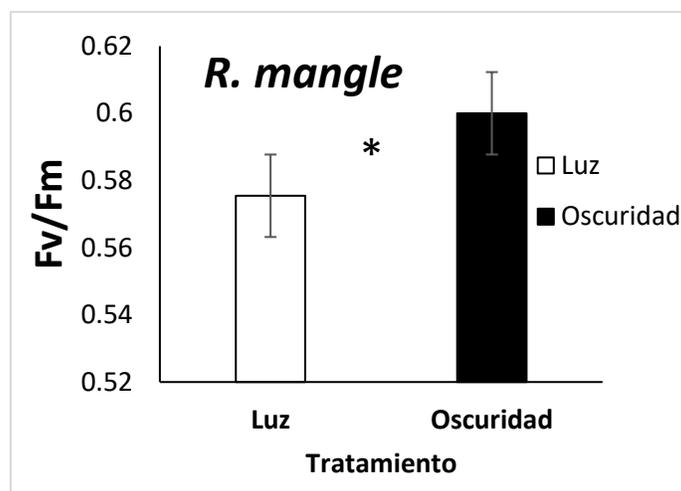


Figura 8. Máxima eficiencia fotoquímica (Fv/Fm) en propágulos de *Rhizophora mangle* tras someterles a una irradiancia de 300 $\mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y previo al tratamiento con luz (oscuridad). El asterisco indica diferencias significativas entre los dos tratamientos tras un análisis de la varianza ($n=7 \pm \text{E.S.}$).

Como segunda aproximación al efecto combinado de radiación y salinidad en especies del manglar, se evaluó la respuesta de las hojas de sol y sombra en condiciones de campo en la estación más favorable (lluviosa). La máxima eficiencia fotoquímica, indicada por el parámetro Fv/Fm, resultó más alta en hojas de sombras, en las tres especies alcanzando valores superiores a 0.80. En hojas de sol las especies los valores oscilan entre el 0.74 y 0.77, siendo *L. racemosa* la que presenta el dato con menor valor (Fig. 9A). A pesar de que *L. racemosa* es la especie que está sometida a concentraciones mayores de salinidad, no se obtuvieron diferencias entre las especies. Es de destacar, que las mediciones se realizaron en la estación lluviosa, la estación más favorable, por la presencia de mayores precipitaciones y con ello menor radiación solar. La disminución en los valores de Fv/Fm se debe probablemente a procesos de protección de disipación calorífica (Potter et al. 2004).

El parámetro de área por masa foliar (LMA; g m^{-2} hoja) indica la inversión de materia seca foliar por área (interceptora de radiación), y está descrito como un carácter funcional fundamental que se relaciona con la productividad (Wright et al. 2004). En los valores de LMA de las hojas de sombra en las tres especies presentaron menores valores en comparación a las hojas de sol, lo que indica un menor grosor o tejidos menos densos que las hojas de sol. *L. racemosa* presenta mayor valor y *R. mangle* el de menor valor, lo que indica que en *R. mangle*, la especie que tiene hojas de mayor tamaño de las tres estudiadas, las hojas son más delgadas y ligeras (Fig. 9B). Se ha descrito que existe un “trade-off” entre fotosíntesis y el LMA (Wright et

al. 2004), de manera que las hojas con mayores valores de LMA, presentan una reducción de la difusión de CO₂ en el mesófilo, lo que implica menores tasas fotosintéticas (Flexas et al. 2014; Onoda et al. 2017; Peguero-Pina et al. 2017). Por lo que, las especies de sol presentan una estrategia más conservadora, con probablemente menores tasas fotosintéticas que las hojas de sombra, ya que la fotosíntesis podría estar limitada por la conductancia y por la estrategia de conservación de agua a nivel foliar (Lambers et al. 1998).

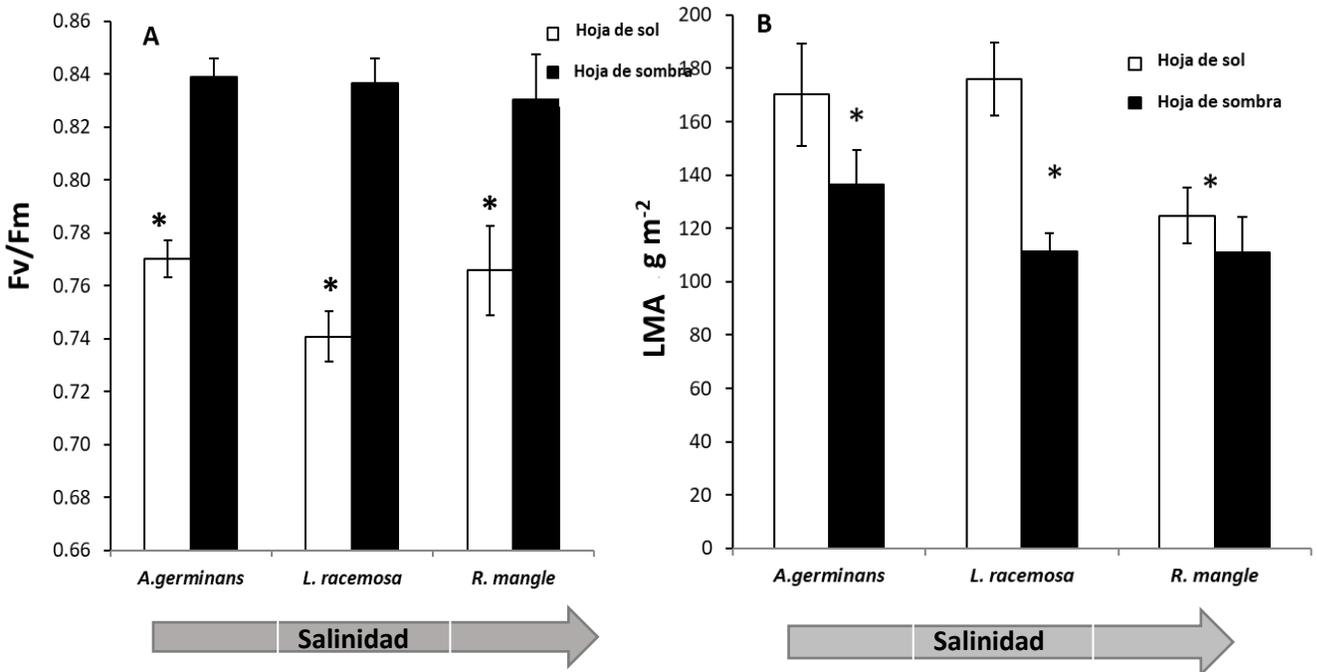


Figura 9. Máxima eficiencia fotoquímica (Fv/Fm) en hojas de sol y sombra (A). LMA, peso de la hoja por área (B). En *A. germinans*, *L. racemosa* y *R. mangle*. Datos de época lluviosa (n=5±E.S). La flecha en la base de las figuras indica el gradiente teórico de la salinidad esperado para cada una de las especies. El asterisco muestra diferencias significativas entre hojas de sol y hojas de sombra (α=0.05) tras realizar una t-student.

Las diferencias morfológicas (cambios LMA) (Fig.9B) y fisiológicas (cambios del parámetro Fv/Fm) (Fig.9A) puede que conlleven diferencias metabólicas importantes entre los dos tipos de hojas, por eso, se analizó la respuesta fotoprotectora comparando hojas de sol y hojas de sombra en la estación lluviosa (más favorable) en las tres especies. Si las hojas de sol y sombra presentan diferentes tasas fotosintéticas asociado a su morfología, y además influenciadas por el gradiente salinidad, es de esperar que presenten mayores compuestos de fotoprotección. Nuestros datos mostraron que el contenido del cociente clorofila a entre clorofila b (Chl a/b; Fig.10B) es menor en las hojas de sol que en las hojas de sombra en las tres especies. Esto se debe a la composición del aparato fotosintético. Es decir, la clorofila *a* está

presente en los centros de reacción y en las antenas de ambos fotosistemas, mientras que la clorofila *b* está restringida a las antenas (Croce 2013). Esto cobra sentido, ya que las hojas adaptan el tamaño de la antena a la radiación absorbida, mostrando las hojas de sol antenas de tamaño pequeño (y por lo tanto menos clorofila *b*) (Esteban et al. 2014). En un estudio reciente, la alta irradiación aumento los contenidos totales de las xantofilas (Esteban et al. 2014), como se ve en este trabajo. El contenido de VAZ (Fig. 10C) fue mayor en las hojas de sol en comparación con las hojas de sombra, siendo *A. germinans* la especie con mayor contenido, seguido por *R. mangle*, estos resultados confirman que ambas especies son las que están expuestas a mayor radiación solar y el ciclo VAZ actúa como un mecanismo de fotoprotección regulando la eficiencia transformadora de la energía luminosa en química (Demmig-Adams and Adams 1992) disipando el exceso de altas intensidades lumínicas en calor. Los demás compuestos fotoprotectores no mostraron grandes cambios, lo cual se puede deber a que la estrategia de las especies no estuviese enfocada en un aumento los compuestos de fotoproteccion, sino en un aumento del consumo de electrones en la fotorespiratoria (Sobrado and Ball 1999). Sin embargo, puede ser los cambios en los pigmentos y la respuesta de estos a la salinidad estuvieran atenuados, debido a la estación de lluviosa. Es por ello, que se realizó un análisis de la respuesta de los pigmentos del ciclo de las xantofilas en hojas de sol en la estación seca (Fig. 11). Esta figura muestra que el contenido de xantofilas (VAZ/Chl) es el menor en las especies de *C. erectus* y *L. racemosa* con 27 mmol mol⁻¹ Chl y los que contienen mayor concentración son *R. mangle*, seguido por *A. germinans* con 57 y 56 mmol mol⁻¹ Chl respectivamente. El aumento de los pigmentos de xantofilas puede estar relacionado con ese aumento de salinidad.

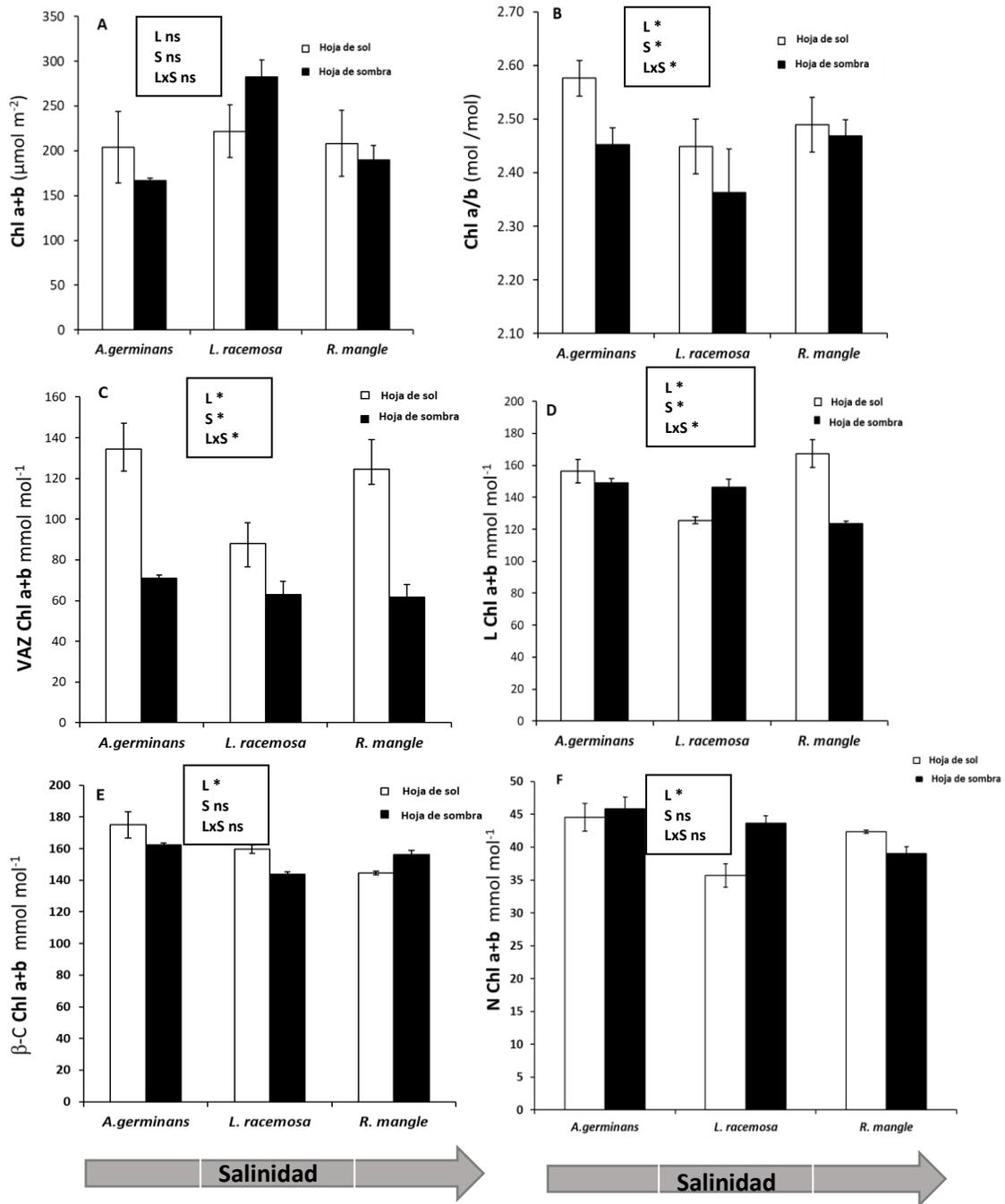


Figura 10. Contenido de pigmentos fotosintéticos presentes en hojas de las especies *A. germinans*, *L. racemosa* y *R. mangle* ($n=5 \pm \text{E.S.}$): Clorofila a+b (Chl a+b; A); Clorofila a/b (Chl a/b; B); Violaxantina-Anteraxantina-Zeaxantina (VAZ/Chl a+b; C); Luteína (L/ Chl a+b; D); β -caroteno (β -car Chl a+b; E) y Neoxantina (N/Chl a+b; A). La flecha en la base de las figuras indica el gradiente teórico de la salinidad esperado para cada una de las especies. Dentro de cada panel se muestra el análisis de la varianza (ANOVA) de doble vía, considerando la luz (L; sol, sombra) y la salinidad (S; dependiendo la posición del estero) como factores fijos. ns= no significativo; * <0.05 .

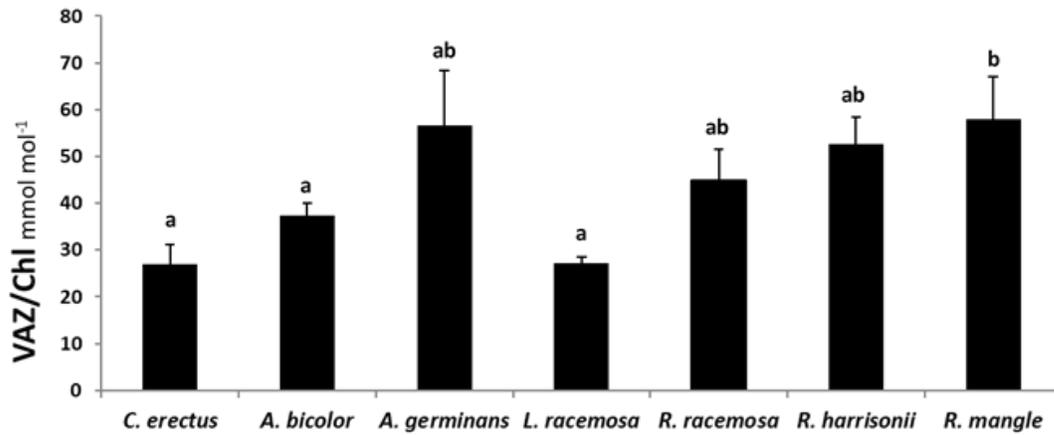


Figura 11. Contenido del contenido de xantofilas (VAZ/Chl; mmol mol⁻¹Chl) en las diferentes especies de manglar de la IJV) en la estación seca. Las diferentes letras indican diferencias significativas $\alpha = 0.05$ tras realizar el test post hoc SNK en cada una de las especies y cada uno de los parámetros.

Las curvas de fluorescencia y los parámetros derivados mostraron que *R. mangle* fue la especie más afectada por la salinidad creciente debido a la pérdida de capacidad fotosintética a alta salinidad (Figs. 6 y 7). Esto concuerda con los resultados de campo, donde la activación de los mecanismos de fotoprotección es diferente en cada una de las especies, siendo *R. mangle*, la especie en la que mayor concentración de pigmentos VAZ se encontró. Estos resultados indican que la salinidad afecta a la capacidad de respuesta fenotípica de las especies del bosque de mangle de manera diferencial, siendo *R. mangle* la especie más sensible a la salinidad. Además, apoyan la hipótesis de la naturaleza halófila facultativa de las especies arbóreas que componen los manglares (Krauss and Ball 2013) y que, por tanto, la salinidad no es requisito para el desarrollo de estas especies.

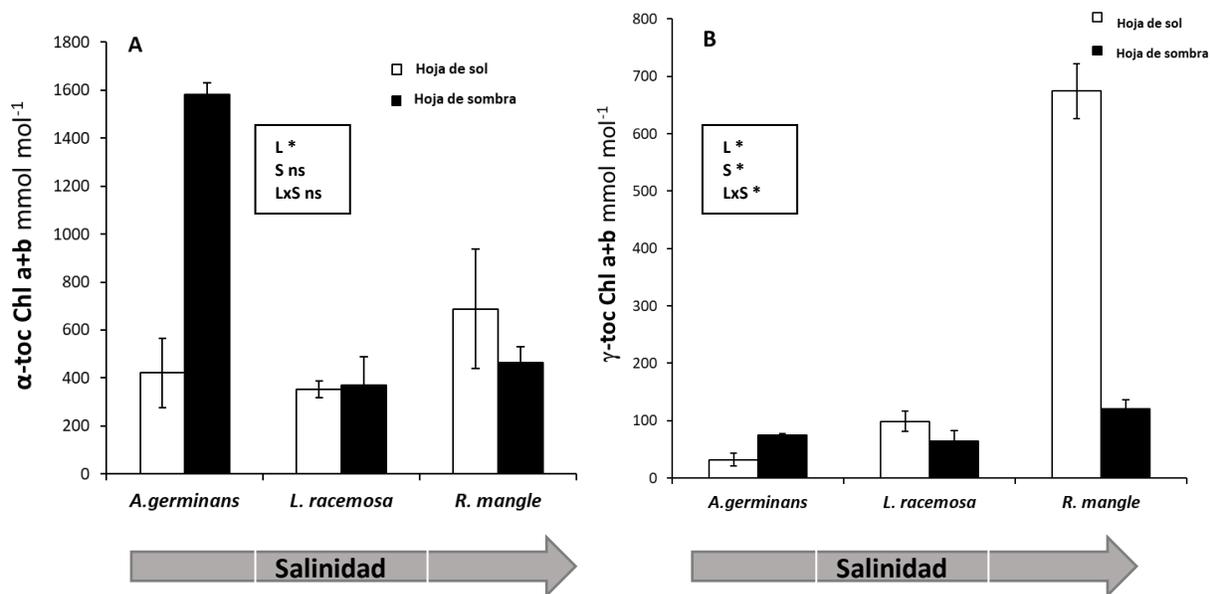


Figura 12. Contenido de tocoferoles en hojas de sol y sombra en época lluviosa en *A. germinans*, *L. racemosa* y *R. mangle* ($n=5 \pm$ E.S): α -tocoferol (α -toc; Fig. 8A) y γ -tocoferol (γ -toc; Fig. 8B). La flecha en la base de las figuras indica el gradiente teórico de la salinidad esperado para cada una de las especies. . Dentro de cada panel se muestra el análisis de la varianza (ANOVA) de doble vía, considerando la luz (L; sol, sombra) y la salinidad (S; dependiendo la posición del estero) como factores fijos. ns= no significativo; * <0.05 ; ** <0.01 ; *** <0.0001 .

Por último, se analizaron los tocoferoles de las especies *A. germinans*, *L. racemosa* y *R. mangle* en hojas de sol y sombra en la época de lluvias. Los contenidos de tocoferoles difieren entre las especies como se puede observar en la figura 8A, siendo el contenido de α -tocoferol mayor en hojas de sol en *Rhizophora mangle*, y en hojas de sombra de *A. germinans*. Esto puede deberse a que *R. mangle* sufre un mayor estrés osmótico en hojas de sol al tener mayor transpiración por la luz directa solar y quedar así concentradas las sales de la xilema. Es destacable los altos contenidos de γ -tocoferol de *R. mangle* en hojas de sol, lo que puede ser un mecanismo de respuesta frente al estrés salino, consecuencia de la estrategia frente a la salinidad de esta especie, lo que le obliga a acumular mayor cantidad de sal en sus hojas. Por lo que, el tocoferol es una defensa importante de *Rhizophora mangle* frente a los estreses del manglar, ya que se ha descrito que las especies tienen diferentes estrategias para evitar la fotoinhibición (Christian 2005). Otro ejemplo es *A. germinans*, que aumenta su reflectancia en las hojas, y se describirá con detalle en esta tesis en un capítulo posterior.

4. CONCLUSION

El manglar es uno de los ecosistemas más productivos y amenazados del planeta. A pesar de su gran productividad e importancia económica, más del 35% de los manglares han sido destruidos. Las especies arbóreas del manglar se distribuyen frecuentemente en bandas zonales, tal y como demuestran nuestros resultados. Las especies estudiadas aquí toleran la salinidad con gran plasticidad, pero cada una de las especies responde de forma diferencial con atributos fisiológicos inter-específicos, que además cambian dependiendo el estadio de desarrollo de las especies, así como su naturaleza halófila estricta o facultativa. Así, *L. racemosa* muestra una estrategia halófila estricta en las primeras fases de crecimiento durante la germinación, pero con concentraciones de sal de menores a la salinidad del mar. Una vez germinada, pasa a ser halófila facultativa, ya que crece mejor en condiciones sin sal. Por otro lado, se ha visto que *A. germinans* es una especie que puede tolerar mayor porcentaje de salinidad en comparación a *L. racemosa*. Además, se ha descrito que, aunque la salinidad influya negativamente en la fotosíntesis, apenas tiene efecto en el reparto de biomasa. En general, nuestros resultados indican que la salinidad afecta a la capacidad de respuesta fenotípica de las especies del bosque de mangle de manera diferencial, siendo *R. mangle* la especie más sensible a la salinidad. Una adaptación plástica de *R. mangle* se basa en el ajuste de los contenidos de γ -tocoferol. Además, apoyan la hipótesis de la naturaleza halófila facultativa de las especies arbóreas que componen los manglares (Krauss and Ball 2013) y que, por tanto, la salinidad no es requisito para el desarrollo de estas especies. Por último, este estudio destaca la importancia del estudio de las respuestas y plasticidad de las especies arbóreas del manglar a la salinidad, por su importancia en el desarrollo de la estructura del bosque y al funcionamiento de todo el ecosistema.

Capítulo VI.

MORFOLOGÍA DEL GÉNERO RHIZOPHORA

1. INTRODUCCION

En el continente americano existen aproximadamente 10 especies de árboles de manglar (Field 1995), estas especies pertenecen a las familias Avicenniaceae, Combretaceae, Pteridaceae y Rhizophoraceae.

Su función principal es la de estabilizar sustrato recién colonizado y áreas someras de las costas en lugar de expandirse hacia tierras mar afuera (Bossi and Cintron 1989). De hecho, su función al ser un ecosistema dominado por especies leñosas, en Nicaragua representan una gran fuente de recursos económicos para las poblaciones locales donde las especies más afectadas por la tala son las especies del género *Rhizophora*.

Nicaragua por su posición geográfica posee manglares en sus dos costas, siendo siete especies arbóreas las que predominan: *Laguncularia racemosa* (L.) C.F. Gaerth. (mangle blanco), *Avicennia germinans* (L.) L., *Avicennia bicolor* Standl. (palo de sal), *Conocarpus erectus* L. (botoncillo), *Rhizophora mangle* L., *Rhizophora harrisonii* Leechm., y *Rhizophora racemosa* G. Mey, (mangle colorado) (Fig. 1).



Figura. 1. Especies arbóreas del manglar presentes en las costas de Nicaragua, (A) *Laguncularia racemosa*, (B) *Avicennia germinans*, (C) *Avicennia bicolor*, (D) *Conocarpus erectus*, (E) *Rhizophora mangle*, (F) *Rhizophora harrisonii* y (G) *Rhizophora racemosa*.

A nivel mundial en el género *Rhizophora* se agrupan nueve especies (Tomlinson 1999), este género está distribuido desde México hasta Ecuador, en el Caribe y en las costas de Brasil, (Fig.2), en Nicaragua podemos encontrar las especies *R. mangle*, *R. racemosa* y *R. harrisonii*, donde *R. mangle* domina en distribución ampliamente sobre las otras dos.

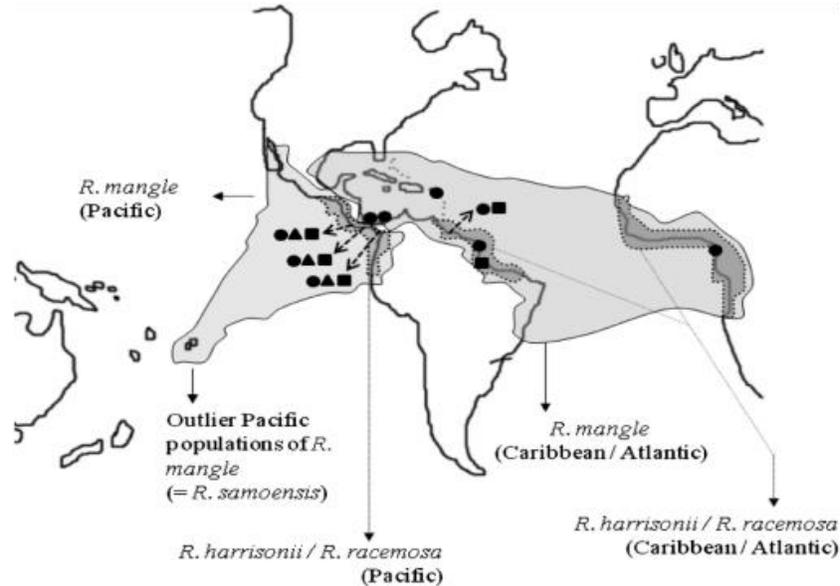


Figura. 2. Distribución geográfica del género *Rhizophora*, en América tomado de Cerón –Souza et al. (2010). Adaptado de Duke and Allen (2006). *R. mangle* tiene una amplia distribución geográfica (gris claro), que abarca el Atlántico y zonas costeras del Pacífico, en ambos lados del istmo centroamericano. *R. racemosa* y *R. harrisonii* tienen una distribución restringida (gris oscuro), donde se superpone con *R. mangle*. Los símbolos correspondientes para cada especie son *R. mangle* círculo, *R. harrisonii* triángulo y *R. racemosa* cuadro.

La descripción fenotípica generalizada para las especies *R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa*, nombrados comúnmente como mangles colorados, es que estas especies se caracterizan por ser árboles o arbustos de tierra litorales con numerosas raíces tipo aéreas, descendiendo de las ramas (Stevens et al. 2001). La altura de los árboles en este tipo de bosque oscila desde los 5-20 m de altura. Estas especies son vivíparas, lo que significa que la germinación ocurre cuando el embrión se encuentra todavía dentro del fruto y prendido del árbol progenitor (Sussex 1975), llamándose propágulo al fruto con radícula.

Rhizophora mangle, es común en pantanos costeros salobres y está distribuido en ambas costas; de México hasta Ecuador en la costa pacífica y desde Estados Unidos (Florida) hasta el sur de Brasil en la costa atlántica, también en África. (Stevens et al. 2001); es considerado el más tolerante a la sal de las tres especies (Jiménez 1987; Smith 1992).

Rhizophora harrisonii, esta especie es rara en manglares de la costa pacífica, se encuentra en Nicaragua hasta Ecuador en el Pacífico y desde el Caribe hasta las Guayanas. La posición de *R. harrisonii* es morfológica y ecológicamente intermedia ente *R. mangle* y *R. racemosa*, lo que hace suponer su origen híbrido (Phral 1984).

Rhizophora racemosa no se ha diferenciado claramente de *R. harrisonii*. Es una especie rara en manglares costeros, en sitios salobres. *Rhizophora racemosa* es una especie que la encontramos tierra adentro en los litorales del Pacífico de Nicaragua y Ecuador y desde el Caribe hasta Brasil (Maranhão). "Mangle rojo" (Stevens et al 2001). *R. racemosa* y *R. harrisonii* normalmente se encuentra en posición superior y de menor salinidad en la intermareal (Savory 1953; Smith 1992; Afzal-Rafii et al. 1999; Duke et al. 2002; Duke and Allen 2006).

Las características morfológicas que permiten diferenciar a *R. harrisonii* de *R. racemosa* se asocian con la longitud y ancho de la inflorescencia, el número de flores, pero sobre todo por los diferentes números ramificaciones que presentan entre las tres especies. Según Jiménez (1994), sin embargo, estas características son elementos genéticamente muy plásticos. En el campo es posible distinguir inflorescencia y hojas con las características de estos tipos, pero es más frecuente aún encontrar inflorescencia y hojas con una marcada mezcla de estas características, incluso en un mismo árbol. La ausencia de una clara diferenciación en las características diagnósticas de estas especies hace muy difícil su separación en el campo.

Al encontrar que las tres especies del género *Rhizophora* presentan en principio características fenotípicas similares, las cuales hacen difícil su separación como especie, el objetivo propuesto para este trabajo es el de diferenciar morfofisiológicamente las tres especies del género *Rhizophora*, lo cual puede tener importancia para futuros diseños de estrategias de conservación del mangle colorado presente en las costas del Pacífico.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material Vegetal y lugar de estudio.

El estudio se realizó con datos fenotípicos y material vegetal del género *Rhizophora* presente en la Reserva Isla Juan Venado (Nicaragua) ubicada a los 13° 66' y 13°56' de Latitud Norte y entre 49° 80'00" y 51° 33' 00" de Longitud Oeste (MARENA 2002).

2.2. Diseño Experimental

El diseño experimental fue el siguiente: se realizó una comparación morfológica de las especies tomando datos morfológicos de 99 árboles muestreados a lo largo de la isla, por otro lado, se hizo un recuento de lenticelas y también se realizó la medida de reflectancia con muestras de 5 árboles por especies. Además, para las medidas de fluorescencia y la transparencia del dosel se utilizaron 20 árboles.

2.2.1 Transparencia del Dosel

Se obtuvieron datos de información cuantitativa del porcentaje de radiación solar de las 20 plantas seleccionadas. A través de la realización de fotografías hemisféricas mediante uso de la cámara con un objetivo ojo de pez acoplado y su análisis mediante el Software Canopy Gap Light Analyzer (GLA) Versión 2.0 (Frazer et al. 1999).

2.2.2 Morfología Vegetal

Los datos fenotípicos se obtuvieron de 99 árboles en total a partir de los 11 puntos de muestreos que se realizaron a lo largo de la isla, se georeferenciaron los puntos muestreados y los árboles seleccionados; las características fenotípicas tomadas fueron: altura total del árbol, altura de la raíz fúlcra principal, medida del tronco (DAP), longitud total y anchura de la hoja, longitud del peciolo, número de lenticelas presente en la hoja, largo total de la inflorescencia, número de ramificaciones en la inflorescencia y longitud del pedúnculo floral.

El recuento de lenticelas se realizó en el envés de hojas de las tres especies. Debido a las grandes diferencias en densidad de lenticelas el sistema de contaje se adecuó a cada especie de la siguiente manera. Para *R. mangle* se contaron las lenticelas presentes. En una superficie de 1cm² en *R. harrisonii* y en *R. racemosa* en una superficie de 2 cm². Para cada especie se realizó la densidad de lenticelas en 5 hojas.

2.2.3 Fluorescencia de la clorofila

Los valores para la máxima eficiencia fotoquímica del PSII (Fv/Fm) se obtuvieron de 10 individuos de *R. mangle* y 10 de *R. harrisonii*. Estas hojas se recolectaron siempre en el segundo verticilo de cada rama para asegurarse de que se trataba de hojas completamente desarrolladas, se cubrieron con papel de aluminio y se mantuvieron en oscuridad por un tiempo mínimo de 30 minutos. Transcurrido el tiempo en oscuridad se tomaron 3 datos de Fv/Fm a lo largo de la hoja con un fluorímetro PSI Modelo Flourpen FP 100 (Photon System Instrument, Brno, Republica Checa).

2.2.4 Medida de pigmentos

Extracción.

La extracción de pigmentos para las especies *R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa* se realizó a partir de material vegetal obtenido de las hojas que previamente se había medido Fv/Fm. Los discos foliares se seleccionaron al menos de 5 árboles de cada especie. Se recolectaron teniendo presente tres variables; (i) de cualquier parte de la hoja, (ii) con y (iii) sin lenticelas. Los discos se conservaron con sílice gel para transportarlos al laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad del País Vasco según el método de Esteban et al (2010) para realizar la extracción de pigmentos.

2.2.5 Análisis de pigmentos

Los espectros de absorción de cada pigmento se registraron de 250 a 700 nm. La integración de los cromatogramas se realizó a 445 nm con el software Empower 2000. Los tiempos de retención y factores de conversión son los mismos que en García-Plazaola and Becerril (2001). Este método permite la separación de los pigmentos siguientes: neoxantina (N), violaxantina (V), luteína epóxido (Lx), anteraxantina (A), luteína (L), la zeaxantina (Z), clorofila b (Chl b), clorofila a (Chl a), α -caroteno (α -car) y β -caroteno (β -car).

La separación de pigmentos se realizó por HPLC con una columna de fase reversa C18 (Waters Spherisorb ODS1, 4,6 x 250 mm, Massachusetts, USA.), según el método de García-Plazaola and Becerril (1999), con las modificaciones descritas en García-Plazaola and Becerril (2001). La temperatura de la columna se mantuvo a 35 °C. Durante el proceso de HPLC las

muestras se mantuvieron a 4 °C en un compartimento refrigerado. La identificación y la cuantificación se llevaron a cabo con un detector de fotodiodos (PDA). Para cada muestra los pigmentos se eluyeron siguiendo un siguiente gradiente de solventes (ver detalles en metodología). Durante el procesamiento en el HPLC, las muestras se mantuvieron a 4 °C en un compartimento refrigerado.

2.2.6 Análisis de Tocoferoles.

La detección de Tocoferoles (Toc) se realizó con un detector de fluorescencia Waters 474. El método utilizado para la separación tocoferoles, la detección y cuantificación fue el mismo que en García-Plazaola and Becerril (1999, 2001).

Los discos foliares se colocaron en tubos eppendorf de 2 mL, incorporando nitrógeno líquido para congelar completamente los tejidos y así impedir que la muestra vegetal se siga degradando, al mismo tiempo facilita la homogenización con el homogenizador Tearor 985370 (BioSpec, Bartslesville, USA) del tejido vegetal con acetona al 95% (1500 µL). Se centrifugó a 13.2 rpm en un tiempo de 20 minutos a 4 °C, el sobrenadante se colocó en un nuevo tubo eppendorf; se filtró con filtros de 0.2 µm de PTFE (Teknokroma, Barcelona, España) la extracción obtenida, colocándose en viales para la separación de pigmentos.

Se realizó la preparación de dos solventes, solvente A, compuesto por acetonitrilo, metanol y Tris 0.1 M pH 8 (84:2:14) y el solvente B, metanol y acetato de etilo (68:32).

2.2.7 Reflectancia

Para obtener el porcentaje de reflectancia foliar por especie, se colectaron 60 hojas entre las tres especies. Por cada especie se seleccionaron 5 árboles y de cada árbol se colectaron 4 hojas (20 hojas por cada especie). Las hojas del mismo árbol se colocaron en bolsas ziploc a 100 % de humedad, se transportaron al laboratorio de Fisiología Vegetal y se conservaron a 4 °C. A las hojas se les tomaron 3 medidas de reflectancia siguiendo el protocolo descrito en Esteban et al. (2008) a lo largo de la hoja con un espectroradiómetro (UNISPECTM, FieldSpec UV/NIR portable spectral system, PP Systems, Amesbury, USA) con un intervalo de 3.3 nm en un rango de 425 a 475 nm.

2.2.8 Estadística

Se realizaron estadísticas con el paquete estadístico SPSS versión 17.0 donde se realizaron dos test:

1-Calculo del valor de significación para las correlaciones de los parámetros de caracterización fenotípica y morfológica

2-Análisis de Varianzas (ANOVA) para la heterogeneidad de los pigmentos analizados de las tres especies de *Rhizophora*, ($p < 0.05$). Antes del análisis ANOVA se comprobaron la homogeneidad de varianza con el test de Levene y la normalidad de los datos con el test Kolmogorov-Smirnov. Para los datos no paramétricos se utilizó el test de Kruskal-Wallis.

3. RESULTADOS

3.1 Comparación de la Morfología de las tres Especies

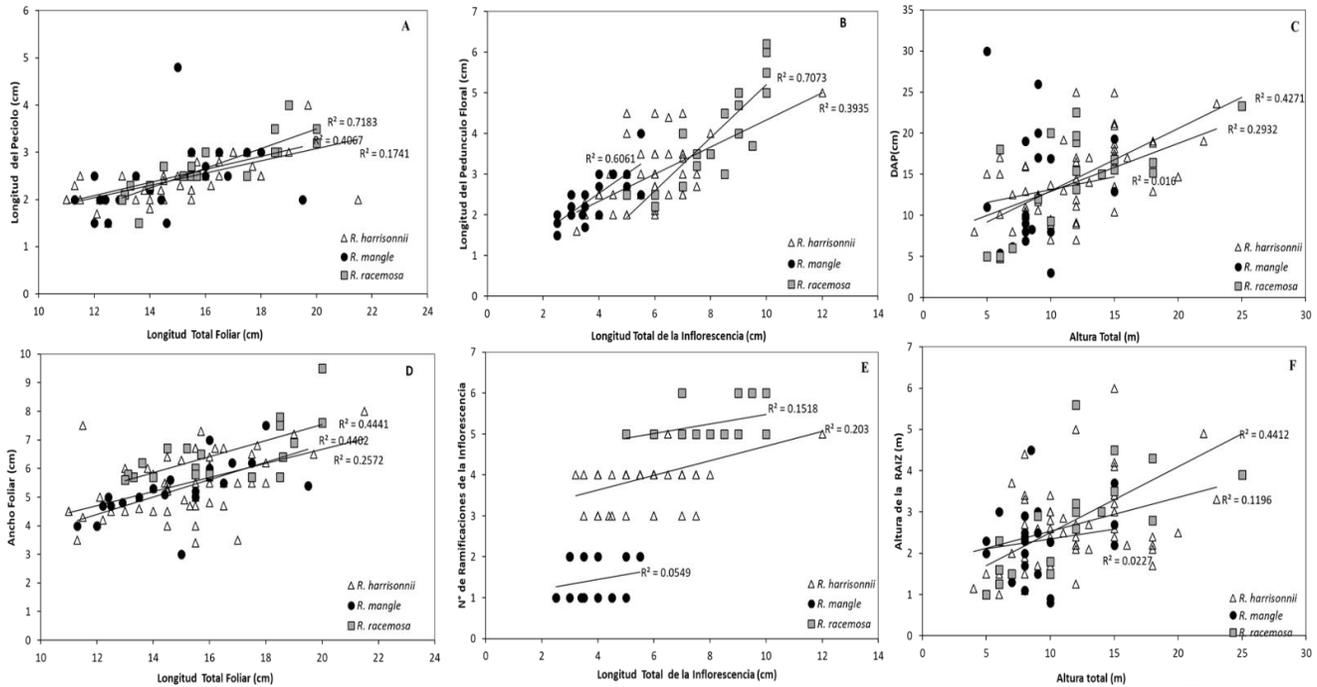


Figura.

3. Comparación fenotípica de caracteres morfológicos entre las especies *R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa*. Longitud de la hoja (cm) (A) y Ancho de la hoja (cm) (D) en relación al largo total de la misma. Longitud del Pedúnculo (cm) (B) y Número de ramificaciones de Inflorescencia (E) comparados con el largo total de la inflorescencia (cm). Ancho del tronco (DAP) (cm) (C) y Altura de la raíz principal (m) (F) en comparación a la altura total del árbol (m).

Como se muestra en la figura 3 se puede observar que las características fenotípicas foliares son caracteres plásticos y que en si no diferencian las tres especies. Comparando la longitud total de las hojas para las tres especies (Fig. 3 A, D), la máxima longitud es de 20 cm.

Las hojas presentaron un pecíolo con longitudes variables que no las agrupan como especies. En cambio, teniendo en cuenta la característica de anchura de las hojas se puede decir que *R. racemosa*, seguido por *R. mangle* presentan hojas anchas, mientras que *R. harrisonii* puede tener hojas angostas o amplias como *R. racemosa* y *R. mangle*. Este hecho puede hacer que *R. harrisonii* sea clasificado erróneamente como una de las otras dos especies, cuando estos son clasificados por características fenotípicas de las hojas.

A diferencia de las hojas, una característica fenotípica que si se puede tomar en consideración para la clasificación de las tres especies es la inflorescencia. Ese es el caso de la

longitud de pedúnculo floral (Fig. 3B), *R. mangle* presentó una longitud menor que *R. harrisonii* en tanto que *R. racemosa* uno mayor. El número de ramificaciones (Fig. 3E) presente en la inflorescencia también permitió la distinción entre especies, debido a que *R. mangle* presentó de 1-2 ramificaciones, *R. harrisonii* de 3-5 y *R. racemosa* de 5-6 ramificaciones, siendo esta característica de hecho, la principal característica fenotípica para diferenciar las tres especies.

La medida del Diámetro a la altura del pecho (DAP), es proporcional a la altura total del árbol (Fig. 3C), donde se puede observar que cuanto más alto es el árbol presenta un mayor DAP. Lo mismo se puede atribuir a la altura de la raíz principal (Fig. 3F) ya que por lo general cuanto más alto sea el árbol, la raíz tendrá una mayor longitud. En el caso de *R. mangle* estas relaciones no son tan claras, alcanzando además menor altura total que las otras dos especies.

Para la mayoría de los datos morfológicos se presentó una correlación positiva, siendo para la longitud del pedúnculo floral y el ancho de la hoja las características que mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las tres especies. La longitud del peciolo, el DAP y la longitud de la raíz principal, en cambio sólo presentaron diferencias significativas entre *R. harrisonii* y *R. racemosa*. Respecto al número de ramificaciones de la inflorescencia solamente *R. harrisonii* mostró diferencia significativa con el resto de las especies.

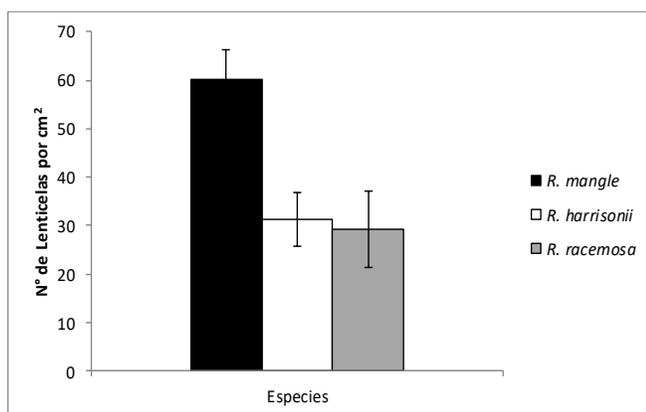


Figura. 4. Número de lenticelas por cm² presentes en el envés de las hojas de las especies *R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa*. Se muestran las medias ± E.S (n≥5).

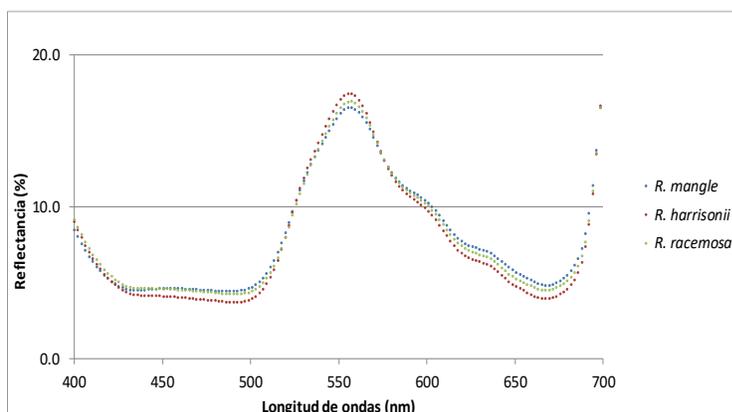


Figura. 5. Porcentaje de reflectancia en hojas de las especies de *R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa*. Los valores son promedios de 20 plantas.

Otra diferencia importante se observó en densidad de lenticelas en el envés de las hojas (Fig. 4). En *R. mangle* el número de lenticelas por cm² resultó ser el doble en comparación con

R. harrisonii y *R. racemosa*, siendo este último el que presenta menor cantidad de lenticelas. Si bien no hubo diferencias significativas entre ambas especies (*R. harrisonii* y *R. racemosa*) ($p>0.05$).

El porcentaje de reflectancia para las hojas de las tres especies de mangle colorado (Fig. 5) oscila entre el 10 y 20%, con un máximo en la longitud de onda a 550 nm. De las tres especies *R. harrisonii*, es el que refleja más y *R. mangle* el que refleja menos.

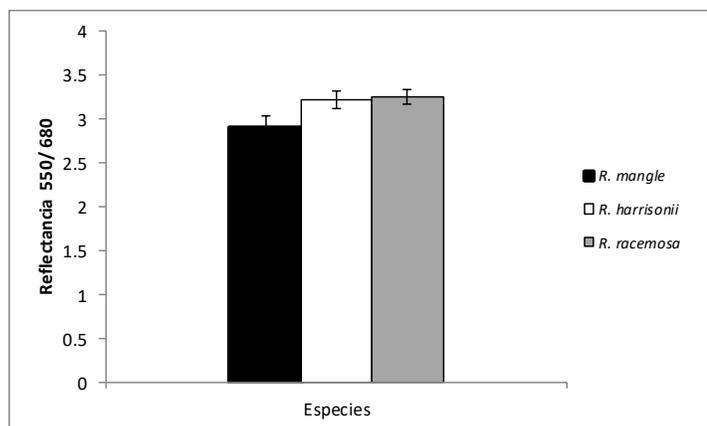


Figura.6. Coeficiente de reflectancia de las longitudes 550/680 en las diferentes especies de mangle colorado. Cada barra representa los promedios de $n= 20 \pm E.S$

Analizando el cociente de la reflectancia de 550/680, que muestra la relación entre el máximo de reflectancia en el verde y el mínimo del rojo, se observa que las hojas de *R. mangle* son más pálidas que las de las otras dos especies, o bien que la especie que tiene las hojas más verdes es *R. racemosa* seguida por *R. harrisonii*.

3.2 Fotoprotección en las especies de *Rhizophora*

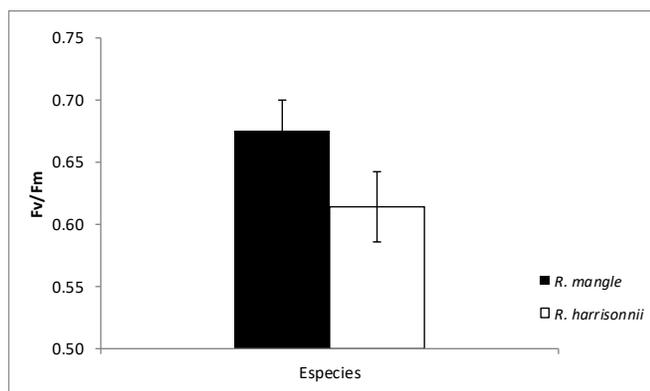


Figura 7. Valores de máxima eficiencia fotoquímica del PSII (Fv/Fm) en hojas de *R. mangle* y *R. harrisonii*. Cada barra representa el promedio de \pm ES (n=10).

Los valores óptimos para una máxima eficiencia fotoquímica del PSII (Fv/Fm) en un organismo vegetal son del 0.8. Los valores de Fv/Fm para *R. mangle* y *R. harrisonii* están por debajo del 0.7 (Fig. 7), siendo *R. harrisonii* el que dio valores más bajos (0.61) en comparación a *R. mangle* (0.68).

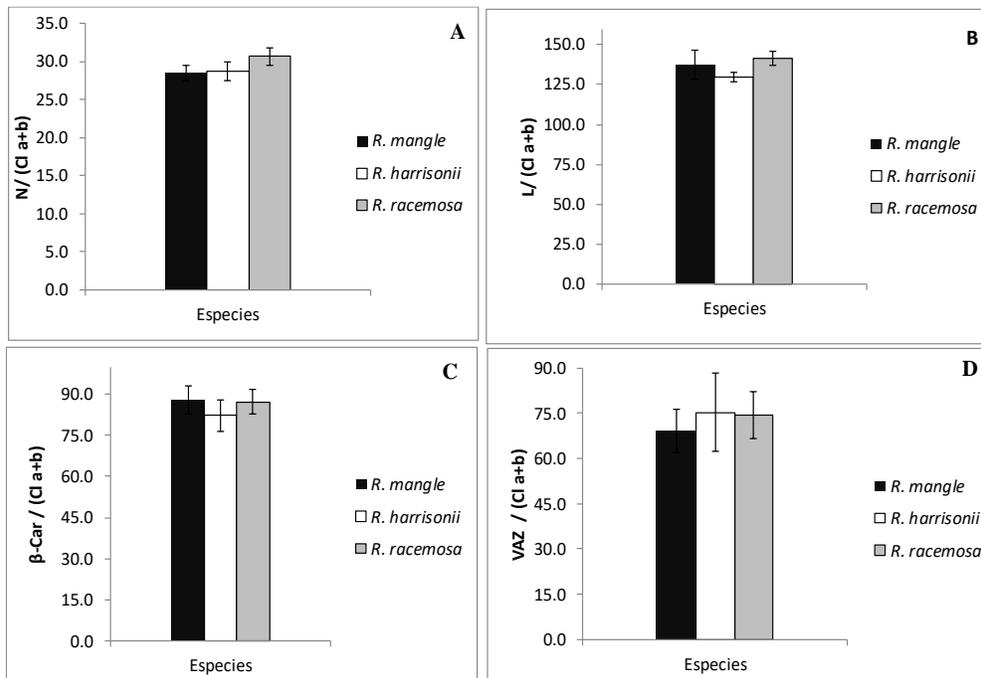


Figura 8. Contenido de pigmentos fotosintéticos (mmol mol Chl⁻¹) presentes en hojas de las especies *R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa*, (\pm E.S (n=5)): Neoxantina (N/Chl a+b; A); Luteína (L/ Chl a+b; B); β -caroteno (β -car Chl a+b; C); Violaxantina+Anteraxantina+Zeaxantina (VAZ/Chl a+b;D)

Se comparó la composición foliar de pigmentos fotosintéticos en las tres especies. Se encontraron diferencias en el contenido de N, L, (β -car) y VAZ (Fig. 8). Entre las especies el contenido de N para las tres especies fue similar, siendo *R. racemosa* ($30.7 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$) el que tuvo mayor cantidad en comparación a las otras dos especies (que mostraron cantidades que oscilaron entre los $28 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$). Con respecto a L la mayor cantidad que se encontró fue en *R. racemosa*, ($141.7 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$) y en menor cantidad en *R. harrisonii* ($129.8 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$) y para β -caroteno *R. mangle* tuvo mayor cantidad ($87.9 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$) seguido por *R. racemosa* ($87.3 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$) y el que menor cantidad tuvo fue *R. harrisonii* ($82.2 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$). En cambio el contenido de VAZ fue mayor para *R. harrisonii* ($75.2 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$) y *R. racemosa*, ($74.4 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$) y *R. mangle* ($69.1 \text{ mmol mol Chl}^{-1}$), las tres especies presentaron diferentes cantidades en pigmentos en sus hojas (Fig.9), pero estadísticamente está diferencia no es significativa ($p < 0.05$).

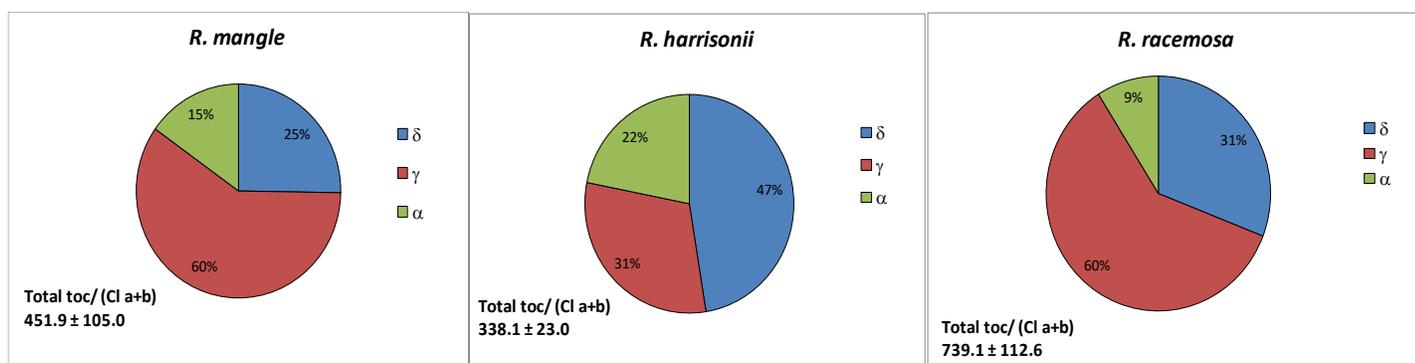


Figura 9. Contenido total (mmol mol Chl⁻¹) y composición de tocoferoles (δ, γ, α) en hojas para las especies *R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa*. Se muestran valores medios \pm ES. (n=5)

Los tocoferoles en las hojas de las tres especies de mangle mostraron diferencias tanto en el contenido como en la proporción entre los distintos tipos de tocoferoles. La especie que presentó mayor contenido del total de tocoferoles fue *R. racemosa* con 739.1 ± 112.6 (mmol mol Chl⁻¹) seguida por *R. mangle* 451.8 ± 105.0 (mmol mol Chl⁻¹), la figura nos muestra que para δ -toc, γ -toc y α -toc las tres especies tienen diferentes proporciones. Para γ -toc no hubo diferencia entre *R. mangle* y *R. racemosa*, en cambio para δ -toc y α -toc en las tres especies el contenido fue diferente.

El contenido de α -toc fue similar para las tres especies *R. mangle* 67 (mmol mol Chl⁻¹), *R. harrisonii* 74 (mmol mol Chl⁻¹) y *R. racemosa* 66 (mmol mol Chl⁻¹). *R. harrisonii* al presentar mayor contenido de α -toc y menor contenido de γ -toc en comparación a las otras dos especies, hace que *R. harrisonii* se diferencie de las otras dos especies a nivel bioquímico.

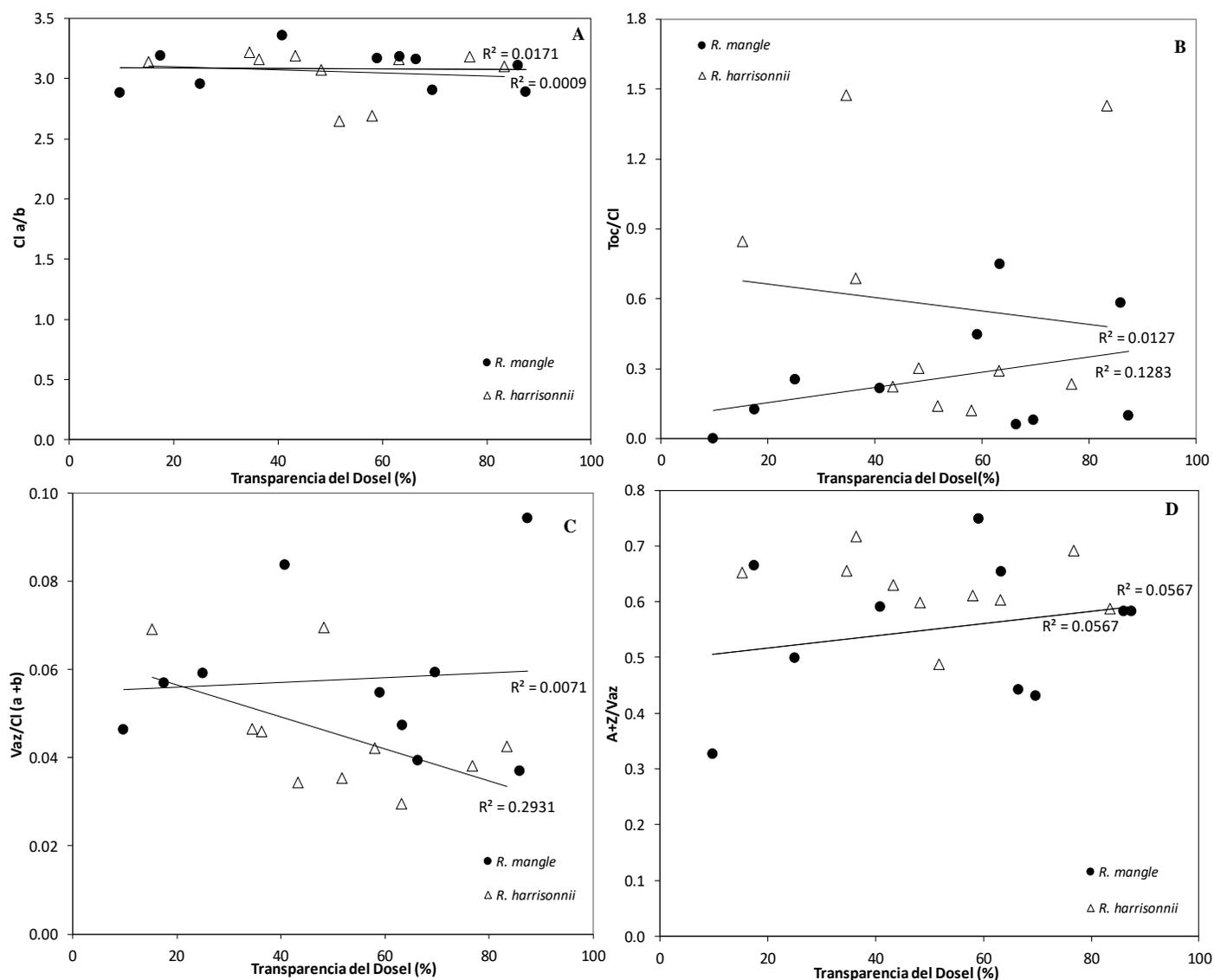


Figura. 10. Respuesta al porcentaje de transmitancia del dosel de los parámetros indicativos de fotoprotección en hojas de *Rhizophora mangle* y *R. harrisonii*, (n>5). Clorofila a en relación a Clorofila b (Chl a/b; A); Tocoferol/Clorofila (Toc/Chl; B); Violaxantina+Anteraxantina+Zeaxantina/Clorofila(a+b) (VAZ/Chl(a+b);C); Anteraxantina+Zeaxantina/ Violaxantina+Anteraxantina+Zeaxantina (A+Z/VAZ; D) (Clorofila a/b, (B) Toc/Cl, (C) VAZ/Cl, (D) A+Z/VAZ.

La respuesta de los pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores a la transmitancia del dosel para las especies *R. mangle* y *R. harrisonii* se muestran en la figura 10. Se puede observar que la cantidad de luz solar que reciben estas especies no afecta en el contenido de los pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores.

4. DISCUSIÓN

El género *Rhizophora* tiene un alto grado de variación poblacional como resultado de las variadas condiciones del ambiente tales como la concentración salina en el agua y las intensidades de irradiación bajo las que las plantas de este género crecen (Salvoza 1936).

De acuerdo con Duke and Allen (2006), todas las especies del género *Rhizophora* tienen formas similares en cuanto a la morfología del árbol. Esta plasticidad morfológica que varía de acuerdo al ambiente en el que el árbol se desarrolle hace que no siempre se puedan distinguir entre las especies del género. Esto ha resultado en controversias sobre su clasificación taxonómica (Breteler 1977; Hou 1960).

Las tres especies de *Rhizophora* citadas para las costas de América Latina (*R. mangle*, *R. harrisonii* y *R. racemosa*), poseen características fenotípicas similares. Estas especies pueden adaptarse y desarrollarse en una variedad de condiciones: desde rocas hasta depósitos cenagosos y desde lugares con agua dulce, la mayor parte del año, hasta en áreas donde la salinidad del suelo es superior a 21 g/L (Brinson et al. 1974; Cintron et al. 1985; Lugo 1981). Sin embargo, hay ciertas diferencias ecológicas entre especies: *R. mangle* se desarrolla mejor en los suelos poco profundos y cenagosos bajo la influencia de las mareas (Chapman 1976), en cambio *R. harrisonii* y *R. racemosa* crecen en lugares que tengan proximidad a una fuente de agua dulce (Duke and Allen 2006). Al comparar las características fenotípicas entre las tres especies, unas de las características variables que podemos tomar en consideración y relacionar con el ambiente en el que se desarrollan las especies del género *Rhizophora* es la de la altura total, que muestra que los árboles con mayor altura son los de *R. harrisonii* y *R. racemosa* (Fig. 3C). En cualquier caso, hay que aclarar que esto siempre va en dependencia del lugar donde se desarrolle la especie, ya que por observaciones de campo éstas últimas especies al desarrollarse en lugares donde *R. mangle* crece mejor no logran alcanzar alturas mayores que *R. mangle*.

Otra de las características morfológicas que diferencia a las tres especies es la presencia de lenticelas en el envés de las hojas, debido a que *R. mangle* presenta mayor cantidad de lenticelas y *R. racemosa* es la de menor cantidad (aproximadamente la mitad) (Fig. 4). La cantidad de lenticelas también varía inclusive en el mismo árbol, presentando mayor cantidad de lenticelas las hojas que están en contacto constante con el agua salada y con menor cantidad las hojas que se encuentran en las partes más altas del árbol. Esta distribución de las lenticelas es lógica considerando la función que ejercen las lenticelas, ya que son estructuras permeables al aire, pero no al agua lo cual facilita la respiración de las hojas que tienen contactos más frecuentes con aguas salobres (Prahl 1989).

La diferencia ecológica de las tres especies podría reflejarse en un diferente nivel y demanda de fotoprotección. Sin embargo, las diferencias fueron pequeñas y tan solo se observaron para los contenidos de pigmentos fotosintéticos como L y VAZ (Fig. 10). Tanto L como VAZ tienen función fotoprotectora. Los pigmentos VAZ participan en el ciclo de las xantofilas (Demmig-Adams and Adams 1996) y la L está involucrada en la estructura y organización complejas de la antena (Liu et al. 2004) además tiene un papel fotoprotector (Pogson et al. 1996,1998; Dall'Osto et al. 2006; Yan et al. 2007) y una importante función como antioxidante (Peng et al. 2006). Esto nos indica que *R. racemosa* y *R. mangle* ocupan lugares expuestas a mayor radiación solar en comparación a *R. harrisonii*. Pese a las diferencias ecológicas entre las especies, las condiciones de iluminación no parecen relacionarse con el potencial fotoprotector de cada especie puesto que no se observó correlación significativa entre el porcentaje de la transparencia del dosel y el contenido en pigmentos fotosintéticos de las especies de *R. mangle* y *R. harrisonii* (Fig.10). Esta poca plasticidad de los sistemas fotoprotectores en relación con el ambiente lumínico, se puede atribuir a que aunque sean diferentes especies y presenten diferentes ecologías en cuanto a su hábitat, estas son especies que se adaptan a cualquier medio de las otras especies del género *Rhizophora*, adoptando así características fenotípicas similares y con ello la fotoprotección puede deberse más a características morfológicas que a la cantidad de contenido de pigmentos fotosintéticos.

Además de tener diferentes contenidos en L y VAZ, la diferencia más notable entre las tres especies fue en el contenido de tocoferoles. Estas moléculas son antioxidantes lipofílicos que se sintetizan exclusivamente en los organismos fotosintéticos (Sattler et al. 2006). Existen cuatro formas de tocoferol (α , β , γ , y δ), de los cuales α -toc es la de mayor actividad antioxidante

y la predominante en hojas (Munné-Bosch 2005) El contenido de α -tocoferol aumenta bajo condiciones ambientales desfavorables (Chrost et al. 1999), lo que indica su importancia fisiológica. En cooperación con otros antioxidantes α -tocoferol contribuye a la preservación de un adecuado estado redox en el cloroplasto durante la respuesta de las plantas al estrés (Munné-Bosch 2005). Un número de estudios sugieren que la acumulación de α -tocoferol está relacionada con la tolerancia al estrés y una reducción está asociada con susceptibilidad al estrés (Gossett et al 1994; Leipner et al 1999; Munné-Bosch and Alegre 2000). Sin embargo, la caída de γ -tocoferol metiltransferasa en plantas modificadas genéticamente (que cataliza la conversión de la γ -tocoferol en el α -tocoferol), provoca una acumulación de γ -tocoferol en lugar de α -tocoferol, y resulta en una mayor tolerancia a estrés osmótico y disminución de la tolerancia al estrés salino (Abbasi et al. 2007; Munné-Bosch 2011). En las tres especies de *Rhizophora* es llamativo su alto contenido de γ -tocoferol que no suele estar presente en hojas, aunque sí en semillas (Foryer and Noctor 2003) (Fig. 9). La acumulación de γ -toc en lugar de α -toc en *Rhizophora* podría representar una respuesta al estrés salino. Pese a que el pool total de tocoferoles fue diferente en las tres especies, el contenido de α -toc fue muy similar. El contenido de α -toc es el tocoferol de mayor actividad antioxidante (Munné-Bosch 2005), esto indica que las tres especies se encuentran sometidas a un nivel de estrés oxidativo similar. El contenido bajo de α -tocoferol en las tres especies también puede estar relacionado con la edad de la hoja, ya que el contenido de α -tocoferol es bajo en hojas jóvenes y aumenta con la edad de la hoja (Lichtenthaler 2007; Szymánska and Kruk, 2008 a, b).

Al parecer *R. harrisonii* es la especie que tolera mejor el estrés por presentar menor contenido de tocoferoles en total y por presentar mayor porcentaje de α -tocoferol, mientras que la especie que se encuentra con mayor estrés es *R. racemosa* al no tener su entorno óptimo para su pleno desarrollo.

En resumen, las especies para el género *Rhizophora* del Pacífico no presentan diferencias morfológicas que las diferencien como especies, pero sí se pueden diferenciar a nivel bioquímico en cuanto al contenido de tocoferoles, algo que se puede relacionar con su diferente ecología.

5. CONCLUSIONES

1- Con este estudio hemos confirmado que las características morfológicas de las hojas y la presencia de lenticelas no son fiables para la diferenciación de las especies del género *Rhizophora* del Pacífico de Nicaragua, ya que estas características son adaptables al medio donde el árbol se desarrolle.

2-Las plantas de *R. mangle* crecen menos en altura que las otras dos especies más alejadas del agua salobre y con un crecimiento más vertical.

3-Las especies estudiadas mostraron muy pocas diferencias en cuanto a la composición y actividad de los sistemas fotoprotectores, que además no respondieron al ambiente lumínico.

4-*Rhizophora harrisonii* presentó menor contenido de γ -toc lo que podría relacionarse con su peor tolerancia al estrés salino. Además, pese a existir diferencias en el contenido total de tocoferol, la cantidad de α -toc fue similar en las tres especies, lo que indica que están sometidas a un nivel similar de estrés oxidativo.

5-El contenido de tocoferoles puede ser una herramienta para la clasificación de estas especies principalmente para separar a *R. harrisonii* y *R. racemosa* como especies. Aunque estas dos especies son las que presentan mayor similitud en cuanto a las características morfológicas e incluso en las ramificaciones de las inflorescencias, su distinta composición en tocoferoles podría convertirse como parámetro bioquímico de distinción interespecífica.

Capítulo VII.

CRISTALES DE SAL EN AVICENNIA

Los cristales de sal en la fotoprotección del mangle negro

R. Esteban¹, B. Fernández-Marín¹, A. Hernández¹ • E. T. Jiménez², A. León², S. García-Mauriño², C. D. Silva³, J. R. Dolmus³, **C. M. Dolmus³**, M. J. Molina³, N. N. Gutierrez³, M. I. Loaisiga³, P. Brito⁴, J. I. García-Plazaola¹

¹ *Departament of Plant Biology and Ecology, University of Basque Country (UPV-EHU), Apdo. 644, E-48080 Bilbao, Spain*

² *Department of Plant Biology and Ecology, Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain*

³ *Department of Plant Biology, UNAN-León, León, Nicaragua*

⁴ *Department Plant Biology, University of La Laguna, 38207 Tenerife, Spain*

Published in *Trees*. 27: 229–237

1. RESUMEN

Los bosques de manglares son ecosistemas formados por diferentes especies de plantas leñosas que viven en sedimentos costeros. Para hacer frente a la alta salinidad del sustrato, los árboles del manglar poseen una serie de mecanismos para excluir, secuestrar o excretar el exceso de sal. El mangle negro (*Avicennia germinans* L.), una de las especies dominantes de América Central, se caracteriza por la excreción de alto contenido de sal a través de las glándulas epidérmicas. En este estudio, el objetivo fue examinar si, aparte de su papel obvio en la tolerancia a la sal, la formación de cristales de sal en la superficie de la hoja del mangle negro representa un mecanismo dinámico de fotoprotección. Para ello, la reflexión de la luz y una serie de parámetros fisiológicos fueron estudiados durante las estaciones seca y lluviosa en los mangles negros en la Reserva Natural de la Isla Juan Venado (Nicaragua). La sal excretada aumentó la reflectancia de la superficie de la hoja, principalmente en las regiones azul y roja del espectro. Mediante la eliminación de la corteza salina de la superficie de la hoja, se demostró que durante los períodos más estresantes (estación seca al mediodía), la presencia de corteza salina permite que las hojas mantengan una mayor eficiencia fotoquímica y una menor temperatura de la hoja en comparación a las hojas descubiertas de los cristales de sal. Además, este mecanismo es totalmente reversible cuando las condiciones se vuelven más favorables, de manera que cuando el grado de humedad es mayor los cristales de sal se disuelven formando gotas. Así, al ser un mecanismo de desintoxicación desarrollado principalmente para mantener el equilibrio osmótico en los tejidos, la excreción de sal a través de las hojas en los mangles negros es un mecanismo de adaptación, ya que tiene efectos colaterales positivos en el rendimiento fotosintético de la planta, protegiendo a *A. germinans* por sobrecalentamiento y daño lumínico durante los periodos más duros.

Palabras clave: Avicennia, adaptación, mangle, reflectancia, pigmentos.

2. INTRODUCCIÓN

Los bosques del manglar se distribuyen a lo largo de las costas subtropicales en todo el mundo (Lüttge 1997). Varias especies de árboles coexisten en este entorno y presentan diferentes estrategias para hacer frente a la salinidad. Uno de los mecanismos más conspicuos es mostrado por los árboles del género *Avicennia* (mangle negro o mangle gris) cuyas hojas excretan la sal que no ha sido excluida por las raíces (Scholander et al. 1962; Drennan and Pammenter 1982), a través de glándulas especializadas localizadas en la epidermis (Lüttge 1997). Ambas partes de la hoja tanto la superior como la inferior presentan glándulas, las cuales están más concentradas en superficies adaxiales (Suarez and Medina 2008). Los iones de sal son acumulados en la hipodermis de la hoja y después son excretados (Waisel et al. 1986; Smith et al. 1989; Balsamo and Thomson 1993) por un proceso de alta actividad de la ATPasa (Drennan and Pammenter 1982). Durante la noche y al amanecer la excreción de sal es más activa (Naidoo 2010). Cuando la humedad relativa es elevada, la sal excretada absorbe el agua hidrocópicamente y las hojas son cubierta por gotas de agua salada. En días soleados cuando la humedad relativa disminuye al mediodía y el agua se evapora, el lado adaxial de las hojas se vuelve blanquecino debido a la formación de cristales de sal. Los cristales se disuelven de nuevo al final del día (observación personal). Este ciclo diario de formación de cristales de sal coincide con los cambios en las condiciones ambientales que afectan la función de las hojas. De hecho, un efecto secundario del proceso de formación de cristales puede generar cambios en las propiedades ópticas de la hoja.

A medida que los ecosistemas de manglares se exponen a luz intensa, y las condiciones salinas dan lugar a baja conductancia estomática y baja tasa fotosintética (Ball 1988), estos ecosistemas son particularmente propensos a sufrir fotoinhibición (Lovelock and Clough 1992). Así, se ha demostrado que la fotoprotección es una característica esencial para la aclimatación de especies del manglar con entorno intermareal (Christian 2005; Lovelock and Clough 1992). En el presente estudio, nuestra hipótesis es que la formación de cristales de sal en la superficie de la hoja, aparte de su papel en la tolerancia a la salinidad, también mejora la fotoprotección a través del aumento de la reflectancia foliar (y una disminución en la absorbancia de la hoja) durante los periodos de mayor demanda de actividad fotoprotectora. La estrategia de reducir la interceptación de luz por las hojas es omnipresente en el reino vegetal y puede ser logrado de diferentes maneras, tales como cambios en la posición de la hoja (Lovelock and Clough 1992), enrollamiento de hojas,

(Pastenes et al. 2004), movimiento de los cloroplastos (Kashahara et al. 2002), la presencia de estructuras reflectantes tales como ceras (Robinson et al. 1993), pelos o escamas (Morales et al. 2002) y cristales. (Mooney et al. 1977). Entre estos mecanismos, los movimientos de las hojas y los cloroplastos son dinámicos, permitiendo que las hojas se adapten con flexibilidad a su entorno, pero la presencia de estructuras reflectantes es apenas reversible (Björkman and Demmig-Adams 1994). En este estudio, nuestro objetivo era evaluar si, aparte de su evidente papel en la tolerancia a la sal, la formación de cristales de sal en la superficie de la hoja del mangle negro (*Avicennia germinans* L.) puede representar un mecanismo fotoprotector inusual y dinámico.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Especies de estudio, área de estudio y muestreo

El estudio de campo se realizó en la Reserva Natural de la Isla Juan Venado (IJV) (Nicaragua) (12°22'N, 87°01'W). El clima en IJV es tropical y se caracteriza por tener una fuerte estacionalidad en la distribución de la lluvia (estación seca y estación lluviosa). El mangle negro es una de las especies de la IJV, que característicamente excreta sal por las glándulas especializadas en ambos lados de las hojas (Fig. 2). La deposición de sal forma una cubierta de cristal de sal en el lado adaxial de la hoja, siendo esta más notable durante la estación seca. Diez individuos diferentes que crecen en sitios abiertos fueron seleccionados para el estudio y los experimentos fueron realizados en ambas estaciones, tanto en la estación seca (noviembre 2009 y noviembre 2011) como la estación lluviosa (julio–agosto 2009 y julio–agosto 2011). Por cada individuo una hoja fue seleccionada al azar para realizar todas las mediciones (fluorescencia, reflectancia, temperatura de la hoja y composición de pigmentos y tocoferoles (información detallada más adelante). La sal fue removida suavemente de la mitad izquierda de la cara adaxial de cada hoja con un pañuelo de papel antes del amanecer. El paso de la remoción de la sal de la mitad izquierda de la hoja se repitió durante el día, cada vez que las hojas comenzaron a volverse blanquecinas. A lo largo del texto cada mitad, intacta (con sal) y sin sal, se indican como HS y HWS, respectivamente. Ambas partes fueron comparadas durante el curso de un día típico en cada estación: al amanecer (06:00), al mediodía (11:30), a la tarde (15:00) y al amanecer del día siguiente (06:00).

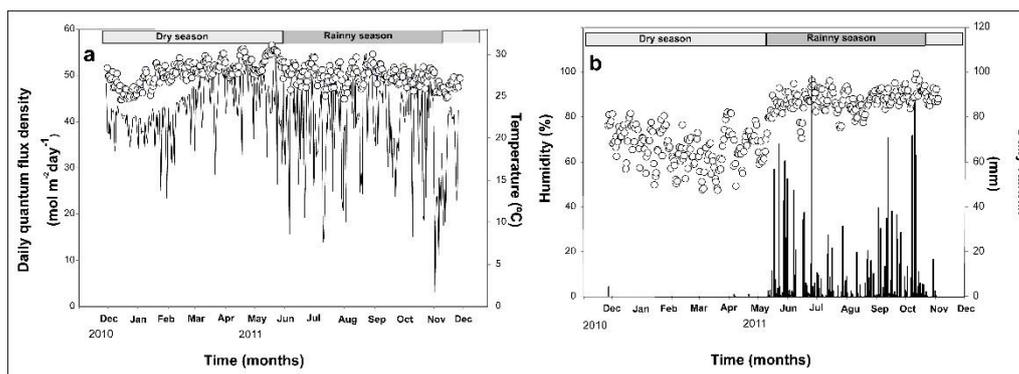


Figura 1. Condiciones meteorológicas en la Reserva Juan Venado durante el curso de 1 año (de noviembre de 2010 a noviembre de 2011): a) densidad de flujo cuántico diario (línea) y temperatura media diaria (círculos abiertos); b) humedad relativa media diaria (círculos abiertos) y precipitación diaria (barras).



Figura 2. *Avicennia germinans*, hoja. Obsérvese la sal excretada por las glándulas especializadas en la mitad de la hoja. La sal en la otra mitad se ha retirado cuidadosamente con un pañuelo de papel.

Los discos de hojas para el análisis químico se recogieron y almacenaron como se describe en Esteban et al. (2009) en sobres de papel rellenos de silica gel. Las muestras fueron transportadas 1 semana después al laboratorio analítico (Dpto. Biología Vegetal y Ecología, UPV/EHU, Leioa, Bizkaia) y se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido hasta su análisis. Este método alternativo es adecuado para la conservación de pigmentos fotosintéticos y tocoferoles de lugares remotos, tales como IJV, donde el nitrógeno líquido no está disponible. Este método proporciona resultados confiables, sin embargo, posee la limitación de que el índice de epoxidación no puede determinarse en muestras, ya que existe una formación residual de zeaxantina durante el proceso de conservación (para más información, ver Esteban et al. (2009).

3.2. Condiciones climáticas

Los datos climáticos se registraron de noviembre de 2010 a noviembre de 2011 mediante una estación meteorológica automática (Mini- Cube VV/VX16, EMS, Brno, CZ) cerca del sitio de muestreo. La densidad del flujo cuántico (EMS12, EMS, Brno, CZ),

precipitaciones diarias (MetOne370/376, EMS, Brno, CZ), temperatura del aire y humedad relativa (EMS33, EMS, Brno, CZ) fueron monitoreados en el transcurso del año. Los instrumentos para obtener los datos fueron programados para registrar medias de 1 h de mediciones ambientales, tomadas cada minuto desde noviembre 2010 a noviembre 2011.

3.3. Propiedades ópticas de las hojas

El índice de reflectancia fotoquímica de la hoja (PRI) fue medido en el campo en el curso del día hasta el mediodía en la estación seca (noviembre 2008) con un PRI-meter (PlantPen PRI 200, PSI, Brno, Czech) en las caras adaxial y abaxial de las hojas HS y HWS. Este índice fue calculado como $(R570 - R531) / (R531 + R570)$. Por otro lado, 34 muestras de hojas fueron colectadas en el campo en la estación seca (abril 2010) y la reflectancia foliar se midió en el laboratorio antes y después de la eliminación de la sal. La reflectancia foliar, definida como la proporción de luz incidente que se refleja de la hoja, fue medido con un espectroradiómetro (UNISPEC™, FieldSpec UV/NIR portable spectral system, PP Systems, Amesbury, USA) con un soporte de clip de hoja de fibra óptica y la referencia proporcionada por el fabricante. La iluminación fue proporcionada por una fuente de luz suministrada con una lámpara halógena interna de 7.0 W.

3.4. Fluorescencia de la Clorofila a

La fluorescencia de la clorofila a fue determinada con un Fluorímetro Portátil de clorofila (Fluorpen FP100, PSI, Brno, Czech Republic) en hojas sometidas a oscuridad durante 20 min para permitir una completa relajación u oxidación de los centros de reacción para determinar la fluorescencia basal (F_0). Después fue aplicado un pulso de saturación de $3,000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para determinar la máxima fluorescencia (F_m). La máxima eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII) fue estimado por el ratio $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$ según Genty et al. (1989). La transición de la clorofila fue inducida por una luz saturante de $3,000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y la fluorescencia se registró cada 2 s a una frecuencia de 10 μs , 100 μs , 1 ms y 10 ms por intervalos de tiempo de 10–600 μs , 0.6–14 ms, 14–100 ms y 0.1–2s, respectivamente. Los valores de fluorescencia 0 μs (F_0 , fase 0), 100 μs (F_{100}), 300 μs (F_{300}), 2 ms (fase J), 30 ms (fase I) y máxima (F_m , fase P) fueron tomados en consideración. Los puntos cardinales de las curvas OJIP y los parámetros derivados fueron calculados con el software flourpen 2.0, basado en las formulas derivadas de Strasser et al. (2000, 2004) el resultado obtenido se representa en un gráfico de red de araña junto con otros caracteres fisiológicos (Fig.5). Los otros parámetros fueron fluorescencia relativa a 2

ms, V_j definido como $(F_j - F_0) / (F_m - F_0)$; fluorescencia variable a 30 ms, V_i , definida como $(F_i - F_0) / (F_m - F_0)$; y P_i_Abs , el cual es el índice de rendimiento (potencial) para la conservación de energía de los fotones absorbidos por el PSII para la reducción de los aceptores de los electrones intersistemas: $P_i_Abs = [RC/ABS][TR_0/(ABS - TR_0)] [ET_0/(TR_0 - ET_0)]$. El  ndice de rendimiento se obtiene según los principios de la ecuación de Nernst por la reacción Red-Ox (para más detalle de este parámetro ver Strasser et al. 2000, 2004).

3.5. Temperatura de la hoja

La temperatura de la hoja se midió al mediodía con un termopar digital K (Thandar, TH302) en el lado adaxial y abaxial de HS y HWS (limpiando suavemente las hojas como se explicó anteriormente). El parámetro de aumento de la temperatura de la hoja (Δ leaf T° ; Fig. 5) fue calculado como la diferencia de temperaturas entre el lado adaxial y el abaxial. El calentamiento directo de los termopares por la luz directa del sol podría afectar la precisión de las mediciones, por lo que el parámetro Δ leaf T° ; solamente resulta válido para fines comparativos entre HS y HWS.

3.6. Métodos analíticos

Los compuestos fotoprotectores se extrajeron triturando las hojas en un mortero frío con 1 mL de acetona (100%) con 0.5 g/L de $CaCO_3$, para evitar trazas de ácido que podrían alterar los pigmentos. Las muestras se centrifugaron a 12000 rpm durante 20 min a una temperatura de 4 $^\circ C$ y filtrada en una jeringa a través de filtro PTFE de 0.22 μm (Whatman, Maidstone, UK). Los extractos se inyectaron (15 μL) en un HPLC equipado con una columna C18 de fase reversa (Waters, Milford, MA, USA) siguiendo el método de García-Plazaola and Becerril (1999) con algunas modificaciones (García-Plazaola and Becerril 2001; García-Plazaola and Esteban 2012). El autoinyector 717 plus fue equipado con un termostato que mantiene la temperatura constante a 4 $^\circ C$ evitando la alteración del pigmento. Los pigmentos fotosintéticos fueron medidos mediante un detector PDA (Waters model 996) en el rango de 250-700 nm. Los picos se detectaron e integraron a 450 nm para determinar el contenido de carotenoides y clorofila. Los pigmentos fueron identificados y cuantificados de acuerdo con García-Plazaola and Becerril (1999). Los tiempos de retención y los factores de conversión para los pigmentos fueron los mismos que los descritos por García-Plazaola and Becerril (1999, 2001). Para los tocoferoles, la detección se llevó a cabo con un detector de fluorescencia (Waters model 474) ajustado a

una $\lambda_{exc} = 295$ nm y $\lambda_{em} = 340$ nm y calibrado con estándares de tocoferol (Calbiochem, San Diego, CA).

3.7. Estadística

Se utilizó una prueba t-Student pareada para probar las diferencias en la eficiencia fotoquímica (Fig.4) y PRI (Tabla 1). Para testar diferencias en la reflectancia (Fig. 3) y en pigmentos y tocoferoles (Tabla 2) se realizaron análisis univariantes de la varianza (ANOVA), considerando con y sin sal como un factor fijo. Todos los datos fueron probados para la normalidad y homogeneidad de las varianzas y transformados mediante raíz cuadrada, cuando fue necesario. Las pruebas de Student-Newman-Keul se utilizaron para discriminar entre diferentes tratamientos después de la prueba F significativa y la prueba de Cochran para probar la heterogeneidad de las varianzas. En el caso del α -tocoferol, uno de los datos fue sustituido por la media del grupo y 1 df restado de residuo (Winer et al. 1991) para estandarizar variaciones. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS 19.0

4. RESULTADOS

4.1 Caracterización Meteorológica de IJV

Las condiciones meteorológicas de IJV fueron monitoreadas durante un año (noviembre 2010- noviembre 2011) como se muestra en Fig. 1, la estacionalidad térmica fue baja, con temperaturas medias diarias entre los 25 y 30 °C durante todo el año (Fig. 1a). En contraste con la temperatura, la precipitación se distribuyó irregularmente con una marcada estación seca de diciembre a mayo en la que la precipitación total acumulada fue inferior a 4.2 mm (Fig. 1b). En la estación seca, la humedad del aire cayó considerablemente a valores entre 50 y 80% (Fig. 1b). La radiación acumulada diaria fue alta durante todo el año ($\sim 40 \text{ mol m}^{-2} \text{ día}^{-1}$) pero fue mucho más variable en la estación lluviosa (Fig. 1a) debido a la mayor variabilidad en la nubosidad.

4.2 Efectos de la deposición de cristales de sal en los parámetros fotosintéticos

La acumulación de sal en la superficie de las hojas de manglares negros afectó fuertemente el espectro de reflectancia en el rango de PAR (400–700 nm) (Fig. 3). De hecho, se encontraron diferencias significativas en las regiones azul (420–500 nm) y roja (630–680 nm) del espectro cuando las hojas HS y HWS (ver materiales y métodos) fueron comparadas. La reflexión de la luz en estas regiones del espectro puede tener efectos directos sobre la absorción de luz por las clorofilas y, en consecuencia, sobre el rendimiento fotosintético. Por lo tanto, la máxima eficiencia fotoquímica de PSII (F_v/F_m) se controló a lo largo de un día típico de la estación tanto lluviosa como seca (Fig. 4). En la estación lluviosa, no se observó diferencia significativa en la eficiencia fotoquímica entre HS y HWS (Fig. 4a). Sin embargo, en la estación seca, cuando la deposición de cristales de sal era más visible, las HS mostraron una mayor eficiencia fotoquímica durante la tarde que las HWS (Fig. 4b), indicando una posible fotoinhibición de los tejidos expuestos. Se obtuvo otra evidencia adicional de esta fotoinhibición cuando se constató el efecto de la acumulación de sal epicuticular en el Índice de Reflectancia Fotoquímica (PRI) de las hojas tanto en la estación lluviosa como en la seca (Tabla 1). Particularmente en este último caso, una disminución en PRI se observó después de la eliminación de la sal. Por lo tanto, HS mostró una tendencia a presentar mayores valores de PRI, lo que indica que más fotones estaban siendo utilizados para la fotoquímica.

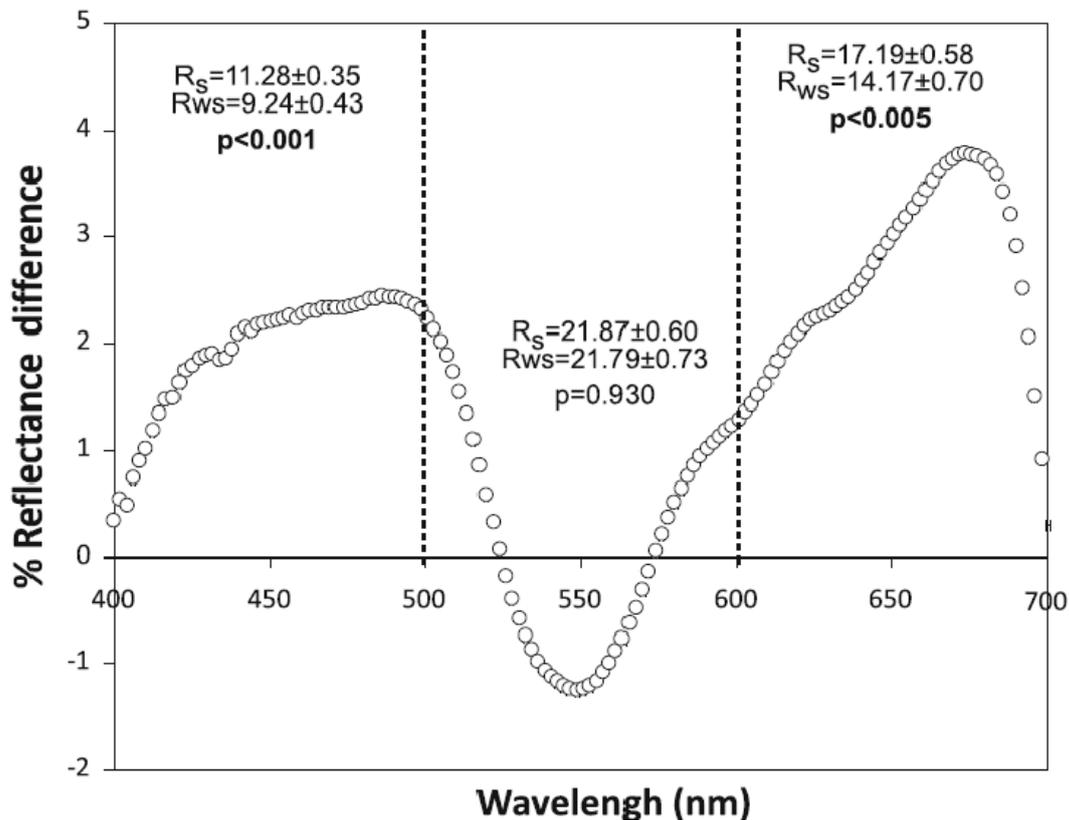


Figura 3. Diferencia de reflectancia espectral entre 400-700 nm para hojas de *A. germinans* con sal y sin sal. Nótese que los valores medios de porcentaje de reflectancia total y valor de p con sal (RS) y sin sal (RWS) se indican para los diferentes rangos 400–500; 501–600; 601–700 nm. Valores medios de 34 hojas.

Finalmente, se analizaron los pigmentos fotosintéticos y la composición de tocoferol en la estación húmeda y seca en HS y HWS. Curiosamente, las proporciones de clorofila, de α -tocoferol (α -toc), γ -tocoferol (γ -toc) y el total de pigmentos del ciclo de la violaxantina (V+A+Z) difieren entre estaciones siendo el el contenido en tocoferoles más alto en el período húmedo y los pigmentos VAZ más altos en la estación seca (Table 2). No se observaron diferencias significativas en ningún parámetro entre las hojas HS y HWS.

PRI	Estación Lluviosa		Estación Seca	
	HS	HWS	HS	HWS
Antes de amanecer	0.079±0.005	0.082±0.008	0.108±0.009	0.108±0.009
Mediodía	0.075±0.008	0.066±0.010	0.075±0.009	0.064±0.009
Tarde	0.075±0.006	0.068±0.009	0.078±0.010	0.072±0.008

Tabla 1. Promedio de la hoja PRI mediciones en las hojas de *A. germinans* en HS- (mitad con sal) y HWS- (mitad sin sal). Durante un curso diurno en temporada lluviosa y estación seca (n = 10, media \pm SE). Números en negrita indican diferencias significativas en $p < 0,05$ entre la parte con sal y la parte sin sal. PRI calculado como $(R570 - R531) / (R570 + R530)$.

	Estación Lluviosa				Estación Seca			
	Mediodía		Antes de amanecer		Mediodía		Antes de Amanecer	
	HWS	HS	HWS	HS	HWS	HS	HWS	HS
Chl a+b ($\mu\text{mol ml}^{-2}$)	344.9 \pm 26.2a	343.1 \pm 48.2a	280.7 \pm 33.0a	290.6 \pm 22.1a	247.4 \pm 22.9a	241.5 \pm 22.7a	251.3 \pm 16.3a	236.2 \pm 16.5a
Chl a/b	3.4 \pm 0.0 a	3.4 \pm 0.0 a	3.5 \pm 0.0a	3.5 \pm 0.1a	3.3 \pm 0.1a	3.4 \pm 0.0a	3.5 \pm 0.1a	3.5 \pm 0.0a
N chl (mmol mol chl ⁻¹)	34.4 \pm 0.1a	34.3 \pm 0.7a	31.1 \pm 1.4a	31.3 \pm 0.8a	37.6 \pm 2.2a	36.5 \pm 1.8a	33.2 \pm 1.8a	33.0 \pm 1.7a
L chl (mmol mol chl ⁻¹)	139.9 \pm 4.7a	143.4 \pm 5.4a	134.9 \pm 8.3a	135.4 \pm 5.8a	159.4 \pm 7.a	157.2 \pm 7.0a	142.4 \pm 6.3a	142.8 \pm 8.1a
β-C chl (mmol mol chl ⁻¹)	116.2 \pm 2.2a	115.7 \pm 2.1a	110.7 \pm 2.8ab	113.0 \pm 2.6a	109.4 \pm 3.0ab	109.2 \pm 2.7ab	101.1 \pm 2.4b	101.2 \pm 1.8b
V+A+Z chl (mmol mol chl ⁻¹)	82.3 \pm 6.8a	90.7 \pm 8.7a	76.5 \pm 10.0 a	78.6 \pm 7.4 a	147.8 \pm 11.6b	137.3 \pm 12.8b	105.5 \pm 7.1a	103.7 \pm 7.6a
γ-toc chl (mmol mol chl ⁻¹)	36.2 \pm 4.8 ab	43.1 \pm 7.3b	38.7 \pm 6.5ab	42.4 \pm 8.6b	21.6 \pm 10.0ab	17.4 \pm 9.5ab	15.9 \pm 9.0ab	6.6 \pm 5.1a
α-toc chl (mmol mol chl ⁻¹)	839.0 \pm 118.4 a	953.1 \pm 166.8 a	880.2 \pm 159.0 a	952.8 \pm 171.7 a	562.2 \pm 259.3 ¹ a	539.9 \pm 283.5 ¹ a	481.5 \pm 240.5 a	288.1 \pm 160.0 a

Tabla 2. Contenido en pigmentos y de tocoferoles en hojas de *A. germinans* (n = 10 \pm SE) en HS (mitad con sal) y HWS (mitad sin sal) durante el mediodía y antes del amanecer en estación húmeda y seca. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), considerando la ausencia o presencia de sal y estacionalidad como factores fijos. Distintas letras indican diferencias estadisticamente significativas en p < 0.05 entre los tratamientos después de la prueba de Student-Newman-Keul. Chl a+b: clorofila total, Chl a/b: relación Clorofila a/clorofila b, N chl: neoxantina en base al contenido en clorofila, L chl: luteina en base al contenido en clorofila, β -C chl: β -carotene en base al contenido en clorofila, V+A+Z chl: total de pigmentos del ciclo de la Violaxantina en base al contenido en clorofila, γ -toc chl: γ -tocoferol en base al contenido en clorofila, α -toc chl: α -tocoferol en base al contenido en clorofila. ^aPara homogeneizar las varianzas, un dato fue reemplazado por la media del grupo y 1df restado de residuo (Winer et al., 1991).

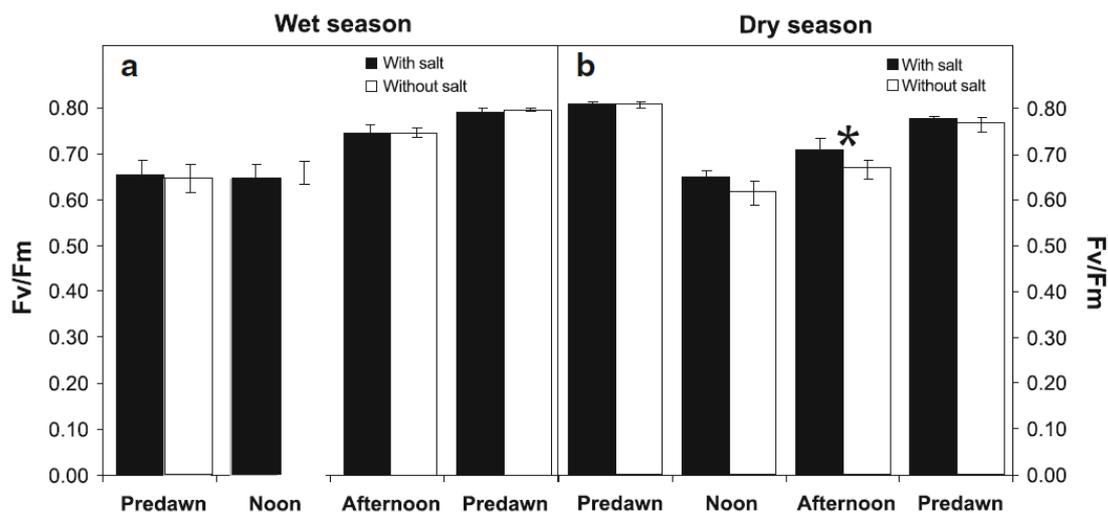


Figura 4. Eficiencia fotoquímica en hojas de *A. germinans* con sal y sin sal durante un curso diurno en agosto (estación lluviosa) y noviembre (estación seca). El asterisco indica diferencias significativas a p < 0.05 entre la parte con sal y la parte sin sal.

Con el fin de visualizar claramente lo que estaba sucediendo en las hojas, una serie de parámetros fisiológicos de *A. germinans* fueron representados en un gráfico de red de ar a (Fig. 5). Esta es una descripción multiparamétrica de la estructura y función de cada componente representada por una línea heptagonal. Este tipo de presentación proporciona una visualización directa del comportamiento y por lo tanto facilita la comparación de material vegetal, así como la clasificación del efecto de diferentes estreses ambientales en términos de las modificaciones que sufre para adaptarse a nuevas condiciones (Strasser et

al. 2000). En la figura 5 se muestran valores de hojas con HWS al mediodía en la estación seca en relación con las hojas HS. Entre los diferentes parámetros probados, se observó que el PRI, el Índice de Rendimiento (Pi_Abs) y la temperatura de la hoja (estimado como Δ hoja T° , ver metodos) fueron afectados por la excreción de sal, aunque en una medida diferente. La eliminación de los cristales de sal en las hojas de mangle negro indujo una disminución en el PRI y Pi_Abs, junto con un aumento en la hoja ΔT° , lo que indica que una posible función de la deposición de sal es evitar que las hojas se sobrecalienten.

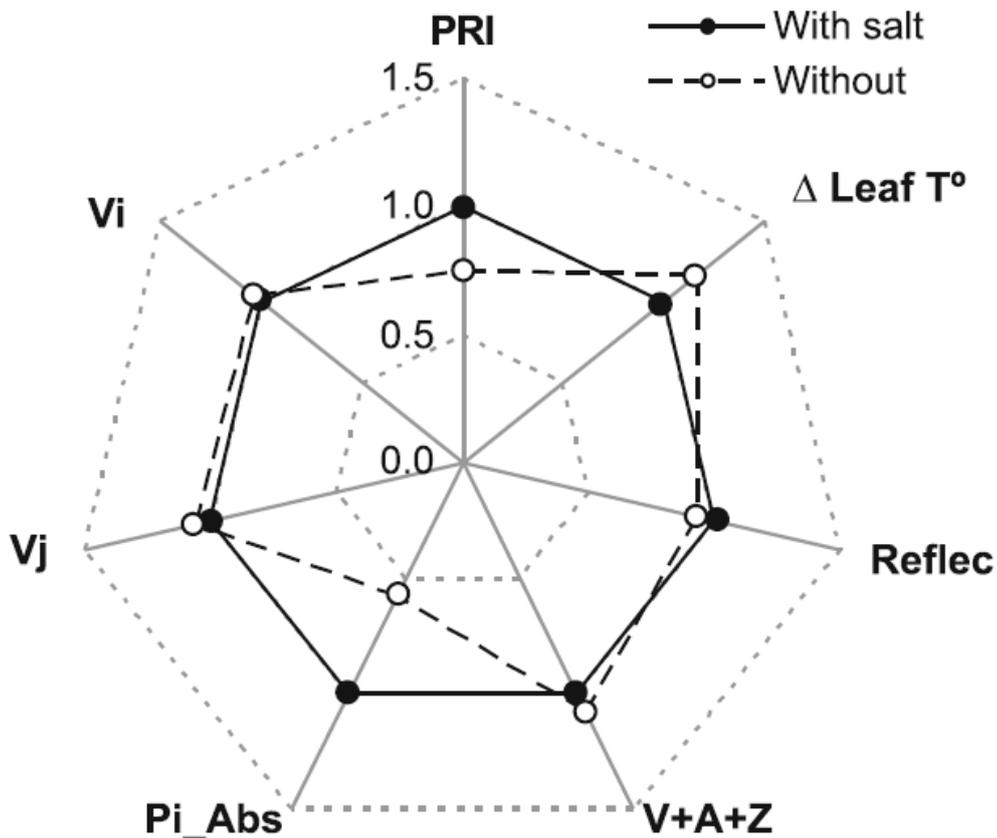


Figura 5. Presentación gráfica de los parámetros fisiológicos de *A. germinans* al mediodía en la estación seca comparando hojas sin sal con hojas con sal: PRI; Δ leaf T° (aumento de la temperatura de la hoja calculada como la diferencia de temperatura entre los lados adaxial y abaxial); Reflec (% total de la media de reflectancia de los 400 a los 700 nm); V+A+Z (Pigmentos del ciclo de la Violaxantina); PI_Abs (Índice de rendimiento sobre la base de la absorción); Vi (Fluorescencia variable relativa en la etapa I); Vj (Fluorescencia variable relativa en la etapa I). Los últimos tres parámetros se derivan de la prueba JIP de las variaciones (OJIP) de ascenso rápido. Los valores se normalizaron utilizando como referencia los valores correspondientes de hojas no saladas. Los círculos abiertos y cerrados indican hojas sin sal y con sal, respectivamente.

5. DISCUSION

Avicennia es uno de los mangles más tolerantes a la sal (Ball 1988). Sus hojas se caracterizan por un alto nivel de excreción de sal que le permite mantener su equilibrio mineral y estado hídrico en condiciones de salinidad extrema, evitando así la acumulación de algunos iones (principalmente cloruro y sodio) que pueden tener efectos tóxicos a altas concentraciones (Hasegawa and Bressan 2000; Zhu 2001). A pesar de su extraordinaria resistencia y amplia distribución, existen pocos estudios sobre las respuestas ecofisiológicas de este género bajo condiciones naturales (Lin and Sternberg 1992; Gordon 1993; Sobrado and Ball 1999; Naidoo et al. 2011). En este estudio, nos hemos propuesto evaluar las ventajas potenciales que las acumulaciones de cristales de sal en las hojas confieren a la planta en términos de fotoprotección.

Las hojas de varias especies de halofitas siguen un patrón de excreción diurna con una gran reducción en la excreción al mediodía (Ramadan 1998). Este es también el caso del mangle negro en el que se ha descrito una mayor secreción de sal durante la noche (Gordon 1993; Naidoo 2010). Sin embargo, como la excreción líquida en la superficie de las hojas posee una concentración muy alta de iones, en concreto el 96% es Na^+ y Cl^- (Sobrado and Greaves 2000), la deposición de sal sólo se hace evidente después de la evaporación del agua. Así, la acumulación de cristales de sal es máxima durante el día (normalmente al mediodía o temprano en la tarde) cuando el grado de secreción se reduce (Ramadan 1998, 2001) y es más visible durante la estación seca (observación personal) cuando la humedad del aire baja y la radiación acumulada diaria es más alta (Fig. 1). De hecho, las condiciones de estrés hídrico causado por la sequedad de la atmósfera influyen en gran medida la eficiencia del proceso de excreción (Ramadan 1998). Estos cambios en las condiciones climáticas entre ambas estaciones son probablemente las causas de los cambios en la composición del pigmento (Tabla 2). Por lo tanto, VAZ/chl total fue mayor en la estación seca lo que indica una mayor demanda de fotoprotección ya que este parámetro es generalmente proporcional al nivel de estrés lumínico al que se exponen las hojas. (Niinemets et al. 2003; Logan et al. 1996; Tausz et al. 2004). Curiosamente, el contenido de α -tocoferol y γ -tocoferol también cambió entre estaciones, siendo la estación húmeda cuando el γ -tocoferol aumentó significativamente. En este sentido se ha descrito previamente que precisamente el γ -tocoferol ejerce una función específica en la osmoprotección in vivo (Abbasi et al. 2007).

La acumulación de sal sobre las hojas del manglar negro altera las propiedades ópticas de las hojas; en particular, aumenta la reflectancia foliar en el azul y el rojo en las regiones del espectro (Fig. 3), reduciendo así la luz absorbida por las hojas. Por lo tanto, un mecanismo para evitar los efectos sinérgicos e interactivos del exceso de luz y temperatura, como la disminución de la absorción de la luz en las hojas debido al aumento de la reflectancia en las hojas con cristales de sal en la superficie, puede ser de especial importancia en el duro ambiente intermareal tropical del manglar, donde la saturación en la utilización de la luz por las especies de este ecosistema se alcanza con un 30-50% de la luz solar completa (Ball 1996).

Como este proceso es reversible, los efectos ópticos desaparecen una vez que la sal se disuelve en agua. Una estrategia similar de reducción reversible de la absorción de hojas a través de la formación de cristales de sal ha sido descrita en *Atriplex hymenelytra* en el que una mayor reflectancia también mejora la eficiencia del uso del agua (Mooney et al. 1977). Los árboles de mangle suelen tener bajas tasas de fotosíntesis (Ball 1996); por lo tanto, deben tratar la absorción excesiva de la luz solar para evitar el daño que puede resultar de la sobreexcitación del aparato fotosintético (Osmond 1994; Osmond et al. 1999). Se han descrito varios mecanismos que evitan la fotoinhibición equilibrando la absorción y el uso de la energía luminosa en árboles de los manglares. Estos incluyen menor contenido de clorofila (Christian 2005), modificaciones en el ángulo de las hojas (Björkman and Demmig-Adams 1994; Tuffers et al. 1999) y la mayor actividad de los pigmentos del ciclo de las xantofilas (Sobrado and Ball 1999; Christian 2005). Tomando en consideración la evidencia proporcionada en el presente estudio, la acumulación de sal en el mangle negro podría agregarse a esta lista de estrategias involucradas en la prevención del daño foto-oxidativo. De hecho, la evitación de altas intensidades de luz a mediodía (debido a la acumulación de cristales de sal) podría dar lugar a una mayor ganancia de carbono. Los datos en la Fig. 4 apoyan esta idea ya que, en la estación seca, las hojas HS muestran una mayor eficiencia fotoquímica durante la tarde que las hojas HWS (Fig. 4b). La disminución del mediodía en la eficiencia de PSII mostrada por HWS se recuperó poco después de la madrugada. En consecuencia, esto puede ser entendido como una regulación negativa con función protectora en estos tejidos expuestos a alta intensidades luminosas en lugar de como un proceso de fotoinhibición (Cheeseman et al. 1997; Sobrado 1999). Además, las hojas HS mostraron una tendencia a tener mayores valores del PRI (Tabla 1). Este índice se formuló inicialmente como un indicador de la eficiencia fotosintética (Gamon et al. 1992), pero también puede ser una función de los cambios de epoxidación del ciclo de xantofilas

(Peguero-Pina et al. 2008; Nichol et al. 2006). Por lo tanto, diariamente, coincidiendo con el momento más seco y más estresante en cuanto a fotoinhibición, la reducción de la absorción de luz debido a la acumulación de sal mejora la eficiencia y el rendimiento fotoquímico (PRI) de las hojas del mangle negro. (Fig. 4; Tabla 1).

La descripción multiparamétrica representada en la Fig. 5 resume lo que ocurre en ambos tipos de hojas durante la estación seca. Pi_Abs engloba los cambios transitorios de fluorescencia asociados con los cambios en la conformación de la antena y sus fluctuaciones y es un índice práctico para utilizar en los estudios de estrés (Appenroth et al. 2001; Strasser et al. 2000) y diagnósticos fisiológicos (Strasser et al. 2000), este índice se correlaciona positivamente con las tasas de asimilación de CO₂ (van Heerden et al. 2003) y para evaluación de calidad forestal (Hermans et al. 2003). Como se esperaba, los Pi_Abs de las hojas HS, sobre una base igual de clorofila (absorción), fueron más altos que las hojas HWS, lo que indica que el rendimiento fotosintético es bajo en estas hojas debido a una reducción en la conservación de energía desde que los fotones son absorbidos por la antena del PSII hasta la reducción de Q_B. Se han descrito resultados similares en las mismas especies expuestas a un estrés de alta salinidad, lo que indica que una alta salinidad afecta al PSII (Gonzalez-Mendoza et al. 2011).

La presencia de cristales de sal en las hojas de *A. germinans* también tuvo una influencia sobre la temperatura de la hoja, como lo demuestra la temperatura significativamente más baja en hojas HS en comparación con hojas HWS (Fig. 5) Una disminución en la temperatura de la hoja puede mejorar la fotosíntesis en las especies de manglar (Ball 1988), debido principalmente al hecho de que en condiciones tropicales, las bajas tasas de transpiración de *Avicennia* no son suficientes para evitar que las hojas se calienten por encima de la temperatura ambiente (Ball 1988), por lo tanto, la acumulación de sal en las hojas de *A. germinans* puede no sólo representar una forma de fotoprotección en las hojas reduciendo la absorción de la luz sino también una forma de proteger térmicamente las hojas, evitando el efecto perjudicial del sobrecalentamiento. Por lo tanto, aunque no son esenciales para la supervivencia de las plantas, los efectos sinérgicos e interactivos de la disminución simultánea de la temperatura de la hoja y la absorción de la luz añaden un nuevo elemento a la capacidad fotoprotectora de esta especie en ambientes intermareales tropicales. Aunque el efecto de otras estructuras epicuticulares y excreciones tal como pelos y ceras ha sido estudiado en mayor profundidad (Morales et al. 2002; Sheperd and Griffiths 2006), sólo unos pocos estudios se han centrado en los efectos de

los cristales de sal excretada (Mooney et al. 1977; Naidoo et al. 2011). Aunque esta estrategia evolucionó principalmente como un mecanismo de tolerancia a la sal, en el caso de la excreción de sal de *A. germinans*, su papel demostrado en la prevención de la fotoinhibición y el sobrecalentamiento cumple el concepto de "exaptación" (Gould and Vrba 1982): "Características que actualmente mejoran la aptitud pero que específicamente no se han desarrollado mediante selección natural para su papel actual". Por lo tanto, en la colonización de las playas, esta estrategia puede conferir una ventaja sobre otras plantas que a pesar de excretar la sal no acumulan cristales en sus superficies foliares. Aun más, esta acumulación diaria y estacional de sal, que aumenta la fotoprotección en el manglar negro, también representa uno de los pocos ejemplos de mecanismos fotoprotectores reversibles entre plantas que funcionan conjuntamente con cambios en la demanda fotoprotectora.

Capítulo VIII.

DISCUSIÓN GENERAL

1. Antecedentes: fortalecimiento de la UNAN-León

La UNAN-León, tiene 7 facultades con diversas Licenciaturas e Ingenierías con campus en la capital Managua y en la ciudad de León. El Departamento de Biología es parte de la Facultad de Ciencias y Tecnología de León, con un claustro de profesores de nuevo relevo generacional. Una carencia de la UNAN es la deficiencia de doctores entre el profesorado. Es por ello, que el fortalecimiento del departamento de Biología de la UNAN-León empezó desde el 2008 con los proyectos financiados por AECID y hermanamientos de las universidades del Sevilla, País Vasco y La Laguna. Dentro de este objetivo de fortalecimiento, una de las líneas estratégicas era los recursos humanos y formar gente preparada en el área de Ecofisiología Vegetal. En este marco surge una convocatoria para la formación de dos doctorandos en tesis que se realizaran en la Isla Juan Venado. Y la autora de la presente tesis doctoral fue una de las doctorandas seleccionadas para esta aventura.

2. Mi experiencia personal: cómo comenzó todo

A pesar de vivir a escasos 20 kilómetros de la Reserva de la isla Juan Venado no la conocía. No sabía qué era andar entre fango, no sabía cómo eran las especies, no conocía nada del ecosistema; solamente tenía el deseo de aprender y trabajar, y además era una oportunidad para seguir creciendo académicamente. Mi primera fase investigadora empezó en el área de genética molecular, junto con los criterios taxonómicos para diferenciar las especies del género *Rhizophora* presentes en la isla (capítulo VI) y así fue como comencé el camino para obtener el título de Máster (requisito para acceder al doctorado). En un principio, fue muy compleja la búsqueda tanto de un Máster adecuado como la de la financiación que me permitiría realizarlo. Hasta que un día recibí un e-mail donde me notificaban que había sido seleccionada para el Máster Oficial de Agrobiología Ambiental de la Universidad del País Vasco (UPV/ EHU) y además conseguí financiación de la AECID para realizarlo. Tras un año de trabajo finalicé el trabajo fin de master dirigido por el Dr. José Ignacio García Plazaola. En este momento, Raquel Esteban y Antonio Hernández se comprometieron a guiarme durante todo el proceso de la realización de la tesis y ser mi directora y director. Posteriormente, mediante financiación de la Universidad el País Vasco pude realizar dos estancias de investigación para poder realizar parte del trabajo experimental de la presente tesis doctoral. A continuación, se discuten los principales resultados de la misma.

3. Ambiente hostil en la Reserva Juan Venado y estrategias de supervivencia

En la Reserva Juan Venado se dan unas condiciones climáticas hostiles (alta radiación, alta salinidad del estero, altas temperaturas), que además está marcada por la estacionalidad, siendo la estación seca de noviembre a abril y el resto de meses la estación húmeda. Esta estacionalidad con poca o nada precipitación durante parte del año, provoca sequía estacional. Es por ello, que en respuesta a esta estacionalidad se observaron cambios en la composición de las especies del bosque seco (capítulo IV) y del manglar (capítulo V). Esto se ejemplifica en el aumento de los pigmentos VAZ en la época seca en las especies del bosque seco (*Annona glabra*, *Gliricidia sepium* y *Simarouba amara*), y en las del manglar *A. germinans* y *R. mangle*. En este ecosistema la estacionalidad además de menor disponibilidad de agua conlleva un aumento de las condiciones de salinidad, como se describió en el capítulo V. Esto implica una mayor demanda de fotoprotección, ya que este parámetro es generalmente proporcional al nivel de estrés lumínico al que se exponen las hojas. (Niinemets et al. 2003; Logan et al. 1996; Tausz et al. 2004). La estacionalidad también marca el funcionamiento diferencial en las dos estaciones, como en *A. germinans*, que muestra diferencia en la eficiencia fotoquímica de sus hojas dependiendo de la estacionalidad. Por lo que, las respuestas fotoprotectoras de las especies del manglar y del bosque seco están claramente influenciadas por las condiciones ambientales impuestas por el clima tropical seco.

4. Las especies del manglar son tolerantes a la salinidad, pero presentan diferentes grados de tolerancia

La salinidad del estero y a la que están sometidas las especies del manglar es otro factor ambiental hostil al que las especies de este ecosistema se enfrentan. Lo cual implica que las especies del manglar tienen mecanismos de evasión y tolerancia para poder sobrevivir en sus estados más sensibles (como pueden ser los estadios iniciales) a la salinidad (Krauss et al. 2008). Y de hecho, en la presente tesis se ha demostrado el cambio de estrategia de las especies dependiendo su estadio de crecimiento (capítulo V). Es decir la salinidad óptima varía con la edad de la plántula (Kutchings and Saenger 1987). Por otro lado, al analizar el crecimiento y la respuesta a salinidades crecientes, se demostró en esta tesis doctoral (capítulo V y VII), que *Avicennia germinans* es uno de los mangles más tolerantes a la sal, tal y como estaba previamente descrito (Ball 1988). Curiosamente, *Rhizophora mangle* fue la especie más sensible a la salinidad, a pesar de que es la especie que se encuentra con mayor influencia de las mareas y con ello de salinidad. Se observó

diferencias en el funcionamiento de su aparato fotosintético en los diferentes tratamientos empleados. Estos datos mostrados en la presente tesis doctoral apoyan la hipótesis de la naturaleza halófila facultativa de las especies arbóreas que componen los manglares (Krauss and Ball 2013) y que, por tanto, la salinidad no es requisito para el desarrollo de estas especies.

5. Plasticidad de las especies del manglar: respuesta morfológica

La plasticidad fenotípica es una respuesta de las plantas a cambios ambientales, que se observa en rangos fenotípicos que un genotipo puede expresar en función de su entorno (Nicotra et al. 2010); es genéticamente controlada, heredable y de potencial importancia para la evolución de las especies (Bradshaw 2006; Lande 2009). A corto plazo, las respuestas plásticas de los genotipos existentes serán de particular importancia para determinar persistencia de las plantas a las condiciones ambientales, incluido los efectos del cambio global y a largo plazo pueden tener consecuencias importantes para vías evolutivas (Ghalambor et al. 2007). Es por ello que las plantas pueden adaptarse a las situaciones cambiantes, como puede ser las condiciones ambientales de Reserva Juan Venado, mostrando plasticidad en sus respuestas (Nicotra et al. 2010). Y, además, esta plasticidad puede verse a diferentes niveles como bioquímico, morfológico y fisiológico, y manifestarse a nivel celular y en los órganos dentro de cada individuo, (Nicotra et al. 2010). Un ejemplo de esta plasticidad fenotípica a nivel morfológico viene determinada por la acumulación de sal en las hojas de *Avicennia germinans*, dependiendo la hora del día (capítulo VII). Aunque esta estrategia evolucionó principalmente como un mecanismo de tolerancia a la sal, en este trabajo se demuestra su papel en la prevención de la fotoinhibición y el sobrecalentamiento. Es decir, esta acumulación de sal en las hojas tal y como se ha demostrado en la presente tesis doctoral, no sólo representa una forma de fotoprotección en las hojas reduciendo la absorción de la luz (a pesar que originalmente es un mecanismo para expulsar sal) sino también una forma de proteger térmicamente, evitando el efecto perjudicial del sobrecalentamiento. Por lo tanto, aunque esta plasticidad en las hojas no es esencial para la supervivencia de las plantas, los efectos sinérgicos e interactivos de la disminución simultánea de la temperatura de la hoja y la absorción de la luz añaden un nuevo elemento a la capacidad fotoprotectora de esta especie en ambientes intermareales tropicales. Por lo tanto, en la colonización, esta estrategia puede conferir una ventaja sobre otras plantas que a pesar de excretar la sal no acumulan cristales en sus superficies foliares.

5.1 Plasticidad de las especies del manglar: respuesta bioquímica

Los tocoferoles, que se encuentran en la naturaleza en cuatro formas α , β , γ , y δ , juegan un papel fundamental en plantas en la protección del complejo fotosintético (Schneider 2005). Recientes estudios han revelado que la función más importante que juegan los tocoferoles es la protección de las plantas frente el estrés fotooxidativo y la fotoinhibición (Havaux et al. 2005). El α -tocoferol es el más abundante en los órganos fotosintéticos como las hojas y en la membrana tilacoidal del cloroplasto (Munné-Bosh 2005, Munné-Bosch 2019) y está asociado con un papel protector a condiciones de estrés hídrico y alta radiación (Szymanska and Kruk 2008c). Mientras el γ -tocoferol es un precursor del α -tocoferol, en estudios realizado en plantas mutantes bajo condiciones de salinidad el contenido de γ -tocoferol aumenta mejorando así la tolerancia a la desecación de las plantas ayudando a combatir los efectos por la pérdida de agua en las primeras etapas del déficit hídrico al que está siendo sometida la planta al estar en un entorno salino (Abassi et al. 2007). En esta tesis doctoral se ha descrito la acumulación de γ -toc en lugar de α -toc en *Rhizophora*, podría representar una respuesta al estrés salino (capítulo V y VI). La naturaleza plástica en respuesta a la salinidad e irradiancia creciente se ve reflejada en los ajustes de los contenidos foliares de γ -tocoferol en la especie *R. mangle*. En esta tesis doctoral se ha comprobado que las tres especies de *Rhizophora* muestran distinto contenido total de tocoferol y diferente proporción entre los distintos tipos de tocoferol, si bien el hecho de que la cantidad de α -tocoferol sea similar en las tres especies indicaría que están sometidas a un nivel similar de estrés oxidativo. Por otra parte resulta importante señalar que el diferente contenido de las formas de tocoferol presentes en las distintas especies de *Rhizophora* podría utilizarse como herramienta de identificación inter-específica, principalmente para separar a *R. harrisonii* y *R. racemosa* como especies (Capítulo VI).

6. Importancia de la presente tesis doctoral

Este trabajo tiene importancia académica, ambiental y social. En lo académico para formación personal y poder transmitir los conocimientos adquiridos en esta trayectoria. Como el dar a conocer que pese a que las especies del manglar están en su hábitat natural presentan determinados mecanismos de protección para sobrellevar las condiciones adversas del clima seco que caracteriza la región del Pacífico de Nicaragua. Entre esos mecanismos está la fotoprotección

que es clave fundamental ya que los pigmentos biomarcadores de estrés orientaría a tomar futuras gestiones y decisiones adecuadas para el mantenimiento y conservación de tan preciado ecosistema del manglar, involucrando a las comunidades aledañas a la Reserva de Juan Venado; Las Peñitas y Salinas Grandes, fomentando una educación ambiental para todas las edades donde se promueva el cuidado y uso de manera racional los recursos que ofrece el manglar.

Capítulo IX.

CONCLUSIONES GENERALES

1. CONCLUSIONES GENERALES

Los principales hallazgos proporcionados por este trabajo se resumen de la siguiente manera:

- I. Las especies del bosque seco mostraron plasticidad fenotípica de respuesta de los pigmentos del aparato fotosintético a los cambios ambientales de radiación y estacionalidad. Es de destacar, el funcionamiento del ciclo LxL en algunas de las especies del bosque seco.
- II. La salinidad reduce proporcionalmente el número de esporas de HFMA, indicándonos que la salinidad del suelo del manglar puede ser un factor decisivo y limitante en el establecimiento y éxito de la micorrización.
- III. La salinidad afecta a la capacidad de respuesta fenotípica de las especies del bosque de mangle de manera diferencial. Las especies responden con gran plasticidad mediante atributos fisiológicos inter-específicos, los cuales cambian dependiendo del estadio de desarrollo de la especie.
- IV. La naturaleza halófila estricta (indispensable para el correcto funcionamiento) o facultativa de las especies varía dependiendo de su estado de desarrollo.
- V. *Rizophora mangle* es una especie halófita facultativa, la sal no es requerimiento para su crecimiento, aunque sí es un requerimiento ecológico, representando su tolerancia a la salinidad una ventaja adaptativa sobre otras plantas. Su naturaleza plástica en respuesta a la salinidad e irradiancia creciente se ve reflejada en los ajustes de los contenidos foliares de γ -tocoferol.
- VI. Las tres especies pertenecientes al género *Rhizophora* presentan características fenotípicas similares, y por eso en este trabajo se propone el contenido de tocoferoles como herramienta de identificación inter-específica, principalmente separar a *R. harrisonii* y *R. racemosa* como especies.
- VII. Una de las adaptaciones plásticas de la especie *A. germinas* a las condiciones ambientales del manglar es la acumulación de sal sobre sus hojas. Esto reduce la luz absorbida; mejorando la eficiencia y rendimiento fotoquímico de las hojas; representando una forma de fotoprotección. De igual forma protege térmicamente las hojas, evitando el efecto perjudicial del sobrecalentamiento. Aunque los cristales de sal no son esenciales para la supervivencia de las plantas, los efectos sinérgicos e interactivos añaden un nuevo elemento a la capacidad fotoprotectora de esta especie en ambientes intermareales tropicales.

Capítulo X.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Referencias Bibliográficas

Abbasi A-R, Hajirezaei M, Hofius D, Sonnewald U and Voll LM (2007) Specific roles of α - and γ - tocopherol in abiotic stress responses of transgenic tobacco. *Plant Physiology* 143:1720–1738.

Achard F, De Fries R, Eva H, Hansen M, Mayaux P and Stibig HJ (2007) Pan-tropical monitoring of deforestation. *Environmental Research Letters* 2:045022.

Adams WW III and Demmig-Adams B (1994) Carotenoid composition and down regulation of photosystem II in three conifer species during the winter. *Physiologia Plantarum* 92: 451- 458.

Adamska I (1997) ELIPs-light-induced stress proteins. *Physiologia Plantarum* 100: 794-805.

Afzal-Rafii Z, Dodd RS and Fauvel MT (1999) A case of natural selection in Atlantic – East-Pacific *Rhizophora*. *Hydrobiologia* 413: 1-9.

Agraz-Hernández CM and Flores-Verdugo FJ (2005) Field C. 1997. Diagnóstico del impacto y lineamientos básicos para los programas de mitigación y manejo de humedales, p. 597- 608. A. V. Botello, J. Rendón-von Osten, G. GoldenBouchot y C. Agraz-Hernández (Eds.). Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias, 2da. Edición. Univ. Autón. De Campeche, Univ. Nal. Autón. de México, Instituto Nacional de Ecología. 696 p.

Akatsu M Y, Hosoi H, Sasamoto and Ashihara H (1996) Purine metabolism in cells of a mangrove plant. *Sonneratia alba* in tissue culture. *Journal Plant Physiol* 149: 133-137.

Allen EB and Allen MF (1986) Water relations of xeric grasses in the field: interactions of mycorrhizas and competition. *New Phytologist* 104: 559-571.

Álvarez-León R (2003) Los manglares de Colombia y la recuperación de sus áreas degradadas: revisión bibliográfica y nuevas experiencias. *Madera y Bosques*. 9 (1): 3-25.

Appenroth KJ, Stöckel J, Srivastava A and Strasser RJ (2001) Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrrhiza* as probed by OJIP chlorophyll a fluorescence measurements. *Environmental Pollution* 115:49-64.

Atkinson MR, Findlay GP, Hope AB, Pitman MG, Saddler HDW and West KR (1967) Salt regulation in the mangroves *Rhizophora mucronata* Lam. and *Aegialitis annulata* R. Br. *Australian Journal Biological Science* 20:589-599.

Ávila O, Casierra F and Riascos D (2012) Contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula bajo sol y sombra. *Temas agrarios* 17: (1) 60 -71.

Aziz I and Khan MA (2001) Effect of seawater on the growth, ion content and water potential of *Rhizophora mucronata* Lam. *Journal of Plant Research* 114(3): 369-373.

Badui S (1993) Química de los Alimentos. 3 ed. Editorial Alhambra Mexicana, S.A. México, D.F. pp. 381.

Baijnath H and Charles LM (1980) Leaf surface structures in mangroves. I. The genus *Rhizophora* L. *Proc. Electron Microscopy Society in Southern African* 10: 37-38.

Baker NR and Rosenqvist E (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*. 55(403): 1607-1621.

Ball MC (1996) Comparative ecophysiology of mangrove forest and tropical lowland moist rainforest. In: Mulkey SS, Chazdon RL, Smith AP (eds) Tropical forest ecophysiology. Chapman and Hall, New York, pp 461–496.

Ball MC and Pidsley SM (1995) Growth responses to salinity in relation to distribution of two mangrove species, *Sonneratia alba* and *S. lanceolata*, in northern Australia. *Functional Ecology* 9(1): 77-85.

Ball MC (1988) Ecophysiology of mangroves. *Trees*. 2: 129-142.

Ball MC and Pidsley SM (1988) Establishment of mangrove seedlings in relation to salinity. In: Larson HK, Michie JR, Hanley JR (eds) Proceedings of a workshop on research

and management held in Darwin. Australian National University Press, Canberra, pp 123–134.

Barón P Teresita and Morales S León (2005) Árboles del valle de Aburrá. Medellín: Área Metropolitana. p. 63.

Batis A, Alcocer M, Gual M, Sánchez C and Vázquez - Yanes C (1999) Árboles y Arbustos Nativos Potencialmente Valiosos para la Restauración Ecológica y la Reforestación. Instituto de Ecología, UNAM - CONABIO. México, D.F.

Bauernfeind JC (1981) Carotenoids as colorants and vitamin A precursors. Academic press, New York.

Baylis GTS (1940) Leaf anatomy of the New Zealand mangrove. *Transactions of the Royal Society of New Zealand* 70: 164-170.

Beckage B and Clark JS (2003) Seedling survival and growth of three forest tree species: the role of spatial heterogeneity. *Ecology* 84: 1849-1861.

Beckage B, J. Clark JS, Clinton BD and Haines BL (2000) A long-term study of tree seedling recruitment in southern Appalachian forests: the effects of canopy gaps and shrub understories. *Canadian Journal of Forest Research* 30: 1617-1631.

Bégué L (1966) Les forêts du Nicaragua. Bois et Forêts des Tropiques, No. 107, Nogent-sur-Marne, Francia, CIRAD-Fôret.

Björkman O, Demmig B and Andrews TJ (1988) Mangrove photosynthesis: response to high-irradiance stress. *Australian Journal Plant Physiology* 15: 43–61.

Björkman O and Demmig B (1987) Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.

Bossi R and Cintron G (1989) Manglares del Gran Caribe. Hacia un Manejo Sostenible. Trad. por José Gonzáles. San Juan, Puerto Rico, Asociación para la conservación del Caribe. 34 p.

Boto KG and Wellington JT (1984) Soil characteristics and nutrient status in a northern Australian mangrove forest. *Estuaries* 7: 61-69.

Bowman HHM (1921) Histological variations in *Rhizophora mangle* L. Pap. *Michigan Academy of Science* 22: 129-134.

Brack W and Frank H (1998) Chlorophyll a fluorescence: A tool for the investigation of toxic effects in the photosynthetic apparatus. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 40: 34-41.

Braun-Blanquet J (1979) Fitosociología: bases para el estudio de las comunidades vegetales. Ed. Blume. Madrid. 820 pp.

Breteler FJ (1977) America's Pacific species of *Rhizophora*. *Acta Botanica Neerlandica* 26(3): 225-230

Brinson MM, Brinson LG and Lugo AE, (1974) The gradient of salinity, its seasonal movement and ecological implications for the Lake Izabal-Río Dulce ecosystem, Guatemala. *Bulletin of Marine Science* 24(3): 533-544.

Brown AM and Bledsoe C (1996) Spatial and temporal dynamics of mycorrhizas in *Jaumea carnosa*, a tidal salt marsh halophyte. *Journal of Ecology* 84:703-715.

Brundrett M, Melville L and Peterson L (1994) Practical methods in mycorrhiza research. Mycologue Publications, Ontario.

Bullock SH, Mooney HA and Medina E (1995) Seasonally Dry Tropical Forests. pp. 450. Cambridge University Press, New York. USA.

Cambrón V, Herrerías Y, España M, Sáenz C, Sánchez N and Vargas J (2011) Producción de clorofila en *Pinus pseudostrobus* en etapas juveniles bajo diferentes ambientes de desarrollo. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 17 (2): 253-260.

Callaway RM and Pugnaire FI (2007) Facilitation in Plant Communities. En: Pugnaire FI, Valladares F, editores. Functional Plant Ecology. Second Edition ed. Boca Raton London New York: CRC Press; p.435-455.

Camilleri IC and Ribí G (1983) Leaf thickness of mangroves (*Rhizophora mangle*) growing in different salinities. *Biotropica* 15:139-141.

Cao FL and Conner WH (1999) Selection of flood-tolerant *Populus deltoides* clones for reforestation projects in China. *Forest Ecology and Management* 117: 211-220.

Carranco Jáuregui ME, Calvo Carrillo MC and Pérez-Gil Romo F (2011) Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. Archivos Latinoamericanos De Nutrición, Vol. 61 N° 3.

Carvalho LM, Caçador I and Martins-Loução MA (2001) Temporal and spatial variation of arbuscular mycorrhizas in salt marsh plants of the Tagus estuary (Portugal). *Mycorrhiza* 11: 303-309.

Casierra-Posada F (2007) Fotoinhibición: Respuesta fisiológica de los vegetales al estrés por exceso de luz. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 1(1):114-123.

CATIE/UICN (1991) Diagnóstico Regional y Zonal del Área Demostrativa de Manglares del Pacífico; Proyecto Conservación para el Desarrollo Sostenible de Centroamérica.

Ceballos G, Martínez L, García A, Espinoza E, Creel JB and Dirzo R (2010) Diversidad, amenazas y áreas prioritarias para la conservación de las selvas secas del Pacífico de México. Primera edición. Fondo de cultura económica comisión nacional para el fomento y uso de la biodiversidad (CONABIO) comisión nacional de áreas naturales protegidas (CONANP) wwf-méxico ecociencia s.c. Telmex. Ciudad de Mexico. Mexico ISBN CONABIO 970-9000-38-1.

Cerón-Souza I, Rivera-Ocasio E, Medina E, Jiménez JA, Mcmillam WO and Bermingham (2010) Hybridization and Introgression in New World Red Mangroves, *Rhizophora* (Rhizophoraceae). *American Journal of Botany* 97(6): 945–957.

Chapman VJ (1975) Mangrove biogeography. In: Walsh GE, Snedaker SC, Teas HJ (eds) International symposium on biology and management of mangroves. University Florida, Gainesville. pp 3–22.

Chapman VJ (1944) The 1939 Cambridge University expedition to Jamaica *Journal of the Linnean Society of London* 52: 407–533.

Choudhury JK (1997) Mangroves and other coastal forests. Sustainable management of mangroves, forest development and social needs. Volume 6, Topic 38.6, 13-22. XI World Forestry Congress, Antalya, Turkey.

Christian R (2005) Interactive effects of salinity and irradiance on photoprotection in acclimated seedlings of two sympatric mangroves. *Trees* 19: 596–606.

Chrost B, Falk J, Kernebeck B, Molleken H and Krupinska K (1999) Tocopherol biosynthesis in senescing chloroplasts—a mechanism to protect envelope membranes against oxidative stress and a prerequisite for lipid remobilization? In: Argyroudi-Akoyunoglou JH, Senger H (eds) The chloroplast: from molecular biology to biotechnology. Kluwer Academic Press, Dordrecht. pp 171–176.

CIDCA (1996) Breve Caracterización Ecológica de la Región Autónoma Atlántico Norte; Copilado por Stern Robinson; Puerto Cabezas, RAAN; Nicaragua.

Cintron G, Lugo AE and Martínez R (1985) Structural and functional properties of mangrove forests. En: D'Arcy, W.G.; Correa A., M.D., ed. The botany and natural history of Panama. St. Louis, MO *Missouri Botanical Gardens* 53-68.

Cintron G, Lugo AE, Pool DJ and Moris G (1978) Mangroves of arid environments in Puerto Rico and adjacent islands. *Biotropica* 10: 110-121.

Clough BF (1984) Growth and salt balance of the mangroves *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. and *Rhizophora stylosa* in relation to salinity. *Australian Journal Plant Physiology* 11(5): 419-430.

Clough BF, Andrews TJ and Cowan IR (1982) Physiological processes in mangroves. In: Clough BF (Ed.), *Mangrove ecosystems in Australia - structure, function and management*. ANU Press, Canberra. pp. 193-210.

Clough BF and Attiwill PM (1975) Nutrient cycling in a community of *Avicennia marina* in a temperate region of Australia. In: Walsh, G.E., S.C. Snedaker and HJ. Teas (Eds.), *Proceedings of the international symposium on biology and management of mangroves*. Vol. 1. University of Florida, Gainesville. pp. 137-146.

CONABIO.http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/octos/indice_especies.html.

Connor DJ (1969) Growth of grey mangrove (*Avicennia marina*) in nutrient culture. *Biotropica* 1(2): 36-40.

Cottam G and Curtis JT (1956) The use of distance measures in phytosociological sampling. *Ecology* 37: 451- 460.

Croce R and van Amerongen H (2013) Light-harvesting in photosystem I. *Photosynthesis Research* 116: 153–166.

Cuatrecasas José (1958) Introducción al estudio de los manglares. *Botanical Sciences* (23): 84-98.

Dall' Osto L, Lico C, Alric J, Giuliano G, Havaux M and Bassi R (2006) Lutein is needed for efficient chlorophyll triplet quenching in the major LHCII antenna complex of higher plants and effective photoprotection in vivo under strong light. *BMC Plant Biology* 6: 32.

Dangremond EM, Feller IC and Sousa WP (2015) *Oecologia* 179: 1187.

Davies Jr FT, Potter JR and Linderman RG (1992) Mycorrhiza and repeated drought exposure affect drought resistance and extraradical hyphae development of pepper plants independent of plant size and nutrient content. *Journal Plant Physiology* 139: 289-294.

Debez A, Hamed K, Grignon C and Abdelly C (2004). Salinity effects on germination, growth, and seed production of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant and Soil* 262 (1/2): 179-189.

Demmig-Adams B and Adams WW (2002) Antioxidants in Photosynthesis and Human Nutrition. *Science* 298 (5601): 2149-2153.

Demmig-Adams B and Adams WW (1996) The role of xanthophylls cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1: 21-26.

Demmig-Adams B and Adams WW (1992) Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plants Physiology and Plant Molecular Biology* 43: 599-626.

Downton WJS (1982) Growth and osmotic relations of the mangrove *Avicennia marina*, as influenced by salinity. *Functional Plant Biology* 9(5): 519-528.

D'Souza J (2016) Arbuscular Mycorrhizal Diversity from Mangroves: A Review. In: Recent Advances on Mycorrhizal Fungi In: Recent Advances on Mycorrhizal. In: Pagano MC (ed) Recent advances on mycorrhizal fungi. Springer- pp: 109-116.

D'Souza J and Rodrigues BF (2013) Biodiversity of Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi in mangroves of Goa in West India. *Journal of Forest Research* 24: 515-523.

Duke NC, Allen JA (2006) *Rhizophora mangle*, *R. samoensis*, *R. racemosa*, *R. × harrisonii* (Atlantic-East Pacific red mangroves), Version 2.1. In C. R. Elevitch [ed.], Species profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR) Holualoa, Hawaii, USA

Duke, NC, Lo EYY and Sun M (2002) Global distribution and genetic discontinuities of mangrove emerging patterns in the evolution of *Rhizophora*. *Trees* 16: 65 - 79.

Ellison JC and Stoddart DR (1991) Mangrove ecosystem collapse during predicted sea-level rise: Holocene analogues and implications. *Journal of Coastal Research* 7: 151-165

Emodi A (1978) Carotenoids, properties and application. *Food Technol.* 32(5) pp. 38-40.

Espinal LS (1985) Geografía ecológica del departamento de Antioquia. *Revista de la Facultad Nacional de Agronomía* 38 (1): 24-39.

Espinosa CI, De la Cruz M, Luzuriaga AL and Escudero A (2012) Bosques tropicales secos de la región Pacífico Ecuatorial: diversidad, estructura, funcionamiento e implicaciones para la conservación. *Revista Ecosistemas* 21(1-2): 167-179.

Esteban R and García-Plazaola JI (2016) Nonubiquitous carotenoids in higher plants. Presence, role in photosynthesis and guidelines for identification. In book: *Handbook of Photosynthesis, Third Edition*, Publisher: CRC Press, Editors: Mohammad Pessaraki, pp.589-599; Print ISBN: 978-1-4822-3073-4; eBook ISBN: 978-1-4822-3075-8.

Esteban R, Barrutia O, Artetxe U, Fernández-Marín B, Hernández A and García-Plazaola JI (2015) Internal and external factors affecting photosynthetic pigment composition in plants: a meta-analytical approach. *New Phytologist* 206: 268-280.

Esteban R and García-Plazaola JI (2014) Involvement of a Second Xanthophyll Cycle in Non-Photochemical Quenching of Chlorophyll Fluorescence: The Lutein Epoxide Story. In: Demmig-Adams B., Garab G., Adams III W., Govindjee (eds) *Non-Photochemical Quenching and Energy Dissipation in Plants, Algae and Cyanobacteria. Advances in Photosynthesis and Respiration (Including Bioenergy and Related Processes)*, vol 40. Springer, Dordrecht

Esteban R, Matsubara S, Jiménez MS, Morales D, Brito P, Lozenzo R, Fernández-Marín B, Becerril JM and García-Plazaola JI (2010a) Operation and regulation of the lutein epoxide cycle in seedlings of *Ocotea foetens*. *Functional Plant Biology* 37: 859-869.

Esteban R, Olascoaga B, Becerril JM and García-Plazaola (2010b) Insights into carotenoid dynamis in non-foliar photosynthetic tissues of avocado. *Physiologia Plantarum* 40: 69-78.

Esteban R, Baloguer L, Manrique E, Rubio de Casas R, Ochoa R, Fleck I, Pintó-Marijuan M, Casals I, Morales D, Jiménez MS, Lorenzo R, Artetxe U, Becerril JM and García-Plazaola JI (2009a) Alternative methods for Sampling and Preservation of photosynthetic pigments and tocopherols in plant material from remote locations. *Photosynthesis Research* 101: 77-88.

Esteban R, Olano JM, Castresana J, Fernández-Marín B, Hernández A, Becerril JM, García-Plazaola JI (2009b) Distribution and evolutionary trends of photoprotective isoprenoids (xanthophylls and tocopherols) within the plant kingdom. *Physiology Plant* 135: 379-389.

Esteban R, Fernández-Marín B, Becerril JM and García-Plazaola JI (2008) Photoprotective implications of leaf variegation in *E. dens-canis* L. and *P. officinalis* L. *Journal of Plant Physiology* 165 (12): 1255-63

Esteban R, Jiménez Eduardo T, Jiménez M. Soledad, Morales Domingo, Hormaetxe Koldobika, Becerril JM and García-Plazaola JI (2007) Dynamics of violaxanthin and lutein epoxide xanthophyll cycles in Lauraceae tree species under field conditions. *Tree Physiology* 27(10):1407-1414.

FAO (2016) Evaluación de los recursos forestales mundiales 2015. Roma. Segunda edición. ISBN 978-92-5-309283-3

FAO (2008) Natural Inquirer – The World's Forest Edition Vol. XI, No.1

FAO (2007) The world's mangroves 1980-2005. FAO Forestry Paper No. 153. Rome.

FAO (2005) Evaluación de los recursos forestales mundiales 2005-estudio tematico sobre manglares nicaragua perfil nacional. Borrador. Departamento de Montes, Viale delle Terme di Caracalla Roma 00100, Italia.

FAO (1994) Mangrove forest management guidelines. FAO Forestry Paper N° 117. Roma.

Farnsworth EJ and Ellison AM (1996) Sun-Shade Adaptability of the Red Mangrove, *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): Changes through Ontogeny at several Levels of Biological Organization. *American Journal Botany* 83: 1131-1143.

Field CD (1995) Journey Amongst Mangroves. International Society for Mangrove Ecosystem. Okinawa, Japan. 137p.

Ferreira CS, Piedade MTF, Franco AC, Carvalho Goncalves JF and Junk WJ (2009) Adaptive strategies to tolerate prolonged flooding in seedlings of floodplain and upland populations of *Himatantbus sucuuba*, a Central Amazon tree. *Aquatic Botany* 90: 246-252.

Filella I, Lluvia J, Piñol J and Peñuelas J (1998) Leaf gas Exchange and fluorescence of *Phillyrea latifolia*, *Pistacia lenticus* and *Quercus ilex* sapling in severe drought and high temperatura conditions. *Environmental and Experimental Botany* 39: 213-220.

Filomeno S (1996) Dinámica del sector forestal de Nicaragua 1960-1995. Lineamiento para el desarrollo sustentable. Primera edición, Managua Nicaragua.

Fitzgerald MA, Orlovich DA and Allaway WG (1992) Evidence that abaxial leaf glands are the sites of salt secretion in leaves of the mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *New Phytologist* 120:1-7.

Flexas J, Diaz-Espejo A, Gago J, Gallé A, Galmes J, Gulías J (2014). Photosynthetic limitations in Mediterranean plants: a review. *Environmental and Experimental Botany* 103: 12–23.

Flexas J, Escalona JM, Evain S, Gulías J, Moya I, Osmond CB and Medrano H (2002) Steady-state chlorophyll fluorescence (Fs) measurements as a tool to follow variations of net CO₂ assimilation and stomatal conductance during water-stress in C3 plants. *Physiology Plant* 114(02): 231-240.

Flores E and Obando G (2003) Árboles del Trópico Húmedo. Importancia socioeconómica. Cartago, Editorial Tecnológica de Costa Rica.

Foryer CH and Noctor G (2003) Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes, and mitochondria. *Plant Physiology* 119: 355–364.

Frazer GW, Canham, CD and Lertzman KP (1999) Gap Light Analyzer (GLA), Version 2.0: Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices from true-colour fisheye photographs, users manual and program documentation. Copyright © 1999: Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, and the Institute of Ecosystem Studies, Millbrook, New York.

García-Plazaola JI and Esteban R (2012) Prometheus Wiki contributors. Determination of chlorophylls and carotenoids by HPLC, Version 10.

García-Plazaola JI, Matsubara S and Osmand B (2007) The Lutein epoxide cycle in higher plants: its relationship to other xanthophyll cycles and possible functions. *Functional Plant Biology* 34: 759-773.

García-Plazaola JI, Hernández A, Olano JM and Becerril JM (2003) The operation of the lutein epoxide cycle correlates with energy dissipation. *Functional Plant Biology* 30: 319-324

García-Plazaola JI and Becerril JM (2001) Seasonal changes in photosynthetic pigments and antioxidants in beech (*Fagus sylvatica*) in a Mediterranean climate: implications for tree decline diagnosis. *Functional plant biology. Australian Journal Plant Physiologist* 28: 225-232.

García-Plazaola JI, Hernández A and Becerril JM (2000) Photoprotective responses to Winter stress in evergreen mediterranean ecosystems. *Plant Biology* 2: 530-535.

García-Plazaola JI and Becerril JM (1999). A rapid HPLC method to measure lipophilic antioxidants in stressed plants: simultaneous determination of carotenoids and tocopherols. *Phytochemical Analysis* 10: 307-13.

Gentry AH (1982) Patterns of Neotropical plant species diversity. *Evolutionary Biology* 15:1-84.

Gill AM and Tomlinson PB (1969) Studies on the growth of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.). I. Habit and general morphology. *Biotropica* 1: 1-9.

Gilman EF and Watson DG (1993) *Cassia fistula*: Golden–shower. Florida (USA): Fact Sheet ST127, Florida Cooperative Extension Service, University of Florida, ENH286, 3 p.

Gossett DR, Millhollon EP, Lucas MC (1994) Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. *Crop Science* 34: 706-714.

Gotsch SG, Powers JS and Lerda MT (2010) Leaf traits and water relations of 12 evergreen species in Costa Rican wet and dry forests: patterns of intra-specific variation across forests and seasons. *Plant Ecology* 211: 133-146.

Graham Shirley A (1964) The genera of Rhizophoraceae and Combretaceae in the Southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* 45(3): 285-301.

Groombridge B and Jenkins MD (2003) World atlas of biodiversity. University of California Press, Berkeley, California.

Hansen U, Fiedler B and Rank B (2002) Variation of pigment composition and antioxidative systems along the canopy gradient in a mixed beech/oak forest: a comparative study on deciduous tree species differing in shade tolerance. *Trees* 16: 354-364.

Hayes-Conroy J (2000) Why the world needs its Mangroves: A look into the natural and human relationships with mangrove forests. On Serendip. Biology 103. Third Web Report

Helgason T and Fitter AH (2009) Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Phylum Glomeromycota*). *Journal of Experimental Botany* 60(9): 2465-2480.

Hogarth PJ (1999) The Biology of Mangroves. Oxford University Press. Great Britain. 228p

Horton P, Ruban AV and Walters RG (1994) Regulation of light harvesting in green plants. *Plant Physiology* 106: 415-420.

Hormaetxe K, Esteban R, Hernández A, Becerril JM and García-Plazaola JI (2004) Relevancia del ciclo de Luteína epóxido (Lx) en las respuestas fotoprotectoras de las especies leñosas de los bosques ibéricos. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 20: 61-65.

Horton P, Ruban AV and Walters R G (1996) Regulation of light harvesting in Green plants. Annual. *Journal. Plant Physiology. Plant Molecular Biology* 47:655-684.

Hou D (1960) A review of the genus *Rhizophora*. *Blumea*. 10: 625-634

Hutchings P and Saenger P (1987) Ecology of Mangroves. Queensland University Press.

Ipsilantis I and Sylvia DM (2007) Abundance of fungi and bacteria in a nutrient-impacted Florida wetland. *Applied Soil Ecology*.35: 272-280.

Jan de Vos W (2004) Wave attenuation in mangrove wetlands: Red River Delta, Vietnam. MSc thesis. Delft University of Technology

Janzen DH (1986) Guanacaste national park: Tropical ecological and cultural restoration. Editorial Universidad Estatal A Distancia, San Jose. Janzen, D.H. 1988a. Tropical dry forests: The most endangered major tropical ecosystem. Pp. 130–137. In: Wilson, E.O. (ed.), Biodiversity. National Academic Press, Washington, D.C.

Janzen DH (1998) Management habitat fragment in a Tropical Dry Forest. Growing. ANN. *Missouri Botany Garden* 75: 105-116.

Jeffries P et al. (2003) The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. En: *Biology and fertility of soils*. vol. 37, no 1, p. 10.

Jeffries P and Barea JM (2001) Arbuscular mycorrhiza—a key component of sustainable plant-soil ecosystems. En: *The Mycota* 9: p 113

Jiménez JA (1994) Los manglares del Pacífico Centroamericano. EFUNA, Heredia, Costa Rica, 352 p.

Jiménez JA (1987) A clarification on the existence of *Rhizophora* species along the Pacific coast of Central America. *Brenesia* 28: 25-32.

Jiménez-Bueno D (1994) Distribución de las especies arbóreas en tres comunidades de mangle en la Isla del Carmen, Campeche. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca. 67 pp.

Joshi GV, Jamale BB and Bhosale L (1975) Ion regulation in mangroves. In: Walsh. G.E. . S.c. Snedaker and H.I. Teas (Eds.). Proceedings of the International Symposium on Biology and Management of Mangroves. University of Florida. Gainesville. pp. 595-607.

Juniper S, and Abbott LK (2006) Soil salinity delays germination and limits growth of hyphae from propagules of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16: 371–379.

Justin SHFW and Armstrong W (1987) The anatomical characteristics of roots and plant response to soil flooding. *New Phytologist* 105: 465-495.

Kathiresan K and Qasim SZ (2005) Biodiversity of Mangrove Ecosystems. Hindustan Publishing Corporation, New Delhi, 251pp.

Kathiresan K and Bingham BL (2001) Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. *Advances in Marine Biology* 40: 81-251.

Kathiresan K and Moorthy P (1993) Influence of Different Irradiance on Growth and Photosynthetic Characteristics in Seedlings of *Rhizophora* Species. *Photosynthetica* 29: 143-146.

Kautsky H, Appel W and Amann H (1960) Chlorophyll fluorescence and carbón assimilation. Part XIII. The fluorescence and the photochemistry of plants. *Biochemische Zeitschrift* 332: 277-92.

Kikvidze Z, Armas C, Fukuda K, Martínez-García LB, Miyata M, Oda-Tanaka A, Pugnaire FI and Wu B (2011) A biogeographical approach to studying the role of arbuscular mycorrhiza in primary succession. *Web Ecology* 10:50-57.

Kitajima K and Hogan KP (2003) Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light 26: 857-865

Kohen E, Santus R and Hirschberg JG (1995) Photobiology. Academic Press, London

Komiyama A, Ong JE and Pongpam S (2007) Allometry, biomass, and productivity of mangrove forests: A review. (en línea). *Aquatic Botany*. 89(2): 128–137. Consultado 27 abr. 2011.

Kothamasi D, Kothamasi S, Bhattacharyya A, Kuhad RC and Babu CR (2006) Arbuscular mycorrhizae and phosphate solubilising bacteria of the rhizosphere of the mangrove ecosystem of Great Nicobar Island, India. *Biology Fertil Soils* 42: 358-361.

Krauss KW and Ball MC (2013) On the halophytic nature of mangroves. *Trees* 27: 7-11.

Krauss KW, Lovelock CE, McKee KL, López Hoffman L, Ewe SML and Sousa WP (2008) Environmental Drivers in Mangrove Establishment and Early Development: A Review. *Aquatic Botany* 89: 105-127.

Krauss KW and Allen JA (2003) Influences of salinity and shade on seedling photosynthesis and growth of two mangrove species, *Rhizophora mangle* and *Bruguiera sexangula*, introduced to Hawaii. *Aquatic Botany* 77: 311-324.

Krumholz J and Jadot C (2009) Demonstration of a new technology for restoration of red mangrove (*Rhizophora mangle*) in high-energy environments. *Marine Technology Society Journal* 43(1): 64-72.

Kutchings PA and Saenger P (1987) Ecology of Mangroves. University of Queensland Press, St. Lucia, Queensland, Australia.

Kyparisis A, Drilias P and Manetas Y (2000) Seasonal fluctuations in photoprotective (xanthophylls cycle) and photosensitive (chlorophylls) capacity in eight Mediterranean plant species belonging to two different growth forms. *Australian Journal Plant Physiology* 27: 265-272.

Lambers H, Chapin III FS and Pons TL (1998) *Plant Physiological Ecology*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York

Larcher W (1995) *Physiological Plant Ecology*, Berlin, Heidelberg, Springer Verlag, p. 506.

Leipner J, Frachebound Y and Stamp P (1999) Effect of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defenses in two maize genotypes of different chilling tolerance. *Environmental Experimental Botany* 42:129-139.

Lichtenthaler HK, Ač A, Marek MV, Kalina J and Urban O (2007) Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiol Biochem* 45:577-588.

Lichtenthaler HK, Buschmann C, Döll M, Fietz H-J, Bach T, Kozel U, Meier D and Rahmsdorf U (1981) Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynthesis Research* (2) 2: Page 115.

Lima ALA and Rodal MJN (2010) Phenology and wood density of plants growing in the semi-arid region of northeastern Brazil. *Journal of Arid Environments* 74: 1363-1373.

Linares-Palomino R, Kvist LP, Aguirre-Mendoza Z and Gonzales-Inca C (2010) Diversity and endemism of woody plant species in the Equatorial Pacific seasonally dry forests. *Biodiversity and Conservation*. 19: 169-185.

Lindorf H, Parisca L and Rodriguez P (2006) *Botánica: clasificación, estructura y clasificación*. Ediciones de la biblioteca. UCV. Caracas, Venezuela

Lucinski R and Jackowski G (2006) The structure, functions and degradation of pigment-binding proteins of Photosystem II. *Acta Biochimica Polonica* 534: 693-708.

Logan BA, Barker DH, Demmig-Adams B, Adams WW III (1996) Acclimation of leaf carotenoid composition and ascorbate levels to gradients in the light environment within an Australian rainforest. *Plant Cell and Environment* 19: 1083-1090

Lugo AE (1981) The inland mangroves of Inagua. *Journal of Natural History* 5: 845-852.

Maass M and Burgos A (2011) Water Dynamics at the Ecosystem Level in Seasonally Dry Tropical Forests. En: Dirzo, R., Mooney, H., Ceballos, G., Young, H. (eds.). *Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation*, pp. 141-156. Island Press. Washington, DC 20009, USA

Mckenney M and Lindsey D (1987) Improved method for quantifying endomycorrhizal fungi spores form soil. *Mycología* 79: 779-782

Macnae W (1968) A general account of the fauna and flora of the mangrove swamps and forests in the Indo-Pacific region. *Advances in Marine Biology* 6: 73-270.

MAIZCO (1997) Mapa de Ecosistemas de la Zona Costera de Nicaragua; MARENA, DGA; Managua, Nicaragua.

Malhi Y and Grace J (2000) Tropical forests and atmospheric carbon dioxide. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 332-337.

MARENA (1994) Madroño, Árbol Nacional de Nicaragua (*Calycophyllum candidissimum* (Vahl) DC.). MARENA, Servicio Nacional Forestal, ASDI. Especies para Reforestación, Nota Técnica No. 34, 8p.

MARENA / INAFOR (2002) Guía de Especies Forestales de Nicaragua/Orgut Consulting AB 1a Ed. Managua, Nicaragua, Editora de Arte, S.A. 304 p. ISBN 99924-34-17-1.

MARENA / INAFOR (2002) Guía de Especies Forestales de Nicaragua/Orgut Consulting AB 1a Ed. Managua, Nicaragua, Editora de Arte, S.A. 304 p. ISBN 99924-34-17-1.

MARENA, COMAP, USAID, FUNCOD, NICARAGUA Proyecto MARENA/COMAP-ARD FUNCOD (2002) Plan de Manejo Isla Juan Venado. Pág.26.

Martínez-García LB (2011). Micorrizas arbusculares en ecosistemas semiáridos. Respuesta a factores de estrés ambiental. *Ecosistemas* 20(2-3): 117-120.

Martínez LB and Pugnaire FI (2009) Interacciones entre los hongos formadores de micorrizas arbusculares y las comunidades vegetales. *Ecosistemas* 18:44-54.

Martínez Velarde María Fernanda and Fonseca Rosa María (2017) Flora de Guerrero no. 73: Annonaceae. — 1ª edición. — México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. 56 páginas: ilustraciones; 28 cm. ISBN 978-968-36-0765-2 (Obra completa)

Matsubara S, Krause GH, Aranda J, Virgo A, Beisel KG, Jahns P and Winter K (2009) Sun-shade patterns of leaf carotenoid composition in 86 species of neotropical forest plants. *Functional Plant Biology* 36: 20-36.

Matsubara S, Krause GH, Seltmann M, Virgo A, Kursar TA, Jahns P and Winter K (2008) Lutein epoxide cycle, light harvesting and photoprotection in species of the tropical tree genus *Inga*. *Plant Cell and Environment* 31: 548-561.

Matsubara S, Morosinotto Y, Bassi R, Christian AL, Fischer-Schliebs E, Lüttge U, Orthen B, Franco AC, Scarano FR, Förster B, Pogson BJ and Osmond CB (2003) Occurrence of the lutein-epoxide cycle in mistletoes of the Loranthaceae and Viscaceae. *Planta* 217: 868-879.

Matsubara S, Gilmore AM and Osmond CB (2001) Diurnal and acclimatory responses of violaxanthin and lutein epoxide in the Australian mistletoe *Amyema miquelii*. *Aust. Journal Plant Physiology* 28: 793-800.

Maxwell K and Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence. A practical guide. *Journal and Experimental Botany* 51: 659-668.

McGuinness KA (1997) Dispersal, Establishment and Survival of *Ceriops* Tagal Propagules in a North Australian Mangrove Forest. *Oecologia* 109: 80-87.

McKee KL (1993) Soil physicochemical patterns and mangrove species distribution - reciprocal effects. *Journal of Ecology* 81: 477-487.

McKee KL (1995) Seedling recruitment patterns in a Belizean mangrove forest: effects of establishment ability and physico-chemical factors. *Oecologia* 101: 448-460.

Miles L, Newton AC, DeFries R, Ravilious C, May I, Blyth S, Kapos V and Gordon JE (2006) A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography* 33: 491-505.

Mitler Ron (2002) Review. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Science Direct*. 7 (9): 405-410.

Mitsch WJ and Gosselink JG (2000) Wetlands. 3rd Edition. John Wiley and Sons, Inc.USA. 920 pp.

Mohammadizadeh M, Farshchi P, Danehkar A, Mahmoodi-Madjdabadi M, Hassani M and Mohammadizadeh F (2009) Interactive effect of planting distance, irrigation type and intertidal zone on the growth of grey mangrove seedlings in Qeshm island, Iran. *Journal Tropic Forest Science* 21: 147–155.

Mooney HA, Bullocks SH and Meina E (1995) Introduction. In: Seasonally dry tropical forest. University Press, Cambridge. Pp. 1-8.

Moreno-Casasola P and Infante Mata DM (2016) Conociendo los manglares, las selvas inundables y los humedales herbáceos. INECOL - OIMT - CONAFOR.128 pág.

Muluenda J, Araquistáin R, Jensen M and Nilson M (2002) Guías de especies forestales. Nacional Instituto forestal. Casa Editorial; editorial de Arte. Managua, Nicaragua.160p.

Munné-Bosch S, Cela J and Chang C (2011) Accumulation of γ - Rather than α -Tocopherol Alters Ethylene Signaling Gene Expression in the vt4 Mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology* 0(0): 1-12.

Munné-Bosch S (2019) Vitamin E Function in Stress Sensing and Signaling in Plants, *Developmental Cell* 48 (3): 290-292 ISSN 1534-5807.

Munné-Bosch S (2010) Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond, *Journal of Experimental Botany* 61 (6): 1549-1566.

Munné-Bosch S (2005) The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *Plant Physiology* 162: 743–748.

Munné-Bosch S and Alegre L (2002) The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Crit Rev Plant Science* 21: 31-57.

Munné-Bosch S and Alegre I (2000) Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta* 210: 925-931.

Munns R (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell and Environment* 25: 239-250.

Murchie EH and Niyogi KK (2011) Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis. *Plant Physiology Rockville* 155(1): 86-92.

Murphy PG and Lugo AE (1995) Dry forests of Central America and the Caribbean. Pp. 9–34. In: Bullock, S.H., Mooney, H.A. & Medina, E. (eds), *Seasonally dry tropical forests*. Cambridge University Press, Cambridge

Murphy PG and Lugo AE (1986) Ecology of tropical dry forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 67-88.

Naidoo G, Tuffers A, and von Willert (2002) Changes in gas exchange and chlorophyll fluorescence characteristics of two mangroves and mangrove associate in responde to salinity in the natural enviroment. *Trees* 16: 140-146.

Naskar KR and Mandai RN (1999) *Ecology and Biodiversity of Indian Mangroves*. Milton Book Company, Dehradun, pp. 3–34.

Nedbal L, Soukupová J, Kaftan D, Whitmarsh J and Trtúlek M (2000) Kinetic imaging of chlorophyll fluorescence using modulated light. *Photosynth Research* 66: 3–12.

Neto D, Carvalho, LM, Cruz C, and Martins-Loução MA (2006) How do mycorrhizas affect C and N relationships in flooded *Aster tripolium* plants? *Plant Soil* 279: 51-63.

Nicotra AB, Atkin OK, Bonser SP, Davidson AM, Finnegan EJ, Mathesius U, Poot P, Purugganan MD, Richards CL, Valladares F, van Kleunen M (2010) Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Science Direct* 15(12): 684-692.

Nicotra AB, Chazdon RL and Iriarte SVB (1999) Spatial heterogeneity of light and woody seedling regeneration in tropical wet forests. *Ecology* 80: 1908-1926.

Niinemets Ü, Bilger W, Kull O and Tenhunen JD (1999) Responses of foliar photosynthetic electron transport, pigment stoichiometry, and stomatal conductance to interacting environmental factors in mixed species forest canopy. *Tree Physiology* 19: 839-852

Niinemets U, Bilger W, Kull O and Tenhunen JD (1998) Acclimation to high irradiance in temperate deciduous trees in the field: changes in xanthophyll cycle pool size and in photosynthetic capacity along a canopy light gradient. *Plant Cell and Environment* 21: 1205-1218.

OFI-CATIE (2003) *Aboles de Centroamérica*. p. 478-482. ISBN 0 85074 161 0.

Olivares-Pérez J, Avilés-Nova F, Albarrán-Portillo B, Rojas-Hernández S and Castelán-Ortega OA (2011) Identificación, usos y medición de leguminosas arbóreas forrajeras en ranchos ganaderos del sur del Estado de México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 14: 739-748.

Olson DM, Dinerstein E, Wikramanayake ED, Burgess ND, Powell GVN, Underwood EC, D'Amico JA, Itoua I and Strand HE (2001) Terrestrial ecoregions of the World: a new map of life on Earth. *Bioscience* 51:933-938.

Onoda Y, Wright IJ, Evans J R, Hikosaka K, Kitajima K, Niinemets Ü, et al. (2017) Physiological and structural tradeoffs underlying the leaf economics spectrum. *New Phytologist*. 214: 1447–1463.

Öpik M, Moora M et al. (2006) Composition of root colonizing arbuscular mycorrhizal fungal community's indifferent ecosystems around the globe. En: *Journal of Ecology* 94 (4) p. 779.

Ortolá A (2002) Ecofisiologia vegetal. Introducció a la fisiologia de l'estrés. Valencia: UPV

Peguero-Pina JJ, Sisó S, Flexas J, Galmés J, García-Nogales A, Niinemets Ü et al. (2017). Cell-level anatomical characteristics explain high mesophyll conductance and photosynthetic capacity in sclerophyllous Mediterranean oaks. *New Phytologist* 214: 585–596.

Pen C-L, Lin Z-F, Su Y_Z, Lin G-Z, Dou H-Y and Zhao C-X (2006) The antioxidative functions of lutein: electron spin resonance studies and chemical detection. *Functional Plant Biology* 33: 839-846.

Pennington RT, Prado DE and Pendry CA (2000) Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography* 27: 261-273.

Peralvo M, Sierra R, Kenneth R, Ulloa C (2007) Identification of Biodiversity Conservation Priorities using Predictive Modeling: An Application for the Equatorial Pacific Region of South America. *Biodiversity and Conservation* 16(9): 2649-2675.

Picone Chris (2000) Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. En: *Biotropica*. 32 (4):p. 747

Pogson BJ, Niyogi KK, Bjorkman O, and DellaPenna D (1998) Altered xanthophyll compositions adversely affect chlorophyll accumulation and non photochemical quenching in *Arabidopsis* mutants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95 13324–13329

Pogson BJ, McDonald KA, Truong M, Britton G and DellaPenna D (1996). *Arabidopsis* carotenoid mutants demonstrate that lutein is not essential for photosynthesis in higher plants. *Plant Cell* 8: 1627-1639.

Polle JEW, Niyogi KK and Melis A (2001) Absence of lutein, violaxanthin and neoxanthin affects the functional chlorophyll antenna size photosystem II but not that of photosystem I in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell Physiology* 42: 482-491.

Poorter H, Niklas KJ, Reich P, Oleksyn, J, Poot P and Mommer L (2011) Biomass allocation to leaves, stems and roots: Meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *The New Phytologist* 193(1):30-50.

Poorter H, Pepin S, Rijkers T, de Jong Y, Evans JR and Korner C (2006) Construction costs, chemical composition and payback time of high- and low-irradiance leaves. *Journal of Experimental Botany* 57: 355-371.

Popp M (1995) Salt resistance in herbaceous halophytes and mangroves. *Progress in Botany* 56: 416-429.

Popp M, Polania J and Weiper M (1993) Physiological adaptations to different salinity levels in mangrove. In: H. Lieth and A. Al Masoom (Eds.), Towards the rational use of high salinity tolerant plants. Vol. I., Kluwer Academic Publishers, Utrecht, pp. 217-224.

Potters G, L De Gara, Asard H and Horemans N (2004). Ascorbate and glutathione: guardians of the ce// cycle, partners in crime? *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 537-548.

Powels, SB (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol* 35: 14-44

Prahl HB (1989) Manglares de Colombia. Villegas Editores Bogotá D.C., Colombia. 205 p.

Quesada F, Jiménez Q, Zamora N, Aguilar R and González J (1997) Árboles de la Península de Osa. Santo Domingo de Heredia, C.R., Editorial INBio.

Rabinowitz D (1978) Early growth of mangrove seedlings in Panama, and an hypothesis concerning the relationship of dispersal and zonation. *Journal of Biogeography* 5: 113-133.

Rains DW and Epstein E (1967) Preferential absorption of potassium by leaf tissue of the mangrove *Avicennia marina*: an aspect of halophytic competence in coping with salt. *Australian Journal Biological Science* 20: 847-857.

Ramos P, Yan Arley. et al. (2002) El Algarrobo (*Hymenaea courbaril* L.) y el castaño (*Composneura atopa* (A.C. Sm.): dos especies alimenticias del Departamento del Chocó en peligro de extinción. En: *Revista Institucional Universidad Tecnológica del Chocó*. 15: 72-77.

Rehm Andrew E (1976) The effects of the woodboring isopod *Sphaeroma terebrans* on the mangrove communities of Florida. *Environmental Conservation* 3(1): 47- 57.

Rohaček K (2002) Chlorophyll fluorescence parameters: the definitions, photosynthetic meaning, and mutual relationships. *Photosynthetica* 40(1): 13-29.

Roda JJ, Diaz G and Torres P (2008) Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of the salt marsh plant *Inula crithmoides* L. along a salinity gradient. *Arid Land Research and Management* 22: 310–319.

Romero-Soler KJ and Cetzal-IX W (2015) Estudiante de Maestría, Unidad de Recursos Naturales, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY). Calle 43, No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, 97200, Mérida, Yucatán, México 2Francisco de Montejo, Mérida 97203, Yucatán, México.

Ronquillo J (1851) Diccionario de materia mercantil, industrial y agrícola. Tomo I. Barcelona, España.

Ruíz-Lozano JM, Azcón R and Gómez M (1995) Effects of arbuscular –mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance- physiological and nutritional plant responses. *Applied and environmental microbiology* 61 (2): 456-460.

Rzedowski J (1978) Vegetación de México. Editorial Limusa, México. 432 pp

Sabovljević M and Sabovljević A (2007) Contribution to the coastal bryophytes of the Northern Mediterranean: Are there halophytes among bryophytes *Phytologia Balcanica* 13 (2): 131-135.

Saenger P (2002) Mangrove ecology, silviculture and conservation. Kluwer, Dordrecht

Saenger P, Hegerl EJ and Davie JDS (1983) Global status of mangrove ecosystems. Commission on ecology papers No. 3. Gland, Switzerland, IUCN.

Salazar R (1991) Guácimo *Guzuma ulmifolia* Lam., Especie de Árbol de Uso Múltiple en América Central. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. CATIE. Serie Técnica. Informe Técnico No. 165. Turrialba, Costa Rica

Salvoza FM (1936) *Rhizophora*. Nat. Appl. Se. Bu. Un. Philip 5: 179-237

Sánchez J and Cascante A (2008) Árboles ornamentales del Valle Central de Costa Rica: especies con floración llamativa. 1ª ed. San José (Costa Rica): Instituto Nacional de Biodiversidad (INBio), Museo Nacional, 30 p.

Sánchez-Andrés R, Sánchez-Carrillo S, Alatorre LC, Cirujano S and Álvarez-Cobelas M (2010) Litterfall dynamics and litter decomposition of arid mangroves of the Gulf of California: their role sustaining ecosystem heterotrophy. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 89: 191-199.

Sánchez-Argüelles RD (1994) Comparación estructural de la comunidad de manglar en dos sistemas lagunares costeros del estado de Yucatán, México. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida. 99 pp.

Sánchez-Azofeifa GA, Quesada M, Rodríguez JP, Nassar JM, Stoner KE, Castillo A, Garvin T, Zent EL, Calvo-Alvarado JC, Kalacska MER, Fajardo J L, Gamon JA and Cuevas-Reyes P (2005) Research Priorities for Neotropical Dry Forests. *Biotropica* 37:477-485.

Sánchez-Páez H G, Ulloa-D and H Tavera E (2004) Manejo integral de manglares por comunidades locales. Caribe de Colombia. Ministerio del Medio Ambiente, CONIF, OIMT. 335 pp. Bogotá D.C

Sánchez-Páez H, Álvarez-León R, Guevara-Mancera OA and Ulloa-Delgado GA (2000) Lineamientos estratégicos para la conservación y uso sostenible de los manglares de

Colombia. Proy. PD 171/91 Rev. 2 (F) Fase II (Etapa II). Conservación y Manejo para el Uso Múltiple y el Desarrollo de los Manglares de Colombia. MINAMBIENTE/OIMT. Santa Fe de Bogotá D.C., Colombia. 81 p.

Sarmiento G (1975) The dry plant formations of South America and their floristic connections. *Journal of Biogeography* 2: 233-251.

Sattler SE, Mene-Saffrane L, Farmer EE, Kischke M, Mueller MJ and DellaPenna D (2006) Nonenzymatic lipid peroxidation reprograms gene expression and activates defense markers in Arabidopsis tocopherol-deficient mutants. *Plant Cell* 18: 3706–3720.

Savory HI (1953) A note on the ecology of *Rhizophora* in Nigeria. *Kew Bull* 8: 127-128.

Scholander PF (1968) How mangrove desalinate seawater. *Physiologia Plantarum* 21: 251-261.

Scholander PF, Bradstreet ED, Hammel HT and Hemmingsen EA (1966) Sap concentrations in halophytes and some other plants. *Plant Physiology* 41: 529-532.

SEACAMP ASSOCIATION, INC. IN (1998) Florida Department of Education. John Booker - Curriculum development Bill Keogh – Photography Daniel Chu - Website Development Jenny Conner - Grant Administrator Irene Hooper - Executive Directo

Sengupta A and Chaudhuri S (2002) Arbuscular mycorrhizal relations of mangrove plant community at the Ganges river estuary in India. *Mycorrhiza* 12: 169–174.

Sengupta A and Chaudhuri S (1990) Vesículas arbusculares mycorrhiza (VAM) in Pioneer salt marsh plant of the Ganges river delta in west Bengal (India) *Plant Soil* 122: 111-113.

Shi S, Huang Y, Zeng K, Tana F, Hea H, Huang J and Fub Y (2005) Molecular phylogenetic analysis of mangroves: independent evolutionary origins of vivipary and salt secretion. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 159-166.

SILVOENERGÍA (CATIE) (1986) Silvicultura de especies promisorias para la producción de leña en América Central. Serie Técnica. Informe Técnico No 86. Turrialba. Costa Rica.

Smith TJ III (1992) Forest structure. In A. I. Robertson and D. M. Alongi [eds.], Tropical mangrove ecosystems, 101 – 136. American Geophysical Union, Washington D.C., USA.

Sobrado MA and Greaves E (2000) Leaf secretion composition of the mangrove species *Avicennia germinans* (L) in relation to salinity: a case study by using total-reflection X-ray fluorescence analysis. *Plant Science* 159: 1-5.

Sobrado MC, Ball MC (1999) Light use in relation to carbon gain in the mangrove, *Avicennia marina*, under hypersaline conditions. *Australian Journal of Plant Physiology* 26: 245–251.

Standley PC (1920) Trees and shrubs of Mexico. Contributions from the United States *National Herbarium* 23: 1-172.

Stevens WD, Ulloa C, Pool A. and Montiel OM (2001) Flora de Nicaragua. Monographs in Systematic Botany from the *Missouri Botanical Garden*. 85: 1-2666.

Stirbet A and Govindjee (2011) Chlorophylla fluorescence induction: a personal perspective of the terminal phase, the J-I-Prise. *Photosynthesis Research* 113:15-61.

Strasser RJ, Tsimilli-Michael M and Srivastava A (2004) Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou GC, Govindjee, eds. Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis. *Advances in photosynthesis and respiration series* Rotterdam: Kluwer 19: 321–362.

Strasser RJ, Srivastava A and Tsimilli-Michael M (2000) The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. in: Probing Photosynthesis, Mechanism, Regulation, Adaptation. Editores: Yunus M, Pathre U, Mohanty P. Taylor & Francis. pp 445-483.

Sussex I (1975) Growth and metabolism of the embryo and attached seedling of the viviparous mangrove, *Rhizophora mangle* L. *American Journal of Botany* 62: 948-953.

Szymánska R and Kruk J (2008) (a) Tocopherol content and isomers' composition in selected plant species. *Plant Physiology and Biochemistry* 46: 29–33.

Szymánska R and Kruk J (2008) (b) Plastochromanol, a 'new' lipophilic antioxidant in *Arabidopsis* leaves, is synthesized by tocopherol cyclase. The effect of high-light on the level of prenyllipid antioxidants. In: Allen, J.F., Gantt, E., Golbeck, J.H., Osmond, B. (Eds.), *Photosynthesis. Energy from the Sun: 14th International Congress on Photosynthesis. Springer*, pp. 1579–1582

Szymánska R and Kruk J (2008)(c) γ -Tocopherol dominates in young leaves of runner bean (*Phaseolus coccineus*) under a variety of growing conditions: the possible function of γ - tocopherol. *Phytochemistry* 69: 2142-2148.

Tausz M, Worisch A, Grill D, Morales D and Jimenez MS (2003) Measuring antioxidants in tree species in the natural environment from sampling to data evaluation. *Journal of Experimental Botany* 387: 1505-1510.

Thayer SS and Björkman O (1990) Leaf xanthophyll content and composition in sun and shade determined by HPLC. *Photosynthesis Research* 23: 331-343.

Thom BG (1967) "Mangrove Ecology and Deltaic Geomorphology: Tabasco, Mexico." *The Journal of Ecology* 55 (2): 301–343.

Tomlinson PB (1986) The botany of mangroves. Cambridge Tropical Biology Series, Cambridge, 419 pp

Tomlinson PB and Wheat DW (1979) *Bijugate phyllotaxis* in Rhizophoreae (Rhizophoraceae). *Botanical Journal Linnean Society* 78: 317-32.

Tous Martí, Joan and Batlle Caravaca, Ignacio (1990) El Algarrobo. Madrid: Mundiprensa; p. 13.

Trejo-Torres JC, Durán R. and Olmsted I (1993) Manglares de la península de Yucatán. In: Salazar-Vallejo, S. I. y N. E. González (eds.). Biodiversidad marina y costera de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y CIQRO. México, D.F. pp. 660-672.

Tropicos.org. Missouri Botanical Garden.
http://www.tropicos.org/Name/13012735 © 2019 Missouri Botanical Garden - 4344 Shaw Boulevard - Saint Louis, Missouri 63110

Twilley RR, Rivera-Monroy VH, Chen R and Botero L (1999) Adapting an ecological mangrove model to simulate trajectories in restoration ecology. *Marine Pollution Bulletin* 37: 404-419.

Ulloa-Delgado Giovanni Andrés (2016) Aspectos ecológicos del bosque seco tropical en el Caribe colombiano. Bogotá: Tropenbos Internacional Colombia & Fondo Patrimonio Natural. ISBN 978-958-9015-00-1

Ungar IA (1978) «Halophyte seed germination». *Botanical Review* 44: 233-264.

Ustin SL, Smith MO, Jacquemoud S, Verstraete MM and Govaerts Y (1998) GeoBotany: Vegetation mapping for Earth sciences, in Manual of Remote Sensing, Remote Sensing for the Earth Sciences, edited by A. N. Rencz, 3rd ed., John Wiley, Hoboken, N. J. 3:189248.

Valladares F (2004) El ambiente lumínico de los sotobosques ibéricos. *Quercus* 215: 28-35.

Valladares F, Allen MT and Percy RW (1997) Photosynthetic response to dynamic light under field conditions in six tropical rainforest shrubs occurring along a light gradient. *Oecologia* 111: 505-514

Valladares F, Sanchez-Gómez D and Zavala MA (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* 94: 1103-1116.

Valle AG, Osorno AM and Gil DL (2011) Estructura y regeneración del bosque de manglar de la Ciénaga de Cholón, Isla Barú, Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo, Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* 40(1): 115-130.

Verhoeven AS, Adams WW III, Demmig-Adams B, Croce R and Bassi R (1999) Xanthophyll cycle pigment localization and dynamics during exposure to low temperatures and light stress in *Vinca major*. *Plant Physiology* 120: 727-737.

Vickery M (1987) Ecología de las plantas tropicales. Ciudad de México: Editorial Limusa

Villa-Castorena M, Catalán Valencia EA, Inzunza Ibarra MA, Ulery AL (2006) Absorción y translocación de sodio y cloro en plantas de chile fertilizadas con nitrógeno y crecidas con estrés salino. *Fitotecnia Mexicana* 29 (1):79-81.

Von Carlowitz P, Wolf G and Kemperman R (1991) The Multipurpose and Shrub Database. An Information and Decision-Support System. Manual, Versión 1.0. ICRAF. Nairobi, Kenia.

Von Elbe J and Schwartz S (1996) Food Chemistry de Owen R Fennema. 3ed. Marcel Dekker, Incorporation. New York.

Walsh GE (1974) Mangroves: a review. In R.J. Reimold & W.H. Queen (eds.). Ecology of Halophytes. Academic Press. 605 p.

Walter H and Steiner M (1936) Die Okologie der Ost-Afrikanischen Mangroven. *Zeitschrift fur Botanik* 30: 65-193.

Wang W, Yan Z, You S, Zhang Y, Chen L and Lin G (2011) Mangroves: obligate or facultative halophytes? A review. *Trees Structure and Function* 25: 953-963.

Wang W and Lin P (1999) Transfer of salt and nutrients in *Bruguiera gymnorrhiza* leaves during development and senescence. *Mangroves and Salt Marshes* 3: 1-7

Watson JC (1928) Mangrove forests of the Malayan peninsula. *Mala For Rec.* 6: 1–275

Weishaupl Liane (1981) Plantas de Mangué: contribuiçao ao conhecimento de *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. San Paulo, Brasil: Instituto de Biociencias, University of Sao Paulo. 157 p. Tesis de M.S.

Werner A and Stelzer R (1990) Physiological responses of the mangrove *Rhizophora mangle* grown in the absence and presence of NaCl. *Plant Cell and Environment* 13: 243-255.

West R (1956) Mangrove swamps of the pacific coast of Colombia. *Annals of American Association of Geographers* 46: 98-121.

Wright I, Reich P, Westoby M, Ackerly D, Baruch Z, Bongers F, Cavender-Bares J, Cornelissen J, Diemer M, Flexas J, Garnier E, Groom P, Gulias J, Hikosaka K, Lamont B, Lee T, Lee W, Lusk Ch and Villar R (2004) The world-wide leaf economics spectrum. *Nature* 428. 821-827.

Wright SJ (2010) The future of tropical forests. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1195: 1-27. *Ecosistemas* 21 (1-2).

Wright SJ and Muller-Landau H (2006) The Future of Tropical Forest Species. *Biotropica* 38: 287-301

Yan H, Zhang P, Wang C, Liu Z and Chang W (2007) Two lutein molecules in LHCII have different conformations and functions: Insights into the molecular mechanism of thermal dissipation in plants. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 355: 457-463.

Yáñez –Arancibia A and Lara- Dominguez AL (1999) Los manglares de América Latina en la encrucijada, p. 9-16. En: A.Yáñez–Arancibia y A. L. Lara–Domínguez (eds). *Ecosistemas de Manglar en América Tropical*. Instituto de Ecología A.C. México, UICN/ORMA, Costa Rica, NOAA/NMFS. Silver Spring MD 380 p. USA

Zamora-Trejos P (2006) Ambientes Marino Costeros de Costa Rica. Comisión Interdisciplinaria Marino Costera de la Zona Económica Exclusiva de Costa Rica, Informe Técnico. Capítulo III. Manglares: 23-39. V. Nielsen-Muñoz y M.A. Quesada-Alpízar (Eds.). CIMAR-CI-TNC. San José, Costa Rica.

Zhang Y, Chen JM. and Thomas SC (2007) Retrieving seasonal variation in chlorophyll content of overstory and understory sugar maple leaves from leaflevel hyperspectral data. *Canadian Journal Remote Sensing* 33(5): 406-415.

Zinke PJ (1976) Soil-vegetation interrelationships in mangrove forests. Manuscrito no publicado de la conferencia presentada en Seminar/Workshop on Mangrove Ecology. National Research Council of Thailand y UNESCO. Phuket Marine Biological Center. Phuket, Tailandia. 8 pp

Zubik M, Luchowski R, Grudzinski W, et al. (2011) "Light-induced isomerization of the LHCII-bound xanthophyll neoxanthin: Possible implications for photoprotection in plants." *Biochim Biophys Acta – Bioenergy* 1807(9):1237-1243.

Capítulo XI.

ANEXOS

ANEXO I.

Definición de términos y fórmulas para los parámetros de OJIP usado para el análisis de la curva de inducción de la fluorescencia de la clorofila *a*, Figura 6 y Tabla 1, basados en las fórmulas de Strasser et al. (2000, 2004) del capítulo V.

Datos extraídos de la fluorescencia transitoria registrada en OJIP		
F_t		Fluorescencia en tiempo real
F_0	$= F_{50\mu s}$	Intensidad de fluorescencia mínima a 50 μs , cuando todos los centros de reacción (RCs) están abiertos.
F_j	$= F_{2ms}$	Valor de fluorescencia a 2 ms (Fase-J)
F_i	$= F_{30ms}$	Valor de Fluorescencia a 30 ms (Fase-I)
F_M	$= F_p = F_{1s}$	Valor de fluorescencia máxima, cuando todos los centros de reacción están cerrados.
Parámetros de fluorescencia derivados de los datos extraídos.		
V_t	$= (F_t - F_0) / (F_M - F_0)$	Fluorescencia de clorofila (Chl) variable relativa en el tiempo total (de F_0 a F_M)
V_j	$= (F_j - F_0) / (F_M - F_0)$	Fluorescencia de Chl variable relativa a 2 ms (fase- J)
V_i	$= (F_i - F_0) / (F_M - F_0)$	Fluorescencia de Chl variable relativa a 30 ms (fase- I)
Flujos de energía específicos por centro de reacción		
(donde TR, ABS y ET denotan los flujos de energía excitación, de absorción y la velocidad de transporte de electrones respectivamente)		
ABS/RC	$(M_0/V_j) F_M / (F_M - F_0)$	<u>Flujo específico para absorción:</u> flujo de absorción por RC. También una medida del tamaño aparente de la antena PSII
TRo/RC	M_0/V_j	<u>Flujo específico para atrapar:</u> flujo de energía atrapada por RC que resulta en la reducción de QA a QA-
ETo/RC	$(M_0/V_j)(1 - V_j)$	<u>Flujo específico para el transporte de electrones:</u> flujo de transporte de electrones por RC
DIo/RC	$(M_0/V_j)(F_0/F_v)$	<u>Flujo específico para la disipación:</u> la energía de excitación se disipa, principalmente como calor y menos como emisión de fluorescencia por RC
Rendimientos cuánticos o relación de flujo		
ϕ_{Po}	F_v/F_M	<u>Producto cuántico máximo de la fotoquímica primaria:</u> representa la probabilidad de que un fotón absorbido quede atrapado por el RC y se use para la fotoquímica primaria.

Ψ_o	$1 - V_J$	Eficiencia con la que un excitón atrapado puede mover un electrón después de QA.
ϕ_{Eo}	$(1 - (F_o/F_M)) \cdot \Psi_o$	<u>El rendimiento cuántico de electrones:</u> Probabilidad de un fotón absorbido mueva un electrón a la cadena de transporte
ϕ^{Do}	$1 - \phi_{Po} - (F_o/F_M)$	Producto cuántico máximo de disminución de excitación fotoquímica
PI_{Abs}	$[RC/ABS][TR_o/(ABS - TR_o)][ET_o/(TR_o - ET_o)]$	Índice de rendimiento (potencial) para la conservación de energía de fotones absorbidos por el fotosistema II a la reducción de aceptores de electrones entre sistemas
