



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

**VARIABILIDAD GENÉTICA, ANATÓMICA Y
FISIOLÓGICA DE *Rhizophora mangle* L. EN LA
PENÍNSULA DE YUCATÁN**

Tesis que presenta

DIANA JACQUELINE CISNEROS DE LA CRUZ

En opción al título de

DOCTOR EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Opción Recursos Naturales)

Mérida, Yucatán, México

2019

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Diana Jacqueline Cisneros de la Cruz** titulado “**Variabilidad genética, anatómica y fisiológica de *Rhizophora mangle* L. en la península de Yucatán**” fue realizado en el laboratorio de Fisiología Ambiental de Plantas de la Unidad de Recursos Naturales, en la línea Servicios Ambientales de la Biodiversidad, del **Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.** bajo la dirección del **Dr. José Luis Andrade Torres**, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas dentro de la opción de Recursos Naturales de este Centro.

Atentamente.

Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 01 de octubre de 2019

Mérida, Yucatán, México, a 24 de septiembre del 2019

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



Diana Jacqueline Cisneros de la Cruz

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por la beca otorgada (280962) y a CICY por las instalaciones para los experimentos realizados, así como por la oportunidad de ser parte de su equipo.

A mi comité tutorial, en especial a mi director de tesis el Dr. José Luis Andrade, por su supervisión, apoyo, paciencia y confianza durante todos estos años, por su valiosa amistad y sus enseñanzas. Por permitirme colaborar con el y adentrarme al mundo de la comunicación de la ciencia. A mi codirectora la Dra. Laura Yáñez por recibirme tan calidamente una vez más en SLP, así como sus acertadas observaciones y por darme la oportunidad de seguir aprendiendo sobre anatomía vegetal. Al Dr. Jaime Martínez que me abrió las puertas de su laboratorio para incursionar en la genética de las poblaciones, por su apoyo constante, orientación y explorar nuevas áreas. Al Dr. Jorge Herrera por su valiosa confianza y por esa pregunta que nos llevo a explorar nuevos horizontes.

Un especial agradecimiento a la Q. F. B. Matilde Ortiz por apoyarme y enseñarme incansablemente en el laboratorio de marcadores moleculares y por su cálida amistad.

Al Ing. Roberth Us por su apoyo en las salidas a campo, así como la asistencia técnica con los equipos usados y por su amista y disposición a ayudar siempre.

A Abelardo Jiménez por su apoyo en el laboratorio de marcadores moleculares y en el de ecofisiología. A Danie lx por el apoyo en las mediciones de anatomía, así como darme la oportunidad y confianza de ser su maestra y guía en su proceso de escritura de Tesis de Licenciatura.

A la CONANP por los permisos otorgados para la recolección de las muestras en los sitios de estudio.

A mis compañeros de la Unidad de Recursos Naturales, por su amistad, apoyo y orientación durante el desarrollo de este trabajo. En especial al grupo de trabajo de fisiología vegetal por la constante retroalimentación y el compañerismo para todas las actividades académicas.

A mi familia: mis hermanos, mis tíos y mis primas, su confianza y amor me fortalece siempre cada vez que flaqueo. Les amo infinitamente.

DEDICATORIAS

A mi hijo Lenin y mi esposo Juan.

He llegado al final de este camino porque ustedes han caminado a mi lado.

A mi mamá

Gracias por enseñarme a soñar y siempre pensar en alto.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	3
ANTECEDENTES	3
EL MANGLAR EN MÉXICO Y TIPOS ECOLÓGICOS	3
DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE <i>RHIZOPHORA MANGLE</i> EN MÉXICO	6
FISIOLOGÍA Y ANATOMÍA DE LOS MANGLARES	10
JUSTIFICACIÓN	16
OBJETIVO GENERAL	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	19
CAPÍTULO II	21
SHORT-DISTANCE BARRIERS AFFECT GENETIC VARIABILITY OF <i>RHIZOPHORA MANGLE</i> L. IN THE YUCATAN PENINSULA.....	21
CAPÍTULO III	47
ESTRATEGIAS ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS DE PLÁNTULAS DE <i>RHIZOPHORA MANGLE</i> L. DURANTE SU ESTABLECIMIENTO	47
CAPÍTULO IV.....	69
DESARROLLO ANATÓMICO DEL SISTEMA VASCULAR EN PLÁNTULAS DE <i>RHIZOPHORA MANGLE</i> L. BAJO DIFERENTE SALINIDAD.....	69
CAPÍTULO V	83
VARIABILIDAD FENOTÍPICA Y GENÉTICA DE <i>RHIZOPHORA MANGLE</i> L.: IMPLICACIONES ANTE	

ÍNDICE

EL CAMBIO CLIMÁTICO	83
DISCUSIÓN GENERAL	83
CONCLUSIONES	87
PERSPECTIVAS.....	89
LITERATURA CITADA	91

LISTADO DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Fig. 1.** Regionalización de los manglares de México (Rodríguez-Zúñiga *et al.*, 2013)4
- Fig. 2** Tipos fisonómicos más comunes de manglar en la península de Yucatán. Ejemplo, escenario costero húmedo de Celestún (Zaldivar-Jiménez *et al.* 2010).....6
- Fig. 3.** Asignación de Individuos por STRUCTURE de *Rhizophora mangle* en las costas de México (Sandoval-Castro *et al.*, 2014).....9

CAPÍTULO II

- Fig. 1.** (a) Sampled sites for *Rhizophora mangle* populations in the Yucatan Peninsula, the physiognomic types are indicated by (T) for tall and (S) for scrub. (b) Ocean currents of the Yucatan Peninsula (Laurindo *et al.*, 2017).....28
- Fig. 2** Canonical Discriminant Analysis of the morphologic variables measured in *Rhizophora mangle* of the Yucatan Peninsula.....29
- Fig. 3.** Relationship among height, salinity, and extractable phosphorus for 13 populations of *Rhizophora mangle* in the Yucatan Peninsula (see Table 1 for abbreviations). Bars are mean height \pm SD; lines are mean \pm SD of (a) interstitial salinity and (b) extractable phosphorus.....30
- Fig. 4.** Canonical Correlation Analysis of morphological (H: height of tree, L: leaf area, P: propagule length) and environmental variables ($n = 130$, Canonical correlation = 0.36, λ Wilks = 0.85, $p < 0.05$).....31
- Fig. 5.** Principal Component Analysis of interstitial salinity and extractable phosphorus (measured at 30 cm depth) in 13 *Rhizophora mangle* populations (see Table 1 for abbreviations)33
- Fig. 6.** Bayesian assignment analysis performed in STRUCTURE for 130 individuals of *Rhizophora mangle*. (a) $K=4$ ($\Delta K=4.79$), substructure within each region (Gulf of Mexico: blue-green, Caribbean Sea: red-yellow). (b) $K=2$ ($\Delta K=4.38$), correspond to the oceanographic regions: Gulf of Mexico (green)

LISTADO DE FIGURAS

and Caribbean Sea (red). (c) The map represents the Yucatan Peninsula and the populations of *Rhizophora mangle* sampled (see Table 1 for abbreviations), the pie charts represent Q value for $K=4$34

Fig. 7. Principal Coordinate Analysis in three dimensions, performed with 9 microsatellite loci and 13 populations of *Rhizophora mangle*. Axis 1 (36.11%) divides the Gulf of Mexico region and the Caribbean Sea; Axes 2 and 3 (38.97%) indicate the genetic difference within each region. Populations of the Caribbean Sea are indicated as closed black symbols and populations of the Gulf of Mexico as closed gray symbols; circles represent tall populations and triangles scrub populations (see Table 1 for abbreviations).....35

CAPÍTULO III

Fig. 1. Asimilación máxima de CO_2 ($\text{FFF} = 1000\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante dos estadios en el establecimiento de *Rhizophora mangle*. Las barras con trama representan los tratamientos con P (-). Se observan los valores promedio \pm ES.....53

Fig. 2. Potencia hídrico máx., área del lumen de elementos de vaso y conductividad hidráulica de *R. mangle* durante su establecimiento en diferentes condiciones de luz, salinidad y disponibilidad de P. Los valores representan el promedio \pm ES. ANOVA Factorial Tabla 3.....54

Fig. 3. Tasa relativa de crecimiento durante el establecimiento de *R. mangle* en dos periodos: P1, 2 - 8 meses; P2, 8 - 16 meses. Los valores representan el promedio \pm ES. ANOVA Factorial Tabla 4.....58

Fig. 4. Efecto de la salinidad, luz y P en el área foliar, área foliar específica y razón del área foliar durante el establecimiento de *R. mangle*. Promedio \pm ES. ANOVA Factorial Tabla 4.....59

Fig. 5. Cambio en las reservas del propágulo en función a la proporción peso/longitud de los propágulos de *R. mangle* en respuesta a diferente salinidad, fósforo y luz durante su establecimiento. Valor promedio \pm ES.....60

Fig. 6. Análisis discriminante canónico de variables fisiológicas y anatómicas de *R. mangle* durante tres estadios de vida (1, 2 meses; 2, 8 meses; 3, 16 meses), bajo diferente salinidad (ppm: 0, gris claro; 15, gris oscuro; 35, negro) luz (círculos y triángulos cerrados) y disponibilidad de P (+, círculos; -, triángulos).....61

CAPÍTULO IV

Fig. 1. Corte transversal de la sección media de propágulos de *R. mangle*. A y C: propágulo maduro sin cultivar, endodermis y periciclo delimitando cilindro vascular con haces vasculares colaterales con desarrollo primario. B, D y E: E1-15ppm, cilindro vascular de haces vasculares colaterales sin desarrollo secundario, en la zona interfascicular, desarrollo de parénquima xilemático (D) y paquetes de floema (E). F y G: E2- 15ppm, unión de los fascículos por el desarrollo interfascicular de radios de xilema (F) y desarrollo de floema interfascicular (G). H: E3 - 35ppm, I: E3 - 15ppm, J: E3 - 0ppm. K: E3 – 0ppm, floema del propágulo con drusas y radios del floema. L: E3 - 0ppm, periciclo y endodermis delimitan el cilindro vascular con desarrollo secundario, xilema bien desarrollado con radios xilemáticos y parénquima axial lignificado. P, periciclo; E, endodermis; F, floema; X, xilema; V, vasos; rx, radios xilemáticos; d, drusas; rf, radios del floema.....**73**

Fig. 2. Desarrollo del tejido vascular en relación al córtex y la médula en el propágulo (anillo exterior) y tallo (anillo interior) de *R. mangle* durante su establecimiento bajo diferente salinidad.....**74**

Fig. 3. Corte transversal del tallo de *R. mangle* durante su establecimiento. A, C, D, E y F: E1 - 0ppm, Tallo con cilindro vascular de haces colaterales (A), haz vascular y crecimiento interfascicular incipiente (C), desarrollo interfascicular de paquetes de floema (D) y de parénquima xilemático, así como vasos solitarios (F). F, G, H: Contraste en el desarrollo en el E3 a 35ppm (F), 15 ppm (G) y 0 ppm (H). I: E2- 35ppm, desarrollo radial del xilema en la zona interfascicular, radios xilemáticos intercalados con hileras de vasos y parénquima axial. J: E3 – 0ppm, xilema secundario con parénquima axial lignificado.....**77**

Fig. 4. Frecuencia de número de vasos con respecto a su diámetro radial (μm) del xilema de tallos y propágulo de *R. mangle* durante su establecimiento.....**78**

LISTA DE TABLAS

CAPÍTULO II

Table 1. Morphologic and environmental variables measured in <i>Rhizophora mangle</i> populations from the Yucatan Peninsula, Mexico.....	28
Table 2. Nei's (1978) pairwise genetic distances between populations of <i>Rhizophora mangle</i> in the Yucatán Peninsula.....	37
Table 3. AMOVA's performed for <i>Rhizophora mangle</i> at regional scale in the Yucatan Peninsula, for all populations/sites (a) and between populations/sites of Caribbean Sea and Gulf of México regions (b).....	37
Table 4 AMOVAs performed at local scale for scrub and tall populations of <i>Rhizophora mangle</i> within sites of Caribbean Sea (a, b) and Gulf of México (c,d,e) in the Yucatan Peninsula.....	40
Table 5 Genetic diversity estimators for sites/populations sampled of <i>Rhizophora mangle</i> in the Yucatan Peninsula \pm 95% confidence intervals (N_a : Allelic richness; H_e : expected heterozygosity; H_o : observed heterozygosity; F_{is} : Inbreeding coefficient; Type of mangroves: Tall, T and Scrub, S).....	42

CAPÍTULO III

Tabla 1. Tratamientos bajo los que se cultivarán plántulas de <i>Rhizophora mangle</i> durante 16 meses.....	50
Tabla 2. Eficiencia fotosintética máxima (F_v/F_m), conductividad hidráulica específica (K_s) y caracteres anatómicos del xilema de <i>R. mangle</i> . Promedio \pm ES.....	55
Tabla 3. ANOVA's factoriales de: A_{max} : Asimilación máxima de CO_2 ; Ψ_{max} : Potencial hídrico foliar máximo; K_h : Conductividad hidráulica; AL: Área del lumen del vaso de <i>R. mangle</i> en respuesta a la interacción de diferente salinidad, luz y disponibilidad de P durante su establecimiento.....	57
Tabla 4. ANOVA's factoriales de la tasa relativa de crecimiento (TRC), área foliar (AF), área foliar específica (AFE), razón del área foliar (RAF) y proporción peso/longitud del propágulo de <i>R. mangle</i> en respuesta a la interacción de diferentes salinidades, luz y disponibilidad de P en tres estadios durante su establecimiento.....	57

CAPÍTULO IV

Tabla 1. Caracteres anatómicos del xilema del tallo y propágulo de *R. mangle* a diferente salinidad durante su establecimiento. Las letras diferentes indican las diferencias entre estadio y salinidad por órgano; ns, no significativo. El asterisco en de V/mm² indican que esos valores corresponden a número de vasos por haz vascular (hv, haz vascular; F, fascículos).....**79**

RESUMEN

- Los manglares son un ecosistema heterogéneo ambiental y estructuralmente; con amplios rangos de salinidad, inundación, disponibilidad de luz y de nutrientes. Por lo que las especies de mangle presentan una gran variabilidad de estrategias fisiológicas y anatómicas. Esta variabilidad a su vez se relaciona con su variabilidad genética; no obstante, hasta ahora, esa relación ha sido poco estudiada. Ante la acelerada pérdida del manglar, es necesario identificar rasgos genéticos y funcionales que generen conocimiento para proponer mejores planes de manejo y conservación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la variabilidad y estructura genética y morfológica de *Rhizophora mangle* a escala regional y local en la península de Yucatán, así como analizar su respuesta fisiológica y anatómica durante su establecimiento bajo diferentes condiciones de salinidad, luz y disponibilidad de fósforo.
 - Se eligieron siete sitios de muestreo de la península de Yucatán, con poblaciones altas y chaparras de *Rhizophora mangle*, y se determinó la diversidad y estructura genética con nueve loci de microsatélites y se analizó la relación entre su variabilidad morfológica, la salinidad y la disponibilidad de fósforo. Así mismo, se cultivaron propágulos de *R. mangle* durante 16 meses en condiciones controladas de salinidad, luz y fósforo. Se cuantificaron la tasa de crecimiento y variables relacionadas con la fotosíntesis y el uso de agua y se describió el desarrollo anatómico del sistema vascular en tres estadios de desarrollo.
 - Se encontró que la diversidad genética de *R. mangle* en la península de Yucatán está estructurada en la región del mar Caribe y el golfo de México. También, se encontró una alta variabilidad genética entre manglares altos y chaparros de un mismo sitio, explicada por barreras ecológicas que limitan su reproducción y establecimiento, disminuyendo el flujo génico. También se observó que el propágulo juega un papel crítico durante el establecimiento *R. mangle*. Su desarrollo anatómico diferencial bajo diferente salinidad permite compensar las condiciones ambientales en las que crece. Los primeros seis meses son críticos para los propágulos durante su establecimiento para determinar estrategias que les permitirán sobrevivir al medio en donde se encuentran.
-

ABSTRACT

- Mangrove forest is an environmentally and structurally heterogeneous ecosystem and its species show a great variability of physiological and anatomical traits. Genetic variability; could be behind the different sets of traits, however, so far, that relationship has been poorly studied. Given the accelerated loss of mangroves extension, it is necessary to identify genetic and functional characteristics that generate knowledge for better management and conservation policies. The objective of this work was to evaluate the genetic variability and morphological structure of *Rhizophora mangle* at regional and local scale in the Yucatan Peninsula, as well as to analyze its physiological and anatomical response during its establishment in different conditions of salinity, light and phosphorus availability.
 - The diversity and genetic structure of *Rhizophora mangle* was obtained with 9 microsatellites in seven sites with tall and scrubs populations of the Yucatan Peninsula; and the relationship between its morphological variability, salinity and phosphorus availability was also analyzed. Likewise, mangrove propagules were grown under controlled conditions of salinity, light and phosphorus for 16 months; three phases were assigned, in each one, their growth rate was quantified and variables related to photosynthesis and water use were measured. The anatomical development of the vascular system was described.
 - It was found that the genetic diversity of *R. mangle* in the Yucatan Peninsula was structured into two regions: the Caribbean Sea and the Gulf of Mexico, high genetic variability between tall and scrub mangroves of the same site was also found. This genetic variability may be related to ecological barriers, between both types of mangroves, limit their reproduction and establishment, and decreasing gene flow. It was also determined that the propagule plays a critical role during the *R. mangle* establishment. Its differential anatomical development under different salinity compensates for the environmental conditions in which it grows. The first six months are critical for the propagules establishment, during this phase they determine the strategies that allow them to survive in the environment in which they develop.
-

INTRODUCCIÓN

El manglar es un ecosistema que crece en la zona intermareal en las costas tropicales y subtropicales de todo el mundo (Lugo y Snedaker, 1974; Feller y Stinik, 1996). Las especies de mangle, se caracterizan por resistir un amplio rango de salinidad e inundación (Lugo y Snedaker, 1974; López-Portillo y Ezcurra, 2002). Su distribución, composición y estructura son el resultado de los gradientes ambientales y de la tolerancia fisiológica diferencial de las especies (Lugo y Snedaker, 1974; Rabinowitz, 1978; Feller y Stinik, 1996; Sobrado y Ewe, 2006; Naidoo, 2010).

A nivel local, la geomorfología, la topografía e hidrología generan gradientes ambientales que dan como resultado bosques de manglar estructuralmente diferentes (Feller y Stinik, 1996; Twilley y Rivera-Monroy, 2005). En este aspecto, a diferencia del resto del país, en la península de Yucatán, donde se encuentra el 55% de los manglares del país (Rodríguez-Zúñiga *et al.*, 2013), los gradientes ambientales están dados principalmente por la entrada de agua dulce subterránea, lo que resulta en composiciones estructurales diferentes que dependen en gran medida de su localización con respecto al cuerpo de agua (Zaldivar-Jiménez *et al.*, 2010).

Esta zonación ecológica y estructural de los manglares resultan en ecotipos con características morfológicas, anatómicas y fisiológicas que dependen de las condiciones ambientales particulares en donde crecen (Feller y Stinik, 1996; Robert *et al.*, 2009; Naidoo, 2010; Yáñez-Espinosa y Flores, 2011). Un ejemplo particular es el ecotipo “chaparro”, el cual ha causado un gran interés por su fisonomía particular de bosques densos con árboles de menos de 3 m de altura (Lugo y Snedaker, 1974); además de presentar características fisiológicas diferenciales como son: bajas tasas de crecimiento, hojas escleromórficas (Feller, 1996), bajas tasas de fotosíntesis (Cheesman y Lovelock, 2004; Naidoo, 2010) y reducida conductividad hidráulica en comparación de otros bosques de manglar, como el de franja (Lin y Stenberg, 1992a; Cisneros-de la Cruz, 2014).

La variabilidad morfológica y funcional entre los diferentes ecotipos de una misma especie, como el caso de *Rhizophora mangle* L. o *Avicennia germinans* (L.) L. han sido de gran interés (Lin y Stenberg, 1992a; Naidoo, 2010; Yáñez-Espinosa y Flores, 2011). Sin

embargo, hasta ahora la posible variabilidad genética entre los diferentes tipos de manglar, en particular entre manglares altos y chaparros, solo ha sido considerada por Lira–Medeiros *et al.* (2010), quienes reportaron diferencias epigenéticas en poblaciones morfológicamente contrastantes de *Laguncularia racemosa*. En este sentido, es fundamental comprender la respuesta funcional de las especies a su ambiente como parte integral de su acervo genético y potencial evolutivo ante los cambios ambientales (Kramer *et al.*, 2008). En el caso de especies vivíparas, como *R. mangle*, los estudios durante su establecimiento, etapa crítica para la dinámica poblacional y decisiva para el flujo génico exitoso de la especie, son fundamentales. Sin embargo, la mayoría de los estudios hasta ahora realizados se centran más bien en las respuestas fisiológicas y no en los cambios temporales de estas durante su establecimiento, (Farnsworth y Ellison, 1996; Krauss y Allen, 2003; López-Hoffman *et al.*, 2006). Por lo cual, es fundamental entender los cambios de las estrategias funcionales durante el establecimiento de las plántulas, para una mejor comprensión de la transición entre el uso de reservas de propágulo y la independencia funcional de la plántula (Smith y Snedaker, 2000; Ball, 2002).

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

El manglar en México y tipos ecológicos

Los manglares componen un ecosistema que se encuentran en aproximadamente 138,000m km de las costas tropicales y subtropicales de todo el mundo (Giri *et al.*, 2011). A pesar de que poseen una relativa baja diversidad florística, en comparación con los bosques tropicales, poseen una gran diversidad de atributos estructurales y funcionales que promueven su dispersión y supervivencia en un ambiente especialmente estresante como es la zona intermareal (Tomlinson, 2016; Duke *et al.*, 1998; Pil *et al.*, 2011). Los árboles que crecen en el manglar, los mangles, se distinguen por presentar diversas adaptaciones que les permiten sobrevivir en un amplio rango de inundación y salinidad. Se caracterizan por ser especies vivíparas o criptovivíparas, es decir que germinan cuando el fruto aún esta unido a la planta madre; así como presentar raíces aéreas, como son los neumatóforos que les permite la aireación en un suelos anóxicos o zancos que les dan soporte en el suelo inestable y por su dispersión de tipo hidrocórica (Tomlinson, 2016). Así mismo, los manglares son ecosistemas de gran importancia ecológica y económica al ser zonas de alimentación y refugio de gran diversidad de fauna, así como ser importantes almacenes de carbono, entre otros notables servicios ambientales (Hutchings y Saenger, 1985; Alongi, 2008; Rodríguez-Zúñiga *et al*, 2013; Andueza, 2011).

México cuenta con aproximadamente 764 486 ha de manglares y se ubica en el cuarto lugar en cobertura de manglar a nivel mundial y el segundo de América después de Brasil (Rodríguez-Zúñiga *et al*, 2013; Giri *et al.*, 2011). En México predominan cuatro especies de mangle: *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo), *Laguncularia racemosa* L.C.F. Gaertn (mangle blanco), *Avicennia germinans* L. Stearn (mangle negro) y *Conocarpus erectus* L. (botoncillo). Además, se han registrado *Rizophora harrisonii* Leechm. y *Avicennia bicolor* Standl en las costas de Chiapas. Las primeras cuatro especies mencionadas están sujetas a protección especial por la NOM 059 SEMARNAT-2001, porque podrían llegar a encontrarse amenazadas por factores que inciden negativamente en su viabilidad, dado el

constante cambio de uso de suelo en las costas, lo que determinaría la necesidad de propiciar su recuperación y conservación (DOF, 2002).

Rodríguez-Zúñiga *et al.* (2013) a través del inventario nacional de CONABIO, regionalizó los manglares de México a fin de facilitar el estudio de su extensión y distribución en el país. Se dividieron en cinco regiones en de las franjas costeras: Pacífico Norte, Pacífico Centro, Pacífico Sur, Golfo de México y península de Yucatán (Fig. 1). El tipo de manglar dominante, así como la estructura y función del ecosistema, difiere en cada una de esas regiones. Ello responde al tipo de cuenca hidrológica al que está asociado, la extensión de la planicie costera, la temperatura, la precipitación, la topografía y el tipo de suelo (Rodríguez-Zúñiga *et al.*, 2013).



Fig. 1. Regionalización de los manglares de México (Rodríguez-Zúñiga *et al.*, 2013)

En México, el 55% del área total ocupada por manglar se encuentra en la península de Yucatán en donde, a diferencia del resto del país, los gradientes de salinidad en el manglar están dados en gran medida por el aporte de agua dulce subterránea (Herrera-Silveira y Comín, 2000; Zaldivar-Jiménez *et al.*, 2000). Esta característica, además de otros factores de la hidrología, la topografía y los nutrientes del suelo, resultan en composiciones estructurales diferentes, dados por distintos tipos fisonómicos de bosque de manglar que dependen en gran medida de su localización con respecto al cuerpo de agua (Feller y Stinik, 1996).

De acuerdo con Lugo y Snedaker (1974), se reconocen seis tipos fisonómicos de manglar:

a) Franja: se encuentra a lo largo de la línea de la costa o bien en el borde de lagunas o pantanos. Debido al contacto directo con el cuerpo de agua, están expuestos a sus regímenes hidrológicos. También puede recibir influencia de las aguas de la cuenca inundable. Alcanzan un buen desarrollo estructural, reflejado en su altura y densidad arbórea. Generalmente está dominado por especies de *Rizophora* o *Laguncularia*, según el nivel de inundación y de salinidad (Zaldivar-Jímenez *et al.*, 2010)

b) Sobre inundado: se encuentra en pequeñas islas, generalmente compuestas por *Rhizophora*, a menudo formado por el lavado de mareas. La posición de este tipo de manglar obstruye el flujo de las mareas y como resultado es sobre inundado en las mareas altas. La corriente continua de las mareas es suficiente para llevarse la materia orgánica, por lo que no acumula hojarasca.

c) Riverino: se encuentra en el borde de ríos y estuarios, reciben constantemente aportes de agua dulce rica en nutrimentos y típicamente dominado por *Rizophora*, son árboles altos y muy productivos.

d) Cuenca: se localizan en depresiones topográficas, detrás de manglares riverinos y de franja, dominado por una mezcla de especies, se inundan sólo durante mareas muy altas, además, presentan condiciones de alto estrés debido a la poca cantidad de suelo y alta salinidad.

e) Hammock (Petén): es una forma especial de manglar de cuenca, en donde se forman pequeñas islas de manglar sobre una turba que llenó una depresión en el sustrato de piedra caliza. Las especies que se desarrollan en estos sitios pertenecen a los géneros *Rhizophora* y *Laguncularia*, las cuales pueden sobrepasar los 20 m de altura. En Yucatán, el manglar de tipo Petén se asocia generalmente a una fuente de agua dulce (Trejo-Torres *et al.*, 1993).

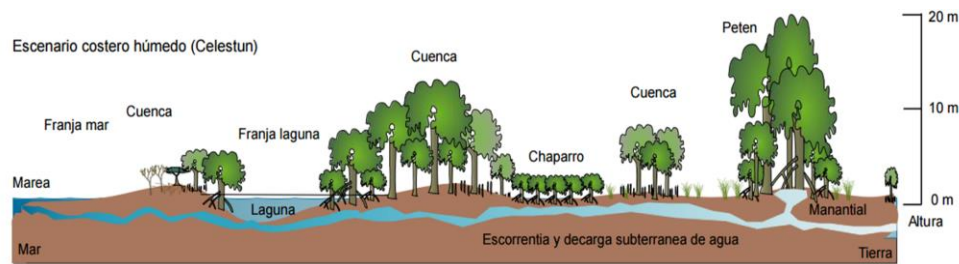


Fig. 2 Tipos fisonómicos de manglar más comunes en la península de Yucatán. Ejemplo, escenario costero húmedo de Celestún (Zaldivar-Jiménez *et al.* 2010)

f) Chaparro: son manglares de baja altura (<4 m), presentan alta densidad de árboles, sin embargo, hay casos en donde la densidad es tan baja que conforman comunidades con pastos a manera de sabanas. Por lo general son monoespecíficos de *R. mangle* o *A. germinans* y homogéneos en el paisaje. El régimen hidrológico está relacionado con la época de lluvias. La hidrología y/o los sedimentos favorecen condiciones de estrés como alta salinidad intersticial o déficit de nutrimentos (Trejo-Torres *et al.*, 1993)

En la Fig. 2 se muestra un ejemplo en la zonificación de los diferentes tipos ecológicos de manglar en Celestún, Yucatán, México.

Diversidad y estructura genética de *Rhizophora mangle* en México

La teoría de la genética de poblaciones permite la reconstrucción de los procesos históricos, como el aislamiento genético de las poblaciones y los niveles de migración inter-poblacional, los cuales pueden derivar en cambios evolutivos en la especie. Estos son importantes en la interpretación de los efectos de los fenómenos climáticos y geomorfológicos últimos en la evolución de una especie, así como en la predicción de posibles respuestas al futuro cambio ambiental (Dood *et al.*, 2002). En el caso de los manglares, los factores que influyen la estructura y función de los bosques de manglar varían a escalas globales, regionales y locales a través del tiempo (Duke *et al.*, 1998). El estudio de su variabilidad genética permite entender los procesos históricos que han derivado en su distribución actual, así como comprender su capacidad evolutiva ante los cambios ambientales.

Rhizophora es el género dominante de la familia más ampliamente distribuida en el mundo, Rhizophoraceae. Este género pantropical es relativamente antiguo en comparación de los

otros géneros de manglar (Ellison *et al.* 1999). El género incluye ocho especies (Tomlinson, 2016), de las cuales tres son nativas de la región del Atlántico-Este del Pacífico: *R. mangle* L., *R. racemosa* G.F.W. Meyer y *R. harrisonii* Leechman. De las tres especies, *R. mangle* es la más tolerante a la salinidad además de que es la única que se distribuye más allá del cinturón tropical (Breteler, 1969, 1977) y la más abundante en los manglares neotropicales por lo que es considerada como la planta vascular más importante de los ecosistemas intermareales del Nuevo Mundo (Tomlinson, 2016).

Las especies con un amplio rango de distribución y con elevada variabilidad genética, como es el caso de *Rhizophora mangle* (Ball, 1988), presentan una gran diversidad morfológica que Richard *et al.* (2010) denominan como plasticidad genotípica. De acuerdo con lo que hasta ahora se ha reportado, la diversidad genética de las especies de mangle es relativamente baja con respecto a las de las angiospermas terrestres (Ricklefs *et al.*, 2006). En contra parte, los niveles de variabilidad genética entre las poblaciones de *R. mangle* son, aunque moderados, comparativamente altos respecto a los reportados en árboles tropicales (Schierenbeck *et al.*, 2003). Los trabajos realizados sobre diversidad y estructura genética de *R. mangle* en el continente americano son relativamente recientes y aunque aún son pocos, han logrado abarcar gran parte del continente. El trabajo de Arbeláez-Cortez *et al.* (2007) fue el primero en usar marcadores moleculares microsatélites en *R. mangle* lo cual sirvió, tal como lo plantearon en ese momento, como un punto de partida para el estudio de la diversidad y estructura genética de esta especie.

En el continente americano se ha analizado la diversidad y estructura genética de *R. mangle* con el uso de diversos marcadores, desde los morfológicos, que demostraron ser útiles para diferenciar poblaciones de *R. mangle* y su relación con el estrés abiótico (Rico- Gray y Palacios-Ríos, 1996; Araujo *et al.*, 1997; Domínguez *et al.*, 1998; Dood y Rafii, 2002). Con marcadores bioquímicos, como las isoenzimas (Núñez-Farfán *et al.*, 2002), por polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP) (Albrecht *et al.*, 2013) y por inter secuencias simples repetidas (ISSR) (Lo *et al.*, 2014). Sin embargo, la mayoría de los trabajos se han realizado con microsatélites (SSR) (Arbeláez-Cortés *et al.* 2007, Cerón-Souza *et al.*, 2010, 2012, 2015; Pil *et al.* 2011, Sandoval-Castro *et al.* 2012a, 2012b; Bruschi *et al.*, 2014; Takayama *et al.*, 2013; Lo *et al.*, 2014).

A lo largo de las costas de México es posible observar una gran diversidad de hábitats y características morfológicas en los manglares (Domínguez *et al.*, 1998; Méndez-Alonzo *et al.*, 2008) que sugieren diferencias genéticas entre sus poblaciones. Los patrones espaciales en los rasgos genéticamente adaptativos indican que algunas poblaciones pueden sobrevivir con más éxito bajo condiciones ambientales cambiantes (Dood y Rafii, 2002). Sí se tiene en cuenta que no todas las poblaciones son equivalentes en términos de su capacidad de adaptación, el uso de dichos criterios genéticos podría conducir a un mejor manejo y conservación de los recursos naturales disponibles (Alongi, 2002; Núñez-Farfán *et al.*, 2002; Melville y Burchett, 2002; Arbeláez-Cortés, 2007).

En México existen dos trabajos sobre la diversidad y estructura genética de *R. mangle* con resultados muy contrastantes. Núñez-Farfán *et al.* (2002) usaron isoenzimas para evaluar la diversidad y estructura genética de las poblaciones de *R. mangle* en México. En ese trabajo se encontró una diferenciación genética mayor entre las poblaciones ubicadas en el Golfo de México y Mar Caribe (Atlántico) que en las poblaciones de las costas del Pacífico; así como una diversidad genética baja ($H_E= 0.12$, $H_O= 0.06$) y una baja estructura genética entre las poblaciones de la costa del Pacífico y el Atlántico. Con base a estos resultados, los autores rechazaron la hipótesis de que el surgimiento del Istmo de Panamá influyó en la diferenciación genética de ambas costas. En contraste, Sandoval-Castro (2012a, 2012b, 2014), usó microsatelites y encontró una mayor diversidad genética ($H_E= 0.27$, $H_O= 0.25$) en 24 poblaciones de *R. mangle* de México. También, este autor encontró una fuerte estructura genética entre las poblaciones del Pacífico y el Atlántico ($R_{st}= 0.6$ $F_{st}= 0.47$), además de una mayor estructura en las costas del Pacífico en comparación con las del Atlántico. Estos resultados contrastan con lo reportado por Núñez-Farfán *et al.* (2002) y sugieren que el Istmo de Panamá si funcionó como una barrera geográfica que restringió de manera efectiva el flujo genético entre ambas costas (Sandoval-Castro *et al.*, 2014). Así mismo, Sandoval-Castro *et al.*, (2014) encontró que la diversidad genética de *R. mangle* se encuentra dividida en cinco regiones: dos en el norte y sur del golfo de California, Marismas Nacionales, centro-sur del Pacífico y la del Atlántico (Fig.3).

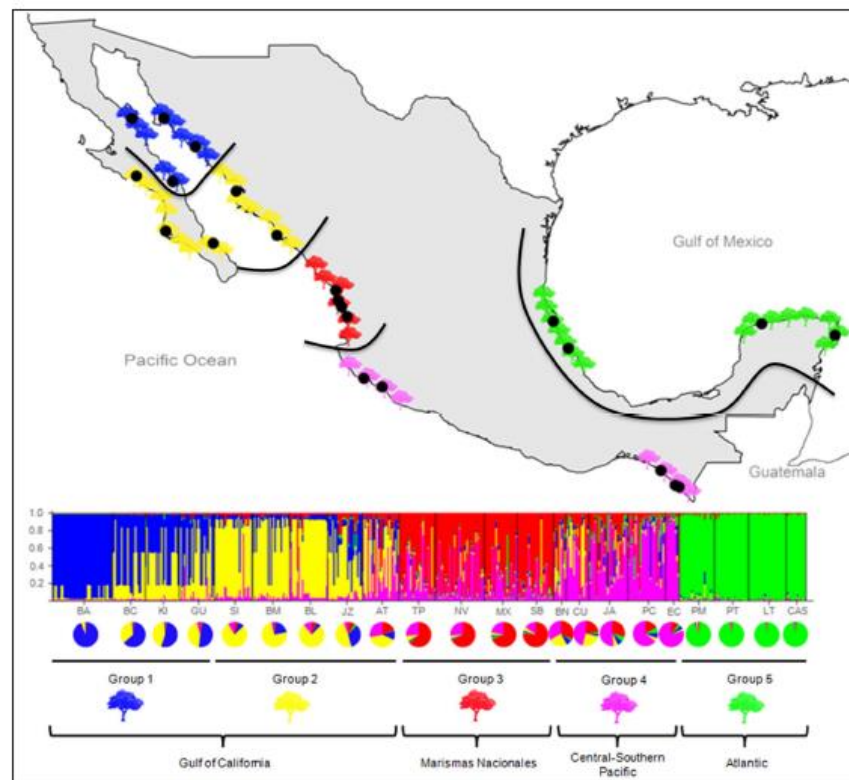


Fig. 3. Asignación de Individuos por STRUCTURE de *Rhizophora mangle* en las costas de México (Sandoval-Castro *et al.*, 2014)

Se ha señalado que las interacciones históricas, así como las actuales, entre la dispersión a larga distancia y las barreras geográficas se manifiestan en la estructura genética de las poblaciones (Takayama *et al.*, 2013). En México, al igual que en Centro América, el surgimiento del Istmo de Panamá es un evento determinante en la estructura y diversidad de las especies de mangle. Takayama *et al.* (2013) encontró una clara diferenciación genética de *R. mangle* y *R. racemosa* entre las costas del Pacífico y del Atlántico, resultado que apoya la hipótesis de que el Istmo de Panamá funcionó como una barrera genética entre ambas costas (Takayama *et al.*, 2013). Por lo tanto, el develar la estructura y diversidad genética de *R. mangle* desde escalas regionales a escalas locales nos provee de herramientas útiles para entender los procesos genéticos como las presiones selectivas, el flujo génico, la deriva génica y darnos un panorama a su historia ecológica, evolutiva y filogeográfica (Dodd *et al.*, 2002; Duke *et al.*, 2002; Takayama *et al.*, 2013).

Fisiología y anatomía de los manglares

La gran heterogeneidad ambiental en la que crecen los manglares, además de diferentes tipos fisionómicos de manglar, da como resultado especies de mangle con una gran variabilidad en sus características morfológicas, anatómicas y fisiológicas (Robert *et al.*, 2009; Naidoo, 2010). Cada tipo fisionómico de manglar presenta estrategias diferentes, las cuales responden a las condiciones ambientales particulares en las que crecen; la salinidad y la inundación son variables críticas que regulan el crecimiento y el desarrollo de las estrategias fisiológicas específicas (Twilley y Monroy-Rivera, 2005). Por una parte, la salinidad limita la disponibilidad del agua del suelo por la planta y por otra parte, la inundación disminuye el oxígeno disponible y regula diversos procesos fisicoquímicos del suelo (Lin y Stenberg, 1992a; Krauss y Ball, 2013).

En el caso del manglar chaparro, ha sido un tipo de bosque de manglar de especial interés debido a sus características anatómicas, morfológicas y fisiológicas diferenciales con respecto a otros tipos de manglar, como el de franja. La principal pregunta con respecto a este tipo fisionómico en particular es la causa de su baja estatura, y una de las principales causas a las que se le atribuye es a las deficiencias nutrimentales, en especial del fósforo (P) (Lugo y Snedaker, 1974; Feller, 1995; McKee *et al.*, 2002; Feller *et al.*, 2003; Lovelock *et al.*, 2004; Medina *et al.*, 2010). Al respecto, se observó que la fertilización con fósforo, a diferencia de con nitrógeno, en manglares chaparros de *A. germinans* y *R. mangle* causó un incremento en el potencial hídrico, la conductancia estomática, la conductividad hidráulica y la tasa de fotosíntesis, y por tanto en su crecimiento (Lovelock *et al.* 2006). Así mismo, se ha atribuido que la hiper salinidad es un factor importante en la estructura de este bosque. Esta causa potenciales hídricos más negativos, los cuales inciden también en bajas tasas de fotosíntesis y por tanto en su menor crecimiento (Naidoo, 2006, 2010).

Como consecuencia de una mayor salinidad y deficiencias en los nutrimentos, el manglar chaparro desarrolla diversas estrategias que le permiten sobrevivir en este ambiente (Melcher *et al.* 2001). Entre ellas, se ha observado un aumento en las características esclerófilas de las hojas de *R. mangle* (Feller, 1996), además de un uso más eficiente de agua, como resultado de un mayor cierre estomático, lo que implica una menor adquisición de carbono para las plantas y por tanto un menor crecimiento de los árboles (Clough y Sim, 1989; Cheeseman y Lovelock, 2004). Así mismo, debido al constante estrés hídrico al que

se enfrenta el manglar chaparro, este aprovecha ventanas de baja salinidad durante la temporada de lluvias para un mayor intercambio de gases, a diferencia del manglar de franja (Lin y Stenberg, 1992a; Cheeseman *et al.*, 1997). También se ha observado que en el manglar chaparro puede haber una redistribución hidráulica durante la noche, que disminuye la salinidad en la rizosfera y hace más accesible el agua (Hao *et al.*, 2009).

Por otra parte, la estructura del xilema, particularmente de los vasos, es uno de los componentes fundamentales en el sistema de conducción hidráulica y su descripción brinda mayor comprensión de la respuesta de los mangles ante la variabilidad ambiental (Zimmermann, 1983). Los primeros trabajos al respecto, consistieron en descripciones anatómicas detalladas del xilema secundario, con una sutil relación con las condiciones ambientales; sin considerar la variabilidad intraespecífica ante la variabilidad ambiental y por ende entre los diferentes tipos fisionómicos de manglar (Panshin, 1932; Janssonius, 1950; Van Vliet, 1976; Carreras, 1988). Es debido a esta gran variabilidad, así como a los diferentes patrones de zonación, que actualmente, la variabilidad intraespecífica de los caracteres anatómicos del xilema han sido de gran interés. A través del estudio del sistema de conducción hidráulica es posible entender las estrategias que las especies presentan para compensar la eficiencia de la conducción y su seguridad ante la cavitación (Zimmermann, 1983; Yáñez-Espinosa *et al.*, 2001; Schmitz, 2008; Robert *et al.*, 2009).

Uno de los principales caracteres anatómicos del xilema que responde a los cambios ambientales es la densidad de los vasos, con una relación positiva al aumento de la salinidad y la inundación (Yáñez-Espinosa *et al.*, 2001, 2009; Schmitz *et al.*, 2006b; Robert *et al.*, 2009). La mayor densidad de vasos representa una ventaja ante el déficit hídrico, debido a que, por una parte, compensa la conducción hídrica de vasos más pequeños con un aumento en la conductividad; y por otra parte, reduce la probabilidad de cavitación al tener más rutas de conducción si se presenta una embolia en un vaso (Cruizat *et al.*, 2002). Así mismo, el cambio en la densidad de los vasos entre diferentes temporadas, dados los cambios en salinidad, resulta en la formación de anillos de crecimiento por lo que, incluso, se ha sugerido como un buen indicador de las condiciones ambientales en estudios dendrocronológicos (Verheyden *et al.*, 2004, 2005; Robert *et al.*, 2010). De igual forma, Yáñez-Espinosa *et al.* (2001) observaron un mayor número de radios en el xilema y la corteza a mayor inundación, lo que facilita el transporte de oxígeno y fotosintatos.

Por otra parte, el tamaño de los vasos es un carácter fundamental en el sistema de conducción hidráulica dada la ley de Hagen-Poiseuille, en la que dice que el flujo a través de un conducto es igual a la cuarta potencia de su diámetro (Zimmerman, 1983). Por lo que vasos más pequeños tendrán potencialmente una menor conductividad. En especies del género *Rhizophora* se ha observado que a mayor salinidad hay tendencia a presentar una menor área del lumen de los vasos, dado particularmente por una disminución en el diámetro radial y no en el diámetro tangencial (Verheyden *et al.*, 2005; Schmitz *et al.*, 2006; Robert *et al.* 2009; Cisneros-de la Cruz, 2014). A su vez, se ha observado un incremento significativo en el tamaño de los vasos y en la conductividad hidráulica en respuesta a la fertilización con fósforo (Lovelock *et al.*, 2006). A mayor salinidad, una menor área de lumen en los vasos ofrece a costa de una disminución en la eficiencia en la conducción hidráulica, una mayor resistencia a la cavitación con un menor consumo de agua, que se refleja a su vez en una disminución en la tasa fotosintética; y por tanto, un menor crecimiento (Sobrado, 2000, 2001, 2007). En contraste, a mayor salinidad e inundación, se ha observado una mayor densidad de la madera con fibras más gruesas y paredes más gruesas de los vasos en especies del género *Avicennia*, pero sin una disminución del área de los vasos. Estas características permiten dar mayor resistencia mecánica al árbol, así como una mayor resistencia de implosión de los vasos ante la cavitación sin tener que sacrificar su eficiencia hidráulica (Yañez-Espinosa, *et al.*, 2009; Santini *et al.*, 2012).

Todos los trabajos han revelado una gran plasticidad de los caracteres anatómicos de acuerdo con la salinidad e inundación en la que crecen. Así, en las condiciones más estresantes se presentan estructuras más seguras contra la cavitación como: una mayor densidad y agrupación de los vasos, los cuales presentan también un menor diámetro, además de tejidos más densos (Yañez-Espinosa y Flores, 2011). A su vez, los caracteres anatómicos del xilema regulan procesos fisiológicos que inciden en el crecimiento y supervivencia diferencial de las especies (Melcher *et al.*, 2012). La compensación entre la seguridad y la eficiencia del sistema de conducción hidráulica permite a los mangles establecerse en sitios de acuerdo con su tolerancia diferencial en un amplio rango de salinidad e inundación y de esta forma definir patrones específicos de zonación, así como diferentes tipos fisionómicos de bosques de manglar (Ewers *et al.*, 2004; Krauss *et al.*, 2007; Robert *et al.*, 2009).

Desarrollo y Establecimiento de *Rhizophora mangle*

La viviparidad de *R. mangle* hace del desarrollo de sus frutos y propágulos, así como de su establecimiento, etapas particularmente interesantes para su estudio. El hipocótilo o propágulo que resulta de la germinación en la planta madre, es en realidad una joven plántula, además de la unidad dispersora hidrocora (Krauss y Allen, 2003). La formación del propágulo desde la fecundación es un proceso complejo que depende de las condiciones ambientales y que puede durar hasta 11 meses (Gill y Tomlinson, 1971; Tovilla y Orihuela, 2002; Nadia y Machado, 2014). Su desarrollo embrionario ha sido descrito con bastante detalle en tres fases principales: la embriogénesis temprana que consiste en la extrusión del embrión de la semilla, la embriogénesis tardía que consiste en la extrusión del hipocótilo del fruto y por último la fase de elongación, en la que el propágulo termina su desarrollo (Cook, 1907; Juncosa, 1982; Tomlinson & Cox, 2000; Das, 2001). Al madurar, el propágulo tiene una forma cilíndrica alargada; consta de una pequeña plúmula que constituye el epicótilo y la mayor parte del propágulo que forma el hipocótilo, con una radícula sin desarrollar en la parte distal (Tomlinson & Cox, 2000).

A pesar de los detallados estudios sobre el desarrollo del propágulo, aún hay numerosas preguntas sobre la fisiología del propágulo cuando este se encuentra en la planta madre, así como su respuesta fenológica ante la gran variabilidad ambiental que presentan los manglares. Así mismo, la mayoría de los trabajos se centran en el desarrollo del propágulo antes de que el propágulo se separe de la planta madre o en su diferenciación taxonómica y son escasos los trabajos que describan el desarrollo anatómico durante su establecimiento (e.g. Tomlinson y Cox, 2001; Tonné *et al.*, 2016). En este sentido, Tomlinson y Cox (2001) realizaron una comparación entre los propágulos maduros en la etapa de post- absición de la familia Rhizophoraceae, así como una descripción detallada del proceso de erección del propágulo. Posteriormente, Tonné *et al.* (2016) hicieron un primer acercamiento a través de tomografía computarizada al cambio en la proporción de los tejidos en el hipocótilo durante las primeras etapas del establecimiento de *Bruguiera gymnorrhiza* L. (Lam.) y *Ceriops tagal* (Perr.) C. B. Rob. Sin embargo, aún son necesarios estudios que describan más profundamente el desarrollo del tejido vascular durante el establecimiento, así como los cambios en el desarrollo en respuesta a la salinidad y otras variables ambientales.

La fase de establecimiento es crítica para el éxito de cualquier planta y es particularmente complicada en la zona intermareal, dada la inestabilidad del suelo, la inundación, la salinidad, entre otras variables (Krauss *et al.*, 2008). En el caso de *R. mangle*, el propágulo le permite amortiguar las condiciones ambientales durante esta etapa y es parte fundamental del éxito en su gran distribución y dominancia en un amplio rango de condiciones ambientales (Proffitt y Travis, 2010). Durante el primer año de la etapa de establecimiento, se ha observado que las estrategias fisiológicas de las plántulas no siempre se reflejan (Rabinowitz, 1978). Sin embargo, en algún punto durante el desarrollo de la plántula, estas responden diferencialmente al ambiente para determinar las estrategias adecuadas al ambiente particular en donde crecen (Cisneros-de la Cruz, 2014). En esta etapa de plántula, se ha observado que *R. mangle* es particularmente sensible a la luz, cambiando significativamente su tasa fotosintética más que en la etapa juvenil o adulta (Farnsworth y Ellison, 1996). Aunado a esto, la respuesta a la salinidad en el crecimiento de las plántulas varía dependiendo del momento en el que el estrés salino inicia (Wenqing *et al.*, 2011). *R. mangle* es una planta perenne con floración todo el año, por lo que se pueden encontrar propágulos durante todo el año. Sin embargo, se han observado picos de producción de durante la temporada de lluvias, por lo que los propágulos se establecen durante diferentes temporadas todo el año. Las estrategias en cuanto a las relaciones hídricas y la tasa de fotosíntesis podrían depender, incluso, de la estación específica en la que se establecen (Gill y Tomlinson, 1971b; Smith y Snedaker, 1995).

Durante el establecimiento de la plántula, estas dependen de las reservas maternas, las cuales se usan diferencialmente según los estímulos ambientales, especialmente en respuesta a la luz y la salinidad, lo que se refleja en diferentes tasas de crecimiento en las plántulas durante su establecimiento (Smith y Lee, 1999; Smith y Snedaker, 2000; Ball, 2002). Por tanto, la cantidad de reservas del propágulo, relacionado con su biomasa, es un factor clave para el éxito de su establecimiento. Se ha observado una relación directa entre la biomasa del propágulo y el crecimiento durante la primera etapa de establecimiento de *R. mangle* (Krauss y Allen, 2003). Sin embargo, no hay una relación directa entre las reservas del propágulo y la tasa de fotosíntesis de las hojas durante el establecimiento (Lin y Sternberg, 1995). Una vez que *R. mangle* se ha establecido en el suelo, las plántulas que crecen en condiciones de menor salinidad, como el caso del manglar de franja, pueden prescindir de las reservas del propágulo y obtener carbono de la fotosíntesis de las hojas

(Smith y Snedaker, 2000; Ball, 2002; Lechthaler *et al.*, 2014). En contraste en sitios donde las condiciones ambientales limitan la fotosíntesis, como el caso del manglar chaparro, las plántulas usarán dichas reservas para su crecimiento, además de la obtención de carbono por fotosíntesis (Ball, 2002; Naidoo, 2006, 2010).

Las estrategias que desarrollen los mangles durante su establecimiento son críticas para definir los patrones de zonación, más aún que la capacidad de dispersión en sí misma (Clarke *et al.*, 2001). Se ha sugerido que el propágulo de *R. mangle* pre- acondiciona a las plántulas a un mayor éxito en condiciones similares a la de la planta madre (Farnsworth y Ellison, 1996); sin embargo, existen resultados contrastantes al respecto. Smith y Snedaker, (1995) no observaron diferencias significativas de las plántulas que crecen en condiciones diferentes a la planta madre, a las que crecen en el mismo sitio. Lo que refleja la gran plasticidad de respuesta ante un amplio rango de variabilidad ambiental. Por otra parte, Proffitt y Travis (2010) reportan diferencias en las estrategias que se desarrollan durante el establecimiento de las plántulas relacionado con el genotipo de la planta madre, lo que les otorga ventaja con respecto a otros genotipos. La gran plasticidad en los límites fisiológicos de las plántulas, así como los escasos trabajos que analicen la variabilidad genética entre ecotipos, hace poco clara las implicaciones de la posible preferencia ambiental de ciertos fenotipos o genotipos. La supervivencia diferencial de plántulas de diferentes tipos de manglar define la dinámica poblacional y la interacción de las comunidades; así mismo, juega un papel crítico en la diversidad y estructura genética de las poblaciones (Loveless y Hamrick, 1984). El estudio de las estrategias fisiológicas durante su establecimiento, así como su relación con su variabilidad genética son indispensables para el desarrollo de modelos más exactos sobre la dinámica de estos ecosistemas, así como el éxito de programas de conservación, manejo, restauración y rehabilitación (Ball, 1988; Herrera-Silveira, 2006).

JUSTIFICACIÓN

A pesar de su gran importancia ecológica y económica, más del 35% de la extensión del manglar del mundo ha desaparecido en los últimos 25 años (Hogarth 2007; Giri *et al.*, 2011). En México, las actividades agrícolas, ganaderas, acuícolas y turísticas son las principales responsables del impacto directo e indirecto sobre el manglar (Alongi, 2008; Rodríguez-Zúñiga *et al.*, 2013). De hecho, el desarrollo urbano acelerado en las costas explica el alto porcentaje de tasa de deforestación (1-3%) del manglar (Alongi, 2002). Ante este panorama, es necesario generar conocimiento integral que considere aspectos críticos en la conservación, como son el acervo genético de las especies de manglar, los efectos de cambios ambientales naturales y antropogénicos en la diversidad y la estructura genética de las poblaciones. Todo esto con el fin de identificar zonas prioritarias para su conservación, así como estimar el potencial evolutivo en respuesta a los cambios ambientales (Ellison y Farnsworth, 1997; Núñez-Farfán *et al.*, 2002; Melville y Burchett, 2002). Un aspecto no menos importante es entender la respuesta de las plántulas durante el establecimiento, lo cual es crítico para estimar y predecir la dinámica poblacional ante los posibles cambios ambientales, útil en los programas de restauración. Estos conocimientos son parte fundamental de la base científica que permite el desarrollo de modelos más exactos sobre la dinámica de los ecosistemas de manglar, y de utilidad para el diagnóstico de su estado de salud y para acciones de manejo pertinentes a su restauración y conservación (Ball, 1988; Herrera, 2014).

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la variabilidad y la estructura, genética y morfológica de *R. mangle* a escala regional y local en la península de Yucatán, así como analizar su respuesta fisiológica y anatómica durante su establecimiento a diferentes condiciones de salinidad, luz y disponibilidad de fósforo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Capítulo II

- Estimar la diversidad y estructura genética de 13 poblaciones de *R. mangle* en siete sitios en las costas del nor y sur-este de la península de Yucatán, México.
- Identificar la diferenciación genética entre las poblaciones altas y chaparras de *R. mangle* en siete sitios a lo largo de las costas de la península de Yucatán.
- Establecer la relación entre la variabilidad morfológica de las poblaciones de *R. mangle* con la salinidad intersticial y la disponibilidad de fósforo.
- Evaluar la relación entre la diferenciación genética de las poblaciones altas y chaparras con respecto a su variabilidad morfológica y ecológica.

Capítulo III

- Evaluar el desarrollo de las estrategias fisiológicas y anatómicas de *R. mangle* en tres estadios durante su establecimiento bajo diferentes condiciones de salinidad, luz y disponibilidad de fósforo.
- Comparar las estrategias fisiológicas y anatómicas durante distintas etapas del establecimiento de *R. mangle* en respuesta a diferentes condiciones de salinidad, luz y disponibilidad de fósforo.
- Estimar el periodo de influencia de las reservas del propágulo, así como el periodo de disyunción entre las estrategias fisiológicas y anatómicas bajo condiciones de contrastantes de salinidad, luz y disponibilidad de fósforo.

Capitulo IV

- Describir el desarrollo del sistema vascular, así como los caracteres anatómicos del xilema de plántulas de *R. mangle* en tres estadios, durante su establecimiento.
- Comparar el desarrollo del sistema vascular durante diferentes etapas del establecimiento de *R. mangle* bajo diferente salinidad.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Con el propósito de cumplir los objetivos planteados, la tesis se dividió en tres capítulos en los que se desarrolló la metodología necesaria para cumplir con los objetivos.

- ✚ *Variabilidad morfológica y genotípica (Capítulo II)*: este capítulo abordó la variabilidad genética entre diferentes ecotipos de *R. mangle* a través de la estructura genética de 13 poblaciones de manglares chaparros y altos en siete sitios de la península de Yucatán. Así mismo, se realizaron mediciones morfométricas para encontrar su relación con las diferencias genotípicas de los manglares altos y chaparros.
- ✚ *Establecimiento de *R. mangle* (Capítulo III)*: Se ha observado que durante la etapa de plántulas *R. mangle* tiene las mismas estrategias en cuanto a la arquitectura hidráulica aun en diferentes tipos de manglar, sin embargo, en alguna etapa crítica del desarrollo hay cambios en las estrategias de acuerdo al microambiente en el que crece. Por lo tanto, en este capítulo se estableció un diseño experimental factorial en condiciones de invernadero para evaluar el efecto de tres niveles de salinidad, dos de iluminación, dos de disponibilidad de fósforo en tres estadios durante 16 meses en el establecimiento de *R. mangle*. En cada estadio se evaluaron las variables fisiológicas y anatómicas relacionadas con el transporte de agua, la fotosíntesis y su crecimiento.
- ✚ *Desarrollo anatómico del sistema vascular de *R. mangle* (Capítulo IV)*: La descripción anatómica del sistema vascular de *R. mangle* durante su establecimiento es fundamental para entender su respuesta antes los cambios ambientales. En este capítulo se describió el sistema vascular de *R. mangle* del propágulo desde su dispersión y durante su establecimiento bajo diferentes condiciones de salinidad.

CAPÍTULO II

Publicado como:

Cisneros-de la Cruz, D. J., Martínez-Castillo, J., Herrera-Silveira, J., Yáñez-Espinosa, L., Ortiz-García, M., Us-Santamaria, R., & Andrade, J. L. (2018). Short-distance barriers affect genetic variability of *Rhizophora mangle* L. in the Yucatan Peninsula. *Ecology and Evolution* 8 (22): 11083-11099.

SHORT-DISTANCE BARRIERS AFFECT GENETIC VARIABILITY OF *Rhizophora mangle* L. IN THE YUCATAN PENINSULA

ABSTRACT

The environmental variability at local scale results in different physiognomic types of mangrove forest. However, this variability has never been considered in studies of mangrove genetic variability. This study analyzed the genetic and morphological variability and structure of *Rhizophora mangle* at regional and local scales in the Yucatan Peninsula. Thirteen mangrove populations (eight scrub and five tall), located in seven sites, were sampled, and their morphological variability and relationship with the availability of phosphorus and salinity were analyzed. The diversity and genetic structure were estimated at different hierarchical levels with nine microsatellites, also Bayesian inference and Principal Coordinates Analysis were used. We found a great morphological variability of *R. mangle* that responded to local environmental variability and not to the precipitation gradient of the peninsula. The genetic diversity found in the peninsula was greater than that reported for other populations in Mexico and was grouped into two regions: the Gulf of Mexico and the Caribbean Sea. At a local scale, tall and scrub mangroves had significant genetic differentiation suggesting that ecological barriers promote genetic differentiation within sites. These results need to be considered in future population genetic studies and for mangrove management and conservation.

Keywords: scrub mangrove, microsatellite, mangrove type, environmental barriers.

INTRODUCTION

Identifying the evolutionary processes controlling genetic structure and morphological diversity is a central question of evolutionary biology (Dewoody, Trewin, & Taylor, 2015). While the genetic structure of populations is typically driven by gene flow, genetic drift and mutation of novel alleles (Slatkin, 1993; Wright, 1931), phenotypic differentiation among populations could reflect a balance between natural selection in the local environment, migration of alleles via gene flow, and, at a lower frequency, the acquisition of novel traits through mutation (Dewoody et al., 2015; Nosil & Crespi, 2004). Therefore, the combined use of genetic, morphological, and environmental characteristics may help to understand the patterns of variation and differentiation of a species comprehensively (Bruschi, Angeletti, González, Signorini, & Bagnoli, 2013; Orsini, Vanoverbeke, Swillen, Mergeay, & Meester, 2013).

Studies on the genetic and morphological variability of a species population, at local and regional scale, would allow us to understand the potential response of this species to environmental changes. Also, these studies can help us to understand the mechanisms that regulate the population's structure and the ecological processes behind it, as well as their role in the ecosystem services offered (Salgado-Negret & Paz, 2016). Furthermore, the success of restoration, management, and conservation projects depends on conserving and prioritizing the greater genetic and functional variability (Richards, Wares, & Mackie, 2010). However, studies that correlate morphological and genetic differences for the same species geographically separated are very scarce. Recently, conceptual frameworks have identified local genetic adaptation as an important driver of population genetic structure, but only some studies focus on tree species, and a few focus on mangroves (Farnsworth, 1998; Nosil, Funk, & Ortiz-Barrientos, 2009; Orsini et al., 2013).

Mangroves are intertidal ecosystems located in the tropical and subtropical coasts of the world (Tomlinson, 1986). These forests have a great ecological and economic importance as they shelter a supreme diversity of fauna and provide important ecosystem services (Alongi, 2008). The structure and floristic compositions of mangroves change according to geographical and latitudinal gradients (Lot, Vázquez-Yanez, & Méndez, 1975; Lugo & Snedaker, 1974). At the local level, their composition, structure, and function vary according to environmental gradients, physiological preference, and flood tolerance of the species (McKee, 1996; Rabinowitz, 1978), which result in different type of physiognomic mangrove

forests. Lugo and Snedaker (1974) describe five main types: riverine, basin, fringe, overwash, and scrub. This classification scheme is a supplement to the classical zonation patterns described for mangroves in different parts of the world, which has had a ubiquitous success and strengthens the importance of the distribution of mangrove species and physiognomic units (Lugo & Snedaker, 1974).

The scrub mangrove is characterized by dense, low-height (<3 m) and generally monospecific forests of *Avicennia germinans* [(L.) Stearn] or *Rhizophora mangle* L. (Lugo & Snedaker, 1974; Trejo-Torres, Duran, & Olmsted, 1993). This type of mangrove has been the focus of several studies for its contrasting characteristics compared to tall mangrove trees (Cheeseman & Lovelock, 2004; Lin & Stenberg, 1992a; Naidoo, 2010; Yáñez-Espinosa & Flores, 2011); its short stature has mainly been attributed to limitation of nutrients, in particular phosphorus (Feller, McKee, Whigham, & O'Neill, 2003; Lovelock, Feller, Ball, Engelbrecht, & Ewe, 2006; Lovelock, Feller, McKee, Engelbrechts, & Ball, 2004) and hypersalinity or salinity fluctuations that reduce water availability, photosynthesis rate, and tree growth (Hao et al., 2009; Lin & Stenberg, 1992b; Naidoo, 2006). Indeed, one study suggests that the short stature of this type of mangrove could be a genetic expression rather than a phenotypic expression (Lara-Domínguez et al., 2005). The genetic variability of mangroves species, particularly that of *R. mangle*, began to be studied with the use of biochemical markers by Dodd, Rafii, Fromard, and Blasco (1998), and in the past decade with DNA molecular markers by Arbeláez-Cortes, Castillo-Cárdenas, Toro-Perea, and Cárdenas-Henao (2007). Recently, several studies (the majority of them using microsatellite molecular markers) have reported a great genetic variability within populations of *R. mangle* in America (Albrecht, Kneeland, Lindroth, & Foster, 2013; Arbeláez-Cortes et al., 2007; Bruschi et al., 2013; Cerón-Souza et al., 2015; Cerón-Souza, Bermingham, McMillan, & Jones, 2012; Pil et al., 2011). However, none of these studies have considered the physiognomic type of mangrove in their sampling plan. In the Yucatan Peninsula, *R. mangle* occurs in forests of fringe, basin, “petén” (associated with freshwater inputs) and scrub, which is also the most extensive mangrove type (Adame et al., 2013; Herrera-Silveira et al., 2016; Zaldívar-Jiménez et al., 2010). Moreover, although this region represents more than half of the extension of mangrove in Mexico, no studies of genetic variability of *R. mangle* have been carried out (Rodríguez-Zúñiga et al., 2013; Spalding, Kainuma, & Collins, 2010).

Accordingly, the principal aim of this work was to evaluate the morphological and genetic structure and variability of *R. mangle* at regional and local scales in the Yucatan Peninsula, Mexico. In addition, we examined the relation of morphological variability to salinity and phosphorous availability. The following specific questions were addressed which are as follows: (a) How the morphological variability of *R. mangle* relates to salinity and phosphorus availability in the Yucatan Peninsula? (b) what are the levels of diversity and genetic structure in the Yucatan Peninsula? and (c) at local scale, do the two physiognomic types of *R. mangle*, tall and scrub, affect the genetic structure and diversity within a site? We would expect that considering the influence of salinity and phosphorus on mangrove morphology, the sites with the highest salinity and lowest phosphorus availability will correspond to scrub populations. Also, the tall and scrub *R. mangle* will show genetic differentiation within a site.

MATERIALS AND METHODS

Study area and populations sampled

This study was made along the northern and eastern coasts of the Yucatan Peninsula, which is a low elevation karstic platform (slope <1%) with irregular topography (Pannier, 1992). The climate is generally warm and humid and is characterized by three seasons: dry (March–May), rainy (June–October), and early-dry (locally named “nortes”; November–February) (Zaldivar-Jiménez et al., 2010). Seven sites with the presence of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) forests along the coast of the Yucatan Peninsula were selected (Figure 1a); in each site, sampling points were chosen according to the physiognomic type of mangrove, previously designed in the Mexico Mangrove Monitoring System (Herrera-Silveira et al., 2014). All sites but one (Progreso) are priority international wetlands (CONANP (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas), 2014). In total, thirteen points were sampled; each one was considered a different population and classified, according to their morphological structure, as tall (>3 m) or scrub (<3 m) (Figure 1a).

Morphological and environmental characterization

In each population, ten adult individuals (each with at least 10 m distance among each other) were randomly selected. We measured the following: (a) leaf length and width (cm; 3 leaves per individual; the third leaf from the leaf primordium was always selected); (b) length of ten

propagules with a graduated ruler (cm); (c) height (m), measured with a Vertex Laser (VL402, Haglöf, Sweden); and (d) stem diameter (cm; performed 20 cm above the last root with a diameter tape or a vernier for the scrub mangrove). At each site, interstitial salinity (~30 cm depth) was measured with an YSI Pro 2030 portable conductivity meter (YSI, Yellow Springs, USA). Also, a soil core with a depth of 30 cm was obtained and transported to the laboratory to measure total phosphorus (P) and extractable P. Total P was determined as orthophosphate after Aspila, Agemian, and Chau (1976) and Parson, Maita, and Lalli (1984). Extractable P was analyzed after Olsen (1954).

Data analysis

A Canonical Discriminant Analysis was performed to know the morphological differences between populations of Yucatan Peninsula and the most discriminant variables. Also, to distinguish a pattern among the environmental variables to the mangrove type, a Principal Component Analysis was used. Finally, a Canonical Correlation Analysis was applied to identify the correlation among the morphological variables: height, length of the propagule and to include the foliar characters, leaf area was calculated considering the leaf as an oval ($A_f = \pi \times r_1 \times r_2$; r_1 : leaf width, r_2 : leaf length); and the environmental variables: salinity and extractable P. Analyzes were realized in XLSTAT v.7.5.2. (XLSTAT, Addinsoft, USA, 2007).

Molecular characterization

For the molecular analysis, leaf samples (young leaves without apparent damage) from 130 individuals of *R. mangle* were collected from August 2014 to March 2015. Ten individuals (separated by at least 20 m distance from each other to avoid kinship) per population were chosen for leaf sampling. Polyvinylpyrrolidone (PVP) was applied to each leaf in the abscission zone to avoid oxidation; leaf samples were stored at -20°C for further analysis. DNA was isolated by the modified CTAB/PVP method (Reyes- Medina, 2012). Previously, tissue was macerated in liquid nitrogen, resuspended in 1,000 μl of 2% CTAB plus 10 μl of β -mercaptoethanol, and then incubated at 65°C for 3 hr. Samples were allowed to cool and 30 μl of 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ RNase was then added and incubated at 37°C for 30 min; the enzyme was inactivated at 65°C for 10 min. Thereafter, it was centrifuged at 18,000 g for 20 min, 700 μl of the supernatant were transferred and extracted with 650 μl of 24:1 (v/v) chloroform-

isoamyl alcohol, and centrifuged at 18,000 *g* for 10 min to separate the phases. This process was repeated twice. The resulting supernatant DNA was precipitated with 700 μ l of cold isopropanol and 35 μ l of 3 M sodium acetate, left overnight incubating at -20°C and centrifuged for 20 min at 18,000 *g*. The pellet was washed with 200 μ l of cold absolute ethanol and centrifuged for 6 min at 18,000 *g*. The DNA obtained was resuspended with 70 μ l of 1X TE and stored at -20°C for further analysis. The quality of the extracted DNA was verified by electrophoresis in 1% agarose gels stained with ethidium bromide (10 mg/ml). The DNA was quantified on a NanoDrop 2000 UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific), and subsequently, the concentration of each sample was homogenized to 25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ and stored at -20°C until further use.

For the microsatellite technique, nine loci reported as polymorphic for *R. mangle* were used as follows: RmBra20, RmBra45, RmBra50, RmBra59 (Ribeiro et al., 2013) and Rm7, Rm11, Rm19, Rm41, Rm46 (Rosero-Galindo, Aitan-Solis, Ardenas-Henao, Ohme, & Oro-Perea, 2002). Amplification was performed by PCR. Each 20 μ l of the amplification reaction consisted of 10 \times PCR buffer, 1.5 mM MgCl_2 , 0.2 mM dNTPs, 0.15 μM primer (FW, RV), 1 u of Taqpolimerase, and 2 μ l of DNA (50 ng). Amplification was performed on an Applied Biosystems Gene Amp PCR SYSTEM 9,700 thermocycler (Thermo Fisher Scientific, USA) at the following temperatures: initial denaturation of 94°C for 2 min, followed by 37 cycles of 15 s at 94°C , 15 s at 50°C (alignment temperatures for each oligonucleotide were according to Rosero-Galindo et al., 2002 and Ribeiro et al., 2013), 15 s at 72°C and a final extension of 5 min at 72°C . The PCR products were verified by electrophoresis on 1.5% agarose gels stained with 10 mg/ml ethidium bromide for 40 min at 100 V. PCR products were separated by electrophoresis on denaturing gels of 5% polyacrylamide (19:1 acrylamide bisacrylamide) with 5 M urea and 0.5 X TBE. To the PCR product, 4 μ l of a solution of formamide (0.45% bromophenol blue and 0.25% xylene-cyanol, denatured at 94°C for 5 min) was added. The electrophoresis was performed at 60 W for 1.5 hr in a manual sequencer (SQ3 sequencer, Hoefer Scientific Instruments, San Francisco, CA, USA). The fragments were visualized using the silver staining technique (CIRAD, 2002), using a 10 bp marker as a reference and a white light transilluminator for the fragments reading.

Data analysis

First, to explore how genetic diversity of *R. mangle* is organized in the Yucatan Peninsula, two approaches were used as follows: (a) An individual assignment test was done with a Bayesian approach implemented in the Program STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard, Stephens, & Donnelly, 2000). The program was run with the Admixture model and the LOCPRIOR option (Hubisz, Falush, Stephens, & Pritchard, 2009). A period of burning of 200,000 and 400,000 iterations after the burning period was used. We performed 20 replicates for each *K* value ($K = 1-15$) and checked the consistency of results. The optimal *K* value was calculated using the ΔK method described by Evanno, Regnaut, and Oudet (2005) and implemented in the STRUCTURE HARVESTER program (Earl & Von Holdt, 2012). 2). A Principal Coordinates Analysis (PCoA) with mean population genetic distance was performed with the GenAlex v6.5 program (Peakall & Smouse, 2006); this analysis allows the spatial recognition of groups of genotypes, without altering the data and only considers the matrix of genetic similarity. Subsequently, the genetic structure was assessed by Analysis of Molecular Variance (AMOVA) at three hierarchical levels: (a) At regional scale in the Yucatan Peninsula, an analysis was performed for all tall and scrub populations (populations), and one for sites considering tall and scrub individuals within a site indistinctly (sites); (b) for populations and sites between main groups obtained by STRUCTURE and PCoA; (c) at the local scale, tall and scrub populations were analyzed within each site. The statistical significance was tested for all levels from 1,000 permutations in the Arlequin program V. 3.5.2.2 (Excoffier & Lischer, 2010). The Nei's pairwise population genetic distance matrix was calculated with GenAlex V6 program (Peakall & Smouse, 2006). Also, to evaluate the distance isolation hypothesis, Mantel test was done for sites and populations using the geographic distances, obtained as the coast distance between sites (Km) and Nei's genetics distance matrix (Nei, 1978), with 1,000 permutations by the GenAlex V6 program (Peakall & Smouse, 2006).

The genetic diversity of *R. mangle* was evaluated at different organizational levels: Yucatan Peninsula, main groups defined by STRUCTURE and PCoA, sites, populations and by physiognomic type of mangrove within regions (tall and scrub). The evaluated estimators were expected (H_E) and observed heterozygosity (H_o) and allelic richness (N_a), all estimators were obtained with GenAlex V6 program (Peakall & Smouse, 2006).

Comparisons were made with estimators calculated between regions and mangrove types with a validation of 1,000 permutations with the FSTAT program v.2.9.3.2 (Goudet, 2001). Also, inbreeding coefficient (F_{IS}) was estimated for all populations, regions, and mangrove types, as well as for all the Yucatan Peninsula. The evaluated estimators were compared among populations, regions, and type of mangrove, using 1,000 permutations with FSTAT program ver. 2.9.3.2 (Goudet, 2001).

RESULTS

Morphologic and environmental variability

The study populations had high morphological variability within and among sites (Table 1) and, according to the canonical discriminant analysis, they were divided into the preassigned mangrove types: tall and scrub (Figure 2). Tree height was the most discriminant variable (contribute for 86.2% of total morphological variation among populations); it varied from individuals of 0.5 m in Sian Ka'an, to trees of 23 m in Celestún (Table 1). Leaf width and propagule length represented 10% of the total variation (Figure 2; $n = 130$, λ Wilks = 0.009, $p < 0.05$).

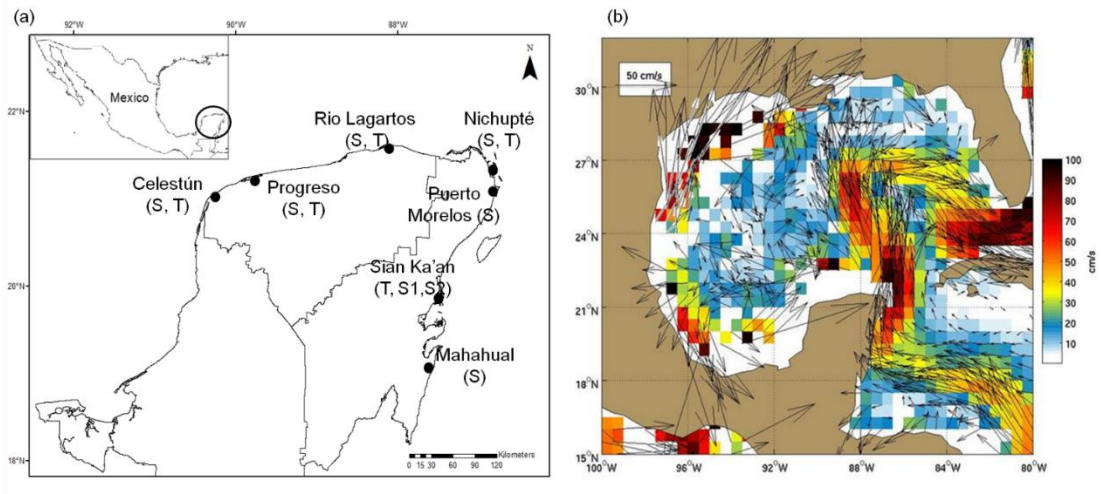


Fig.1 (a) Sampled sites for *Rhizophora mangle* populations in the Yucatan Peninsula, the physiognomic types are indicated by (T) for tall and (S) for scrub. (b) Ocean currents of the Yucatan Peninsula (Laurindo et al., 2017).

Interstitial salinity varied from 0.8 ppt in scrub-Mahahual to 122 ppt in scrub-Progreso (Table 1). The population with the highest total phosphorus (P) content was scrub-Celestún (1.13 mg/g) and the lowest total P content was in tall-Progreso (0.23 mg/g). The extractable P was the highest in scrub-Nichupté (25.06 mg/kg) and the lowest in scrub-Mahahual (1.01 mg/kg). The percentage of extractable P in the sites was less than 6% in all cases (Table 1), and no direct relationship was found between tree height and salinity or extractable P (EP; Figure 3a,b). However, the relationship between environmental and morphological variables was supported by the Canonical Correlation Analysis. The first factor explained 92.45% of the total variation, and a significant correlation among morphology variability, salinity, and EP was also observed ($0.36, p < 0.05$). However, the λ Wilks showed a poor predictive power (0.85). This analysis also showed that salinity was the variable that contributed the most to the variability in morphology and had a negative correlation with tree height and leaf area, but EP had a positive correlation with these latter variables (Figure 4).

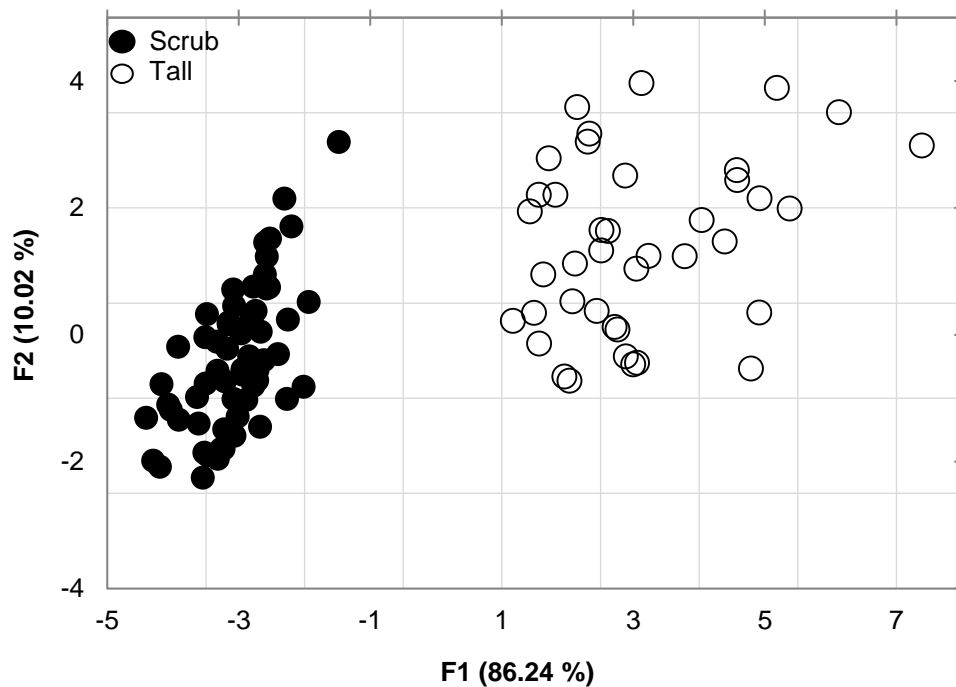


Fig. 2 Canonical Discriminant Analysis of the morphologic variables measured in *Rhizophora* mangle of the Yucatan Peninsula

The response of the two physiognomic types of mangrove to salinity and EP correlation was supported by the Principal Component Analysis; we found that: Sites with high salinity and

low or high EP had scrub mangroves (Sia-S1, Cel-S, Pro-S); sites with low salinity and high EP values had tall mangroves (Sia-T, Cel-T, Rio-T, Nic-T); and sites with low salinity and low EP values had scrub mangrove (Mah-S, Rio-S, Pue-S, Sia-S2) (Figure 5). Two sites did not respond to these trends: scrub-Nichupté with the highest values of EP and low salinity, and tall-Progreso with high salinity and low EP values.

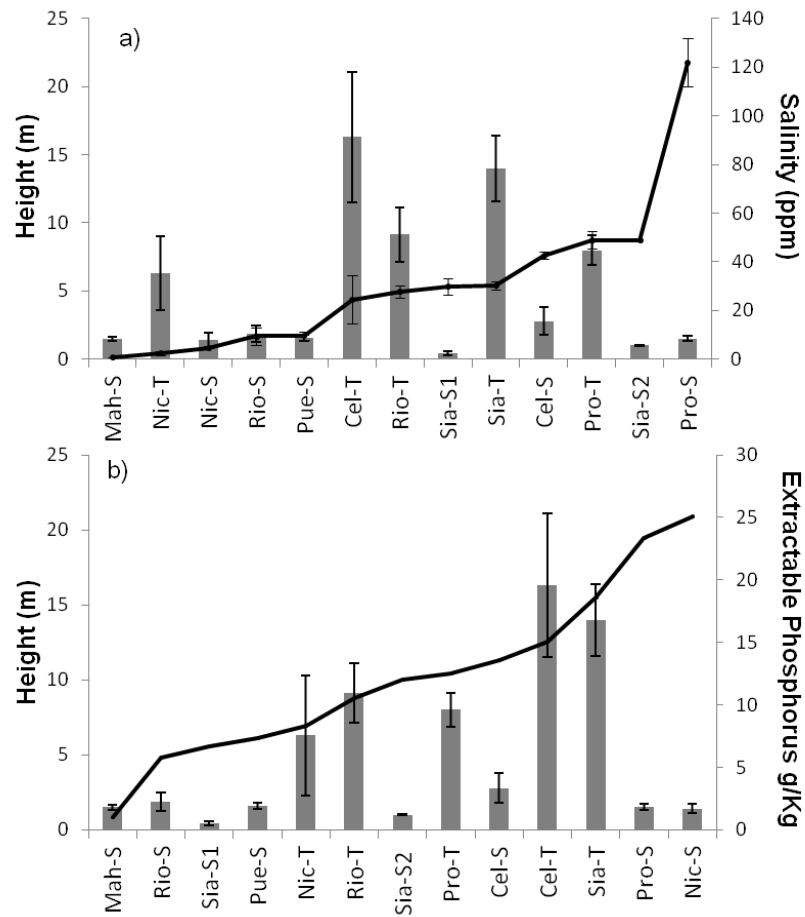


Fig. 3. Relationship among height, salinity, and extractable phosphorus for 13 populations of *Rhizophora mangle* in the Yucatan Peninsula (see Table 1 for abbreviations). Bars are mean height \pm standard deviation; lines are mean \pm standard deviation of (a) interstitial salinity and (b) extractable phosphorus.

Genetic variability

The 130 individuals of *R. mangle* sampled in the Yucatan Peninsula were divided into four

groups according to the optimal K obtained with the Evanno method ($K = 4$, $\Delta K = 4.79$). Moreover, the STRUCTURE analysis based in $K = 4$ presented two main groups: one group composed of the populations from the Gulf of Mexico coast: Celestún (Cel-T and Cel-S), Rio Lagartos (Rio-S, Rio-T), and Progreso (Pro-T, Pro-S); and another group integrated by the populations from the Caribbean coast: Nichupté (Nic-S), Puerto Morelos (Pue-S), Sian Ka'an (Sia-S1, Sia-S2, Sia-T), and Mahahual (Mah-S) (Figure 6a). Also, two subgroups were detected within each of these groups, which explains the value of $K = 4$ thrown by the Evanno's method. However, the admixed individuals, because of the share ancestry of the populations, hindered the identification of clearly identified subgroups (Figure 6a,c). Although considering different values of K may reflect different genetic and demographic processes, and ensure a better biological interpretation of the data (Meirmans, 2015), the second high ΔK obtained by the Evanno's method was also considered ($K = 2$, $\Delta K = 4.38$). This reinforces the existence of the two main groups, the Gulf of Mexico and the Caribbean Sea (Figure 6b). Because both coasts belong to different oceanographic regions, henceforth we will refer those groups as regions.

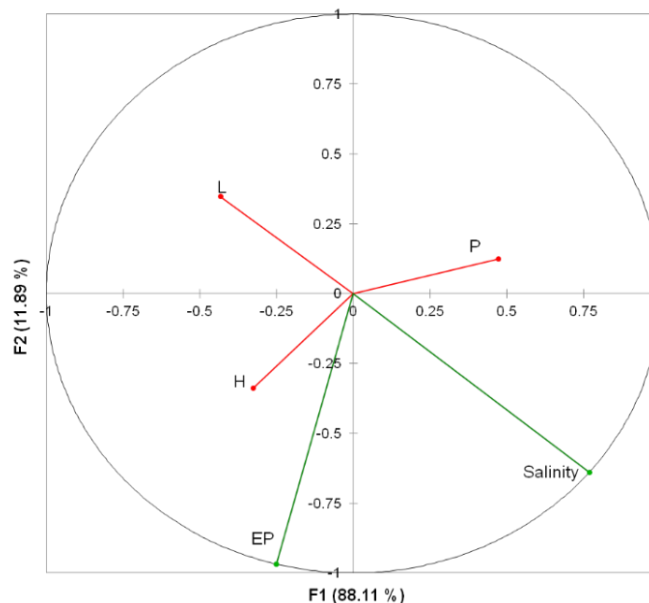


Fig. 4. Canonical Correlation Analysis of morphological (H: height of tree, L: leaf area, P: propagule length) and environmental variables ($n = 130$, Canonical correlation = 0.36, λ Wilks = 0.85, $p < 0.05$)

Table 1. Morphologic and environmental variables measured in *Rhizophora mangle* populations from the Yucatan Peninsula, Mexico.

Site	Key Pop.	Coordinates	Morphologic variables				Environmental variables			
			Height	Diameter	Propagule	Leaf width	Leaf	Salinity	PT	PE(g/Kg)
Celestún	Cel-T	20.51227°, -90.22377°	16.3 ± 4.8	22.9 ± 7.2	19.4 ± 3.4	6.1 ± 0.4	14.1 ± 1.3	24.5±10	0.99	15.03 (1.5)
	Cel-S	20.51227°, -90.22377	2.8 ± 1	3.4 ± 1.5	13.7 ± 2.6	4.3 ± 0.5	9.5 ± 0.9	42.7±1.4	1.13	13.62 (1.19)
Mahahual	Mah-S	18.78512°, -87.74883°	2 ± 0.6	1.8 ± 0.4	11.4 ± 1.8	4.4 ± 0.5	11.2 ± 0.9	0.8±0.12	0.59	1.01 (0.16)
Nichupté	Nic-T	21.03337°, -86.83741°	6.3 ± 2.7	8.8 ± 1.4	21.8 ± 5.9	5.4 ± 0.8	12 ± 1.7	2.5±0.78	0.62	8.36 (1.33)
	Nic-S	19.47133°, -87.29121°	1.4 ± 0.3	1.7 ± 0.5	9.3 ± 3.9	3.3 ± 0.3	8.8 ± 1.1	4.7±0.36	0.43	25.06 (5.8)
Progreso	Pro-T	21.278704°, -89.64454°	8 ± 1.1	8.1 ± 2.2	22.0 ± 4.9	5.1 ± 0.5	11.1 ± 1.2	49±3.75	0.23	12.48 (5.31)
	Pro-S	21.24614°, -89.83677°	1.5 ± 0.2	2.1 ± 0.4	14.6 ± 3.5	3.8 ± 0.5	9 ± 1.1	122±9.92	0.76	23.35 (3.03)
Puerto Morelos	Pue-S	20.90477°, -86.85719°	1.5 ± 0.2	1.8 ± 0.3	10.2 ± 2.5	4 ± 0.3	10.7 ± 0.7	9.6±1.53	1.08	7.32 (0.67)
Rio Lagartos	Rio-T	21.35521°, -88.08343°	9 ± 2.4	5.9 ± 1.8	23.0 ± 2.8	6.0 ± 0.4	12.6 ± 0.8	27.7±2.48	0.35	10.51 (2.95)
	Rio-S	21.35521°, 88.08349°	1.5 ± 0.4	1.3 ± 0.3	10.6 ± 1.3	4.1 ± 0.6	10.2 ± 1.1	9.4±3.4	0.53	5.81 (1.09)
Sian Ka'an	Sia-T	19.7800°, -87.4789°	14 ± 2.4	39 ± 2.9	24.3 ± 4.8	6 ± 0.5	12.5 ± 1.2	30.3±1.7	0.55	18.61 (3.34)
	Sia-S1	19.80683°, -87.53764°	0.45 ± 0.1	1.7 ± 0.4	11.5 ± 2.2	4.2 ± 0.6	9.6 ± 0.9	29.9±3.3	0.84	6.65 (0.79)
	Sia-S2	19.82301°, -87.49882°	1 ± 0.3	1.3 ± 0.3	16.8 ± 3.5	4.5 ± 0.8	9.8 ± 1.2	49.6±2.3	0.25	12 (4.84)

Note. For key populations: T = tall and S = scrub; diameter (measured 20 cm above the last aerial root); PT: Total Phosphorus; PE: Extractable phosphorus (% of extractable Phosphorus, PE/PT*100).

The grouping pattern obtained with STRUCTURE was partially supported by the three-dimensional Principal Coordinate Analysis (PCoA; Fig. 7). Coordinate 1 explained the 36.11 % of the variation and reinforced the existence of the two genetically different regions (Gulf of Mexico and Caribbean Sea); coordinates 2 and 3 explained the 38.99 % of the variation and placed scrub and tall populations from the same site farther away than populations from different sites. The Nei's genetic distance matrix reinforces the distance observed on PCoA (Table 2). The tall and scrub populations within a site (with distances of few kilometers) had equal genetic distances, or even higher, than distances between populations from different sites. For instance, the genetic distance between Cel-S - Cel-T (0.12) was the same distance than that between Cel-S - Rio-S (0.12); or the genetic distance between Sia-T - Sia-S2 (0.2), which was higher than the distance between Sia-T - Pue-S (0.17; Table 2).

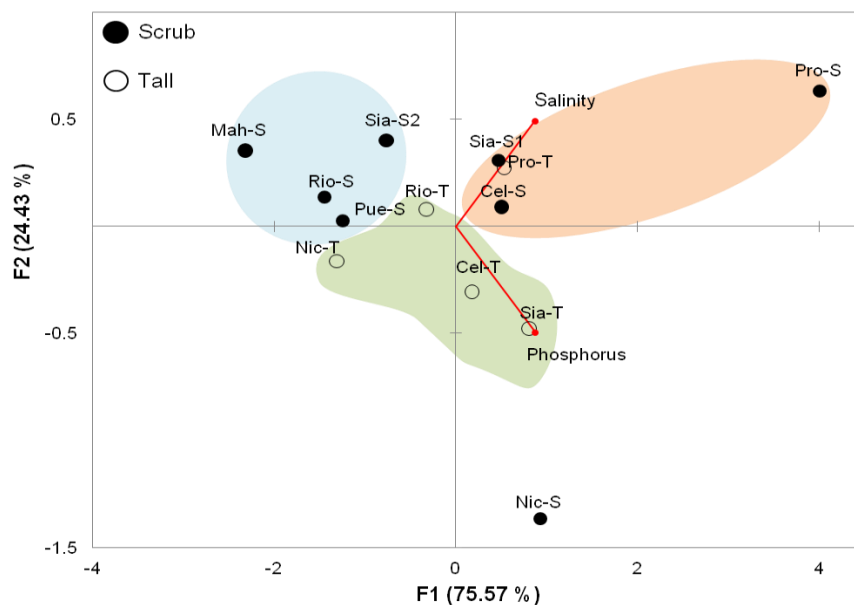


Fig. 5. Principal Component Analysis of interstitial salinity and extractable phosphorus (measured at 30 cm depth) in 13 *Rhizophora mangle* populations (see Table 1 for abbreviations)

The genetic structure of *R. mangle* in the Yucatan Peninsula showed by the AMOVA indicated that the studied populations differed 13 % ($p < 0.001$). Also, the genetic differentiation between regions was 6.5 % ($p < 0.001$, Table 3). The analysis performed by sites (including indistinctly tall and scrub individuals within sites) showed a lower genetic differentiation (9 %, $p < 0.05$) than by populations. However, the differentiation between regions was similar (6 %, $p < 0.05$) (Table 3). At local scale, the genetic differentiation of tall and scrub populations within sites was high and for some sites even higher than for all the Yucatan Peninsula, with values from 3 to 13.11 % (Table 4). A larger genetic differentiation was observed in a site of the Caribbean Sea coast, between tall and scrub populations of Sian Ka'an (13.11 %, $p < 0.05$). The lowest genetic differentiation was observed among tall and scrub populations of Rio Lagartos (3 %, $p > 0.05$). With exception of Celestún, sites from the Gulf of Mexico had less genetic differentiation between physiognomic types than those from the Caribbean Sea (Table 4). The relation among geographic distance and Nei's genetic distance demonstrated by Mantel test among sites of the Yucatan Peninsula showed a significant relation ($R^2 = 0.52$, $p < 0.001$); while the analysis made by populations presented a weak but significant relation ($R^2 = 0.21$, $p < 0.001$). Within regions, the Mantel test did not present significant relationship.

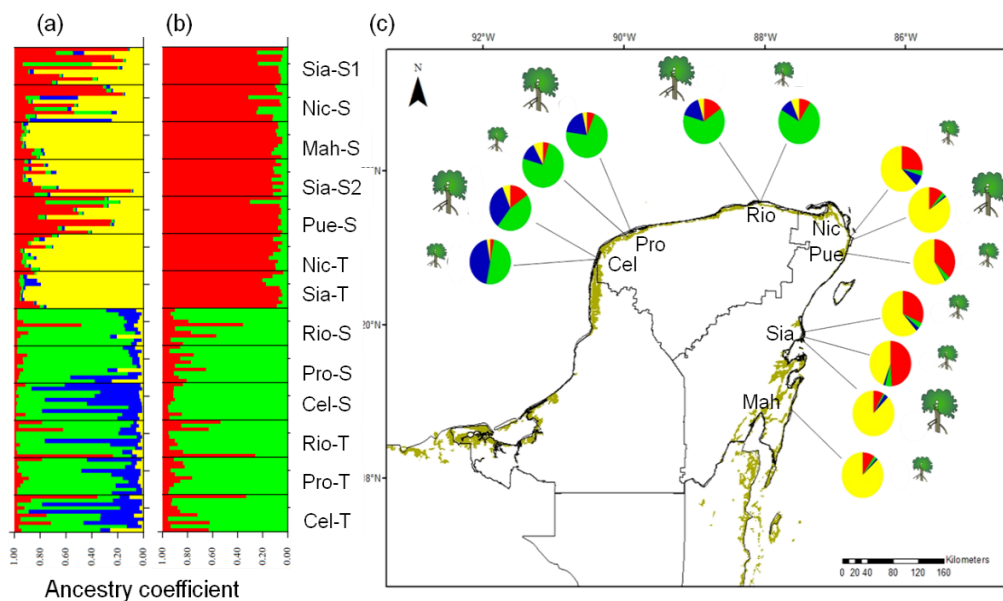


Fig. 6 Bayesian assignment analysis performed in STRUCTURE for 130

individuals of *Rhizophora mangle*. (a) $K=4$ ($\Delta K=4.79$), substructure within each region (Gulf of Mexico: blue-green, Caribbean Sea: red-yellow). (b) $K=2$ ($\Delta K=4.38$), correspond to the oceanographic regions: Gulf of Mexico (green) and Caribbean Sea (red). (c) The map represents the Yucatan Peninsula and the populations of *Rhizophora mangle* sampled (see Table 1 for abbreviations), the pie charts represent Q value for $K=4$.

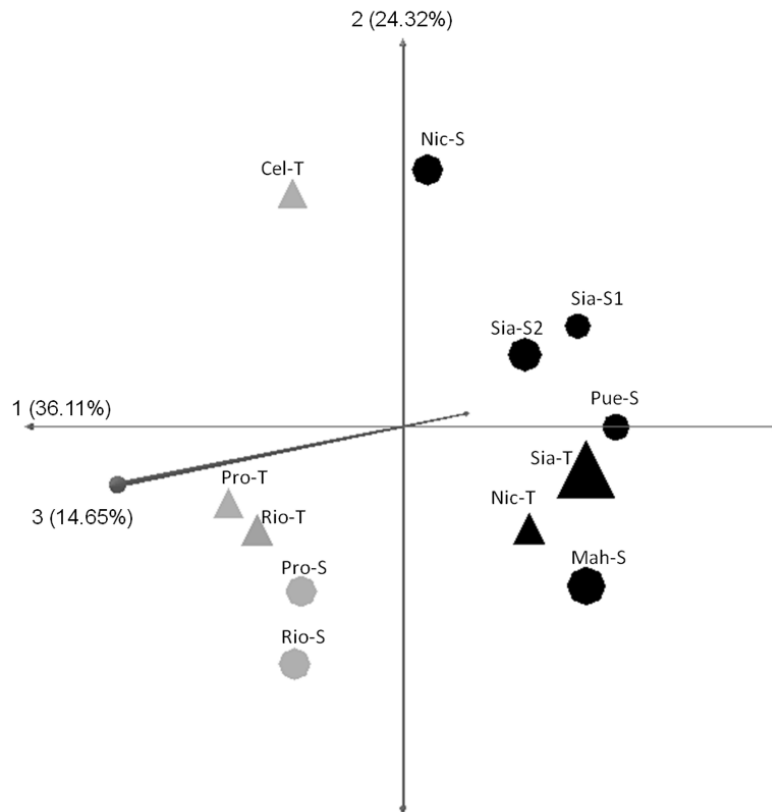


Fig. 7 Principal Coordinate Analysis in three dimensions, performed with 9 microsatellite loci and 13 populations of *Rhizophora mangle*. Axis 1 (36.11%) divides the Gulf of Mexico region and the Caribbean Sea; Axes 2 and 3 (38.97%) indicate the genetic difference within each region. Populations of the Caribbean Sea are indicated as closed black symbols and populations of the Gulf of Mexico as closed gray symbols; circles represent tall populations and triangles scrub populations (see Table 1 for abbreviations).

Genetic diversity

The nine microsatellite loci used detected a total of 35 alleles. With the exception of the RM46 locus, all loci were polymorphic. The Yucatan Peninsula had an expected (H_E) and observed heterozygosity (H_O) of 0.37 ± 0.003 and 0.27 ± 0.003 , respectively, and an allelic richness (N_a) of 2.41 ± 0.02 . Also, the H_O was higher for the Caribbean Sea region (0.37 ± 0.01) than for the Gulf of Mexico region (0.23 ± 0.02), but their differences between H_E and H_O were lower (Table 5). The N_a was similar in both regions, 2.38 ± 0.05 in the Gulf of Mexico and 2.49 ± 0.08 in the Caribbean Sea (Table 5). Concerning mangrove types, the tall populations showed the greatest genetic diversity in the Gulf of Mexico region ($N_a = 2.52 \pm 0.08$, $H_O = 0.26 \pm 0.02$), while the scrub populations showed the highest values of genetic diversity in the Caribbean Sea region ($N_a = 2.53 \pm 0.09$, $H_O = 0.3 \pm 0.01$). The population with the highest H_O was tall-Nichupté while scrub-Celestún had the lowest H_O . N_a varied from 1.89 for tall-Sian Ka'an to 2.77 from tall-Rio Lagartos, scrub-Nichupté and scrub-Sianka'an1. The H_E was higher than H_O in all populations; however, the populations in the Gulf of Mexico had the highest difference, especially in the site of Celestún (Table 5). The comparison between regions and mangrove types and among populations did not show significant differences, using the different estimators evaluated.

The inbreeding coefficient (F_{IS}) for the populations showed positive significantly values in all populations (from 0.06 ± 0.02 in Nic-T to 0.48 ± 0.05 in Cel-S). The F_{IS} for the Yucatan Peninsula was 0.26 ± 0.01 . The Caribbean Sea region had a significantly lower F_{IS} ($p < 0.05$) than that of the Gulf of Mexico (0.19 ± 0.02 and 0.35 ± 0.02 , respectively; Table 5). Tall populations had lower F_{IS} (0.20 ± 0.03) than scrub populations (0.31 ± 0.02), but values were not significantly different.

DISCUSSION

Morphologic variability

Although salinity and phosphorous (P) are two of the main factors that have been related to mangrove forest structure, especially in scrub mangroves (Lin & Stenberg, 1992a; Feller *et al.*, 2003; Lovelock *et al.*, 2004, 2006; Naidoo, 2006, 2010), in our study no direct relation of these variables with height was observed (Fig. 3a,b). Instead, the mangrove height

responded partially to the interaction of the effects of salinity and P (Fig. 4). This agrees with the relationship observed among P assimilation and water availability in mangroves (Mckee *et al.*, 2002; Medina *et al.*, 2010). As salinity increases and water availability diminishes, P assimilation can also decrease with consequent growth reduction (Naidoo, 1987).

Table 2 Nei's (1978) pairwise genetic distances between populations of *Rhizophora mangle* in the Yucatán Peninsula.

Pob	Cel-S	Cel-T	Pro-T	Pro-S	Rio-S	Rio-T	Sia-T	Sia-S1	Mah-S	Nic-S	Pue-S	Sia-S
Cel-T	0.12											
Pro-T	0.13	0.09										
Pro-S	0.14	0.11	0.06									
Rio-S	0.12	0.13	0.05	0.06								
Rio-T	0.12	0.09	0.08	0.07	0.05							
Sia-T	0.16	0.22	0.24	0.18	0.17	0.20						
Sia-S1	0.17	0.11	0.13	0.10	0.11	0.13	0.08					
Mah-S	0.20	0.17	0.15	0.13	0.09	0.14	0.06	0.06				
Nic-S	0.13	0.07	0.12	0.14	0.14	0.14	0.17	0.10	0.11			
Pue-S	0.27	0.19	0.19	0.15	0.11	0.18	0.17	0.09	0.10	0.11		
Sia-S2	0.29	0.12	0.16	0.13	0.15	0.17	0.20	0.06	0.12	0.11	0.05	
Nic-T	0.25	0.16	0.19	0.13	0.14	0.12	0.16	0.14	0.07	0.11	0.15	0.15

Table 3 AMOVA's performed for *Rhizophora mangle* at regional scale in the Yucatan Peninsula, for all populations/sites (a) and between populations/sites of Caribbean Sea and Gulf of México regions (b).

Source of Variation	Df	Region scale			
		Sum of squares	Variance components	Population % variation	Site % variation
a) Yucatan Peninsula					
Among populations	12	84.01	0.26	13.11**	9.01*
Within populations	247	430.5	1.74	86.89	90.99
b) Caribbean Sea/Gulf of Mexico					
Among regions	1	22.82	0.13	6.46**	5.64*
Among populations within regions	11	61.199	0.19	9.24**	5.46**
Within populations	247	430.5	1.74	84.3**	88.8**

(* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$)

Nevertheless, given the low correlation and poor predictability of the environmental variables, other variables can interact in the synergy that controls morphological structure. One of them can be the hydroperiod, which regulates the resources and modifies stress factors of a site (Feller et al., 2010; Lin & Sternberg, 2007; Twilley & Rivera-Monroy, 2005). Then, the higher P values for scrub-Nichupté could presumably be for changes in the hydrological dynamics caused by road construction, and the resulting wastewater discharges (Vázquez-Lule, Santos-González, & Adame, 2009).

High phenotypic plasticity is related to species adapted to heterogeneous environments and it has important ecological and evolutionary implications (Crispo, 2008; Gianoli, 2004). Mangroves are characterized by a high heterogeneous landscape with environmental settings characterized by high stress factors that control structure and function of populations (Feller *et al.*, 2010; Twilley & Rivera-Monroy, 2005). Similarly, other aquatic species also show a great phenotypic plasticity at very fine scales (Kudoh & Whigham, 1997; Millet, Kristjánsson, Einarsson, & Räsänen, 2013). This plasticity, resulting from the environmental variability, can be an important factor in evolutionary diversification, because it plays a significant role in the relationships among divergent selection, adaptive divergence, and gene flow (Crispo, 2008; Nosil *et al.*, 2009).

Regional genetic variability

The genetic diversity of *R. mangle* in the Yucatan Peninsula ($H_o = 0.27 \pm 0.02$) was greater than that reported for the Baja California Peninsula in Mexico ($H_o = 0.16$, Sandoval-Castro *et al.*, 2012) and even higher than that reported for all Mexico ($H_o = 0.25 \pm 0.03$, Sandoval-Castro *et al.*, 2014). These results can be attributable to the two physiognomic types that we considered per site, which involves ecological differences between samples within a site. Studies on insects, birds, mammals, and mollusks have shown that sampling different ecotypes result in different levels of genetic diversity (Fruet *et al.*, 2017; Lu, Wang, Li, & Liu, 2016; Nosil, 2007; Spurgin, Illera, Jorgensen, Dawson, & Richardson, 2014). Additionally, for conservation biology, it is important to consider possible sources of greater genetic diversity because this represents relevant variability for species persistence and their evolutionary potential (Piñero *et al.*, 2008). For mangroves, for instance, Dahdouh-Guebas *et al.* (2004) have observed significantly different allele frequencies between seaward and landward of the gray mangrove *Avicennia marina*. Moreover, although our study considered

fewer individuals per population than other studies, our results for similar sites were comparable. Sandoval-Castro *et al.* (2014) reported values of genetic diversity for Progreso ($H_E = 0.36$, $H_O = 0.29$) and Puerto Morelos ($H_E = 0.38$, $H_O = 0.31$), which are similar to our values for the same sites (Progreso $H_E = 0.35 \pm 0.08$, $H_O = 0.22 \pm 0.07$; Puerto Morelos $H_E = 0.37 \pm 0.08$, $H_O = 0.31 \pm 0.11$). Future studies should include more individuals per physiognomic type of mangrove within a site to validate the sample size.

In addition, our study showed, for the first time, that the genetic diversity of *R. mangle* in the Yucatan Peninsula is clearly arranged in two regions: the Gulf of Mexico and the Caribbean Sea coasts (Figure 6a, c), which correspond to two oceanographic regions (Wilkinson *et al.*, 2009). Based on other molecular markers, differences on allele frequency among these regions have also been observed for populations of *R. mangle* (Núñez-Farfán *et al.*, 2002) and *Avicennia germinans* (Nettel & Dodd, 2007) and this differentiation can be explained by the geomorphologic history of the peninsula. The relief and karst formation of the Yucatan Peninsula consists in two main stages: an ancient one of the Miocene-Pliocene in the south and east on the Caribbean Sea, and another essentially of the Pleistocene in the north and Gulf of Mexico (López-Ramos, 1973; Lugo-Hubp, Aceves-Quesada, & Espinosa-Pereña, 1992). During the earliest stage of the peninsula, fossil records locate *R. mangle* in Mexico and South America (Graham, 2006; Langenheim, Hackner, & Bartlett, 1967; Tomasini-Ortiz & Martínez-Hernández, 1984). After the last Pleistocene glaciations, in the Holocene, temperatures began to rise gradually and *R. mangle* expanded even further beyond the tropical belt (Gutiérrez-Ayala, Torrescano-Valle, & Islebe, 2012; Pil *et al.*, 2011; Sandoval-Castro *et al.*, 2014). The lower genetic diversity, the larger difference between H_O and H_E and the higher F_S for populations in sites of the Gulf of Mexico than in populations of the Caribbean Sea found in this study suggest a founder effect due to a colonization of *R. mangle* during the Holocene.

CAPÍTULO II

Table 4 AMOVAs performed at local scale for scrub and tall populations of *Rhizophora mangle* within sites of Caribbean Sea (a, b) and Gulf of México (c,d,e) in the Yucatan Peninsula.

Local scale									
Caribbean Sea					Gulf of Mexico				
Source of Variation	Df	Sum of squares	Variance components	% variation	Source of Variation	df	Sum of squares	Variance components	% variation
a) Sian ka'an	1	9.167	0.275	13.11**	c) Celestún	1	6.600	0.24	11.79*
Within populations	58	105.85	1.825	86.89	Within populations	38	68.250	1.796	88.2
b) Nichupté	1	6.025	0.207	9.88**	d) Progreso	1	3.250	0.076	4.19*
Within populations	38	71.7	1.887	90.12	Within populations	38	65.900	1.734	95.81
					e) Rio Lagartos	1	3.150	0.061	3.08
					Within populations	38	73.100	1.924	96.92

At the most recent glacial period, an extreme geographic isolation took place for many species, with subsequent species-specific patterns of postglacial expansion (Kennedy *et al.*, 2016). In mangroves, the influence on genetic variability attributable to postglacial establishment has been reported in America for *R. mangle* and *A. germinans* (Cerón-Souza *et al.*, 2015; Pil *et al.*, 2011). Ocean currents are another factor that plays a role in the genetic structure of the hydrochoerus species *R. mangle* (Cerón-Souza *et al.*, 2015; Pil *et al.*, 2011). In Brazil, the northern and southern populations of *R. mangle* have a strong relationship between geographic and genetic distance ($R^2 = 0.5$) due to currents that interrupt continuous genetic flow along the Brazilian coast (Pil *et al.*, 2011). In the Yucatan Peninsula, a similar relationship ($R^2 = 0.52$, $p < 0.05$) was found; the upwelling of deep waters at Cabo Catoche in the northeastern of the Peninsula interrupts the continuous flow of the Yucatan current, which drives to northeast Gulf of México as the loop current (Figure 1b; Laurindo, Mariano, & Lumpkin, 2017). This current disruption prevents the continuous dispersal of *R. mangle* propagules along the coast from the Caribbean Sea to the Gulf of Mexico, preventing the genetic flow and keeping genetic differentiation between both regions (Martínez & Pares, 1998; Wilkinson *et al.*, 2009).

In our study, no morphological differences between regions were found, which reflect that the genetic variability did not respond to historical differences between populations, but to local adaptation to environment. For instance, European oaks do not show any association between genetic divergence connected to colonization events and those associated with local selection pressures (Kremer *et al.*, 2002). Therefore, it is important to consider different scales, which can include local adaptation traits to environment and reveal the colonization history of populations. Several factors regulate population genetic structure in natural landscapes and also provide insights into the complex interactions between the environment and the genome that influence the distribution of species, and mediate phenotypic adaptation to local conditions (Bragg, Megan, Andrew, & Justin, 2015; Orsini *et al.*, 2013).

Local genetic variability Tall and scrub populations of *R. mangle* showed significant genetic differences that could be caused by their contrasting environments within a site (Table 1). These environmental differences could represent a reproductive barrier, because of the influence of salinity and nutrient availability on autogamy rate, flowering season, fruit

CAPÍTULO II

Table 5 Genetic diversity estimators for sites/populations sampled of *Rhizophora mangle* in the Yucatan Peninsula \pm 95% confidence intervals (N_a : Allelic richness; H_E : expected heterozygosity; H_o : observed heterozygosity; F_{IS} : Inbreeding coefficient; Type of mangroves: Tall, T and Scrub, S).

Region	Site	Physiognomic type of mangrove	N_a	H_E	H_o	F_{IS}
Gulf of Mexico			2.38 \pm 0.05	0.37 \pm 0.01	0.23 \pm 0.12	0.35 \pm 0.02
	Celestún		2.67 \pm 0.14	0.39 \pm 0.04	0.19 \pm 0.04	0.48 \pm 0.05
		T	2.44 \pm 0.15	0.41 \pm 0.04	0.24 \pm 0.04	0.38 \pm 0.08
		S	2.22 \pm 0.02	0.31 \pm 0.06	0.14 \pm 0.04	0.48 \pm 0.08
	Progreso		2.25 \pm 0.16	0.38 \pm 0.04	0.25 \pm 0.03	0.29 \pm 0.08
		T	2.33 \pm 0.20	0.35 \pm 0.04	0.22 \pm 0.02	0.27 \pm 0.05
		S	2.22 \pm 0.17	0.38 \pm 0.04	0.28 \pm 0.06	0.26 \pm 0.10
	Rio Lagartos		3.00 \pm 0.19	0.41 \pm 0.03	0.25 \pm 0.02	0.37 \pm 0.04
		T	2.77 \pm 0.22	0.46 \pm 0.04	0.32 \pm 0.04	0.29 \pm 0.06
		S	2.33 \pm 0.17	0.33 \pm 0.04	0.18 \pm 0.04	0.42 \pm 0.11
	Totals	T	2.52 \pm 0.08	0.40 \pm 0.02	0.26 \pm 0.02	0.32 \pm 0.02
		S	2.26 \pm 0.02	0.34 \pm 0.01	0.20 \pm 0.03	0.39 \pm 0.04
Caribbean Sea			2.49 \pm 0.08	0.37 \pm 0.01	0.31 \pm 0.01	0.19 \pm 0.02
	Mahahual	S	2.00 \pm 0.08	0.35 \pm 0.03	0.29 \pm 0.04	0.25 \pm 0.06
	Nichupté		3.00 \pm 0.18	0.42 \pm 0.03	0.33 \pm 0.03	0.25 \pm 0.04
		T	2.44 \pm 0.18	0.38 \pm 0.03	0.36 \pm 0.03	0.06 \pm 0.02
		S	2.77 \pm 0.20	0.39 \pm 0.03	0.30 \pm 0.03	0.19 \pm 0.04
	Puerto Morelos	S	2.66 \pm 0.20	0.37 \pm 0.03	0.31 \pm 0.04	0.29 \pm 0.06
	Sian Ka'an		2.36 \pm 0.14	0.42 \pm 0.03	0.29 \pm 0.03	0.29 \pm 0.03
		T	1.89 \pm 0.15	0.31 \pm 0.02	0.26 \pm 0.01	0.09 \pm 0.03
		1	2.77 \pm 0.25	0.43 \pm 0.03	0.33 \pm 0.03	0.22 \pm 0.05
		2	2.44 \pm 0.23	0.39 \pm 0.04	0.28 \pm 0.03	0.26 \pm 0.05
	Totals	T	2.17 \pm 0.18	0.34 \pm 0.02	0.31 \pm 0.03	0.08 \pm 0.01
		S	2.53 \pm 0.09	0.39 \pm 0.11	0.30 \pm 0.01	0.24 \pm 0.01
Yucatan Peninsula			2.41 \pm 0.02	0.37 \pm 0.003	0.27 \pm 0.003	0.26 \pm 0.01

production and ripening, and size of propagules (Coupland, Paling, & McGuiness, 2006; Klekowski, Lowenfeld, & Hepler, 1994; Lowenfeld & Klekowski, 1992; Proffit & Travis, 2010; Sánchez-Núñez & Mancera-Pineda, 2011). Thus, the genetic distance between tall and scrub populations within a site could be explained, in part, for the high autogamy rate characteristic of the species and also to an asynchronous phenology between adjacent populations that interrupts gene flow (Sánchez-Núñez & Mancera-Pineda, 2011). On the other hand, the intricate root system of *R. mangle*, especially in the scrub mangrove, represents a physical barrier for propagules dispersion (Tonné, Beeckman, Robert, & Koedam, 2017; Van der Stocken & Menemenlis, 2017; Van der Stocken *et al.*, 2015). This suggests that scrub populations have more limited dispersion, which promotes genetic differentiation within a site (Table 4). Also, in scrub mangroves, the smaller size of propagules indicates fewer stored reserves, growth rate and resistance to wind and wave force that could produce a negative selection against them (Boizard & Mitchell, 2011; Dissanayake *et al.*, 2014; Farnsworth & Ellison, 1996; Huxham *et al.*, 2010; Lin & Sternberg, 1995; Nosil, Vines, & Funk, 2005; Proffit & Travis, 2010; Tomlinson, 1986).

The environmental and ecological differences between tall and scrub mangroves, which coexist at short distances, could be generating breeding barriers that limit the genetic flow between them and promoting a greater genetic differentiation even more than among sites (Tables 2 and 4). The higher F_{IS} found in the scrub than in the tall mangrove populations in the Caribbean Sea indicate that the autogamous nature of the *R. mangle* has accentuated the differences between populations at local scale by genetic drift. The main adaptive advantage of gene drift, despite the low diversity associated with inbreeding, denotes reproductive safety and adaptation to a particular niche (Loveless & Hamrick, 1984). Genetic differentiation is a consequence of the combined effects of natural selection and gene drift, which could fix certain genotypes linked to environmental variables that result in greater adequacy, and whose effect is counteracted with the gene flow (Bragg *et al.*, 2015; De Kort *et al.*, 2014). Although this work was performed with neutral markers, natural selection at a locus can affect the frequency of alleles in the loci attached to them due to the hitch-hiking effect (Smith & Haigh, 1974). Moreover, the morphological plasticity responds to environmental variables, but it may also be under genetic control and respond to pressures of natural selection; thus, genotypes with greater morphological and functional plasticity will

be more advantageous in wide environmental ranges (Crispo, 2008; Gianoli, 2004).

The genetic variability at local scale driven by environmental variables has also been reported before for other species (DeWoody *et al.*, 2015; Mosca, González-Martínez, & Neale, 2014; Parisod & Christin, 2008). For mangrove species, genetic differences for *Avicennia* species between populations at a fine scale have been found using RAPDs markers and microsatellites (Dahdouh-Guebas *et al.*, 2004; Mori, Zucchi, & Souza, 2015). Lira-Medeiros *et al.* (2010) reported epigenetic differences in morphologically contrasting populations (1.9–7.5 m) of *Laguncularia racemosa*. Also, genetic differences using AFLP markers were reported among salt marsh and riverside *A. schaueriana* (Lira-Medeiros, Cardoso, Fernandes, & Gomes-Ferreira, 2015). Nevertheless, to date, no studies have considered the physiognomic type of *R. mangle* mangrove, environmental variables, or ecological characteristics of our study. Generally, the majority of population genetic studies focus on the classic pattern of isolation by distance, and studies on mangroves are not the exception; however, the idea that adaptive responses to divergent natural selection may impact genomewide population structure has gained momentum and needs to be considered in future studies (Nosil *et al.*, 2009; Orsini *et al.*, 2013).

The genetic structure of *R. mangle*, observed at local scale in the Yucatan Peninsula, suggests that each site is probably composed of demes, where the ecological limits could be generating reproductive barriers. In continuous populations, recurrent processes, such as gene flow, genetic drift, and selection, act in concert to shape the genetic structure (Latta, 2003; Lenormand, 2002). Fine-scale genetic differentiation has often been reported in other plant populations, mammals, fishes, and insects (DeWoody *et al.*, 2015; Fruet *et al.*, 2017; Nosil, 2007; Vekemans & Hardy, 2004), even under substantial gene flow, suggesting that strong selective pressure promotes local adaptation at small scale in heterogeneous landscapes (Linhart & Grant, 1996; Parisod & Christin, 2008).

The two different types of *R. mangle* considered in our study could probably allow us to find a greater genetic structure in the Yucatan Peninsula in comparison with the reported studies that include a greater number of populations distributed in larger geographic areas (Cerón-Souza *et al.*, 2015; Sandoval-Castro *et al.*, 2014). Also, our study showed higher levels of genetic diversity in the Yucatan Peninsula using fewer individuals by population than other studies; so, we suggest that sampling should consider ecological differences between

populations or fine genetic structure within a site (Dahdouh-Guebas *et al.*, 2004; Mori *et al.*, 2015). This approach is important for conservation strategies, for adaptation to future potential environmental changes, and to elucidate the possible natural divergent selection that can be acting in populations with contrasting morphologies at local scales. This would help to the understanding of the processes involved in adaptive selection, and also to distinguish the related environmental variables (Arnaud- Haond *et al.*, 2006; Garnier-Géré & Ades, 2001). Further studies need to explore morphological characteristics as adaptive, heritable characters and those that are the result of phenotypic plasticity. This research opens the door to a more comprehensive analysis of ecological considerations in the study of mangrove genetic variability.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Juan Pablo Caamal and Abelardo Jimenez for help in the laboratory and in the field; to the Primary Production Laboratory of the Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-Mérida for help in the phosphorus analysis; and to Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas for authorization for sampling in the studied sites. We also appreciate the help of Mr. Ted Killas for English editing. The authors would also like to thank Gustavo M. Mori and an anonymous reviewer for providing comments to improve the manuscript. This research was supported by the grant no.112-IJ-11242306-059 from USFS to JLA. D.J.C.delaC. was the recipient of a Ph. D. fellowship by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (number 486090).

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

D.J.C.delaC., J.M.C., J.H.S., and J.L.A. conceived and designed the study; D.J.C.delaC., M.O.G., and R.U.S. collected the data; D.J.C.delaC., L.Y.E., and J.M.C. analyzed the data; D.J.C.delaC, J.M.C., and J.L.A. wrote the text; all authors provided editorial advice and approved the final version.

DATA ACCESSIBILITY

Morphological and environmental data and microsatellite genotypes are available at <https://doi.org/10.5061/dryad.1578ks0>.

CAPÍTULO III**ESTRATEGIAS ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS DE PLÁNTULAS DE
Rhizophora mangle L. DURANTE SU ESTABLECIMIENTO****INTRODUCCIÓN.**

El establecimiento de las plántulas es crítico en el ciclo de vida de todas las plantas, pero es particularmente difícil para las especies de manglar debido al suelo inestable, la inundación y la salinidad, entre otras variables en las que se desarrolla (Rabinowitz, 1978; López-Hoffman *et al.*, 2007). Una de las muchas estrategias que les permite establecerse en dichas condiciones es la viviparidad; que se refiere a la germinación de las semillas mientras aún están unidas al árbol madre (Tomlinson, 2016; Tomlinson y Cox, 2000). En el caso de *Rhizophora mangle* L., desarrolla un propágulo que sirve como unidad dispersora hidrócora, así como reservorio de carbohidratos y agua durante el establecimiento de las plántulas (Robert *et al.*, 2015; Lechthaler *et al.*, 2016; Tonné *et al.*, 2016). Incluso, se ha sugerido que el propágulo se pre adapta a la salinidad del sitio durante su desarrollo en la planta madre (Farnsworth y Ellison, 1996; Tomlinson y Cox, 2000). Sin embargo, se ha observado que las plántulas pueden crecer con éxito sin diferencias significativas en salinidades diferentes a las de la planta madre (Smith y Snedaker, 1995).

Al caer el propágulo y establecerse, sus reservas, obtenidas durante el desarrollo en la planta madre le otorgan a la plántula una etapa de amortiguamiento a la variabilidad ambiental (Ball, 2002; López-Hoffman *et al.*, 2007; Dissayanake *et al.*, 2014). Se ha sugerido que las estrategias fisiológicas de las plántulas no se reflejan hasta después del primer año de vida (Rabinowitz, 1978; Cisneros-de la Cruz, 2014). Sin embargo, se ha observado que las reservas son usadas diferencialmente de acuerdo con las condiciones ambientales en las que se desarrolla la plántula (Smith y Snedaker, 2000; Ball, 2002). Una vez que las reservas se han agotado, es indispensable que los propágulos hayan desarrollado estrategias funcionales y anatómicas que les permitan crecer en las condiciones en las que se encuentren (Smith y Lee, 1999; Oste, 2011; Cisneros-de la Cruz, 2014). No obstante, no hay información suficiente sobre la transición entre el uso de reservas de propágulo y la independencia funcional de la plántula (Smith y Snedaker, 2000;

Ball, 2002) y hasta ahora sólo un estudio ha cuantificado los cambios de almidón durante esta etapa (Dissanayanke *et al.*, 2014). La mayoría de los estudios se centran más bien en la supervivencia y el análisis de las respuestas fisiológicas y no en los cambios temporales de estas durante su establecimiento (Farnsworth y Ellison, 1996; Krauss y Allen, 2003; López-Hoffman *et al.*, 2006).

Por lo anterior, se plantearon las siguientes preguntas: ¿Cómo varían la conductividad hidráulica, los caracteres anatómicos del xilema, la asimilación de CO₂ y la tasa relativa de crecimiento de *R. mangle* en tres estadios durante su establecimiento bajo diferentes condiciones de salinidad, luz y nutrientes? y ¿Existe algún punto crítico durante el establecimiento de *R. mangle* para el desarrollo de estrategias fisiológicas y anatómicas con respecto a las condiciones ambientales particulares en las que crecen? Se eligieron la salinidad, la luz y la disponibilidad de fósforo como variables ambientales, dada la fuerte relación que se ha reportado entre estas variables con la zonación y diferenciación fisionómica en los bosques de manglar (Ball, 2002; López-Hoffman *et al.*, 2006, 2007; Lovelock *et al.*, 2006). Esperamos que las estrategias fisiológicas y anatómicas de *R. mangle* durante los primeros meses no muestren diferencias significativas dada la dependencia a las reservas del propágulo. Sin embargo, una vez que las reservas del propágulo se han agotado, las estrategias mostrarán diferencias significativas entre los tratamientos; a mayor salinidad y menor disponibilidad de luz y fósforo, se espera una menor tasa relativa de crecimiento con un sistema de conducción hídrico más seguro a costa de una menor tasa de fotosíntesis; mientras que a menor salinidad y mayor disponibilidad de luz y fósforo se espera una mayor tasa de crecimiento con un sistema de conducción más seguro y mayor tasa de fotosíntesis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El sitio de colecta fue en la Reserva de la Biosfera Ría Celestún, en manglar tipo franja con árboles de 16.3 ± 4.8 m de altura (Cisneros-de la Cruz *et al.*, 2018). El 13 de noviembre del 2016 se recorrió un transecto de aproximadamente 100 metros paralelos a la costa y se colectaron aproximadamente 450 propágulos de *R. mangle*. Se seleccionaron propágulos maduros, que mostrarán la coloración marrón en la zona de la radícula, se consideraron aquellos que no presentaban daños aparentes, señales de herbívora y sin raíces

desarrolladas. Los propágulos se transportaron en una tina con agua hasta el laboratorio en donde se eliminaron los que se hundieron. Se seleccionaron propágulos con un largo de 17 ± 2.5 cm para garantizar que las respuestas fisiológicas y anatómicas no fueran efecto de la diferencia en el tamaño (medida indirecta de las reservas) del propágulo (Lin y Stenberg, 1995; Krauss y Allen, 2003). Un total de 360 propágulos se lavaron y se sembraron el 21 de noviembre del 2016 en bolsas individuales para vivero, en un sustrato 1:1 de arena sílice y perlita. Los tratamientos se aplicaron en bloques con 10 propágulos cada uno, con tres réplicas ($n = 30$). Las bolsas de siembra con los propágulos se colocaron en 12 cajas divididas en tres bloques independientes entre sí. Los tratamientos se dividieron aleatoriamente en los bloques de las cajas (Tabla 1).

Tratamientos

El diseño del experimento en el invernadero fue factorial, con tres niveles de salinidad (0, 15, 35 ppm), dos de fósforo (Na_2HPO_4 2 mM, Na_2HPO_4 0.2 mM) y dos niveles de luz (100 %, sin malla y 50 % de apertura de malla), con 12 tratamientos en total. Se colocaron 12 cajas con 36 bloques, divididas en dos cámaras, 6 cajas en cada una. Cada cámara fue acondicionada con diferentes condiciones de luz: 1- exposición a la luz al 100 % y 2- luz del invernadero al 50 %; para este fin, la cámara se cubrió completamente con malla sombra de 50 % de abertura. Sin embargo, es importante mencionar que el invernadero filtra aproximadamente el 50 - 60 % de la luz que proviene del exterior, por lo que el porcentaje de luz en las cámaras con respecto a la luz exterior fue de ~50 y ~25 % respectivamente. La cámara con el 100 % de luz recibió un promedio de 8.13 mol/día con un máximo promedio de $351.89 \pm 170.35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un déficit de presión de vapor máximo ($\text{DPV}_{\text{máx}}$) de 1.83 KPa y la cámara con la malla sombra de 50 % recibía 3.1 mol/día y un máximo promedio de $154.03 \pm 41.79 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un $\text{DPV}_{\text{máx}}$ de 1.44 KPa. La temperatura promedio de ambas cámaras fue de 25°C con una humedad relativa de 68.3 y 70.83 %. El microambiente de las cámaras fue monitoreado durante el experimento con sensores de flujo fotónico fotosintético (FFF, Luz visible; $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) provisto de un sensor cuántico (Photosynthetic Light PAR, Smart Sensor, S-LIA-M003, Onset, EEUU), la temperatura del aire y la humedad relativa con un sensor (Temp Smart Sensor, S-TMB-M003, Onset). Todas las variables se registraron simultáneamente cada 15 s y los valores promedios cada 10 min se almacenaron con un sistema de adquisición de datos (HOBO U30-NRC Weather

Station Starter Kit, Onset).

Para aplicar los tratamientos de salinidad y fósforo (P) se usó la solución de Hoagland y Arnon, (1950) modificada por Yates *et al.* (2002): (Ca (NO₃)₂ · 4H₂O 4 mM, MgSO₄ · 7H₂O 2 mM, KNO₃ 6 mM, H₃BO₃ 45 µM, MnSO₄ · H₂O 20 µM, CuSO₄ · 5H₂O 0.4 µM, ZnSO₄ · 7H₂O 0.7 µM, (NH₄)₂MO₇O₂₄ · 4H₂O 0.2 µM P sin deficiencia= Na₂HPO₄ 2 mM (P+); P con deficiencia= Na₂HPO₄ 0.2 mM (P-), para la salinidad se usó sal comercial. La concentración de salinidad fue verificada con un conductímetro portátil YSI Pro 2030 (YSI, Yellow Springs, USA). Cada quince días se adicionó agua para compensar el agua evaporada y ajustar la salinidad. Cada mes las cajas fueron limpiadas, la solución nutritiva sustituida por solución nueva y las cajas fueron rotadas para compensar los efectos de la incidencia de la luz en el invernadero.

Tabla 1. Tratamientos bajo los que se cultivarán plántulas de *Rhizophora mangle* durante 16 meses.

Variables		Salinidad(ppm)		
Fósforo	Na ₂ HPO ₄ 2 mM	0	15	30
	Na ₂ HPO ₄ 0.2 mM	0	15	30
Luz	100%	0	15	30
	50%	0	15	30

Mediciones fisiológicas y anatómicas:

Las mediciones se realizaron en tres estadios: Estadio 1 (E1), plántulas con el primer par de hojas completamente desarrolladas (enero del 2016); Estadio 2 (E2), plántulas de seis meses después de la expansión del primer par de hojas, cuando las plántulas tenían 8 meses de edad (julio del 2016) y Estadio 3 (E3), plántulas de 16 meses (marzo 2017). Para las mediciones no destructivas se eligieron al azar tres individuos por cada replica, para las mediciones destructivas se eligieron tres individuos por tratamiento al azar. *Variables fisiológicas:* Se evaluó la eficiencia fotosintética máxima pre- alba con un fluorómetro MINI-PAM (Heinz Walz GmbH). La asimilación de CO₂ (A_{max} , µmol CO₂ m⁻² s⁻¹) se midió con el CIRAS-2 (Portable Photosynthesis System, PP Systems U.S.A.), las mediciones se realizaron de 8 - 12 am con una fuente de luz LED integrada al equipo, con una saturación de luz visible de 1000 µmol m⁻² s⁻¹. Debido a problemas técnicos con el equipo no se pudieron realizar mediciones de A_{max} durante el E1. Para la medición del potencial hídrico foliar máximo y mínimo (ψ_{max} ; MPa), se colectó una hoja de cada individuo al medio día y

a pre-alba, las hojas se guardaron en papel aluminio a -4°C hasta su medición con un Dewpoint Potentiometer (WP4, Decagon Devices). Para la medición de la conductividad hidráulica máxima (K_h , $\text{Kg s}^{-1} \text{KPa}^{-1} \text{m}^{-1}$), los individuos seleccionados se colectaron pre-alba para minimizar los embolismos en el sistema hidráulico. Una vez en el laboratorio, se cortaron los tallos debajo del agua, por la base del epicótilo y antes de las hojas. En el corte realizado en la base del propágulo se quitó el córtex con cuidado de no cortar el tejido vascular para poder acoplar el equipo. La K_h se midió con un medidor de flujo (HCFM, Dynamax, Houston, TX, EEUU), de acuerdo al método descrito por Sperry *et al.* (1988). Se tuvo especial cuidado en guardar los tejidos que se cortaran del tallo para el acoplamiento del equipo, a fin de que estos puedan ser pesados posteriormente. Para cada muestra se midió el diámetro del xilema para calcular la conductividad hidráulica específica K_s . Una vez medida la K_h , se midió el área foliar con un Li- 3100 (Area meter, Li-Cor. Inc. EEUU), las hojas usadas para el Ψ_f fueron almacenadas para sumarse al área foliar del individuo.

Una vez que se realizaron todas las mediciones, los individuos muestreados se secaron a 60°C por siete días. Las plántulas se dividieron en: propágulo, raíces, tallo y hojas para su medición de peso seco en una balanza analítica. Una vez pesados, se tomaron muestras de la parte media del tallo y se conservaron en GAA (Glicerina-Alcohol-Agua) para su posterior procesamiento. Con los datos de área foliar y peso seco se calcularon: área foliar específica ($\text{AFE}=\text{AF}/\text{WF}$), razón de área foliar ($\text{RAF}=\text{AF}/\text{W}$) y tasa de crecimiento relativo ($\text{TCR}=\text{Ln}W_2-\text{Ln}W_1/T_2-T_1$). Dónde: WF = Peso Foliar; AF = Área Foliar; W = Peso total; W_2 =Peso total en tiempo 2; W_1 =Peso total en tiempo 1; T_2-T_1 =diferencia de tiempo en días. En el caso de la TCR se calculó para dos periodos: P1: E1-E2 y P2: E2-E3. Para calcular el uso de reservas del propágulo se usó como referencia su peso (Lin y Stenberg, 1995; Ball, 2002). A fin de disminuir las posibles diferencias dadas por diferencias en la longitud se usó la proporción del peso seco del propágulo/ longitud del propágulo ($P_{w/L}$, g/cm). Para cada tratamiento y estadio se calculó esta proporción con el peso seco del propágulo. Para establecer el peso cero (antes del cultivo) del propágulo se usaron los datos de Salas (2018, sin publicar) de 30 propágulos colectados en el mismo sitio de este trabajo.

Variables anatómicas: Las muestras de tallo guardadas en GAA se lavaron y fueron infiltradas en Polietilenglicol. Se cortaron en un micrótopo de deslizamiento y se tiñeron con safranina y verde rápido. Las preparaciones se montaron con resina sintética. Se

tomaron fotos en un microscopio Olympus CX31, con una cámara integrada Olympus U-CMAD3 con el programa Infinity Analyze Release ver. 5.0.2 software (Lumenera Corp., Canadá) y los caracteres anatómicos del sistema de conducción hidráulico se midieron con el programa *Image J* (National Institutes of Health, USA). Para cada carácter se seleccionaron tres campos de visión diferentes por individuo, en el caso de diámetro tangencial (DT) y radial del lumen (DR), grosor de pared (GP) se consideraron 10 elementos de vaso por cada campo; en total se midieron 30 por individuo. En E1 se seleccionaron cinco haces vasculares y se midió el DT, DR y GP en todos los vasos en cada haz. Para los E2 y E3, en cada campo de visión se calculó el número de vasos /mm² y el índice de agrupación (IA= No vasos/No. agrupaciones; Carlquist, 1988); un IA igual o cercano a uno indica mayoría de vasos solitarios. Adicional se calculó el área del lumen del vaso con la fórmula de un ovalo ($AL = \pi * (DT/2) * (DR/2)$).

Análisis estadístico

Para determinar las variables fisiológicas y anatómicas que aporten la mayor variación entre los estadios y tratamientos, se realizó un Análisis Discriminante Canónico (ADC) en XLSTAT v.7.5.2. (XLSTAT. Addinsoft, EEUU, 2007). Para las variables discriminantes resultantes, así como para la TCR, RAF, AFE y PP/LP se realizaron pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk y homocedasticidad de Levene. Cuando no se cumplieron los supuestos se transformaron por a Ln, $\sqrt{\quad}$ o 1^x . Una vez que cumplieron los supuestos se realizaron ANOVA's factoriales (Estadio X Luz X Salinidad X P), los análisis se realizaron en STATISTICA 7 (Tulsa, EEUU).

RESULTADOS

Variables fisiológicas y anatómicas

Fotosíntesis

Las plántulas mantuvieron una eficiencia fotosintética máxima de la clorofila (F_v/F_m) de ≈ 0.8 durante todo su desarrollo en todos los tratamientos (Tabla 2). No obstante, la asimilación máxima de CO₂ (A_{max}) mostró una tendencia a aumentar durante su desarrollo en las plántulas expuestas a mayor luz y a disminuir en las de menor luz. Así mismo, la A_{max} disminuyó en todos los estadios conforme aumentó la salinidad ($F = 96.78, p > 0.001$) y aumento a mayor disponibilidad de luz ($F = 17.29, p > 0.001$). La interacción entre estas

variables desempeña un factor importante en la A_{\max} de las plántulas durante su establecimiento ($F = 10.71$, $p > 0.001$; Tabla 3). La mayor A_{\max} se dio a 0ppm de salinidad y mayor disponibilidad de luz ($15.46 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$), mientras que la menor A_{\max} fue a mayor luz y salinidad ($1.5 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$; Fig. 1). El efecto del P sobre la A_{\max} es significativo solo cuando interactúa con la salinidad y el estadio de las plántulas (Tabla 3), se observó una tendencia a aumentar la A_{\max} en los tratamientos de mayor P a menor salinidad y mayor luz en el E3 (Fig. 1).

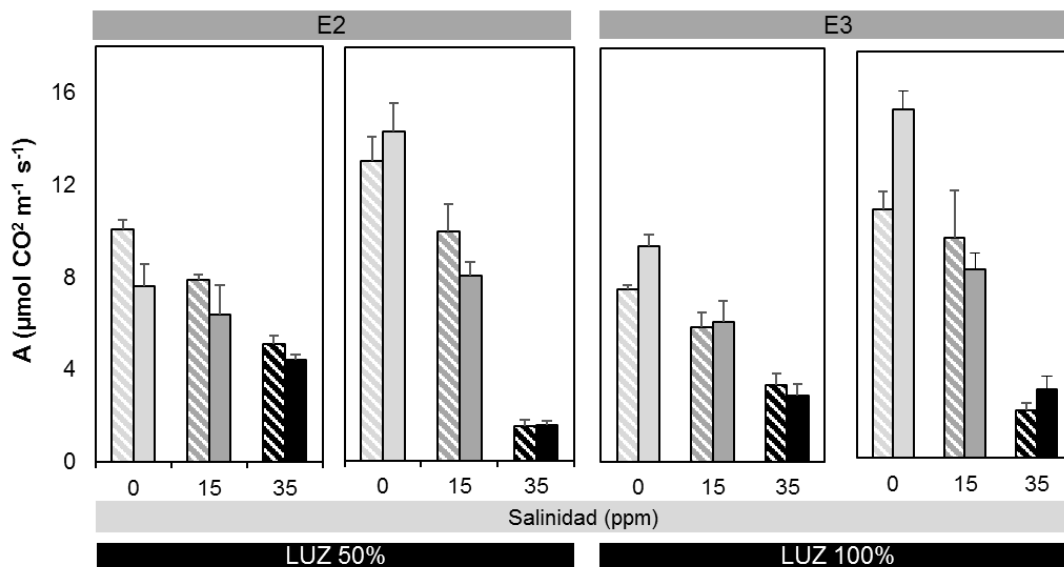


Fig. 1. Asimilación máxima de CO₂ ($FFF = 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) durante dos estadios en el establecimiento de *Rhizophora mangle*. Las barras con trama representan los tratamientos con P (-). Se observan los valores promedio \pm ES. ANOVA Factorial Tabla 3.

Relaciones hídricas: El potencial hídrico máximo (Ψ_{\max}) cambió significativamente a través del desarrollo de las plántulas durante los tres estadios evaluados ($F=87.93$, $p > 0.001$; Fig. 2, Tabla 3). Durante el E1 se observaron los valores de Ψ_{\max} más altos y a diferencia de otras variables, el Ψ_{\max} presentó desde este estadio una respuesta a la salinidad; con valores desde -1.3 a -2.85 MPa, con los valores más negativos a mayor salinidad y disponibilidad de luz. Durante su desarrollo al E2, el Ψ_{\max} de todas las plántulas disminuyó hasta -2.59 y -5.4 MPa a 0 y 35 ppm, respectivamente, a mayor disponibilidad de luz. En el E3, las plántulas, aunque mostraron una leve tendencia a aumentar el Ψ_{\max} no hubo diferencias significativas con respecto al E2, con valores entre -2.50 y -5.27 MPa. A

CAPÍTULO III

pesar de que no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de P, su interacción con la luz y la salinidad resulta significativo, con los valores más negativos a menor disponibilidad de P (Tabla 3; Fig. 2).

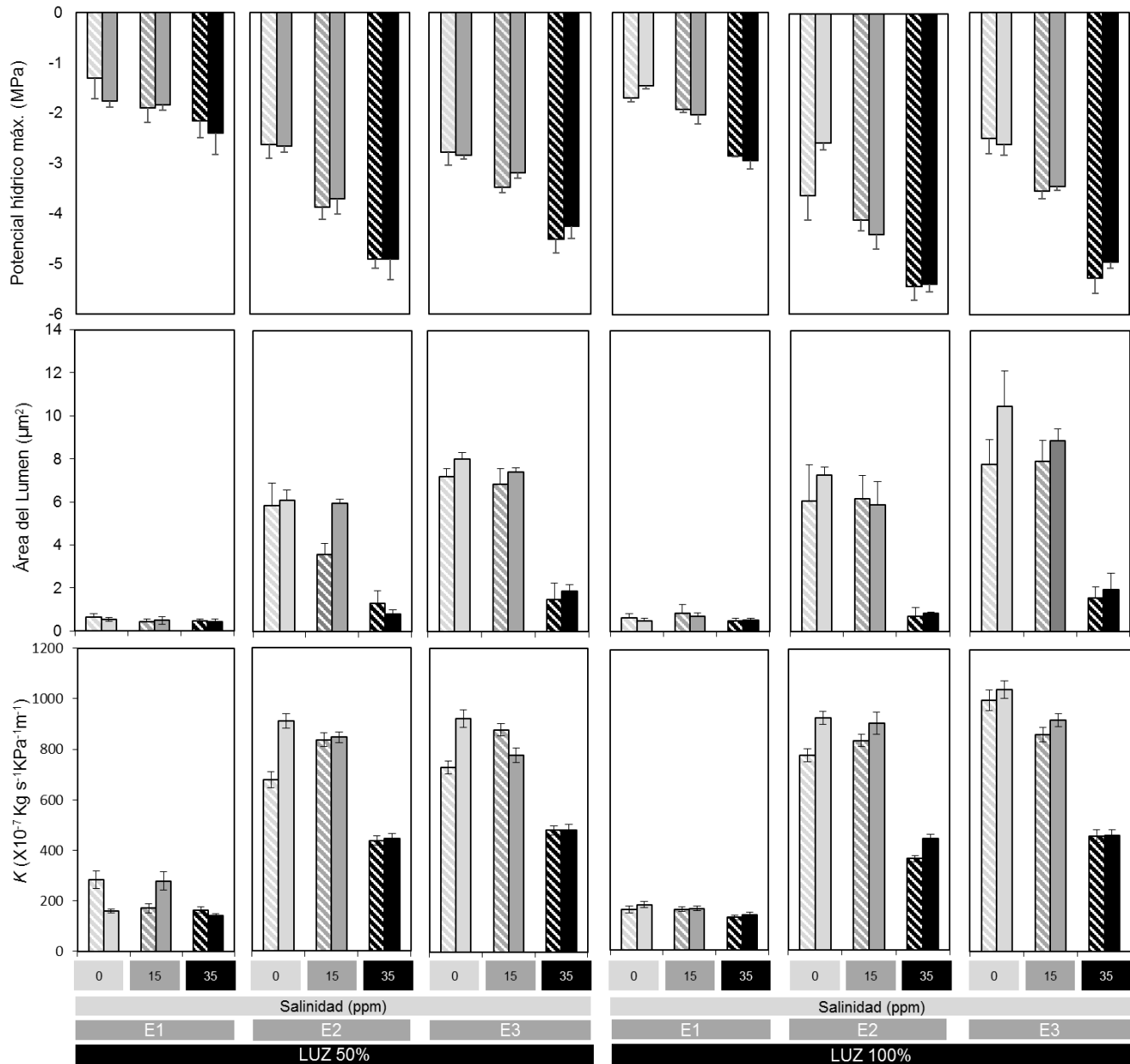


Fig. 2. Potencia hídrico máx., área del lumen de elementos de vaso y conductividad hidráulica de *R. mangle* durante su establecimiento en diferentes condiciones de luz, salinidad y disponibilidad de P. Los valores representan el promedio \pm ES. ANOVA Factorial Tabla 3.

Tabla 1-2. Eficiencia fotosintética máxima (Fv/Fm), conductividad hidráulica específica (K_s) y caracteres anatómicos del xilema de *R. mangle*. Promedio \pm ES

Luz	P	Sal(ppm)	E	Fv/Fm	K_s (Kg ^{s-1} MPa ⁻¹ m ⁻¹)	DT (μ m)	DR (μ m)	GP (μ m)	IA	V/mm ²
50%	(-)	0	1	0.83 \pm 0.001	0.919 \pm 0.22	17.02 \pm 2.3	19.56 \pm 3.7	4.16 \pm 1.0	-	-
			2	0.84 \pm 0.01	0.064 \pm 0.005	26.81 \pm 3.0	30.87 \pm 3.2	5.11 \pm 0.1	0.63 \pm 0.9	215.86 \pm 80.9
			3	0.86 \pm 0.002	0.090 \pm 0.007	27.35 \pm 2.0	33.29 \pm 2.0	5.45 \pm 0.3	0.70 \pm 0.04	133.21 \pm 16.6
		15	1	0.80 \pm 0.03	0.61 \pm 1.48	14.05 \pm 2.6	14.33 \pm 3.0	4.11 \pm 0.4	-	-
			2	0.83 \pm 0.02	0.045 \pm 0.006	30.59 \pm 1.2	34.34 \pm 1.1	5.01 \pm 0.5	0.69 \pm 0.03	123.73 \pm 22.7
			3	0.84 \pm 0.005	0.055 \pm 0.004	30.68 \pm 0.6	36.10 \pm 0.5	4.82 \pm 0.2	0.70 \pm 0.05	111.34 \pm 10.42
		35	1	0.80 \pm 0.24	0.899 \pm 0.28	13.76 \pm 0.5	14.79 \pm 1.1	4.58 \pm 0.2	-	-
			2	0.86 \pm 0.01	0.026 \pm 0.007	21.63 \pm 1.4	25.19 \pm 3.4	4.54 \pm 0.2	0.52 \pm 0.05	341.01 \pm 88.57
			3	0.86 \pm 0.013	0.036 \pm 0.008	23.02 \pm 0.7	26.06 \pm 1.6	4.74 \pm 0.2	0.58 \pm 0.01	181.44 \pm 18.94
	(+))	0	1	0.83 \pm 0.008	0.766 \pm 0.12	14.89 \pm 0.5	13.63 \pm 1.2	3.70 \pm 1.0	-	-
			2	0.85 \pm 0.014	0.043 \pm 0.02	30.91 \pm 1.7	37.03 \pm 2.0	4.53 \pm 0.6	0.66 \pm 0.12	155.42 \pm 47.6
			3	0.87 \pm 0.003	0.057 \pm 0.001	31.75 \pm 1.7	36.18 \pm 1.7	5.05 \pm 0.6	0.63 \pm 0.05	95.54 \pm 13.81
		15	1	0.83 \pm 0.009	0.737 \pm 0.23	17.97 \pm 2.2	18.49 \pm 2.3	4.04 \pm 1	-	-
			2	0.85 \pm 0.017	0.070 \pm 0.006	32.11 \pm 0.5	33.37 \pm 1.2	4.60 \pm 0.2	0.51 \pm 0.03	161.25 \pm 22.8
			3	0.85 \pm 0.005	0.091 \pm 0.025	29.38 \pm 1.4	32.92 \pm 2.3	5.01 \pm 0.2	0.75 \pm 0.04	114.37 \pm 23.4
35		1	0.84 \pm 0.002	0.830 \pm 0.086	13.39 \pm 0.7	13.37 \pm 0.1	3.74 \pm 0.6	-	-	
		2	0.84 \pm 0.012	0.013 \pm 0.002	22.10 \pm 2.2	24.81 \pm 2.1	5.02 \pm 0.3	0.55 \pm 0.03	208.93 \pm 24.5	
		3	0.84 \pm 0.011	0.018 \pm 0.001	22.34 \pm 1.5	26.51 \pm 2.1	5.34 \pm 0.03	0.69 \pm 0.04	148.10 \pm 21.8	
100%	(-)	0	1	0.82 \pm 0.005	1.016 \pm 0.288	10.34 \pm 4.3	10.20 \pm 4.0	2.41 \pm 1.7	-	-
			2	0.81 \pm 0.002	0.042 \pm 0.007	27.66 \pm 2.0	32.03 \pm 1.3	4.91 \pm 0.4	0.67 \pm 0.02	139.24 \pm 14.8
			3	0.84 \pm 0.010	0.033 \pm 0.006	36.26 \pm 1.3	42.60 \pm 2.1	5.44 \pm 0.4	0.73 \pm 0.06	75.5 \pm 3.6
		15	1	0.82 \pm 0.007	1.118 \pm 0.572	14.13 \pm 0.8	14.46 \pm 0.6	3.52 \pm 0.9	-	-
			2	0.83 \pm 0.016	0.053 \pm 0.011	28.85 \pm 1.9	31.05 \pm 3.8	4.95 \pm 0.6	0.54 \pm 0.09	178.33 \pm 30
			3	0.83 \pm 0.015	0.077 \pm 0.013	29.06 \pm 2.3	32.51 \pm 3.3	5.21 \pm 0.2	0.62 \pm 0.08	142.45 \pm 21.28
		35	1	0.84 \pm 0.005	0.92 \pm 0.223	12.42 \pm 1.2	13.17 \pm 0.7	4.39 \pm 0.7	-	-
			2	0.81 \pm 0.012	0.016 \pm 0.009	15.27 \pm 1.0	16.58 \pm 1.1	3.96 \pm 0.3	0.49 \pm 0.04	351.94 \pm 40.5
			3	0.80 \pm 0.014	0.036 \pm 0.008	15.18 \pm 0.8	16.75 \pm 1.2	4.15 \pm 0.6	0.55 \pm 0.03	183.64 \pm 24.6
	(+))	0	1	0.82 \pm 0.01	0.677 \pm 0.194	14.80 \pm 0.5	15.34 \pm 0.4	4.35 \pm 0.1	-	-
			2	0.83 \pm 0.018	0.038 \pm 0.011	29.75 \pm 1.2	39.14 \pm 0.4	4.63 \pm 1.0	0.72 \pm 0.06	119.07 \pm 19.9
			3	0.82 \pm 0.003	0.055 \pm 0.012	30.64 \pm 2.6	38.21 \pm 2.3	5.07 \pm 0.2	0.76 \pm 0.02	105.21 \pm 21
		15	1	0.82 \pm 0.005	0.849 \pm 0.162	14.09 \pm 1.5	14.82 \pm 0.9	4.53 \pm 0.2	-	-
			2	0.83 \pm 0.021	0.074 \pm 0.005	25.37 \pm 6.0	28.31 \pm 8.2	5.00 \pm 0.3	0.70 \pm 0.14	155.23 \pm 41.6
			3	0.81 \pm 0.013	0.091 \pm 0.005	26.31 \pm 0.9	30.74 \pm 0.6	5.07 \pm 0.4	0.66 \pm 0.6	177.30 \pm 33.7
35	1	0.84 \pm 0.006	1.045 \pm 0.102	13.47 \pm 0.8	12.97 \pm 0.8	4.28 \pm 0.5	-	-		
	2	0.78 \pm 0.043	0.015 \pm 0.002	25.10 \pm 1.3	29.51 \pm 0.8	4.60 \pm 0.2	0.53 \pm 0.06	280.47 \pm 24.2		
	3	0.84 \pm 0.005	0.042 \pm 0.002	22.07 \pm 2.9	25.33 \pm 3.4	4.77 \pm 0.6	0.61 \pm 0.02	188.34 \pm 41.1		

CAPÍTULO III

La conductividad hidráulica (K_h) no presentó diferencias significativas durante el E1, teniendo un valor promedio de $0.56 \pm 0.12 \times 10^{-7} \text{ Kg m}^{-1}\text{s}^{-1} \text{ KPa}^{-1}$ (Fig. 2). En el E2 la K_h aumentó significativamente hasta 14 veces para los tratamientos de 0 y 15 ppm de salinidad (6.34 ± 0.63 , $5.40 \pm 1.21 \times 10^{-7} \text{ Kg m}^{-1}\text{s}^{-1}\text{KPa}^{-1}$, respectivamente) mientras que para 35 ppm apenas aumentó el doble ($0.93 \pm 0.25 \text{ Kg m}^{-1}\text{s}^{-1}\text{KPa}^{-1}$; $F = 91$, $p > 0.001$). En el E3 la K_h continuó aumentando aproximadamente un 20% en todos los tratamientos. La luz fue significativa para la diferenciación de la K_h , especialmente en los tratamientos de 0 y 15 ppm, con los valores más altos de K_h a mayor disponibilidad de luz (Fig. 6); mientras que las plántulas en ambos tratamientos de luz que crecieron a 35 ppm presentaron los valores más bajos ($F = 8.27$, $p > 0.001$, Tabla 4). Por otra parte, la conductividad hidráulica específica (K_s) fue mayor durante el E1 en comparación con E2 y E3, sin una tendencia clara entre los tratamientos. No obstante, del estadio 2 al 3 se observa un aumento de K_s , así como una respuesta definida a la salinidad, las plántulas que crecieron a 35ppm obtuvieron los valores más bajos de K_s , mientras que los de 15 ppm a mayor luz presentaron los más altos. Además, se observó una tendencia a que K_s aumente con mayor disponibilidad de P (Tabla 2).

Anatomía: En el E 1 los vasos se encontraron dispuestos en haces vasculares, en grupos de 19.3 ± 4.5 vasos con diámetro tangencial y radial entre 10 - 25 μm y un área del lumen promedio de $178 \pm 76.7 \mu\text{m}^2$, sin diferencias entre los tratamientos (Tabla 3). Conforme se desarrollaron las plántulas se observó una relación alométrica en los caracteres anatómicos del xilema (Tabla 2; Fig. 2). En el E2 se observó un cilindro vascular bien desarrollado con una menor área en los tratamientos de mayor salinidad. A mayor salinidad y menor disponibilidad de P se observó un mayor número de vasos por mm^2 con un menor índice de agrupación (Tabla 2), lo que indica un menor porcentaje de vasos solitarios ($341 \pm 47.44 \text{ vasos/mm}^2$). Mientras que las plántulas que crecieron con mayor cantidad de luz y sin salinidad presentaron mayor índice de agrupación, por tanto un mayor porcentaje de vasos solitarios, con un área del lumen mayor ($918.37 \pm 10.45 \mu\text{m}^2$). En el E3, se observó un mayor desarrollo en el área del xilema en los tratamientos sin salinidad y con mayor luz, así como los vasos con mayor área del lumen ($1019.82 \pm 29.78 \mu\text{m}^2$) al contrario de las plántulas que crecieron a mayor salinidad, las cuales presentaron un cilindro vascular y vasos más pequeños (Tabla 2). En este estadio se observó una disminución del número de vasos/ mm^2 en todos los tratamientos, continuando el patrón de mayor número de vasos/ mm^2 a mayor salinidad.

Tabla 32. ANOVA´s factoriales de: A_{max} : Asimilación máxima de CO_2 ; Ψ_{max} : Potencial hídrico foliar máximo; K_h : Conductividad hidráulica; AL: Área del lumen del vaso de *R. mangle* en respuesta a la interacción de diferente salinidad, luz y disponibilidad de P durante su establecimiento.

Fuente de variación	gl	A_{max}	Ψ_{max}	K_h	AL
Sal	2	96.78***	39.92***	24.97***	23.28***
Luz	1	17.29***	5.03*	3.38	16.29***
P	1	1.41	0.30	0.60	15.07***
E	2	5.32*	87.93***	91.00***	67.86**
Sal*Luz	2	10.71***	0.40	0.05	4.75*
Sal*P	2	4.41*	0.60	4.55**	1.55***
Sal*E	4	1.12	1.05	7.14***	6.96**
Luz*P	1	0.08	3.12	0.19	6.99**
Luz*E	2	0.50	1.21	4.64**	4.62**
P*E	2	1.36	2.13	1.16	5.33
Sal*Luz*P	2	8.73**	3.32*	8.27***	0.06
Sal*Luz*E	4	5.05*	0.50	1.42	2.26
Sal*P*E	4	3.26*	0.74	0.86	0.69
Luz*P*E	2	4.34*	2.36	0.37	2.53
Sal*Luz*P*E	3	1.68	2.13	1.16	0.64

$p < 0.001$ ***, $p < 0.01$ **, $p < 0.05$ *

Tabla 43. ANOVA´s factoriales de la tasa relativa de crecimiento (TRC), área foliar (AF), área foliar específica (AFE), razón del área foliar (RAF) y proporción peso/longitud del propágulo de *R. mangle* en respuesta a la interacción de diferentes salinidades, luz y disponibilidad de P en tres estadios durante su establecimiento. ($p \leq 0.001$ ***, $p \leq 0.01$ **, $p \leq 0.05$ *)

Fuente de variación	gl	TRC	AF	AFE	RAF	$P_{W/L}$
Estadio	2	818.57***	997.96***	15.22***	14.07***	1.41
Salinidad	2	71.24***	66.98***	13.50***	8.19**	2.23
Luz	1	17.44***	15.88**	66.40***	53.55***	8.74**
P	1	3.45	2.41	1.07	0.49	0.71
Est*Sal	4	1.78	11.7***	1.32	1.85	1.53
Est*Luz	2	0.34	0.01	23.28***	19.81***	12.09***
Est*P	2	5.31*	0.95	0.76	0.66	1.56
Sal*Luz	2	2.02	0.87	3.97*	3.30*	28.06***
Sal*P	2	2.06	0.46	0.45	0.47	0.012
Luz*P	1	0.71	0.005	0.005	0.15	0.10
Est*Sal*Luz	4	0.15	1.41	0.22	0.30	2.76*
Est*Sal*P	4	3.33*	2.14	0.22	0.36	0.71
Est*Luz*P	2	0.57	0.11	0.17	0.17	0.55
Sal*Luz*P	2	0.73	1.53	0.46	0.39	0.19
Est*Sal*Luz*P	3	0.28	0.68	0.14	0.11	0.17

El área del lumen de los vasos presentó diferencias significativas dadas por el desarrollo de los vasos en los estadios ($F = 67.8, p > 0.01$) y en respuesta a la salinidad ($F = 23.28, p > 0.001$). Así mismo, fue la única variable que presentó diferencias debido a la disponibilidad de P, así como su interacción con la luz y la salinidad (Fig. 2; Tabla 3).

Crecimiento

Las plántulas de *R. mangle* presentaron tasas relativas de crecimiento (TRC) contrastantes entre los dos periodos de crecimiento evaluados ($F = 818.57, p > 0.0001$). Durante los primeros ocho meses, en el periodo 1 (P1: E1 - E2), las plántulas tuvieron un crecimiento rápido ($3.13 - 15.05 \text{ mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$); mientras que, en el segundo, de 9 - 16 meses (P2: E2 - E3), su crecimiento disminuyó drásticamente ($0.08-3.03 \text{ mg g}^{-1} \text{ día}^{-1}$; Fig. 1). Durante ambos periodos la TRC de las plántulas expuestas a 100% de luz tuvieron un mayor crecimiento de hasta un 56% más que las expuestas a menor cantidad de luz ($F = 17.44, p > 0.0001$). En ambos casos la TRC disminuyó significativamente conforme aumentó la salinidad ($F = 71.24, p > 0.0001$) y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de P (Tabla 3).

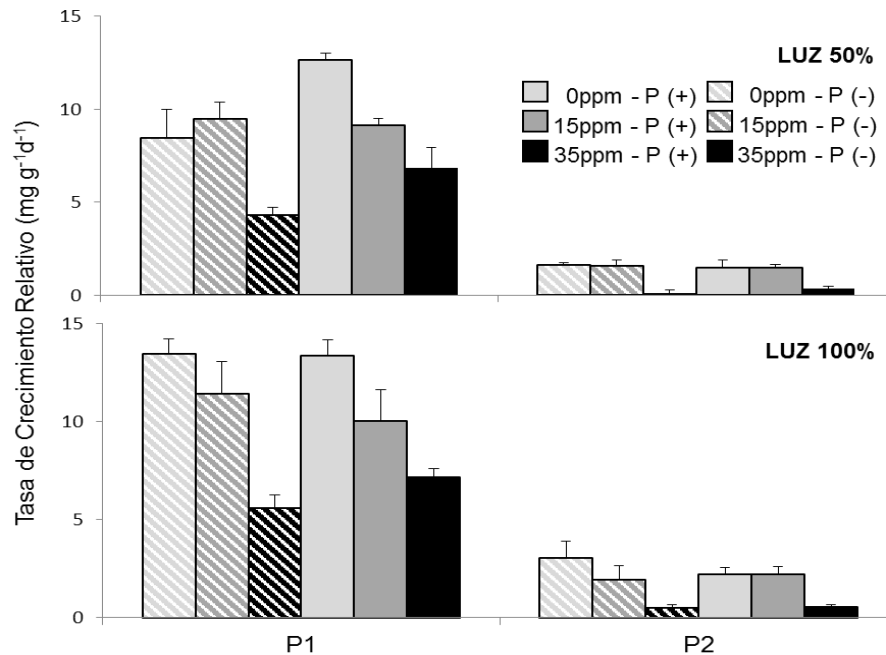


Fig. 3. Tasa relativa de crecimiento durante el establecimiento de *R. mangle* en dos periodos: donde P1; 2 - 8 meses y P2; 8 - 16 meses. Los valores representan el promedio \pm ES. ANOVA Factorial Tabla 4.

En el E1, no se observaron diferencias entre los tratamientos en el área foliar (AF), en el área foliar específica (AFE) y en la razón de área foliar (RAF; Fig. 4). Sin embargo, hacia el E2 y E3 hay, por una parte, un incremento alométrico que marca una diferencia significativa en el AF de todas las plántulas ($F = 997.96$, $p > 0.001$); por otra parte, a partir del E2 se observan diferencias significativas en los tratamientos de luz y la salinidad (Tabla 4). El AFE y la RAF aumentaron hasta el doble en las plántulas expuestas a mayor luz, con salinidades de 0 y 15 ppm, mientras que para 35 ppm aumentaron un 25 %. Al contrario, las plántulas expuestas a menor luz presentaron una disminución del AFE y la RAF en el E2 y E3 con los valores más bajos a mayor salinidad, sin diferencias significativas entre los tratamientos de fósforo (Fig. 4, Tabla 4).

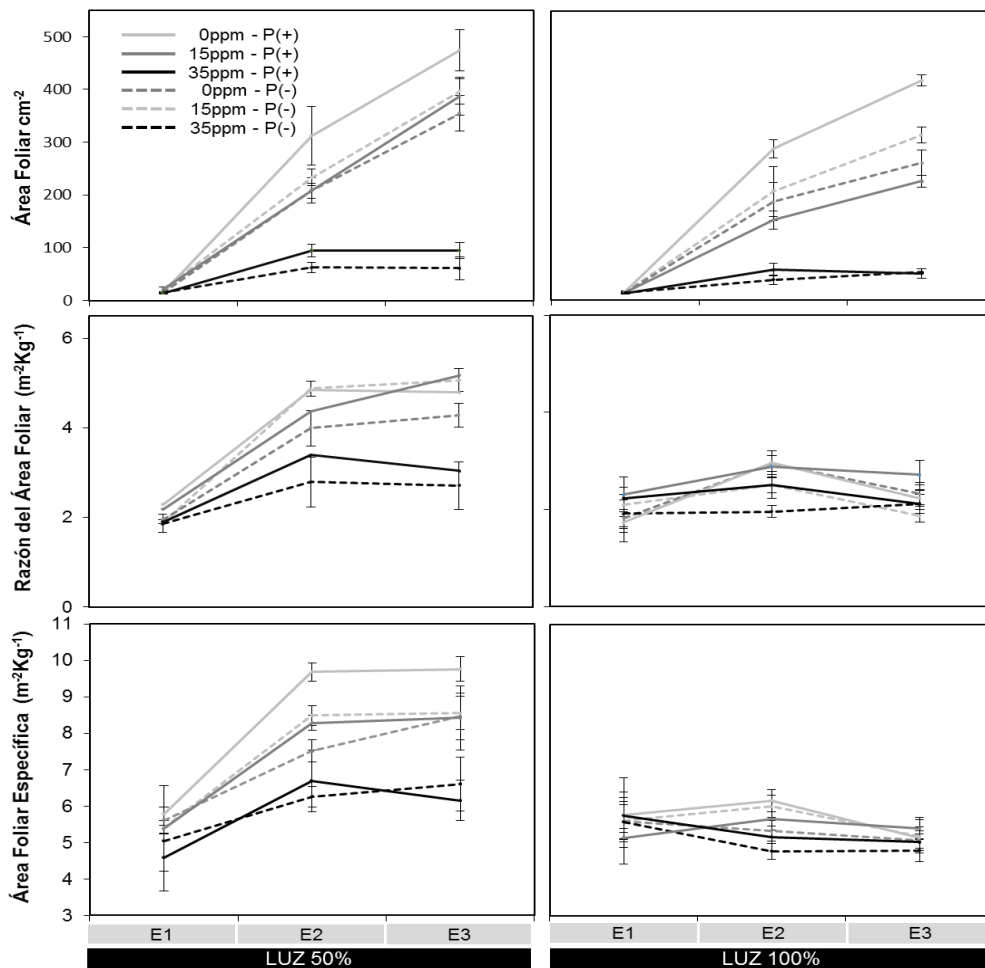


Fig. 4. Efecto de la salinidad, la luz y el P en el área foliar, área foliar específica y razón del área foliar durante el establecimiento de *R. mangle*. Promedio \pm ES. ANOVA factorial Tabla 4.

CAPÍTULO III

Por otra parte, el uso de reservas, interpretado de la relación entre el peso y la longitud de los propágulos ($P_{W/L}$), fueron contrastantes en respuesta a la interacción de la luz y la salinidad ($F = 28.06$, $p > 0.05$) a través de los diferentes estadios ($F = 12.09$, $p > 0.05$) del establecimiento (Fig. 5, Tabla 4). A mayor luz y salinidad, los propágulos disminuyeron su $P_{W/L}$ en promedio un 19.5 % en el E1, así mismo este disminuyó el doble de rápido a mayor salinidad que a 0 y 15 ppm. En cambio, hacia los estadios 2 y 3, el $P_{W/L}$ aumentó en promedio un 11 y 3 %, respectivamente, para todos los tratamientos de salinidad. En contraste, a menor luz, en el E1, la $P_{W/L}$ disminuyó un promedio de 16 %, siendo mayor a menor salinidad (0,15 ppm), mientras que a mayor salinidad no hubo diferencias significativas. Además, al contrario que en las plántulas con mayor luz, la $P_{W/L}$ a menor luz continuó disminuyendo en un 15.3 % al E2 y después un 5.4 % al E3 (Fig. 5).

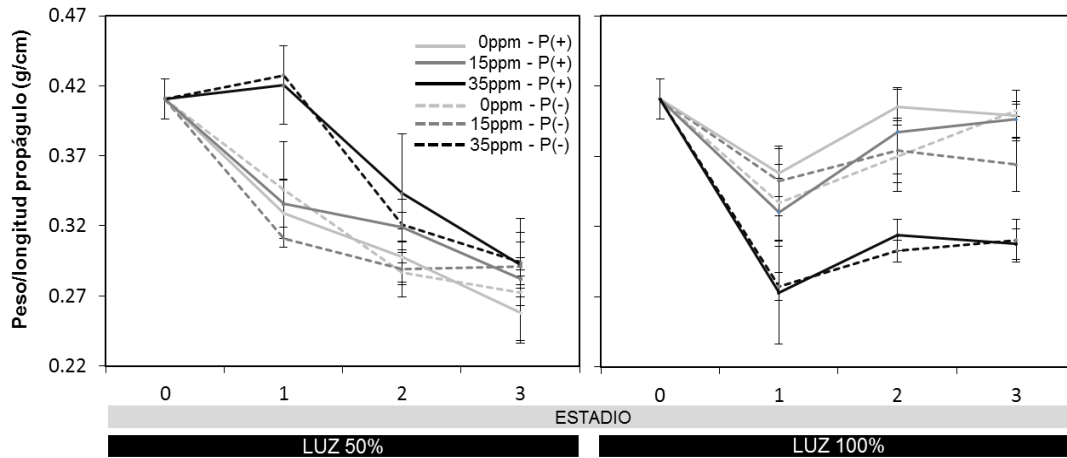


Fig. 5. Cambio en las reservas del propágulo en función a la proporción peso/longitud de los propágulos de *R. mangle* en respuesta a diferente salinidad, fósforo y luz durante su establecimiento. Valor promedio \pm ES. ANOVA Factorial ver tabla 4.

Análisis Discriminante Canónico

Las variables anatómicas y fisiológicas medidas explicaron un 69.7 % de la variación en el análisis discriminante canónico (ADC; λ Wilks = 0.002; $p < 0.038$). La primera función discriminante fue explicada por el Ψ_{\max} y A_{\max} (50.96 %); estas variables separan los tratamientos de acuerdo a la salinidad. La segunda función aporta el 18.7 % de la variación y está dada por el área del lumen de los vasos y la K_n , las cuales separa los tratamientos de acuerdo a la disponibilidad de luz (Fig. 6). En el ADC no se observa una variación entre

los tratamientos de P. Por otra parte, la variación de los tratamientos es evidente a partir del segundo estadio. Los ANOVA's factoriales realizados en las variables discriminantes confirmaron que la salinidad y el estadio son las variables que tienen mayor peso es en la diferenciación de los tratamientos (Tabla 3).

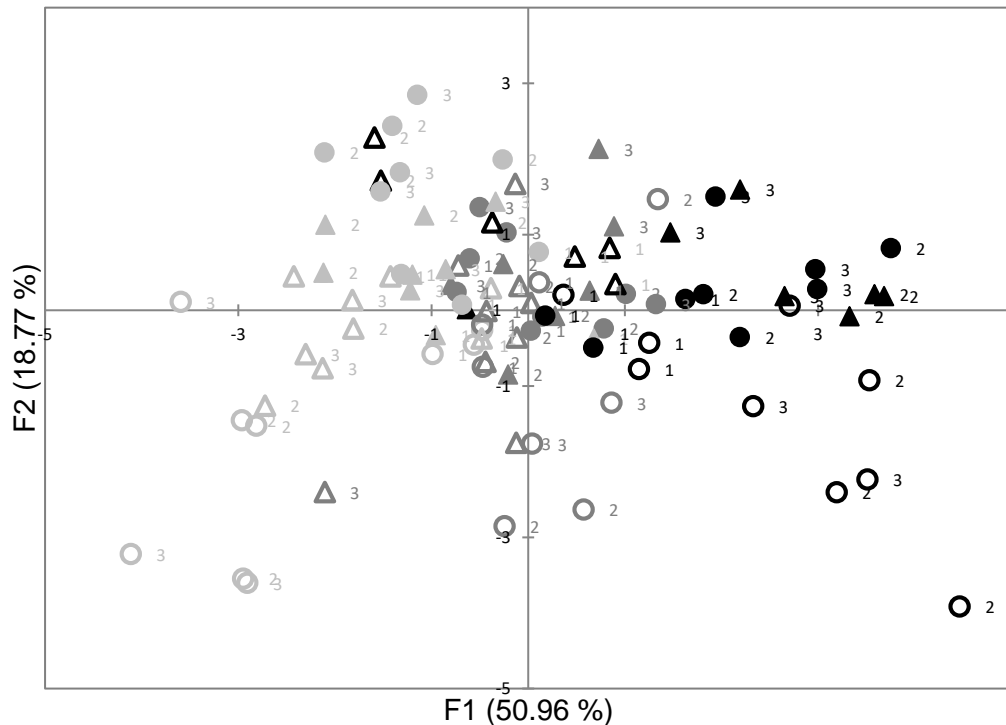


Fig. 6. Análisis discriminante canónico de variables fisiológicas y anatómicas de *R. mangle* de tres estadios de vida (1: 2 meses; 2: 8 meses; 3: 16 meses), bajo diferente salinidad (ppm: 0, gris claro; 15, gris oscuro; 35, negro), disponibilidad de P (+, círculos; -, triángulos) y disponibilidad de luz (+ círculos y triángulos abiertos; -, círculos y triángulos cerrados).

DISCUSIÓN

Establecimiento temprano. El crecimiento diferencial de *R. mangle* en los periodos evaluados está relacionado con el uso diferencial de las reservas del propágulo (Fig. 5). El primer periodo de crecimiento rápido es una de las estrategias que permite a *R. mangle* ser una especie colonizadora (Duke-Pinzón, 1992; Ellison y Farnsworth, 1993; Krauss *et al.*, 2008; Tomlinson, 2016). Este primer pulso de crecimiento ayuda a la planta al proceso de

erección, anclaje y al crecimiento de las primeras hojas, que permitirá a su vez obtener recursos suficientes para fortalecer el soporte de la planta y que sea menos vulnerable a las mareas y el viento (Boitzard y Mitchell, 2011). En esta primera fase hay una fuerte dependencia a las reservas de almidón y agua del propágulo, lo que explica la similitud en las respuestas fisiológicas y anatómicas (Farnsworth y Ellison, 1996; Smith y Snedaker, 2000; Dissayanake *et al.*, 2014; Lechthaler *et al.*, 2016). El propágulo juega un papel crítico en esta etapa, además de ser suministro de las reservas, es el soporte principal de la plántula (Menezes, 2006).

Una vez que las plántulas de *R. mangle* tienen su primer par de hojas, además de las reservas provenientes del propágulo, comienzan a adquirir sus propios recursos a través de la fotosíntesis (Lin y Sternberg, 1995), las hojas comienzan a recibir estímulos ambientales, lo que explica las diferencias observadas en el E2. Para este punto, las plántulas, aunque aún no presentan zancos, deben haber adquirido mayor resistencia mecánica contra la marea y el viento, sin embargo, aún son vulnerables a la variabilidad ambiental y su supervivencia aún depende de sus reservas (Ball, 2002; Boitzard y Mitchell, 2011). Durante esta fase de crecimiento, el uso de las reservas del propágulo ocurre de manera diferencial en respuesta al ambiente en el que se desarrolle.

Como se ha observado en otros trabajos (Smith y Snedaker, 2000; Ball, 2002), la luz es un factor determinante en el uso de las reservas del propágulo (Fig. 5). En este sentido, las plántulas que crecen con mayor disponibilidad de luz pueden hacer un mayor uso de las reservas, a la vez de una mayor asimilación de CO₂ como observó anteriormente Chen y Wang (2016). A pesar de que las plántulas con mayor luz y menor salinidad muestran una menor disminución de $P_{w/L}$ que las que están en sombra (Fig. 5), esto puede deberse a un punto de compensación entre el uso de reservas y la retroalimentación al propágulo por parte de la plántula (Ball, 1981). Así mismo, la interacción de la luz y la salinidad juegan un papel importante en el uso diferencial de los recursos (Tabla 4). Las plántulas con mayor disponibilidad de luz y menor salinidad tienen una mayor tasa de crecimiento por lo que disponen, durante el primer periodo de crecimiento, de una doble fuente de recursos, el propágulo y la fotosíntesis de las hojas, además no tienen como limitante la disponibilidad de agua (Fig. 2). Dissayanake *et al.* (2014) reportan que la mayor cantidad de almidón es consumida durante las primeras nueve semanas en *R. apiculata* y *R. mucronata*, después el almidón en *R. apiculata* disminuyó lentamente indicando que su baja capacidad fotosintética no era suficiente para su mantenimiento. En este trabajo observamos el mismo

comportamiento, a mayor salinidad las reservas son usadas lentamente hacia el primer estadio y continúan disminuyendo hasta el E3. Sin embargo, el uso de las reservas a mayor salinidad es contrastante de acuerdo con la luz, a mayor luz las reservas son usadas rápidamente durante los primeros meses, mientras que en menor luz las reservas son usadas lentamente hasta después de los seis meses (Fig. 5).

Por otra parte, se observó que el déficit hídrico dado por la salinidad podría ser uno de los principales estímulos que promueve la diferenciación de las plántulas desde el primer estadio. El potencial hídrico máximo fue la única variable que respondió a la salinidad desde el E1 con valores más negativos a mayor salinidad (Fig. 2). El déficit hídrico durante esta primera etapa es compensado con las reservas de agua del propágulo, lo que explica los valores más altos en el E1 comparados con el E2 y 3 (Lechthaler *et al.*, 2016). Se ha observado que propágulos del género *Kandelia* aumentan las concentraciones de Na⁺, K⁺ y Cl⁻ durante su establecimiento, a pesar de que atribuyen este aumento a una disminución del agua en el propágulo a mayor salinidad (Wang *et al.*, 2002). La mayor concentración de estos elementos podría ayudar a la regulación osmótica de la plántula.

Así mismo, Lechthaler *et al.* (2016) observaron que el agua del propágulo responde ante los cambios de salinidad y el déficit de presión de vapor durante el día. De tal manera el propágulo puede amortiguar el estrés hídrico, a la vez que se desarrolla un sistema hidráulico adecuado al medio. El desarrollo del sistema de conducción hidráulico en esta etapa es fundamental para el transporte de agua y por tanto para la supervivencia de las plántulas (Méndez-Alonzo *et al.*, 2016). En el E2, los caracteres anatómicos responden a los estímulos ambientales (Tabla 2); de tal manera, las plántulas que se han desarrollado a menor y nula salinidad (0 y 15 ppm) presentan caracteres anatómicos que responden a un sistema más eficiente; mientras que a mayor salinidad (35 ppm) se ha desarrollado un sistema más seguro contra la cavitación. Sin embargo, un sistema más seguro, con menor cantidad y vasos más pequeños se relaciona a su vez con una menor tasa de crecimiento y por consecuencia un sistema de conducción menos desarrollado (Sobrado, 2000).

La etapa de establecimiento temprana, durante los primeros seis - ocho meses, es crucial en el éxito de la supervivencia de las plántulas de *R. mangle*; después de los primeros 3 meses se ha observado una mayor mortalidad en plántulas (Rabinowitz, 1978; Ellison y Farnsworth, 1993; Ball, 2002). Sí las condiciones ambientales exigen el uso de más

reservas que la capacidad fotosintética de la plántula durante un tiempo prolongado, la plántula tendrá menor probabilidad de sobrevivir (Rabinowitz, 1978). Por lo que propágulos más grandes, con una mayor cantidad de reservas, otorgan a las plántulas mayor posibilidad de adecuarse a la variabilidad ambiental durante un mayor tiempo (Farnsworth *et al.*, 1995; Lin y Sternberg, 1995; Smith y Snedaker, 1995). No obstante, es importante que se realicen más estudios, con mediciones continuas durante los primeros seis meses, pues durante este tiempo ocurre la transición entre la dependencia total de las reservas a la etapa de independencia funcional de la plántula.

Establecimiento tardío

El segundo periodo de crecimiento, a partir de los 8 meses (E2 - E3) se caracterizó por un crecimiento más lento que corresponde a la disminución de las reservas disponibles y al inicio de la independencia funcional de las plántulas (Dissanayake *et al.*, 2014). Sin embargo, durante este periodo, las plántulas que crecen a menor luz se observa una disminución en $P_{W/L}$, mayor que el observado en plántulas a mayor luz lo que refleja una posible disminución de las reservas del propágulo y por tanto de su uso (Fig. 5). Este patrón fortalece la teoría de que la capacidad fotosintética influye en el uso diferencial de las reservas (Smith y Snedaker, 2000; Ball, 2002; Chen y Wang, 2016). Una menor tasa de crecimiento a menor luz y mayor salinidad relacionada con una menor razón del área foliar y A_{max} (Fig. 1) confieren a la plántula un proceso de independencia funcional más lento; y por lo tanto, más seguro al no agotar de inmediato las reservas y de esta forma presentan un mayor margen para responder ante cambios ambientales.

No obstante, sí estos cambios someten a las plántulas a una mayor demanda energética por un tiempo prolongado las reservas no serán suficientes para garantizar su supervivencia (Rabinowitz, 1978; Ball, 1981). Por otra parte, las plántulas que crecen a mayor luz con una mayor asimilación de carbono pueden desarrollar más rápidamente un sistema hídrico que les permita ser totalmente autosuficiente desde una edad temprana y prescindir de las reservas del propágulo. La mayor asimilación contribuye a su vez a la retroalimentación del hipocótilo para cambiar su función de un órgano de almacenamiento, al de tejido conductor y de soporte (Ball, 2002; Tonné *et al.*, 2016).

Es importante mencionar que después del E2, todas las plantas presentaron un cilindro vascular bien desarrollado. El sistema hidráulico requiere una inversión significativa de biomasa y proporciona una línea de suministro crítica para la función fotosintética de las

hojas; además, indica el grado en que la productividad está limitada por las propiedades del xilema (Melcher *et al.*, 2012). Con el tiempo, en el E3, la disminución en el número de vasos /mm² en todos los tratamientos se compensó por el incremento en el área de conducción, como lo observaron Tanné *et al.* (2016), así como el crecimiento alométrico de los vasos. Así mismo se continuaron definiendo estrategias hacia un sistema más seguro o eficiente reguladas principalmente por la salinidad (Tabla 2, 3). La mayor tasa de asimilación de CO₂ en las plántulas a 0 y 15 ppm de salinidad con mayor luz permitió un mayor desarrollo del sistema de conducción, que se reflejó en una mayor tasa de crecimiento en el segundo periodo (Fig. 3). A su vez, la salinidad reguló el potencial hídrico para mantener la diferencia de potencial que garantizara el flujo de agua en la planta (Sperry, 1988). Lechthaler *et al.*, (2016) reportaron que al aumentar el área foliar en las hojas de *R. mucronata* y *B. gymnorhiza*, estas representan un almacén de agua más importante incluso que el propágulo. Por tanto, en este estado, en el que las plantas han aumentado considerablemente su área foliar, las hojas podrían estar regulando el potencial hídrico en las plántulas, garantizando el flujo de agua. El área foliar contrastante entre los tratamientos de salinidad, otorgan a su vez una diferente capacidad de almacenar agua a las plántulas.

En condiciones naturales, la interacción de la salinidad y la luz juegan un papel importante en la colonización de claros, así como el reclutamiento debajo del dosel (Ellison y Farnsworth, 1993). Nuestros resultados concuerdan con otros trabajos en donde han observado que las plántulas tienen un mayor crecimiento en condiciones de mayor luz y menor salinidad, y que a mayor salinidad disminuye el crecimiento aún con mayor disponibilidad de luz (Ellison y Farnsworth, 1993; Farnsworth y Ellison, 1996; Krauss y Allen, 2003; López-Hoffman *et al.*, 2006, 2007). Lo que indica que la salinidad es un factor limitante aun cuando hay mayor disponibilidad de luz; y así el déficit hídrico causado por la salinidad es compensado con una menor transpiración y por tanto la asimilación de CO₂ y crecimiento (Cruziat *et al.*, 2002; Hubbard, 1999; Brodribb, 2000). En campo, las plántulas de *R. mangle* sembradas en zonas de alta salinidad con menor disponibilidad de luz, presentan mayor supervivencia a costa de un menor crecimiento, mientras que a mayor disponibilidad de luz se ha observado un mayor crecimiento y mayor supervivencia en la zona de menor salinidad (López-Hoffman *et al.*, 2006). La compensación entre el crecimiento y la supervivencia durante el establecimiento incide en la competencia intra e inter-específica, este

reclutamiento diferencial es parte crucial para definir los patrones de zonación (Clarke *et al.*, 2001).

Por otra parte, la deficiencia de P se ha asociado con la disminución del crecimiento de especies de manglar y por tanto, se le atribuye, en parte, la baja estatura de manglares del tipo chaparro (Feller *et al.*, 2003). Sin embargo, en el presente trabajo las plántulas no mostraron diferencias significativas por la deficiencia de P, a excepción del área del lumen de los vasos (Tabla 2). Esto concuerda con la relación encontrada entre la deficiencia de P y la conductividad hidráulica en *R. mangle* reportada por Lovelock *et al.* (2004, 2006). No obstante, sólo se observaron diferencias significativas en esta variable al interactuar con la salinidad, esto podría deberse a que la plántula aún está en desarrollo y el agua necesaria puede ser compensada aun por el propágulo o bien por las hojas (Feller, 1996; Lechthaler *et al.*, 2016). Así mismo, la mayor salinidad, al limitar el agua disponible limita también la adquisición de P, lo que explica la interacción entre estas variables (Mckee *et al.*, 2002; Cisneros- de la Cruz *et al.*, 2018). Sí bien los efectos de la deficiencia de P no resultaron significativos durante el primer año de vida de las plántulas, si podría tener un efecto acumulativo durante su desarrollo e incidir negativamente en la fotosíntesis, conductividad hidráulica y su crecimiento como se ha observado en diversos estudios (Feller *et al.*, 2003; Lin y Stenberg, 1992a; Lovelock *et al.*, 2006, Naidoo, 2006, 2010).

En esta segunda etapa de crecimiento, las plántulas aún pueden usar las reservas del propágulo, siempre y cuando no obtengan suficientes recursos a través de la fotosíntesis de las hojas. Por tanto, se podría considerar como un periodo de compensación entre el crecimiento de la plántula y su supervivencia, regulada en parte por el uso de las reservas; en respuesta a las condiciones ambientales. Así, las plantulas marcan una tendencia clara al desarrollo de estrategias funcionales de *R. mangle* para un aprovechamiento más eficiente de los recursos o más seguro (Farnsworth *et al.*, 1995; Farnsworth y Ellison, 1996; Cisneros-de la Cruz, 2014). En esta etapa, es relevante que la estructura del sistema de conducción hidráulica es más sensible a los estímulos del medio ambiente (Tabla 3). Mientras que las hojas responden a una plasticidad fisiológica en lapsos relativamente cortos de tiempo (Ball, 2002; Krauss y Allen, 2003; Lechthaler *et al.*, 2016), la estructura anatómica implica un proceso de adaptación más largo pues implica la formación de células nuevas que respondan a los estímulos ambientales, además de depender de los recursos disponibles para formarlas (Xiao *et al.*, 2009, 2010). Por tanto, en las zonas de menor luz y mayor salinidad, donde la adquisición de recursos es limitada, la formación de un sistema

de conducción más seguro es más lento, limitando a su vez el crecimiento de las plántulas; mientras que bajo condiciones de mayor luz y menor salinidad, el crecimiento y por tanto formación de un sistema vascular más eficiente ocurrirá más rápido debido a una mayor disponibilidad de recursos obtenidos a través de la fotosíntesis de sus hojas (Ball, 2002).

CONCLUSIONES

En el ambiente natural donde se desarrolla *R. mangle*, existe la interacción de otras variables no consideradas en este trabajo, como son: la inundación, el potencial redox la herbívora, entre otras. Sin embargo, la salinidad y la luz son variables críticas en el desarrollo de *R. mangle* y estudiarlas en condiciones controladas nos permiten tener un mejor entendimiento sobre los procesos que ocurren durante el establecimiento (Ball, 2002; López-Hoffman *et al.*, 2005; Twilley y Rivera-Monroy, 2005). La viviparidad y la versatilidad de los propágulos de *R. mangle* le permiten que sea una excelente colonizadora, así como también ser exitosa como planta de sucesión secundaria (Rabinowitz, 1978). Las diferentes fases durante su establecimiento le permiten adaptarse a una gran variabilidad ambiental y explican la amplia distribución del género *Rhizophora*. Las plántulas presentan estrategias fisiológicas definidas en respuesta al ambiente en el que se han desarrollado. Por esto, es indispensable considerar las condiciones iniciales de crecimiento para cualquier estudio y programa de restauración, en especial de reforestación, pues el cambio de un ambiente controlado a otro distinto podría afectar el establecimiento de las plántulas, como se ha visto en programas de reforestación no exitosos (Zaldivar-Jiménez *et al.*, 2010). Una mejor comprensión del establecimiento de *R. mangle* es fundamental para mejorar los planes de manejo, de restauración y de rehabilitación. Así mismo, entender la fisiología de la plántula durante su establecimiento permite crear modelos más exactos ante cambios ambientales por impactos antropogénicos o naturales.

CAPÍTULO IV

DESARROLLO ANATÓMICO DEL SISTEMA VASCULAR EN PLÁNTULAS DE *Rhizophora mangle* L. BAJO DIFERENTE SALINIDAD.

INTRODUCCIÓN

Rhizophora es el género dominante de la familia más ampliamente distribuida en el mundo, Rhizophoraceae (Ellison *et al.* 1999). Todos los taxa de este género están caracterizados por presentar propágulos vivíparos (Tomlinson, 2016); los cuales, en realidad, son una plántula germinada aún unida a la planta madre (Juncosa, 1982; Rabinowitz, 1978; Elmqvist y Cox, 1996). Estos propágulos son responsables, en parte, del éxito y abundancia de este género. Por una parte, son la unidad dispersora hidrocora por excelencia; sobreviven varios meses flotando en el agua y se desplazan grandes distancias a través de las corrientes marinas (Duke, 1992; Takayama *et al.*, 2013; Tonné *et al.*, 2017; Van der Stocker *et al.*, 2019). Por otra parte, el propágulo es un importante reservorio de almidón y agua durante el establecimiento; además, su abundante aerénquima es indispensable en el flujo de aire hacia las raíces (Smith y Snedaker, 2000; Ball, 2002; Evans *et al.*, 2005; Dissayanke *et al.* 2014; Lechthaler *et al.*, 2016).

Durante el establecimiento, el propágulo amortigua las condiciones de inundación, salinidad o falta de nutrientes a las que se exponen las plántulas, a la vez que se prepara para lidiar a estos estímulos ambientales (Ball, 2002). El desarrollo del sistema vascular durante esta etapa es crítico para el éxito del establecimiento de la plántula, este requiere una inversión significativa de biomasa y proporciona una línea de suministro crítica para la actividad fotosintética de las hojas (Melcher *et al.*, 2012; Méndez-Alonzo *et al.*, 2016). No obstante, a pesar de las detalladas descripciones del desarrollo del propágulo antes de caer de la planta madre (Juncosa, 1982; Cook, 1907; Das, 2001); los trabajos que describan al propágulo durante su establecimiento son escasos. Tomlinson y Cox, (2000) realizaron una detallada descripción del propágulo maduro y las diferencias entre los géneros de manglar de la familia Rhizophoraceae, con un especial énfasis en el proceso de erección del propágulo durante su establecimiento. Más tarde, Tonné *et al.* (2016) hacen un primer

acercamiento a través de tomografía computarizada al cambio en la proporción de los tejidos en el hipocótilo durante las primeras etapas del establecimiento de *Bruguiera gymnorrhiza* L. (Lam.) y *Ceriops tagal* (Perr.) C. B. Rob. Sin embargo, aún son necesarios estudios que describan más profundamente el desarrollo del tejido vascular, así como su respuesta a las condiciones ambientales.

Uno de los principales factores que incide sobre el crecimiento de las plántulas de mangle, es la salinidad (Naidoo, 2006, 2010). Al aumentar la salinidad, la disponibilidad de agua disminuye y por tanto, el sistema de conducción hidráulico debe ser más seguro, reduciendo su eficiencia (Cisneros-de la Cruz, 2014). Al mismo tiempo, la salinidad regula diversos procesos fisiológicos, como las tasas de fotosíntesis y de crecimiento, además de ser factor clave para describir los patrones de zonación, así como en la estructura de los bosques de manglar (Feller *et al.*, 2010). Por lo anterior, el objetivo del presente capítulo es describir el desarrollo anatómico del sistema vascular en el tallo y el propágulo de *Rhizophora mangle* L. durante su establecimiento, así como analizar su respuesta ante diferentes niveles de salinidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Los propágulos se colectaron en la Reserva de la Biosfera Ría Celestún, en manglar tipo franja con árboles de 16.3 ± 4.8 m de altura (Cisneros-de la Cruz *et al.*, 2018). Se seleccionaron propágulos con un largo de 17 ± 2.5 cm que no presentaban daños aparentes, señales de herbívora y sin raíces desarrolladas. Los propágulos se sembraron en diciembre del 2016 en una mezcla 1:1 de arena sílice y perlita. Se cultivaron con la solución de Hoagland al 100%, para los tratamientos de salinidad se usó sal comercial con una concentración de 0, 15 y 35 ppm. Los tratamientos se aplicaron en bloques de 10 individuos cada uno. Cada quince días se adicionó agua para compensar el agua evaporada y se ajustó la salinidad. Cada mes las cajas fueron limpiadas y la solución nutritiva sustituida por solución nueva. La cámara de invernadero en la que crecieron estuvo expuesta a una luz visible promedio de 8.13 mol/día con un máximo promedio de $351.89 \pm 170.35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y un déficit de presión de vapor máximo (DPV_{max}) de 1.83 KPa. Los propágulos usados para este capítulo fueron muestras del experimento realizado en el capítulo anterior, para más detalles sobre el cultivo consultar Cap II.

Se conservaron tres propágulos sin cultivar en GAA (Glicerina: Alcohol: Agua, 1:1:1) para su posterior procesamiento anatómico (E0). Para las plántulas en cultivo se consideraron tres estadios: Estadio 1 (E1), cuando las plántulas desarrollaron su primer par de hojas (febrero del 2016). Estadio 2 (E2), se consideraron seis meses después de la expansión del primer par de hojas, cuando las plántulas tenían ocho meses de edad (julio del 2016); y Estadio 3 (E3), cuando las plántulas tenían 16 meses (marzo 2017). En cada estadio se eligieron al azar tres individuos por bloque y se seccionó la parte media del propágulo y la sección basal del tallo más cercana al propágulo. Las muestras se guardaron en GAA hasta el procesamiento anatómico.

Procesamiento anatómico

Los tallos sin una corteza lignificada, así como los propágulos fueron infiltrados en Polietilenglicol, los tallos más gruesos y lignificados se procesaron sin infiltración. Todas las muestras se cortaron en un micrótopo de deslizamiento y se tiñeron con safranina - verde rápido y se montaron con resina sintética. Se tomaron fotos en un microscopio óptico Olympus CX31, con una cámara integrada Olympus U-CMAD3 con el programa Infinity Analyze Release ver. 5.0.2 (Lumenera Corporation, Canadá), así como con un microscopio estereoscópico MOTIC© SMZ-168, con una cámara integrada Moticom 10, con el programa Motic Images Plus 2.0 ML (Motic China Group, Co. Ltd).

Mediciones anatómicas

Para los tallos y propágulos que presentaban el sistema vascular en haces se midió el área de cinco haces vasculares (Ahv) y se contó el total (No. hv); en las muestras con desarrollo secundario se midió el radio del área vascular (r_{av}). Así mismo se midió el diámetro total para el cálculo del radio total (r_T) y el grosor del córtex (r_C), con estas mediciones se calculó la proporción de la médula (%M), área vascular (%AV) y córtex (%C) de los tallos y propágulos. Los cálculos se realizaron de la manera siguiente:

$$\%AV = \text{No. hv} \cdot \bar{x}Ahv / (\pi \cdot r_T^2); \quad \%AV = r_{AV} / r_T \cdot 100$$

$$\%C = r_C / r_T \cdot 100$$

$$\%M = 100 - \%C - \%AV$$

Se midieron caracteres anatómicos del xilema del tallo y del propágulo en tres campos de visión por individuo (n=3). En los individuos que presentaban haces vasculares se midió el diámetro tangencial (DT) y radial del lumen (DR) y el grosor de pared (GP) y se cuantificaron todos los vasos en cinco haces vasculares. Para los individuos con desarrollo secundario del xilema se consideraron 10 elementos de vaso por cada campo; en total se midieron 30 por individuo y se calculó el número de vasos /mm², así como el índice de agrupación (IA= No vasos/No. agrupaciones; Carlquist, 1988); un IA igual o cercano a uno indica mayoría de vasos solitarios, mientras que uno más cercano a cero indica menor porcentaje de vasos solitarios. Todos los caracteres anatómicos del xilema se midieron con el programa *Image J* (National Institutes of Health, USA).

Análisis estadístico

Se comprobó la normalidad de los datos, en caso de que no se cumpliera se normalizó usando Ln o $\sqrt{}$. Se realizaron ANOVA's factoriales de dos niveles (Salinidad X Estadio, 3 X 3) con un nivel de confianza del 95%, en caso de $p < 0.05$ se realizó una prueba *post hoc* HSD de Tukey. Los análisis se realizaron en XLSTAT v.7.5.2. (XLSTAT. Addinsoft, EEUU, 2007).

RESULTADOS

El propágulo maduro de *R. mangle* sin cultivar (E0), no presentó desarrollo secundario, el cilindro vascular esta constituido por una banda delimitada con una endodermis y un periciclo uni o biestratificado con haces vasculares colaterales (Fig. 1A), la zona interfascicular presenta desarrollo de paquetes de floema a partir del periciclo (Fig. 1C). En las plántulas bajo tratamiento, el tejido vascular crece en diferente proporción en el tallo con respecto al propágulo y en diferente porcentaje de acuerdo a la salinidad en la que crece (Fig. 2). En el E1, a los dos meses de establecimiento, no se observan diferencias en el desarrollo del sistema vascular dadas por salinidad. Las plántulas no presentaron desarrollo secundario en el sistema vascular (Fig. 1B, D y 3A, C). En el propágulo, se observaron un promedio de 30 haces vasculares colaterales separados entre sí, con una zona interfascicular apenas incipiente, conformada por la endodermis y el periciclo y uno que otro paquete de floema en formación (Fig. 1D, E). En el tallo se observaron un promedio de 10

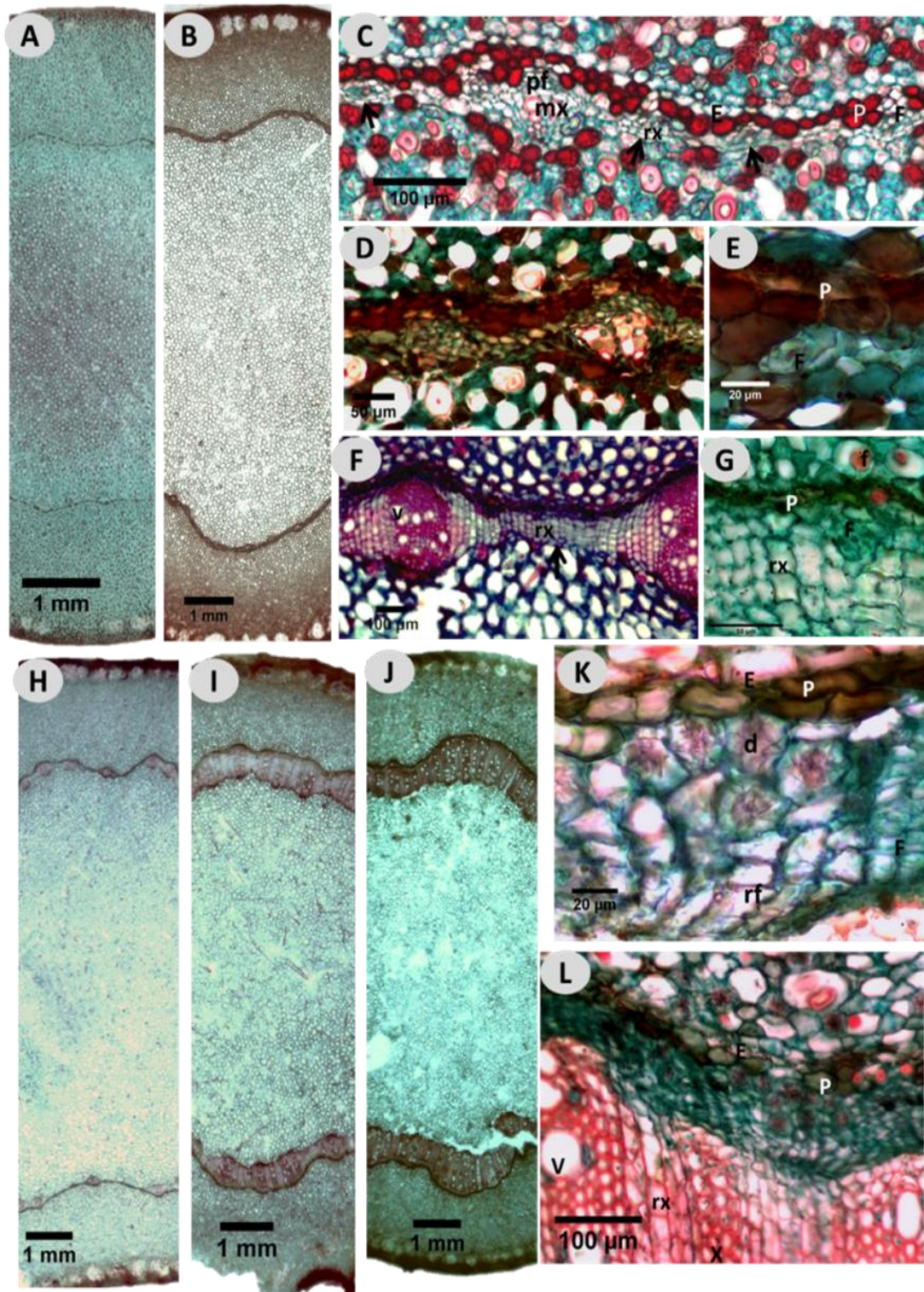


Fig. 1. Corte transversal de la sección media de propágulos de *R. mangle*. A y C:

propágulo maduro sin cultivar, endodermis y periciclo delimitando el cilindro vascular con haces vasculares colaterales con desarrollo primario. B, D y E: E1- 15ppm, cilindro vascular de haces vasculares colaterales sin desarrollo secundario, en la zona interfascicular, desarrollo de parénquima xilemático (D) y paquetes de floema (E). F y G: E2- 15 ppm, unión de los fascículos por el desarrollo interfascicular de radios de xilema (F) y desarrollo de floema interfascicular (G). H: E3 - 35ppm, I: E3 - 15ppm, J: E3 - 0ppm. K: E3 - 0ppm, floema del propágulo con drusas y radios del floema. L: E3 - 0ppm, periciclo y endodermis delimitando el cilindro vascular con desarrollo secundario, xilema bien desarrollado con radios xilemáticos y parénquima axial lignificado. P, periciclo; E, endodermis; F, floema; X, xilema; V, vasos; rx, radios xilemáticos; d, drusas; rf, radios del floema.

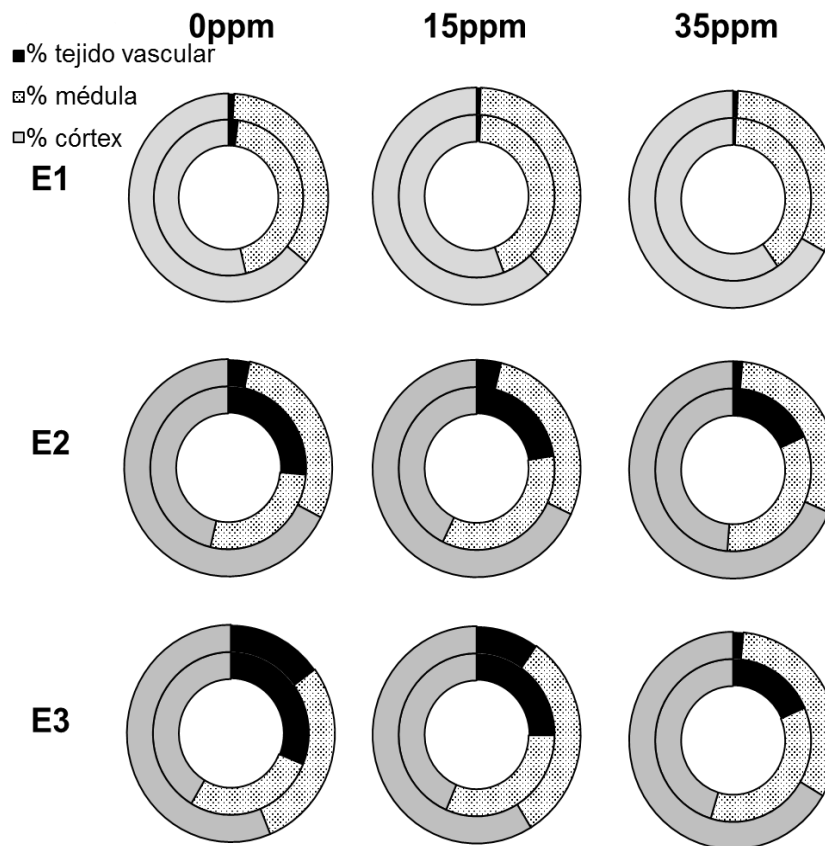


Fig. 2. Porcentaje del tejido vascular, córtex y médula en el propágulo (anillo exterior) y tallo (anillo interior) de *R. mangle* durante su establecimiento bajo diferentes condiciones de salinidad.

haces vasculares colaterales; a diferencia del propágulo, en la zona interfascicular se observa el desarrollo del parénquima xilemático, así como de la formación de nuevos vasos y un aumento en el desarrollo de floema (Fig. 3C, D, E). No se observaron diferencias significativas en el tamaño y número de los vasos, sin embargo, en el tratamiento de 35 ppm se observó una tendencia a menor número de vasos y de menor tamaño (Tabla 1, Fig. 4).

Conforme se desarrollan las plántulas, a los ocho meses, tanto en el tallo como en el propágulo se presenta desarrollo secundario y el porcentaje del tejido vascular ha aumentado en mayor proporción en el tallo que en el propágulo (Fig. 2). En el propágulo, en los tratamientos de 0 y 15 ppm los haces vasculares colaterales se han desarrollado en fascículos, en estos se observa el desarrollo de cambium vascular; en el xilema, los vasos ya no se encuentran en grupos, y se observa en cambio una porosidad difusa, mayormente con hileras radiales, en grupos y solitarios, con parénquima axial paratraqueal lignificado, con radios bien definidos con un grosor de 3-5 células, así mismo se observan fibras gelatinosas. En algunos puntos, los fascículos se unen por parénquima xilemático, comenzando a formar una banda continua en el cilindro vascular. En estas zonas interfasciculares se observa también el desarrollo de paquetes de floema (1F, G). En los propágulos que crecieron en mayor salinidad se observan diferencias significativas en el desarrollo del tejido vascular ($F = 68.25$, $p < 0.05$), con poco desarrollo interfascicular y sin desarrollo secundario. En el tallo se observó en todos los tratamientos un cilindro vascular bien desarrollado sin diferencias significativas entre el porcentaje del tejido vascular, pero con una tendencia a un menor porcentaje de tejido vascular a mayor salinidad (Fig. 2). El cilindro vascular presenta en el xilema un parénquima axial lignificado, así como radios con un grosor de 2-4 células y bandas de fibras gelatinosas; así como un floema bien desarrollado con radios que se ensanchan con abundantes drusas. El cilindro vascular se encuentra delimitado por una hilera de células con abundantes contenidos.

A partir del E2 se observaron tendencias más claras en respuesta a la salinidad en el número, agrupación y tamaño de los vasos tanto en el tallo como en el propágulo (Tabla 1). El diámetro radial de los elementos de vasos en ambos órganos disminuyó a mayor salinidad, aunque sin diferencias significativas (Fig. 4). En el tallo, no se encontraron

diferencias en el número de vasos/mm², pero si una tendencia a aumentar el número de vasos a mayor salinidad. En el propágulo, la densidad de los vasos aumentó significativamente cuando la salinidad aumentó a 15 y 35 ppm en el E2 y E3 (Tabla 1). Así mismo, a partir de este estadio se observó un mayor número de vasos solitarios en el xilema del tallo de las plántulas que crecieron sin salinidad, reflejado en un mayor IA; mientras que en el propágulo no se observaron diferencias significativas en la agrupación de los vasos (Tabla 1). En el ANOVA factorial se observaron diferencias significativas en el diámetro radial y tangencial (DR y DT) del propágulo dado el estadio ($F_2 = 143.40, 92.43; p < 0.001$) y la salinidad ($F_2 = 68.25, 15.27; p < 0.001$) así como en la interacción de estas variables ($F_4 = 14.97, 3.36; p < 0.01, 0.05$); mientras que para el tallo se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de salinidad ($F_2 = 104.58, 76.75, p < 0.01$) y el estadio ($F_2 = 10.23, 5.99; p < 0.01$) más no por su interacción.

En el E3, a los 16 meses, el tallo de las plántulas aumentó la proporción del área del cilindro vascular en los tratamientos de 0 y 15 ppm de salinidad en un 15 % y 10 %, respectivamente (Fig. 2; Fig. 3G, H). A su vez, en los propágulos de estos tratamientos el cilindro vascular se ha cerrado por completo y aumentó su proporción hasta 7 y 6 veces respectivamente (Fig. 1I, J) delimitado aún por la endodermis y una o dos filas de periciclo (Fig. 1K). En contraste, a 35 ppm se observó un menor desarrollo del sistema vascular en el tallo y propágulo. En el tallo, el cilindro vascular no aumentó su proporción con respecto al E2 (Fig. 2). En este estadio, los propágulos no presentaron aún un cilindro vascular uniforme, se observaron fascículos poco desarrollados y unidos en algunas zonas entre sí por parénquima xilemático interfascicular (Fig. 1H).

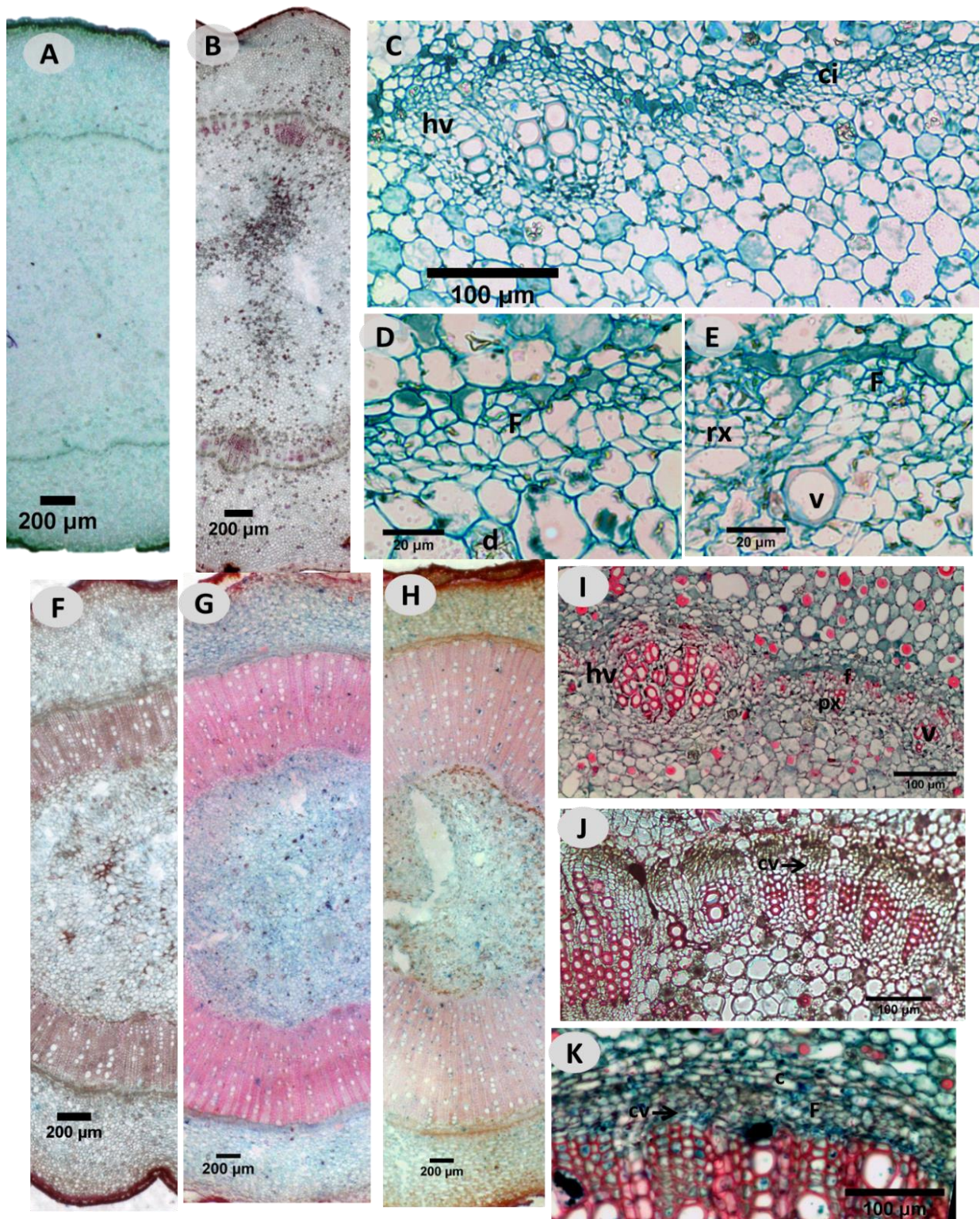


Fig. 3. Corte transversal del tallo de *R. mangle* durante su establecimiento. A, C,

D, E y F: E1- 0ppm, Tallo con cilindro vascular de haces colaterales (A), haz vascular y crecimiento interfascicular incipiente (C), desarrollo interfascicular de paquetes de floema (D) y de parénquima xilemático, así como vasos solitarios (F). F, G, H: Contraste en el desarrollo en el E3 a 35ppm (F), 15 ppm (G) y 0 ppm (H). I: E2- 35ppm, desarrollo radial del xilema en la zona interfascicular, radios xilemáticos intercalados con hileras de vasos y parénquima axial. J: E3 – 0ppm, xilema secundario con parénquima axial lignificado.

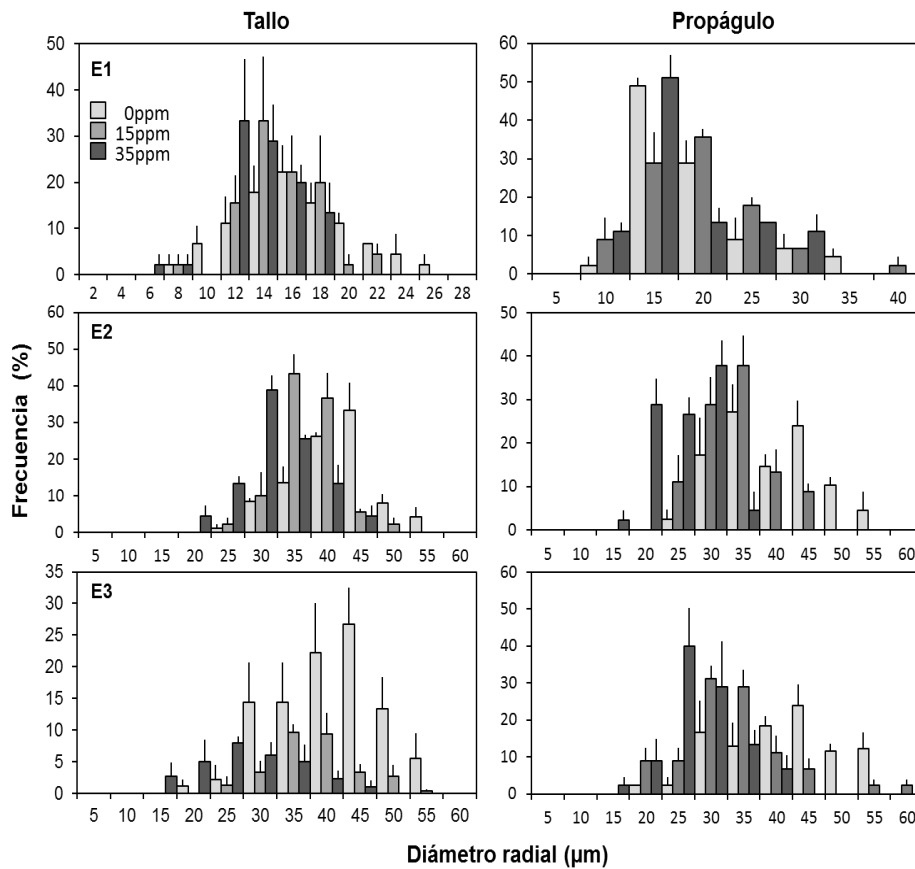


Fig. 4. Frecuencia de número de vasos con respecto a su diámetro radial (µm) del xilema de tallos y propágulo de *R. mangle* durante su establecimiento.

Tabla 1. Caracteres anatómicos del xilema del tallo y propágulo de *R. mangle* a diferente salinidad durante su establecimiento. Las letras diferentes indican las diferencias entre estadio y salinidad por órgano; ns, no significativo. El asterisco en de V/mm² indican que esos valores corresponden a número de vasos por haz vascular (hv, haz vascular; F, fascículos).

Órgano	Estadio	Salinidad (ppm)	DT (µm)	DR (µm)	GP (µm)	V/mm ²	IA
Tallo	1	0	14.80 ± 2.94 ^b	15.34 ± 3.99 ^c	4.35 ± 0.46 ^{ns}	*17.33 ± 3.90 ^{ns}	hv
		15	14.13 ± 2.68 ^b	14.46 ± 2.70 ^c	3.52 ± 0.90 ^{ns}	*17.67 ± 4.03 ^{ns}	hv
		35	13.47 ± 3.67 ^b	12.97 ± 2.56 ^c	4.28 ± 0.71 ^{ns}	*14.56 ± 1.60 ^{ns}	hv
	2	0	30.25 ± 5.40 ^a	39.30 ± 5.96 ^a	4.59 ± 1.17 ^{ns}	119.08 ± 34.61 ^{ns}	0.73 ± 0.12 ^a
		15	28.85 ± 5.06 ^a	31.05 ± 6.64 ^{ab}	4.95 ± 1.06 ^{ns}	178.33 ± 51.98 ^{ns}	0.54 ± 0.14 ^b
		35	25.10 ± 3.75 ^a	29.51 ± 5.46 ^{ab}	4.60 ± 0.89 ^{ns}	280.47 ± 42.05 ^{ns}	0.53 ± 0.12 ^b
	3	0	30.64 ± 6.23 ^a	38.21 ± 7.60 ^a	5.07 ± 0.87 ^{ns}	105.21 ± 36.42 ^{ns}	0.76 ± 0.10 ^a
		15	29.06 ± 5.75 ^a	32.51 ± 7.61 ^{ab}	5.21 ± 0.98 ^{ns}	142.45 ± 36.86 ^{ns}	0.62 ± 0.12 ^b
		35	22.07 ± 5.57 ^a	25.33 ± 7.35 ^b	4.77 ± 1.01 ^{ns}	188.34 ± 71.21 ^{ns}	0.61 ± 0.07 ^b
Propágulo	1	0	16.64 ± 4.57 ^d	16.91 ± 5.71 ^d	3.98 ± 0.95 ^a	*11.40 ± 3.37 ^a	hv
		15	18.57 ± 5.41 ^{cd}	17.52 ± 6.26 ^d	4.38 ± 1.94 ^a	*13.17 ± 2.32 ^a	hv
		35	15.50 ± 5.88 ^d	15.60 ± 5.48 ^d	4.58 ± 1.84 ^a	*6.89 ± 2.15 ^{bA}	hv
	2	0	32.66 ± 5.26 ^a	36.90 ± 7.21 ^a	6.83 ± 1.68 ^b	94.55 ± 28.7 ^{ab}	0.69 ± 0.12 ^{ns}
		15	28.92 ± 6.00 ^{ab}	31.57 ± 5.14 ^{ab}	8.53 ± 1.64 ^b	149.19 ± 36.8 ^a	0.61 ± 0.10 ^{ns}
		35	22.39 ± 5.29 ^{bc}	23.37 ± 4.42 ^c	7.84 ± 1.33 ^b	*13.67 ± 3.66 ^B	F
	3	0	33.17 ± 6.28 ^a	38.93 ± 8.85 ^a	6.63 ± 2.30 ^b	63.60 ± 7.5 ^b	0.72 ± 0.10 ^{ns}
		15	27.44 ± 5.12 ^{ab}	31.34 ± 8.43 ^{ab}	8.09 ± 1.34 ^b	108.91 ± 37.1 ^{ab}	0.65 ± 0.10 ^{ns}
		35	25.66 ± 4.49 ^{ab}	25.50 ± 5.54 ^{ab}	7.07 ± 2.36 ^b	*16.89 ± 2.45 ^B	F

DISCUSIÓN

En *Rhizophora mangle*, el sistema vascular del propágulo maduro sin cultivar coincide con las descripciones de Tomlinson y Cox (2000), al no mostrar un cilindro formado por haces vasculares colaterales. El desarrollo secundario del sistema vascular en el propágulo de *R. mangle* comienza hasta su establecimiento, una vez que se ha anclado al suelo y tiene su primer par de hojas. No obstante, en este estadio el desarrollo del sistema vascular aún es mínimo tanto en el tallo como el propágulo, más bien en esta etapa se observó una mayor formación de floema (Fig.1, 3). Este desarrollo "tardío" del sistema vascular permite al propágulo responder y garantizar el éxito de la plántula en una gran variabilidad de ambientes; debido a que le permite formar un sistema de conducción adecuado a las condiciones particulares en las que crece y que de otra manera, un sistema vascular más desarrollado y especializado, podría implicar una menor capacidad de adaptación a mayor rango de ambientes. En esta primera fase, el propágulo comienza a recibir los estímulos ambientales y a producir diferencialmente hormonas que regulan su crecimiento (Smith *et al.*, 1996). El transporte de las reservas almacenadas es fundamental, lo que explica el mayor desarrollo del floema en comparación con la del xilema durante esta fase, lo que coincide con lo descrito por Behnke & Richter (1989). Así mismo, la formación de abundantes rayos xilemáticos contribuyen al transporte horizontal entre los vasos y el floema (Van Bel, 1990; Yáñez-Espinosa, 2001). Esta fase funciona como un periodo de reconocimiento, que permite comenzar a formar un sistema adecuado al ambiente en donde se encuentre y su formación inicial depende completamente de las reservas almacenadas en el propágulo (Dissanayake *et al.*, 2014).

Después de esta primera fase de aclimatación, el tejido vascular en el propágulo aumentó en razón que el córtex disminuyó tal como observaron Tonné *et al.* (2016) en *B. gymnorhiza* y *C. Tagal*. En contraste, en el tallo, el diámetro total disminuye a mayor salinidad más no la proporción de los tejidos entre los tratamientos (Fig. 2). El crecimiento diferencial del sistema vascular en tallo y el propágulo permite que el propágulo cumpla diversas funciones, por una parte funge como un órgano de reserva, pero también es un órgano regulador, así como de sostén y transporte. De acuerdo con Menezes (2006), el propágulo es el primer rizóforo y desempeña la función de tallo y de raíz. Este es el primer encargado

de brindar soporte durante el establecimiento y resistir la investida de las mareas (Méndez-Alonzo *et al.*, 2015). Así mismo, la gran cantidad de aerénquima en la médula y el córtex brinda; además de conductos de aire para la plántula, un almacén para una gran cantidad de reservas, así como de agua (Evans *et al.*, 2005; Dissanayake *et al.*, 2014; Lechthaler *et al.*, 2016).

La endodermis característica de las raíces, permite regular el agua y reservas al sistema vascular. La cantidad de agua que regula el propágulo al resto de la plántula es crucial para su supervivencia; por lo que el crecimiento diferencial en respuesta a la salinidad y en consecuencia a la disponibilidad de agua, permite una compensación funcional durante el establecimiento. En condiciones de salinidad 0 y 15 ppm las plántulas invirtieron más recursos para desarrollar un sistema de transporte y sostén más eficiente, con mayor cantidad de fibras que proporciona mayor rigidez, así como un sistema de conducción más desarrollado que a su vez, a través de una mayor conductividad hidráulica garantice un rápido crecimiento (Hubbard *et al.*, 1999, 2001; Brodribb, 2000). En contraste, en condiciones de mayor salinidad, una mayor proporción de córtex sirve como almacén de agua y almidones por más tiempo; mientras que a menor proporción de tejido vascular, con caracteres de un sistema más seguro, disminuye su conductividad hidráulica y por tanto el crecimiento (Smith y Snedaker, 2000; Melcher *et al.*, 2012; Tonné *et al.*, 2016). Por otra parte, un abundante parénquima en el córtex y médula del propágulo sugiere una mejor redistribución hidráulica y de esta forma, disminuir la salinidad en la zona de las raíces, además de regular el potencial hídrico de la plántula y así asegurar el transporte y una mayor disponibilidad de agua (Wang *et al.*, 2002; Hao *et al.*, 2009; Lechthaler *et al.*, 2016). Aunado a esto, el menor porcentaje de xilema a mayor salinidad también representa un sacrificio en el soporte de la plántula, dejándola más vulnerable a las mareas, el viento o la herbivoría (Santini *et al.*, 2013).

Una vez que tanto el tallo como el propágulo tienen un sistema vascular bien desarrollado en el E3, se observan características adecuadas a las condiciones particulares del ambiente en el que se encuentra. A mayor salinidad, se desarrolla un sistema más seguro, con vasos más abundantes, pequeños y agrupados (Tabla 1), los cuales contribuyen a una mayor redundancia y por tanto a una mayor seguridad contra los embolismos, aún a costa de un

sistema menos eficiente (Cruziat *et al.*, 2002). En condiciones de baja salinidad, en cambio, el sistema es más eficiente, con vasos más grandes, menos agrupados y menos abundantes que permiten un mayor flujo de agua y por tanto un aumento de la actividad fotosintética y un mayor crecimiento (Hubbard *et al.*, 2001). Este permite retroalimentar el crecimiento y soporte del propágulo, propiciando plántulas más vigorosas en menor tiempo y con mayor probabilidad de sobrevivir aún sin las reservas del propágulo. A pesar de que en ambos órganos no se observan diferencias entre el tamaño de los vasos, el menor número de vasos/mm², así como la menor proporción de tejido vascular en el propágulo ayudan a regular el flujo de agua hacia el tallo, lo cual es más evidente a mayor salinidad en donde el propágulo aun presenta el cilindro vascular en fascículos apenas conectados entre sí (Fig. 1F, H).

CONCLUSIONES

El desarrollo de un sistema hidráulico adecuado según el microambiente es indispensable para sobrevivir en condiciones ambientales variables (Cisneros-de la Cruz, 2014). Las plántulas de *R. mangle* que desarrollan un sistema más eficiente tienen la capacidad de crecer más rápido y ser completamente autónomas aproximadamente a los cuatro meses de edad (Dissanayanke *et al.*, 2014). Sin embargo, si estas plántulas son expuestas a cambios abruptos de salinidad pudieran ser vulnerables al tener un sistema que implica un mayor consumo de agua. Por otra parte, las plántulas que crecen a mayor salinidad son capaces de lidiar con una mayor variabilidad ambiental por más tiempo (Bomby *et al.* 2014), a costa de una parcial dependencia a las reservas del propágulo, no obstante, si las condiciones limitantes prevalecen y las reservas se agotan, la plántula será más vulnerable y disminuye su supervivencia en dichas condiciones (Ball, 2002). El desarrollo anatómico del sistema vascular de las plántulas es crucial para sobrevivir durante los primeros seis meses de crecimiento. A su vez, la supervivencia diferencial de las plántulas, se relaciona con la dinámica poblacional y por ende en la estructura genética de las poblaciones (Loveless & Hamrick, 1984; Cisneros-de la Cruz *et al.*, 2018). Su mayor entendimiento nos permite predecir como responderán las plántulas ante la variabilidad ambiental dada por la estacionalidad o bien por impactos naturales y antrópicos o el cambio climático.

CAPÍTULO V

VARIABILIDAD FENOTÍPICA Y GENÉTICA DE *Rhizophora mangle* L.: IMPLICACIONES ANTE EL CAMBIO CLIMÁTICO

DISCUSIÓN GENERAL

Los bosques de manglar son ecosistemas complejos donde, por la gran heterogeneidad ambiental de su entorno y la composición de las especies exhiben una gran diversidad estructural, lo cual se refleja en la diversidad de los servicios ecosistémicos que brindan (Feller *et al.*, 2010; Ellison y Farnsworth, 1995; Herrera *et al.*, 2014). En el caso de *Rhizophora mangle*, la alta plasticidad que presenta en su tasa de crecimiento, transporte de agua y tasa de fotosíntesis le confiere la capacidad de establecerse a través de los diversos gradientes ambientales en el manglar y formar tipos fisonómicos tan contrastantes, como son el de franja y el chaparro (Ball, 2002; Sobrado y Ewe, 2006; Naidoo, 2010). Esta gran variabilidad fisiológica y anatómica se refleja a su vez en la variación morfológica observada en las poblaciones de *R. mangle* de península de Yucatán, con poblaciones de individuos adultos de menos de 1 m hasta de más de 20 m (Cap. II).

Las características del propágulo son fundamentales para el establecimiento y supervivencia de la plántula ante el amplio rango de variabilidad ambiental en el que puede crecer (Cap III, IV). Por ejemplo, el tamaño y la cantidad de reservas del propágulo son características críticas para su establecimiento exitoso, y éstas dependen, por una parte, de las características ambientales de la planta la madre y por otra, de su genotipo (Proffit y Travis., 2010). Por lo tanto, los propágulos de poblaciones morfológica y genéticamente contrastantes tendrán diferente probabilidad de llegar a su etapa reproductiva con éxito. De esta forma, la supervivencia dependerá, entre otros factores, de la competencia intra-específica con un genotipo adaptado al ambiente particular (Berger y Hildenbrant, 2000; Nosil *et al.*, 2005, Proffit & Travis., 2010).

En este sentido, la plasticidad fisiológica en respuesta al ambiente durante esta etapa crítica será fundamental para el éxito del recambio en las poblaciones, así como del intercambio génico entre ellas (Loveless y Hamrick, 1984). Durante esta etapa observamos, así como

Ball (2002), que los propágulos presentan una compensación entre crecimiento y supervivencia. Aquellos que crecen con mayor luz y menor salinidad serán capaces de ser completamente autónomos más rápidamente, pero también más vulnerables a corto plazo a cambios ambientales abruptos (Ball, 2002). Esto debido a las reservas agotadas, a un sistema vascular menos seguro con un mayor consumo de agua y una mayor tasa de crecimiento, lo cual podrían derivar en una alta mortalidad (Cap III, IV; Smith y Snedaker, 2000). Al contrario, los propágulos que se establecen en zonas de mayor salinidad y menor luz, tendrán mayor probabilidad de sobrevivir a condiciones de mayor estrés fisiológico por mayor tiempo, debido a su menor desarrollo vascular y baja conductividad hidráulica, así como su menor tasa fotosintética y desarrollo, además de la mayor conservación de tejidos de almacén (Fig. 2, CapIV). Sin embargo, la supervivencia a largo plazo podría verse afectada cuando las condiciones sean más limitantes de lo que el propágulo pueda amortiguar. Esta respuesta funcional diferencial al microambiente durante el establecimiento regula la supervivencia a la etapa reproductiva y por ende influye en el flujo génico de las poblaciones ambientalmente contrastantes (Loveless y Hamrick, 1984; Nosil *et al.*, 2009; Orsini *et al.*, 2013). Si bien en este trabajo no observamos diferencias significativas dadas por la deficiencia de fósforo, este podría ser acumulativo a la etapa adulta como se ha observado en otros trabajos e incidir negativamente en la floración y formación de frutos y por ende, en el intercambio génico de las poblaciones (Feller *et al.*, 2003; Lin y Stenberg, 1992a; Lovelock *et al.*, 2006, Naidoo, 2006, 2010; Cisneros- de la Cruz *et al.*, 2018).

El éxito y distribución diferencial de los propágulos de distintos tipos fisionómicos de manglar, incide en la diversidad genética y en la diferenciación genética entre las poblaciones (Cisneros-de la Cruz *et al.*, 2018; Ngvene *et al.*, 2017). Así mismo, la plasticidad fenotípica de *R. mangle* podría estar relacionada con su potencial evolutivo debido a su implicación en la adecuación biológica ("fitness") y por tanto en la fuerza que ejerza la selección natural para moldear la variabilidad genética; relacionada con su potencial de respuesta ante los cambios ambientales y antropogénicos (Gianoli, 2004; Kramer *et al.*, 2008, 2015; Daewoody *et al.*, 2015). Sin embargo, aunque la plasticidad puede ser un carácter bajo selección en sí mismo, también puede esconder la adaptación local y disminuir la diferenciación genética entre poblaciones y por ende incidir en la evolución de

la especie (Gianoli, 2004; Oddou-Muratorio y Davi, 2014). La gran variabilidad genética encontrada entre los manglares altos y chaparros supone una gran complejidad en los procesos ecológicos y genéticos que se desarrollan a nivel de paisaje (Cisneros-de la Cruz *et al.*, 2018), los cuales deben ser considerados ante la acelerada disminución en la extensión del manglar y su vulnerabilidad ante el cambio climático (Giri *et al.*, 2011; Lovelock *et al.*, 2015). El acervo genético particular en los diferentes tipos fisionómicos de manglar, suponen una posible ventaja adaptativa antes los cambios ambientales, por lo que las acciones de conservación para este ecosistema deben considerar la conservación de los distintos tipos de manglar, así como mantener la heterogeneidad ambiental que les da origen. Así mismo, se debe considerar en cualquier estudio de impacto ambiental a este ecosistema, no solo el deterioro en los flujos hídricos indispensables para la supervivencia sino también en las implicaciones en el acervo genético de las poblaciones.

Los bosques de manglar, son los primeros ecosistemas que serán afectados por los cambios en el nivel del mar como consecuencia del cambio climático (Gilman *et al.*, 2008). La variación en los procesos fisiológicos de cada especie en respuesta a factores asociados con el cambio climático (cambios en la temperatura, salinidad, inundación y nutrientes), se espera provoquen cambios en su distribución, composición y estructura (Ellison y Farnsworth, 1997). Sin embargo, hasta ahora los modelos que se han desarrollado no han considerado la variabilidad genética, ni los procesos macro o micro evolutivos que pueden derivar de la adaptación a los cambios ambientales o antropogénicos (Dood y Rafii, 2002; Twilley y Monroy, 2005; Gilman *et al.*, 2008).

Actualmente, el acelerado cambio de suelo en las costas y la fragmentación dada por el desarrollo urbano; así como el incremento de la temperatura y el nivel del mar debido al cambio climático, tienen un impacto directo en las condiciones ambientales y por consiguiente en la dinámica del manglar (Alongi 2002, 2008; Lovelock *et al.*, 2015). La tasa de éxito del reclutamiento se ve afectada, además del cambio de los factores abióticos en el paisaje, lo cual incide en la estructura y variabilidad genética de las poblaciones y por tanto en su capacidad adaptativa. La información generada en este trabajo contribuye a la comprensión de la respuesta de *R. mangle* durante etapas críticas, como el establecimiento, información útil en los programas de restauración y conservación. Así

como, entender las consecuencias en el acervo genético de las poblaciones de manglar ante el constante impacto antropogénico al que es sometido.

Un enfoque integral de la evolución ecofisiológica es crítica para comprender los potenciales y limitaciones para el cambio evolutivo adaptativo y la naturaleza de los mecanismos genéticos subyacentes a la diversidad ecofisiológica actual (Ackerly *et al.*, 2000). Ante esto, es imperativo establecer nuevos modelos, integrando en los que se integren la plasticidad fenotípica y la variabilidad genética; estos modelos serán herramientas útiles para predecir la evolución de las poblaciones y su adaptación y respuesta al cambio climático, en los cuales pueden estar involucrados muchos puntos de inflexión y efectos no lineales (Ackerly *et al.*, 2000; Kramer *et al.*, 2008; Oddu-Muratorio y Davi, 2014). Para crear modelos más exactos, se requieren una gran cantidad de datos para ser parametrizados y probados (Oddu-Muratorio y Davi, 2014). Por lo que los estudios como este, en el que se relacionen las respuestas fisiológicas en etapas críticas como es el establecimiento, así como la variabilidad genética y su relación con el ambiente son indispensables.

CONCLUSIONES

- La diversidad genética de las poblaciones analizadas de *R. mangle* en la península de Yucatán se encuentra divididas en dos regiones principales, el mar Caribe y el Golfo de México.
- La altura de *R. mangle* no tiene una relación directa con la salinidad o el fósforo disponible, sino de la interacción de estas variables. Así mismo, su morfología pudiera depender de otras variables no consideradas en este trabajo, como la inundación, disponibilidad de otros nutrientes, entre otras.
- La variación morfológica, así como la respuesta diferencial al microambiente da como resultado barreras ecológicas que moldean la variabilidad genética en las poblaciones de *R. mangle* en la península de Yucatán. Debido a esto, poblaciones altas y chaparras de un mismo sitio presentan diferencias genéticas significativas entre sí.
- Las plántulas de *R. mangle* presentan una gran plasticidad fisiológica que les permite crecer en un amplio rango de salinidad, luz y disponibilidad de fósforo. Conforme aumenta la salinidad, la tasa de crecimiento relativo, la tasa de fotosíntesis, la conductividad hidráulica y el potencial hídrico disminuyen, además de desarrollar un sistema de conducción hidráulico más seguro.
- El primer periodo de crecimiento de *R. mangle*, es rápido hasta aproximadamente los tres primeros meses. Este periodo es de reconocimiento y depende completamente de las reservas disponibles en el propágulo. Una vez que las primeras hojas se expanden, la tasa de crecimiento disminuye y se observa un uso diferencial de las reservas de acuerdo a las condiciones ambientales, dando como resultado el desarrollo de estrategias fisiológicas y anatómicas que permitan la supervivencia de la plántula. Después de los seis meses, las plántulas pueden ser totalmente autónomas si las condiciones son óptimas, si son limitantes estas mantienen bajas tasa de crecimiento y pudieran depender aún de las reservas del propágulo.

- El propágulo juega un papel crítico en el desarrollo de las plántulas y responde diferencialmente a los estímulos ambientales. A menor salinidad, las reservas son agotadas antes de los seis meses, mientras que a mayor salinidad las reservas pueden seguir disponibles durante el primer año.
- La salinidad es la principal variable que controla la tasa de crecimiento en las plántulas de *R. mangle*, así como su interacción con la disponibilidad de luz. Sin embargo, la disponibilidad de fósforo no presentó un efecto significativo en las plántulas, probablemente su efecto podría presentarse hasta su etapa adulta.
- El desarrollo anatómico del propágulo y del tallo de *R. mangle* responde diferencialmente a la salinidad. A menor (nula) salinidad, el propágulo presenta un cilindro bien desarrollado hasta los seis meses; mientras que a mayor salinidad, el propágulo muestra poco desarrollo del tejido vascular incluso después del año.
- El sistema vascular de los propágulos de *R. mangle* en condiciones de baja y nula salinidad garantizan un sistema de conducción más eficiente, que permite un mayor crecimiento y una mayor resistencia contra el viento y la marea. En contraste, a mayor salinidad el sistema vascular de los propágulos garantiza una mayor supervivencia a largo plazo a costa de una mayor vulnerabilidad mecánica y un menor crecimiento.
- Los primeros seis meses de crecimiento de las plántulas de *R. manglr* son críticos para el desarrollo de estrategias fisiológicas y anatómicas que les permitan sobrevivir en un amplio rango de salinidad, luz y disponibilidad de nutrientes. Un cambio abrupto en estas, puede incidir negativamente en su supervivencia.

PERSPECTIVAS.

- Este trabajo es pionero al considerar la variabilidad ambiental, morfológica y genética del manglar. Sin embargo, es necesario realizar más estudios que profundicen en la relación entre estas variables y su interacción, lo cual es indispensable para crear modelos que permitan entender la respuesta de este ecosistema ante el cambio climático y el impacto antropogénico.
- Las respuestas fisiológicas en diversas especies de manglar se han estudiado extensamente, pero sin considerar su cambio a través de diferentes estadios. Por lo que, aún es necesario investigar la fisiología de las plantas en etapas críticas, como el establecimiento. Esta etapa es fundamental en estudios de la dinámica poblacional y estructura del bosque de manglar. En el caso de *R. mangle*, y las especies vivíparas de manglar, es necesario profundizar sobre la fisiología del propágulo durante el establecimiento y la transición a la independencia funcional en respuesta ante la variabilidad ambiental.
- Los estudios fenológicos y su relación con la variabilidad ambiental son necesarios para complementar los modelos de respuesta del manglar. A pesar de que existe diversos trabajos sobre la fenología, son pocos los que incluyen o mencionan las condiciones ambientales particulares del sitio de muestreo.

LITERATURA CITADA

- Ackerly, D. D., Dudley, S. A., Sultan, S. E., Schmitt, J., Coleman, J. S., Linder, C. R. y Lechowicz, M. J. (2000). The Evolution of Plant Ecophysiological Traits: Recent Advances and Future Directions: New research addresses natural selection, genetic constraints, and the adaptive evolution of plant ecophysiological traits. *Bioscience*, 50, 979-995.
- Adame, M. F., J. B Kauffman., I. Medina, J. N. Gamboa, O. Torres, J. P. Caamal, M. Reza, y J. A. Herrera-Silviera. (2013). Carbon Stocks of Tropical Coastal Wetlands within the Karstic Landscape of the Mexican Caribbean. *PLoS ONE* 8, e5656.
- Albrecht, M., K. M. Kneeland, E. Lindroth y J. E. Foster (2013). Genetic diversity and relatedness of the mangrove *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae) using amplified fragment polymorphism (AFLP) among locations in Florida, USA and the Caribbean. *Journal of Coastal Conservation*. 17, 483-491.
- Alongi, D. M. (2002). Present state and future of the world's mangrove forests, *Environmental Conservation*. 29, 331-349.
- Alongi, D. M. (2008). Mangrove forests: Resilience, protection from tsunamis, and responses to global climate change. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 76, 1-13.
- Andueza, M. T. (2011). Análisis del crecimiento de manglar bajo gradientes ambientales en una zona de rehabilitación hidrológica y reforestación en Celestún, Yucatán. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán. México. Pp.185.
- Angeles, G., J. López-Portillo, y F. Ortega-Escalona (2002). Functional anatomy of the secondary xylem of roots of the mangrove *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. (Combretaceae). *Trees-Structure and Function*. 16, 338-345.
- Araujo, R. J., J. C. Jaramillo y S. C. Snedaker (1997). LAI and leaf size differences in two red mangrove forest types in south Florida. *Bulletin of Marine Science*. 60, 643-647.
- Arbaláez-Cortes E., M. F. Castillo-Cárdenas, N. Toro-Perea y H. Cárdenas-Henao, (2007). Genetic structure of the red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) on the Colombian Pacific detected by microsatellite molecular markers. *Hydrobiología*, 583, 321-330.

-
- Arnaud-Haond S., S. S. I. Teixeira, Massa, C. Billot , P. Saenger, C. M. Duarte, E. A. Serrão y G. Coupland (2006). Genetic structure at range edge: low diversity and high inbreeding in Southeast Asian mangrove populations. *Molecular Ecology*, 15, 3515–3525.
- Aspila, K. I., H. Agemian, y S. Y. Chau. (1976). A semi-automated method for determination of inorganic, organic and total phosphate in sediments. *Analyst*, 101, 187-197 pp.
- Ball, M. C. (1981) Physiology of photosynthesis in two mangrove species: responses to salinity and other environmental factors. Ph.D. thesis, Australian National University, Canberra
- Ball, M. C. (1988). Ecophysiology of Mangroves. *Trees*, 2, 129-142.
- Ball, M. C. (2002). Interactive effects of salinity and irradiance on growth: implications for mangrove forest structure along salinity gradients. *Trees*, 16, 126-139.
- Behnke, H. D. & Richter, K. (1990). Primary phloem development in the shoot apex of *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae). *Botanica Acta*, 103, 296-304.
- Berger, U., y H. Hildenbrandt (2000). A new approach to spatially explicit modelling of forest dynamics: spacing, ageing and neighbourhood competition of mangrove trees. *Ecological Modelling*, 132, 287-302.
- Boizard S. D. y A. J Mitchell (2011). Resistance of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) seedlings to deflection and extraction. *Trees*, 25, 371–381.
- Bompy, F., G. Lequeue, D. Imbert y M. Dulormne (2014). Increasing fluctuations of soil salinity affect seedling growth performances and physiology in three Neotropical mangrove species. *Plant and soil*, 380, 399-413.
- Bragg J. G., A. S. Megan, R. L. Andrew y O. B. Justin (2015). Genomic variation across landscapes: insights and applications. *New Phytologist*, 207, 953-967.
- Breteler, F. J. (1969). The Atlantic species of *Rhizophora*. *Acta Botanica Neerlandica*, 18, 434-441.
- Breteler, F. J. (1977). America's Pacific species of *Rhizophora*. *Acta Botanica Neerlandica*, 26, 225-230.
- Brodribb, T. J., y T. S. Feild (2000). Stem hydraulic supply is linked to leaf photosynthetic capacity: evidence from New Caledonian and Tasmanian rainforests. *Plant, Cell & Environment*, 23,

1381-1388.

- Bruschi, P., C. Angeletti, O. González, M. Adele Signorini y F. Bagnoli (2014). Genetic and morphological variation of *Rhizophora mangle* (red mangrove) along the northern Pacific coast of Nicaragua. *Nordic Journal of Botany*, 32, 320-329.
- Cardona-Olarte, P., Twilley, R. R. Baz, K. W. Krauss y V. Rivera-Monroy (2006). Responses of neotropical mangrove seedlings grown in monoculture and mixed culture under treatments of hydroperiod and salinity. *Hydrobiologia*, 569, 325-341.
- Carlquist, S. (1988). *Comparative wood anatomy*. Springer series of Wood Science. Springer Verlag. New York. Botanical Series No.3. Leiden, Univ. Press, The Hague.
- Carreras, R. (1989). Caracteres anatomicos de la madera de especies tipicas de manglares, consideraciones ecológicas. *Revista Forestal Barbacoa*, 18, 7-17.
- Cerón-Souza I, E. Bermingham, W. McMillan, F. Jones (2012) Comparative genetic structure of two mangrove species in Caribbean and Pacific estuaries of Panama. *BMC Evol. Biol*, 12, 205.
- Cerón-Souza I., E. Rivera-Ocasio, E. Medina, J. A. Jiménez y W. O. McMillan (2010) Hybridization and introgression in New World red mangroves, *Rhizophora* (Rhizophoraceae). *American Journal of Botany*, 97, 945–957.
- Cerón-Souza, I., E. G. Gonzalez, A. E. Schwarzbach, D. E. Salas-Leiva, E. Rivera-Ocasio, N. Toro-Perea y W. O. McMillan (2015). Contrasting demographic history and gene flow patterns of two mangrove species on either side of the Central American Isthmus. *Ecology and evolution*, 5, 3486-3499.
- Cheeseman, J. M. y C. E. Lovelock (2004). Photosynthetic characteristics of dwarf and fringe *Rhizophora mangle* in a Belizean mangrove. *Plant Cell and Environment*, 27, 769-780.
- Cheeseman, J. M., L. B. Herendeen, A. T. Cheeseman y B. F. Clough (1997). Photosynthesis and photoprotection in mangroves under field conditions. *Plant, Cell and Environment*, 20, 579-588.
- Chen, L., y Wang, W. (2016). Ecophysiological Responses of Viviparous Mangrove *Rhizophora stylosa* Seedlings to Simulated Sea-Level Rise. *Journal of Coastal Research*, 33, 1333-1340

-
- CIRAD (Centre for International Cooperation in Agricultural Research for Development) (2002). A Laboratory Manual: Coconut Microsatellite Kit, Training session. Montpellier, France: CIRAD.
- Cisneros-de la Cruz DJ, Martínez- Castillo J, Herrera-Silveira J, L Yáñez-Espinosa, M García- Ortiz, R. Us- Santamaria y J. L. Andrade (2018) Short-distance barriers affect genetic variability of *Rhizophora mangle* L. in the Yucatan Peninsula. *Ecology and Evolution* 00,1–17
- Cisneros-de la Cruz, D. J. (2014). Arquitectura hidráulica de plántulas y Adultos de *Rhizophora mangle* L. en manglar se franja y chaparro en Celestún, Yucatán. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Tesis de Maestría. Pp. 71.
- Clarke, P.J., R.A. Kerrigan y C. J. Westphal (2001). Dispersal potential and early growth in 14 tropical do early life history traits correlate with mangroves: patterns of adult distribution?. *Journal of Ecology*, 89, 648-659.
- Clough, B. F. y R. G. Sim (1989). Changes in gas exchange characteristics and water use efficiency of mangroves in response to salinity and vapor pressure deficit. *Oecologia*, 79, 38-44.
- CONANP (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas) (2014). Sitios RAMSAR, Humedales de México. URL <http://ramsar.conanp.gob.mx/sitios.php>. [accessed January 2014]
- Cook, M.T. (1907). The embryology of *Rhizophora mangle* L. *Bull. Torrey Botanical Club*, 34, 271-277.
- Coupland G. T., E. I. Paling y K. I. McGuinness (2006). Floral abortion and pollination in four species of tropical mangroves from northern Australia. *Aquatic Botany*, 84, 151–157.
- Crispo, E. (2008). Modyfing effects of phenotypic plasticity in interactions among natural selection, adaptation and gen flow. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1460-1469.
- Cruiziat, P., H. Cochard y T. Améglio (2002). Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals of forest science*, 59, 723-752.
- D.O.F. 2002. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001. Diario Oficial de la Federación. 6 marzo 2002, México D.F.
- Dahdouh-Guebas F, De Bondt R, Abeyasinghe PD, Kairo JG, Cannicci S, Triest L, Koedam N, (2004). Comparative study of the disjunct zonation pattern of the grey mangrove *Avicennia marina*

- (Forsk.) Vierh. in Gazi Bay (Kenya). *Bulletin of Marine Science*, 74, 237–252.
- Das, S. (2001). Seedling morphology of three mangrove species and its taxonomic implications, *Journal of Plant Biology*, 44, 92-96.
- De Kort H., K. Vandepitte, H. H. Bruun, D. Closset-Kopp, O. Honnay y J. Mergeay (2014). Landscape genomics and a common garden trial reveal adaptive differentiation to temperature across Europe in the tree species *Alnus glutinosa*. *Molecular Ecology*, 23, 4709-4721.
- Delgado, P., P. F. Hnesel, A. Jiménez y J. W. Day (2001). The importance of propagule establishment and physical factors in mangrove distributional patterns in a Costa Rican estuary. *Aquatic Botany*, 71, 157-178.
- DeWoody J., H. Trewin y G. Taylor (2015). Genetic and morphological differentiation in *Populus nigra* L.: isolation by colonization or isolation by adaptation? *Molecular Ecology*, 24, 2641-2655.
- Dissanayake, N. P., S. K. Madarasinghe, K. A. S. Kodikara, L. P. Jayatissa, A. J. D. Perera, N. Koedam y F. Dahdouh-Guebas, (2014). Preliminary study on the propagule dependency of *Rhizophora* seedlings. *Journal of the Department of Wildlife Conservation*, 2, 141-151.
- Dodd, R. S., Z. Afzal-Rafii, N. Kashani y J. Budrick (2002) Land barriers and open oceans: Effects on gene diversity and population structure in *Avicennia germinans* L. (Avicenniaceae). *Molecular Ecology*, 11, 1327 – 1338.
- Domínguez, C. A., L.E. Eguiarte, J. Núñez-Farfán y R. Dirzo. (1998). Flower morphometry of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): Geographical variation in Mexican populations. *American Journal of Botany*, 85, 637-643.
- Dood, R. S y Z. A. Rafii (2002). Evolutionary genetics of mangroves: continental drift to recent climate change, *Trees* 16, 80-86.
- Duke N. C., E. Y. Y. Lo y M. Sun (2002). Global distribution and genetic discontinuities of mangroves emerging patterns in the evolution of *Rhizophora*. *Trees-Structure Function*, 16, 65–79.
- Duke, N. C., Ball, M. C. y J. C. Ellison (1998). Factors influencing biodiversity and distributional gradients in mangroves. *Global Ecology and Biogeography*, 7, 27–47
- Duke, N. C., y M. Pinzón (1992). Aging *Rhizophora* seedlings from leaf scar nodes: a technique for

-
- studying recruitment and growth in mangrove forests. *Biotropica*, 24, 173-186.
- Earl, D. A., y B. M. Vonholdt (2012). STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4, 359-361.
- Ellison A.M., E. J. Farnsworth y R. E. Merkt (1999). Origins of mangrove ecosystems and the mangrove biodiversity anomaly. *Global Ecology and Biogeography*, 8, 95–115.
- Ellison, A. M., y E. J. Farnsworth (1993). Seedling survivorship, growth, and response to disturbance in Belizean mangal. *American Journal of Botany*, 80, 1137-1145.
- Ellison, A. M. y E. J. Farnsworth (1997). Simulated sea level change alters anatomy, physiology, growth, and reproduction of red mangrove (*Rizophora mangle* L.). *Oecología*, 112, 435-446.
- Elmqvist, T. y Cox, P. A. (1996). The evolution of vivipary in flowering plants. *Oikos*, 3-9.
- Evanno, G., S. Regnaut, y J. G Oudet. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 14, 2611–2620.
- Evans, L. S., Z. M. Testo y J. A. Cerutti, (2009). Characterization of internal airflow within tissues of mangrove species from Australia: leaf pressurization processes. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 136, 70-84.
- Ewers, F. W., J. Lopez-Portillo, G. Angeles y J. B. Fisher (2004). Hydraulic conductivity and embolism in the mangrove tree *Laguncularia racemosa*. *Tree Physiology*, 24, 1057-1062.
- Excoffier L y H. E. L. Lischer (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564–567.
- Farnsworth E. J. (1998). Issues of spatial, taxonomic and temporal scale in delineating links between mangrove diversity and ecosystem function. *Global Ecology & Biogeography Letters*, 7, 15-25.
- Farnsworth, E. J. y A. M. Ellison (1996). Sun-shade adaptability of the red mangrove, *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae): changes through ontogeny at several levels of biological organization. *American Journal of Botany*, 89, 1131-1143.

- Farnsworth, E. J., A. M. Ellison, W. K. Gong y F. A. Bazzaz (1995). Ecophysiological responses of mangrove seedlings to two facets of climate change. *The Bulletin of the Ecological Society of America*, 76, 88.
- Feller I. C., K. L. McKee, D. F. Whigham y J. P. O'Neill (2003). Nitrogen vs. phosphorus limitation across an ecotonal gradient in a mangrove forest. *Biogeochemistry*, 62, 145–175.
- Feller I. C., C. E. Lovelock, U. Berger, K. L. McKee, S. B. Joye y M. C. Ball (2010). Biocomplexity in Mangrove Ecosystems. *Annual Review of Marine Science*, 2, 395-417.
- Feller, I. C. (1995). Effects of nutrient enrichment on growth and Herbivory of dwarf red mangrove (*Rhizophora mangle*). *Ecological Monographs*, 65, 477-505.
- Feller, I. C. y M. Sitnik (Eds.). (1996). *Mangrove ecology: A Manual for a Field Course*. Washington, D.C. 135p
- Feller, L. C. (1996). Effects of nutrient enrichment on leaf anatomy of dwarf *Rhizophora mangle* L. (red mangrove). *Biotropica*, 13-22.
- Fruet P. F., E. R. Secchi, J. C. Di Tullio, P. C. Simões-Lopes, F. Daura-Jorge, A. P. Costa y L. B. Beheregaray (2017). Genetic divergence between two phenotypically distinct bottlenose dolphin ecotypes suggests separate evolutionary trajectories. *Ecology and Evolution*, 7, 9131-9143.
- Garnier-Géré P. H. y P. K. Ades. (2001). Environmental surrogates for predicting and conserving adaptive genetic variability in tree species. *Conservation Biology*, 15, 1632-1644.
- Gianoli E. (2004). Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. In: Marino-Cabrera H. ed. *Fisiología ecológica en plantas: Mecanismos y Respuestas a Estrés en los Ecosistemas*. Valparaíso Chile: Universidad de Concepción, Casilla, p. 13-25.
- Gill A. y P. B. Tomlinson (1971a). Studies of the growth of Red Mangrove (*Rhizophora mangle* L.) 2. Growth and differentiation of aerial roots, *Biotropica*, 3, 63– 77.
- Gill A. y P. B. Tomlinson (1969). Studies of the growth of Red Mangrove (*Rhizophora mangle* L.) 1. Habit and general morphology, *Biotropica*, 1, 1– 9.
- Gill A. y P. B. Tomlinson (1971b). Studies of the growth of Red Mangrove (*Rhizophora mangle* L.) 3.

-
- Phenology of the shoot, *Biotropica*, 3, 109–124.
- Gill A. y P. B. Tomlinson (1977). Studies of the growth of Red Mangrove (*Rhizophora mangle* L.) 4. The adult root system, *Biotropica*, 9, 145–155
- Gilman, E. L., J. Ellison, N. C. Duke y C. Field (2008). Threats to mangroves from climate change and adaptation options: a review. *Aquatic botany*, 89, 237-250.
- Giri, C., E. Ochieng, L. L. Tieszen, Z. Zhu, A. Singh, T. Loveland, J. Masek y Duke, N. (2011). Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Global Ecology and Biogeography*, 20, 154-159.
- Goudet, J. (2001). FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Updated from Goudet (1995).
- Graham A. (2006). Paleobotanical evidence and molecular data in reconstructing the historical phytogeography of Rhizophoraceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93, 325–334.
- Gutiérrez-Ayala L. V., N. Torrescano-Valle y G. A. Islebe (2012). Reconstrucción paleoambiental del Holoceno tardío de la reserva Los Petenes, Península de Yucatán, México. *Revista mexicana de Ciencias Geológicas*, 29, 749-763.
- Hao, G. Y., Jones, T. J., C. Luton, Y. J. Zhang, E. Manzano, F. G. Scholz, S. J. Bucci, K. F. Cao y G. Goldstein (2009). Hydraulic redistribution in dwarf *Rhizophora mangle* trees driven by interstitial soil water salinity gradients: impacts on hydraulic architecture and gas exchange. *Tree Physiology*, 29, 697-705
- Herrera-Silveira JA, Camacho AR, Pech E, Pech M, Ramírez J, Teutli-Hernández C. (2016). Dinámica del carbono almacenado y flujos en manglares de México. *Terra Latinoamericana*, 34, 61-72.
- Herrera-Silveira JA, Teutli-Hernández C, Zaldívar-Jiménez A, Pérez-Ceballos R, Cortés-Balán O, Osorio-Moreno I, Ramírez-Ramírez J, Caamal-Sosa J, Andueza-Briceño MT, Torres R *et al.* (2014). Programa regional para la caracterización y el monitoreo de ecosistemas de manglar del Golfo de México y Caribe Mexicano: Península de Yucatán. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados-Mérida. Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. FN009. México D. F.

- Herrera-Silveira, J. A. (2006). Lagunas costeras de Yucatán (SE, México): Investigación, diagnóstico y Manejo. *Ecotrópicos*, 19, 94-108
- Herrera-Silveira, J. A. y F. A. Comín (2000). An Introductory account of the types of aquatic ecosystems of Yucatan Peninsula (SE Mexico), in: *Ecovision World Monographs Series. Aquatic Ecosystems of Mexico: Status y Scope*, M. Munawar, S. G. Lawrence, I. F. Munawar y D. F. Malley (Eds.). Backhuys Pub. Leiden, Netherlands. Pp. 213-227.
- Hoagland, D. R. y D. I. Arnon. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular*, 347, 1-32.
- Hogarth P.J. (2007) *The biology of mangroves and seagrasses*, 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, 273 pp.
- Hubbard, R. M., B. J. Bond y M. G. Ryan (1999). Evidence that hydraulic conductance limits photosynthesis in old *Pinus ponderosa* trees. *Tree Physiology*, 19, 165-172.
- Hubbard, R. M., Ryan, M. G., Stiller, V., & Sperry, J. S. (2001). Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in *Pinus ponderosa* trees. *Plant, Cell & Environment*, 24, 113-121.
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information, *Technical advances. Molecular Ecology Resources*, 9, 1322-1332.
- Hutchings, P.A. y Saenger (1985). *Ecology of mangroves*. University of Queensland Press, St. Lucie. Pp 388.
- Huxham M., M. P. Kumara, L. P. Jayatissa, K. W. Krauss, J. Kairo, J. Langat y B. Kirui (2010). Intra- and interspecific facilitation in mangroves may increase resilience to climate change threats. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Biological Sciences*, 365, 2127-2135.
- Janssonius, H. H (1950). The vessels in the wood of Javan mangrove trees. *Blumea*, 6, 466–469.
- Juncosa, A.M. (1982), Developmental morphology of the embryo and seedling of *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae). *American Journal of Botany*, 69, 1599-1611.

-
- Kennedy J. P., M. W. Pil, C. E. Proffitt, W. A. Boeger, A. M. Stanford y D. J. Devlin (2016). Postglacial expansion pathways of red mangrove, *Rhizophora mangle*, in the Caribbean Basin and Florida. *American Journal of Botany*, 103, 260-276.
- Klekowski E. J., R. Lowenfeld y K. P. Hepler (1994). Mangrove Genetics. II. Outcrossing and Lower Spontaneous Mutation Rates in Puerto Rican *Rhizophora*. *International Journal of Plant Sciences*, 155, 373-38.
- Kremer A., Kleinschmit J., Cottrell J., Cundall E. P., Deans J. D., Ducousso A., König A. O., Lowe A. J., Munro R. C., Petit R. J. *et al.* (2002). Is there a correlation between chloroplastic and nuclear divergence, or what are the roles of history and selection on genetic diversity in European oaks? *Forest Ecology and Management*, 156, 75–87.
- Kramer, K., J. Buiteveld, M. Forstreuter, T. Geburek, S. Leonardi, P. Menozzi y D. C. Van der Werf (2008). Bridging the gap between ecophysiological and genetic knowledge to assess the adaptive potential of European beech. *Ecological Modelling*, 216, 333-353.
- Krauss, K. W. y J. Allen (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
- Krauss, K. W. y M. C. Ball (2013). On the halophytic nature of mangroves. *Trees*, 27, 7-11.
- Krauss, K. W., C. E. Lovelock, K. L. McKee, L. López-Hoffman, S. M. L. Ewe y W. P. Sousa (2008). Environmental driver in mangrove establishment and early development: A review. *Aquatic Botany*, 89, 105-127
- Krauss, K. W., P. J. Young, J. L. Chambers, T. W. Doyle y R. R. Twilley (2007). Sap flow characteristics of neotropical mangroves in flooded and drained soils. *Tree Physiology*, 27, 775-783.
- Langenheim J. H., B. L. Hackner y A. Bartlett (1967). Mangrove pollen at the depositional site of the Oligo/ Miocene amber of Chiapas, Mexico. *Botanical Museum Leaflets*, 21, 289-324.
- Lara-Domínguez, A. L., J. W. Day, G. Villalobos-Zapata, R. R. Twilley, H. A. Guillén y A. Yáñez-Arancibia (2005). Structure of a unique inland mangrove forest assemblage in fossil lagoons on the Caribbean Coast of Mexico. *Wetlands and Ecology Management*, 13, 111-122.

- Latta R. G. (2003). Gene flow, adaptive population divergence and comparative population structure across loci. *New Phytologist*, 161, 51–58.
- Laurindo L, A. Mariano y R. Lumpkin (2017). An improved near-surface velocity climatology for the global ocean from drifter observations. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 124, 73-92.
- Lechthaler, S., E. M. Robert, N. Tonné, A. Prusova, E. Gerkema, H. Van As, y C. W. Windt, (2016). Rhizophoraceae mangrove saplings use hypocotyl and leaf water storage capacity to cope with soil water salinity changes. *Frontiers in plant science*, 7, 895.
- Lenormand T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution*, 17, 183–189.
- Lin G. y L. S. L. Stenberg (1992a). Comparative study of water uptake and photosynthetic gas exchange between scrub and fringe red mangroves, *Rhizophora mangle*. *Oecología*, 90, 399-403.
- Lin, G., y L. S. L. Stenberg (1992b). Differences in morphology, carbon isotope ratios, and photosynthesis between scrub and fringe mangroves in Florida, USA. *Aquatic Botany*, 42, 303-313.
- Lin, G., y L. S. L. Stenberg (1995). Variation in propagule mass and its effect on carbon assimilation and seedling growth of red mangrove (*Rhizophora mangle*) in Florida, USA. *Journal of Tropical Ecology*, 11, 109-119.
- Lin Y y L. S. L. Sternberg (2007). Nitrogen and phosphorus dynamics and nutrient resorption of *Rhizophora mangle* leaves in south Florida, USA. *Bulletin of Marine Science*, 80, 159-169.
- Linhart YB, Grant MC. (1996). Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Reviews in Ecology and Systematics*, 27, 237–277.
- Lira-Medeiros C. F., M. A. Cardoso, R. A. Fernandes Y P.C. Gomes-Ferreira (2015). Analysis of genetic diversity of two mangrove species with morphological alterations in a natural environment. *Diversity*, 7, 105-117.
- Lira-Medeiros CF, Parisod C, Fernandes RA, Mata CS, Cardoso MA, Gomes-Ferreira PC. (2010).

-
- Epigenetic variation in mangrove plants occurring in contrasting natural environment. PLoS ONE 5, e10326.
- Lo, E. Y., N. C. Duke y M. Sun (2014). Phylogeographic pattern of *Rhizophora* (Rhizophoraceae) reveals the importance of both vicariance and long-distance oceanic dispersal to modern mangrove distribution. BMC evolutionary biology, 14, 83.
- López Portillo, J. Y E. Ezcurra (2002). Los manglares de México: una revisión. Madera y Bosques, 8, 27-51.
- López-Hoffman, L., DeNoyer, J. L., Monroe, I. E., Shaftel, R., Anten, N. P., Martínez-Ramos, M., y D. D. Ackerly (2006). Mangrove seedling net photosynthesis, growth, and survivorship are interactively affected by salinity and light. Biotropica, 38, 606-616.
- López-Hoffman, L., N. P. R. Anten, M. Martínez-Ramos y D. D. Ackerly. (2007). Salinity and light interactively affect neotropical mangrove seedlings at the leaf and whole plant levels. Oecologia, 150, 545- 556.
- López-Ramos E. (1973). Estudio geológico de la Península de Yucatán, México. Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana, 35, 24-76.
- Lot AC, C. Vázquez-Yanez y F. Méndez (1975). Physiognomic and floristic changes near the northern limit of mangroves in the gulf coast of Mexico. In: Walsh G, Snedaker LSL, Teaspp H, eds. International Symposium on biology and management of mangroves. Florida, USA: University of Florida Gainesville, 52-61.
- Loveless, M. D., y J. L. Hamrick, J. L. (1984). Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annual Review of Ecology and Systematics, 15, 65–95. <https://doi.org/10.1146/annurev>.
- Lovelock, C.E., I. C. Feller, K. L. McKee, B. M. J. Engelbrechts and M. C. Ball. (2004). The effect of nutrient enrichment on growth, photosynthesis and hydraulic conductance of dwarf mangroves in Panama. Functional Ecology, 18: 25-33.
- Lovelock, C. E., I. C. Feller, M. C. Ball, B. M. J. Engelbrecht y M. L. Ewe (2006). Differences in plant function in phosphorous and nitrogen limited mangrove ecosystems. New Phytologist, 172, 514-522.

- Lovelock, C. E., Cahoon, D. R., Friess, D. A., Guntenspergen, G. R., Krauss, K. W., Reef, R., & Saintilan, N. (2015). The vulnerability of Indo-Pacific mangrove forests to sea-level rise. *Nature*, 526-559.
- Lowenfeld, R., y E. J. J. Klekowski (1992). Mangrove Genetics. I. Mating System and Mutation Rates of *Rhizophora mangle* in Florida and San Salvador Island, Bahamas. *International Journal of Plant Sciences*, 153, 394-399.
- Lu, X., H. Wang, Y. Li y B. Liu (2016). The impact of selection on population genetic structure in the clam *Meretrix petechialis* revealed by microsatellite markers. *Genetica*, 144, 1-8.
- Lugo, A. E. Brown, S. y M. M. Brinson (1988). Forested wetlands in freshwater and salt-water environments, *American Society of Limnology and Oceanography*, 33, 894-909.
- Lugo, A. E., y S. C. Snedaker (1974). The ecology of Mangroves, *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5, 39-64.
- Lugo-Hubp, J., J. F. Aceves-Quesada y R. Espinosa-Pereña (1992). Rasgos geomorfológicos mayores de la península de Yucatán. *Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geología*, 10, 143-150.
- Martínez, B y A. Pares (1998). Circulación del golfo de México inducida por mareas, viento y la corriente de Yucatán. *Ciencias Marinas*, 24, 65-93.
- McKee, K. L., I. C. Feller, M. Popp y Wanek W. (2002). Mangrove isotopic $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ fractionation across a nitrogen vs. phosphorus limitation gradient. *Ecology*, 83, 1065-1075.
- McKee, K. L. (1996). Mangrove Ecosystems: Definitions, Distribution, Zonation, Forest Structure, Trophic Structure, and Ecological Significance. In: Feller IC, Sitnik M. Mangrove ecology, Manual for a Field Course. Washington, USA: Smithsonian Environmental Research Center, 35-38.
- McKee, K. L. (1995). Growth and physiological responses of neotropical mangrove seedlings. *Tree Physiology*, 16, 883-889.
- McKee, K. L., Feller, I.C., Popp, M. & Wanek, W. (2002) Mangrove isotopic ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) fractionation across a nitrogen vs. phosphorous limitation gradient. *Ecology*, 83, 1065–1075.

-
- McMillan, C. (1971). Environmental factors affecting seedling establishment of the black mangrove on the central Texas coast. *Ecology*, 52, 927-930.
- McMillan, C. (1974). Salt tolerance of mangroves and submerged aquatic plants. *Ecology of Halophytes*. New York: Academic Press. Pp. 379-390.
- Medina, E., E. Cuevas y A. E. Lugo. (2010). Nutrient relations of dwarf *Rhizophora mangle* L. mangroves on peat in eastern Puerto Rico. *Plant Ecology*, 207: 13-24.
- Meirmans, P. G. (2015). Seven common mistakes in population genetics and how to avoid them. *Molecular Ecology*, 24, 3223-3231.
- Melcher, P. J., G. Goldstein, F. C. Meinzer, D. E. Yount, T.J. Jones, N. M. Holbrook y C. X. Huang (2001). Water Relations of coastal and estuarine *Rhizophora mangle*: xylem pressure potential and dynamics of embolism formation and repair. *Oecología*, 126, 182-192.
- Melcher, P. J., Holbrook, N. M., Burns, M. J., Zwieniecki, M. A., Cobb, A. R., Brodribb, T. J., & Sack, L. (2012). Measurements of stem xylem hydraulic conductivity in the laboratory and field. *Methods in Ecology and Evolution*, 3, 685-694.
- Melville, F. y M. Burchett. (2002). Genetic variation in *Avicennia marina* in three estuaries of Sidney (Australia) and implications for rehabilitation and Management. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 469-479.
- Méndez-Alonzo, R., J. López-Portillo y V. H. Rivera-Monroy (2008). Latitudinal variation in leaf and tree traits of the mangrove *Avicennia germinans* (Avicenniaceae) in the central region of the Gulf of Mexico. *Biotropica*, 40, 449-456.
- Méndez-Alonzo, R., J. López-Portillo, C. Moctezuma, M. K. Bartlett, y L. Sack (2016). Osmotic and hydraulic adjustment of mangrove saplings to extreme salinity. *Tree physiology*, 36, 1562-1572.
- Méndez-Alonzo, R., C. Moctezuma, V. R. Ordoñez, G. Angeles, A. J. Martínez y J. López-Portillo (2015). Root biomechanics in *Rhizophora mangle*: anatomy, morphology and ecology of mangrove's flying buttresses. *Annals of Botany*, 115, 833-840.
- Menezes, N. L. D. (2006). Rhizophores in *Rhizophora mangle* L: an alternative interpretation of so-called "aerial roots". *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 78, 213-226.

- Mori, G. M., M. I. Zucchi y A. P. Souza (2015). Multiple-geographic-scale genetic structure of two mangrove tree species: the roles of mating system, hybridization, limited dispersal and extrinsic factors. *PloS one*, 10, e0118710.
- Mosca, E., S. C. González-Martínez y D. B. Neale, (2014). Environmental versus geographical determinants of genetic structure in two subalpine conifers. *New Phytologist*, 201, 180-192.
- Naidoo, G. (1987). Effects of salinity and nitrogen on growth and plant water relations in the mangrove *Avicennia marina*. *New Phytologist*, 107, 317-325.
- Naidoo, G. (2010). Ecophysiological differences between fringe and dwarf *Avicennia marina* mangroves. *Trees*, 24, 667-673.
- Naidoo, G. (2006). Factors contributing to dwarfing in the mangrove *Avicennia marina*. *Journals of Botany*, 97, 1095-1101.
- Nei, M. (1978). Estimates of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89, 583-590.
- Nettel, A. y R. S. Dodd (2007). Drifting propagules and receding swamps: Genetic footprints of mangrove recolonization and dispersal along tropical coasts. *Evolution*, 61, 958-971.
- Ngeve, M. N., T. Van der Stocken, D. Menemenlis, N. Koedam y L. Triest (2017). Hidden founders? Strong bottlenecks and fine-scale genetic structure in mangrove populations of the Cameroon Estuary complex. *Hydrobiologia*, 803, 189-207.
- Nosil P. y B. J. Crespi (2004). Does gene flow constrain trait divergence or vice-versa? A test using ecomorphology and sexual isolation in *Timema cristinae* walking-sticks. *Evolution*, 58, 101–112.
- Nosil, P., D. J. Funk y D. Ortiz-Barrientos (2009). Divergent selection and heterogeneous genomic divergence. *Molecular Ecology*, 18, 375–402.
- Nosil, P., T. H. Vines y D. J. Funk (2005). Perspective: reproductive isolation caused by natural selection against immigrants from divergent habitats. *Evolution*, 59, 705–719.
- Nosil, P. (2007). Divergent host plant adaptation and reproductive isolation between ecotypes of *Timema cristinae* walking sticks. *The American Naturalist*, 169, 151-162.

-
- Núñez-Farfán J., C. A. Domínguez, L.E. Eguiarte, A. Cornejo, M. Quijano, J. Vargas, y R. Dirzo. (2002). Genetic divergence among Mexican populations of red mangrove (*Rhizophora mangle*): geographic and historic effects. *Evolutionary Ecology Research* 4: 1049-1064.
- Oddou-Muratorio, S. y H. Davi (2014). Simulating local adaptation to climate of forest trees with a Physio-Demo-Genetics model. *Evolutionary applications*, 7, 453-467.
- Olsen, S. R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Washington, U.S. A: United States Department of Agriculture.
- Orsini, L., J. Vanoverbeke, I. Swillen, J. Mergeay, L. De Meester (2013). Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Molecular ecology*, 22, 5983-5999.
- Oste, J. (2011) Growth and structural changes of viviparous mangrove propagules: the effect of environment on dispersal and establishment. Thesis Ph.D. Vrije Universiteit Brussel. 1050 pp.
- Pannier, F. (1992). El ecosistema de manglar como indicador de cambios globales en la zona costera tropical. *Ciencia*, 43,111–113.
- Panshin, A. J. (1932). An anatomical study of the woods of the Philippine mangrove swamps. *Philipp Journal of Science*, 48, 143–205.
- Parisod C. y P.A. Christin (2008). Genome-wide association to fine-scale ecological heterogeneity within a continuous population of *Biscutella laevigata* (Brassicaceae). *New Phytologist*, 178, 436-447.
- Parson, T.R., Y. Maita, y C.M. Lalli. (1984). A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. New York: Pergamon Press.
- Peakall, R.y P. Smouse (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Pil M. W., M. R. T. Boeger, V. C. Muschner, M. R. Pie, A. Ostrensky y W. A. Boeger (2011). Postglacial north south expansion of populations of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) along the Brazilian coast revealed by microsatellite analysis. *American Journal of Botany* 2011, 98,1031–1039.

- Piñero D, Caballero-Mellado J, Cabrera-Toledo D, Canteros CE, Casas A, Castañeda-Sortibrán A, Castillo A, Cerritos R, Chassin-Noria O, Colunga P. 2008. La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. In: Llorente-Bousquets J, Ocegueda S. eds. Capital natural de México, Vol. I: conocimiento actual de la biodiversidad México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), México, p. 437-494.
- Pritchard J.K., M. Stephens, P. Donnelly (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155, 945-959.
- Proffit, C. E. y S. E. Travis (2010). Red Mangrove Seedling Survival, Growth, and Reproduction: Effects of environment and Maternal Genotype. *Estuaries and Coasts*, 33, 890-901.
- Rabinowitz, D. (1978). Early growth of mangrove seedlings in Panamá, and hypothesis concerning the relationship of dispersal and zonation. *Journal of Biogeography*, 5, 113-133.
- RAMSAR, (1996) Artículo 1.1. de la Convención Apéndice A. Marco estratégico y lineamientos para el desarrollo futuro de la Lista de Humedales de Importancia Internacional de la Convención sobre los Humedales
- Reyes-Medina, I. E. (2012) Análisis genético poblacional para la reforestación del mangle rojo (*Rhizophora mangle* L.) en Bahía Magdalena, B.C.S. México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, pp. 69.
- Ribeiro, D. O., C. C. Vinson, D. S. S. Nascimento, U. Mehlig, M. P. M. Menezes, I. Sampaio y M. V. Silva (2013). Isolation of microsatellite markers for the red mangrove, *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae). *Applications in Planta Sciences*, 1: 1300003.
- Richards, C., J. Wares y J. Mackie (2010). Evaluating adaptative process for conservation and management of estuarine and coastal resources. *Estuarines and Coasts*, 33, 805-810.
- Ricklefs, R. E., A. E. Schwarzbach y S. S. Renner (2006). Rate of linaje origins explains the diversity anomaly in the world's mangrove vegetation. *The American Naturalist*, 168, 805-810.
- Rico-Gray, V. y Palacios-Ríos, M. (1996). Salinidad y el nivel del agua como factores en la distribución de la vegetación en la ciénaga del NW de Campeche, México. *Acta Botánica Mexicana*, 34- 53

-
- Robert, E. M., J. Oste, T. Van der Stocken, D. J. De Ryck, K. Quisthoudt, J. G. Kairo y N. Schmitz, (2015). Viviparous mangrove propagules of *Ceriops tagal* and *Rhizophora mucronata*, where both Rhizophoraceae show different dispersal and establishment strategies. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 468, 45-54.
- Robert, M. R. E., N. Koedam, H. Beeckman y N. Schmitz (2009). A safe hydraulic architecture as wood anatomical explanation for the difference in distribution of mangroves *Avicennia* and *Rhizophora*. *Functional Ecology*, 23, 649-657.
- Rodríguez-Zúñiga, M. T., C. Troche-Souza, A. D. Vázquez-Lule, J. D. Márquez-Mendoza, B. Vázquez-Balderas, L. Valderrama-Landeros y A. Uribe-Martínez (2013). Manglares de México/Extensión, distribución y monitoreo. D.F. Mexico city, Mexico: CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad).
- Rosero-Galindo, C., E. G Aitan-Solis, H. C. Árdenas-Henao, J. T. Ohme y N. T. Oro-Perea (2002) Polymorphic microsatellites in a mangrove species, *Rhizophora mangle* (L.) (Rhizophoraceae). *Molecular Ecology Notes*, 2, 281–283.
- Salgado-Negret, B., Paz, H. (2016). Escalando de los rasgos funcionales a procesos poblacionales, comunitarios y ecosistémicos. pp 12-35. En: Salgado-Negret, B. (ed). *La ecología funcional como aproximación al estudio, manejo y conservación de la biodiversidad: protocolos y aplicaciones*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, D. C. Colombia. 236 pp.
- Sánchez-Núñez D. A. y J. E. Mancera-Pineda (2011). Flowering patterns in three neotropical mangrove species: Evidence from a Caribbean island. *Aquatic Botany*, 94, 177–182.
- Sandoval-Castro, E. (2012). Diversidad y Estructura genética de *Avicennia germinans* y *Rhizophora mangle*, en los ecosistemas de Manglar de México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Baja California. México. 144 p.
- Sandoval-Castro, E., R. Muñoz-Salazar, L. M. Enríquez-Paredes, R. Riosmena-Rodríguez, R. S., C. Tovilla-Hernández y M. C. Arredondo-García (2012). Genetic population structure of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) along the northwestern coast of Mexico. *Aquatic Botany*, 99, 20–26.
- Sandoval-Castro, E., R. S. Doo, R. Riosmena-Rodríguez, L. M. Enríquez-Paredes, C. Tovilla-

- Hernández, J. M. López-Viva, B. Aguilar-May y R. Muñiz-Salazar. (2014). Post-glacial expansion and population genetic divergence of mangrove species *Avicennia germinans* (L.) Stearn and *Rhizophora mangle* L. along the Mexican coast. *Plos One*, 9:1-12.
- Santini, N. S., N. Schmitz y C. E. Lovelock (2012). Variation in wood density and anatomy in a widespread mangrove species. *Trees Structure y Function*, 26, 1555-1563.
- Santini, N. S., N. Schmitz, V. Bennion y C. E. Lovelock (2013). The anatomical basis of the link between density and mechanical strength in mangrove branches. *Functional Plant Biology*, 40, 400-408.
- Schierenbeck, K. A., M. Skupski, D. Lieberman y M. Lieberman (1997). Population structure and genetic diversity in four tropical tree species in Costa Rica. *Molecular Ecology*, 6, 137-144.
- Schluter D. y L. Nagel (1995). Parallel speciation by natural selection. *The American Naturalist*, 146, 292-301
- Schmitz, N. (2008). Growing on the edge, Hydraulic architecture of mangroves. PhD Thesis. Universidad de Bruselas. Bélgica. pp. 135.
- Schmitz, N., A. Verheyden, F. De Ridder, H. Beeckman y N. Koedam (2006a). Hydraulic architecture of the mangrove *Rhizophora mucronata* under different salinity and flooding conditions. In: *Tree Rings in Archaeology, Climatology and Ecology*, I. Hinrich, H. Gärtner, M. Monbaron, y G. Schleser (Eds.). Pp. 180-187.
- Schmitz, N., A. Verheyden, H. Beeckman, J. G. Kairo y N. Koedam (2006b). Influence of a Salinity Gradient on the Vessel Characters of the Mangrove Species *Rhizophora mucronata*. *Annals of Botany*, 98, 1321-1330.
- Schmitz, N., G. Koch, H. Beeckman y N. Koedam (2012). A structural and compositional analysis of intervessel pit membranes in the sapwood of some mangrove woods. *International Association of Wood Anatomists Journal*, 33, 243-256.
- Schmitz, N., S. Jansen, A. Verheyden, J. G. Kairo, H. Beeckman y N. Koedam (2007). Comparative anatomy of intervessel pits in two mangrove species growing along a natural salinity gradient in Gazi bay, Kenya. *Annals of Botany*, 100, 271-281.

-
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236,787–792.
- Slatkin M. (1993). Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution*, 47, 264-279.
- Smith, J. M. y J. Haigh (1974). The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetic Research*, 23, 23-35.
- Smith, S. M., y S. C. Snedaker (1995). Salinity responses in two populations of viviparous *Rhizophora mangle* L. Seedlings. *Biotropica*, 27, 435-440.
- Smith, S. M., y S. C. Snedaker (2000). Hypocotyl Function in Seedling Development of the Red Mangrove, *Rhizophora mangle* L. *Biotropica*, 32, 677-685
- Smith, S. M., Y. Y. Yang, Y. Kamiya, y S. C. Snedaker (1996). Effect of environment and gibberellins on the early growth and development of the red mangrove, *Rhizophora mangle* L. *Plant Growth Regulation*, 20, 215–223.
- Smith, S.M. y D.W. Lee (1999). Effects of light quantity and quality on early seedling development in the red mangrove, *Rhizophora mangle* L. *Bulletin of Marine Science*, 65, 795-806.
- Sobrado, M. A. (2000). Relation of water transport to leaf gas exchange properties in three mangrove species. *Trees*, 14, 258-262
- Sobrado, M. A. (2007). Relationship of water transport to anatomical features in the mangrove *Laguncularia racemosa* grown under contrasting salinities. *New Phytologist*, 173, 584-591.
- Sobrado, M. A., y S. M. L. Ewe (2006). Ecophysiological characteristics of *Avicennia germinans* and *Laguncularia racemosa* in a scrub mangrove forest at the Indian river lagoon. *Florida. Trees*, 20, 679-687.
- Sobrado, M.A. (2001). Hydraulic properties of a mangrove *Avicennia germinans* as affected by NaCl. *Biologia Plantarum*, 44, 435-438.
- Spalding M, M. Kainuma y L. Collins (2010). *World Atlas of Mangroves*. London, UK and Washington, DC, USA: Earthscan.
- Sperry, J. S., M. T. Tyree y J. R. Donnelly (1988). Vulnerability of xylem to embolism in a mangrove

- vs an inland species of Rhizophoraceae. *Physiologia Plantarum*, 74, 276-283.
- Spurgin L. G., J. C. Illera, T. H. Jorgensen, D. A. Dawson y D. S. Richardson (2014). Genetic and phenotypic divergence in an island bird: isolation by distance, by colonization or by adaptation? *Molecular Ecology*, 23, 1028-1039.
- Takayama, K., M. Tamura, Y. Tateishi, E. L. Webb y T. Kajita (2013) Strong genetic structure over the American continents and transoceanic dispersal in the mangrove genus *Rhizophora* (Rhizophoraceae) revealed by broad scale nuclear chloroplast DNA analysis. *American Journal of Botany*, 100, 1191-1201.
- Tomasini-Ortiz A. C. y E. Martínez-Hernández (1984). Palinología del Eoceno Oligoceno de Simojovel, Chiapas. *Paleontología Mexicana*, 50, 1-49.
- Tomlinson P. B. (2016). *The botany of mangroves*. Second Edition. Cambridge University Press. Cambridge. 418 p.
- Tomlinson, P. B., y Cox, P. A. (2000). Systematic and functional anatomy of seedlings in mangrove Rhizophoraceae: vivipary explained?. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 134, 215-231.
- Tonné, N., H. Beeckman, E. M. Robert y N. Koedam (2017). Towards an unknown fate: The floating behaviour of recently abscised propagules from wide ranging Rhizophoraceae mangrove species. *Aquatic Botany*, 140, 23-33.
- Tonné, N., Koedam, N., Buisson, N., De Mey, J., Beeckman, H., y E. M. Robert (2016). Computed tomography and light microscopy: combining visualisation techniques in the study of mangrove seedling development. *IAWA Journal*, 37, 28-S3.
- Trejo-Torres, J.C., R. Duran, y I. Olmsted. (1993) Manglares de la Península de Yucatán. Pp 660-672 In *Biodiversidad Marina y Costera de México*. S.I. Salazar-Vallejo y N.E. González (eds.) Comisión Nacional de Biodiversidad y CIQRO, México. Pp. 865.
- Twilley R. R. y R. H Rivera-Monroy (2005). Developing performance measures of mangrove wetlands using simulation models of hydrology, nutrient biogeochemistry and community dynamics. *Journal of Coastal Research*, 40, 79-93.

-
- Van Bel, A. J. E. (1990). Xylem-phloem exchange via the rays: the undervalued route of transport. *Journal of Experimental Botany*, 41, 631-644.
- Van der Stocken, T., D. J. R. De Ryck, B. Vanschoenwinkel, E. Deboelpaep, T. J. Bouma, F. Dahdouh-Guebas y N. Koedam (2015). Impact of landscape structure on propagule dispersal in mangrove forests. *Marine Ecology Progress Series*, 524, 95-106.
- Van der Stocken, T., y D. Menemenlis (2017). Modelling mangrove propagule dispersal trajectories using high-resolution estimates of ocean surface winds and currents. *Biotropica*, 49, 472-481.
- Van Vliet, G. J. C. M. (1976). Wood anatomy of the Rhizophoraceae. *Leiden Botanical Series*, 3, 20–25.
- Vázquez-Lule, A. D., P. Santos-González, M. F. Adame. (2009). Caracterización del sitio de manglar Nichupté, en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica. México: CONABIO.
- Vekemans, X. y O J. Hardy (2004). New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*, 13, 921-935.
- Wang, W. Q., L. Ke, N. Tam y Y. S. Wong, (2002). Changes in the main osmótica during the development of *Kandelia candel* hypocotyls and after mature hypocotyls were transplanted in solutions with different salinities. *Marine biology*, 141, 1029-1034.
- Wenqing, W., Z. Yan, S. You, Y. Zhang, L. Chen. y G. Lin (2011). Mangroves: obligate or facultative halophytes? *A rewiew. Trees*, 25, 953-963.
- Wilkinson, T., E. Wiken, J. Bezaury-Creel, T. Hourigan, T. Agardy, H. Herrmann, L. Janishevski, C. Madden, L. Morgan, M. Padilla (2009). *Ecorregiones marinas de América del Norte*. Montreal, Canada: Comisión para la Cooperación Ambiental.
- Wright, S. (1931). Evolution in Mendelian populations. *Genetics*, 16, 97.
- Xiao, Y., W. Wang y L. Chen (2010). Stem anatomical variations in seedlings of the mangrove *Bruguiera gymnorhiza* grown under periodical waterlogging. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205, 499-505.

- Xiao, Y., Z. Jie, M. Wang, G. Lin y W. Wang (2009). Leaf and stem anatomical responses to periodical waterlogging in simulated tidal floods in mangrove *Avicennia marina* seedlings. *Aquatic Botany*, 91, 231-237.
- Yáñez- Espinosa y T. Terrazas (2000). Variación anatómica en la madera y en la corteza de *Annona glabra* L. bajo inundación. *Agrociencia*, 35, 51-63.
- Yáñez-Espinosa, L., T. Terrazas y L. Lopez-Mata (2001). Effects of flooding on wood and bark anatomy of four species in a mangrove forest community. *Trees-Structure and Function*, 15, 91-97
- Yáñez-Espinosa, L., T. Terrazas y G. Angeles (2008). The effect of prolonged flooding on the bark of mangrove trees. *Trees*, 22, 77-86.
- Yáñez- Espinosa, L., G. Angeles, J. López-Portillo y S. Barrales (2009). Variación Anatómica de la Madera de *Avicennia germinans* en la laguna de La Mancha, Veracruz, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 85, 7-15.
- Yáñez-Espinosa, L., y J. Flores (2011). A review of sea-level rise effect on mangrove forest species: Anatomical and morphological modifications, global warming impacts. In: *Case Studies on the Economy, Human Health, and on Urban and Natural Environments*. S. Casalegno (Ed.), In Tech. Croatia. Pp. 253-276.
- Yates E. J., N Ashwath y D. J. Midmore (2002) Responses to nitrogen, phosphorus, potassium and sodium chloride by three mangrove species in pot culture. *Trees* 16, 120-125.
- Youssef, T. y P. Saenger (1996). Anatomical adaptive strategies to flooding and rhizosphere oxidation in mangrove seedlings. *Australian Journal of Botany*, 44, 297-313.
- Zaldívar-Jiménez A., J. A. Herrera-Silveira. y L. Capurro (2000). Soil salinity and community structure of two mangrove forests in Yucatan, Southeastern Mexico. *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, 27, 1707-1710.
- Zaldívar-Jiménez, A., J. A. Herrera-Silveira, C. Coronado-Molina y D. Alonzo-Parra (2004). Estructura y productividad de los manglares en la reserva de biosfera ría Celestún, Yucatán, México. *Madera y Bosques*, 1, 25-35.

Zaldívar-Jiménez, M., J. A. Herrera-Silveira, C. Teutli-Hernández, F. A. Comín, J. L. Andrade, C. Coronado-Molina y R. Pérez- Ceballos (2010). Conceptual framework for mangrove restoration in the Yucatán Peninsula. *Ecological Restoration*, 28, 333-342.

Zimmerman, M. (1983). *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer, Berlin Heidelberg, New York. 339 p.