



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

**Comparación morfo-fisiológica del desarrollo de
los propágulos de manglar de franja y chaparro de
Rhizophora mangle L. de Celestún, Yucatán**

Tesis que presenta

SARA GABRIELA CERÓN AGUILERA

En opción al título de

MAESTRA EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Opción Recursos Naturales)

Mérida, Yucatán, México

2020

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 **Sara Gabriela Cerón Aguilera** titulado “**Comparación morfo-fisiológica del desarrollo de los propágulos de manglar de franja y chaparro de *Rhizophora mangle* L. de Celestún, Yucatán**” fue realizado en la Unidad de Recursos Naturales, en la línea de Servicios Ambientales de la Biodiversidad, en el laboratorio de Fisiología Ambiental de Plantas del **Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.** bajo la dirección del **Dr. José Luis Andrade Torres**, dentro de la opción Recursos Naturales, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

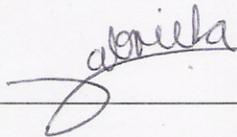
Atentamente.

Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 27 de febrero de 2020

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 de Yucatán, 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.



BIÓL. SARA GABRIELA CERÓN AGUILERA

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad Recursos Naturales del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. con el título “Comparación morfo-fisiológica del desarrollo de los propágulos de manglar de franja y chaparro de *Rhizophora mangle* L. de Celestún, Yucatán” bajo la dirección del Dr. José Luis Andrade Torres.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca nacional otorgada (638177) para realizar mis estudios de maestría, así como por la beca de movilidad 2018 nacional otorgada (291249) para la realización de una estancia.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY) y al laboratorio de Ecofisiología Vegetal por las instalaciones para realizar las mediciones, así como por los gratos momentos y aprendizaje obtenido. A la Unidad de Recursos Naturales por el indispensable apoyo en la compra de material de laboratorio y combustible para realizar las salidas a campo. Al Instituto de Investigación en Zonas Desérticas, UASLP por recibirme tan amablemente y enriquecer este proyecto durante la estancia.

A mi director de tesis, el Dr. José Luis Andrade, por su supervisión, confianza, enseñanza y visión para el proyecto, por los Pecha Kuchas y su amistad. Por compartir su pasión por la comunicación de la ciencia y dedicar horas de ensayo para realizar presentaciones memorables. A mi asesora la Dra. Laura Yáñez, por enseñarme tan paciente y entusiasta las maravillas de la anatomía a pesar de encontrarse a la distancia y con muchas ocupaciones, siempre buscó la forma de apoyar al proyecto. Por su amistad y su disposición para explicar. A mi comité la Dra. Casandra y la Dra. Ileana Echeverría por las aportaciones constructivas, valiosas observaciones y su conocimiento que brindaron al proyecto. También, al Dr. Rodrigo Méndez por mostrarse tan entusiasmado por la viviparidad del mangle rojo, aportar conocimiento y más preguntas para mejorar la tesis.

A la Dra. Diana Cisneros por su invaluable apoyo, conocimiento, confianza, horas de explicaciones e intercambio de ideas para aterrizar ideas. Agradezco infinitamente su invaluable pasión por enseñar, calidez y amistad. A la Dra. Azucena Canto por facilitarme tan amablemente el microscopio óptico para realizar la toma de microfotografías. A la Biól. Rosalina Rodríguez por su disposición y tiempo para enseñarme a usar el programa para la toma de microfotografías.

Al Ing. Roberth Us, por su apoyo técnico para la explicación del uso de equipos, cuestiones logísticas y por el apoyo en el trabajo de campo, así como su amistad. A la Q.F.B Matilde Ortiz, por su paciencia para explicar, el apoyo para la preparación de reactivos y préstamo de material. Al Biól. Néstor Raigoza, por su disposición para el préstamo de material y apoyo técnico. A Gisell Martínez que durante su servicio social me apoyó a terminar la parte anatómica de este trabajo.

Al grupo de Ecofisiología Vegetal por sus valiosos comentarios para enriquecer el trabajo, así como su amistad. A la Cooperativa Manglares de Dzinitun por la renta de canoas y disposición para realizar los viajes a las horas que fueron necesarias.

A mi mamá Lilia y hermana Bere por estar siempre conmigo sin importar la circunstancia, por confiar en mí y brindarme su invaluable y amoroso apoyo para lograr mis sueños. Por su amor, paciencia, conocimiento, consejos, ocurrencias, sonrisas y confianza durante toda mi vida. Por alentarme a siempre creer en mí y dar lo mejor. Simplemente por brindarme la dicha de compartir mi vida con ellas. Sin ustedes, nada de esto sería posible.

A Marypaz por compartir su vida conmigo y su gran apoyo durante todo el proceso de la maestría, desde su conocimiento en cuestiones estadísticas y hasta su tiempo, amor, paciencia, sonrisas y consejos que me alentaron cuando el estrés me ganaba. Por apoyarme en los momentos más difíciles y no dejarme caer.

A mis amigos Julio Salas, Pedro, Francisco, Gerardo Carrillo, Rocío, María Cabañas por su disposición y entusiasmo para acompañarme a campo. Por mancharse las botas, empaparse bajo la lluvia, caer en el agua y desmañarse para conseguir las muestras. Por brindarme su invaluable apoyo cuando me encontraba en la recuperación de mi rodilla. Definitivamente, son parte importante de este proyecto, gracias totales. A Uri, Lalo, Lau, Elia, Susana, David, Isa, Jeen por su amistad y compañía durante el proceso de la maestría. A Eduardo por enseñarme y apoyarme mucho durante el proceso creativo e ilustrativo de las imágenes de la tesis.

A los Incógnitos Conciencia por los comentarios y momentos gratos que pasamos juntos, no solamente platicando sobre nuestros temas de investigación, también por su entusiasmo para que incursionáramos en la divulgación de la ciencia.

A mis queridísimos amigos Víctor, Brandon, Tania, Gabo, Ale, Memo y Loli que pese a la distancia siempre me brindan todo su cariño, consejos, tiempo, sabiduría, ánimos y sonrisas.

A la escalada, por presentarme personas y lugares maravillosos, siempre logra sacar lo mejor de mí y me motiva para seguir adelante. Me ha enseñado a lo largo de los años a dar lo mejor sin importar la situación y la dificultad. Recordando que la constancia y la paciencia son la clave para alcanzar las metas.

DEDICATORIAS

A la vida, por ser tan generosa y apasionante.

Al manglar, que siempre nos recibió con muchas aventuras y nos inundó de más preguntas.

A mi mamá Lilia y hermana Bere, por todo su amor, apoyo, sabiduría y paciencia. Por siempre impulsarme a ser mi mejor versión, una mujer valiente, analítica e independiente que lucha por lo que quiere y a estar en favor de la justicia. También por ser mi hogar y familia en la cual siempre puedo encontrar paz, buenos consejos, fortaleza, comprensión y sonrisas. Las amo tal y como son.

A Tatai y Mamá Lucha que siempre viven en mi corazón y en mis recuerdos.

A Mary que siempre estuvo conmigo brindándome su amor, apoyo, consejos, comprensión, contención y sonrisas. Por ser quien es y por estar en las buenas, re buenas, malas y re malas. Por siempre confiar en mí incluso cuando yo dudaba, impulsándome a ser mi mejor versión. Gracias por ser mi familia. Je t'adore!

A todas las personas que me brindaron su confianza y apoyo, este es un logro en conjunto. Afortunadamente nunca estuve sola en este camino y les agradezco infinitamente por ello.

ÍNDICE

ÍNDICE	i
LISTADO DE CUADROS.....	v
LISTADO DE FIGURAS.....	vii
ABREVIATURAS	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	5
1.1 ANTECEDENTES.....	5
1.1.1. Los manglares	5
1.1.2. <i>Rhizophora mangle</i> L.....	6
1.1.2.1 Viviparidad.....	7
1.1.3. Relación planta madre-propágulo	10
1.1.4. Relaciones hídricas en manglares	10
1.1.4.1 Estado hídrico y nutrientes en propágulos	13
1.1.5 Anatomía de los propágulos.....	15
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	18
1.3. OBJETIVOS.....	19
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	19
1.3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	19
1.4 PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	20

1.5 HIPÓTESIS.....	21
CAPÍTULO II.....	23
2.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
2.1.1 ÁREA DE ESTUDIO	23
2.1.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS ETAPAS.....	24
2.1.3 CARACTERIZACIÓN DEL MICROAMBIENTE.....	25
2.1.4 MEDICIONES FISIOLÓGICAS.....	27
POTENCIAL HÍDRICO PROPÁGULOS-PLANTA MADRE	27
POTENCIAL OSMÓTICO PROPÁGULOS-PLANTA MADRE	27
2.1.5 MEDICIONES MORFOLÓGICAS-ANATÓMICAS	28
2.1.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	29
CAPÍTULO III.....	33
3.1 RESULTADOS.....	33
3.1.1 CARACTERIZACIÓN DEL MICROAMBIENTE.....	33
3.1.2 MORFOLOGÍA-ANATOMÍA DE PROPÁGULOS	36
3.1.3 RELACIONES HÍDRICAS ENTRE ECOTIPOS	46
3.1.4 RELACIONES HÍDRICAS DE PROPÁGULOS	46
3.1.5 RELACIONES HÍDRICAS DE LA PLANTA MADRE	49
3.1.6 RELACIONES HÍDRICAS PROPÁGULO-PLANTA MADRE.....	49
3.1.7 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)	50

3.1.8 ANÁLISIS DE CORRELACIÓN CANÓNICA (CCA)	53
CAPÍTULO IV.	57
4.1 DISCUSIÓN.....	57
4.1.1 MICROAMBIENTE	57
4.1.2 INTERACCIÓN EN EL SISTEMA PLANTA MADRE-PROPÁGULO.....	59
4.1.3 ANATOMÍA DE PROPÁGULOS	63
4.1.4 FUNCIÓN DE LOS IONES K^+ , Cl^- Y Na^+ EN PROPÁGULOS	66
CAPÍTULO V.	69
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	69
5.1 CONCLUSIONES	69
5.2 PERSPECTIVAS.....	71
BIBLIOGRAFIA.....	73
ANEXOS.....	85

LISTADO DE CUADROS

Cuadro 3.1 Atributos del microambiente medidos durante los meses de junio, julio y agosto. T= temperatura, HR= humedad relativa, DPV= déficit de presión de vapor, Ψ_s = potencial hídrico del suelo. Valor máximo ().....	34
Cuadro 3.2 Tamaño de propágulos (cm) correspondientes a la etapa 1, 2 y 3 de manglar chaparro y de franja de acuerdo con Baskin, 2014 y mediciones realizadas*.....	36
Cuadro 3.3 Tamaño de propágulos correspondientes a la etapa 1, 2 y 3 de manglar chaparro y de franja. El tamaño total se refiere al propágulo completo cuando se encontraba dentro del fruto, el expuesto es el tamaño del propágulo que se encontraba únicamente fuera del fruto.	36
Cuadro 3.4 Análisis de densidad de Na^+ , K^+ y Cl^- de la parte media del hipocótilo de propágulos de manglar ecotipo chaparro y franja, en tres etapas de crecimiento. (2mm^2 = área en milímetros). Análisis de concentración relativa de Na^+ , K^+ y Cl^- de la parte media del hipocótilo de propágulos de manglar ecotipo chaparro y franja, en tres etapas de crecimiento. (Wt%= porcentaje de masa).	43
Cuadro 3.5 Variables fisiológicas y morfológicas empleadas en el análisis de componentes principales (PCA), para propágulos de manglar chaparro y de franja; y su correlación entre los componentes 1 y 2 (Ψ_π = potencial osmótico, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo).	51
Cuadro 3.6 Variables fisiológicas y empleadas en el análisis de componentes principales (PCA), para propágulos y hojas de manglar chaparro y de franja; y su correlación entre los componentes 1 y 2 (Ψ_π = potencial osmótico, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo, $\Psi_{\text{mín}}$ = potencial hídrico mínimo).	52
Cuadro 3.7 Coeficientes canónicos estandarizados de las variables anatómicas y fisiológicas de los propágulos, y de las variables microambientales de cada ecotipo (Ψ_π = potencial osmótico, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo, $\Psi_{\text{mín}}$ = potencial hídrico mínimo, Ψ_{suelo} = potencial hídrico del suelo).	54

5.1 Área de médula y córtex de la media el hipocótilo de propágulos de manglar de tipo chaparro y de franja, de tres etapas de crecimiento..... 85

5.2 Variable fisiológicas relacionadas con el estado hídrico de los propágulos y hojas provenientes de la planta madre de tres etapas de crecimiento de dos ecotipos, de R. mangle. ($\Psi\pi$ = potencial osmótico, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo, $\Psi_{\text{mín}}$ = potencial hídrico mínimo). 85

LISTADO DE FIGURAS

- Figura 1.1** Desarrollo de tejidos maternos, embrionarios, diferenciación, germinación, maduración y establecimiento del propágulo *R. mangle*. A) Formación del fruto, B) Integumento recubriendo al embrión y al tejido de reserva para la nutrición, C) Germinación de la semilla. Crecimiento del endospermo y ruptura del micrópilo forzando la salida del embrión a través del integumento, D) Crecimiento del embrión, E) Alargamiento de cotiledones fusionados y ruptura de la cubierta del fruto por la radícula (falsa germinación), F) Cotiledones alargados dentro del fruto, mientras el hipocótilo y la radícula se elongan por fuera hasta alcanzar la madurez, G) Cotiledones remanentes en el fruto cuando el propágulo se desprende con la plúmula, hipocótilo y radícula, H) Formación de raíces adventicias para el establecimiento y par de hojas con el crecimiento del tallo a partir de la plúmula (Tomado y modificado de Baskin & Baskin, 2014). 9
- Figura 1.2** Movimiento del agua en el continuo suelo-planta-atmósfera dado por un gradiente de potenciales hídricos. (Modificado de Tomlinson, 2016). 12
- Figura 2. 1** Ubicación de las zonas de colecta de propágulos de manglar chaparro y franja de *Rhizophora mangle* dentro de la Reserva de la Biosfera Ría Celestún. 23
- Figura 2.2** Comunidad de bosque de manglar y sus diferentes ecotipos de *Rhizophora mangle* L. en la Reserva de la Biosfera Celestún (Modificado de Zaldívar-Jiménez et al., 2010). 24
- Figura 2.3** Fotografías e ilustraciones sobre las etapas de desarrollo de semillas vivíparas del mangle rojo (*R. mangle*). A-B) Germinación del embrión; C-D) Protrusión del propágulo; y E-F) Maduración del propágulo (Modificado de Baskin & Baskin, 2014)...... 25
- Figura 2.4** Esquema de la estrategia experimental para el estudio de las variables fisiológicas en propágulos y hojas de la planta madre. Las etapas 1, 2 y 3 se refieren a las etapas ontogénicas de los propágulos de *R. mangle*. (Ψ_{π} = potencial osmótico, Ψ = potencial hídrico). 28
- Figura 2.5** Esquema de la estrategia experimental para el estudio de anatomía en propágulos. Las etapas 1, 2 y 3 se refieren a las etapas ontogénicas de los propágulos de *R. mangle*. (Ψ_{π} = potencial osmótico, Ψ = potencial hídrico). 29

Figura 3.1 Déficit de presión de vapor (DPV) se muestra en barras, calculados por promedio a cada hora y de 16 días durante los meses de junio, julio y agosto. a) DPV máximo calculado. b) DPV mínimo calculado. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre tipos ecológicos. Letras minúsculas comparan entre meses. 35

Figura 3.2 Tamaño de propágulos (cm) considerando tres etapas de crecimiento de propágulos de manglar ecotipo chaparro y franja. Las líneas verticales representan las desviaciones estándar. Letras minúsculas muestran diferencias significativas dentro de un ecotipo. Letras mayúsculas comparan entre tipos. 37

Figura 3.3 Área de médula y córtex de propágulos de manglar de tipo chaparro y de franja, de tres etapas de crecimiento. Las líneas representan las desviaciones estándar. Letras minúsculas muestran diferencias significativas dentro de un tipo ecológico. Letras mayúsculas comparan entre tipos..... 38

Figura 3.4 Cortes transversales de la parte media del hipocótilo de propágulos de *Rhizophora mangle* de ecotipo de franja y chaparro. a-b: Chaparro, a) etapa 1, b) etapa 2, c) etapa 3; d-f: Franja, d) etapa 1, e) etapa 2, f) etapa 3. Médula (Md), córtex (Ct), endodermis (En), haz vascular (Hv)..... 39

Figura 3.5 Corte transversal de parte media del hipocótilo de propágulos de *Rhizophora mangle* de ecotipo franja y chaparro. a) Primera etapa de crecimiento, manglar de franja; b) segunda etapa de crecimiento, manglar de franja; c) tercera etapa de crecimiento, manglar de franja; d) segunda etapa de crecimiento, manglar chaparro. Haz vascular (Hv), endodermis (En), protoxilema (Px), metaxilema (Mx), xilema (X), floema (f). 41

Figura 3.6 Análisis del espectro de elementos (Na⁺, Cl⁻, K⁺) en la parte media del hipocótilo en propágulos por medio de SEM-EDS. Los picos indican la presencia de los elementos a-c: Chaparro, a) etapa 1, b) etapa 2, c) etapa 3; d-f: Franja, d) etapa 1, e) etapa 2, f) etapa 3. La energía de los rayos-x se midió en kiloelectrovoltios (keV). El número de conteos corresponde a los detectados en el amplificador y analizador multicanal de elementos del SEM-EDS..... 44

Figura 3.7 Microfotografías con la ubicación de iones Na⁺ (color naranja), K⁺ (color azul) y Cl⁻ (color rosa) en el hipocótilo de propágulos del manglar chaparro y de franja. a)

chaparro etapa 1; b) chaparro etapa 2; c) chaparro etapa 3; d) franja etapa 1; e) franja etapa 2; f) franja etapa 3..... 45

Figura 3.8 Comparación del potencial hídrico (máximo y mínimo) foliar cercano al propágulo y de propágulos del manglar chaparro y de franja. Letras mayúsculas distintas señalan diferencias significativas entre los propágulos de diferentes etapas. Letras minúsculas distintas señalan diferencias significativas entre el propágulo y la planta madre. Las barras representan la media y las líneas la desviación estándar..... 47

Figura 3.9 Potencial osmótico foliar cercano al propágulo y de propágulos de manglar chaparro y franja. Letras mayúsculas señalan las diferencias entre las etapas de los propágulos. Letras minúsculas distintas señalan diferencias entre el propágulo y las hojas de la planta madre. Las barras representan la media y las líneas la desviación estándar.48

Figura 3.10 Análisis de componentes principales (PCA) de variables fisiológicas y anatómicas de propágulos de manglar chaparro y de franja. C1= chaparro etapa 1, C2= chaparro etapa 2, C3= chaparro etapa 3, F1= franja etapa 1, F2= franja etapa 2, F3= franja etapa 3..... 51

Figura 3.11 Análisis de componentes principales (PCA) de variables fisiológicas de propágulos y hojas de manglar chaparro y de franja. CH= hoja de la planta madre chaparro, C1P= propágulo de chaparro etapa 1, C2P= propágulo de chaparro etapa 2, C3P= propágulo de chaparro etapa 3, FH= hoja la planta madre de franja, F1P= propágulo de franja etapa 1, F2P= propágulo de franja etapa 2, F3P= propágulo de franja etapa 3. 52

Figura 3.12 Análisis de correlación canónica (CCA) de variables fisiológicas y anatómicas de propágulos de manglar chaparro y de franja. C1= chaparro etapa 1, C2= chaparro etapa 2, C3= chaparro etapa 3, F1= franja etapa 1, F2= franja etapa 2, F3= franja etapa 3. 55

Figura 3.13 Biplot del análisis de correlación canónica (CCA) de variables ambientales del manglar chaparro y de franja así como variables fisiológicas y anatómicas de propágulos. Amed= área de la médula, Acor= área del córtex, K+= potasio, Na+= sodio, Cl-= cloro, $\Psi_{\text{mín}}$ = potencial hídrico mínimo, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo, Ψ_{π} = potencial osmótico, S.sup= salinidad superficial, S.inter= salinidad intersticial. La longitud de los

vectores es una medida de la variabilidad. Las variables dependientes de muestran en rojo y las independientes en verde..... 56

ABREVIATURAS

kPa	Kilo Pascales
MPa	Mega pascales
GA	Glutaraldehído
DPV (kPa)	Déficit de Presión de Vapor
HR (%)	Humedad Relativa
$\psi_{f\text{máx}}$ (MPa)	Potencial hídrico foliar máximo
$\psi_{f\text{mín}}$ (MPa)	Potencial hídrico foliar mínimo
$\psi_{\text{propmáx}}$ (MPa)	Potencial hídrico propágulos máximo
$\psi_{\text{propmín}}$ (MPa)	Potencial hídrico propágulos mínimo
$\psi_{\pi f}$ (MPa)	Potencial osmótico foliar
$\psi_{\pi\text{prop}}$ (MPa)	Potencial osmótico propágulos
ETR	Transporte de electrones
EDS	Energía Dispersiva de Rayos X
MEB	Microscopía Electrónica de Barrido
Na ⁺	Ion Sodio
K ⁺	Ion Potasio
Cl ⁻	Ion cloro

RESUMEN

Rhizophora mangle es una especie con alta plasticidad; debido a ello puede distribuirse a lo largo del gradiente de inundación y salinidad en el bosque de manglar formando ecotipos. Dicha distribución es posible porque presenta diversas adaptaciones fisiológicas y anatómicas, entre la que destaca la viviparidad, donde la planta madre tiene una estrecha relación con los propágulos en crecimiento para proporcionar los nutrientes, el agua y los carbohidratos requeridos. En este estudio, se compararon las relaciones hídricas en el sistema planta madre-propágulo, el área de la médula-corteza y sistema vascular del hipocótilo, así como los iones asociados a la osmorregulación en los propágulos en tres etapas de crecimiento, de dos ecotipos de manglar chaparro y manglar de franja. Se caracterizaron los microambientes y midieron las variables fisiológicas y anatómicas asociadas al potencial hídrico de los propágulos y la planta madre; así como la presencia y cuantificación de los iones Na^+ , K^+ y Cl^- en los propágulos. El manglar chaparro presentó estacionalidad en cuanto al déficit de presión de vapor (DPV). El tamaño de los propágulos presentó diferencias en cada ecotipo de manglar, pero en ambos microambientes los propágulos en la etapa de maduración adquirieron el mismo tamaño del área de la médula y córtex, realizando una compensación. Los propágulos presentaron potenciales hídricos mayores los de las hojas de la planta madre, lo que indicaría que, dependiendo de la etapa y el ambiente, el transporte de agua en el sistema planta madre-propágulo ocurriría vía floema. Sin embargo, la osmorregulación depende del ecotipo, ya que los iones asociados al movimiento del agua y acumulación de reservas disminuyen en propágulos de ecotipo franja, pero no en el chaparro. El conocimiento del papel de las relaciones hídricas y la anatomía durante la viviparidad de esta especie es vital, porque podría ser un modelo de estudio para entender la supervivencia, la productividad y el establecimiento de propágulos para programas de conservación del manglar.

ABSTRACT

Rhizophora mangle L. is a mangrove species distributed along flooding and salinity gradients forming several forest ecotypes. Such distribution is possible because it has various physiological and anatomical adaptations, among which viviparity stands out, where the parent plant has a close relationship with the growing propagules to provide nutrients, water and carbohydrates required. In this study, the objective was compare water relations in the parent plant-propagule system, the cortex-pith area and vascular system of the hypocotyl, as well as the ions related to the osmoregulation in the propagules in three stages of growth, coming from two ecotypes: dwarf mangrove and fringe mangrove. The micro-environmental conditions were characterized and the physiological and anatomical traits related to the water potential of the propagules and the parent plant were measured; also, the ions Na⁺, K⁺ y Cl⁻ were quantified in the propagules. The microenvironment in the dwarf mangrove showed seasonality associated to vapor pressure deficit (VPD). The length of the propagules was different in each mangrove ecotype, nevertheless, the mature propagules acquired the same pith and cortex area, making a compensation in both micro-environments. The propagules had higher water potential than the parent plant leaves that indicates that the transport of water into the system parent plant-propagule depends on the stage of growth and environment, and it occurs by via the phloem. However, the osmoregulation depends on the ecotype, since the ions related to the water transport and accumulation of storage decrease in fringe mangrove propagules, but it does not happen in the same way in the dwarf mangrove. The study of the water relations and anatomy during vivipary of this species is crucial, because it could be a plant model to understand productivity and seedling establishment for mangrove conservation programs.

INTRODUCCIÓN

La especie *Rhizophora mangle* tiene una amplia distribución dentro de la península de Yucatán, donde puede formar bosques completos o encontrarse en asociaciones con otras especies. Esta especie se caracteriza por habitar principalmente en zonas con inundación y salinidad variable. Debido a esto *R. mangle* se distribuye a lo largo del espacio en cuatro ecotipos de manglar en la región, denominados manglar de franja, cuenca, chaparro y petén (Zaldívar-Jiménez, 2010; Clarke & Hannon, 1970; Bunt, 1996). *Rhizophora mangle* es una especie vivípara que forma propágulos como unidad de dispersión. Los propágulos botánicamente corresponden a plántulas, y su tipo de dispersión es hidrócora (Tomlinson, 2016; CONABIO, 2013). Durante el desarrollo de los propágulos, la planta madre funciona como intermediaria proporcionando información sobre el medio en el que se desarrollan, brindándoles agua, iones, nutrientes y carbohidratos, que serán los condicionantes para la pre-aclimatación al ambiente donde se establecerán y crecerán (Pannier & Pannier, 1975; Lotschert & Liemann, 1967).

Esta fase de propágulo unido a la planta madre es crucial para *R. mangle*, debido a que el propágulo podría dispersarse a un lugar con características diferentes al lugar donde se desarrolló. Debido a eso, es importante conocer la cantidad de reservas e iones que dispone, la morfología y en consecuencia la respuesta fisiológica a partir de los estímulos ambientales, ya que esos factores son esenciales para su establecimiento, crecimiento, eventos de competencia (intraespecífica e interespecífica), depredación y maduración de tejidos (Tomlinson, 2016; Krauss *et al.*, 2008).

Durante el desarrollo del propágulo se transporta agua hacia el fruto y posteriormente al propágulo en crecimiento. Para mantener ese transporte se acumulan osmolitos orgánicos e inorgánicos en las vacuolas. Los iones inorgánicos de Na⁺ y Cl⁻ participan en ese proceso como osmolitos, disminuyendo el potencial osmótico a través de un tejido glandular entre el sistema planta madre-propágulo, y dando como resultado un menor potencial hídrico. Sin embargo, se piensa que la alta concentración y acumulación de esos iones podría tener repercusiones durante el desarrollo del propágulo, así como en el metabolismo celular y durante el proceso de preacimatación al ambiente futuro en el cual se establecerá (Zeng *et al.*, 2015; Reef & Lovelock, 2015; Werner & Stelzer, 1990; Pannier & Pannier, 1975; Joshi *et al.*, 1972).

Poco se sabe sobre el contenido de iones del propágulo durante su desarrollo unido a la planta madre, ya que la mayor parte de los estudios se dirigen hacia la fase de establecimiento. En un estudio (Lotschert & Liemann, 1967) se ha mencionado el efecto de altas concentraciones de NaCl sobre la adquisición del ion K^+ en los tejidos de los propágulos, lo que causa una disminución en su absorción, probablemente disminuyendo el éxito en la germinación, el tamaño del hipocótilo, e incluso en etapas posteriores, como la del establecimiento. También, se ha detectado un aumento de cloruros en propágulos unidos a la planta madre, lo cual sugiere un pre-acondicionamiento a la salinidad, pues al aumentar el contenido de osmolitos se promueve el flujo de agua, evitando la desecación de la plántula (Walter, 1961 citado en Joshi & Boshale, 1972). Sin embargo, durante el aumento de osmolitos las células deben mantener un balance de iones entre los compartimentos intracelular y extracelular. Cuando los iones de Na^+ y Cl^- no son totalmente almacenados en las vacuolas y por el contrario se acumulan mayormente en el citosol, alteran la concentración y el equilibrio del K^+ en el citosol; alterando las funciones celulares, como el potencial de membrana, las relaciones hídricas, el crecimiento, las actividades enzimáticas y la expresión de genes tolerantes al estrés hídrico. Debido a ello es importante estudiar el proceso de acumulación de iones en los propágulos en desarrollo de diferentes ecotipos (Flowers *et al.*, 2015; Shabala & Mackay, 2011; Rodríguez-Pérez, 2006; Moreno, 2009; Blumwald *et al.*, 1999).

Así mismo, es importante considerar la anatomía y el funcionamiento del transporte de iones y agua del xilema para entender las relaciones hídricas durante la etapa vivípara del propágulo. Por ejemplo, en plántulas de *R. mangle* sometidas a diferentes concentraciones de NaCl, los vasos diferenciados transportan diferentes concentraciones de Na^+ , Cl^- y K^+ a comparación de los indiferenciados (Werner & Stelzer, 1990). También se conoce que la densidad de vasos y su diámetro en *R. mangle* se ven afectados por el aumento de salinidad en el agua, y no solo eso, los estadios de plántula y adulto también presentan variaciones en los vasos del xilema (Cisneros, 2014; Schmitz, 2006).

Se ha sugerido que el tamaño del propágulo es resultado del efecto maternal y del ambiente, ya que la cantidad de iones que le sean aportados por la planta madre puede modificar el proceso morfogénico del propágulo, así como el transporte de agua por variación en el potencial osmótico. Como en el caso de algunas semillas, la variación

permite que puedan establecerse y crecer en diferentes microambientes (Proffitt *et al.*, 2010; Marshall & Uller, 2007). Debido a la escasa información sobre esta etapa crítica del crecimiento, en esta tesis analicé las relaciones hídricas, la anatomía del xilema, los contenidos de iones y el tamaño de los propágulos en tres etapas de crecimiento pertenecientes a dos ecotipos (franja y chaparro) de *R. mangle*.

CAPÍTULO I

1.1 ANTECEDENTES

1.1.1. Los manglares

Los bosques de manglar son ecosistemas formados principalmente por comunidades vegetales que se encuentran adaptadas a diferentes condiciones de inundación y de salinidad, en zonas intermareales, lagunas y estuarios y cuya distribución mundial es tropical y subtropical (Sandylian & Kathiresan, 2012; Duke *et al.*, 1998; Hutchings & Saenger, 1987). Los manglares son ecosistemas altamente productivos y contribuyen con materia orgánica a la zona costera por medio de las mareas. Además, albergan una exuberante cantidad de flora y fauna, disipan la fuerza de los huracanes, filtran el agua, capturan el dióxido de carbono y son sitios con importancia turística y económica (CONABIO, 2013; López-Portillo & Ezcurra, 2002; Silveira & Ceballos, 1998).

México cuenta con 764,486 ha de manglar, lo cual constituye parte importante del territorio nacional (CONABIO, 2009). La península de Yucatán contiene más de la mitad de los manglares a nivel nacional (54.5%) (CONABIO, 2013) y se caracteriza por tener un clima húmedo-cálido y una estacionalidad definida: a) nortes (noviembre-febrero), b) sequía (marzo - mayo) y c) lluvias (junio - octubre). Las especies más comunes son *Rhizophora mangle* L. (mangle rojo), *Avicennia germinans* (mangle negro), *Laguncularia racemosa* (mangle blanco) y *Conocarpus erectus* (mangle botoncillo) (Valderrama *et al.*, 2014; Zaldívar-Jiménez, 2010; Zaldívar, 2004; Bunt, 1996; Perry *et al.*, 1995).

Una de las características que más distingue a las especies del bosque de manglar, es su capacidad de desarrollarse en suelos con gradientes de salinidad (plantas halófitas); esto es posible debido a su alta plasticidad (Lin & Sternberg, 1992; Castañeda-Moya *et al.*, 2011) y se ve reflejado en caracteres morfológicos, anatómicos y fisiológicos. Este conjunto de variables da como resultado una diferenciación ambiental que ocasiona la formación de gradientes con zonación donde la dominancia de especies responde a las diferentes características ambientales (Kraus *et al.*, 2008; Zaldívar *et al.*, 2004; Ball, 1998; Field *et al.* 1998; Lugo *et al.*, 1998). En consecuencia, las especies se distribuyen en patrones de estructura basados en su capacidad de colonizar nuevos espacios, o por las condiciones ambientales, como disponibilidad de agua en el suelo, salinidad intersticial,

descarga de agua, precipitación, nutrientes, evaporación y nivel de marea, o incluso por las características de los propágulos, como el tamaño, el peso, la forma, etc. (Snedaker, 1982; Rabinowitz, 1978a; Rabinowitz, 1978b; Rabinowitz, 1978c).

1.1.2. *Rhizophora mangle* L.

Rhizophora mangle L., comúnmente llamado mangle rojo, se encuentra dentro del orden de las Malpighiales, perteneciente a la familia Rhizophoraceae, la cual posee una amplia distribución a nivel mundial con 150 especies de distribución pantropical. (Lugo & Snedaker, 1974). La tribu Rhizophorae incluye el género *Rhizophora* (Hogarth, 2007 citado en Tarcila & Machado, 2014). Es una planta halófito facultativa exclusora ultrafiltradora, lo que significa que regula la entrada de sales a través de la membrana de las raíces (Febles-Patron *et al.*, 2007; Walter & Steiner, 1936 citado en Snedaker, 1982), por lo que es capaz de crecer en los litorales donde la salinidad es variable, además del nivel y frecuencia de inundación, debido a su plasticidad fenotípica (Lin & Sternberg, 1992; Castañeda-Moya *et al.*, 2011; Tomlinson, 2016; CONABIO, 2013). Es una planta perenne, con numerosas lenticelas en su tronco, presenta raíces aéreas y viviparidad, esto quiere decir que la semilla germina cuando el fruto se encuentra aún unido a la planta madre. Por tanto, la semilla carece de latencia o dormancia y el crecimiento es continuo, hasta completar el desarrollo y dar lugar a la formación de una plántula o también llamado propágulo (Tomlinson, 2016; Agraz-Hernández *et al.*, 2006).

Las características microtopográficas al interior de las lagunas causan la formación de patrones espaciales diferenciales en la distribución de *R. mangle* relacionados con la sedimentación que causa la elevación del terreno y la salinidad (Thom, 1967). No obstante, otros factores tienen efecto sobre la distribución espacial dando como resultado la conformación de la estructura ecológica del manglar, formando ecotipos (Lugo & Snedaker, 1974). *Rhizophora mangle* tiene la capacidad de colonizar diferentes lugares debido a la dispersión hidrócora de sus propágulos, la capacidad de esta especie para modificar el terreno debido a su establecimiento, estabilizando el sedimento para que otras especies puedan establecerse. Además, es importante reconocer que la competencia intraespecífica e interespecífica, así como la herbivoría, pueden influenciar a

la distribución espacial de las especies de manglar (Ball 2002; Snedaker, 1982; Rabinowitz, 1978).

El manglar de ecotipo franja tiene la dominancia de *R. mangle* o *Laguncularia racemosa*. *Rhizophora mangle* se caracteriza por constituir árboles de gran tamaño de hasta 10 m que forman un dosel cerrado, lo que origina que las etapas jóvenes tengan un desarrollo lento, dada la limitación por luz. Se encuentran en el borde de las lagunas, ríos o costas por lo que continuamente, pese a la estacionalidad, se encuentran inundados. Por otra parte, los árboles del manglar chaparro alcanzan alturas máximas de hasta 2 m y se encuentran distantes de los cuerpos de agua, por lo que su aporte hídrico depende de la precipitación. El tamaño de los árboles chaparros se ha relacionado con el estrés hídrico, altas concentraciones de salinidad intersticial, debido al hidroperiodo y la topografía; y con la limitación de nutrientes, como el fósforo (Snedaker, 1982; Medina, 1999; Fang & Chou, 2008; Zaldivar-Jimenez *et al.*, 2010; Cisneros, 2019).

1.1.2.1 Viviparidad

En *R. mangle* los propágulos presentan un crecimiento continuo, debido a ello la semilla carece de latencia y el embrión sigue su desarrollo mientras se encuentra aún unido a la planta madre (Tomlinson & Cox, 2000). La viviparidad parece ser el resultado de la adaptación al medio ambiente inundado y salino durante condiciones climáticas uniformes que caracterizaron ciertos periodos geológicos tempranos (Shi *et al.*, 2005). Esta adaptación reproductiva evita que los embriones sufran algún daño y es común en plantas que se distribuyen en zonas intersticiales, como el bosque del manglar. Además, se considera que es una ventaja para establecerse en zonas inundadas porque al ser dispersada una plántula y no una semilla, permite que pueda adaptarse de mejor manera al ambiente (Tomlinson 2016; Youssef & Saenger, 1996; Elmqvist & Cox, 1996).

Durante el desarrollo vivíparo del propágulo se distinguen tres etapas del desarrollo: 1) la embriogénesis, después de la fertilización de uno de los cuatro óvulos se forma el embrión y ocurre la primera germinación, en la cual la semilla rompe la testa y comienza la extensión del cotiledón, la diferenciación y el almacenamiento de almidón, este proceso ocurre en un periodo no mayor a dos meses (Figura 1.1A-D); 2) la protrusión del propágulo o germinación, ocurre regularmente cuando el fruto alcanza un tamaño

aproximado de 1.8 cm, el hipocótilo sufre una embriogénesis tardía y la radícula comienza a emerger del fruto, a esta fase se le denomina “germinación” debido a su parecido con la germinación de las semillas comunes donde se observa la aparición de la raíz (Figura 1.1E); 3) la maduración, los cotiledones se elongan y el hipocótilo se extiende produciendo un eje elongado. La maduración del propágulo consiste en una plúmula de tamaño pequeño, y el hipocótilo alargado toma una coloración verde fuerte y es generalmente curvo con una raíz lateral distal, una radícula que no se encuentra desarrollada y la formación de numerosas lenticelas (Figura 1.1F-G) (LaRue & Muzik, 1954 citado en Tomlinson, 2000; Tobe & Raven, 1988; Juncosa, 1982; Sussex, 1975). La etapa tres, correspondiente a la maduración, puede tener una duración desde el mes cuatro del desarrollo, hasta un periodo de 8-12 meses (Smith & Snedaker, 1995; Juncosa 1982).

Hasta el momento se sabe que el tamaño máximo del propágulo varía dependiendo de la especie, por ejemplo, el tamaño registrado del propágulo aún unido a la planta madre en *Rhizophora mangle* es de 23 cm, en contraste con el *Rhizophora mucronata* que llega alcanzar un tamaño máximo de hasta 1 m. Otros factores que pueden afectar el tamaño final del propágulo es el estrés hídrico, las presiones ambientales sobre la planta madre, el genotipo materno, los nutrientes y las reservas que sean aportadas desde la etapa de embrión (Proffitt & Travis, 2010; Smith & Snedaker, 1995; Roach & Wulff, 1987; Juncosa 1982; Sussex, 1975). Sin embargo, falta conocer más sobre la viviparidad en las especies vegetales silvestres como los manglares, y los efectos maternos y/o ambientales sobre los propágulos y plántulas establecidas a escala intra-específica en diferentes condiciones ambientales.

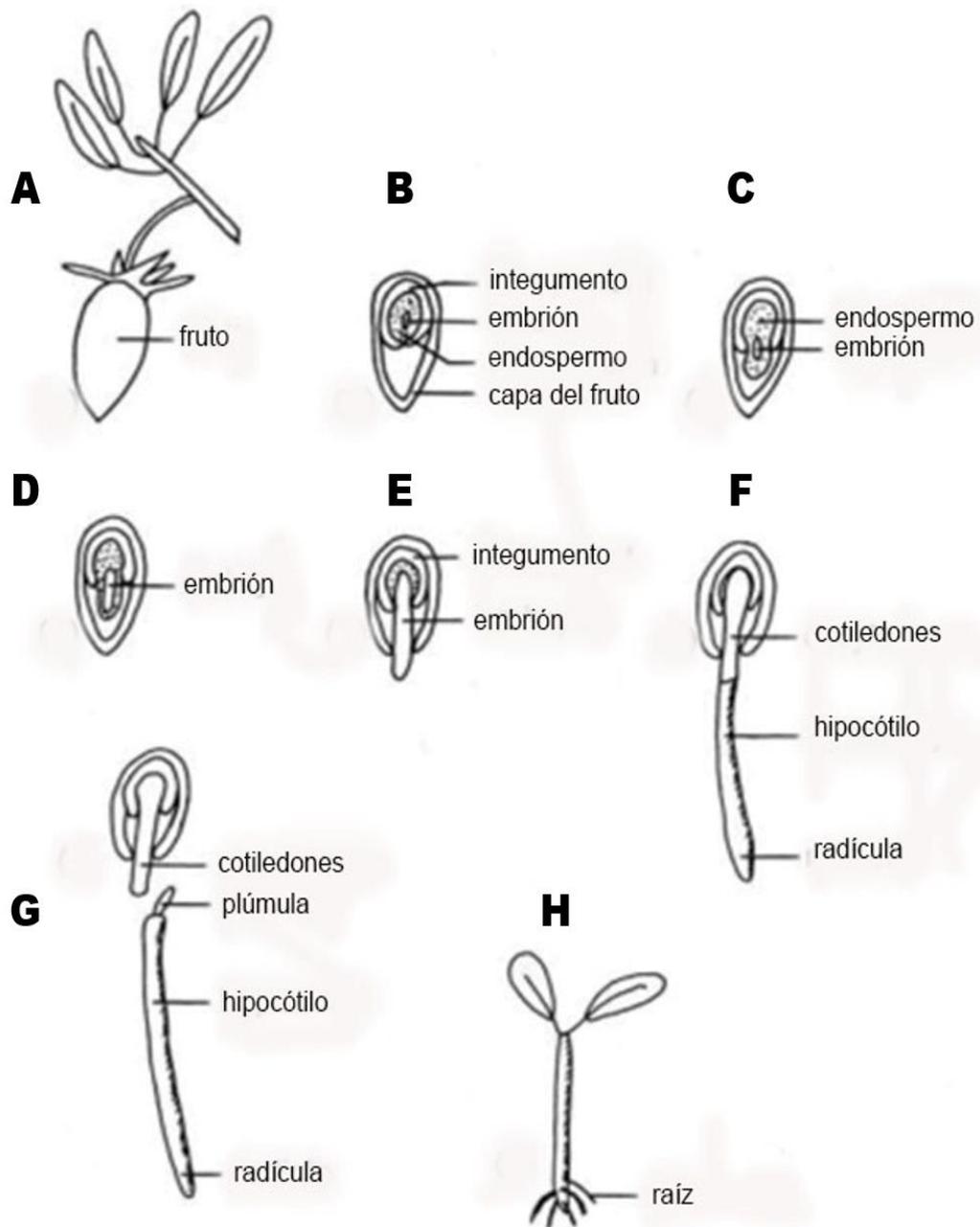


Figura 1.1 Desarrollo de tejidos maternos, embrionarios, diferenciación, germinación, maduración y establecimiento del propágulo *R. mangle*. A) Formación del fruto, B) Integumento recubriendo al embrión y al tejido de reserva para la nutrición, C) Germinación de la semilla. Crecimiento del endospermo y ruptura del micrópilo forzando la salida del embrión a través del integumento, D) Crecimiento del embrión, E) Alargamiento de cotiledones fusionados y ruptura de la cubierta del fruto por la radícula (falsa germinación), F) Cotiledones alargados dentro del fruto, mientras el hipocótilo y la radícula se elongan por fuera hasta alcanzar la madurez, G) Cotiledones remanentes en el fruto cuando el propágulo se desprende con la plúmula, hipocótilo y radícula, H) Formación de raíces adventicias para el establecimiento y par de hojas con el crecimiento del tallo a partir de la plúmula (Tomado y modificado de Baskin & Baskin, 2014).

1.1.3. Relación planta madre-propágulo

Durante la formación y crecimiento del propágulo cuando éste todavía se encuentra unido a la planta madre, la madre no solamente tiene efecto sobre el tamaño de la semilla, también repercute a largo plazo sobre el propágulo, plántula y la planta adulta. Por ello, la asignación de recursos maternos a los propágulos tiene consecuencias ecológicas importantes (Roach & Wulf, 1987).

Además, ocurren diferentes procesos fisiológicos en los cuales la planta madre no solamente tiene la función de aportar nutrientes, reservas y agua. Asimismo, la planta madre es un intermediario entre las condiciones abióticas del manglar y el propágulo. El individuo maternal amortigua y brinda información, que se verá reflejada en su fisiología, morfología y anatomía y pre-acondiciona al propágulo para incrementar gradualmente la resistencia a la salinidad del medio al que serán dispersados (Panier & Panier, 1975).

1.1.4. Relaciones hídricas en manglares

Las propiedades y estructura polar del agua permiten que pueda actuar como disolvente, transportador de moléculas, regulador de temperatura, entre otras. El agua en las plantas constituye el 70%-95% de su biomasa e interactúa en diversas funciones fisiológicas como, el mantenimiento de la columna de agua debido a la transpiración relacionada con la toma de dióxido de carbono; el transporte de azúcares, proteínas, nutrientes, reguladores del crecimiento (McElrone *et al.*, 2013; Lambers *et al.*, 2008).

El agua es incorporada desde el suelo, se transporta en la planta a través del xilema hacia todos los órganos y es liberada por las hojas a la atmósfera. Para asegurar la continuidad en el flujo de agua y evitar el bloqueo de la corriente transpiratoria lo que puede comprometer la vida de la planta. Por tanto, se modifica la estructura y función del xilema y del tejido extra-xilemático formando un gradiente de potencial hídrico (Ψ), donde cero refleja el potencial del agua pura y mientras más alejado esté un sistema del valor del agua pura, más negativo será dicho potencial. En consecuencia, la tensión en la columna a medida que el agua es transportada en el sistema suelo-planta-atmósfera y más se aleja de la fuente de absorción del agua y el Ψ es cada vez más negativa. La principal fuente de tensión sobre la columna de agua es la transpiración asociada a la apertura de

estomas durante la fotosíntesis y la regulación de la temperatura (Figura 1.2) (Lambers, 2008; Kirkham, 2005; Tyree, 2003). En plantas, el Ψ se mide en unidades de presión (MPa) y se puede descomponer en tres principales componentes: el potencial de presión (Ψ_p), que es debido a la transpiración y apertura estomática y puede presentar valores positivos dentro de la célula (turgencia) y negativos en el xilema (tensión); el potencial osmótico (Ψ_π), que es debido a las diferencias de concentraciones de iones entre los compartimentos anatómicos en los cuales se divide el protoplasma celular (vacuola y contenidos celulares intra y extramembranales) y el tejido vascular de las plantas (apoplasto, que son los espacios intercelulares externos a la membrana y pared celular y simplasto, que son los conductos limitados por membranas y conectados por plasmodesmos). Este presenta valores negativos debido a la concentración de solutos. Finalmente, el potencial debido a diferencias gravitacionales (Ψ_g), la causante del movimiento del agua hacia abajo a menos de que exista una fuerza opuesta, sin embargo, este componente sólo tiene relevancia en comparaciones de árboles de gran altura (cerca de los 100 m) (Taiz & Zeiger, 2002; Lambers, *et al.*, 2008; Torres *et al.*, 2018).

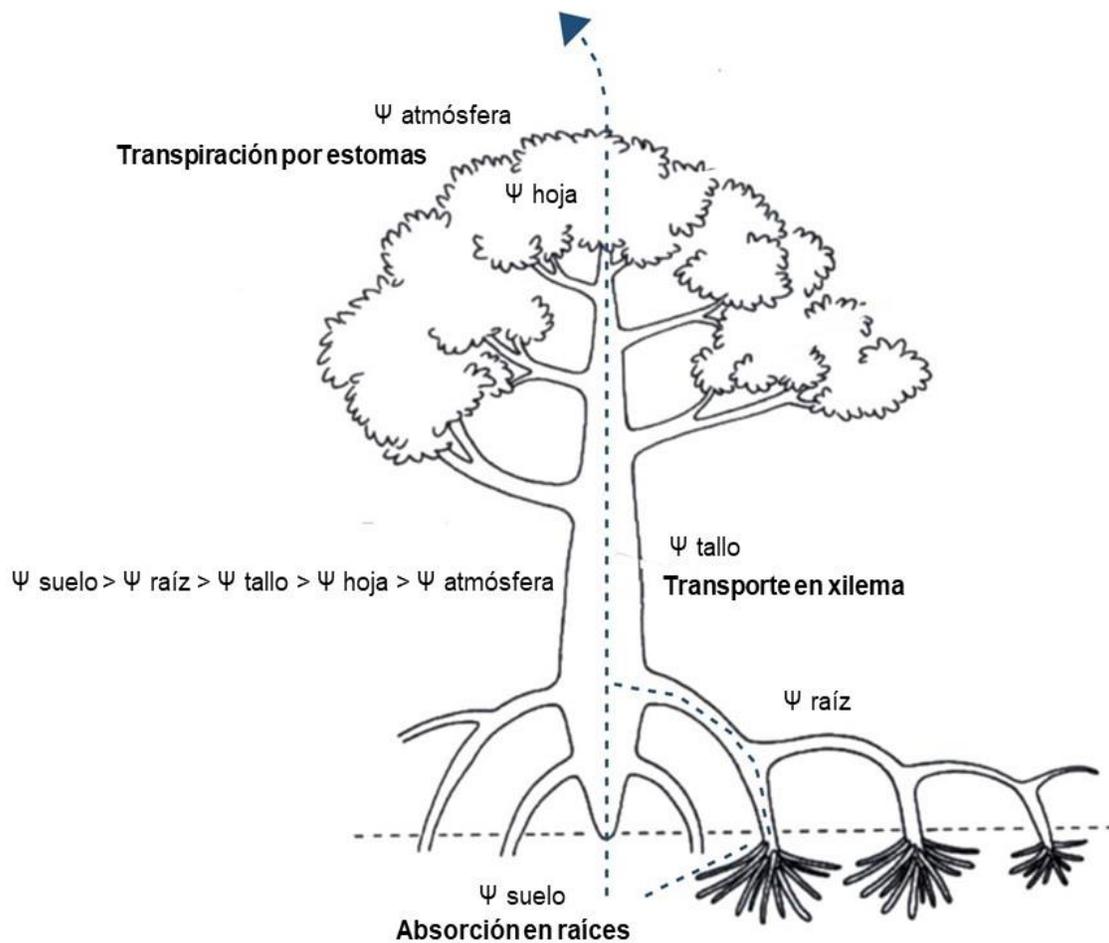


Figura 1.2 Movimiento del agua en el continuo suelo-planta-atmósfera dado por un gradiente de potenciales hídricos. (Modificado de Tomlinson, 2016).

Además, se debe considerar que el agua que se encuentra en el suelo contiene solutos, aumentando su potencial osmótico (Ψ_{π}), causando que la disponibilidad del agua sea menor y, en consecuencia, el potencial hídrico se vuelva más negativo. Se sabe que el potencial hídrico mínimo ($\Psi_{\text{mín}}$) de *R. mangle*, tanto entre distintos ecotipos de bosque de manglar, como el de franja y chaparro, en plantas adultas como en plántulas, es diferente, y se encuentra correlacionado con la salinidad intersticial del suelo, dependiendo del ecotipo de manglar (Cisneros, 2014).

Rhizophora mangle habita en zonas inundadas y con variaciones en la salinidad debido a las zonación producida por la geomorfología local; esta especie no solamente debe ser eficiente para la obtención y el uso del agua en la planta adulta y como plántula establecida, sino también para transportar agua hacia los propágulos unidos a la planta madre (Tomlinson, 2016; Krauss & Ball, 2013). Dado que los manglares pueden regular la entrada de iones y agua por la raíz ya que generalmente la mayoría de las plantas la endodermis la cual se encuentra suberizada y por medio de la banda de Caspary, se espera que los individuos de *R. mangle* sean capaces de controlar la toma de agua e iones para mantener el transporte de agua (Azcárraga *et al.*, 2010). Sin embargo, falta mayor información sobre el estado hídrico de los propágulos antes de que se desprendan de la planta madre ya que es una fase de importancia en su ciclo de vida (Werner & Stelzer, 1990; Polaina, 1990; Pannier & Pannier, 1975).

1.1.4.1 Estado hídrico y nutrientes en propágulos

En diversos trabajos se ha demostrado el papel que tienen algunos iones, como osmolitos, para mantener la turgencia y regular el potencial osmótico durante la toma de agua en plantas halófitas. Por ejemplo, acumulando iones dentro de vacuolas (Zeng *et al.*, 2015) o en algunos casos, como en *Laguncularia racemosa* y *Avicennia germinans* que realizan un intercambio de los iones de K^+ , Na^+ y Cl^- del parénquima axial a los vasos del xilema para mantener el potencial osmótico entre el simplasto y el apoplasto (López-Portillo *et al.*, 2014). El uso de los iones Na^+ y Cl^- como osmolitos inorgánicos representa un menor costo en comparación a la síntesis y la acumulación de osmolitos orgánicos como la prolina, sin embargo, a altas concentraciones estos osmolitos pueden ser citotóxicos. Esa acumulación se concentra en diferentes tejidos dependiendo de su actividad metabólica, distribuyéndose en diferente concentración en tejidos reproductivos, raíces y/o ramas (Zeng *et al.*, 2015).

El embrión y propágulo de *R. mangle* dependen directamente de la planta madre. Ésta les proporciona los nutrimentos y el agua que requieren durante su desarrollo. Para el mantenimiento del flujo de agua en el sistema planta madre-propágulo, se promueve el aumento del potencial osmótico a través de un tejido glandular que se encuentra en el fruto y se conecta con el cuerpo cotiledonario (Pannier & Pannier, 1975; Lotschert &

Liemann, 1967; Parida & Jha, 2010). Este tejido tiene la función de transportar agua activamente hacia el hipocótilo del propágulo y de recolectar carbohidratos provenientes del órgano fuente (hojas de la planta madre), asegurando la nutrición, crecimiento y mantenimiento de la columna de agua hacia el propágulo (Pannier & Pannier, 1975; Proffitt *et al.*, 2006).

El ion K^+ conforma gran parte de la masa seca de las plantas (6-10%), por otra parte, cumple funciones metabólicas importantes como la activación enzimática, contribuye al crecimiento, la elongación celular, el fototropismo, la respuesta a los cambios ambientales y, debido a su alta movilidad como ion, contribuye especialmente para dirigir procesos osmóticos y mantener la turgencia en las células. Debido a las diversas funciones que desempeña en las plantas glicófitas, la concentración del K^+ es controlada ya que en altas concentraciones de Na^+ se puede ver afectado el metabolismo de la planta (Zeng *et al.*, 2015; Hafsi *et al.*, 2014; Dreyer & Uozumi, 2011); sin embargo, el Na^+ en *R. mangle* es considerado un macronutriente (Werner & Stelzer, 1990). Esto implica que la selección haya favorecido desde las etapas más tempranas de la evolución de la vida el desarrollo de proteínas que funcionan como bombas de Na^+ y K^+ .

La disminución en la absorción de K^+ por el incremento de los iones Na^+ y Cl^- en el suelo, podría afectar el desarrollo del hipocótilo y la germinación (protrusión del fruto) del propágulo, teniendo repercusiones en etapas posteriores como el establecimiento. Se ha hipotetizado que esto probablemente se relaciona con la tolerancia a la salinidad del propágulo, ya que la toma de este ion permite que se pueda desarrollar adecuadamente cuando se encuentra unido a la planta madre y en etapas posteriores cuando se dispersa para su establecimiento (Joshi, 1972; Pannier & Pannier, 1975; Wang *et al.*, 2002). Además, se ha evaluado la cantidad de Na^+ y Cl^- entre el cotiledón y el hipocótilo del propágulo, y se ha sugerido que en el cotiledón ocurre una regulación de iones para mantener la turgencia del propágulo y se comprobó que los niveles de estos iones son mayores en el cotiledón, a comparación del hipocótilo (Lotschert & Liemann, 1967; Pannier & Pannier, 1975).

Dependiendo del ambiente donde se desarrolle, una planta de manglar adquirirá cierto rango de tolerancia a la salinidad. En algunas investigaciones se discute esa adaptación del hipocótilo cuando aún se encuentra unido a la planta madre, debido a que cuando

éste se desprende y se dispersa, el medio tendrá valores osmóticos más negativos que el medio debido a la concentración anticipada en osmolitos compatibles con el funcionamiento celular a concentraciones mayores que la salinidad del medio donde finalmente se establecerán (Lotschert & Liemann, 1967; Joshi, 1972; Pannier & Pannier, 1975).

1.1.5 Anatomía de los propágulos

Los propágulos de *Rhizophora mangle* son dispersados por el agua debido a la capacidad para flotar que confiere el aerénquima. El aerénquima es tejido parenquimático que se caracteriza por la presencia de espacios intercelulares de forma regular, que facilitan la conducción de gases como el oxígeno y el dióxido de carbono, y proporciona soporte al propágulo. Los propágulos pueden permanecer por un periodo de hasta 12 meses flotando y seguir siendo capaces de establecerse. Además, contienen material de reserva otorgado por la planta madre, lo que permite que pueda hacer uso de dichas reservas y así dispersarse por mayor tiempo; debido a que podría llegar a un sitio con condiciones ambientales diferentes al lugar donde se desarrolló para establecerse (Tomlinson, 2016; Proffitt, 2010; Das, 2001; Sousa *et al.*, 2003; Lin & Sternberg, 1995; Rabinowitz, 1978; Davis, 1940 citado en Rabinowitz, 1978). Es por ello que la dispersión hidrócora permite que la especie pueda distribuirse ampliamente e incluso podría llegar a establecerse en lugares que han sufrido daños antropogénicos o naturales (huracanes) reestableciendo las poblaciones (Baskin & Baskin, 2014).

El tamaño que el propágulo alcance al término de la madurez puede conferir una ventaja durante la dispersión ya que podría encontrarse con obstáculos como las raíces de los adultos o incluso un nivel bajo de inundación. Se ha observado que los propágulos de *Rhizophora apiculata* y *R. mucronata* presentan una relación entre el tamaño y cantidad de reservas; siendo los de mayor tamaño los que contienen a su vez más carbohidratos de reservas como el almidón (Boizard & Mitchell, 2011; Dissanayake *et al.*, 2014; Proffitt & Milbrandt, 2006; Drexler, 2001). En consecuencia, estas características hacen que exista competencia intraespecífica, afectando el crecimiento inicial. En otro estudio para *R. mangle* se explicó el tamaño del propágulo relacionado con la latitud, encontrando que a mayor latitud los propágulos tendían a presentar un mayor tamaño; y concluyen que el tamaño podría brindar ventajas durante la competencia intraespecífica dada durante la

dispersión, ya que el tamaño determinará los sitios que pueda colonizar (Dangremond & Feller, 2016).

El nivel y frecuencia de la inundación puede modificar la concentración de la salinidad y en consecuencia como respuesta fisiológica y anatómica muchas de las especies de manglar tienen una gran plasticidad para aumentar la densidad de los vasos, se ha visto que eso se encuentra relacionado con el crecimiento, la adquisición de nutrientes, agua, transporte de moléculas y fijación de carbono (Yáñez-Espinosa & Flores, 2011).

Una vez dispersados los propágulos el nivel y tiempo de inundación, así como la salinidad del agua tendrán efectos sobre la utilización de los carbohidratos de reserva, así como de otros nutrientes que puedan encontrarse almacenados en el hipocótilo (Dissanayake, 2014). Para *Rhizophora stylosa* se sabe que el uso de reservas se encuentra relacionado con la tasa fotosintética que presenta una vez que se encuentra establecido; los que presentan tasas fotosintéticas elevadas significa que realizaron un consumo efectivo de carbohidratos de reserva y el periodo de inundación no fue prolongado (Chen & Wang, 2017; Wang *et al.*, 2011). Pese a esto se deben dirigir los estudios hacia los propágulos de *R. mangle* porque probablemente presentan respuestas fisiológicas y anatómicas diferentes ante las condiciones microambientales y ambientales dependiendo de la zona es por ello que es importante considerar la falta de información.

Por otra parte, el estudio de la anatomía del xilema y las relaciones hídricas en manglares ha llamado la atención de diversos grupos de trabajo debido a que por su alta plasticidad pueden crecer en gradientes de salinidad e inundación. Por ello, que se han realizado investigaciones para conocer las estrategias de transporte de agua a través del sistema vascular con relación al ambiente; debido a su repercusión en el crecimiento, toma de nutrientes y transporte de moléculas resultantes de la fotosíntesis. Estos estudios se han realizado principalmente en plantas adultas y, en segundo lugar, en plántulas establecidas (Cisneros, 2014; Yáñez-Espinosa *et al.*, 2009; Yáñez-Espinosa *et al.*, 2008; Schmitz *et al.*, 2006; Yáñez-Espinosa *et al.*, 2004; Yáñez-Espinosa *et al.*, 2001; Melcher *et al.*, 2001; Scholander, 1968).

En árboles adultos de *Rhizophora mucronata* aumenta la densidad de los vasos conforme la salinidad, también. La plasticidad en la densidad de los vasos con variaciones en la

salinidad sugiere que se desarrolla un mecanismo para transportar agua de manera segura (Schmitz, 2006). Por otra parte, en plántulas y adultos de *R. mangle* se observaron diferencias entre estadios, ya que las primeras presentaron una mayor cantidad de vasos, pero de menor tamaño. Esta estrategia asegura el transporte de agua y solutos hacia la totalidad de la plántula en el caso dado de que se formen embolismos en los vasos del xilema. Por ejemplo, debido a la alta concentración de salinidad algunos vasos sufrirán obstrucciones, pero los vasos circundantes podrán continuar con el transporte. Es por esto que se dice que las plántulas de *R. mangle* optan por un sistema más seguro y menos eficiente ya que es una etapa crítica en el crecimiento (Cisneros, 2014).

Sin embargo, falta mayor información sobre el sistema de transporte de agua en los propágulos cuando se encuentran unidos todavía a la planta madre. Esto podría brindar información sobre su desarrollo y las posibles diferencias entre etapas y ecotipos. Por las diferencias encontradas en la península de Yucatán entre ecotipos, consideramos que este sistema podría ser un modelo para estudiar la inversión maternal durante el desarrollo de propágulos, en donde dos ambientes contrastantes podrán modificar la relación madre-propágulos y la estructura y función de los descendientes. El transporte de nutrientes hacia los propágulos ocurre conforme se desarrolla el sistema vascular; sin embargo, no se conocen las diferencias sobre el transporte de nutrientes y agua en propágulos durante su desarrollo de diferentes ecotipos. Lo que resulta importante conocer debido a dos cuestiones: 1) la hipótesis que sugiere la adquisición de tolerancia a la salinidad durante su crecimiento con la planta madre y 2) independientemente de la plasticidad de la especie, los propágulos desarrollados en dos microambientes diferentes pudieran presentar estrategias distintas que sería de utilidad conocer para plantear actividades de restauración en el manglar con *R. mangle* (Joshi *et al.*, 1972; Lotscher & Liemann, 1967).

1.2 JUSTIFICACIÓN

Varios estudios han aportado información sobre las especies que conforman el bosque del manglar desde la perspectiva fisiológica y anatómica, en especial de *Rhizophora mangle*. La relación funcional entre la planta madre y la inversión en propágulos podrá funcionar como un modelo ecológico y evolutivo para poder interpretar que estrategias pueden tener las plantas para poder maximizar su adecuación futura y asegurar un mayor éxito reproductivo. Es por esto que en esta tesis se realizó una comparación morfo-fisiológica de los propágulos pertenecientes a diferentes ecotipos de *R. mangle* y que habitan en condiciones contrastantes de salinidad.

En esta investigación, por tanto, se analizaron las diferencias entre los propágulos de dos ecotipos de manglar de *R. mangle*, franja y chaparro, para evaluar las diferencias en el tamaño, los porcentajes de los iones Na^+ , Cl^- y K^+ presentes en el sistema vascular, en las relaciones hídricas y el sistema vascular durante las etapas de germinación, protrusión del fruto y madurez, y las posibles relaciones con las variables ambientales. De esta manera, se tendría una mayor comprensión de una fase del ciclo de vida crucial para las poblaciones de *R. mangle*, lo que además permitirá aportar mayor información sobre la biología y el funcionamiento de esta especie, para programas de conservación y restauración de estos bosques.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar algunas características fisiológicas y anatómicas del sistema vascular de propágulos de *Rhizophora mangle* unidos a la planta madre en tres etapas de crecimiento, y en dos tipos estructurales de *Rhizophora mangle*; manglar chaparro y de franja en la Reserva de la Biósfera Ría Celestún, Yucatán.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Describir la morfología y anatomía de propágulos de *R. mangle* durante tres etapas de desarrollo del manglar chaparro y de franja.
- Evaluar el estado hídrico y el potencial osmótico en hojas de la planta madre cercanas a los propágulos, y en propágulos de *R. mangle* durante tres etapas de desarrollo del manglar chaparro y de franja.
- Evaluar la concentración de iones Na^+ , K^+ y Cl^- en el sistema de transporte de agua, así como las diferencias anatómicas de propágulos de *R. mangle* durante tres etapas de desarrollo del manglar chaparro y de franja.
- Caracterizar el microambiente de manglar chaparro y de franja, midiendo variables de salinidad, potencial hídrico del suelo, temperatura y luz.

1.4 PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Qué diferencias anatómicas y fisiológicas existen en los propágulos de *Rhizophora mangle* en dos tipos de manglar contrastantes (chaparro y franja)?

¿Qué efectos tiene la salinidad en cada sitio sobre el tamaño de los propágulos, el contenido de iones de Na^+ , Cl^- y K^+ , la densidad de vasos del xilema y el área de la médula y córtex?

Y ¿Cuáles son las diferencias en solutos y relaciones hídricas entre etapas de los propágulos? Por tanto, ¿Ocurre una regulación de solutos entre la planta madre y los propágulos en diferentes microambientes durante las tres etapas de crecimiento?

1.5 HIPÓTESIS

- El manglar chaparro tiene en general una mayor concentración de salinidad del agua que el manglar de franja; por tanto, se espera que los propágulos en las tres etapas de crecimiento (germinación, protrusión del fruto y maduración) del manglar chaparro de *R. mangle* posean una mayor concentración de iones de Na^+ y Cl^- y por ende menos K^+ en el sistema vascular y en las células del parénquima.
- Debido al estrés hídrico asociado a cada ambiente, además, se espera que en el manglar chaparro el área total de los propágulos, conformada por médula y córtex, sea mayor durante las tres etapas, presenten menor potencial hídrico y en consecuencia un mayor potencial osmótico; en comparación a los propágulos desarrollados en el manglar de franja.
- Finalmente, se espera que el potencial hídrico de los propágulos aumente conforme el crecimiento y sea consistentemente mayor en comparación con el potencial hídrico de las hojas de la planta madre, por su característica como órgano sumidero al cual se le suministran recursos.
- Por otra parte, el potencial osmótico será regulado por la planta madre, pues a medida que el propágulo crezca, el potencial osmótico disminuirá y será menor en los propágulos del manglar chaparro que en los de manglar de franja, debido a la mayor concentración de salinidad en el microambiente del manglar chaparro, que obligará a una mayor concentración de osmolitos en el medio de mayor salinidad.
- El microambiente en el manglar chaparro será más variable que el de franja; presentando un mayor déficit de presión de vapor entre los meses evaluados, mayor salinidad y por ende menor potencial hídrico del suelo.

CAPÍTULO II.

2.1 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.1 ÁREA DE ESTUDIO

La Reserva de la Biosfera Ría Celestún se encuentra ubicada en la Península de Yucatán en dirección noroccidental en el estado de Yucatán y Campeche (Figura 2.1) (CONABIO, 2002). En la laguna de Celestún se reconocen tres zonas de acuerdo al gradiente de salinidad: la parte interna se caracteriza por tener valores bajos de salinidad en la columna de agua (5 g kg^{-1} a 12 g kg^{-1}), por la mayor influencia de manantiales; la parte sur se localiza la zona de la boca, caracterizada por salinidad marina ($>30 \text{ g kg}^{-1}$); la tercera zona localizada en el centro de laguna corresponde a la del puente, presenta valores intermedios de salinidad (15 g kg^{-1} a 30 g kg^{-1}), es considerada una zona de mezcla entre zonas adyacentes (Figura 2.2) (Herrera-Silveira, 1994; CONABIO, 2002).

La Reserva se caracteriza por albergar una gran diversidad de ambientes, incluyendo manglares, petenes, duna costera, franja de selva baja subcaducifolia y selva baja inundable. Además, la vegetación se conforma de comunidades vegetales tropicales donde se puede observar la presencia del manglar chaparro, manglar de franja y petenes (CONABIO, 2002).

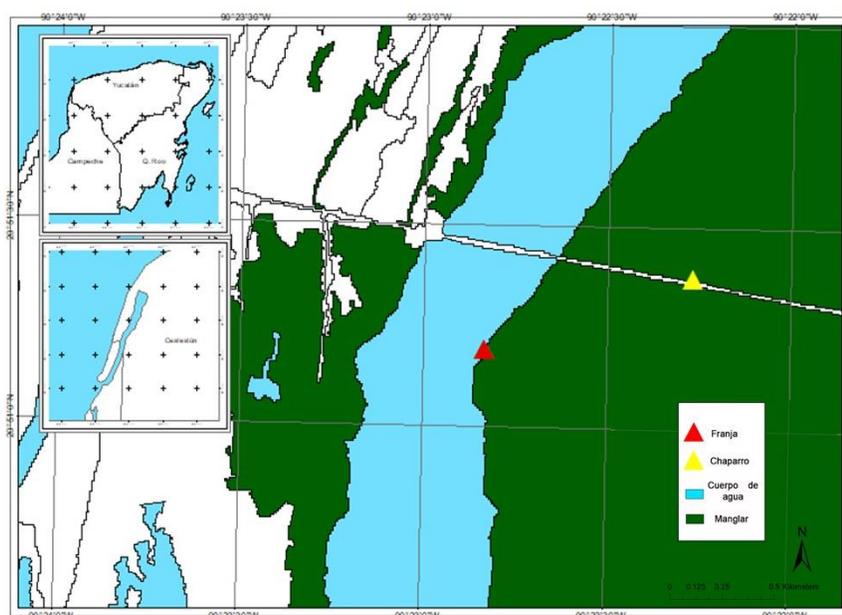


Figura 2.1 Ubicación de las zonas de colecta de propágulos de manglar chaparro y franja de *Rhizophora mangle* dentro de la Reserva de la Biosfera Ría Celestún.

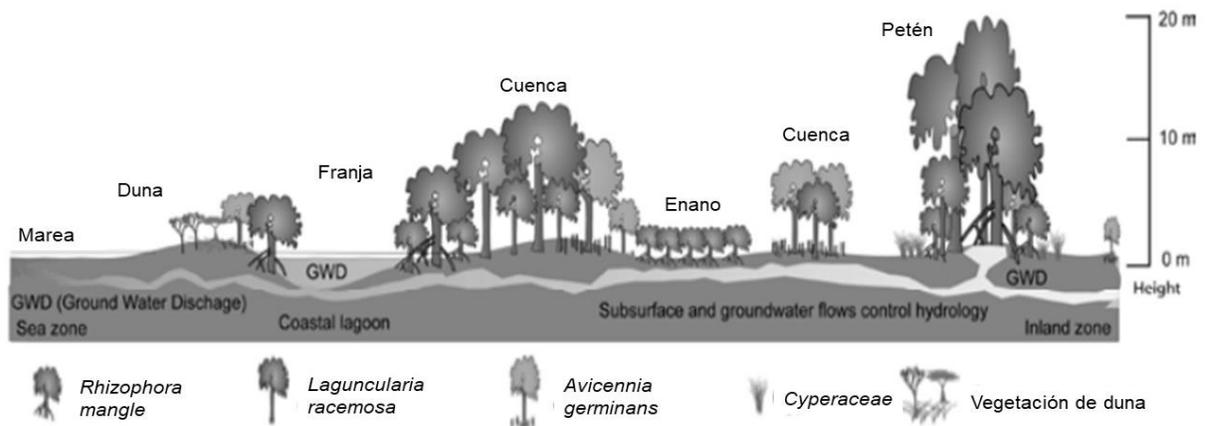


Figura 2.2 Comunidad de bosque de manglar y sus diferentes ecotipos de *Rhizophora mangle* L. en la Reserva de la Biosfera Celestún (Modificado de Zaldívar-Jiménez et al., 2010).

Debido a la presencia del manglar de tipo chaparro y de franja en buen estado de conservación en la Reserva de la Biosfera Ría Celestún, se llevó a cabo el muestreo y obtención de datos de cada microambiente. El primero se encuentra cercano a la zona del puente (20°51'11.6" N, 90°22'49.4" O) y el segundo se localiza a un costado de la carretera Kinchil-Celestún (20°51'22.5" N, 90°22'15.5" O). Se realizaron en total cinco muestreos, durante los meses de marzo, abril, junio y agosto de 2018 y marzo de 2019.

2.1.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS ETAPAS

Las tres etapas colectadas fueron consideradas según la literatura (Baskin & Baskin, 2014; LaRue & Muzik, 1954 citado en Tomlinson, 2000; Smith & Snedaker, 1995; Tobe & Raven, 1988; Juncosa, 1982; Sussex, 1975). La primera etapa constó de frutos cuyo tamaño sobrepasara los 1.8 cm de largo para encontrar el propágulo ya germinado, pero aún dentro del fruto y que la coloración del fruto fuera marrón intensa-rojiza, que indica la presencia del hipocótilo germinado dentro del fruto (Figura 2.2A-B); la segunda etapa, fue conformada por propágulos fuera del fruto, los propágulos del manglar chaparro presentaron un tamaño promedio de 2.5 cm y de franja de 3 cm; la tercera etapa, presentó propágulos maduros de tamaño promedio de 12 cm para los de manglar chaparro y 20 cm en propágulos de manglar de franja. Se caracterizaron por la presencia de lenticelas, el hipocótilo de color verde oscuro y la radícula color marrón (Sussex, 1975; Baskin & Baskin, 2014).

Para corroborar la información del tamaño, debido a que en la literatura no se especifica si las mediciones corresponden a un ecotipo de manglar; primeramente, se realizó una colecta de acercamiento para obtener el promedio de 30 propágulos de la etapa 3. De las demás etapas se consideró únicamente la literatura para elaborar la primera base de datos y a partir de ello observar las variaciones de tamaño y nuevamente verificar la información. De esta forma los propágulos de la etapa 3 fueron considerados para su comparación morfológico-anatómico y fisiológico.

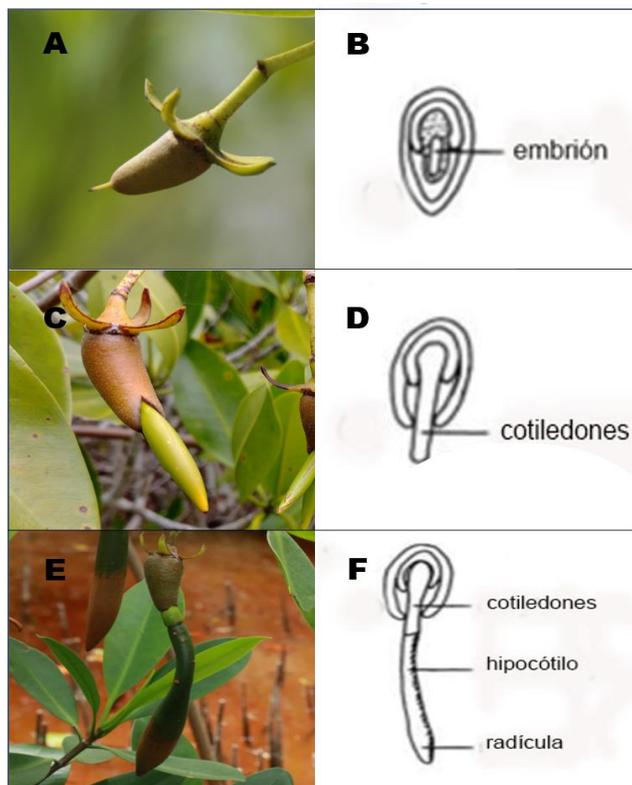


Figura 2.3 Fotografías e ilustraciones sobre las etapas de desarrollo de semillas vivíparas del mangle rojo (*R. mangle*). A-B) Germinación del embrión; C-D) Protrusión del propágulo; y E-F) Maduración del propágulo (Modificado de Baskin & Baskin, 2014).

2.1.3 CARACTERIZACIÓN DEL MICROAMBIENTE

Las mediciones del medio ambiente se realizaron durante los meses de junio-agosto en ambas zonas. La temperatura del ambiente se midió con un sensor Temp Smart Sensor y

la humedad relativa (HR%) (HOBO U12-012, ONSET, Bourne, E.U.A). Los datos obtenidos se almacenaron en un registrador de datos HOBO.

La caracterización de la demanda evaporativa se realizó por medio de la metodología propuesta por Jones (2014) para el déficit de presión de vapor (DPV), de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$DPV = e_{s(T)} - e$$

Donde e es la presión parcial de vapor de agua en el aire (Pa); y $e_{s(T)}$ es la presión parcial de saturación del vapor de agua (svp en Pa) en función de la temperatura. A su vez $e = HR \times e_{s(T)}$, y el svp se obtuvo de la ecuación:

$$e_{s(T)} = f\left(a \exp\left(\frac{bT}{c + T}\right)\right)$$

Donde T es la temperatura del aire en °C, y a, b y c son los valores de los coeficientes empíricos son:

$$a = 611.21, b = 18.678 - (T/234.5), c = 257.14, f \\ \cong 1.0007 + 3.46 \times 10^8 \text{ (en Pa)}$$

La relación entre la temperatura y la humedad relativa se conoce como el DPV. Esta variable, indica la demanda evaporativa debido al incremento de la temperatura en el ambiente.

La salinidad superficial e intersticial se midió cinco veces en cada microambiente. Se colectaron 30 ml de agua intersticial con ayuda de una jeringa de 60 ml unida a un tubo de acrílico de aproximadamente 1 m de largo con agujeros cercanos a la punta. Ambas salinidades fueron medidas utilizando un sistema multi-sonda (Modelo Pro2030, YSI, Yellow Springs).

Con la misma frecuencia que para la obtención de la salinidad, se colectaron muestras de suelo para el potencial hídrico (ψ_s) con la ayuda de un tubo de PVC, se guardaron inmediatamente en bolsas de plástico herméticas y posteriormente se colocaron en hieleras para su transportación. En el laboratorio portátil se midió el ψ_s con un

potenciómetro de punto de rocío (MPa) (WP4, Decagon Devices, Pullman, Washington, USA).

2.1.4 MEDICIONES FISIOLÓGICAS

Potencial hídrico propágulos-planta madre

Las mediciones correspondientes al potencial hídrico foliar de la planta madre (Ψ_f) y de propágulos (Ψ_{prop}) se colectaron en dos tiempos; prealba ($\Psi_{m\acute{a}x}$) y a mediodía ($\Psi_{m\acute{i}n}$) en el manglar chaparro y de franja. Durante cada turno se colectaron 10 individuos tanto de propágulos como de hojas maduras (cerca de los mismos y en buen estado) correspondientes a las tres etapas (Figura 2.4). Se envolvieron en aluminio, guardaron en bolsas herméticas de plástico y colocaron dentro de una hielera para su transportación. El potencial hídrico de propágulos se obtuvo diseccionando los propágulos de la parte media del hipocótilo y el de las hojas colocándolas en el porta muestras de un potenciómetro de punto de rocío (MPa) (WP4, Decagon Devices).

Potencial osmótico propágulos-planta madre

En cuanto a las mediciones de potencial osmótico foliar de la planta madre ($\Psi_{\pi f}$) y de propágulos ($\Psi_{\pi prop}$) se colectaron en dos tiempos; prealba ($\Psi_{\pi m\acute{a}x}$) y a mediodía ($\Psi_{\pi m\acute{i}n}$) en el manglar chaparro y de franja. Durante cada turno se colectaron 10 individuos de propágulos y hojas maduras (cerca de los mismos y en buen estado) correspondientes a las tres etapas.

Inmediatamente se envolvieron en aluminio y se guardaron en bolsas herméticas dentro de una hielera. Después se congelaron en N_2 líquido para posteriormente descongelar las muestras y determinar el potencial osmótico. Los propágulos se diseccionaron del hipocótilo y se midió la osmolalidad ($mmol\ kg^{-1}$) en un osmómetro (VAPRO 5520, WESCOR, Yellowsprings OH, EE.UU) utilizando un portamuestras de 7 mm diámetro x 2.5 mm de profundidad (AC-062). La obtención del ψ_{π} se lleva a cabo con la ecuación de Van't Hoff:

$$\Psi_{\pi} = -cRT$$

Donde: ψ_{π} = potencial osmótico; C= concentración de la solución expresada en molalidad (moles de soluto/kg); R= constante de los gases ($0.0831 \text{ kg bar mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) y T= temperatura absoluta (K).

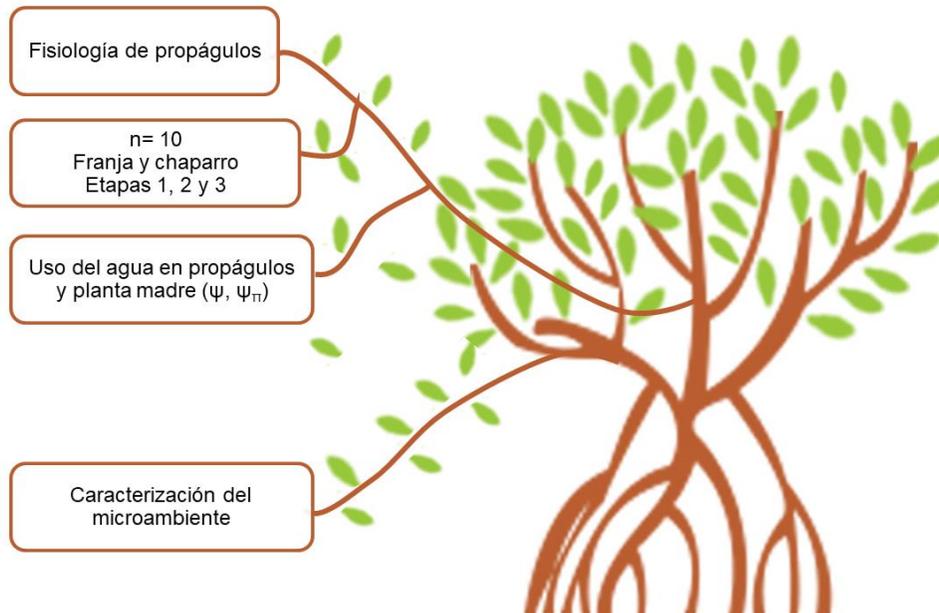


Figura 2.4 Esquema de la estrategia experimental para el estudio de las variables fisiológicas en propágulos y hojas de la planta madre. Las etapas 1, 2 y 3 se refieren a las etapas ontogénicas de los propágulos de *R. mangle*. (ψ_{π} = potencial osmótico, ψ = potencial hídrico).

2.1.5 MEDICIONES MORFOLÓGICAS-ANATÓMICAS

Se colectaron 10 propágulos por cada etapa de desarrollo (germinación, protrusión del fruto y maduración) que se encontraran unidos a la planta madre por ecotipo de manglar (chaparro y franja), se realizaron lavados para retirar el material no deseado de la superficie del tejido y se guardaron en frascos para su fijación química con glutaraldehído (GA) grado 1 al 2.5% v/v; el material se transportó inmediatamente en una hielera (figura 2.5). Posteriormente las muestras fueron lavadas tres veces con amortiguador de fosfato (1 M, pH 7.4), después se deshidrataron en serie etanólica (10%-100% v/v), para que se seccionaran con un microtomo de deslizamiento con un grosor de 5-8 μm de la parte media del hipocótilo, se tiñeran con safranina O-verde rápido y se montaran en resina sintética para su observación por medio de microscopía óptica (MO). Se capturaron imágenes digitales y posteriormente se midió el área del córtex y de la médula por medio del programa ImageJ (National Institutes of Health, Maryland, USA). También, se

observaron muestras por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB) con el complemento de espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDS), que permite describir la anatomía, localizar y semicuantificar (wt%) los iones de Na^+ , K^+ y Cl^- ; mostrando imágenes y la distribución de los iones en los tejidos de los propágulos pertenecientes a las tres etapas del desarrollo. Posteriormente, con las imágenes obtenidas se cuantificó cada uno de los iones en un área de 2mm^2 . (Figura 2.5).

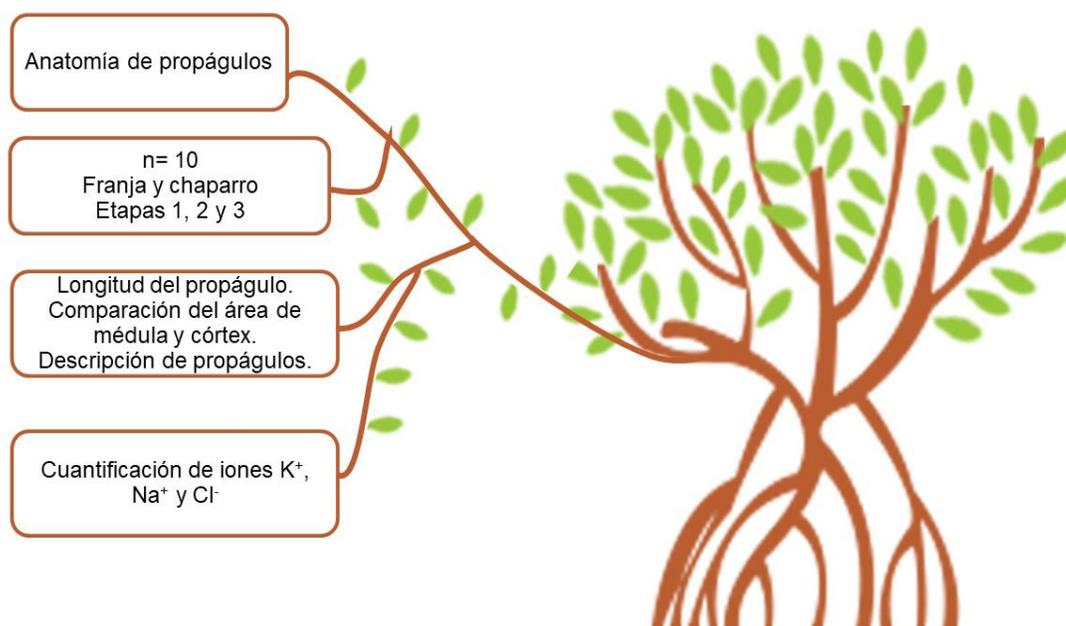


Figura 2.5 Esquema de la estrategia experimental para el estudio de anatomía en propágulos. Las etapas 1, 2 y 3 se refieren a las etapas ontogénicas de los propágulos de *R. mangle*. ($\Psi\pi$ = potencial osmótico, Ψ = potencial hídrico).

2.1.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Microambiente: para determinar las diferencias de los atributos microclimáticos relacionados con el ecotipo de manglar y los meses, cómo fue en el caso del DPV, se empleó un ANOVA de dos vías. Los datos que no presentaron una distribución normal, fueron transformados con el \log^{10} para posteriormente aplicar un ANOVA. Sin embargo, cuando los datos no presentaron normalidad, aún transformados se aplicó un ANOVA en rangos. El análisis *post hoc* realizado fue la prueba de Tukey.

En cuanto a la salinidad intersticial se determinaron las diferencias entre ecotipos por medio de una prueba de T. Para determinar el atributo del potencial hídrico del suelo entre

ecotipos, debido a que los datos no fueron normales se aplicó la prueba de Mann-Whitney U.

Anatomía: Las diferencias del tamaño de los propágulos entre manglar chaparro y de franja se establecieron por medio de pruebas de t. Las diferencias entre las etapas de crecimiento dentro de cada ecotipo fueron determinadas por medio de la prueba de Kruskal-Wallis porque no presentaron normalidad. Para determinar las diferencias entre propágulos de manglar chaparro y de franja considerando las etapas de crecimiento con respecto al área de la médula y córtex se aplicó un ANOVA y Kruskal-Wallis, correspondientemente. La determinación de las diferencias en el contenido iónico entre densidad de iones, ecotipos y etapas fue realizada por medio de un ANOVA de tres vías. Por medio de la prueba *post hoc* Tukey se realizó la comparación de medias con diferencias significativas.

Fisiología: Por medio de un ANOVA de tres vías se determinaron las diferencias del potencial hídrico entre los ecotipos (chaparro y franja), órgano (propágulo y hoja cercana al propágulo de la planta madre) y etapa de crecimiento; considerando los mismos niveles se efectuó un análisis de Kruskal-Wallis ya que los datos no presentaron normalidad aún transformados para la variable del potencial osmótico. Por medio de la prueba *post hoc* Newman-Keuls (S-N-K) se realizó la comparación de medias con diferencias significativas.

Se utilizó el programa SigmaPlot 12.0 (Systat Software, Inc. E.U.A.) para todos los análisis mencionados anteriormente.

Para el Análisis de Componentes Principales (PCA) se tomaron en cuenta las variables significativas para los propágulos de ambos ecotipos; además, se realizó el PCA entre las hojas de la planta madre y los propágulos. Esto permitió usar los componentes que fueran explicativos en la separación de las etapas de acuerdo al gradiente ambiental. Se hizo el Análisis de Correlación Canónica (CCA) para relacionar las variables anatómicas (área de médula y córtex, iones), fisiológicas (relaciones hídricas) y del microambiente (potencial hídrico del suelo, salinidad superficial e intersticial). Los análisis multivariados fueron realizados en XLSTAT v.7.5.2 (XLSTAT, Addinsoft, EEUU, 2007).

CAPÍTULO III.

3.1 RESULTADOS

3.1.1 CARACTERIZACIÓN DEL MICROAMBIENTE

El microambiente correspondiente al ecotipo de manglar chaparro y de franja de *R. mangle* presentó diferencias en las variables medidas durante los meses de junio, julio y agosto. Las variables medidas fueron la salinidad intersticial, salinidad superficial, potencial hídrico del suelo, humedad relativa (HR) y temperatura (T); y se calculó el déficit de presión de vapor (DPV) (Cuadro 3.1).

Las diferencias en el DPV se encuentran dadas entre la interacción del ecotipo (T.E.) y la cantidad máxima de demanda evaporativa que ocurre en el ambiente. Se observó que el manglar de ecotipo chaparro presentó una mayor demanda evaporativa durante los meses de junio (3.09 KPa), julio (3.45 KPa) y agosto (3.03 KPa) ($t= 5.71$, $t= -12.20$, $t=0.83$) comparado con el manglar de franja (Cuadro 3.1). Esto sugiere que durante los meses que corresponden a la temporada de lluvias ocurre mayor incidencia de energía latente en el manglar chaparro (Figura 3.1).

Se analizó la diferencia de DPV máximo y mínimo dentro de cada microambiente (chaparro y franja) considerando los meses de junio, julio y agosto (Figura 3.1). Durante dicha temporada, el DPV máx. del manglar chaparro no presentó diferencias significativas entre los meses, comportándose de manera similar (Tukey, $F=2.723$, $P=0.076$). Sin embargo, las diferencias significativas se reflejaron al comparar los meses y el DPV mín., donde se muestra que ese valor mínimo va en aumento casi el doble desde el mes de junio hasta agosto (0.35, 0.51, 0.82 KPa) (Tukey, $F=159.939$, $p<0.001$). Por otro lado, el DPV máx. del manglar de franja no mostró diferencias significativas, por lo que no fueron observables los incrementos de la demanda evaporativa en el valor máximo (Tukey, $F=1.56$, $P=0.221$) correspondiente a cada mes (Tukey, $q=6.67$, 4.41, 2.26) (Figura 3.1). Sin embargo, se registró un incremento significativo del DPV mín. (Tukey, $q=6.67$, 4.41, $P<0.05$) entre los meses de junio - agosto (0.45, 0.52, 0.79 KPa).

Cuadro 3.1 Atributos del microambiente medidos durante los meses de junio, julio y agosto. T= temperatura, HR= humedad relativa, DPV= déficit de presión de vapor, Ψ_s = potencial hídrico del suelo. Valor máximo ().

	Parámetros	Chaparro	Franja
Atributos del microambiente	T (°C)	28.4±5.35 (41.3)	27.4±3.09 (35.6)
	HR %	70.5±13.30 (90.5)	72.5±10.48 (89.8)
	DPV máx (kPa)	3.19±0.22	1.54±0.65
	DPV mín (kPa)	0.56±	0.59±0.17
	Salinidad inter (ppm)	44.62±3.22	23.42±0.40
	Salinidad sup (ppm)	36.18±4.76	13.36±0.39
	Ψ_s (MPa)	-2.72±9.74	-2.10±3.60

Entre los ecotipos de manglar se presentaron diferencias significativas relacionadas a la salinidad intersticial promedio ($t=-11.08$). Como se esperaba, debido a la relación que presenta la salinidad intersticial con el potencial hídrico del suelo, hubo diferencias significativas en este parámetro (Mann-Whitney U, $P = 0.008$) entre los ecotipos (Cuadro 3.1).

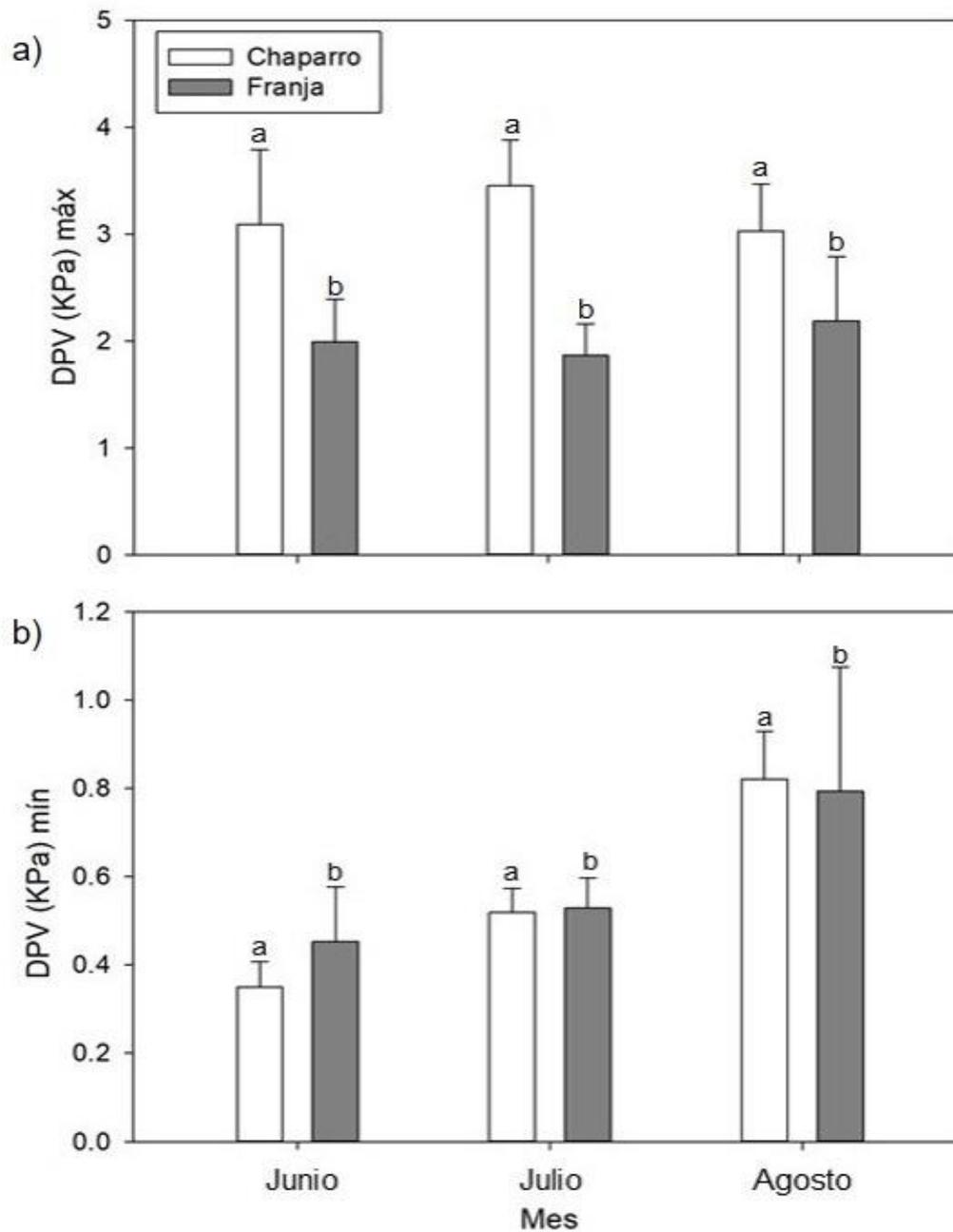


Figura 3.1 Déficit de presión de vapor (DPV) se muestra en barras, calculados por promedio a cada hora y de 16 días durante los meses de junio, julio y agosto. a) DPV máximo calculado. b) DPV mínimo calculado. Letras diferentes muestran diferencias significativas entre tipos ecológicos. Letras minúsculas comparan entre meses.

3.1.2 MORFOLOGÍA-ANATOMÍA DE PROPÁGULOS

Tamaño de propágulos

En campo el tamaño de propágulos (cm) en ambos ecotipos de manglar fue variable y coincidió parcialmente con los datos consultados en la literatura para el manglar de franja. Sin embargo, durante la colecta de acercamiento se estableció el promedio de cada una de las etapas de crecimiento para considerarse en el estudio posterior de las variables fisiológicas, anatómicas y morfológicas (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2 Tamaño de propágulos (cm) correspondientes a la etapa 1, 2 y 3 de manglar chaparro y de franja de acuerdo con Baskin, 2014 y mediciones realizadas*.

Etapa de crecimiento del propágulo	Manglar franja	Manglar chaparro
1	1.8	1.4* ± 0.52
2	3	4.0* ± 0.37
3	20	9.2* ± 0.55

Cuadro 3.3 Tamaño de propágulos correspondientes a la etapa 1, 2 y 3 de manglar chaparro y de franja. El tamaño total se refiere al propágulo completo cuando se encontraba dentro del fruto, el expuesto es el tamaño del propágulo que se encontraba únicamente fuera del fruto.

Ecotipo de manglar	Chaparro				Franja			
	Total	Expuesto	Total	Total	Total	Expuesto	Total	Total
Etapa	1	2	2	3	1	2	2	3
Tamaño (cm)	1.45 0.55	±2.71 0.36	±4.06± 0.39	9.24± 0.55	1.42 0.55	±3.19 0.51	±5.04 0.42	±20.23± 1.37
Máximo (cm)	2.79	3.38	4.52	10.46	2.23	3.99	6	21.32
Mínimo (cm)	0.73	2.01	3.22	8.5	0.48	2.3	4.61	18.23

Probablemente las diferencias encontradas se relacionen con el tipo ecológico de manglar, así como la diferenciación entre el tamaño observable del propágulo y el total (hipocótilo dentro de fruto) (Cuadro 3.3).

Se encontró que la diferencia de tamaño entre los propágulos está definida por el tipo ecológico de mangle y la etapa de crecimiento, sin embargo, no se determinó una interacción debido al tamaño del efecto de un factor ($F= 321.96$, $P<0.001$). Sin embargo, la comparación del tamaño entre propágulos de manglar chaparro y de franja durante la primera etapa de crecimiento no indicó diferencias significativas ($t=0.08$, $P=0.93$). En lo que respecta a las etapas dos y tres entre ecotipos, se encontró que los propágulos de franja incrementaron radicalmente más su tamaño en comparación con los chaparros ($t=-10.45$, $P<0.001$; $t=-24.11$, $P=0.001$, respectivamente) (Figura 3.2).

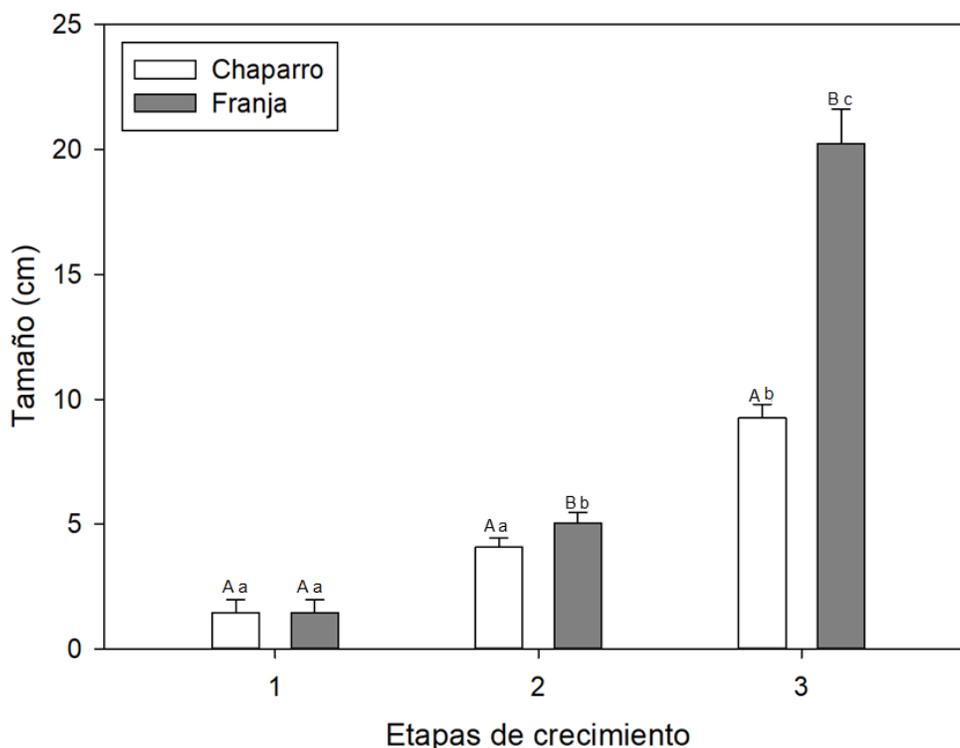


Figura 3.2 Tamaño de propágulos (cm) considerando tres etapas de crecimiento de propágulos de manglar ecotipo chaparro y franja. Las líneas verticales representan las desviaciones estándar. Letras minúsculas muestran diferencias significativas dentro de un ecotipo. Letras mayúsculas comparan entre tipos.

Se analizaron las diferencias entre las etapas dentro de cada ecotipo de manglar grupo, es decir, las comparaciones entre la etapa 1, 2 y 3 (Figura 3.2). El tamaño de los propágulos de manglar chaparro correspondientes a la etapa tres con respecto a la uno y dos, presentaron diferencias significativas (Tukey, $q=6.93, 3.84; P<0.05$). En cuanto al tamaño de los propágulos del manglar de franja, todas las etapas presentaron diferencias significativas entre sí (Tukey, $q= 7.18, 3.59, 3.59, P<0.05$).

Área de médula-córtex en propágulos

Al realizar la comparación de cortes transversales de propágulos procedentes de manglar chaparro y de franja durante tres etapas de crecimiento, se observó que el área de la médula y el córtex presentan diferencias significativas durante la etapa 1 ($t= 2.73, 3.03$). Sin embargo, durante las dos siguientes etapas, aunque el tamaño difirió significativamente entre los propágulos de manglar chaparro y de franja, el área tanto de médula como de córtex alcanzan una similitud sin presentar diferencias significativas ($t= -0.35, 2.04; -0.83, 0.22$, respectivamente) (Figura 3.3, 3.4).

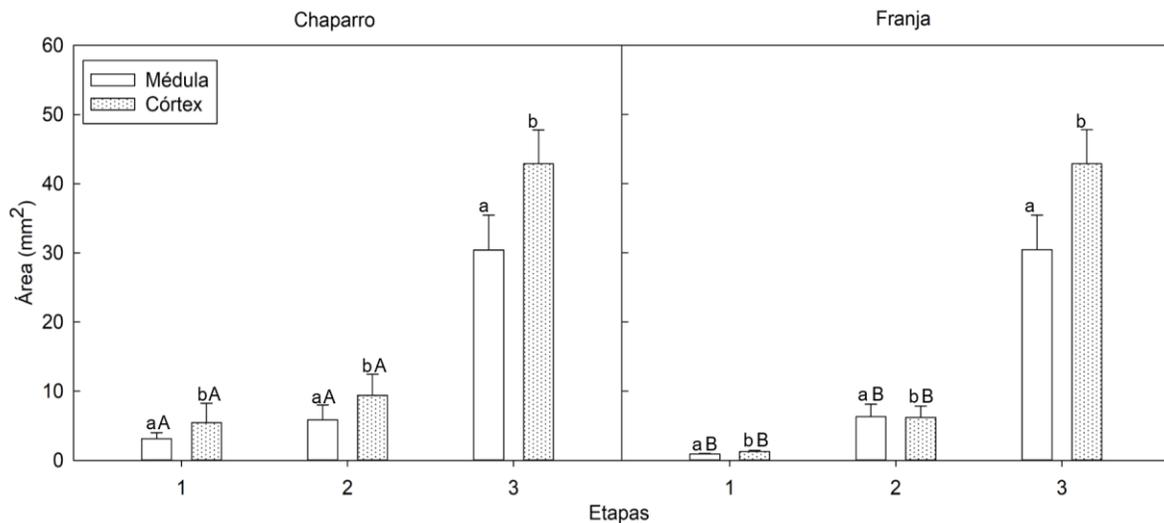


Figura 3.3 Área de médula y córtex de propágulos de manglar de tipo chaparro y de franja, de tres etapas de crecimiento. Las líneas representan las desviaciones estándar. Letras minúsculas muestran diferencias significativas dentro de un tipo ecológico. Letras mayúsculas comparan entre tipos.

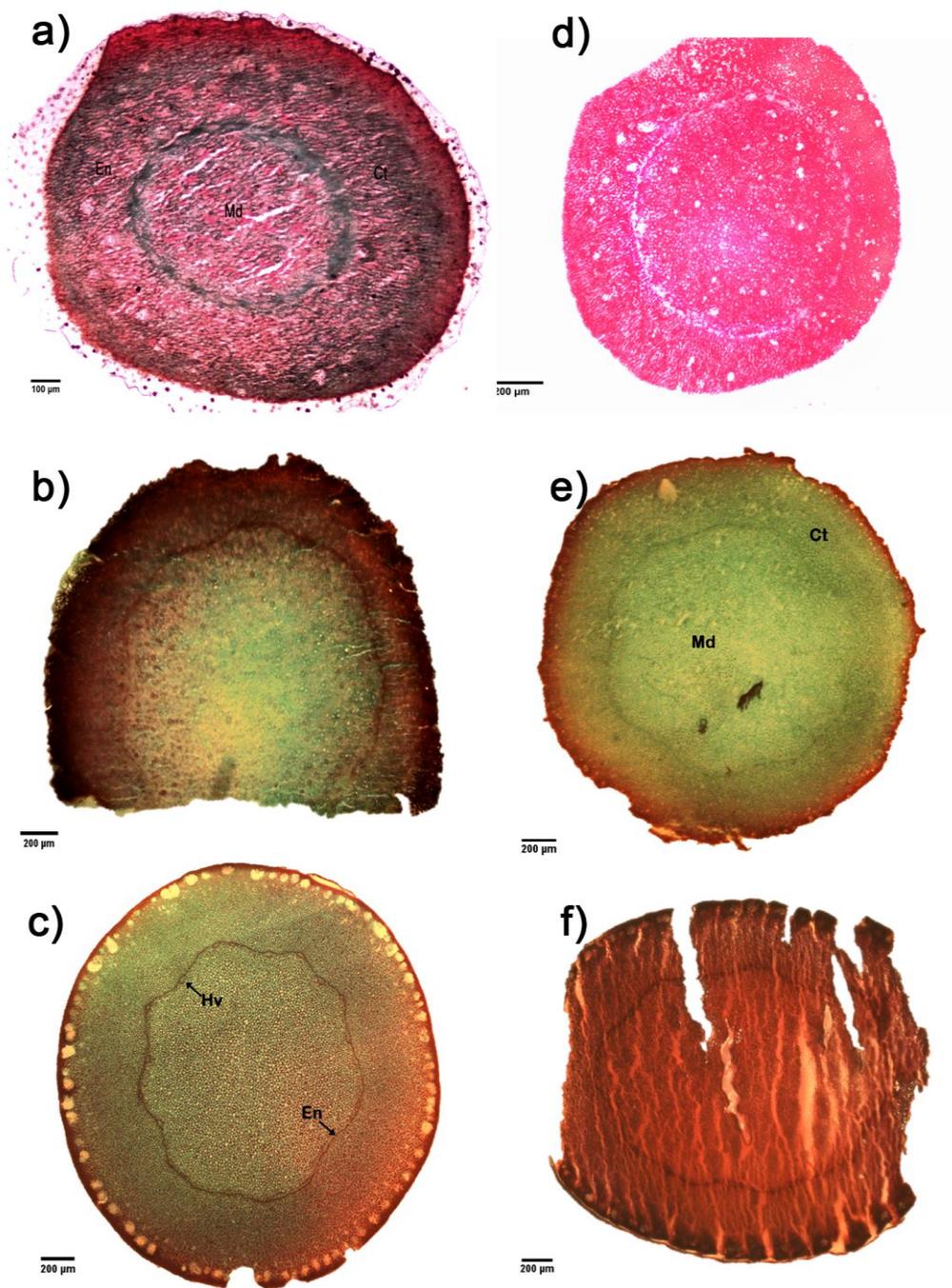


Figura 3.4 Cortes transversales de la parte media del hipocótilo de propágulos de *Rhizophora mangle* de ecotipo de franja y chaparro. a-b: Chaparro, a) etapa 1, b) etapa 2, c) etapa 3; d-f: Franja, d) etapa 1, e) etapa 2, f) etapa 3. Médula (Md), córtex (Ct), endodermis (En), haz vascular (Hv).

La comparación transversal del área de la médula y el córtex de las tres etapas de manglar chaparro y de franja, mostraron diferencias (Tukey, $P < 0.01$, en todos los casos), reflejando que cada etapa presenta cierto incremento de área característico.

Además, el área transversal del córtex en las tres etapas es mayor con relación a la médula, pero ésta refleja un incremento conforme continúa el crecimiento (Figura 3.4).

Descripción de propágulos

El sistema vascular del hipocótilo correspondiente a las tres etapas de crecimiento de los propágulos presentan haces vasculares sin cambium interfascicular. Se observa el floema y el xilema primario. El xilema primario está compuesto de protoxilema y metaxilema, así como el floema primario se encuentra compuesto de protofloema y metafloema en el hipocótilo de los propágulos. El xilema primario presenta diferenciación endarca que es característica de tallos, en la cual el protoxilema se encuentra en la zona interna y hacia la zona exterior se ubica el metaxilema en el haz vascular (Figura 3.5).

De acuerdo con su anatomía se observa que los elementos del metaxilema son funcionales en las tres etapas de crecimiento, ya que el diámetro es ancho y la pared gruesa en comparación con el protoxilema. A medida que el crecimiento continúa, se observa el incremento de la formación y distribución lineal de células del metaxilema; así como la presencia de células maduras del xilema (Figura 3.5). El crecimiento del protoxilema se extiende hacia la parte interna de las células inmaduras de la médula.

Entre el metaxilema y el floema primario se ubica el cambium vascular. El floema primario está cercano al cambium, mientras que el secundario es observable hacia la parte externa del haz vascular; la endodermis rodea externamente los haces vasculares, quedando internamente la médula (Figura 3.5).

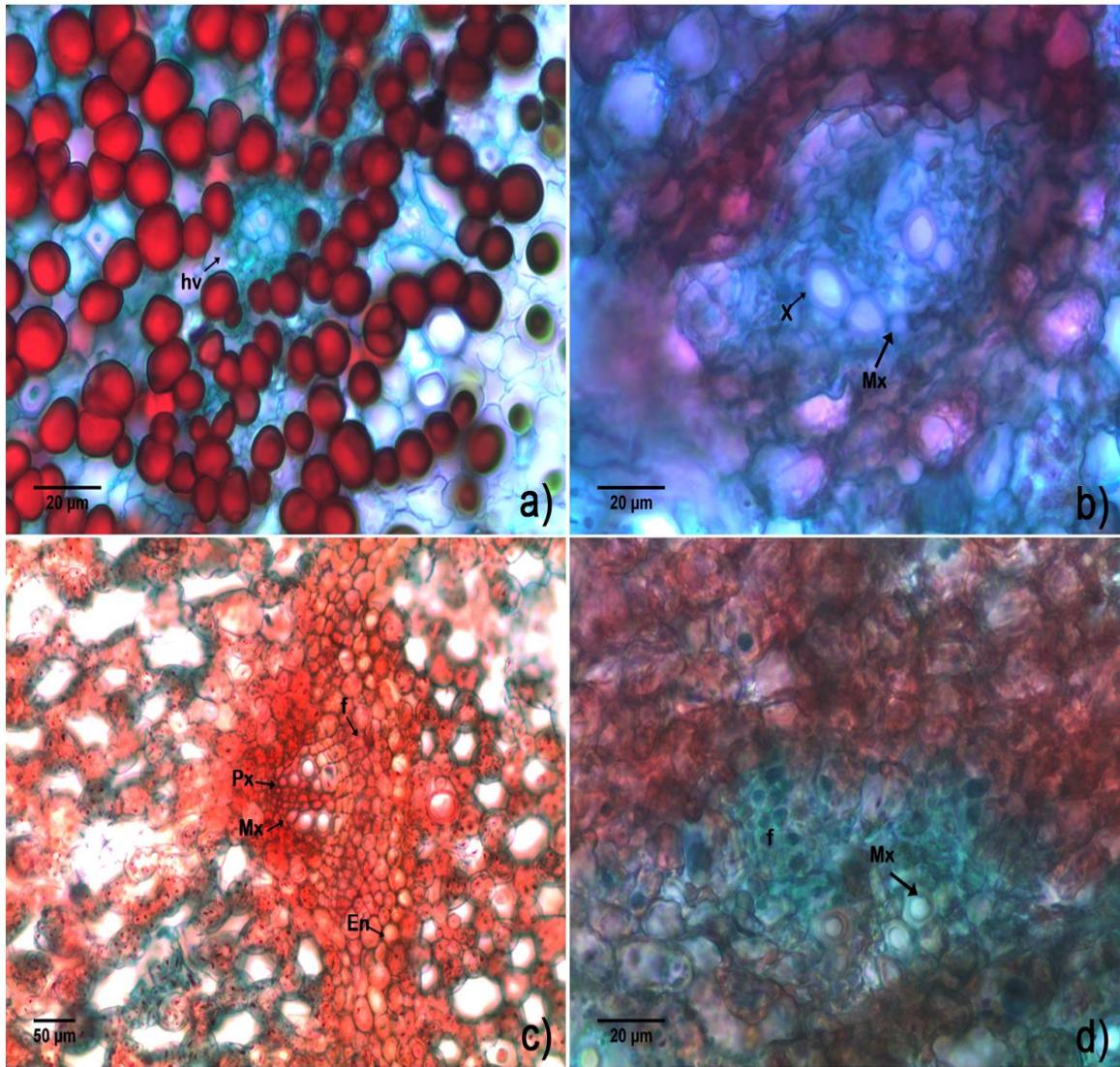


Figura 3.5 Corte transversal de parte media del hipocótilo de propágulos de *Rhizophora mangle* de ecotipo franja y chaparro. a) Primera etapa de crecimiento, manglar de franja; b) segunda etapa de crecimiento, manglar de franja; c) tercera etapa de crecimiento, manglar de franja; d) segunda etapa de crecimiento, manglar chaparro. Haz vascular (Hv), endodermis (En), protoxilema (Px), metaxilema (Mx), xilema (X), floema (f).

Las células de la médula y el córtex del hipocótilo poseen células parenquimáticas de aerénquima en desarrollo con organización esquizógena regular formando espacios intercelulares o conductos debido a la separación de las paredes celulares. Las células contienen abundantes amiloplastos circulares y elipsoides y taninos; además, el tamaño de las células disminuye conforme continúa el crecimiento del propágulo (Figura 3.5).

Descripción de la ubicación de iones por medio de Espectrometría de Dispersión de energía de rayos X (EDS)

Se pudieron detectar los tres iones mediante espectrofotometría de rayos X para los propágulos de ambos ambientes (Na^+ , K^+ y Cl^-) (Figura 3.6). En las tres etapas de crecimiento del manglar chaparro el ion Na^+ se localizó dentro de las células del parénquima y de los vasos del xilema; el ion Cl^- se encontró en dos compartimentos, siendo el primero dentro de las células del parénquima cercano a la membrana celular y el segundo fuera de las células entre la membrana y la pared; y el ion K^+ de igual manera se situaba dentro de las células del parénquima así como en los vasos del xilema. Por otra parte, en las tres etapas de crecimiento el ion Na^+ en el manglar de franja se encontró tanto dentro como fuera de las células del parénquima, así como dentro de los vasos del xilema. Con respecto al ion Cl^- estuvo presente dentro y fuera entre la membrana y la pared celular, además de encontrarse en los vasos del xilema; y el ion K^+ estaba dentro de las células, afuera de la membrana entre la pared celular y en los vasos del xilema (Figura 3.7).

Se encontró que existe una interacción significativa entre el ecotipo, la etapa de crecimiento y densidad de iones en el hipocótilo de los propágulos ($P=0.024$). Esta interacción depende del ecotipo y la etapa para cada ion analizado. Es decir, que dependiendo del ecotipo de manglar y la etapa estudiada, será la diferencia de la interacción con el ion Na^+ , Cl^- o K^+ entre tipos ($P= 0.016, 0.001, 0.001$). La concentración del ion Cl^- fue mayor en el manglar de franja durante la etapa 1 y 2, mientras que durante la etapa 3 en el manglar chaparro la concentración de Cl^- fue mayor que el de franja (Tukey, $P= 0.002, 0.025, 0.005$). La concentración del ion K^+ fue mayor en la etapa 2 del manglar de franja y en la etapa 3 hubo un incremento en la concentración de este ion en el manglar chaparro, siendo mayor que la del manglar de franja en la etapa de

maduración del propágulo (Tukey, $P= 0.008$, 0.001), mientras que no se mostraron diferencias en la etapa 1 en ambos ecotipos (Tukey, $P= 0.512$). Para el caso del Na^+ se obtuvo diferencias entre la etapa 3 de ambos ecotipos (Tukey, $P= 0.007$), pero no para la etapa 2 y 1 (Tukey, $P= 0.327$, 0.327) (Cuadro 3.4).

En general se puede mencionar que en ambos ecotipos la densidad de los iones encontrados en la parte media del hipocótilo es variable dependiendo de la etapa de crecimiento. En el caso del manglar chaparro durante las tres etapas de desarrollo, se observa que la concentración de K^+ aumenta y el Na^+ también, pero en menor medida y el Cl^- sufre una disminución. Por el contrario, los propágulos del manglar de franja presentaron una disminución cercana a la mitad de los iones desde la primera hasta la tercera etapa.

Cuadro 3.4 Análisis de densidad de Na^+ , K^+ y Cl^- de la parte media del hipocótilo de propágulos de manglar ecotipo chaparro y franja, en tres etapas de crecimiento. ($2\text{mm}^2 =$ área en milímetros). Análisis de concentración relativa de Na^+ , K^+ y Cl^- de la parte media del hipocótilo de propágulos de manglar ecotipo chaparro y franja, en tres etapas de crecimiento. (Wt%= porcentaje de masa).

Ecotipo	Chaparro			Franja		
	1	2	3	1	2	3
Na^+ (2mm^2)	4.2	2.4	4.4	4.8	3	2.8
K^+ (2mm^2)	6.2	3	8	6.6	4.4	3.4
Cl^- (2mm^2)	5.6	3	4.8	7.6	4.4	3.2
Na^+ (wt%)	67.45	55.82	39.97	59.11	33.88	48.22
K^+ (wt%)	16.26	16.69	3.12	22.08	16.63	19.31
Cl^- (wt%)	16.29	27.5	56.9	18.8	49.49	32.47

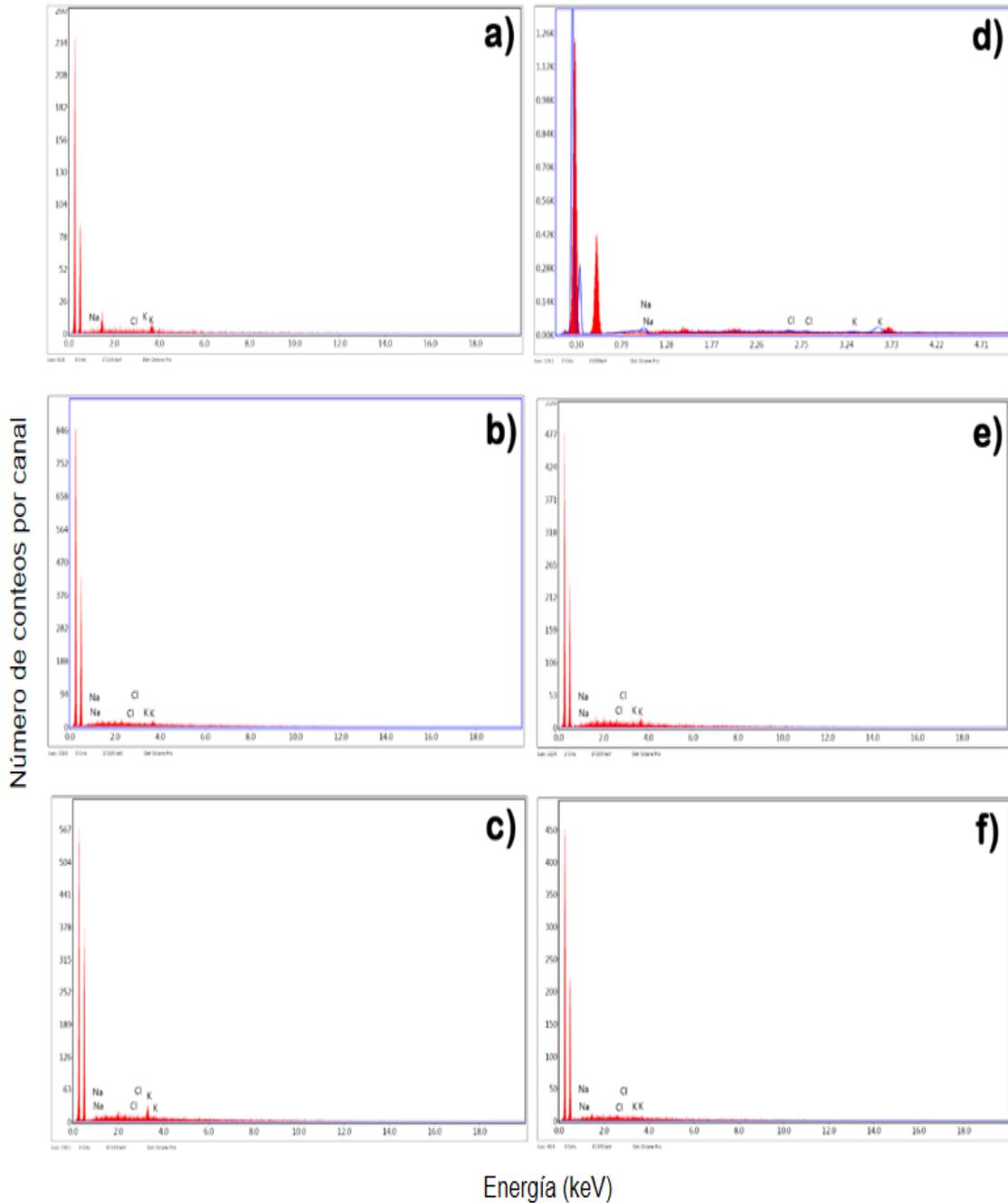


Figura 3.6 Análisis del espectro de elementos (Na^+ , Cl^- , K^+) en la parte media del hipocótilo en propágulos por medio de SEM-EDS. Los picos indican la presencia de los elementos a-c: Chaparro, a) etapa 1, b) etapa 2, c) etapa 3; d-f: Franja, d) etapa 1, e) etapa 2, f) etapa 3. La energía de los rayos-x se midió en kiloelectrovoltios (keV). El número de conteos corresponde a los detectados en el amplificador y analizador multicanal de elementos del SEM-EDS.

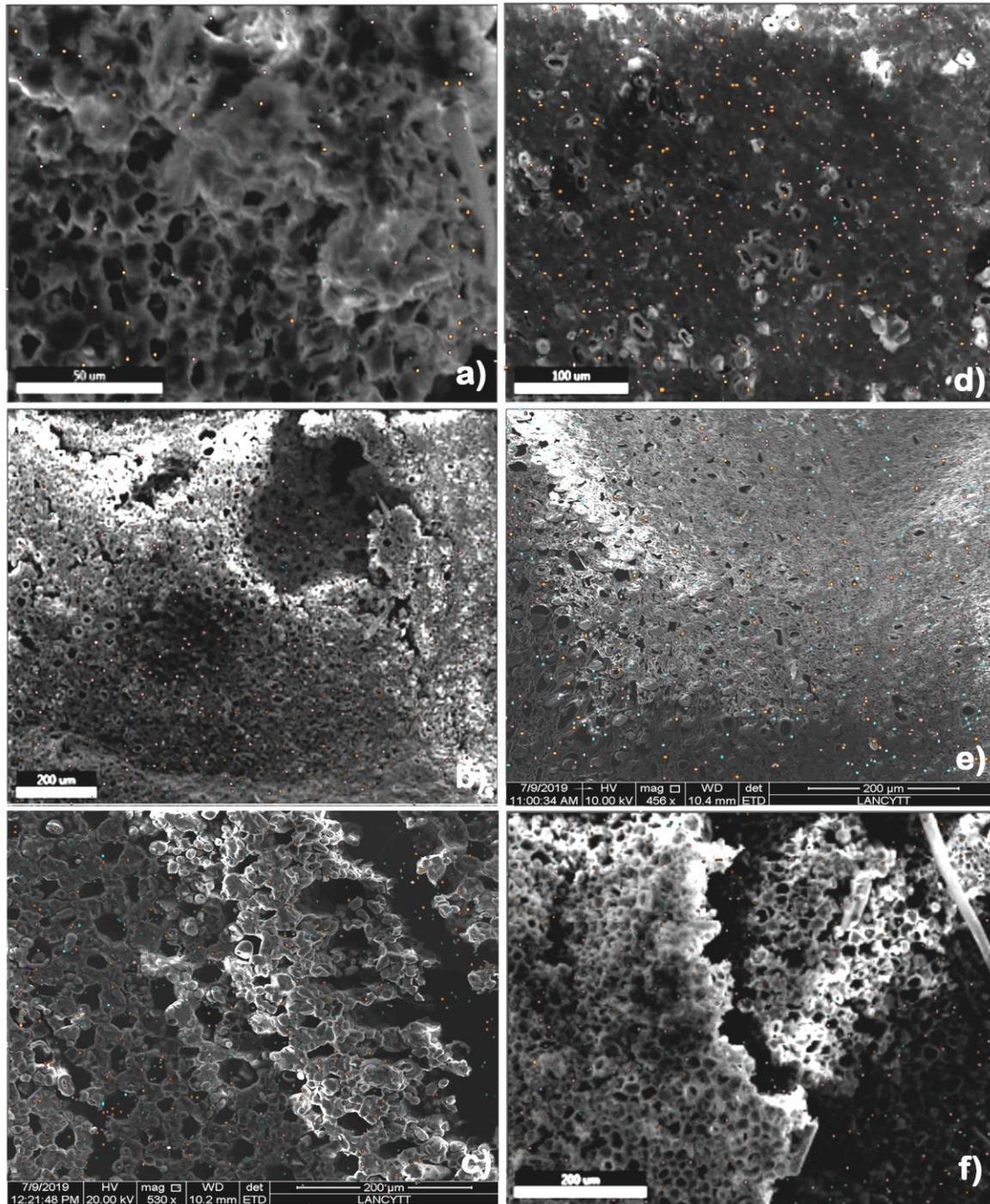


Figura 3.7 Microfotografías con la ubicación de iones Na⁺ (color naranja), K⁺ (color azul) y Cl⁻ (color rosa) en el hipocótilo de propágulos del manglar chaparro y de franja. a) chaparro etapa 1; b) chaparro etapa 2; c) chaparro etapa 3; d) franja etapa 1; e) franja etapa 2; f) franja etapa 3.

3.1.3 RELACIONES HÍDRICAS ENTRE ECOTIPOS

De manera general, el Ψ y el Ψ_{π} foliar de la planta madre y de propágulos, presentaron diferencias por el ecotipo de manglar, procedencia u órgano colectado (hojas o propágulos), etapa de crecimiento, potencial máximo y mínimo de las hojas de la planta madre (S-N-K, $p=0.001$) (Figura 3.8). El potencial hídrico del manglar chaparro, considerando propágulos y hojas de la planta madre, fue menor que el ecotipo de franja. Además, el potencial osmótico fue mayor durante todas las etapas de crecimiento de los propágulos y de la hoja de planta madre en el manglar chaparro. Esto quiere decir de manera general que independientemente del órgano, el uso del agua depende del ecotipo.

3.1.4 RELACIONES HÍDRICAS DE PROPÁGULOS

Los ecotipos difieren de acuerdo a la interacción entre el órgano (propágulo y hoja de la planta madre), etapa y uso de agua a lo largo del día (S-N-K, $P=0.001$). Las diferencias entre los propágulos fueron dadas por la interacción de la etapa de crecimiento y el tiempo de medición (prealba – mediodía). Se encontró que el potencial hídrico cambia a lo largo del día dependiendo de la etapa, independientemente de que existan otros propágulos creciendo en un mismo árbol, cada etapa difiere una de la otra (Figura 3.8).

Para ambos ecotipos durante la primera etapa de crecimiento disminuye en el potencial hídrico conforme la ontogenia y posteriormente, el potencial hídrico aumenta volviéndose más estable conforme continúa creciendo hacia la etapa 2 y 3 (Figura 3.8). Conforme a eso, el manglar de franja se caracterizó por presentar un mayor potencial hídrico (máximo y mínimo) durante su crecimiento, con respecto al chaparro (S-N-K, $P=0.001$, $F= 12.12$, $gl= 119$). De modo que cada etapa se diferencia por presentar un estado hídrico (mayor o menor energía libre del agua) en particular, sino que también depende del ecotipo al que pertenezca.

El potencial osmótico máximo y mínimo no demostró diferencias significativas por lo que únicamente se consideró la medición de prealba para su análisis. Se encontró que de

igual manera las diferencias se encuentran dadas por el ecotipo y la etapa (S-N-K, $P=0.001$).

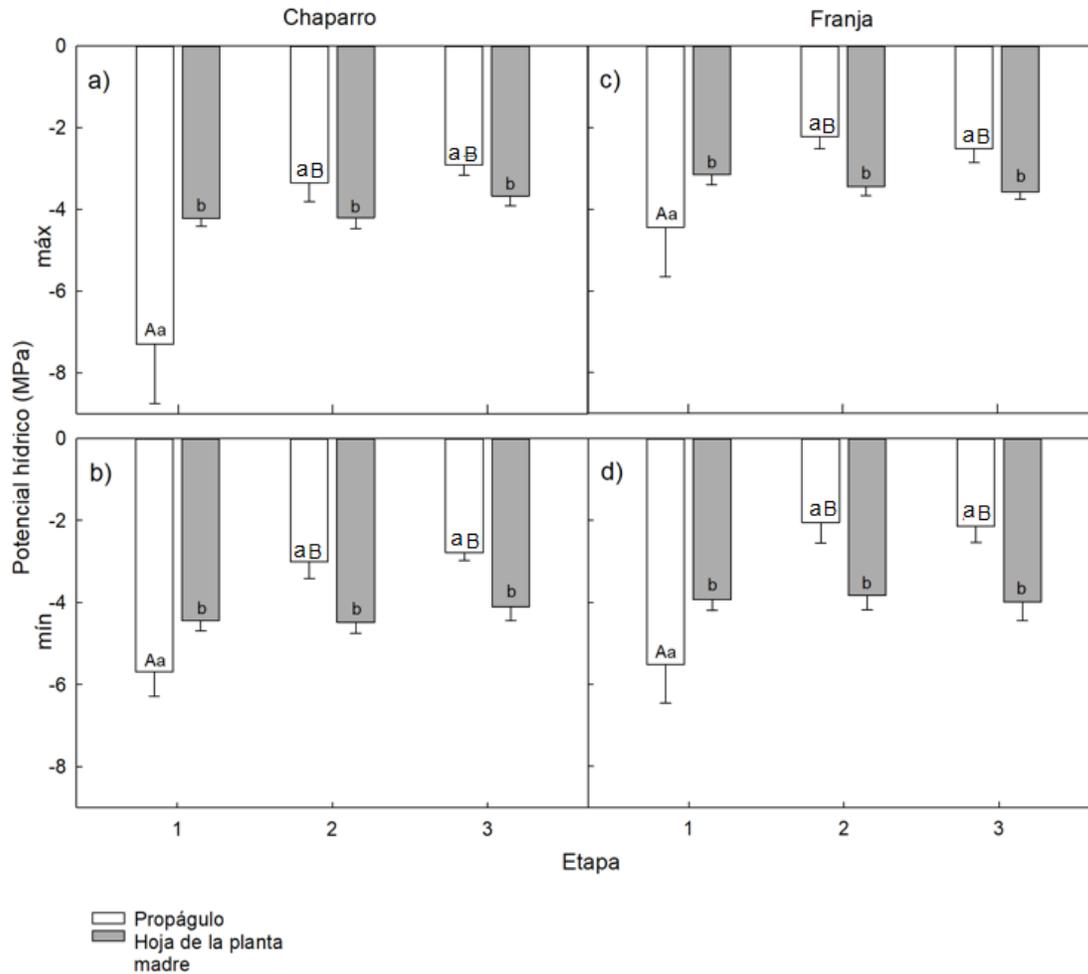


Figura 3.8 Comparación del potencial hídrico (máximo y mínimo) foliar cercano al propágulo y de propágulos del manglar chapararro y de franja. Letras mayúsculas distintas señalan diferencias significativas entre los propágulos de diferentes etapas. Letras minúsculas distintas señalan diferencias significativas entre el propágulo y la planta madre. Las barras representan la media y las líneas la desviación estándar.

Los propágulos del manglar chaparro y del manglar de franja de la etapa 1, presentaron potenciales osmóticos más negativos en comparación a las etapas 2 y 3. Por otro lado, los propágulos de la etapa 2 de ambos ecotipos de manglar obtuvieron el menor potencial osmótico entre todas las etapas (Figura 3.9). Esto refleja que independientemente del ecotipo de manglar, el propágulo durante la primera etapa de crecimiento (que se encuentra dentro del fruto), acumula una mayor cantidad de osmolitos y en la medida que continúa su crecimiento el potencial osmótico aumenta durante la etapa 2 que corresponde a la protrusión del propágulo en el fruto, provocando una acumulación de osmolitos intermedia entre la etapa 1 y 3. A medida que el potencial osmótico se modifica durante el crecimiento, el potencial hídrico también se ve afectado mostrando la relación entre esas dos variables.

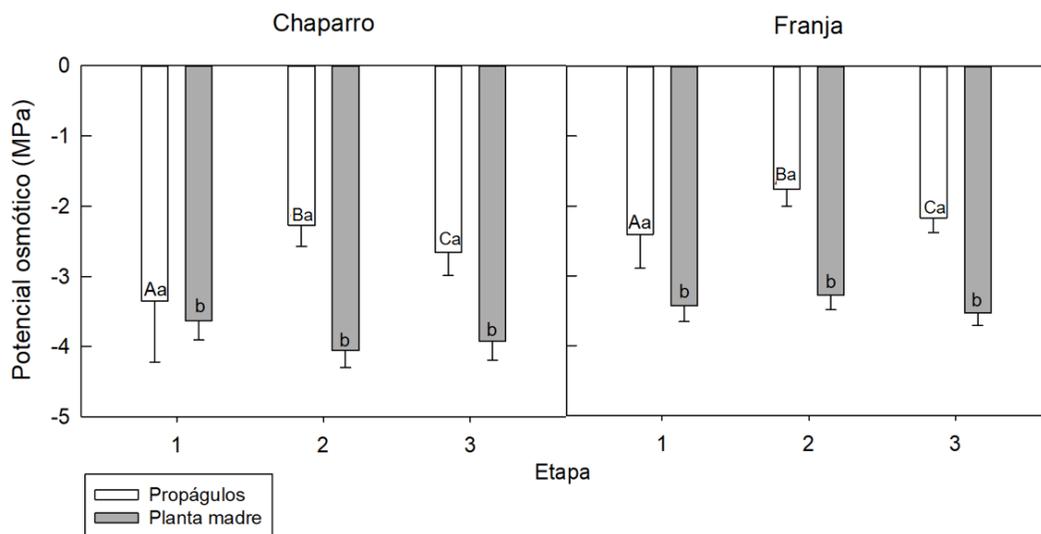


Figura 3.9 Potencial osmótico foliar cercano al propágulo y de propágulos de manglar chaparro y franja. Letras mayúsculas señalan las diferencias entre las etapas de los propágulos. Letras minúsculas distintas señalan diferencias entre el propágulo y las hojas de la planta madre. Las barras representan la media y las líneas la desviación estándar.

3.1.5 RELACIONES HÍDRICAS DE LA PLANTA MADRE

El potencial hídrico de las hojas de la planta madre difiere por el ecotipo de manglar y el momento del día, pero no por la etapa (S-N-K, $P= 0.706$, $F= 0.350$, $gl= 119$). La hoja cercana al propágulo no se encuentra relacionada con una diferencia entre las etapas de crecimiento del propágulo, más bien la planta madre mantiene a lo largo del día un potencial hídrico foliar (máximo y mínimo) similar, ya que se pueden encontrar propágulos en distintas etapas de crecimiento en toda la planta. Sin embargo, el uso de agua durante el día dentro de cada categoría de ecotipo de manglar es distinto, ya que los promedios de los potenciales hídricos máximo y mínimo del manglar chaparro fueron menor en comparación con el manglar de franja (Figura 3.8). Esto probablemente podría encontrarse relacionado con las variables de DPV y potencial hídrico del suelo de cada microambiente.

De la misma forma que para los propágulos, el potencial osmótico máximo y mínimo no mostró diferencias por lo que únicamente se consideró la medición de prealba para su análisis. El potencial osmótico fue mayor en los propágulos de manglar chaparro (S-N-K, $p=0.001$, $H=97.01$, $gl= 11$), casi en todas las etapas de crecimiento. La comparación del potencial osmótico de las hojas de la planta madre entre los ecotipos de manglar y las etapas también fueron diferentes.

Por tanto, se puede decir, que el uso de agua a lo largo del día y la acumulación de solutos, que aportan al potencial osmótico, tanto en los propágulos como en las hojas de la planta madre, en el manglar chaparro y de franja difieren, cuestión que tiene sentido debido a las condiciones del microambiente donde crecen.

3.1.6 RELACIONES HÍDRICAS PROPÁGULO-PLANTA MADRE

El potencial hídrico (máximo y mínimo) de las hojas de la planta madre difiere respecto al potencial del propágulo durante las etapas evaluadas (S-N-K, $P=0.001$), siendo menor en general durante la primera etapa; este decremento se relaciona con el potencial osmótico que fue menor en el chaparro (Figura 3.8, 3.9). Se observó, que ese comportamiento fue independiente del ecotipo de manglar.

3.1.7 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

El análisis de componentes principales mostró la diferencia entre ecotipos y etapas de crecimiento del propágulo, separando los grupos de acuerdo con las variables fisiológicas y anatómicas; explicando el 94.15 % de la varianza total (Cuadro 3.5). El primer componente explica el 61.28 % de la variación total, que está determinada principalmente por el área de la médula y el área del córtex que aumenta de acuerdo con las etapas de crecimiento en ambos ecotipos, aunque existe mayor diferencia en el tamaño del área en chaparro. El segundo componente explica el 32.87 % de la variación restante. El potencial osmótico difiere en ambos ecotipos, encontrando mayor valor en franja, pero aumenta de la etapa 1 a la etapa 2 en ambos ecotipos y disminuye durante la etapa 3 con valores muy semejantes en ambos ecotipos (Figura 3.10).

Por otra parte, se realizó un segundo análisis de componentes principales en el cual se diferenció entre las etapas de crecimiento de los propágulos y hojas de la planta madre del manglar chaparro y de franja de acuerdo con las variables fisiológicas; explicando el 90.97 % de la varianza total. El primer componente principal explica el 68.47 %, de la variación total, determinada principalmente por el potencial hídrico mínimo y en segundo lugar por potencial hídrico máximo, mostrando las diferencias entre los propágulos en tres etapas de desarrollo y las hojas de la planta madre. El potencial hídrico mínimo y máximo es similar en la planta madre de ambas condiciones, aunque es ligeramente mayor en franja. En los propágulos únicamente existen diferencias entre la etapa 1 y las otras dos. El segundo componente explica el 22.51 % de la variación remanente, principalmente el potencial osmótico, en el que las hojas de la planta madre presentan los menores valores y los propágulos en etapa 1 los más elevados (Figura 3.11).

Cuadro 3.5 Variables fisiológicas y morfológicas empleadas en el análisis de componentes principales (PCA), para propágulos de manglar chaparro y de franja; y su correlación entre los componentes 1 y 2 (Ψ_{π} = potencial osmótico, $\Psi_{m\acute{a}x}$ = potencial hídrico máximo).

<i>Variables</i>	<i>Propágulos</i>	
	F1	F2
Área médula	0.892	-0.423
Área córtex	0.852	-0.500
$\Psi_{m\acute{a}x}$	0.818	0.472
Ψ_{π}	0.511	0.815
Valores propios	2.451	1.315
varianza	61.275	32.873
% acumulado	61.275	94.148

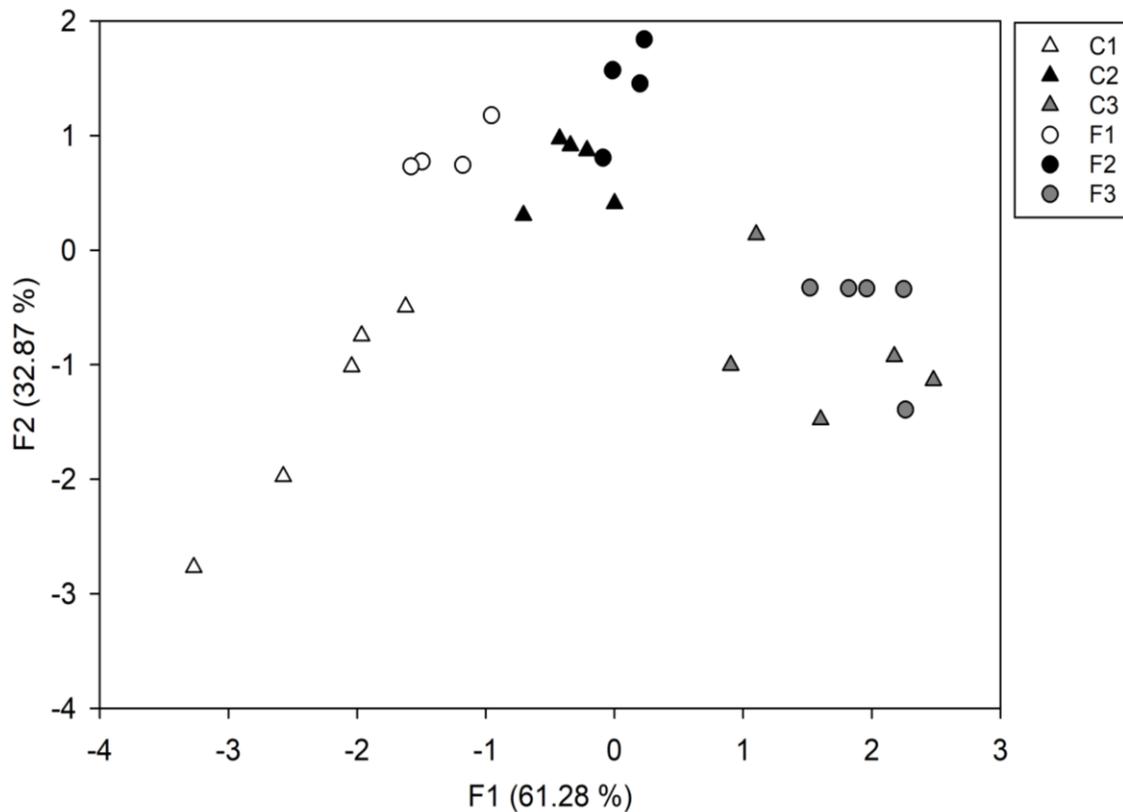


Figura 3.10 Análisis de componentes principales (PCA) de variables fisiológicas y anatómicas de propágulos de manglar chaparro y de franja. C1= chaparro etapa 1, C2= chaparro etapa 2, C3= chaparro etapa 3, F1= franja etapa 1, F2= franja etapa 2, F3= franja etapa 3.

Cuadro 3.6 Variables fisiológicas y empleadas en el análisis de componentes principales (PCA), para propágulos y hojas de manglar chaparro y de franja; y su correlación entre los componentes 1 y 2 (Ψ_{π} = potencial osmótico, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo, $\Psi_{\text{mín}}$ = potencial hídrico mínimo).

Variables	Propágulos	
	F1	F2
$\Psi_{\text{máx}}$	35.902	22.016
$\Psi_{\text{mín}}$	39.776	4.95
Ψ_{π}	24.321	73.034
valores propios	2.054	0.675
varianza	68.463	22.515
% acumulado	68.463	90.978

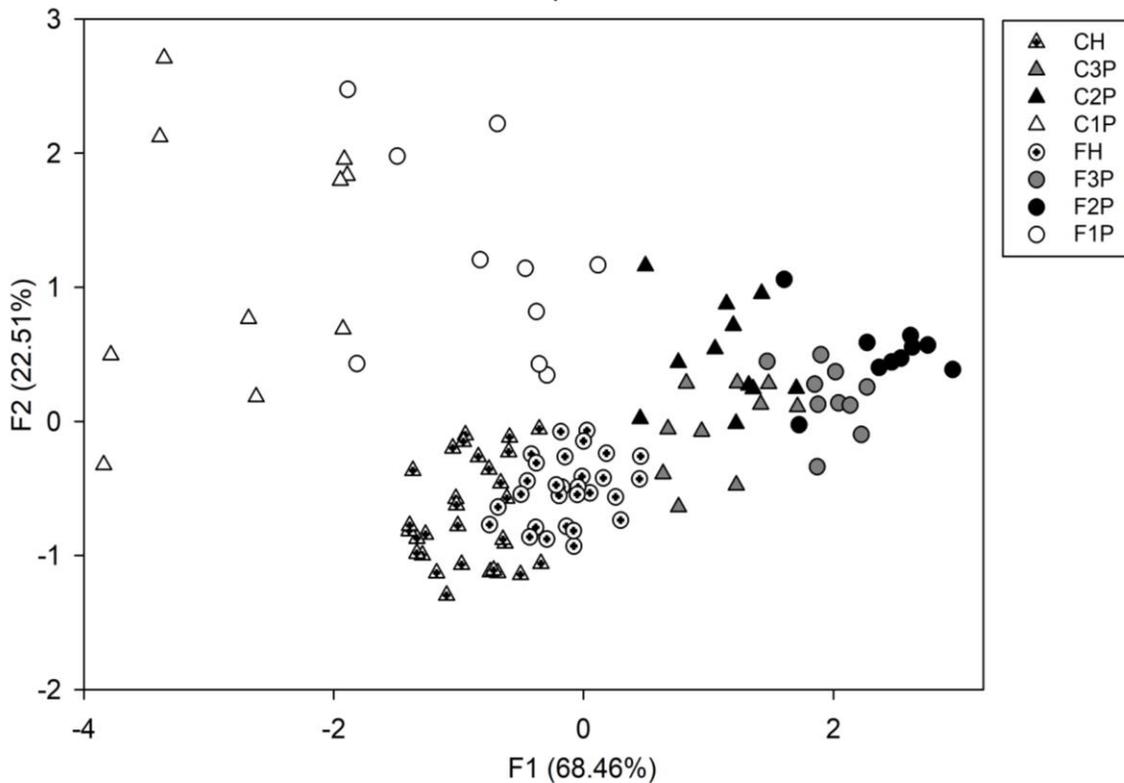


Figura 3.11 Análisis de componentes principales (PCA) de variables fisiológicas de propágulos y hojas de manglar chaparro y de franja. CH= hoja de la planta madre chaparro, C1P= propágulo de chaparro etapa 1, C2P= propágulo de chaparro etapa 2, C3P= propágulo de chaparro etapa 3, FH= hoja la planta madre de franja, F1P= propágulo de franja etapa 1, F2P= propágulo de franja etapa 2, F3P= propágulo de franja etapa 3.

3.1.8 Análisis de Correlación Canónica (CCA)

El análisis de correlación canónica identificó que los propágulos se dividen en dos grupos, tomando en cuenta el ecotipo de manglar de *R. mangle*, a su vez también los separó por etapas. Las variables dependientes correspondieron a las fisiológicas y anatómicas, mientras que las ambientales se emplearon como las variables independientes. Las variables dependientes explicaron un 87.32 % de la variación (Λ de Wilks= 0.105; $F= 6.97$; $P<0.0001$) (Figura 3.12). Se observó una fuerte correlación positiva entre los iones Na^+ y el K^+ , así como entre los iones Na^+ con Cl^- . La salinidad se relacionó negativamente con el ion Na^+ y el ion Cl^- . El área de la médula, el potencial hídrico mínimo, el potencial hídrico máximo y el potencial osmótico se encuentran inversamente correlacionados con la salinidad. También el potencial hídrico del suelo tiene una correlación inversa con la salinidad superficial e intersticial (Figura 3.13).

De acuerdo al análisis de redundancia, se observó que las variables microambientales explican el 85% de la variación ($F1=0.063$) de las variables anatómicas y fisiológicas de los propágulos. Se observó que las 3 etapas ontogénicas de manglar de franja se determinaron por los valores más bajos de la salinidad intersticial relacionados con los valores más reducidos de las variables del potencial hídrico máximo y el Na^+ , pero más elevados de Cl^- , K^+ y área del córtex. Inversamente el manglar chaparro se distribuye en donde el gradiente de salinidad intersticial es más elevada, así como los valores de Cl^- y el área de la médula. Las etapas se definieron y diferenciaron principalmente por la salinidad intersticial, observando un gradiente en amplio en el manglar chaparro, en el cual las etapas 1 y 2 del manglar de franja se traslaparon y se obtuvieron valores más reducidos.

Las etapas 3 de manglar de franja y la etapa 1 de manglar chaparro, coinciden mostrando un comportamiento similar. Aunque son separadas principalmente por los valores reducidos de Na^+ en manglar de franja y elevados de K^+ en el manglar chaparro, evidenciando las diferencias entre los ecotipos. Se observó que las etapas de crecimiento de los propágulos en el manglar chaparro se encuentran más definidas y separadas por un gradiente, en comparación con el manglar de franja.

Cuadro 3.7 Coeficientes canónicos estandarizados de las variables anatómicas y fisiológicas de los propágulos, y de las variables microambientales de cada ecotipo (Ψ_{π} = potencial osmótico, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo, $\Psi_{\text{mín}}$ = potencial hídrico mínimo, Ψ_{suelo} = potencial hídrico del suelo).

Coeficientes canónicos estandarizados (Y1):

Variables anatómicas y fisiológicas	F1	F2	F3
Área de la médula	1.223	-0.321	2.150
Área del córtex	-0.260	1.270	-3.001
$\Psi_{\text{máx}}$	0.009	-1.434	0.079
$\Psi_{\text{mín}}$	0.361	1.033	-0.035
Ψ_{π}	0.013	0.534	0.767
Na^+	-2.235	-2.643	3.978
K^+	-0.221	1.497	-0.734
Cl^-	3.117	1.972	-3.013

Coeficientes canónicos estandarizados (Y2):

Variables microambientales	F1	F2	F3
Ψ_{suelo}	-0.018	-1.010	-0.763
Salinidad intersticial	-1.083	-1.183	2.964

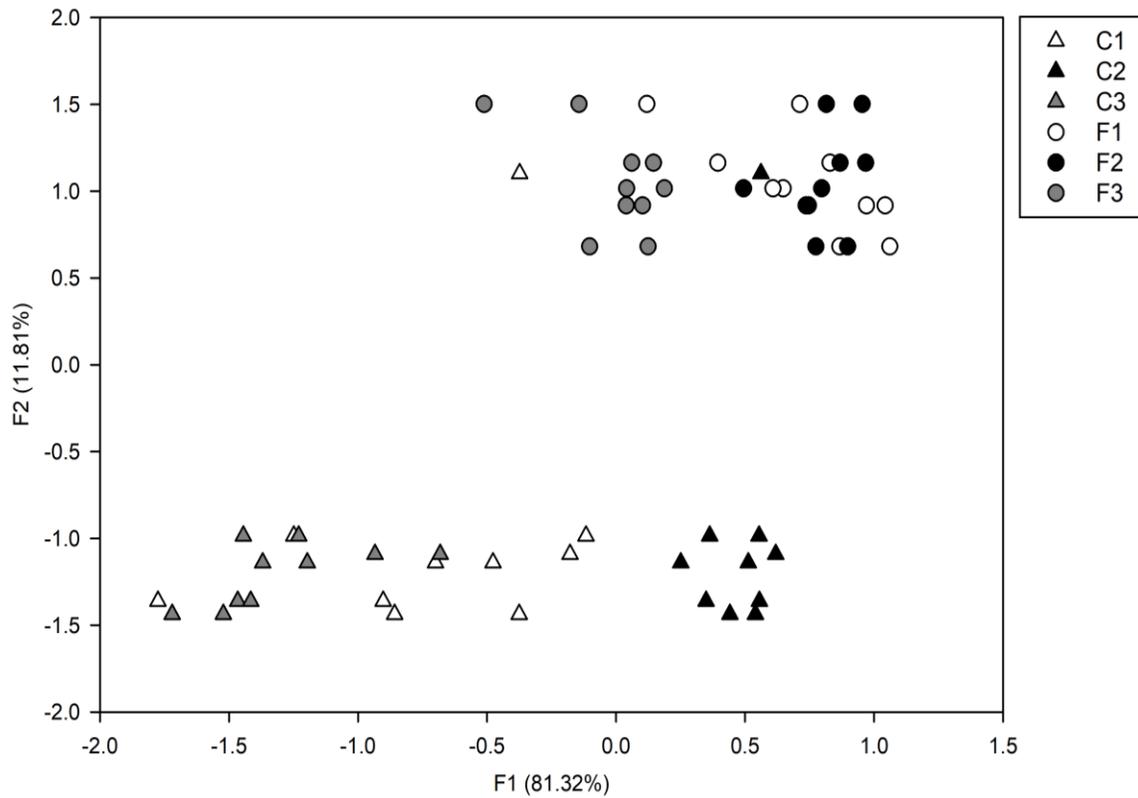


Figura 3.12 Análisis de correlación canónica (CCA) de variables fisiológicas y anatómicas de propágulos de manglar chaparro y de franja. C1= chaparro etapa 1, C2= chaparro etapa 2, C3= chaparro etapa 3, F1= franja etapa 1, F2= franja etapa 2, F3= franja etapa 3.

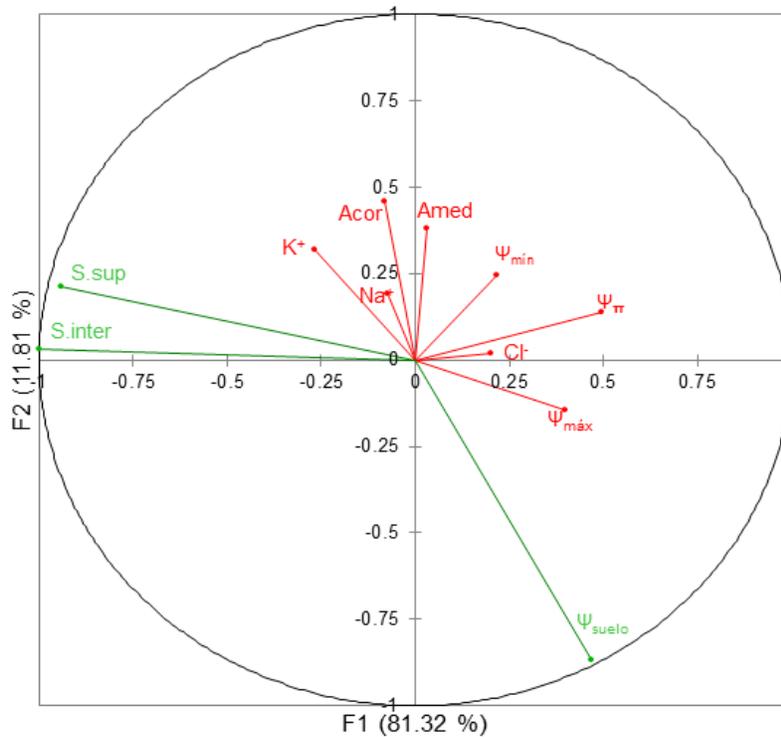


Figura 3.13 Biplot del análisis de correlación canónica (CCA) de variables ambientales del manglar chaparro y de franja así como variables fisiológicas y anatómicas de propágulos. Amed= área de la médula, Acor= área del córtex, K⁺= potasio, Na⁺= sodio, Cl⁻= cloro, $\Psi_{\text{mín}}$ = potencial hídrico mínimo, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo, Ψ_{π} = potencial osmótico, S.sup= salinidad superficial, S.inter= salinidad intersticial. La longitud de los vectores es una medida de la variabilidad. Las variables dependientes de muestran en rojo y las independientes en verde.

CAPÍTULO IV.

4.1 DISCUSIÓN

Las diferencias encontradas respecto a la presencia y densidad de iones, así como el uso y transporte de agua en propágulos durante tres etapas de crecimiento se encontraron relacionadas con el ecotipo de manglar. Durante la ontogenia de los propágulos se presentaron potenciales hídricos mayores al de la planta madre, promoviendo el transporte de agua. Las variables anatómicas y fisiológicas de los propágulos relacionadas con el ambiente mostraron características representativas para cada una de las etapas en los dos ecotipos de manglar. De manera que cada una se distingue por presentar un comportamiento diferente.

4.1.1 MICROAMBIENTE

La laguna de Celestún tiene un aporte de agua dulce subterránea principalmente, debido a que se encuentra en una geoforma cárstica. Este aporte se ve modificado en los ecotipos cercanos a la línea costera, debido a la influencia de la marea, lo que repercute en el nivel y frecuencia de inundación, así como en la salinidad y el flujo y disponibilidad de nutrientes (Zaldívar-Jiménez, 2004; Zaldívar-Jiménez *et al.*, 2010; Morales-Ojeda *et al.*, 2019). En nuestro estudio, en el manglar de franja se obtuvo una salinidad intersticial promedio de 23.42 ppm con un potencial hídrico del suelo de -2.10 MPa. En otro trabajo realizado por Cisneros (2014) en la Laguna de Celestún se obtuvieron valores similares de salinidad pero no de potencial hídrico del suelo (salinidad 25.84 ppm, potencial hídrico del suelo -0.30 Mpa). Estas diferencias en el potencial hídrico de suelo entre nuestro trabajo y el reportado por Cisneros (2014) pueden atribuirse a la variabilidad espacial o a la influencia de agua dulce durante las mediciones. Además, lo anterior se relaciona con el DPV mínimo obtenido que fue de 0.59 kPa, ya que el continuo aporte de agua de la laguna y a la cobertura vegetal a pesar de la temperatura, provoca que la demanda evaporativa sea baja.

La salinidad en el sedimento es una condición ambiental que determina el crecimiento en manglares (Twilley & Rivera-Monroy, 2005). La salinidad modifica el pH y con ello se afecta la disponibilidad y toma de nutrientes, donde el exceso de Na⁺ causa la hipersalinidad (hipersodicidad), y compite con el K⁺ durante los mecanismos de absorción

a nivel del suelo. Por otra parte, *R. mangle* presenta tolerancia ante diferentes gradientes de salinidad (Lin & Sternberg, 1992), por ello modifica sus estrategias fisiológicas y anatómicas para la toma y uso eficiente de nutrientes y agua dependiendo de la zona donde se encuentre, ya que la salinidad e hidrología determinarán el crecimiento y establecimiento de las plantas adultos, plántulas y propágulos, así como la estructura del manglar (Naidoo, 2010; Reef *et al.*, 2010; Machado & Serralheiro, 2017). En el presente estudio, se observó que el ecotipo de manglar y el mes evaluado presentaron diferencias en salinidad e hidrología. Este es el caso del manglar chaparro, el cual se encuentra tierra adentro de la laguna de Celestún recibiendo el aporte de agua principalmente por precipitación, de la cual también depende el nivel de inundación (Morales-Ojeda *et al.*, 2019). Este ecotipo se encuentra bajo estrés hídrico, con valores promedio de potencial hídrico del suelo de $-2.72 (\pm 9.74)$.

Además, de acuerdo a los resultados que obtuvimos, debido a la alta temperatura promedio, hay una alta evaporación y por tanto, una alta demanda evaporativa (DPV=3.19 kPa), lo que conlleva a un incremento en la salinidad intersticial (44.62 ppm). Los manglares de ecotipo chaparro también tienen limitación de minerales, específicamente siendo deficientes en nitrógeno y fósforo (Lugo & Snedaker, 1974; Mckee, 1995; Zaldívar-Jimenez *et al.*, 2004; Lovelock *et al.*, 2006, Fang & Chou, 2008; Cisneros, 2014). Marcando una variación estacional en el manglar chaparro principalmente durante la transición del mes de julio a agosto, lo que se reflejó en la disminución de la demanda evaporativa. Conforme la temperatura y la humedad del aire incrementan en el transcurso del día, la demanda evaporativa aumenta, por eso se observó ese comportamiento al mediodía en ambos ecotipos de manglar (Lin & Sternberg, 1992; Nobel, 2009). Por otra parte, la alta demanda evaporativa registrada en nuestro trabajo podría estar relacionada con el tamaño de los árboles y el área del dosel, ya que el sedimento del manglar chaparro a diferencia del manglar de franja, se encuentra mayormente expuesto.

Las condiciones microambientales pueden modificar las respuestas fisiológicas y anatómicas en el sistema planta madre-propágulos, ya que la primera es la intermediaria entre el propágulo y el ambiente; y los recursos serán destinados a los propágulos durante su crecimiento dependiendo de su disponibilidad. Eso podría afectar el

establecimiento y crecimiento inicial de los propágulos (Mckee, 1995; López-Hoffman *et al.*, 2006; López-Hoffman *et al.*, 2007; Krauss *et al.*, 2008).

4.1.2 INTERACCIÓN EN EL SISTEMA PLANTA MADRE-PROPÁGULO

Existen numerosas investigaciones en las que se han estudiado las adaptaciones de respuestas fisiológicas y morfológicas de plantas adultas y plántulas de *R. mangle* (Behnke & Richter, 1989; Smith & Snedaker, 1995; Farnsworth, 2000; Melcher *et al.* 2001; Lovelock *et al.*, 2006; Naidoo, 2010; Reef *et al.*, 2010; Cisneros, 2014), a pesar de ello muy pocas investigaciones realizan los mismos estudios aplicados en propágulos, considerando la fenofase donde se encuentran unidos a la planta madre (Lotschert & Liemann, 1967; Joshi *et al.*, 1972; Pannier & Pannier, 1975; Proffitt *et al.*, 2006). En general, estudiar el crecimiento de los propágulos durante la viviparidad y su relación con la planta madre, permitirá entender el efecto que tienen los diferentes ecotipos de ambientes sobre las respuestas fisiológicas-anatómicas del sistema de inversión materna, asegurando que se encuentren acoplados al lugar donde cumplirán su ciclo de vida, maximizando así la adecuación del individuo maternal y promoviendo la adecuación de los propágulos.

Con relación al primer componente del sistema que es la planta madre; es conocido que la toma de agua por parte de la planta adulta se ve afectada por la salinidad humedad del sedimento. Es decir, la planta debe mantener un potencial hídrico menor al de suelo para asegurar el transporte de agua desde las raíces hasta los diferentes órganos (Lambers *et al.*, 2008; Reef & Lovelock, 2015). Dependiendo de las condiciones ambientales y características de los individuos, Reef & Lovelock (2015) reportan que las especies de manglar, incluyendo a *R. mangle*, pueden mantener un potencial hídrico de hasta -3.5 MPa comparado con el agua de mar y dependiendo de las condiciones del ambiente en el que se distribuyan. Estos resultados son parecidos a los obtenidos en este trabajo, ya que los ecotipos del manglar chaparro y de franja difirieron presentando valores por debajo de lo reportado, de -4.33 MPa y -3.92 MPa, respectivamente. Además, en nuestra investigación los valores de potencial hídrico relacionados con el uso del agua durante el día fueron semejantes con lo reportado (Lin & Sternberg, 1992; Naidoo, 2010) en ambos ecotipos de manglar. Dado que el potencial de presión es el principal factor determinante del potencial hídrico, nuestro estudio, al igual que la gran mayoría de los reportes en

plantas de diferentes ambientes, muestran que el potencial prealba fue mayor que el obtenido al mediodía. Esto lo podemos atribuir debido a la transpiración que ocurre por la alta temperatura durante el día, siendo durante la noche el proceso de recuperación de toma de agua de las plantas adultas (Lambers *et. al.*, 2008; Naidoo, 2010) y de los propágulos.

Por otra parte, el segundo componente en importancia del potencial hídrico es el potencial osmótico (Werner & Stelzer, 1990; Ball, 1998, Reef & Lovelock, 2010) debido a que la acumulación de iones en el medio celular permite la extracción de agua del sustrato, siempre y cuando se cumpla la condición de que la concentración osmolar de las células sea mayor (y por tanto, el potencial osmótico menor) al medio medio externo, que en los manglares contiene una gran cantidad de solutos, incluidas las sales. En las hojas de la planta madre del manglar de ecotipo chaparro y de franja de *R. mangle* el potencial osmótico fue de -3.86 MPa y -3.40 MPa, respectivamente, explicando en cierta medida el mantenimiento del continuo de agua por la acumulación de solutos que pueden ser de tipo inorgánico (iones) y orgánico (manitol, prolina, glicinabetaína y triterpenoides) (Ball, 1988). Para soportar la columna de agua a través de la planta, el potencial osmótico debe ser menor que el del agua de mar (-3.5 MPa), (Reef & Lovelock, 2015), por lo tanto dependiendo de la salinidad del sustrato la planta deberá mantener potenciales osmóticos menores al potencial hídrico del suelo durante el día. Nuestros resultados concuerdan con lo reportado, el potencial osmótico presentó diferencias dependiendo del ecotipo de manglar, ya que existen variaciones en la concentración de salinidad relacionadas con las características de cada microambiente, mencionadas anteriormente. Lo que tendrá como resultado modificaciones relacionadas con su funcionamiento y morfología, entre la que destaca a simple vista el tamaño de las plantas y de sus propágulos.

Sin embargo, eso no es todo ya que el estudio de esta especie también debe involucrar la viviparidad y con ello cada uno de los componentes del sistema planta madre-propágulo y su interacción en distintos ambientes. La viviparidad es una adaptación reproductiva que cuenta con la estrategia reguladora del estado hídrico del propágulo, pero no obstante también mantiene una relación entre la planta progenitora y el propágulo. En la cual la planta madre actúa como una clase de amortiguador entre el medio externo y su descendencia (Pannier, 1962 en Pannier & Rodríguez 1967; Joshi *et al.*, 1972). Esto se

confirmó con los valores de potencial osmótico e hídrico encontrados en ambos ecotipos de manglar, mostrando que esa estrategia se presenta en ambos ecotipos, pero a su vez cada uno muestra diferencias. Se confirma la participación de la planta madre durante el crecimiento de los propágulos ejerciendo regulación y amortiguamiento de osmolitos.

Con relación a esto, Henckel (1963) menciona que la viviparidad influye gradualmente sobre el crecimiento del propágulo, para ayudarlo a adquirir mayor resistencia ante condiciones altas de salinidad en etapas posteriores como la dispersión y establecimiento. Si bien es cierto, se necesitan más estudios e incluso experimentos para poder resolver esa hipótesis, lo que sí se puede mencionar de acuerdo con lo obtenido; es que la planta madre y el propágulo conforman un sistema en el que la osmorregulación es llevada a cabo durante cada etapa, y cada una se diferencia por mostrar relaciones hídricas particulares.

En ambos ecotipos de manglar durante la primera etapa de crecimiento del propágulo el potencial hídrico cuantificado en propágulos fue menor en comparación con la hoja cercana de la planta madre. Sin embargo, durante las siguientes etapas el potencial hídrico del propágulo que obtuvimos fue mayor. Por ello concordamos con lo reportado por Lotschert & Liemann (1967), Pannier (en Lotschert & Liemann 1967) y Pannier & Pannier (1975) sobre el transporte activo de nutrientes entre la planta madre y el propágulo, en el cual dicho transporte sucede debido a la presencia de un “tejido glandular” que regula la descarga de solutos al propágulo, y creemos que probablemente estos autores hacían referencia a las células de transferencia (Zhang *et. al.*, 2007). Además, el primero menciona que el K^+ aumenta conforme el propágulo crece, así como el Na^+ , aunque distingue que el Cl^- disminuye desde la parte superior hasta la inferior, proponiendo que eso puede deberse al enriquecimiento de Cl^- al establecerse, funcionando como una “adaptación dirigida” a los altos valores osmóticos del sedimento. La diferencia de presión osmótica entre los nutrientes inorgánicos y fotoasimilados de las hojas y los órganos heterótrofos o sumideros (propágulos), promueve que la diferencia de presión hidrostática establezca el flujo de floema (Patrick *et. al.*, 2001; Zhang *et. al.*, 2007; Lambers *et. al.*, 2008). En este caso, la hoja (fuente) el órgano que contiene una mayor concentración de solutos que son transportados vía floema hacia el propágulo (sumidero) más cercano (Matthews & Shackel, 2005; Matthews *et al.*, 2009).

Por otro lado, los valores de potencial osmótico obtenidos durante las diferentes etapas ontogénicas de los propágulos podrían tener relación con la hipótesis que plantea Munch (1930), que consiste en que los azúcares, como la sacarosa, y otras moléculas son transportadas vía floema incrementando la concentración de azúcares; de esta manera el agua es transferida desde los vasos del xilema cercanos al floema para transportar las moléculas desde las hojas de la planta madre (fuente) hasta los frutos y propágulos (sumideros) generando una disminución en el potencial osmótico durante su crecimiento. Los azúcares transportados durante las diferentes etapas podrían haber presentado una fluctuación debido a su utilización (Knoblauch *et al.*, 2016; Salmon, 2019).

Esos solutos son transportados desde el floema hasta el pedicelo donde se une al fruto; posteriormente por transporte activo del simplasto, dichos solutos son distribuidos hasta las células de la semilla, ya que no existe una conexión directa del tejido vascular de la planta madre con el embrión. De esta manera, se confirma que durante la primera etapa de crecimiento los propágulos realizan numerosas divisiones celulares. Al finalizar dicho proceso, entonces comienza la acumulación de solutos osmóticamente activos (azúcares e iones), que son movilizados por cotransportadores de la membrana celular, manteniendo el flujo de agua proveniente del floema por ósmosis a través de las acuaporinas, y así promoviendo la turgencia de las células hasta finalizar la maduración del propágulo (órgano sumidero) (Zhang *et al.*, 2007; Lambers *et al.*, 2008). En algunas semillas es conocido que, en etapas posteriores a su desarrollo, el agua que fluye por el apoplasto de la semilla es recirculada hacia el xilema de la planta madre (Pate *et al.*, 1985; Wada *et al.*, 2008; Knipfer *et al.*, 2015).

En este sentido el flujo de agua y de nutrientes desde la planta madre hacia el propágulo ocurre por medio de osmorregulación, a través de células que actúan como barreras osmóticas (Knipfer *et al.*, 2015). De esta manera, se evidencia la interacción del sistema planta madre-propágulo, así como las diferencias dentro del sistema entre las etapas y el ecotipo. La osmorregulación en los propágulos ocurre en ambos ecotipos, pero se caracteriza por realizar un ajuste *ad hoc* al microambiente. Ocurriendo una dependencia del propágulo a la planta madre para la obtención de recursos. Aunque creemos que se debe investigar a profundidad las estructuras y mecanismos moleculares que se encuentran interactuando en el sistema.

4.1.3 ANATOMÍA DE PROPÁGULOS

El tamaño de los propágulos de las especies de manglar ha llamado la atención de algunos investigadores, debido que es un factor que establece competencia inter e intraespecífica en el bosque del manglar. Se piensa que, dependiendo de las condiciones del ambiente, como los nutrientes, la salinidad y el nivel de inundación, y el efecto materno (genética) será el tamaño que obtenga el propágulo maduro al finalizar su crecimiento en la planta madre (Proffitt & Travis, 2010). Ese tamaño final tiene efectos sobre la supervivencia y el establecimiento brindándole ventajas adaptativas a los propágulos (Sousa *et. al.*, 2003). Rabinowitz (1978^a) y Sousa y colaboradores (2003) estudiaron la tasa de mortalidad de los propágulos de *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* y *Avicennia germinans* relacionada con el tamaño, y concluyeron que la mortalidad en propágulos con mayor tamaño es menor. No obstante, la necesidad de estudiar el tamaño de los propágulos durante su crecimiento con la planta madre no ha sido considerado y mucho menos las diferencias entre la misma especie formando diferentes ecotipos. Pudimos observar que las diferencias en el tamaño se encuentran dadas por el ecotipo, probablemente relacionadas con las variables ambientales ya que encontramos diferencias en el potencial hídrico del suelo y salinidad. Aunque falta mayor información, este trabajo podría ayudar a entender las diferencias asociadas al tamaño de los propágulos de ecotipos contrastantes, relacionadas con la cantidad de iones asociados al movimiento del agua, las relaciones hídricas y las estructuras de transporte de agua y nutrientes en el hipocótilo durante el crecimiento de propágulos. Por otra parte Proffitt & Travis (2010) reportó la influencia del ambiente en el tamaño de los propágulos y Dangremond & Feller (2016) encontraron la relación entre el tamaño y la salinidad y la latitud, obteniendo un mayor tamaño a mayor latitud.

La hipótesis del tamaño óptimo de la descendencia menciona diversos supuestos en los que plantea la relación entre la viabilidad y el tamaño (mínimo y máximo) de la descendencia. El segundo supuesto relaciona el tamaño con la cantidad de descendencia producida, ya que el incremento del tamaño puede tener efectos negativos en la cantidad o masa de la descendencia. A su vez, se plantea que la masa y tamaño se podrían relacionar con la cantidad de recursos destinados durante su ontogenia, ocurriendo competencia fisiológica entre órganos sumideros o competencia genética debido a la influencia paterna. Finalmente, se menciona que la planta madre puede optar por la

sobreproducción de semillas para asegurar su adecuación, sin embargo, esto tendría que evaluarse con relación a las características y recursos disponibles del ambiente donde se encuentre habitando la planta madre. Esto último podría tener implicaciones evolutivas (Sakai & Sakai, 2005; Sadras & Denison, 2009). Aunque en el presente trabajo no se evaluó dicha hipótesis, en un futuro podría tomarse en cuenta para futuras investigaciones y brindar mayor información sobre la relación de la inversión materna y el tamaño de los propágulos maduros durante su desarrollo en diferentes ecotipos de manglar.

Por otra parte, el aporte y almacenamiento de carbohidratos, así como la formación del sistema vascular durante el crecimiento del propágulo con la planta madre es de vital importancia debido a que las reservas serán transportadas y empleadas durante el establecimiento para la producción de raíces y hojas, y de esa forma, transitar hacia la independencia (Lin & Sternberg, 1995; Smith & Snedaker, 2000; Dissanayeke *et. al.*, 2014; Cisneros, 2019). El sistema vascular de los propágulos en las tres etapas de crecimiento presentó crecimiento primario con presencia de cambium, el cual es característico de tallos en crecimiento, ya que posteriormente da lugar al crecimiento secundario del xilema y floema (Beck, 2010; Rybel *et. al.*, 2016). A partir de la primera etapa se encontró xilema primario y también protofloema y metafloema, siendo las estructuras del floema primario las primeras en formarse para distribuir los nutrientes, carbohidratos y agua (Rybel *et. al.*, 2016) hacia el hipocótilo en germinación y, posteriormente, hacia la totalidad del propágulo en crecimiento. Al encontrarse pocos vasos del xilema al final de la maduración de los propágulos, este estudio apoya lo reportado por Cisneros (2019) en el que se menciona que el crecimiento secundario del sistema vascular ocurre hasta después del establecimiento.

Dado que no se encontraron diferencias en el área del córtex de los propágulos de manglar chaparro y de franja, siendo este tejido quien cumple con la función de almacenamiento de carbohidratos (Bek, 2010); se sugiere que, aunque los propágulos de manglar chaparro son de menor tamaño, compensan esa diferencia con el aumento del área del córtex durante las diferentes etapas de crecimiento para poder así almacenar la cantidad de carbohidratos que requieren para su establecimiento. Por otra parte el área de la médula tiene diferencias en ambos ecotipos en la etapa 1 y 2. No obstante, en la etapa 3 no existen diferencias entre los ecotipos de manglar, sugiriendo que ambos

cuentan con la capacidad de generar el sistema vascular durante su establecimiento, mostrando una gran plasticidad, ya que la médula es el tejido con la potencialidad de llevar a cabo el crecimiento secundario. La presencia de amiloplastos esféricos a elipsoidales como tejido de almacenamiento es importante porque probablemente, dependiendo de la cantidad almacenada, los carbohidratos de reservas serán empleados para producir raíces y hojas durante el establecimiento (Pannier & Pannier, 1975; Tomlinson & Cox, 2000; Bek, 2010; Rybel *et. al.*, 2016). Sin embargo, faltan estudios donde se evalúe el crecimiento de los propágulos en diferentes ambientes y el uso de las reservas otorgadas por la planta madre.

La formación del sistema vascular es de suma importancia por su función de transportar nutrientes, azúcares y agua a larga distancia. Tonné y colaboradores (2016) describieron en *Bruguiera gymnorrhiza* y *Ceriops tagal* las estructuras del sistema vascular, mencionando que durante las primeras etapas no todos los haces vasculares presentaron vasos. En las tres etapas descritas de *R. mangle* de ambos ecotipos de manglar se encontró el sistema vascular, aunque durante la primera etapa se observó en todos los haces vasculares la presencia de floema primario y no así al xilema primario coincidiendo con Juncosa (1982). Además, presentaron fibras y esclereidas (astroesclereidas) que brindan soporte al propágulo (Tomlinson & Cox, 2000; Tonné *et. al.*, 2016). Por otra parte, la endodermis se encontró en la parte interna del córtex, circundante a los haces vasculares durante las tres etapas. La endodermis puede contener taninos y la banda de Caspary regulando la entrada de agua en los tejidos internos del propágulo (Juncosa, 1982).

El parénquima de los propágulos es de tipo aerénquima, el cual facilita la entrada de aire y gases para así proporcionarle flotabilidad, ya que su dispersión es de tipo hidrócora (Bek, 2010; Tomlinson, 2016). Las células del aerénquima de los neumatóforos en *Avicennia marina* durante su desarrollo poseen forma circular a elipsoidal con crecimiento esquizogénico, posteriormente conforme continúa su desarrollo las células se separan longitudinalmente hasta formar espacios intercelulares amplios y las células adquieren su forma final ya sea en I, Y, T o X (Purnobasuki & Suzuki, 2005). Esa forma final de las células maduras del aerénquima con presencia de taninos también se encuentra reportado para *Avicennia germinans* (Yáñez-Espinosa & Flores, 2011) y *Rhizophora*

mangle aunque, en este último caso, el aerénquima también contiene cristales (Yáñez-Espinosa, comunicación oral, 2019). El desarrollo del aerénquima de los propágulos corresponde al crecimiento esquizogénico ya que las células en la etapa 1 se observan circulares y de gran tamaño con gran acumulación de almidón. Posteriormente en la etapa 2 y 3 las células disminuyen de tamaño, pero mantienen la forma circular con alta acumulación de almidón y taninos.

4.1.4 FUNCIÓN DE LOS IONES K^+ , Cl^- Y Na^+ EN PROPÁGULOS

Las plantas que conforman el bosque del manglar presentan adaptaciones para la toma de agua y nutrientes, debido a la alta concentración de sales. Por ello, la disponibilidad de nutrientes se ve afectada por las variables físico-químicas del ambiente (Twilley & Rivera-Monroy, 2005) y eso tiene repercusiones en las adaptaciones fisio-morfológicas no solamente de las plantas adultas, también muy probablemente en los propágulos. El K^+ es un macronutriente que es esencial para las plantas en general, por su basta cantidad de funciones, como la activación de enzimas, la síntesis de proteínas, mantiene la turgencia, participa en la fotosíntesis y promueve el mantenimiento del potencial eléctrico dentro de las células, pero principalmente es importante para la regulación osmótica y promover la toma de agua, (Ball *et al.*, 1987; Reef *et al.*, 2010; Tomlinson, 2016). No obstante, el Na^+ en *R. mangle* es un ion que se almacena en la vacuola y cumple funciones osmóticas; y también es un macronutriente para esta especie. El ingreso de este ion es contralado por medio de la ultrafiltración en las raíces. Según estudios de Werner & Stelzer (1990) las plantas de *R. mangle* expuestas a una alta salinidad, conservaron una proporción de K^+/Na^+ adecuada para el funcionamiento. En nuestro estudio observamos que durante la ontogenia de los propágulos en ambos ecotipos la concentración de Na^+ durante todas las etapas fue menor a comparación del K^+ . Aunque son necesarios más estudios sobre el contenido de iones en propágulos, la concentración obtenida indica que el K^+ y el Na^+ mantienen funciones osmóticas importantes durante la ontogenia de los propágulos.

Durante la floración y la producción de semillas es importante que no exista limitación de K^+ ya que tiene efectos negativos (Das *et al.* En Yates *et al.*, 2002). Por otra parte, el K^+ al cumplir funciones como la regulación osmótica y el movimiento del agua, puede verse influyendo en el crecimiento de los propágulos en diferentes ambientes interactuando con otros nutrientes como el Na^+ , Cl^- , P y N, ya que se sabe que la interacción entre ellos

causa efectos en el crecimiento en plantas adultas (Yates *et. al.*, 2001, Lovelock *et. al.*, 2006b; Reef & Lovelock, 2015; Cisneros, 2019). Durante la primera etapa de crecimiento de los propágulos en ambos ecotipos de manglar se registró una mayor concentración de Na^+ , Cl^- y K^+ , sin embargo, el manglar chaparro obtuvo una mayor proporción de éstos, ya que los iones Na^+ , Cl^- , se encuentran correlacionados positivamente con la salinidad del suelo; por ende, el aporte de K^+ hacia los propágulos por parte de la planta madre debe mantenerse mayormente activo para asegurar la toma de agua, osmorregulación y acumulación durante las diferentes etapas (Wolswinkel, 1992; Zhang *et. al.*, 2007; Britto & Kronzucker, 2008), mientras que los propágulos del manglar de franja presentan una menor cantidad de Na^+ y Cl^- pero durante la etapa 2 y 3 el K^+ aumenta en comparación a los demás. Aunque la diferencia es significativa con el Na^+ , no es así para el Cl^- , esto podría relacionarse con la función del Cl^- en conjunto con el K^+ , en la osmorregulación y la elongación celular que ocurre precisamente durante dichas etapas (Chen *et. al.*, 2010). Esto es de importancia y se debe analizar la interacción entre los nutrientes y la salinidad ya que causa efectos en la plasticidad fisiológica y morfológica en los manglares (Yates *et. al.*, 2002; Chen *et. al.*, 2010).

Finalmente, todo lo anterior abre paso a la discusión que se ha mantenido hace algunos años sobre la viviparidad y su función. De acuerdo a una de las explicaciones formuladas por Schimper (1891, 1903), Warming (1909) y Haberlandt (1898) la viviparidad es una adaptación al ambiente en donde se provee de recursos a las plántulas durante su formación, porque de otra forma las semillas no podrían germinar en un ambiente en el cual la disponibilidad de agua es baja (Joshi, 1933). Sin embargo, llama la atención que existen escasas investigaciones que estudien la viviparidad de *Rhizophora* sp., existiendo una gran brecha en el conocimiento y quedando preguntas sin responder. No fue hasta después que Tomlinson & Cox (2000) consideraron que la viviparidad brinda ventajas al permitir el pronto establecimiento de los propágulos, además de estar acoplados al ambiente inundado por el hipocótilo alargado que actúa en forma de “snorkel”; haciendo posible su dispersión a larga distancia. Otro aspecto que no se ha estudiado con respecto a los efectos maternos, es si existe una correlación entre el tamaño del propágulo y el de la planta madre; así como la cantidad de recursos destinados durante su desarrollo en diferentes ecotipos de manglar. O bien la influencia del ambiente sobre el genotipo. En nuestro estudio pudimos observar que el transporte de agua e iones no solamente difiere

entre ecotipos de manglar, sino que de igual manera entre etapas de crecimiento. Por otra parte, aunque el tamaño de los propágulos entre ecotipos es distinto, el diámetro de los propágulos durante la etapa de maduración pareciera que se compensa con el tamaño entre el manglar chaparro y de franja. Si bien es cierto, la falta de estudios fisiológicos, anatómicos e incluso genéticos de etapas tempranas de propágulos es grande, esto abre un campo grande de estudio para tomarlo como especie modelo.

**CAPÍTULO V.
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS
5.1 CONCLUSIONES**

El tamaño de los propágulos, en los diferentes estadios difirió en los dos ecotipos de manglar. Sin embargo, aunque los propágulos de franja fueron de mayor tamaño, los propágulos de manglar chaparro presentaron una compensación de tamaño-área total del propágulo; el córtex y la médula ocuparon una mayor área en comparación con los del manglar de franja.

El área transversal de la médula y córtex en propágulos de manglar chaparro y franja durante la etapa de maduración no difirió. Indicando que probablemente los propágulos de ambos ecotipos presentan la misma área con el potencial de desarrollar el sistema vascular.

El microambiente no tuvo efecto sobre la anatomía del sistema vascular de los propágulos. Sin embargo, el área de la médula y del córtex durante la primera etapa de crecimiento tuvo una mayor proporción de tejido en los propágulos del manglar chaparro, pero en ambos ecotipos de manglar el córtex es el tejido que ocupó un área mayor.

Los propágulos de ambos ecotipos de manglar presentaron crecimiento primario del sistema vascular, lo que permite que los nutrientes y agua otorgados por la planta madre sean transportados por el floema a lo largo del propágulo por medio de transporte activo. La presencia de pocos vasos del xilema al final de la maduración, confirma que el crecimiento secundario del sistema vascular sucede hasta después del establecimiento.

El desarrollo esquizogénico del tejido aerenquimático se presentó en todas las etapas de crecimiento de los propágulos. Dentro de las células se observó la presencia de amiloplastos. Estos resultados podrían considerarse en un futuro para estudiar el papel de los carbohidratos durante el establecimiento y la generación de raíces, tallo y hojas.

Contrario a lo que se hipotetizó, los propágulos de manglar chaparro presentaron una mayor cantidad de K^+ en comparación con los de franja. Este comportamiento asegura el cumplimiento de las funciones de regulación osmótica, la toma de agua, entre otras, en el propágulo en crecimiento.

El potencial hídrico fue menor en propágulos de manglar chaparro durante la etapa de maduración; y, por ende, presentaron un mayor potencial osmótico en comparación al manglar de ecotipo franja, de acuerdo a lo esperado.

El transporte de iones, agua y carbohidratos de reserva de la planta madre hacia los propágulos depende del microambiente.

Cada una de las etapas ontogénicas en los propágulos de manglar chaparro, presentó una diferenciación acentuada relacionada con la salinidad del ambiente y las variables anatómicas y fisiológicas. Esto indica que los propágulos atraviesan por etapas de pre-acondicionamiento, etapa crítica y acondicionamiento. Siendo la etapa 2, una fase crítica para su desarrollo.

El manglar chaparro presentó un microambiente más contrastante que el manglar de franja, con estacionalidad marcada en el déficit de presión de vapor durante los meses evaluados de junio-agosto. Además, este ecotipo de manglar también presentó valores más altos de salinidad y menor potencial hídrico del suelo en comparación con el de franja.

5.2 PERSPECTIVAS

Es necesario complementar información sobre el ciclo de vida de *Rhizophora mangle* en la península de Yucatán, específicamente en los diferentes ecotipos de la Reserva de la Biósfera Celestún. Esta información puede ayudar a los programas, las estrategias de conservación y la restauración a que se desarrollen en el futuro. Durante este estudio se observó que la fenología no coincidía con la reportada, ni se asociaban los cambios estacionales con la fenología.

Otro aspecto a estudiar es lo relacionado con el proceso de acumulación de carbohidratos de reserva que son otorgados por la planta madre durante el desarrollo de los propágulos, y la contribución de este proceso al tamaño final del propágulo. Experimentos de trasplante en campo podrían servir para medir la utilización de reservas y el efecto sobre el genotipo de los propágulos en diferentes ambientes durante el establecimiento.

Para conocer si el hipocótilo presenta fotosíntesis sería conveniente evaluar el balance de carbono de los propágulos.

Un aspecto poco estudiado en general en las plantas en condiciones naturales es el efecto materno, y *R. mangle* podría ser un buen modelo de estudio; se podría conocer sobre la disyuntiva reproductiva y el efecto genético materno dado por el ambiente. Así como el tipo de relación existente entre el tamaño del propágulo y el de la planta madre, y el tamaño-cantidad de propágulos producidos en diferentes ecotipos de manglar (teoría del tamaño óptimo de la descendencia).

Por último, la evaluación de hormonas o genes responsables de la germinación de *R. mangle* bajo diferentes condiciones de salinidad o nutrientes, podría ser de utilidad para conocer el comportamiento en condiciones ambientales variables. Posteriormente, se podría relacionar con la producción de propágulos (aunque existan otras variables a considerarse). Finalmente, toda la información que se genere será vital para la conservación y restauración de los bosques de manglar.

BIBLIOGRAFIA

- Agraz-Hernández, C., Noriega-Trejo, R., López-Portillo, J., Flores-Verdugo, F.J., Jiménez-Zacarías, J.J. (2006). Guía de Campo. Identificación de los Manglares en México. Universidad Autónoma de Campeche. 45 p.
- Azcárraga, R. M., Jácquez, R. M., Bonfil, C. A. & Zapotitla, S. E. (2010). *Atlas de Anatomía Vegetal*. México, D.F. UNAM.
- Ball, M.C., W.S. Chow and J.M. Anderson. (1987). Salinity-induced potassium deficiency causes loss of functional photosystem II in leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina*, through depletion of the atrazine-binding polypeptide. *Functional Plant Biology*. 14:351–361 pp.
- Ball, M. C. (1998). Mangrove Species Richness in Relation to Salinity and Waterlogging: A Case Study Along the Adelaide River Floodplain, Northern Australia. *Global Ecology and Biogeography Letters*. 7(1): 73:82.
- Ball, S., Morell, M. (2003). From bacterial glycogen to starch: understanding the biogenesis of the plant starch granule. *Annual Review of Plant Biology*. 54:207-33.
- Baskin, C. C. & Baskin, J. M. (2014). Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. Elsevier. 2° ed. 957-986 pp.
- Behnke, H. & Richter, K. (1989). Primary Phloem Development in the Shoot Apex of *Rhizophora mangle* L. (rhizophoraceae). *Botanical Acta*. 103:296-304 pp.
- Beck, C. B. (2010). *An Introduction to Plant Structure and Development. Plant Anatomy for the Twenty-First Century*. 2° Ed. Michigan, Cambridge University Press.
- Boizard, S. & Mitchell, S. (2011). Resistance of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) seedlings to deflection and extraction. *Trees-Structure and Function*. 25(3): 371-381 pp.
- Britto, D. T. & Kronzucker, H. J. (2008). Cellular mechanisms of potassium transport in plants. *Physiologia Plantarum*. 133 (4):637-650 pp.
- Bunt, J. S. (1996). Mangrove Zonation: An Examination of Data from Seventeen Riverine Estuaries in Tropical Australia. *Annals of Botany*. 78:333-341 pp.
- Blunwald, E., Aharon, G. S.& Apse, M. P. (1999). Sodium transport in plant cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. Pp. 140-151

- Castañeda-Moya, E., Twilley, R.R, Rivera-Monroy, V.H., Marx, B.D., Coronado-Molina, C., Ewe, S.M.L. (2011). Patterns of root dynamics in mangrove forests along environmental gradients in the Florida coastal Everglades, USA. *Ecosystems*: 14, 1178–1195 pp.
- Chen, W. He, Z. L., Yang, X. E., Mishra, S., Stoffella, P. J. (2010). Chlorine nutrition of higher plants: Progress and perspectives. *Journal of Plant Nutrition*. 33(7): 943-952 pp.
- Chen, L. & Wang, W. (2017). Ecophysiological Responses of Viviparous Mangrove *Rhizophora stylosa* Seedlings to Simulated Sea-Level Rise. *Coastal Research*. 33(6): 1333-1340 pp.
- Cisneros, C. D. J. (2014). Arquitectura hidráulica de plántulas y adultos de *Rhizophora mangle* L. en manglar de franja y chaparro en Celestún. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica de Yucatán. México. 71 p.
- Cisneros, C. D. J. (2019). Variabilidad genética, anatómica y fisiológica de *Rhizophora mangle* L. en la Península de Yucatán. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación Científica de Yucatán. México. 139 p.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2002) Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Ría Celestún. México. 74 p.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2009). Manglares de México: Extensión y distribución. 2ª ed. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 99 p.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2013). Manglares de México. Extensión, Distribución y Monitoreo. México. 39 p.
- Clarke, L.D. & Hannon, N. J. (1971) The Mangrove Swamp and Salt Marsh of the Sydney District: III Plant growth in relation to salinity an waterlogging. *Journal of Ecology*. 58: 351-369 pp.
- Dangremond, E. M. & Feller, I. C. (2016). Precocious reproduction increases at the leading edge of a mangrove range expansión. *Ecology and Evolution*. 6(14): 5087-5092 pp.
- Das, S. (2001). Seedling morphology of three mangrove species and its taxonomic implications. *Journal of Plant Biology*. 44(2): 92-96 pp.
- Dissanayake, N.P., Madarasinghe, S.K., Kodikara, K.A.S., Jayatissa, L.P., Perera, A.J.D., Koedam, N. & Dahdouh-Guebas, F. (2014). . *Journal of the Department of Wildlife Conservation*. 2:141-151 pp.
- Dittmar, T., Hertkorn, N., Kattner, G. & Lara, R. J. (2006) Mangroves, a major source of dissolved organic carbon to the oceans. *Global Biochemical Cycles*. 20: 1-7 pp.

- Drexler, J. Z., (2001). Maximum Longevities of *Rhizophora apiculata* and *R. mucronata* Propagules. *Pacific Science*. 55:17–22 pp.
- Dreyer, I. & Uozomi, N. (2001). Potassium channels in plant cells. *FEBS Journal*. 278(22): 4293-4303 pp.
- Duke, N. C., Ball, M. C. & Ellison, J. C. (1998). Biodiversity and function of mangrove ecosystems. *Global Ecology and Biogeography Letters*. 7(1): 27-47 pp.
- Durán, R. & Méndez, M. (2010). Manglares. En Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. p. 138-139 pp.
- Elmqvist, T. & Cox, P. A. (1996). The Evolution of Vivipary in Flowering Plants. *Oikos*. 77(1): 3-9 pp.
- Fang, W.T. & Chou, J.Y. (2008). Dwarf and fringe mangrove forest stands of Calabash Caye (Belize): A structural and functional comparison. *Journal of Ecology and Environmental Sciences*. 1(1): 1-12 pp.
- FAO (2007) The world's mangroves 1980-2005 pp.
- Farnsworth, E. (2000) The Ecology and Physiology of Viviparous and Recalcitrant Seeds. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 31: 107-138 pp.
- Field, C. B., Osborn, J. G., López-Hoffman, L., Polsenberg, J. F., Ackerly, D. D., Berry, J. A., Bjorkman, O., Held, A., Matson, P. A. & Mooney, H. A. (1998). Mangrove biodiversity and ecosystem function. *Global Ecology and Biogeography Letters*. 7(14): 3-14 pp.
- Flowers, T. J., Munns, R. & Colmer, T. D. (2015). Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Annals of Botany*. 115: 419-431.
- Gill, A. M. & Tomlinson, P.B. (1971) Studies on the growth of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.). 3. Phenology of the shoot. *Biotropica*. 3(2): 109-124 pp.
- Hafsi, C., Debez, H. & Abdelly, C. (2014). Potassium deficiency in plants: Effects and signaling cascades. *Acta Physiologiae Plantarum*. 36: 1055-1070 pp.
- Herrera-Silveira, J.A. (1994). Spatial heterogeneity and seasonal patterns in a tropical coastal lagoon. *Coastal Research*. 10(3):738-746 pp.
- Hutchings, P. & Saenger, P. (1987). Ecology of mangroves. University of Queensland Press. p 370.
- Janzen, D. H. (1982). Ecological Distribution of Chlorophyllus Developing Embryos Among Perennial Plants in a Tropical Deciduous Forest. *Biotropica*. 14(3): 232-236 pp.

- Jennerrjahn, T. C. & Ittekot, V. (2002) Relevance of mangroves for the production and deposition of organic matter along tropical continental margins. *Naturwissenschaften*. 89: 23-30 pp.
- Joshi, A. C. (1933) A Suggested Explanation of the Prevalence of Vivipary on the Sea.Shore. *Journal of Ecology*. 21(1):209-212 pp.
- Joshi, G.V., Pimplaskar, M. & Bhosale, L. (1972). Physiological studies in germination of mangroves. *Botanica Marina*. 15: 91-95 pp.
- Juncosa, A. M. (1982) Developmental Morphology of the Embryo and Seedling of *Rhizophora mangle* L. *American Journal of Botany*. 69 (10): 1599-1611 pp.
- Juncosa, A. M. & Tomlinson, P. B. (1988) Systematic Comparison and Some Biological Characteristics of Rhizophoraceae and Anisophylleaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 75 (4): 1296-1318 pp.
- Kigel, J. & Galilli, G. (1995). Seed Development and Germination. CRC Press. 872 p.
- Kirkham, M.B. (2005). Principles of soil and plant water relations. Elsevier Inc. pp. 484.
- Knifer, T., Fei, J., Gambetta, G. A., McElrone, A. J., Shackel, K. A. & Matthews, M. A. (2015). Water Transport Properties of the Grape Pedicel during Fruit Development: Insights into Xylem Anatomy and Function Using Microtomography. *American Society of Plant Biologists*. 168: 1590-1602 pp.
- Knoblauch, M., Knoblauch, J., Mullendore, D. L., Savage, J., Babst, B., Beecher, S., Dodgen, A., Jensen, K. & Holbrook, M. (2016). Testing the Munch hypothesis of long distance phloem transport in plants. *eLife*. 1-13 pp.
- Krauss, K. W. & Allen, J. A. (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 pp.
- Krauss, K. W., Lovelock, C. E., McKee, K. L., López-Hoffman, L., Ewe, M. L. & Sousa, W. P. (2008). Environmental drivers in mangrove establishment and carry development: A review. *Aquatic Botany*. 89(2): 243-258 pp.
- Krauss, K. W. & Ball, M.C. (2013). On the halophytic nature of mangroves. *Trees*. 27: 7-11 pp.
- Krauss, K. W., McKee, K. L., Lovelock, C.E., Cahoon, D. R., Saintilan, N. Reef, R. & Chen, L. (2014) How mangrove forests adjust to rising sea level. *The New Phytologist*. 202 (1): 19-34 pp.

- Lambers, H., Pons, T. L. & Chapin, F.S. (2008) Plant Physiological Ecology. *Springer*. 2ª edición.
- Leck, M. A., Parker, V. T. & Simpson, R. L. (2008). Seedling Ecology and Evolution. Cambridge University Press. 514 p.
- Lee, S. Y., Primavera, J. H., Dahdouh-Guebas, F., McKee, K., Bosire, J. O., Cannicci, S., Diele, K., Fromard, F., Koedam, N., Marchand, C., Mendelssohn, I., Mukherjee, N. & Record, S. (2014). Ecological role and services of tropical mangrove ecosystems: a reassessment. *Global Ecology and Biogeography*. 23: 726-743 pp.
- Lin, G. & Sternberg, S. L. (1992). Effect of Growth Form, Salinity, Nutrient and Sulfide on Photosynthesis, Carbon Isotope Discrimination and Growth of Red Mangrove (*Rhizophora mangle* L.). *Plant Physiology*. 19: 509-517 pp
- Lin, G. & Sternberg, S. L. (1995). Variation in Propagule Mass and Its Effect on Carbon Assimilation and Seedling Growth of Red Mangrove (*Rhizophora mangle*) in Florida, USA. *Tropical Ecology*. 11(1): 109-119 pp.
- López-Hoffman, L., Anten, P.R. N., Martínez-Ramos, M. & Ackerly, D. D. (2007) Salinity and light interactively affect neotropical mangrove seedlings at the leaf and whole plant levels. *Oecologia*. 150 (4): 545:556 pp.
- López-Hoffman, L., Jeanne, L. D., Monroe, I. E., Shaftel, R., Anten, N., Martínez-Ramos, M. & Ackerly, D. D. (2006). Mangrove Seedling Net Photosynthesis, Growth, and Survivorship are Interactively Affected by Salinity and Light. *Biotropica*. 35(5): 606-616 pp
- López-Portillo, J., Ewers, F.W., Méndez-Alonzo, R., López, C.L.P., Angeles, G., Alarcón, J.A.L., Lara-Domínguez, A.L. & Torres, B.M.C. (2014). Dynamic control of osmolality and ionic composition of the xylem sap in two mangrove species. *American Journal of Botany*. 101(6): 1013-1022 pp.
- Lotschert, W. & Liemann, F (1967) Die Salzspeicherung im Keimling von *Rhizophora mangle* L. während der Entwicklung auf der Mutterpflanze. *Planta*. 77: 142-156.
- López-Portillo, J. & Ezcurra, E. (2002). Los manglares de México: una revisión. *Madera y Bosques. Número especial*. 27-51 pp.
- Lovelock, C. E., Ball, M. C., Choat, B. Engelbrecht, B., Holbrook, N. M. & Feller, I. C. (2006). Linking physiological processes with mangrove forest structure: Phosphorus deficiency limits canopy development, hydraulic conductivity and photosynthetic carbon gain in dwarf *Rhizophora mangle*. *Plant, Cell and Environment*. 29: 793-802 pp.

- Lovelock, C. E., Feller, I. C., Ball, M. C., Engelbrecht, B.M. & Ewe, M. L. (2006b). Differences in plant function in phosphorus- and nitrogen-limited mangrove ecosystems. *New Phytologist*. 172(3): 514-522 pp.
- Lugo, A. E. & Snedaker, S. C. (1974). The Ecology of Mangroves. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5:39-64 pp
- Lugo, A.E., Brown, S. & Brinson, M.M. (1988). Forested wetlands in freshwater and salt-water environments. *Limnology and Oceanography* 33: 894-909 pp.
- Machado, R. M. & Serralheiro, R. (2017). Soil Salinity: Effect on Vegetable Crop Growth Management Practices to Prevent and Mitigate Soil Salinization. *Horticultrae*.3:30:
- Marshall, D. & Uller, T. (2007). When is a maternal effect adaptative? *Oikos*. 116:1957-1963 pp.
- Matthews, M.A. & Shackel, K.A. (2005). Growth and water transport in fleshy fruit. In NM Holbrook, MA Zwieniecki, eds, *Vascular Transport in Plants*. Elsevier Academic Press, Burlington,VT, pp 181–197
- Matthews, M.A., Thomas, T.R. & Shackel, K.A. (2009). Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: possible relation of veraison to turgor and berry softening. *Aust J Grape Wine Res*. 15: 278–283 pp
- McElrone, A. J., Choat, B., Gambetta, G. A. & Brodersen, C. R. (2013). Water Uptake and Transport in Vascular Plants. *Nature Education Knowledge*. 4(5):6.
- Mckee, K L., (1995). Seedling recruitment patterns in a Belizean mangrove forest: effects of establishment ability and physico-chemical factors. *Oecologia*. 101:448-460 pp
- Melcher, P. J., Goldstein, G., Meinzer, F. C., Yount, D. E., Jones, T. J., Holbrook, N. M. & Huang, C. X. (2001). Water relations of coastal and estuarine *Rhizophora mangle*: xylem pressure potential and dynamics of embolism formation and repair. *Oecologia*. 126: 182-192 pp.
- Morales-Ojeda, S. M., Medina-Gómez, I., Ramírez-Ramírez, J., Osorio, M. I., Teutli-Hernández, C., Aguilar-Trujillo, A., Pech-Poot, E., Carrillo-Baeza, L. & Camacho-Rico, A. (2019). Almacenes y Flujos en Lagunas Costeras: Laguna Celestún. En. *Estado del Ciclo del Carbono: Agenda Azul y Verde*. (224-239 pp.) Programa Mexicano del Carbono. Texcoco, Estado de México, México.
- Moreno, P. L. (2009). Respuestas de las plantas al estrés por déficit hídrico. Una revisión. *Agronomía Colombiana*. 27(2): 179-191

- Naidoo, G. (2010). Ecophysiological differences between fringe and dwarf *Avicennia marina* mangroves. *Trees, Structure and Function*. 24(4): 667-673 pp.
- Naidoo, G. (2016). The mangroves of South Africa: An ecophysiological review. *South African Journal of Botany*. 107: 101-113.
- Nobel, P. (2009). *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*. 4° ed. Elsevier.
- Pannier, F. & Rodríguez, M. P. (1967). The b-inhibitor complex and its relation to vivipary in *Rhizophora mangle* L. *Int. Revue ges. Hydrobiol.* 52(5): 783-792
- Pannier, F. & Pannier, R.F. (1975). *Physiology of vivipary in Rhizophora mangle*. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida, Florida. 632-639.
- Parida, A. K. & Jha, B. (2010). Salt tolerance mechanisms in mangroves: a review. *Trees*. 24:199-217.
- Pate, J.S., Peoples, M.B., Van Bel, A.J.E., Kuo, J., Atkins, C.A. (1985). Diurnal water balance of the cowpea fruit. *Plant Physiology*. 77, 148–156 pp.
- Patrick, J. W., Zhang, W., Tyerman, S. D., Offler, C. & Walker, A. (2001). Role of membrane transport in phloem translocation of assimilates and water. *Australian Journal of Plant Physiology*. 28(7): 695-707 pp.
- Perry, E., L. Marín y J. McClain. (1995). Ring of Cenotes (sinkholes), northwest Yucatan, Mexico: its hydrogeologic characteristics and possible association with the Chicxulub impact crater. *Geology*. 23(1): 17-20.
- Polaina, J. (1990). Adaptaciones fisiológicas en algunas especies de mangles. *Acta Biológica Colombiana*. 2(6): 23-36.
- Puthur, J. T., Shackira, A. M, Saradhi, P. P. & Bartels, D. (2013). *Journal of Plant Physiology*. 170(13): 1131-1138.
- Proffitt, C. E. & Travis, S. E. (2010). Red Mangrove Seedling Survival, Growth, and Reproduction: Effects of Environment and Maternal Genotype. *Estuaries and Coasts*. 33:890-901.
- Proffitt, C. E., Milbrandt, E. C. & Travis, S. E. (2006). Red Mangrove (*Rhizophora mangle*) Reproduction and seedling colonization after hurricane Charley: Comparisons of Charlotte Harbor and Tampa Bay. *Estuaries and Coasts*. 29(6A): 972-978.
- Purnobasuki, M., & Suzuki, H. (2005). Study on Pneumatophore *Avicennia marina*. *Asian Journal of Plants Sciences*. 4(4): 334-347 pp.
- Rabinowitz, D. (1978a). Mortality and initial propagule size in mangrove seedlings in Panama. *Journal of Ecology*. 66: 45-51.

- Rabinowitz, D. (1978b). Dispersal Properties of Mangrove Propagules. *Biotropica*. 10(1): 47-57.
- Rabinowitz, D. (1978c). Early growth of mangrove seedlings in Panama, and an hypothesis concerning the relationship of dispersal and zonation. *J. Biogeography*. 5: 113-133.
- Ragel, T. P. (2012). Identificación y caracterización de los elementos implicados en el inicio de la síntesis de almidón en plantas. (Tesis doctoral). Universidad de Sevilla-CSIC. Sevilla.
- Reef, R. & Lovelock C. E. (2015). Regulation of water balance in mangroves. *Annals of Botany*. 115(3):385-395
- Reef, R., Feller, I. C., & Lovelock, C. E. (2010). Nutrition of mangroves. *Tree Physiology*. 30(9): 1148-1160 pp.
- Roach, D.A. & Wulff, R.D. (1987) Maternal Effects in Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18: 209-35.
- Rodas-García, R. & Collazo-Ortega, M. (2006). Manual de prácticas de fotosíntesis. Universidad Nacional Autónoma de México UNAM. 91-98.
- Rodríguez-Pérez, L. (2006). Implicaciones fisiológicas de la osmorregulación en plantas. *Agronomía Colombiana*. 24(1): 28-37
- Rybel, D. B., Mahonen, A. P., Helariutta, Y. & Weijers, D. (2016). Plant vascular development: From early specification to differentiation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 17(1): 30-40 pp.
- Sadras, V. & Denison, R. (2009). Do plants compete for resources? An evolutionary viewpoint. *New Phytologist*. 183:565-574 pp.
- Sakai S, Sakai A. (2005). Nature of size-number trade-off: test of the terminal-stream-limitation model for seed production of *Cardiocrinum cordatum*. *Oikos*. 108: 105–114 pp.
- Salmon, Y., Dietrich, L., Sevanto, S., Holttä, T., Dannoura, M. & Epron, D. (2019). Drought impacts on tree phloem: from cell-level responses to ecological significance. *Tree Physiology*. 1-19 pp.
- Sandylian, S. & Kathiresan, K. (2012). Mangrove conservation: a global perspective. *Biodiversity Conservation*. 21:3523-3542.
- Scholander, P.F. (1968) How mangroves desalinate seawater. *Physiologia plantarum*. 21: 251-261.

- Shabala, S. & Mackay, A. (2011). Ion transport in halophytes. En I Turkan. Ed. *Plant responses to drought and salinity stress: developments in a post-genomic era*. London Academic Press, Elsevier. Pp. 151-199
- Shi, S., Huang, Y., Zeng, K., Tan, F., He, H., Huang, J., Fu, Y. (2005) Molecular phylogenetic analysis of mangroves: independent evolutionary origins of vivipary and salt secretion. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 34:159-166.
- Silveira-Herrera, J. & Ceballos, E. (1998). Manglares: Ecosistemas valiosos. CONABIO. *Biodiversitas* 19:1-10.
- Sivak, M., Preiss, J., Taylor, S. (1998). *Starch: basic science and biotechnology*. Advances in Food and Nutrition Research 41:199
- Smith, S. M. & Snedaker, S. C. (1995). Salinity Responses in Two Populations of Viviparous *Rhizophora mangle* L. Seedlings. *Biotropica*. 27(4): 435-440.
- Snedaker, S. C. (1982). Mangrove species zonation: why?, en: Tasks for vegetation science 2, Sen, D. N. & Rajpurohit, K. S. (ed). Dr. W. Junk Publishers, The Hague. pp. 111-125.
- Smith, S.M. & Snedaker, S.C. (2000). Hypocotyl function in seedling development of the red mangrove, *Rhizophora mangle* L. *Bio-tropica*. 32(4a): 677-685.
- Schmitz, N., Verheyden, A. Beeckman, H. Kairo, J. G. & Koedam. N (2006b). Influence of a Salinity Gradient on the Vessel Characters of the Mangrove Species *Rhizophora mucronata*. *Annals of Botany*. 98: 1321-1330.
- Schmitz,
- Sousa, W. P., Kennedy, P. G. & Mitchell, B. J. (2003). Propagule size and predispersal damage by insects affect establishment and early growth of mangrove seedlings. *Oecologia*. 135: 564-575.
- Sussex, I. (1975). Growth and Metabolism of the Embryo and Attached Seedling of the Viviparous Mangrove, *Rhizophora mangle*. *American Journal of Botany*. 62(9): 948-953
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. Sinauer Associates. 39-42 pp.
- Tarcila, N. & Machado, I. (2014). Formation in *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae): Resource or pollination limitation?. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*. 86(1): 229-238.
- Thom, B. G. (1967). Mangrove ecology and deltaic geomorphology: Tabasco, Mexico. *The Journal of Ecology*, 5 (2): 301-343 pp.

- Tobe, H. & Raven, P.H. (1988). Seed Morphology and Anatomy of Rhizophoraceae, Inter- and Intrafamilial Relationships. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 75(4): 1319-1342.
- Tomlinson, P.B. & Cox, P.A. (2000) Systematic and functional anatomy of seedlings in mangrove Rhizophoraceae: vivipary explained? *Botanical Journal of the Linnean Society*. 134: 215-231.
- Tomlinson, P.B. (2016) The Botany of Mangroves. Second edition. *Cambridge University Press*. pp. 419.
- Torres, A., Héctor, E. Cue, J. & Cevallos, M. (2018). *Fisiología Vegetal*. Universidad Técnica de Manabí. Vol. I. 240 p.
- Tyree, M.T. (2003). The ascent of water. *Nature*. 423: 923.
- Twilley, R. & Rivera-Monroy, V. (2005). Developing performance measures of mangrove wetlands using simulation models of hydrology, nutrient biogeochemistry, and community dynamics. *Coastal Research*. 21 (40): 79-93 pp.
- Valderrama, L., Troche, C., Rodríguez, M. T., Márquez, D., Vázquez, B., Velázquez, S., Vázquez, A., Cruz, M. I & Ressler, R. (2014). Evaluation of Mangrove Cover Changes in Mexico During the 1970-2005 Period. *Wetlands*. 34: 747-758.
- Wada H, Shackel, K.A. & Matthews, M.A. (2008) Fruit ripening in *Vitis vinifera*: apoplastic solute accumulation accounts for pre-veraison turgor loss in berries. *Planta* 227: 1351–1361
- Wang, W.Q., Yan, Z.Z., Zhang, Y.H., Chen, L.Z., & Lin, G.H. (2011). Mangroves: Obligate or facultative halophytes? A review. *Trees Structure and Function*. 25 (6): 953–963.
- Wang, W-Q., Ke, L., Tam, N. F. Y. & Wong, Y-S. (2002). Changes in the main osmotica during the development of *Kandelia candel* hypocotyls and after mature hypocotyls were transplanted in solutions with different salinities. *Marine Biology*. 141: 1029-1034.
- Werner, A. & Stelzer, R. (1990). Physiological responses of the mangrove *Rhizophora mangle* grown in the absence and presence of NaCl. *Plant, Cell and Environment*. 13: 243:255.
- Wise, R. R. & Juncosa, A. (1989). Ultrastructure of the transfer tissues during viviparous seedling development in *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae). *American Journal of Botany*. 76 (9): 1286-1298.
- Wolswinkel, P. (1992). Transport of nutrients into developing seeds: a review of physiological mechanisms. *Seed Science Research*. 2: 59-73 pp.

- Yáñez-Espinosa, L. & Flores, J. (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 Enviroments. S. Casalegno (Ed.), In Tech. Croatia. Pp. 253-276.
- Yáñez-Espinosa, L.; Angeles, G.; López-Portillo, J. & Barrales, S. (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.; Terrazas, L. & Angeles, G. (2008). The Effect of Prolonged Flooding on the Bark of Mangrove. *Trees – Structure and Function*. 22 (1): 77-86.
- Yáñez-Espinosa, L.; Terrazas, L.; López-Mata, L. & Valdez-Hernández, J.I. (2004). Wood Variation in *Laguncularia racemosa* and its Effect on Fibre Quality. *Wood Science and Technology*. (38) 3: 217-226.
- Yates, E. J., Ashwath, N. & Midmore, D. J. (2001). Responses to nitrogen, phosphorus, potassium and sodium chloride by three mangrove species in pot culture. *Trees. Structure and Function*. 16: 120-125 pp.
- Ye, Y., Gu., Y. T., Gao, H. Y. & Lu, C. Y. (2010). Combined effects of simulated tidal sea-level rise and salinity on seedlings of a mangrove species, *Kandelia candel* (L.). *Druce Hydrobiologia*. 641 (1): 287-300 pp.
- Youssef, T. & Saenger, P. (1996) Anatomical Adaptive Strategies to Flooding and Rhizosphere Oxidation in Mangrovee Seedlings. *Australian Journal of Botany*. 44(3): 297-313.
- Zaldívar, J. A., Herrera, S. J., Corona, M. C. & Alonzo, P. D. (2004). Estructura y productividad de los manglares en la reserva de la biosfera Ría Celestún, Yucatán, México. *Madera y Bosques*, vol. 10, núm. Es 2, pp. 25-35 Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, México.
- Zaldívar-Jiménez, M. A., Herrera-Silveira, J. A., Teutli-Hernández, C., Comín, F. A., Andrade, J. L., Coronado, M. C. & Pérez, C. R. (2010). Conceptual Framework for Mangrove in the Yucatán Peninsula. *Ecological Restoration*. 28 (3): 333-342.
- Zeng, Y., Ling, L., Yang, R., Yi, X. & Zhang, B. (2015). Contribution and distribution of inorganic ions and organic compounds to the osmotic adjustment in *Halostachys caspica* response to salt stress. *Scientific Reports*. 5:1-1

Zhang, W. H., Zhou, Y., Dibley, K. E., Tyerman, S. D., Furbank, R. T. & Patrick, J. W. (2007). Review: Nutrient loading of developing seeds. *Functional Plant Biology* 34 (4): 314-331 pp.

ANEXOS

ANEXO I. ÁREA DE MÉDULA-CÓRTEX EN PROPÁGULOS

5.1 Área de médula y córtex de la media el hipocótilo de propágulos de manglar de tipo chaparro y de franja, de tres etapas de crecimiento.

Ecotipo	Chaparro			Franja		
Etapas	1	2	3	1	2	3
Área córtex (mm ²)	5.46 ±2.79	9.39 ±3.07	42.88 ±4.91	1.27 ±0.18	6.19 ±1.66	42.88 ±4.91
Área médula (mm ²)	3.15 ±0.86	5.86 ±2.17	30.44 ±5	0.92 ±0.08	6.31 ±1.82	30.44 ±5

ANEXO II. RELACIONES HÍDRICAS ENTRE TIPOS ECOLÓGICOS

5.2 Variable fisiológicas relacionadas con el estado hídrico de los propágulos y hojas provenientes de la planta madre de tres etapas de crecimiento de dos ecotipos, de R. mangle. (Ψ_{π} = potencial osmótico, $\Psi_{\text{máx}}$ = potencial hídrico máximo, $\Psi_{\text{mín}}$ = potencial hídrico mínimo).

Ecotipo de manglar	Órgano	Etapas	Ψ_{π} (MPa)	$\Psi_{\text{máx}}$ (MPa)	$\Psi_{\text{mín}}$ (MPa)
Chaparro	Propágulo	1	-3.35 ± 0.86	-7.69 ± 2.06	-5.69 ± 0.59
		2	-2.27 ± 0.29	-3.34 ± 0.46	-3.00 ± 0.40
		3	-2.65 ± 0.33	-2.90 ± 0.26	-2.75 ± 0.18
	Hoja	1	-3.63 ± 0.27	-4.22 ± 0.18	-4.43 ± 0.24
		2	-4.05 ± 0.23	-4.19 ± 0.27	-4.47 ± 0.27
		3	-3.92 ± 0.27	-3.67 ± 0.23	-4.10 ± 0.33
Franja	Propágulo	1	-2.40 ± 0.48	-3.14 ± 0.24	-3.93 ± 0.25
		2	-1.75 ± 0.24	-2.22 ± 0.29	-2.05 ± 0.50
		3	-2.17 ± 0.20	-2.51 ± 0.34	-2.13 ± 0.40
	Hoja	1	-3.42 ± 0.22	-4.44 ± 1.20	-5.51 ± 0.95
		2	-3.27 ± 0.20	-3.44 ± 0.21	-3.83 ± 0.35
		3	-3.53 ± 0.17	-3.56 ± 0.17	-3.99 ± 0.45