



Universidad de Cádiz
Facultad de Ciencias del Mar
Departamento de Biología Animal,
Vegetal y Ecología
Área de Ecología

Tesis Doctoral

**Estudios sobre el
crecimiento en *Zostera
noltii* Hornem.: Dinámica
estacional y aspectos
ecofisiológicos**

Gloria Peralta González
Cádiz, 2000



Universidad de Cádiz

Facultad de Ciencias del Mar

Departamento de Biología Animal, Vegetal y Ecología
Área de Ecología

Tesis Doctoral

Estudios sobre el crecimiento en
Zostera noltii Hornem.: Dinámica
estacional y aspectos ecofisiológicos

Gloria Peralta González
Cádiz, 2000

Cubierta: Corte histológico de un meristemo apical de *Zostera noltii* Hornem.

Visado en Cádiz
Julio de 2000

Los Directores

Fdo.: Dr. D. Jose Lucas Pérez Lloréns
Prof. Titular de Ecología
Universidad de Cádiz

Dr. D. Ignacio Hernández Carrero
Prof. Titular de Ecología
Universidad de Cádiz

Memoria presentada para optar al grado de Doctor en Ciencias del Mar

Fdo.: Gloria Peralta González

D. JOSE LUCAS PÉREZ LLORÉNS, Profesor Titular de Ecología del Dpto. de Biología Animal, Vegetal y Ecología de la Facultad de CC. del Mar (Universidad de Cádiz), y D. IGNACIO HERNÁNDEZ CARRERO, Profesor Titular de Ecología del Dpto. de Biología Animal, Vegetal y Ecología de la Facultad de CC. del Mar (Universidad de Cádiz),

HACEN CONSTAR

Que el trabajo recogido en la presente memoria, titulada ***“Estudios sobre el crecimiento en Zostera noltii Hornem.: Dinámica estacional y aspectos ecofisiológicos”*** presentada por la licenciada Gloria Peralta González ha sido realizado bajo nuestra dirección. Considerando que resume su trabajo de Tesis y que reúne todo los requisitos legales, autorizamos su presentación y defensa para optar al grado de Doctor en Ciencias del Mar por la Universidad de Cádiz.

En Puerto Real, Julio de 2000

Fdo. Dr. D. Jose Lucas Pérez Lloréns

Fdo. Dr. D. Ignacio Hernández Carrero

La presente Tesis ha sido realizada gracias a la concesión de una Beca con Cargo a Grupos y Proyectos de la Universidad de Cádiz, en el marco del proyecto europeo “*Produção bentónica de fluxos de matéria orgânica na Ria Formosa, Portugal*” (INTERREG II, 12/REGII/6/96). El trabajo se ha llevado a cabo dentro del grupo consolidado del Plan Andaluz de Investigación, Estructura y Dinámica de Ecosistemas Acuáticos (RNM-214) cuyos miembros pertenecen al Área de Ecología del Dpto. de Biología Animal, Vegetal y Ecología de la Universidad de Cádiz.

Parte de este trabajo ha sido defendido y/o publicado en los siguientes foros:

Congresos:

Peralta, G., Pérez-Lloréns, JL., Brun, F., Hernández, I., Vergara, JJ. Modificaciones adaptativas de la fanerógama marina *Zostera noltii* Hornem. bajo distintos grados de exposición a corrientes de marea. (2000). *XI Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marino*. Málaga.

Peralta, G., Bouma, T., van Soelen, J., Pérez-Lloréns, JL, Hernández, I. (2000). Combined effects of light, nitrogen and redox potential in *Zostera marina* leaf growth. *ASLO 2000*. Copenhagen, Dinamarca.

Peralta, G.; Pérez-Lloréns, JL.; Brun, F.; Hernández, I.; Vergara, JJ. (2000). Vegetative propagation of *Zostera noltii* Hornem. in a biphasic medium. Implications for ecophysiological experiments. *4th International Seagrass Biology Workshop*. Córcega, Francia.

Publicaciones

Peralta, G.; Pérez-Lloréns, JL.; Hernández, I.; Brun, F.; Vergara, JJ.; Bartual, A.; Gálvez, JA.; García, CM. 2000. Morphological and physiological differences of two morphotypes of *Zostera noltii* Hornem. from the southwestern Iberian Peninsula. *Helgoland Marine Research*.54: 80-86.

Peralta, G.; Pérez-Lloréns, JL.; Brun, F.; Hernández, I.; Vergara, JJ. 2000. Vegetative propagation of *Zostera noltii* Hornem. in a biphasic medium. Implications for ecophysiological experiments. *Biologia Marina Mediterranea* 7 (2): 143–146.

Agradecimientos

Como bien dice el refranero español, *el saber no ocupa lugar*. Es difícil utilizar este refrán cuando veo mi mesa repleta de artículos y libros, aunque ahora, que veo lo poco que pesan más de tres años de vivencias y trabajo duro, considero este mensaje desde otra perspectiva. En esta memoria quedan reflejados los éxitos de mi trabajo de tesis. Sin embargo, esto no es más que la punta de un iceberg formado por un trabajo en equipo y numerosos intentos fracasados. Por este motivo no quiero concluir este trabajo sin dedicar un breve apartado a la *trastienda* de este *escaparate*.

En primer lugar quiero agradecer a mis directores de Tesis, Dr. José Lucas Pérez Lloréns y Dr. Ignacio Hernández Carrero, la dedicación y la preocupación demostrada durante muchos años, muchos más de los que han durado esta Tesis. Ellos han demostrado la paciencia suficiente para mejorar mi gramática, caótica y exagerada la mayoría de las veces, pero especialmente les agradezco haber forjado mi autoconfianza y mi autoestima, fruto del trabajo codo con codo en las condiciones más adversas (enfermedad, fango, lluvia y sobre todo mucho calor). Agradezco una labor de dirección a caballo entre la libertad y el apoyo, junto a un constante devenir de hechos, que valen más que las palabras.

También quiero agradecer la ayuda que me han proporcionado todos los profesores del área de Ecología (los Drs. Juan José Vergara Oñate, Carlos García Jiménez, Javier Ruíz Segura, José Ángel Gálvez Lorente, Fidel Echevarría Navas y Alfonso Corzo Rodríguez) que me han resuelto dudas científicas y técnicas y que incluso alguna vez se han metido en el fango para ayudarme. Al Dr. Juan Miguel Mancera, siempre con una sonrisa a mano para responder a mis preguntas. A Sebastián Tirado García le agradezco su ayuda técnica. A todos los becarios y colaboradores que han contribuido en las campañas portuguesas (Jesús, Ernesto, Ana, Abraham, José Juan, Susana, José Antonio, Andrés y Juan) les agradezco haber soportado mi tensión, las cuatro horas de fango, las cuatro horas de laboratorio y las ocho horas de viaje de cada muestreo. No me olvido de Fernando Brun Murillo, integrante activo del *comando noltii*, cuya colaboración en campo y cuyo trabajo científico han contribuido de forma importante a la realización de esta Tesis.

En estos agradecimientos no quiero pasar por alto mi incursión en tierras holandesas. Al Dr. Marten Hemminga le agradezco la oportunidad que me brindó de trabajar en el *Centrum voor Estuariene en Mariene Oecologie*. Al Dr. Tjeerd Bouma le agradezco su labor de dirección, su confianza y su preocupación. A Jos van Soelen y Annette Wielemaker, su colaboración y, especialmente, su calor que me hizo sentir como en casa durante 5 meses muy duros. A los inquilinos de “*de Kêete*” le agradezco su cruce de culturas, demostrando que, afortunadamente, todos somos *diferentes*, ni mejores, ni peores, y que las personas buenas no tienen fronteras.

Junto a mucha Ciencia, estos años han estado llenos de vivencias muy importantes. Despertar a la realidad requiere valor, energía y optimismo, y todo esto te lo proporcionan los amigos. Definitivamente me puedo considerar afortunada cuando veo la cantidad, y especialmente la calidad, de mis amigos. Durante mis momentos de hundimiento yo siempre he tenido cerca una madera a la que agarrarme, Laura, cuyo optimismo contagioso ha amortiguado la repetitiva *caída* e incluso ha mejorado mi carácter. También he tenido cerca a Ana con quien he compartido malos y buenos momentos de mi vida, a ella sólo puedo recordarle el nombre de una canción que simboliza casi todo, “*I will survive*”. A Merche le agradezco su bocanada de aire fresco y sus locuras (yo también te voy a echar de menos).

A mis *niñas* (Cata, Bea, Estrella y María) tengo que agradecerles su amistad, que siempre me recuerda que existen otras cosas además de esta Tesis. A Javi le agradezco su paciencia, siempre preocupado y cerca. A Rafa le agradezco sus consejos en momentos muy críticos, es muy reconfortante saber donde encontrar una mano incondicional.

A los compañeros de copitas, Alfredo, Carolina, César, Dori, Enríque, Guti, Jaime, Maca, Manolo G., Manolo B., Mónica, Rocío, Sora y Victor.

A los lejanos, Miguel, Marta, Patricia y Diego, es bueno comprobar que la distancia no enfría las verdaderas amistades.

A Kai por cambiar mi miedo al futuro por impaciencia.

Y a mi familia, por ser el pilar de mi vida, indestructible a pesar de las diferencias, los disgustos y las discusiones. Muchas gracias por el respeto y el apoyo.

A mis padres

Abreviaturas y símbolos

α	Eficiencia fotosintética estimada a partir de técnicas oximétricas
α_f	Eficiencia cuántica
AF	Anchura foliar
AI	Anchura internodal
β_f	Coefficiente de fotoinhibición estimado a partir de técnicas fluorimétricas
C foliar	Carbono foliar
C subt	Carbono subterráneo
C:N foliar	C:N foliar
C:N subt	C:N subterráneo
$F_{m\acute{a}x}$	Capacidad fotosintética estimada a partir de técnicas oximétricas
F_v/F_m	Rendimiento cuántico óptimo
IP	Intervalo de plastocrono
I_{sat}	Intensidad de saturación para la fotosíntesis estimada a partir de técnicas oximétricas
$I_{sat,f}$	Intensidad de saturación para la fotosíntesis estimada a partir de técnicas fluorimétricas
LF	Longitud foliar
LI	Longitud internodal
LR	Longitud radicular
N foliar	Nitrógeno foliar
NR	Nitrato reductasa
N subt	Nitrógeno subterráneo
PS_t	Peso seco total
TAF	Tasa de aparición foliar
TAI	Tasa de aparición internodal
TEF	Tasa de elongación foliar
TEI	Tasa de elongación internodal
TPF_A	Tasa de pérdida foliar en número
TPF_E	Tasa de pérdida foliar en longitud
TRF_A	Tasa de renovación foliar en número
TRF_E	Tasa de renovación foliar en longitud
$TTEr_{m\acute{a}x}$	Capacidad cuántica

Índice

CAPÍTULO 1: Introducción general	1
1.1. Las fanerógamas marinas	3
1.1.1. Talla y hàbitats	3
1.1.2. Importancia ecológica y económica	4
1.1.3. Un problema actual: la desaparición de las praderas de fanerógamas marinas	5
1.1.4. Medidas de protección y restauración de las praderas de fanerógamas marinas	7
1.2. <i>Zostera noltii</i> Hornem.	8
1.2.1. Distribución general	8
1.2.2. Características morfológicas	9
1.2.3. Características del crecimiento	10
1.3. Objetivos y estructura de la memoria	12
CAPÍTULO 2: Variación estacional de <i>Zostera noltii</i> en Ria Formosa (El Algarve, Portugal)	15
2.1. Introducción	17
2.1.1. Ria Formosa	18
2.1.2. Objetivos	20
2.2. Material y métodos	21
2.2.1. Lugar de muestreo	21
2.2.2. Variables físicas	22
2.2.3. Biomasa	22
2.2.4. Análisis de C y N	22
2.2.5. Técnica de marcación	22
2.2.6. Variables estimadas a partir de la técnica de marcación	24
2.2.6.1. Tasa de elongación foliar (TEF).	24
2.2.6.2. Tasa de aparición foliar (TAF)	25
2.2.6.3. Tasa de renovación foliar (TRF)	25
2.2.6.4. Intervalo de plastocrono (IP)	26
2.2.6.5. Tasa de pérdida foliar (TPF)	26
2.2.6.6. Tasa de elongación internodal (TEI)	27
2.2.6.7. Tasa de aparición internodal (TAI)	27
2.2.6.8. Tasa de elongación radicular (TER)	27
2.2.6.9. Tasa de aparición radicular (TAR)	27
2.2.6.10. Tasa de crecimiento (TC)	28

2.2.7. Tasa de fotosíntesis	28
2.2.8. Extracción de pigmentos fotosintéticos	30
2.2.9. Análisis estadístico	30
2.3. Resultados	31
2.3.1. Condiciones meteorológicas durante el periodo de estudio	31
2.3.2. Biomasa	32
2.3.3. Densidad poblacional	34
2.3.4. Morfometría	35
2.3.4.1. Longitud y anchura foliar	35
2.3.4.2. Longitud internodal y longitud radicular	38
2.3.5. Contenido en nutrientes de los tejidos	39
2.3.5.1. Fracción foliar	39
2.3.5.2. Fracción subterránea	41
2.3.6. Crecimiento	43
2.3.6.1. Tasas de crecimiento (TC)	43
2.3.6.2. Tasa de elongación foliar (TEF)	45
2.3.6.3. Tasa de aparición foliar (TAF)	46
2.3.6.4. Tasa de renovación foliar (TRF)	46
2.3.6.5. Intervalo de plastocrono (IP)	48
2.3.6.6. Tasa de pérdida foliar (TPF)	48
2.3.6.7. Tasa de elongación rizomática (TEI) y tasa de aparición internodal (TAI)	50
2.3.6.8. Tasas de elongación radicular (TER) y tasa de aparición radicular (TAR)	52
2.3.7. Producción	53
2.3.8. Fotosíntesis	54
2.3.8.1. Pigmentos fotosintéticos	54
2.3.8.2. Capacidad fotosintética (F _{máx})	55
2.3.8.3. Eficiencia fotosintética (a)	56
2.3.8.4. Intensidad de saturación (I _{sat})	56
2.4. Discusión	58
2.5. Apéndice estadístico	67
Capítulo 3: Desarrollo de un medio bifásico para la propagación vegetativa de <i>Zostera noltii</i> Hornem.	81
3.1. Introducción	83
3.2. Material y métodos	85
3.2.1. Recolección de plantas	85
3.2.2. Medio de cultivo	85
3.2.3. Unidades vegetales	85
3.2.4. Diseños experimentales	86

3.2.4.1. DISEÑO 1: Crecimiento de <i>Z. noltii</i> en medio bifásico bajo condiciones controladas	86
3.2.4.2. DISEÑO 2: Crecimiento de <i>Z. noltii</i> en medio bifásico bajo condiciones semicontroladas	86
3.2.4.3. DISEÑO 3: Mantenimiento de <i>Z. noltii</i> en medio bifásico bajo condiciones no controladas	88
3.2.5. Estimaciones de crecimiento	88
3.3. Resultados	89
3.4. Discusión	91
Capítulo 4: Efecto de la disponibilidad de luz en el crecimiento de <i>Zostera noltii</i> Hornem.	95
4.1. Introducción	97
4.2. Material y métodos	99
4.2.1.1. Selección de plantas	99
4.2.2. Montaje experimental	99
4.2.2.1. Medio de cultivo	99
4.2.2.2. Diseño físico del experimento	99
4.2.3. Diseño del tratamiento de luz	101
4.2.4. Medidas morfométricas y estimación de variables	104
4.2.5. Análisis estadístico	105
4.3. Resultados	106
4.3.1. Disponibilidad de luz en los niveles experimentales	106
4.3.2. Variables biológicas	107
4.3.2.1. Morfometría	107
4.3.2.2. Peso seco (PSt)	107
4.3.2.3. Carbono interno	108
4.3.2.4. Nitrógeno interno	108
4.3.2.5. Índice C:N	108
4.3.2.6. Tasa de crecimiento (TC)	111
4.3.2.7. Tasa de elongación foliar (TEF)	112
4.3.2.8. Tasa de aparición foliar (TAF)	112
4.3.2.9. Tasas de renovación foliar en longitud (TRFE) y en número (TRFA)	112
4.3.2.10. Intervalo de plastocrono (IP)	115
4.3.2.11. Tasas de pérdida foliar en longitud (TPFE) y en número (TPFA)	115
4.3.2.12. Tasa de elongación internodal (TEI) y tasa de aparición internodal (TAI)	117
4.3.2.13. Tasa de elongación radicular (TER) y tasa de aparición radicular (TAR)	118
4.4. Discusión	119

Capítulo 5: Efecto combinado de la disponibilidad de luz y las condiciones del sedimento en el crecimiento de <i>Zostera marina</i> L. y <i>Z. noltii</i> Hornem.	123
5.1. Introducción	125
5.2. Material y métodos	128
5.2.1. Selección de plantas	128
5.2.2. Diseño del mesocosmos	128
5.2.2.1. Diseño físico	128
5.2.2.2. Diseño de los tratamientos experimentales	130
5.2.3. Variables químicas	133
5.2.3.1. Estado redox en sedimento	133
5.2.3.2. Toma de muestras de agua intersticial	134
5.2.4. Variables biológicas	134
5.2.4.1. Medidas no destructivas	134
5.2.4.2. Medidas destructivas	139
5.2.5. Análisis estadístico	139
5.3. Resultados	140
5.3.1. Variables químicas	140
5.3.1.1. Estado de potencial redox en sedimento	140
5.3.1.2. Concentración de nutrientes en el agua intersticial	140
5.3.2. Variables biológicas	144
5.3.2.1. <i>Zostera marina</i>	144
5.3.2.2. <i>Zostera noltii</i>	157
5.1. Discusión	172
Capítulo 6: Síntesis final	179
6.1. La luz, el motor del crecimiento regulado por el tamaño	181
6.2. Otros gastos metabólicos: La importancia de una incorporación y una asimilación equilibradas.	187
6.3. Los objetivos futuros	190
Conclusiones	191
Bibliografía	195

Capítulo 1

Introducción general

1.1. Las fanerógamas marinas

Las fanerógamas marinas son cormofitas pertenecientes al grupo de las angiospermas monocotiledóneas. Estas plantas tienen la particularidad de ser el único grupo con adaptaciones reales al medio marino. En estos organismos, el sistema rizomático-radicular cumple una función doble permitiéndoles soportar el oleaje y las corrientes de marea, además de realizar sus funciones fisiológicas. A diferencia de otras plantas que habitan medios acuáticos, las fanerógamas marinas pueden vivir completamente sumergidas, presentando una polinización hidrófila (den Hartog, 1970).

1.1.1. Talla y hàbitats

Según la clasificación de den Hartog (1970), el grupo de las fanerógamas marinas está formado por 49 especies repartidas entre 12 géneros de 2 familias (*Potamogetonaceae*, *Hydrocharitaceae*). Aunque con una estructura de aspecto sencillo, estas especies presentan módulos¹ de talla y forma muy diversos. Las hojas, envoltentes o no envoltentes, pueden presentar formas lineales, lanceoladas, sublobuladas, elípticas u ovaladas. Las dimensiones foliares varían entre longitudes de 0,5-200 cm y anchuras de 0,3-20 mm. Una característica común en todas las especies es la presencia de un rizoma rastrero, de diámetro variable (0,5-15 mm), formado por fragmentos más o menos cortos denominados entrenudos. Incluso, aunque no es una característica general, en un gran número de especies se ha detectado el desarrollo de tallos verticales (ej. *Cymodocea nodosa*, *Posidonia oceanica*, *Halodule wrightii*, *Syrigodium filiforme*).

Esta diversidad morfométrica parece presentar una correlación con las estrategias de crecimiento. Así, las especies de módulos cortos y/o estrechos (ej. *Halophila ovalis*, *Zostera noltii*) suelen poseer tejidos efímeros y tasas de crecimiento elevadas, que favorecen un desarrollo poblacional acelerado (Erfemeijer y Stapel 1999). Estas características son propias de especies colonizadoras, detectándose su presencia en

¹ Módulo vegetal: hoja, entrenudo o raíz.

sistemas inestables como la franja intermareal o estuarios someros (Pérez-Lloréns y Niell 1993, Philippart 1995). Por el contrario, las especies de módulos largos y/o anchos (ej. *Posidonia oceanica*, *Thalassia testudinum*) suelen poseer tejidos longevos y tasas de crecimiento reducidas, provocando una evolución lenta de sus poblaciones (Alcoverro *et al* 1995). Estas características, propias de especies *clímax*, les permiten soportar periodos prolongados de recursos limitados gracias a un consumo lento de las reservas acumuladas en sus módulos de gran tamaño (Marbà *et al.* 1996), llegando a detectarse a más de 10 m de profundidad (Marbà y Duarte 1997).

1.1.2. Importancia ecológica y económica

El reconocimiento de la importancia ecológica de las praderas de fanerógamas marinas ha sido un proceso gradual fomentado por el descubrimiento de una comunidad, vegetal y animal, asociada al asentamiento de estas poblaciones y sus interrelaciones (den Hartog 1983, Bortone 2000). Numerosas especies de invertebrados medran en estos ecosistemas, donde además de alimento encuentran una zona de protección, también adecuada para el alevinaje de peces. Así, se ha comprobado que la abundancia y la producción de peces e invertebrados es mayor en el seno de la pradera que en áreas adyacentes desprovistas de vegetación (Lubbers *et al.* 1990, Heck *et al.* 1995).

Por otra parte, la densidad foliar elevada característica de poblaciones desarrolladas modifica los patrones de circulación y transporte de sedimento. La presencia de estas poblaciones amortigua los movimientos hídricos e incrementa las tasas de sedimentación (McRoy y Helfferich 1977, Harlin *et al.* 1982). Además, el desarrollo del entramado de rizomas y raíces compacta y aprisiona el sedimento, afectando a la pendiente de la línea de costa y a la composición del sedimento.

Además de un papel estructural importante, las praderas tienen un gran valor ecológico y económico *per se*. Estas poblaciones tienen una producción elevada ($\sim 800 \text{ g C m}^{-2} \text{ a}^{-1}$, de Vooy 1979), considerándose como uno de los sistemas acuáticos más productivos (Duarte y Cebrián 1996). No obstante, el destino de gran parte de la producción no pasa por la cadena trófica clásica, sino por la ruta de la descomposición y el reciclado de nutrientes (Duarte y Cebrián 1996).

En los últimos años se ha comprobado la existencia de comunidades bacterianas mutualistas asociadas a superficies rizomáticas y radiculares (Blaabjerg *et al.* 1998, Donnelly y Herbert. 1999). El metabolismo de estas comunidades bacterianas acelera el reciclado de la materia orgánica, jugando un papel importante en el ciclo de nutrientes de los sistemas costeros. Esta capacidad para reciclar nutrientes llevaron a Costanza *et al.* (1997) a catalogar las praderas de fanerógamas marinas como uno de los sistemas naturales de mayor valor económico, tasando su superficie en 19.000 US\$ ha⁻¹ año⁻¹, frente a valores de 6100 de los arrecifes de coral, o 969 US\$ ha⁻¹ año⁻¹ de los bosques.

1.1.3. Un problema actual: la desaparición de las praderas de fanerógamas marinas

A pesar de su gran importancia ecológica y económica, el valor de las fanerógamas marinas no ha sido totalmente apreciado hasta que la desaparición de sus poblaciones se ha convertido en un problema de ámbito global (Kemp 2000).

Los primeros informes sobre un retroceso importante de estas comunidades se remontan a los años 30 (Renn 1934). Cuando se detectó una desaparición masiva de praderas en las costas del Atlántico Norte que afectó a Estados Unidos, Canadá y Europa. Este fenómeno se atribuyó a una epidemia causada por el hongo *Labyrinthula zosterae* Porter *et* Muehlstein, la cual fue bautizada con el nombre de *wasting disease* (den Hartog y Polderman 1975).

Desde entonces, se han descrito numerosos episodios de desaparición generalizada de estas comunidades. Las causas se han atribuido a fenómenos de origen tanto natural como antropogénico. En un trabajo reciente (Short y Wylie-Echeverria 1996) se muestra un análisis de las causas a lo largo de un periodo de 25 años (1970-1994). En la década de los 70, de las desapariciones detectadas, 3 casos se atribuyeron a causas naturales (ej. ciclones y enfermedades) y 6 a causas antropogénicas (ej. descargas de residuos, drenados, vertidos petrolíferos, etc). En la década posterior, el número de pérdidas notificadas fue 4 veces superior y en 28 de estos casos el origen estuvo relacionado con las actividades humanas.

Entre los fenómenos asociados a estas desapariciones destacan aquellos que afectan a la claridad del agua. Las descargas de residuos están muy relacionadas con estos fenómenos, generando procesos de eutrofización que actualmente se consideran uno de los principales responsables de las desapariciones de estas poblaciones a nivel mundial, quedando así de manifiesto en el último congreso de la [ASLO \(2000\)](#).

1.1.3.1. Los procesos de eutrofización

A lo largo de la historia, el hombre ha utilizado el mar como un vertedero para eliminar residuos generados a partir de actividades urbanas y agrícolas. El aumento exponencial de la población humana, especialmente en zonas costeras, ha generado un gran incremento del volumen de vertidos, afectando sensiblemente a los sistemas costeros de una gran parte del planeta ([Valiela 1995](#)). Uno de los efectos más extendidos es el enriquecimiento nutricional de las zonas costeras alterando de forma directa sus características, tanto fisicoquímicas como biológicas, en un proceso denominado *eutrofización*. Este término presenta diversas acepciones, aunque aplicado a entornos marinos se ha definido como el proceso mediante el cual aumentan las concentraciones y la carga de nutrientes, induciendo cambios en la composición y la estructura de la comunidad acuática ([Malta 2000](#)).

Los sistemas marinos más afectados por estos procesos son los sistemas costeros someros ([Valiella 1995](#)). En estos sistemas el incremento de nutrientes desencadena una cascada compleja de reacciones directas e indirectas generando cambios importantes en los productores primarios y el resto del ecosistema ([Day et al. 1989](#)). En primer lugar, la descarga de vertidos aumenta la turbidez del medio simplemente por un incremento de la materia particulada y/o disuelta en la columna de agua. En segundo lugar, la fertilización del sistema aumenta la producción de comunidades bacterianas y fitoplanctónicas incrementando la densidad de estas poblaciones e, indirectamente, el coeficiente de atenuación de la luz en el agua. En etapas posteriores la sucesión de cambios se complica, pero, en general, se observa un descenso de la diversidad florística y faúnica del sistema ([Tewari y Joshi 1988](#), [Villano y Warwick 1995](#)).

Uno de los cambios más característicos en los procesos de eutrofización es la desaparición de las especies vegetales perennes. Las comunidades fitobentónicas y los macrófitos oportunistas (ej. *Ulva* spp. *Enteromorpha* spp.) proliferan llegando a formar cúmulos importantes de biomasa en la línea de costa. Estos depósitos se han bautizado con el nombre de *mareas verdes*. Las macroalgas oportunistas poseen una relación superficie/volumen elevada que favorece una incorporación rápida de nutrientes manteniendo unas tasas de crecimiento y producción elevadas (EUMAC 1994). La formación de mareas verdes genera barreras de biomasa que reducen la luz cuantitativa y cualitativamente hasta anular la actividad fotosintética en estratos inferiores sobre los que se acumulan (Vergara *et al.* 1998). La descomposición de esta biomasa suele generar episodios de anoxia durante periodos prolongados, llegando a provocar muertes masivas de especies bentónicas (Viaroli *et al.* 1995), entre las que se encuentran las fanerógamas marinas. Las fanerógamas marinas son especialmente sensibles a los procesos de reducción de luz. En general, estas comunidades suelen estar más limitadas por luz que por nutrientes y son especialmente sensibles a los periodos de anoxia cuando la luz es un recurso limitante (Zimmerman *et al.* 1996).

1.1.4. Medidas de protección y restauración de las praderas de fanerógamas marinas

La presencia de praderas de fanerógamas marinas se relaciona positivamente con la calidad ambiental² del ecosistema portador (Bortone 2000). La desaparición de estas poblaciones afecta significativamente a la pendiente de la línea de costa y a la composición del sedimento (Wilson 1949), pero además afecta indirectamente al reclutamiento de numerosas especies entre las que se encuentran algunas de interés comercial (Lewis *et al.* 1998, Gray *et al.* 1998). Las repercusiones socioeconómicas de la desaparición de estas comunidades ha generado el desarrollo de políticas y leyes de protección y restauración. En Estados Unidos o Australia, la legislación actual contempla apartados detallados en materia de protección marina. En estos países se han restaurado praderas, mediante

² *Calidad ambiental*: Mérito que tiene el ecosistema portador para ser conservado (Gómez Orea 1999).

trasplantes, en zonas afectadas por catástrofes naturales o antropogénicas (Davis *et al.* 1997, West *et al.* 1990), existiendo una metodología descrita para el desarrollo de estas prácticas (Fonseca *et al.* 1990, 1998).

Algunos gobiernos europeos, como el gobierno holandés, también ha comenzado a contemplar las prácticas de restauración como medida para recuperar el valor perdido de los ecosistemas marinos (van Katwijk 2000). La Comunidad Económica Europea ha puesto en marcha el desarrollo de directrices comunitarias para la gestión y protección de sistemas costeros entre los que se contemplan las praderas de fanerógamas marinas (Directrices 92/43/CEE y 97/62/CE). No obstante, cada país tiene su propia legislación al respecto y desarrolla planes sectoriales de actuación con competencia regional (ej. Plan de Medio Ambiente de Andalucía). Sin embargo, y aún reconociendo los esfuerzos realizados, en España aún queda mucho trabajo por hacer para cubrir las deficiencias jurídico-administrativas que todavía existen respecto a la gestión de estas comunidades.

1.2. *Zostera noltii* Hornem.

Debido a la reconocida importancia de las praderas de fanerógamas marinas, a lo largo de la última década el número de trabajos ha aumentado considerablemente, aunque de forma poco equilibrada (Duarte 1999). El estudio de fanerógamas marinas de talla grande (ej. *Thalassia testudinum*, *Posidonia oceanica* o *Zostera marina*), consideradas especies *climácicas* por su lento desarrollo, comprenden en torno a un 70 % de los trabajos publicados. El resto de las publicaciones corresponden a especies de porte pequeño y crecimiento rápido (ej. *Zostera noltii* o *Halophila ovalis*). En esta memoria, el objeto de estudio fue *Zostera noltii*, una de las especies de fanerógamas marinas donde se ha constatado un número escaso de referencias bibliográficas sobre su ecología.

1.2.1. Distribución general

Zostera noltii Hornem. es una especie de talla pequeña ampliamente distribuida entre las costas de mares confinados como el Mediterráneo, el Caspio, el Negro y el Aral. En el océano Atlántico se extiende desde el N de Europa hasta el NW de África y Canarias

(Fuerteventura) (den Hartog 1970). En el sudoeste de la Península Ibérica, se localiza a lo largo del litoral, poblando limos y fangos intermareales. También ha sido detectada su presencia en estuarios de ríos como Odiel y Piedra, en Huelva, y Palmones en Cádiz (Valdés *et al.* 1987, Pérez-Lloréns y Niell 1993).

1.2.2. Características morfológicas

De acuerdo a la clasificación recogida en el libro de den Hartog (1970), el género *Zostera* pertenece a la familia *Potamogetonaceae*, subfamilia *Zosterioidea*. Este género se caracteriza por poseer un rizoma herbáceo monopodial³ con raíces no ramificadas que forman dos grupos en cada nudo. Las hojas forman grupos denominados haces foliares. En dichos haces, las hojas maduras ocupan una posición exterior y sirven de protección a las hojas internas que aún están en estado de formación. Las hojas tienen forma de cinta y se desarrollan a partir de un meristemo situado en su base, pudiendo diferenciarse tres zonas, la lámina, la vaina y la lígula⁴ (Figura 1). Las dimensiones foliares están entre los 6 y los 40 cm de longitud, con una anchura de 1 a 1,5 mm. Los rizomas rastreros presentan diámetros de 0,5 a 2 mm de grosor. En cada nudo se localizan de 4 a 6 raíces y al menos 1 hoja. Las ramificaciones son cortas con 2-5 hojas y nacen de las axilas de las hojas rizomáticas⁵. La vaina foliar es generalmente más ancha que la lámina (Figura1) y posee unas prolongaciones membranosas que rodean a las hojas más jóvenes. Las lígulas son extremadamente cortas.

³ *Monopodio*: Tipo de ramificación que se compone de un eje principal, en cuyo ápice se halla perdurablemente el punto vegetativo y de cuyos flancos arrancan ramificaciones secundarias.

⁴ *Lígula*: Apéndice membranoso en la línea que une la lámina y la vaina de una hoja

⁵ *Hoja rizomática*: hoja del haz apical que queda abandonada en los nudos como consecuencia del crecimiento rizomático.

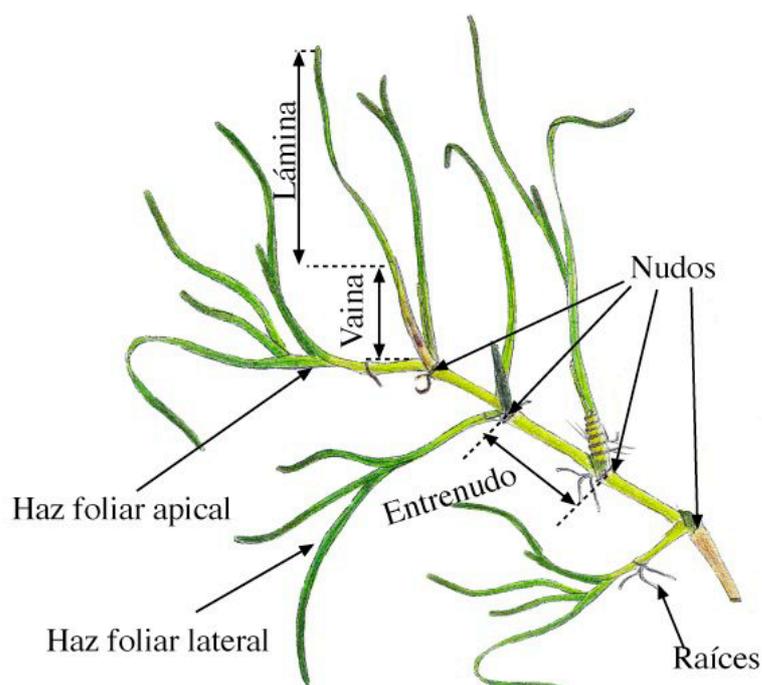


Figura 1. Partes estructurales de una planta vegetativa de *Zostera noltii*. Dibujo cedido por F. Brun.

1.2.3. Características del crecimiento

El desarrollo de *Z. noltii* se produce a partir de distintos tejidos meristemáticos. Según la naturaleza de las células originarias, estos meristemas se pueden clasificar en primarios y secundarios. Los meristemas primarios provienen de células embrionarias que en todo momento han estado implicadas en procesos de división celular y crecimiento. Los meristemas secundarios provienen de células que, una vez especializadas, vuelven a adquirir la capacidad meristemática.

Según la posición que ocupan dentro de la planta, estos meristemas se dividen en:

- **meristemas apicales:** meristemas primarios que se sitúan en los polos de la planta, generando la aparición de hojas y raíces (Figura 2).
- **meristemas axilares:** meristemas secundarios situados en los nudos que generan la aparición de hojas y raíces laterales.

- *meristemos intercalares*: meristemos situados en la región rizomática de la planta, alejados de los ápices, cuya producción genera la elongación de los entrenudos (Figura 2).

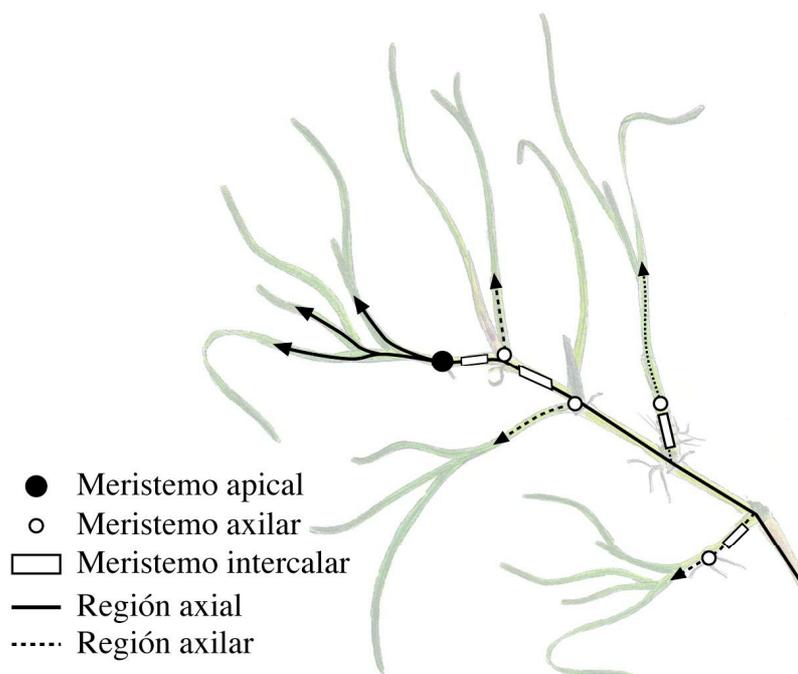


Figura 2. Distribución de meristemos y regiones en una planta de *Zostera noltii*.

En *Z. noltii*, así como en otras especies de este género, los meristemos axilares están asociados a los nudos, o puntos de intersección de las hojas. Cada hoja que se forma a partir del meristemo apical lleva asociado un meristemo axilar potencial (Olesen y Sand-Jensen 1994) que, en caso de activarse, genera la formación de un haz foliar lateral (primer paso de la ramificación). El crecimiento de los entrenudos se produce en dos fases. En una primera fase, cuando el meristemo apical o axilar aún permanece muy cercano, se produce el crecimiento en diámetro. En una segunda fase, una vez que el entrenudo alcanza su diámetro adulto, se produce la elongación internodal (Bowes, 1994).

Las plantas vegetativas de *Z. noltii* se desarrollan formando monopodios, en función de lo cual podemos distinguir las siguientes zonas (Figura 2):

- **Región axial:** Zona de la planta donde se encuentra el eje principal de crecimiento. Esta zona se compone del haz apical, desarrollado a partir del meristemo apical, los entrenudos que forman el rizoma central y las correspondientes raíces.
- **Regiones axilares:** Partes de la planta generadas a partir de un meristemo axilar. Cuando además de la formación foliar existen formación radicular y elongación internodal, estas regiones reciben el nombre de *ramificaciones*.

En función de todas estas clasificaciones se puede resumir que una planta de *Z. noltii* posee un meristemo apical, tantos meristemos axilares potenciales como hojas se formen a partir del meristemo apical, y tantos meristemos intercalares como número de hojas menos una (Figura 2). La actividad de estos meristemos genera la elongación de la región axial de la planta y la aparición de regiones axilares, cuyo desarrollo da lugar a las ramificaciones.

1.3. Objetivos y estructura de la memoria

El objetivo principal de esta memoria es estudiar el crecimiento de *Z. noltii*, una fanerógama marina de porte pequeño. Esta especie pertenece al grupo de las fanerógamas marinas consideradas *colonizadoras*, cuyas poblaciones han sido poco estudiadas si se compara con las especies de gran tamaño catalogadas como *climácicas*⁶.

Aunque existen trabajos previos en esta especie sobre la variación estacional de biomasa y densidad foliar (Pérez-Lloréns y Niell 1993, Auby y Labourh 1996), aún son escasos los trabajos sobre su crecimiento y la relación con la disponibilidad de recursos externos (luz y nutrientes), especialmente en el caso de los módulos subterráneos (entrenudos y raíces). La capacidad colonizadora de *Z. noltii* ha sido una característica asumida debido a su tamaño y sus tasas de crecimiento. No obstante, actualmente no existen trabajos que describan las etapas de estas poblaciones durante un proceso de colonización.

⁶ *Climácica*: Adjetivo derivado de *clímax*, nombre con el que se designa la etapa final de equilibrio en la sucesión geobotánica.

El objetivo general de esta memoria es combinar trabajos de campo y de laboratorio para determinar qué variables externas definen la variación estacional de una población natural de *Zostera noltii* y analizar el efecto aislado o combinado de dichas variables bajo condiciones controladas.

Para alcanzar este objetivo general, el trabajo se estructuró en varias etapas con los siguientes objetivos:

1. Puesta a punto de la metodología para la estimación de las tasas de crecimiento y estudio de la variación estacional de dos poblaciones intermareales de *Z. noltii*, afectadas en distinto grado por los movimientos de marea, en el parque Natural de *Ria Formosa* (Algarve, Portugal) (capítulo 2).
2. Puesta a punto de una técnica para el cultivo de *Z. noltii* bajo condiciones controladas (capítulo 3).
3. Estudio del crecimiento foliar y subterráneo de *Z. noltii* bajo distintos grados de disponibilidad de luz (capítulo 4).
4. Estudio del efecto de la concentración elevada de nitrógeno en sedimento según la disponibilidad de luz y el potencial redox del suelo en el crecimiento de dos especies con distintas estrategias de crecimiento (*Zostera marina* y *Z. noltii*) (capítulo 5).

Variación estacional de *Zostera noltii* en *Ria Formosa* (El Algarve, Portugal)

Peralta G, Brun FG, Hernández I, Vergara JJ, Pérez-Lloréns JL (2005) Morphometric variations as acclimation mechanisms in *Zostera noltii* beds. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 64 (2-3): 347-356

2.1. Introducción

Las praderas de fanerógamas marinas están entre los ecosistemas más ricos y productivos del planeta (McRoy y Helfferich 1977, Duarte y Chiscano 1999). El retroceso de estas comunidades es un proceso notificado desde la primera mitad del siglo XX (Ren 1934, den Hartog y Polderman 1975, Short y Wylie-Echeverria 1996). No obstante, durante los últimos 20 años, las causas antropogénicas han multiplicado la incidencia de estos fenómenos asociados al asentamiento masivo de poblaciones humanas en la franja costera (Short y Wylie-Echeverria 1996).

Debido a la importancia ecológica y económica de estas poblaciones vegetales, son muchos los esfuerzos realizados para conocer en profundidad la variación estacional de las praderas y su relación con las variables externas (Nienhuis y de Bree 1980, Marbá *et al.* 1996, Alcoverro *et al.* 1997). Las poblaciones más estudiadas son poblaciones submareales de especies de gran porte, entre las que destacan especialmente las poblaciones de *Thalassia testudinum* y *Posidonia oceanica* (Duarte 1999), cuyas tasas de crecimiento se estiman generalmente a partir de las variaciones foliares, dado el crecimiento lento de sus fracciones subterráneas (Lee y Dunton 1996, 1997; Alcoverro *et al.* 1997). En estas comunidades una de las principales causas asociadas al retroceso de las praderas es la disminución de luz (Lee y Dunton 1997). No obstante, aún se desconocen numerosos detalles del proceso, cuyo estudio requiere un estudio más minucioso, centrando la investigación a nivel de organismo.

Como consecuencia de las dificultades metodológicas de reconocimiento dentro de la pradera, los estudios *in situ* de la variabilidad temporal a nivel de organismo son muy escasos, y casi inexistentes cuando se trata de especies de pequeño porte. Estas especies suelen poseer una tasa de renovación elevada, debido a las tasas elevadas de crecimiento y de mortalidad propias de las especies colonizadoras (Laugier *et al.* 1999). A diferencia de las especies de gran porte, estas especies suelen presentar un porcentaje de producción subterránea elevado, cuyo seguimiento incrementa la inversión de esfuerzo necesario para el estudio de dichas praderas. Todas estas dificultades adicionales hacen comprensible que, a pesar de los numerosos trabajos realizados sobre las fanerógamas marinas, la

información disponible sobre praderas de especies pequeñas, como *Zostera noltii*, sea aún muy escasa.

Hasta los años 70, las praderas de *Zostera noltii* estuvieron ampliamente distribuidas entre los fangos intermareales y submareales del sudoeste de la Península Ibérica (Seoane-Camba 1965). En la actualidad su presencia está prácticamente restringida a poblaciones dispersas situadas en el intermareal (Brun 1999). Afortunadamente, en parques Naturales, como el de *Ria Formosa* en El Algarve (Portugal), todavía se localizan importantes poblaciones intermareales que han sido objeto de estudio en el presente trabajo.

2.1.1. *Ria Formosa*

El Parque Natural de *Ria Formosa*, protegido legalmente según el decreto ley nº 373/87 del 9 de diciembre, es un sistema costero localizado en la región de El Algarve portugués (36° 58' N-37° 03' N a 7° 32' S- 8° 02' S). Su superficie está constituida por una vasta marisma que se extiende a lo largo de unos 55 km de costa entre las localidades de Ancão y Cacela, estando esta última localidad próxima a la frontera con España.

La superficie total del sistema es de 18.400 Ha, de las cuales 10.000 Ha son de superficie sumergida. El Parque Natural está delimitado al Sur por un cordón litoral de dunas constituido por 2 penínsulas y 5 islas. El sistema de canales y caños que forma la ría se conecta con la masa de agua oceánica en 6 puntos a lo largo de la costa (4 naturales y 2 artificiales). Dichas conexiones sufren una migración natural de oeste a este debido al movimiento del cordón de dunas.

Los canales y caños de *Ria Formosa* están alimentados casi exclusivamente por el agua oceánica. Debido a la morfometría del sistema, el tiempo de residencia es de un ciclo de marea, produciéndose el reciclado de la masa acuática al menos 1 vez al día. Con estas características se esperan altas concentraciones de oxígeno en la columna de agua, un reciclado rápido de la materia orgánica depositada y una evacuación rápida del material en suspensión.

Por otra parte, este margen oriental del océano Atlántico Norte, es una zona afectada por la actuación de temporales procedentes de las grandes tempestades que afectan al

Atlántico Norte. A pesar de esta inestabilidad ambiental, *Ria Formosa* es un sistema de gran riqueza fáunica y florística, traduciéndose en una gran variedad de usos del sistema que van desde la agricultura al turismo, pasando por la pesca, la acuicultura y el marisqueo. Las características fisicoquímicas convierten a *Ria Formosa* en una zona privilegiada para la alimentación, reproducción y permanencia de numerosas especies animales, desde invertebrados hasta peces, y secundariamente dan soporte a una avifauna importante.

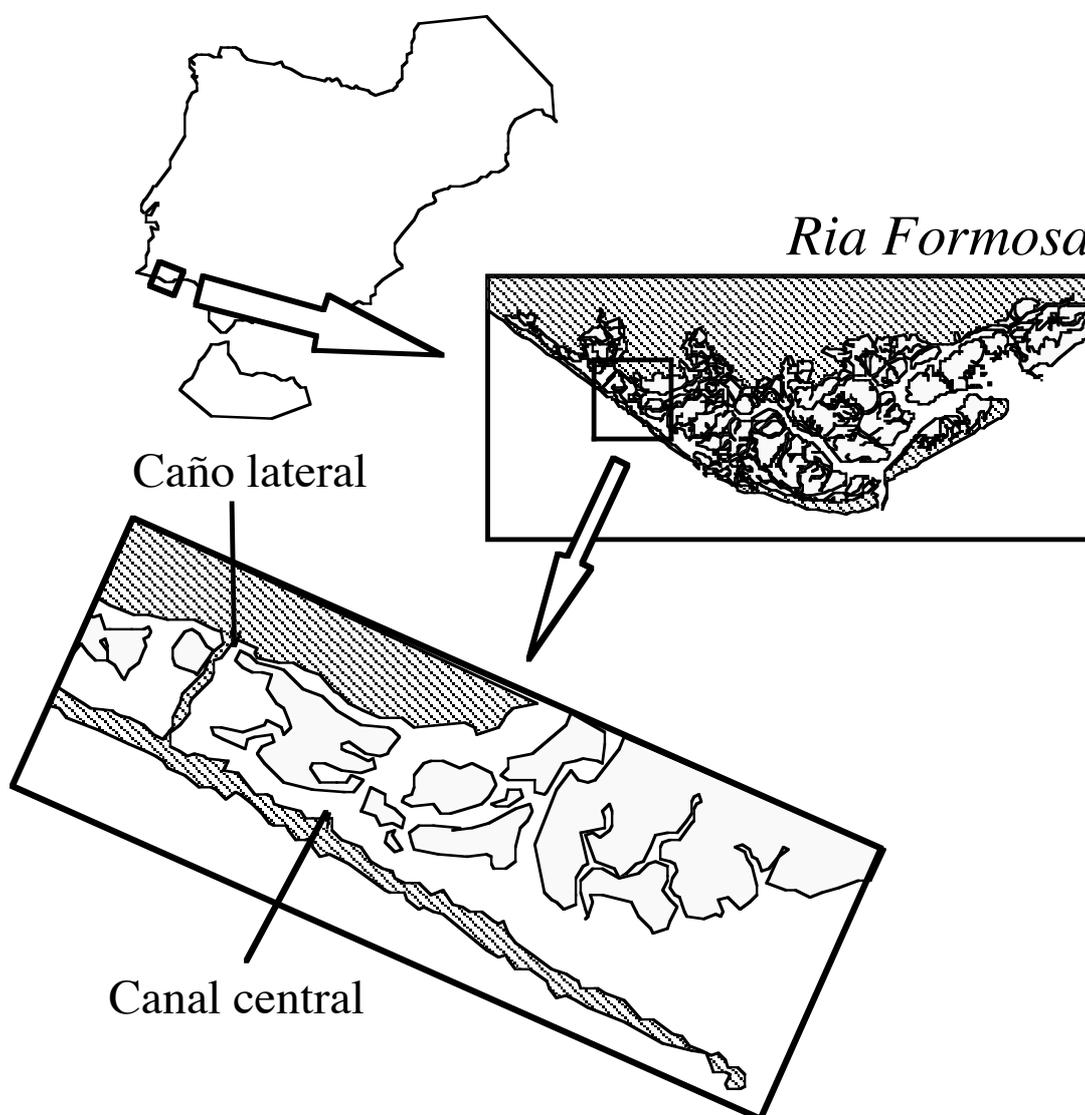


Figura 1. Mapa de localización de las estaciones de muestreo

Todas estas características están favorecidas por la presencia de praderas de fanerógamas marinas. Estas poblaciones vegetales acuáticas mejoran la calidad del sistema, estabilizando el suelo y propiciando una zona de protección para alevinaje y desarrollo de numerosas especies.

Las praderas de fanerógamas marinas se extienden desde el submareal, donde se localiza la especie *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers., hasta el intermareal, donde domina la fanerógama marina *Zostera noltii* Hornem. El trabajo aquí presentado se centró en el estudio de la franja intermareal de *Ria Formosa*, y concretamente en las praderas de *Z. noltii*. Este estudio permite evaluar el efecto de los movimientos hídricos en las poblaciones intermareales de fanerógamas marinas, para lo cual, aprovechando la distribución heterogénea de las poblaciones de *Z. noltii* a lo largo de los canales y los caños de *Ria Formosa*, se realizó un seguimiento trimestral de dos poblaciones intermareales sometidas a regímenes hidrodinámicos diferentes (ver material y métodos).

2.1.2. Objetivos

El objetivo principal de este capítulo es determinar los componentes de la variabilidad estacional en las praderas intermareales de *Z. noltii* y diferenciarlos de los componentes propios de la aleatoriedad ambiental.

Para lograr este objetivo se realizó un estudio bianual de dos poblaciones intermareales afectadas en grados diferentes por los movimientos de marea. Durante el periodo de estudio se realizó un seguimiento trimestral de la biomasa, la morfometría y las tasas de crecimiento de los distintos módulos estructurales de las plantas (hojas, rizomas y raíces). El estudio se completó con el seguimiento del contenido en carbono y nitrógeno de los tejidos y la caracterización de los parámetros fotosintéticos principales.

2.2. Material y métodos

2.2.1. Lugar de muestreo

El estudio se llevó a cabo en la franja del Parque Natural de *Ria Formosa* situada frente a la ciudad de Faro (Figura 1). En esta zona, se distribuyen praderas pequeñas de *Zostera noltii* entre los canales y los caños del sistema. Para comparar la respuesta de la especie ante distintas condiciones ambientales se seleccionaron dos estaciones de muestreo dentro de la ría:

1.- **Estación del canal central.** Zona ocupada por praderas de *Z. noltii* situadas en un canal junto al cordón litoral. Esta estación está próxima a una zona de contacto con el océano abierto. La cercanía del océano y la escasez de obstáculos en el camino hacen que esta estación presente un alto grado de exposición a las corrientes de marea, así como a los fenómenos no periódicos de la masa de agua oceánica (ej. temporales). El sedimento de esta estación es de tipo arenoso como consecuencia de la corriente originada por los movimientos de marea, exceptuando el centro de la pradera donde la pérdida de energía provoca la deposición de sedimento más fino.

2.- **Estación del caño lateral.** Zona ocupada por praderas de *Z. noltii* situadas en un caño alejado del cordón litoral. En esta estación todos los fenómenos, periódicos y no periódicos, que experimenta la masa de agua oceánica llegan amortiguados tras perder energía entre los caños del sistema. En esta zona los movimientos de marea están desfasados con respecto a la playa. Debido a su posición, ligeramente más elevada que la estación del canal central, los periodos de emersión en el caño lateral son más prolongados. La granulometría en este emplazamiento es de menor diámetro que la granulometría en el canal central.

2.2.2. Variables físicas

Los datos de temperatura, precipitación y evaporación a lo largo del periodo de estudio fueron proporcionados por la *Direcção Regional del Agricultura do Algarve*.

2.2.3. Biomasa

Para estudiar las variaciones de biomasa, se tomaron muestras por triplicado, con un área mínima de 20x20 cm² (Pérez-Lloréns y Niell, 1993). Las muestras recolectadas se transportaron en frío (4°C) hasta el laboratorio, donde se procedió a la limpieza y separación en grupos vegetales.

Los grupos vegetales se separaron bajo el criterio de género. No obstante, también se consideró un grupo de “restos vegetales”, formado principalmente por restos senescentes de *Z. noltii*. La presencia escasa y variable de otros macrófitos distintos a *Z. noltii* llevó a la decisión de mostrar los resultados de estos géneros agrupados bajo el nombre de “otros macrófitos”. El material perteneciente al grupo de *Z. noltii* se dividió en porción foliar y porción subterránea. De la porción foliar se realizó un censo del número de haces foliares.

Los distintos grupos vegetales se secaron a una temperatura de 60-80 °C hasta alcanzar un peso constante. En el caso de *Z. noltii* se tomaron submuestras de la porción foliar y la porción subterránea para el análisis de carbono y nitrógeno.

2.2.4. Análisis de C y N

El análisis de carbono y nitrógeno en las submuestras de tejido se realizó con un analizador elemental CNH (Perkin-Elmer 240-C).

2.2.5. Técnica de marcación

Para el estudio *in situ* de las tasas de crecimiento de *Z. noltii* se utilizó una modificación de la técnica de marcación de Zieman (1974).

La técnica aplicada se basó en la marcación del haz apical. Cada haz apical consta de 4 hojas formadas a partir del meristemo apical y ocasionalmente 1 hoja procedente de un meristemo axilar (capítulo 1, Figura 2). Los estudios previos sobre la secuencia de crecimiento de esta especie (Brun, 1999) permitieron simplificar la labor de marcación, siendo necesaria una sola marca para estudiar el crecimiento individual de todas las hojas de la planta a partir de la hoja marcada.

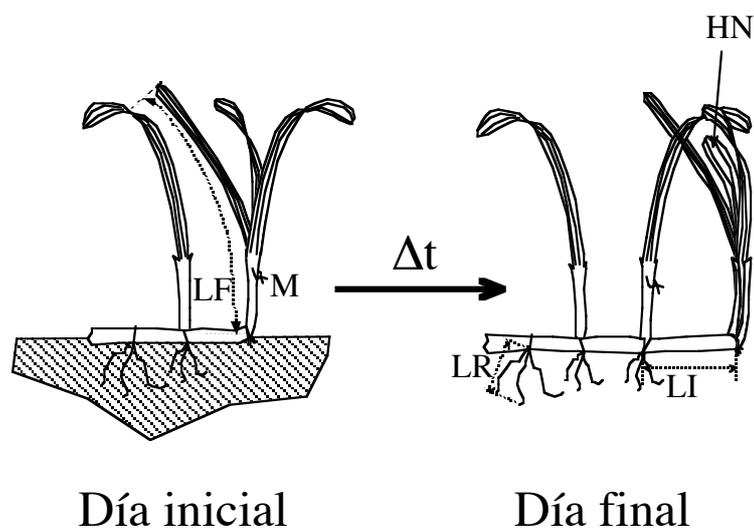


Figura 2. Representación esquemática del crecimiento de una planta marcada. Las hojas representadas corresponden únicamente al crecimiento del meristemo apical. LF: longitud foliar, HN: hoja nueva, LI: longitud internodal, LR: longitud radicular, M: marca.

En las plantas seleccionadas se midieron todas las hojas del haz apical, marcándose la vaina de la hoja más antigua (hoja externa, Figura 2). La marca se realizó con una fibra sintética de 45 μm de diámetro. Una vez realizada la perforación de la vaina, se anudó la fibra para su localización posterior en el día de recogida.

Para facilitar las labores de recogida y reconocimiento de las plantas marcadas se empleó un sistema de boyas de localización (Figura 3).

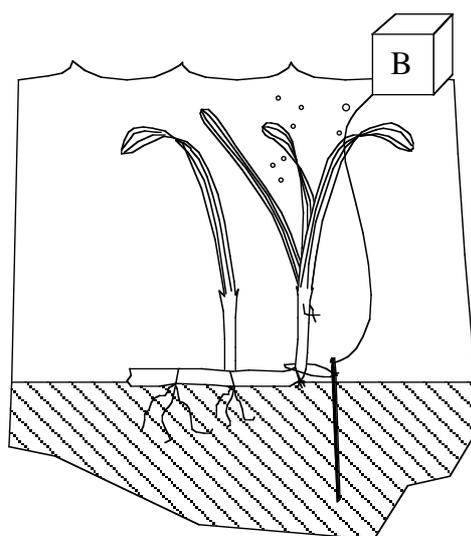


Figura 3. Sistema para localización *in situ* de las plantas marcadas. B: boya de localización.

En el día inicial (o día de marcación) se registró la longitud de los distintos módulos vegetales presentes en el último entrenudo formado. De las hojas también se anotó la anchura. El día de recogida, una vez en el laboratorio, se repitió la medida de los módulos presentes entre la hoja marcada y el meristemo apical. Una vez medidos, los módulos vegetales de cada planta se agruparon, se secaron y se pesaron para estimar las relaciones peso seco/longitud. Las medidas se realizaron con una regla de precisión milimétrica, no siendo detectados con precisión los cambios morfométricos inferiores a dicha unidad.

2.2.6. Variables estimadas a partir de la técnica de marcación

A partir de las diferencias de longitud detectadas entre los días de marcación y recogida (días iniciales y finales) se estimaron las distintas variables relacionadas con las tasas de crecimiento y pérdida según las fórmulas siguientes:

2.2.6.1. Tasa de elongación foliar (TEF).

Es la tasa de crecimiento foliar expresada en función del cambio en longitud generado durante el intervalo de tiempo Δt (día final - día inicial). Para estimar esta tasa se

tuvieron en cuenta únicamente las hojas presentes en el día de recogida ($LF \neq 0$) y se desestimaron las pérdidas foliares parciales [$(LF_{n,f} - LF_{n,i}) \geq 0$].

$$TEF_{LF_f \neq 0} = \frac{\sum_{n=1}^{n=i} [(LF_{n,f} - LF_{n,i}) \geq 0]}{\Delta t}; (\text{cm haz}^{-1} \text{ d}^{-1})$$

donde

LF_n es la longitud foliar de la hoja n en los días iniciales (i) y finales (f)

Δt es el número de días transcurridos entre los días inicial y final.

2.2.6.2. Tasa de aparición foliar (TAF)

Tasa de crecimiento foliar expresadas en función de la aparición de nuevas unidades foliares en periodo de tiempo Δt .

$$TAF = \frac{\sum HN}{\Delta t}; (\text{hojas haz}^{-1} \text{ d}^{-1})$$

donde $\sum HN$ es el número de hojas nuevas nacidas durante Δt .

2.2.6.3. Tasa de renovación foliar (TRF)

La tasa de renovación foliar puede ser estimada a partir de cambios en longitud (TRF_E) o de apariciones foliares (TRF_A). Aunque estas tasas estiman la capacidad de regeneración foliar de la planta, es importante tener en cuenta que es una tasa relativa, originada artificialmente al tomar como unidad de referencia las hojas medidas en el día inicial.

$$TRF_E = \frac{TEF}{\sum LF_o}; (\text{d}^{-1})$$

donde $\sum LF_o$ es la longitud foliar total del haz el día inicial.

$$TRF_A = \frac{TAF}{\sum H_o}; (\text{d}^{-1})$$

donde $\sum H_o$ es el número de hojas en el día inicial.

2.2.6.4. Intervalo de plastocrono (IP)

El término plastocrono define el tiempo necesario para que una planta forme dos hojas consecutivas a partir del mismo meristemo foliar (Patriquin 1973). A diferencia del la TRF_A , que se calcula a partir de todos los meristemas foliares de la planta, este término se estimó a partir de un único meristemo, el meristemo apical, según la fórmula:

$$IP = \frac{\Delta t}{\sum HNA}; (d)$$

donde $\sum HNA$ es el número de hojas generadas por el meristemo apical durante el periodo de tiempo Δt .

2.2.6.5. Tasa de pérdida foliar (TPF)

Las pérdida foliares pueden manifestarse a través de pérdidas totales y/o parciales. Los fenómenos de senescencia y/o los movimientos de marea pueden generar la caída foliar, mientras que los procesos de herbivorismo pueden provocar, además, sucesos de pérdida parcial o rotura foliar. En aquellos sistemas donde los principales procesos de pérdida se asocian a caídas foliares, la estimación de las pérdidas en función del número de hojas evita interpretaciones erróneas generadas por diferencias en la talla foliar. No obstante, hay que tener cuidado ya que este tipo de cálculo no considera la posibilidad de pérdidas parciales, subestimándose las tasas de pérdida foliar.

Con el fin de obtener una idea global de los procesos de pérdida en las zonas estudiadas, se calcularon las pérdidas foliares considerando los dos sistemas de referencia empleados, la longitud (TPF_E) y el número de hojas (TPF_A).

$$TPF_E = \frac{\sum -[(LF_f - LF_i) < 0]}{\Delta t}; (cm \text{ haz}^{-1} \text{ d}^{-1})$$

donde $\sum -[(LF_f - LF_i) < 0]$ es la pérdida foliar en la zona apical de la planta, considerándose tanto pérdidas parciales como totales, en términos de longitud.

$$TPF_A = \frac{\sum HD}{\Delta t}; (\text{hojas} \text{ haz}^{-1} \text{ d}^{-1})$$

donde $\sum HD$ es el número de hojas desaparecidas en zona apical de la planta durante el periodo de tiempo Δt .

2.2.6.6. Tasa de elongación internodal (TEI)

Tasa de crecimiento rizomático expresada como longitud de entrenudos generados por día.

$$TEI = \frac{\sum (LI_{n,f} - LI_{n,i})}{\Delta t}; (\text{mm d}^{-1})$$

donde LI_n es la longitud del entrenudo n los días iniciales (i) y finales (f).

2.2.6.7. Tasa de aparición internodal (TAI)

Tasa de crecimiento rizomático expresada como número de entrenudos formados por día

$$TAI = \frac{\sum IN}{\Delta t}; (\text{entrenudos d}^{-1})$$

donde $\sum IN$ es el número de entrenudos formados en el periodo Δt .

2.2.6.8. Tasa de elongación radicular (TER)

Tasa de crecimiento radicular expresada como longitud de raíz generada por día.

$$TER = \frac{\sum (LR_{n,f} - LR_{n,i})}{\Delta t}; (\text{cm d}^{-1})$$

donde LR_n es la longitud total de raíces en el nudo n los días inicial (i) y final (f).

2.2.6.9. Tasa de aparición radicular (TAR)

Tasa de crecimiento radicular expresada como número de raíces aparecidas por día.

$$TAR = \frac{\sum RN_n}{\Delta t}; (\text{raíces d}^{-1})$$

donde $\sum RN_n$ es el número de raíces nuevas aparecidas en los distintos nudos (n) de la región axial de la planta considerada durante el intervalo de tiempo Δt .

2.2.6.10. Tasa de crecimiento (TC)

A partir de las distintas tasas de crecimiento, exceptuando el crecimiento radicular, y de las relaciones peso seco/longitud se pueden estimar las tasas de crecimiento en términos de g de peso seco (PS) por haz apical y día, según la fórmula:

$$TC = \left(\left[TEF * \frac{PS}{LF} \right] + \left[TEI * \frac{PS}{LI} \right] \right); \text{ (g PS haz}^{-1} \text{ d}^{-1}\text{)}$$

Las relaciones de peso seco/longitud se estimaron para cada unidad estructural (hojas y entrenudos) en cada pradera a lo largo del periodo experimental.

De forma análoga y teniendo en cuenta los contenidos internos de nutrientes se estimaron las tasas de crecimiento en términos de carbono y nitrógeno.

2.2.7. Tasa de fotosíntesis

La tasa de fotosíntesis se estimó a partir de los cambios en la concentración de oxígeno dentro de un sistema cerrado. Para medir la evolución de la concentración de oxígeno se empleó un electrodo tipo Clark de fase líquida (Hansatech, CW1). Este tipo de electrodos consta de un ánodo de plata y un cátodo de platino conectados a través de un puente salino (KCl al 10%) que actúa de electrólito. La polarización del aparato se realizó mediante la aplicación de un voltaje de 0,7 voltios. El cero de la calibración se realizó mediante el burbujeo de N_2 .

La tasa de fotosíntesis se estimó a partir de fragmentos foliares de 2 cm de longitud. Para comparar los resultados de las distintas plantas estudiadas, los fragmentos foliares se tomaron de la segunda hoja del haz apical (considerando primera la hoja más joven del haz) a 2 cm de la marca de la vaina más cercana. Con el fin de evitar problemas generados por la liberación de sustancias inhibitorias tras la escisión, las tasas fotosintéticas se estimaron 6 h después del corte.

La incubación de los fragmentos foliares se realizó en agua procedente de la ría filtrada por 0,8 μm de poro (Millipore, white AAWP). Durante el periodo de incubación, la temperatura se mantuvo a 17,5 °C mediante la circulación de agua, a temperatura constante, por una camisa externa a la cámara de incubación. En cada fragmento foliar, la respuesta fotosintética se estudió bajo 11 intensidades de luz comprendidas entre 0-2500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Los parámetros fotosintéticos se estimaron mediante el ajuste por mínimos cuadrados de la curva F-I a un modelo de hipérbola rectangular (Baly 1935) donde :

$$F_B = \frac{F_{B,máx} * \alpha * I}{F_{B,máx} + (\alpha * I)}$$

siendo los parámetros

$F_{B,máx}$: tasa de fotosíntesis bruta máxima, o capacidad fotosintética,

α : pendiente inicial de la curva de fotosíntesis, o eficiencia fotosintética,

y la variable

I : Intensidad luminosa.

y donde:

$$F_N = F_B - R_O$$

siendo:

F_N : tasa de fotosíntesis neta

F_B : tasa de fotosíntesis bruta

R_O : tasa de respiración en oscuridad

A partir de los dos parámetros fotosintéticos anteriores se estimó la intensidad de saturación (I_{sat}), donde:

$$I_{sat} = \frac{F_{B,máx}}{\alpha}$$

Las unidades empleadas fueron:

$F_N, F_B, F_{B,máx}$: nmol O₂ g PS⁻¹ s⁻¹

α : nmol O₂ m² μmol⁻¹ g PS⁻¹

I, I_{sat} : μmol m⁻² s⁻¹

2.2.8. Extracción de pigmentos fotosintéticos

La concentración de pigmentos fotosintéticos se estimó a partir de los fragmentos foliares utilizados para la estimación de las tasas de fotosíntesis. La extracción de los pigmentos se realizó sumergiendo el tejido en acetona al 100 %, permaneciendo así en oscuridad durante 24 horas a 4 °C. La concentración de pigmentos fotosintéticos se calculó a partir de las absorbancias del extracto a 647, 664 y 750 nm según las ecuaciones de Jeffrey y Humphrey (1975).

2.2.9. Análisis estadístico

Para determinar cambios significativos a lo largo del periodo de muestreo y/o entre praderas se empleó un análisis de la varianza (ANOVA) de 2 vías (Zar, 1984). Los problemas de heterocedasticidad se solucionaron mediante la transformación logarítmica de las variables. La comparación de medias *a posteriori* se realizó mediante el test de Tukey. En todos los casos se fijó un nivel de significación de 0,05.

2.3. Resultados

2.3.1. Condiciones meteorológicas durante el periodo de estudio

Las temperaturas medias estacionales oscilaron entre valores mínimos invernales de 5 °C y máximos estivales de 30 °C. A comienzos del periodo experimental (otoño-invierno 1998) se registró un intenso periodo de lluvias con precipitaciones medias de 3,7 y 2,3 $\text{dm}^3 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$ respectivamente (Figura 4). En el resto del ciclo de muestreo las precipitaciones medias se mantuvieron inferiores a 1,5 con máximos invernales y mínimos estivales. El comportamiento de la evaporación mostró también una dinámica anual con máximos estivales de 5 $\text{mm}^3 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$ y mínimos de 2 $\text{mm}^3 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$ en otoño-invierno.

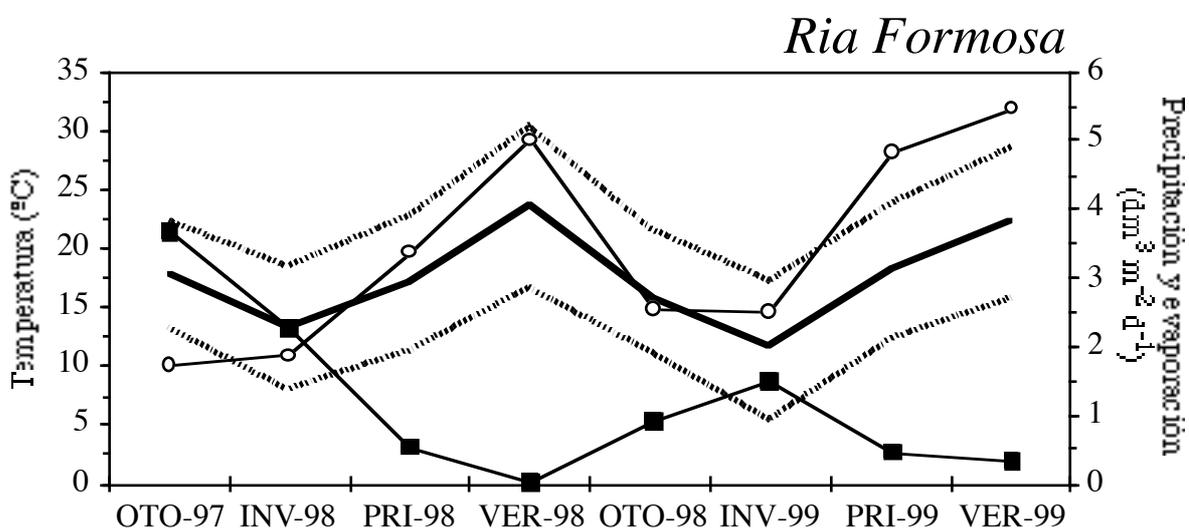


Figura 4. Variación estacional de los promedios de temperatura, precipitación y evaporación en *Ria Formosa* durante el periodo de estudio. Las líneas sin iconos representan la temperatura (temperatura media: línea continua, temperaturas máxima y mínima: líneas discontinuas), los cuadrados negros los valores de precipitación y los círculos blancos la evaporación.

2.3.2. Biomasa

Las dos estaciones estudiadas están dominadas por praderas monoespecíficas de *Zostera noltii*. En la zona del canal central, la presencia de otros macrófitos fue esporádica y de escasa magnitud, no siendo cuantificable por la estrategia de muestreo utilizada (Figura 5). Esta pradera mostró una evolución anual unimodal con máximos de biomasa estivales ($\approx 265 \text{ g PS m}^{-2}$) y mínimos invernales ($\approx 90 \text{ g PS m}^{-2}$). La proporción de tejido subterráneo mostró un aumento progresivo con respecto a la proporción foliar durante el primer año de estudio, pasando de valores de 66-34 % (foliar-subterráneo) para el otoño de 1997, a valores de 37-63 % en verano de 1998. Durante el segundo año, la proporción se estabilizó en torno al 50 %, e incluso mostró proporciones foliares ligeramente superiores. Hay que destacar la presencia significativa de restos vegetales (40 g PS m^{-2}) durante el muestreo de primavera de 1998. Estos restos estuvieron compuestos, básicamente, por tejidos senescentes de *Z. noltii*.

En la pradera del caño lateral, aunque no de forma regular, se detectó la presencia significativa de otros macrófitos. El género *Gracilaria* estuvo presente durante gran parte del ciclo de muestreo, siendo generalmente el mayor responsable de los valores de biomasa mostrados en la gráfica para el grupo de “otros macrófitos”. También se detectaron individuos del género *Fucus*, aunque su presencia sólo fue significativa en periodos de primavera, y del género *Ulva*, cuya presencia fue anecdótica, ya que se detectó únicamente durante el muestreo de otoño de 1998 en densidades muy bajas.

En la estación del caño lateral, la biomasa de *Z. noltii* mostró un patrón estacional similar al del canal central. Un comportamiento unimodal con máximos estivales, aunque con valores significativamente menores (Tabla 1). No obstante, cabe destacar que el valor máximo de biomasa registrado en esta pradera se detectó en el invierno de 1998. Durante la mayor parte del periodo de estudio, la proporción de biomasa foliar estuvo equilibrada con la proporción de biomasa subterránea, aunque siempre se detectó un porcentaje mayor de tejido foliar. En la primavera de 1998 también se encontró una presencia significativa de restos vegetales.

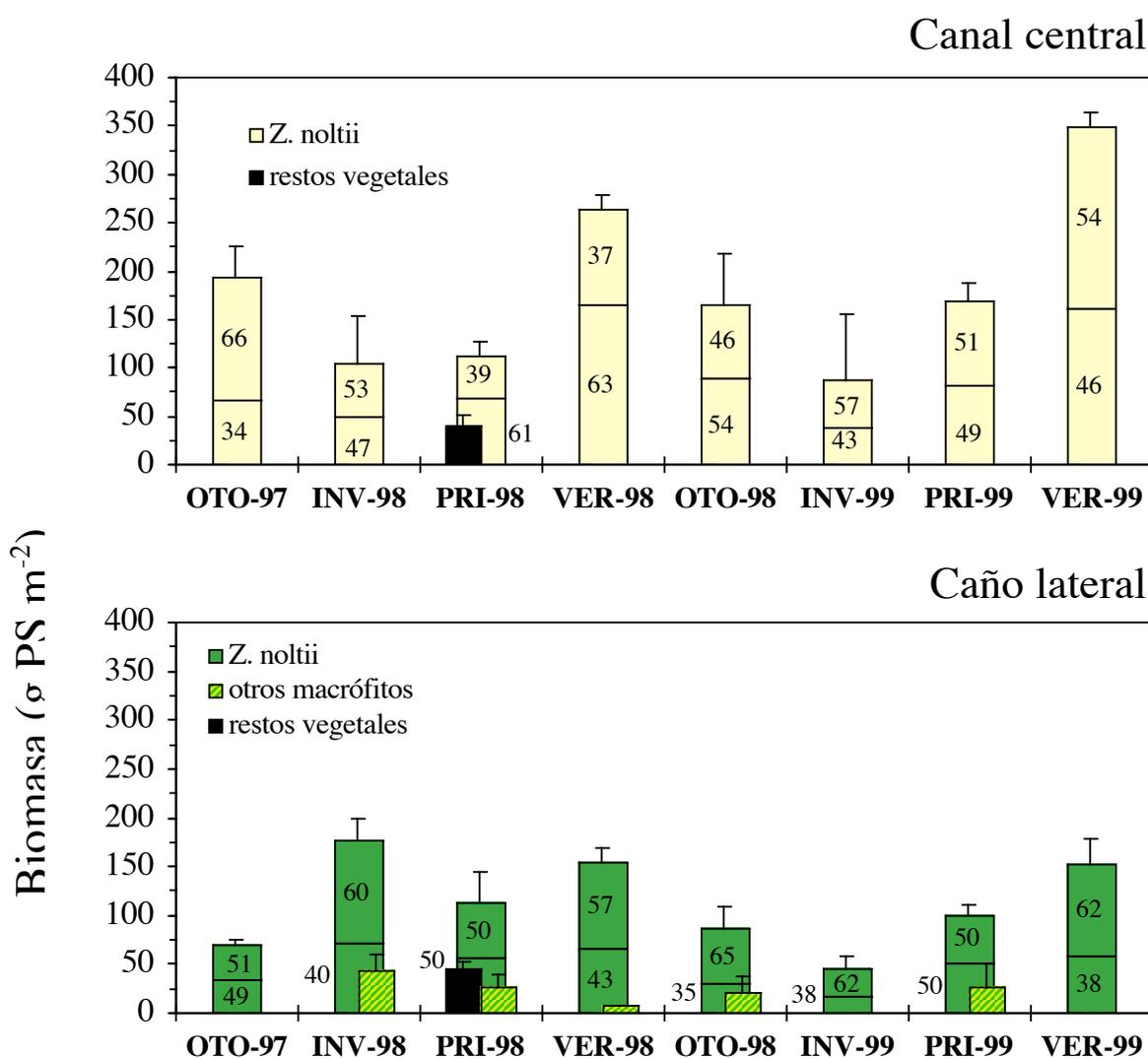


Figura 5. Variación estacional de biomasa en las dos praderas estudiadas. En las barras correspondientes a *Z. noltii*, el compartimento superior representa la biomasa epígea y el inferior la biomasa hipógea. La numeración en el interior de los compartimentos corresponde al porcentaje respectivo de la biomasa total representada por la altura de la columna. Las barras representan el error estándar.

2.3.3. Densidad poblacional

La biomasa foliar de las fanerógamas marinas se distribuye en pequeños grupos foliares denominados haces. El número de haces por planta es muy variable y de estimación ardua en condiciones naturales. Por estos motivos se tomó la decisión de estimar la densidad poblacional de las praderas a través de la densidad de haces foliares y no en función de la densidad de plantas (Figura 6).

En el canal central se detectó una variación estacional con mínimos invernales y máximos estivales. Entre el invierno y la primavera de 1998 se detectó un aumento de densidad superior al 100 %, aun cuando la biomasa foliar disminuyó con respecto al invierno (Figura 5). Tras esa fecha, aún detectándose una dinámica estacional en esta pradera, las densidades de *Z. noltii* permanecieron superiores a 6.000 haces m⁻².

En el caño lateral, las densidades de *Z. noltii* siguieron una tendencia general ascendente hasta el verano de 1998 (con más de 8.000 haces m⁻²). No obstante, a partir de esa fecha las densidades disminuyeron hasta alcanzar un mínimo de 1.800 haces m⁻² en el invierno de 1999, generando diferencias significativas entre praderas (Tabla 1). En muestreos posteriores, se observaron aumentos de densidad en el caño lateral aunque sin superar los 5.000 haces m⁻².

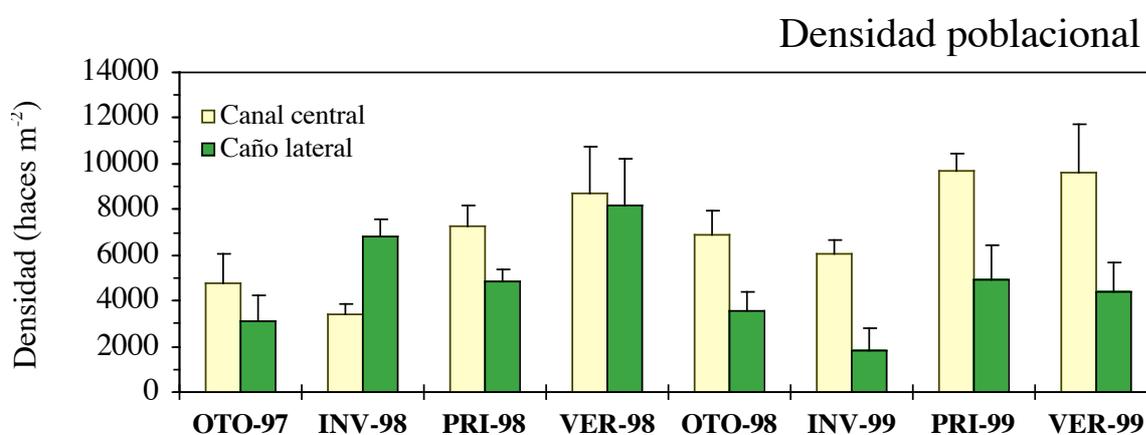


Figura 6. Variación estacional de la densidad de haces foliares de *Z. noltii* en las dos estaciones estudiadas. Las barras representan el error estándar.

2.3.4. Morfometría

Para comprender los desajustes entre la evolución temporal de la densidad poblacional y la biomasa, es necesario un estudio detallado de las plantas que ocupan ambas praderas. Los cambios morfométricos podrían ser los responsables de desacoplamientos entre variables como la densidad y la biomasa.

2.3.4.1. Longitud y anchura foliar

Para estimar las dimensiones foliares representativas de una planta hay que tener en cuenta algunas consideraciones previas. En cada planta hay hojas en estados distintos de desarrollo. A la hora de determinar variables representativas de una comunidad vegetal, como la longitud y el ancho foliar, no discriminar el estado de desarrollo foliar provocaría una gran variabilidad y una disminución artificial de la talla foliar por las hojas aún en periodo de crecimiento. Para evitar estos problemas y considerar únicamente las variaciones ocasionadas por cambios morfométricos de población, se decidió considerar la talla foliar máxima encontrada en cada planta estudiada.

En la Figura 7 se muestra la evolución temporal de la longitud y la anchura foliar máxima de *Z. noltii* en ambas praderas. Tanto la ubicación de la pradera, como la estación del año y el efecto combinado de ambos, afectaron significativamente a la longitud foliar (Tabla 1). En el canal central se detectó una disminución de la longitud foliar (65%) entre el invierno y la primavera de 1998. La longitud máxima varió de 20-25 cm a 7-10 cm, rango en el que permaneció hasta el verano de 1999.

En el caño lateral el patrón fue muy distinto al observado en el canal central (Figura 7). Aunque también se detectó un descenso en la longitud foliar entre el invierno y la primavera de 1998, esta reducción fue de menor magnitud (35 %) y de naturaleza efímera. En el resto del periodo de estudio, las longitudes foliares máximas oscilaron entre máximos y mínimos consecutivos (Figura 7) dentro de un rango de variación de 5 cm.

Para la anchura foliar se observó un patrón similar al descrito para la longitud. Asumiendo las limitaciones debidas a la falta de precisión en la medida, tras el invierno de 1998, la anchura foliar (inicialmente en torno a 2 mm en ambas praderas) disminuyó al

menos 0,5 mm en las poblaciones del canal central. Mientras que en las del caño lateral no se detectaron diferencias durante el periodo de estudio.

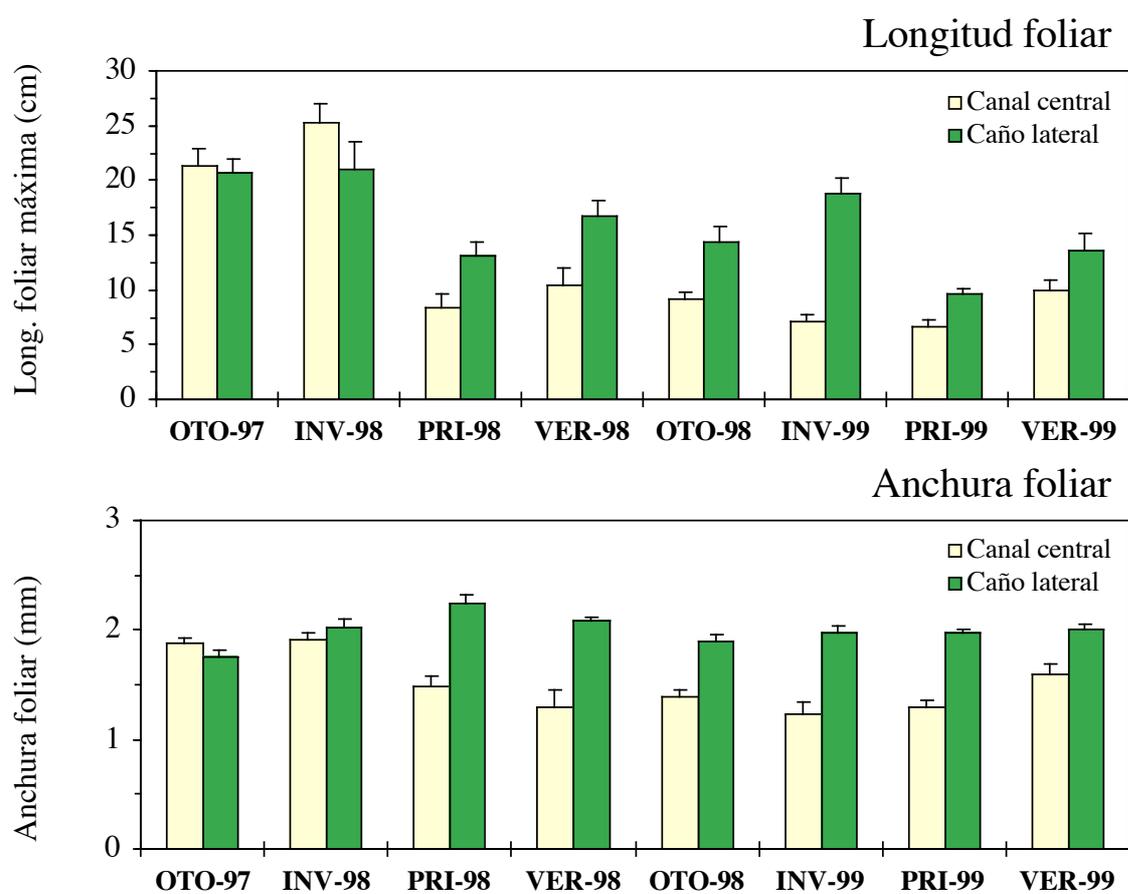


Figura 7. Variación estacional de las dimensiones foliares de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. Las barras representan el error estándar.

Tabla 1. Resumen del ANOVA aplicado a las variables estimadas en *Z. noltii*. Fuentes de variación: (1) ubicación de la pradera y (2) estación. La letra T junto a la variable indica la transformación logarítmica de los resultados. ns: diferencias no significativas.

Variable	Abreviatura		Fuente de variación		
			1	2	1 x 2
Biomasa			**	**	*
Densidad de haces			*	*	*
Longitud foliar	LF	T	**	**	**
Longitud internodal	LI	T	ns	**	**
Carbono foliar	C foliar		ns	**	**
Nitrógeno foliar	N foliar		**	**	**
C:N foliar	C:N foliar		**	**	**
Carbono subterráneo	C subt		**	*	ns
Nitrógeno subterráneo	N subt		*	**	*
C:N subterráneo	C:N subt		ns	**	**
Tasa de elongación foliar	TEF		ns	**	*
Tasa de aparición foliar	TAF	T	ns	**	**
Tasa de renovación foliar en longitud	TRF _E	T	**	**	**
Tasa de renovación foliar en número	TRF _A	T	ns	*	**
Intervalo de plastocrono	IP	T	*	**	**
Tasa de pérdida foliar en longitud	TPF _E	T	ns	*	ns
Tasa de pérdida foliar en número	TPF _A		ns	*	**
Tasa de elongación internodal	TEI	T	*	**	**
Tasa de aparición internodal	TAI	T	**	**	**
Contenido en clorofila total		T	**	**	*
Capacidad fotosintética (en PS)	F _{máx}		**	**	*
Capacidad fotosintética (en superficie)	F _{máx}	T	**	**	ns
Eficiencia fotosintética	α		ns	ns	ns
Intensidad de saturación	I _{sat}		*	ns	ns

*(p< 0,05); **(p<0,001)

2.3.4.2. Longitud internodal y longitud radicular

En la Figura 8 se muestra la variación de las longitudes de entrenudos y raíces en las dos zonas de estudiadas. Como en el estudio foliar, para evitar conclusiones erróneas generadas por estructuras en proceso de formación, se tomaron como longitudes representativas las longitudes internodales máximas de cada región axial considerada.

La longitud internodal mostró diferencias significativas al estudiar el efecto combinado de la estación del año y la ubicación de la pradera (Tabla 1). En el canal central no se observó un patrón estacional. En el invierno de 1998, las longitudes internodales fueron inferiores a 10 mm, sin embargo, en la primavera aumentaron hasta valores de 16-18 mm, permaneciendo en ese rango hasta el invierno de 1999. Tras esa fecha se detectó una reducción progresiva de esta variable hasta un mínimo de 7 mm en la primavera de 1999.

En el caño lateral, la longitud internodal sí mostró un comportamiento estacional claro, con máximos en invierno (≈ 20 mm) y mínimos en verano (6-8 mm).

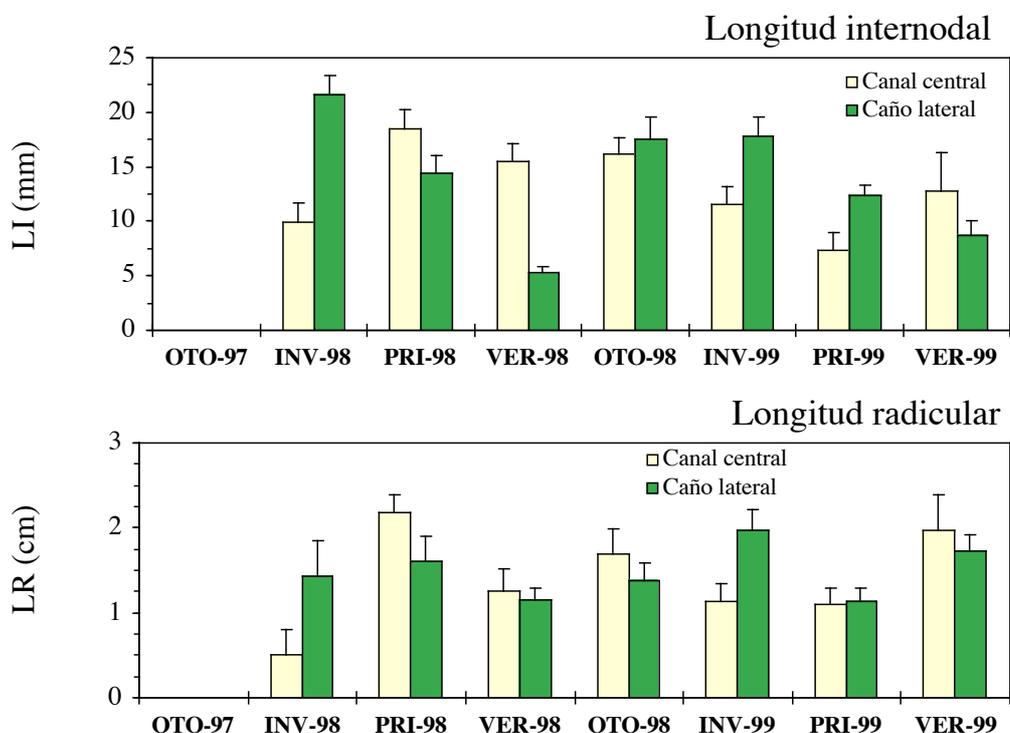


Figura 8. Variación estacional de la morfología hipógea de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. Las barras representan el error estándar.

En el caso de la longitud radicular, dada la fragilidad acentuada de este módulo *en Z. noltii* (den Hartog 1970), se prefirió tener en cuenta el valor medio de las longitudes y considerar los resultados como una información complementaria, con un carácter más cualitativo que cuantitativo.

Durante gran parte del periodo de estudio, ambas praderas desarrollaron raíces de longitudes medias en torno a 1-2 cm. Únicamente durante el invierno de 1998, en el canal central se detectaron longitudes radiculares inferiores a este rango (5 mm).

2.3.5. Contenido en nutrientes de los tejidos

2.3.5.1. Fracción foliar

En ambas praderas, durante todo el periodo de estudio el contenido en C de la fracción foliar permaneció cercano a 35 %PS (Figura 9). A pesar de que el análisis de la varianza reveló un efecto significativo de la estación del año y de su combinación con la ubicación de la pradera (Tabla 1), no consideramos un efecto significativo de ninguno de ellos, debido a que este resultado se originó por el valor estimado durante el primer muestreo en el canal central (véase el anexo estadístico).

El contenido interno de nitrógeno sí mostró variaciones significativas debidas tanto a la estación del año, como a la ubicación de la pradera y el efecto combinado de ambos (Tabla 1). En general, el nitrógeno foliar fue superior al 1,8 % PS crítico dado por Duarte (1991). Los tejidos foliares en plantas del canal central mostraron un mayor contenido en N que las plantas del caño lateral (Figura 9). Durante gran parte del periodo de estudio, en el canal central el N foliar superó valores de 2,5 % PS, alcanzando en invierno de 1999 un máximo de 3,8 % PS. Por el contrario, en el caño lateral, los niveles de N interno foliar ocasionalmente superaron el 2,5 % PS, detectándose mínimos de 1,5 % PS en la primavera de 1998.

El índice C:N varió ligeramente en ambas praderas, oscilando entre 10 y 20 durante el periodo de estudio (Figura 9). La estación del año, la ubicación de la pradera y el efecto combinado de ambas tuvieron un efecto significativo en esta variable (Tabla 1). En el canal central, el índice C:N foliar mostró un patrón estacional con valores superiores a 15 en

primavera y verano y próximos a 10 en otoño e invierno. En el caño lateral, la evolución fue similar, con la particularidad de un máximo absoluto del índice en la primavera de 1998 debido al bajo contenido en nitrógeno.

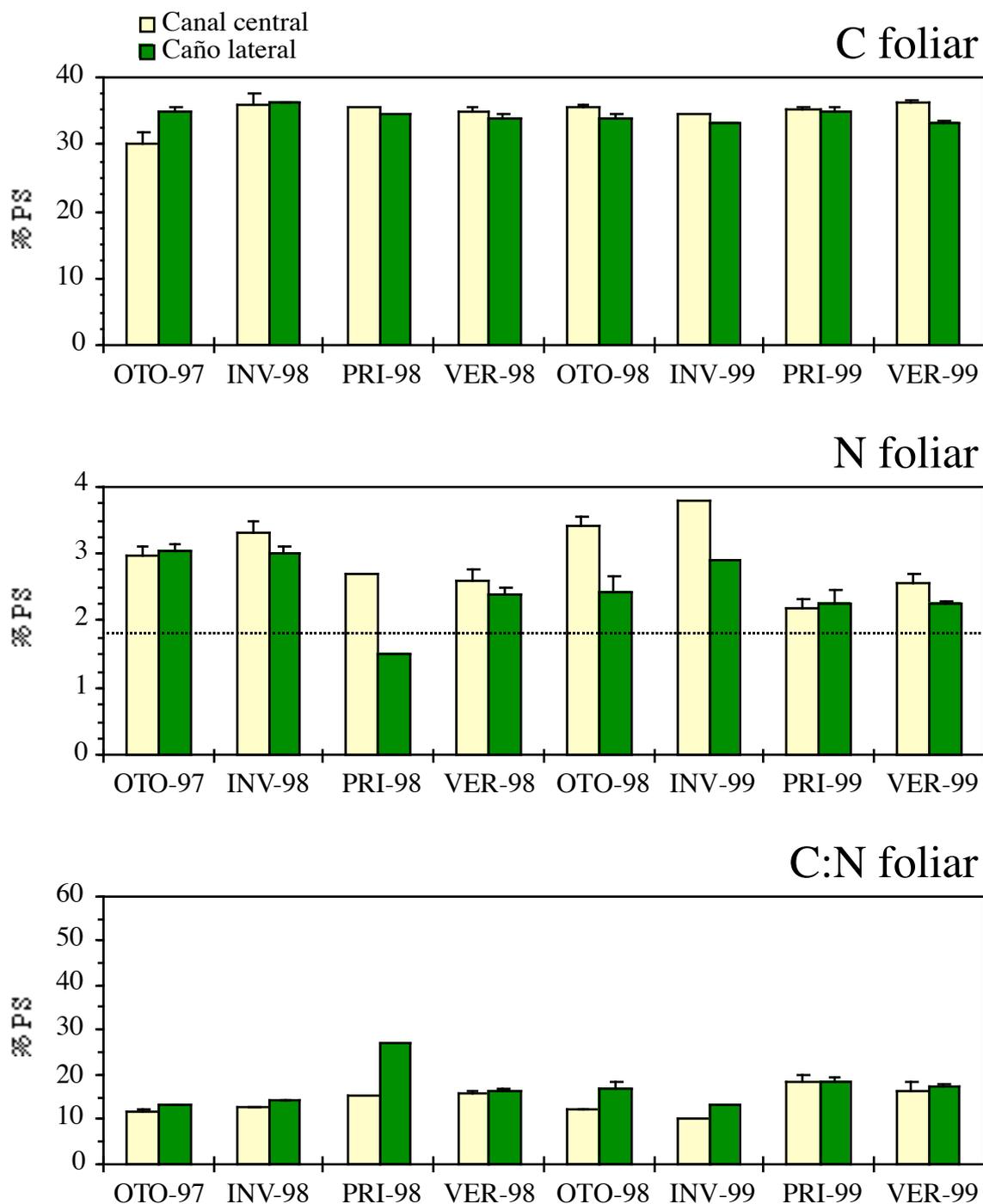


Figura 9. Variación estacional del contenido en C, N e índice C:N en los tejidos foliares de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. En la gráfica de N foliar, la línea discontinua representa el nivel crítico de N para la fracción foliar (1,8 % PS, Duarte 1990). Las barras representan el error estándar (n=3).

2.3.5.2. Fracción subterránea

La fracción subterránea mostró una variabilidad mayor en el contenido nutricional que la fracción foliar (Figura 10). El contenido en C interno mostró diferencias significativas en función de la estación del año y la ubicación de la pradera (Tabla 1). En el canal central, en la primavera de 1998, el contenido en C interno sufrió una disminución del 25 % (Figura 10), incrementándose durante el verano y permaneciendo a partir del otoño en torno a un 28 % PS. En el caño lateral, el contenido en C permaneció entre 29-34 % PS, siendo significativamente mayor que el contenido estimado en plantas del canal central.

En la fracción subterránea, la ubicación de la pradera, la estación del año y el efecto combinado de ambos influyeron significativamente en el contenido de N (Tabla 1). En el canal central se detectaron contenidos mínimos en primavera de 1998 (0,75 % PS) y máximos en invierno de 1999 (2 % PS; Figura 10). Los valores mínimos de N registrados en primavera-verano 98 estuvieron por debajo del nivel considerado crítico para tejidos subterráneos (1%, Pedersen y Borum 1993). No obstante, dado el elevado crecimiento subterráneo registrado en durante esta época (ver siguiente apartado), estos valores no se interpretaron como un crecimiento limitado por nitrógeno sino más bien como una dilución por crecimiento. En el caño lateral, la tendencia fue parecida aunque con valores de mayor magnitud.

La estación del año y la interacción con la ubicación de la pradera afectaron significativamente el índice C:N de la fracción subterránea (Tabla 1). En el canal central, el índice osciló entre 40 (verano, 1998) y 15 (invierno, 1999). Como en la fracción foliar, se detectaron los máximos en primavera-verano y mínimos en otoño-invierno. En el caño lateral, el comportamiento también fue similar al del C:N foliar, aunque con valores de mayor magnitud.

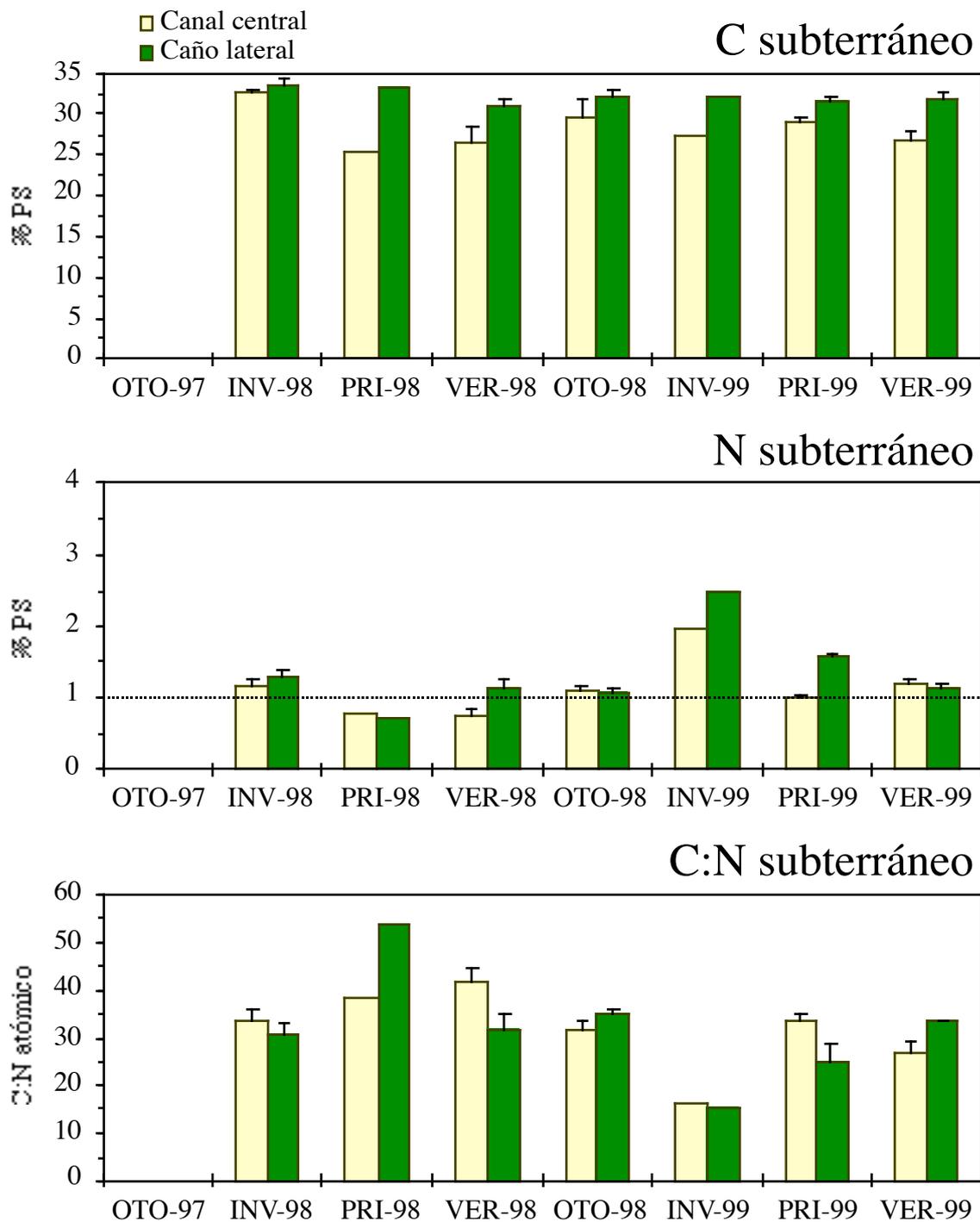


Figura 10. Variación estacional del contenido en C, N e índice C:N en los tejidos subterráneos de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. En la gráfica de N subterráneo, la línea discontinua representa el nivel crítico de N para la fracción subterránea (1 % PS, Pedersen y Borum 1993). Las barras representan el error estándar.

2.3.6. Crecimiento

2.3.6.1. Tasas de crecimiento (TC)

Para la exposición de resultados sobre el crecimiento de *Z. noltii*, la tasa de crecimiento expresada por peso seco suministra una idea global que será analizada posteriormente para las distintas unidades estructurales.

Antes de continuar es necesario aclarar que los valores presentados para otoño de 1997 corresponden únicamente al crecimiento foliar (Figura 11), debido a que la falta de experiencia inicial en la técnica de marcación no permitió estimar las tasas de crecimiento de partes subterráneas. Una vez puesta a punto esta técnica (a partir del segundo muestreo) los valores mostrados corresponden a la suma de las porciones foliar y subterránea.

El patrón temporal de esta variable fue diferente en las dos praderas (Figura 11). Hasta la primavera de 1998, el crecimiento en peso seco fue similar en ambas praderas, con máximos primaverales de 3,5 mg PS $\text{haz}^{-1} \text{d}^{-1}$. No obstante, después y hasta el invierno de 1999, en el canal central se observó un descenso progresivo del crecimiento. Posteriormente, el crecimiento comenzó a recuperar una ligera oscilación temporal con un máximo relativo en la primavera de 1999. Por el contrario, en el caño lateral se observó un patrón estacional definido, con máximos primaverales y mínimos estivales.

La contribución relativa del tejido foliar y los tejidos subterráneos (rizoma-raíces) a la producción de cada pradera mostró una variación estacional. En el canal central, en primavera de 1998, se invirtió un 70 % del crecimiento en la producción de tejido subterráneo. En el resto del periodo estudiado, las tasas de crecimiento se invirtieron en una producción equilibrada de tejido foliar y subterráneo. En el caño lateral, se observó un crecimiento más equitativo entre ambas fracciones vegetales (Figura 11).

De forma análoga al crecimiento en términos de peso seco, se estimaron las tasas de crecimiento expresadas en términos de carbono y nitrógeno (Figura 11.b,c). Las tasas de crecimiento en C mostraron un comportamiento similar al observado para el crecimiento en peso seco (Figura 11.b). Sin embargo, las tasas de crecimiento en nitrógeno, presentaron un valor máximo en torno a 50-55 $\mu\text{g N haz}^{-1} \text{d}^{-1}$, alcanzado en el canal central durante

todo 1998 y en el caño lateral durante el invierno de 1998, y el invierno y primavera de 1999.

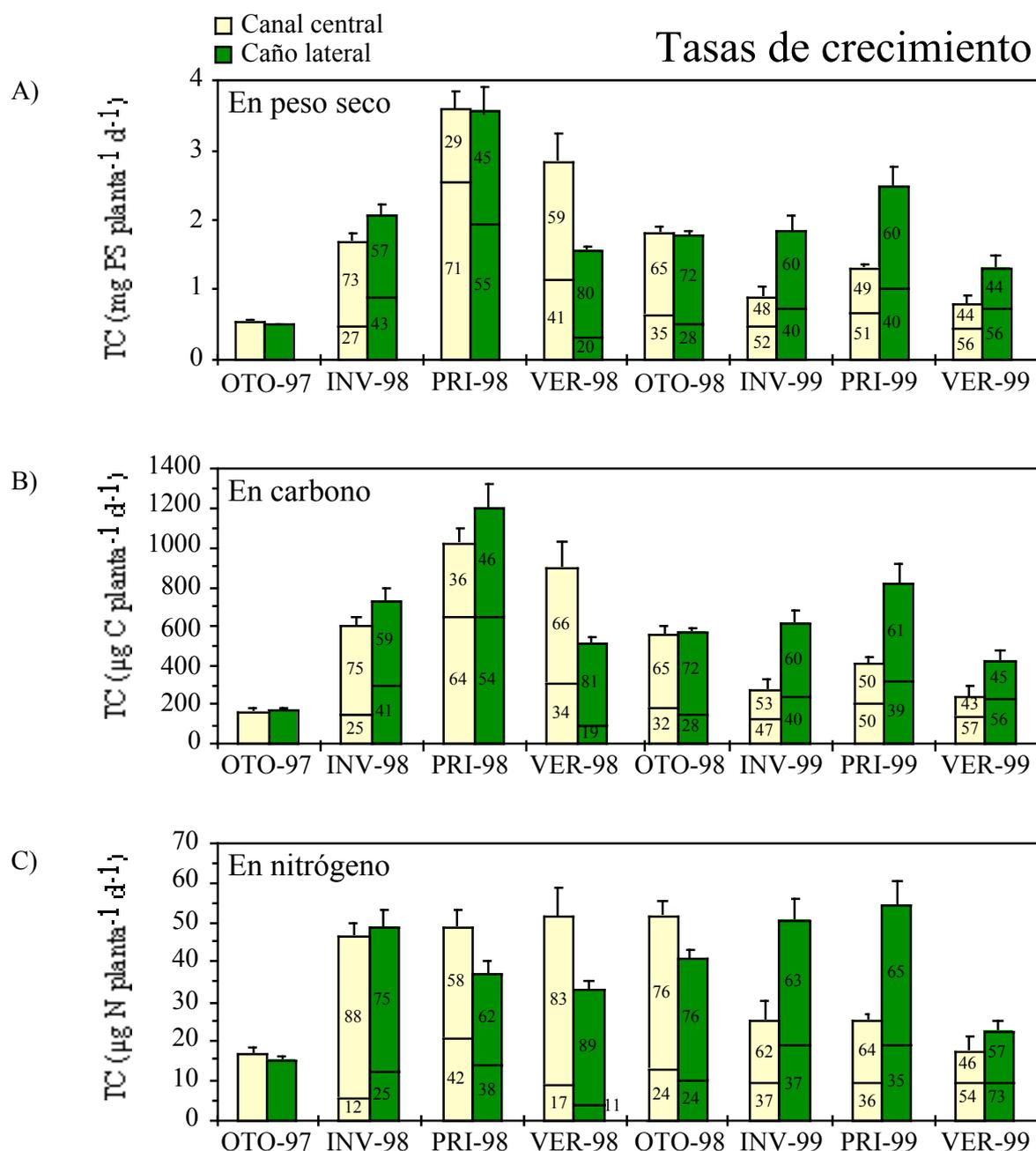


Figura 11. Variación estacional de las tasas de crecimiento (TC) de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas, expresadas en A) peso seco, B) C interno y C) N interno. Cada columna está dividida en dos compartimentos. El compartimento superior representa el crecimiento foliar y el inferior el crecimiento subterráneo. Los números dentro de cada compartimento muestran el porcentaje de cada fracción vegetal con respecto al crecimiento total (altura de la columna). En otoño de 1997, la columna corresponde únicamente al crecimiento foliar. Las barras representan el error estándar.

2.3.6.2. Tasa de elongación foliar (TEF)

A pesar de las diferencias en longitud que experimentaron las plantas del canal central (Figura 7), las TEF de esta pradera no mostraron grandes diferencias con respecto a las estimadas en las plantas del caño lateral (Figura 12). A lo largo del periodo de estudio, en el canal central las TEF permanecieron en torno a 2,5 cm $\text{haz}^{-1} \text{d}^{-1}$, con excepción del máximo detectado en verano de 1998 (3,5 cm $\text{haz}^{-1} \text{d}^{-1}$) y el mínimo en invierno de 1999 (1,5 cm $\text{haz}^{-1} \text{d}^{-1}$). En el caño lateral, estas tasas no mostraron grandes variaciones temporales oscilando en torno a 2,5 cm $\text{haz}^{-1} \text{d}^{-1}$.

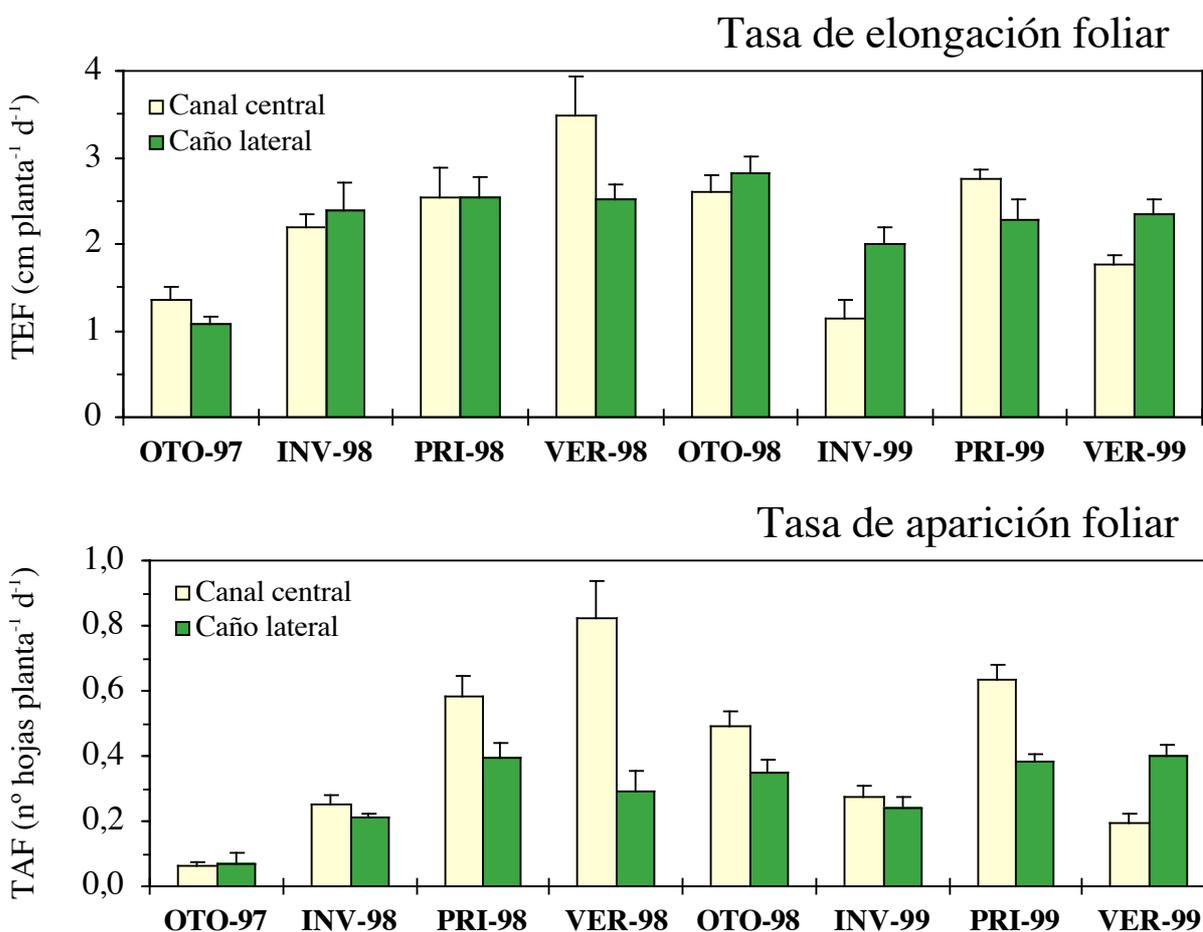


Figura 12. Variación estacional de la tasa de elongación foliar (TEF) y la tasa de aparición foliar (TAF) de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. Las barras representan el error estándar.

2.3.6.3. Tasa de aparición foliar (TAF)

A diferencia de las TEF, las TAF mostraron diferencias acentuadas entre las dos praderas (Figura 12). La interacción entre el tiempo y la ubicación de la pradera tuvo un efecto significativo en las TAF (Tabla 1). Las plantas situadas en el canal central mostraron notables diferencias estacionales aunque sin describir un patrón anual. De hecho, tanto las TAF máximas ($0,8 \text{ hojas haz}^{-1} \text{ d}^{-1}$), como las mínimas (cerca de $0,2 \text{ hojas haz}^{-1} \text{ d}^{-1}$) se detectaron en veranos consecutivos (1998 y 1999). Por otra parte, en el caño lateral, las TAF no mostraron variaciones estacionales importantes, manteniéndose entre $0,3 - 0,4 \text{ hojas haz}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

2.3.6.4. Tasa de renovación foliar (TRF)

Al igual que el crecimiento foliar, las tasas de renovación se pueden calcular a partir de cambios en longitud (TRF_E) y en número de hojas (TRF_A). Ambas vías de estimación proporcionaron resultados similares, aunque el patrón estacional presentó menores variaciones al expresar los resultados en función del número de hojas (TRF_A , Figura 13)

En el canal central, las TRF_E y las TRF_A fueron, en general, mayores que las detectadas en el caño lateral. La combinación de dimensiones foliares menores y una producción meristemática similar (TEF), generó un gran potencial de regeneración foliar a partir de los haces apicales. La estación del año y la ubicación de la pradera combinadas afectaron significativamente a ambas estimaciones (Tabla 1). En el canal central, ambas tasas de renovación foliar describieron un comportamiento anual de máximos primaverales y mínimos invernales. Sin embargo, durante el periodo estival el comportamiento de la pradera presenta una fuerte variancia, dadas las TRF_A altas en 1998 y bajas en 1999.

En el caño lateral, los valores de TRF_E y TRF_A fueron de menor magnitud que en la pradera del canal central. El comportamiento estacional estuvo muy suavizado aunque también llegaron a registrarse mínimos invernales.

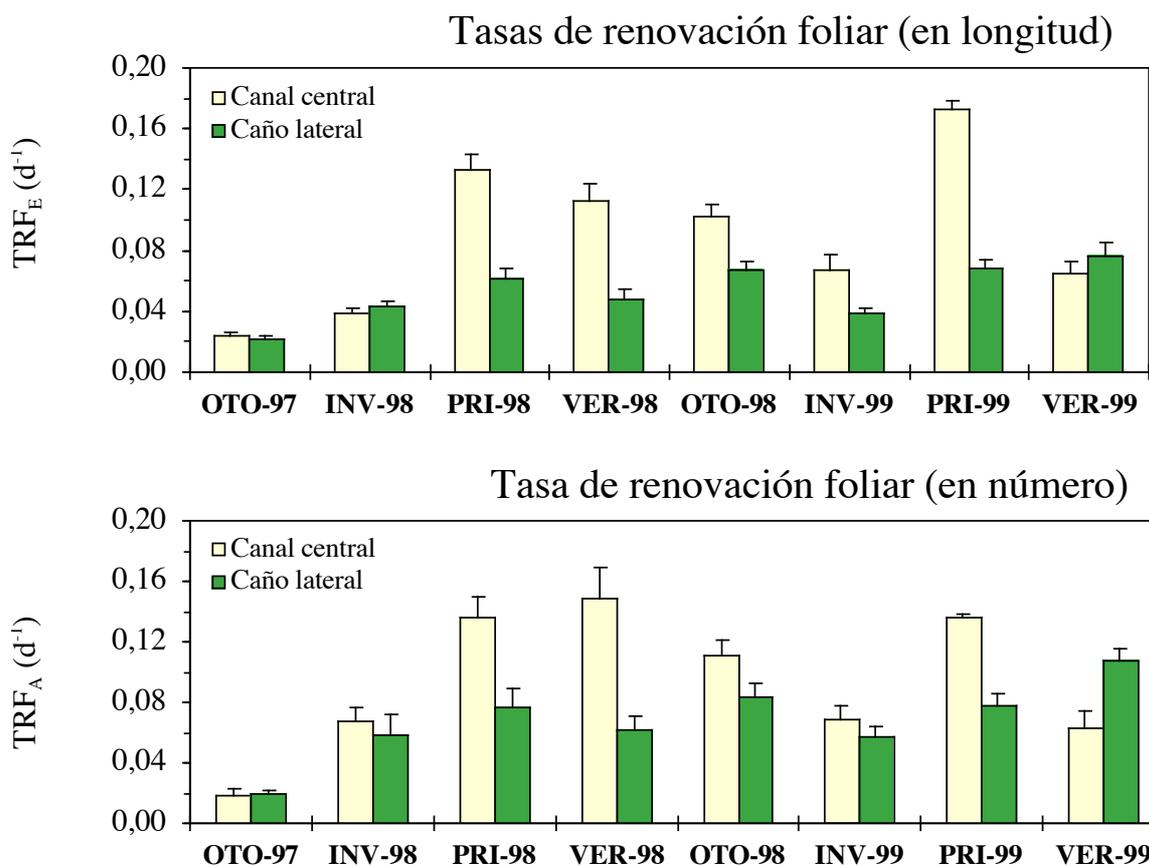


Figura 13. Variación estacional de la tasa de renovación foliar en longitud (TRF_E) y de la tasa de renovación foliar en número (TRF_A) de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. Las barras de error representan el error estándar.

2.3.6.5. Intervalo de plastocrono (IP)

El intervalo de plastocrono osciló entre 4 y 11 días (Figura 14). En la pradera del canal central, el IP fue mínimo en primavera de 1998, estabilizándose en 4 días hasta el otoño de ese año. Tras dicho muestreo, el IP aumentó hasta valores de 9 días, en invierno de 1999, y casi 11, en verano. En el caño lateral, el IP también registró mínimos en primavera-verano y máximos en otoño-invierno. No obstante, en esta pradera el rango de variación permaneció entre 6 y 11 días.

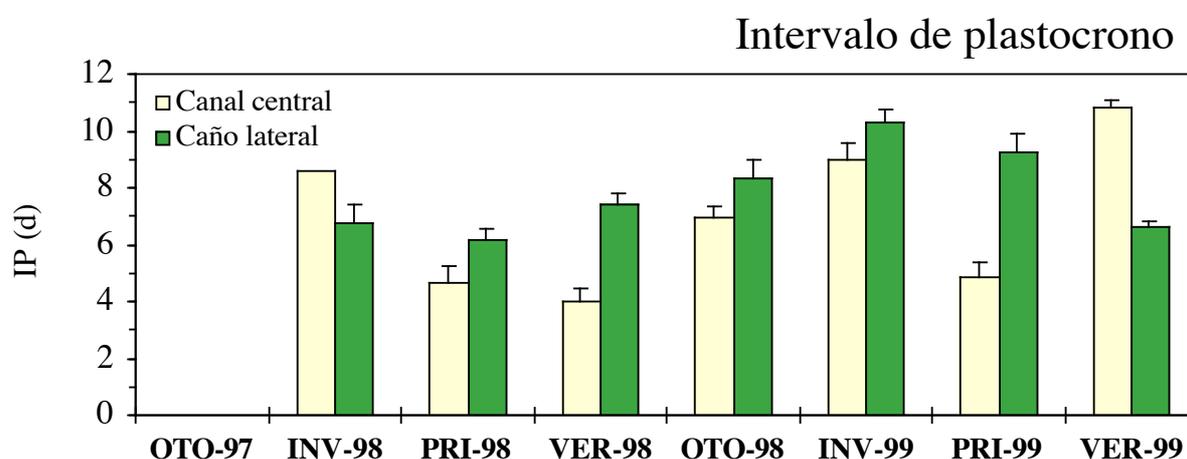


Figura 14. Variación estacional del intervalo de plastocrono de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. Las barras representan el error estándar.

2.3.6.6. Tasa de pérdida foliar (TPF)

La tasa de pérdida foliar también ha sido estimada en función de los cambios en longitud (TPF_E) y en número foliar (TPF_A) (gráfica 2.11). Si bien los resultados de las TPF_A fueron más nítidos, las TPF_E proporcionaron una información complementaria para una mejor comprensión de los procesos de pérdida del sistema.

En el canal central, la variabilidad temporal de la talla foliar y la naturaleza de las pérdidas (parcial o total) complicó la discusión de los resultados de las tasas de pérdida foliar. Durante el invierno de 1998, las pérdidas fueron máximas, llegando a superar

valores de 2,5 cm $\text{haz}^{-1} \text{d}^{-1}$ para las TPF_E y 0,12 hojas $\text{haz}^{-1} \text{d}^{-1}$ para las TPF_A . En muestreos posteriores, las TPF_E fueron inferiores a 0,5 cm $\text{haz}^{-1} \text{d}^{-1}$. En este canal, durante el invierno de 1998, más del 90% de las TPF_E estimadas se debieron a una intensa caída foliar (Figura 16). Posteriormente, las bajas TPF_E estimadas fueron originadas en su mayoría por la rotura parcial de las hojas, llegando incluso a originar el total de las pérdidas durante el verano de 1998.

En el caño lateral, las TPF_E y TPF_A mostraron un comportamiento similar. Las mayores pérdidas foliares se originaron en otoño de 1997 y verano de 1998, mientras que las más bajas ocurrieron durante el invierno. La escasa variación de la longitud foliar y una pérdida asociada principalmente a la caída foliar (Figura 16), sugirieron un buen acoplamiento entre ambas tasas de pérdida foliar, observándose como único desfase las estimaciones en primavera de 1999, probablemente como consecuencia del mínimo de longitud foliar detectado (Figura 7).

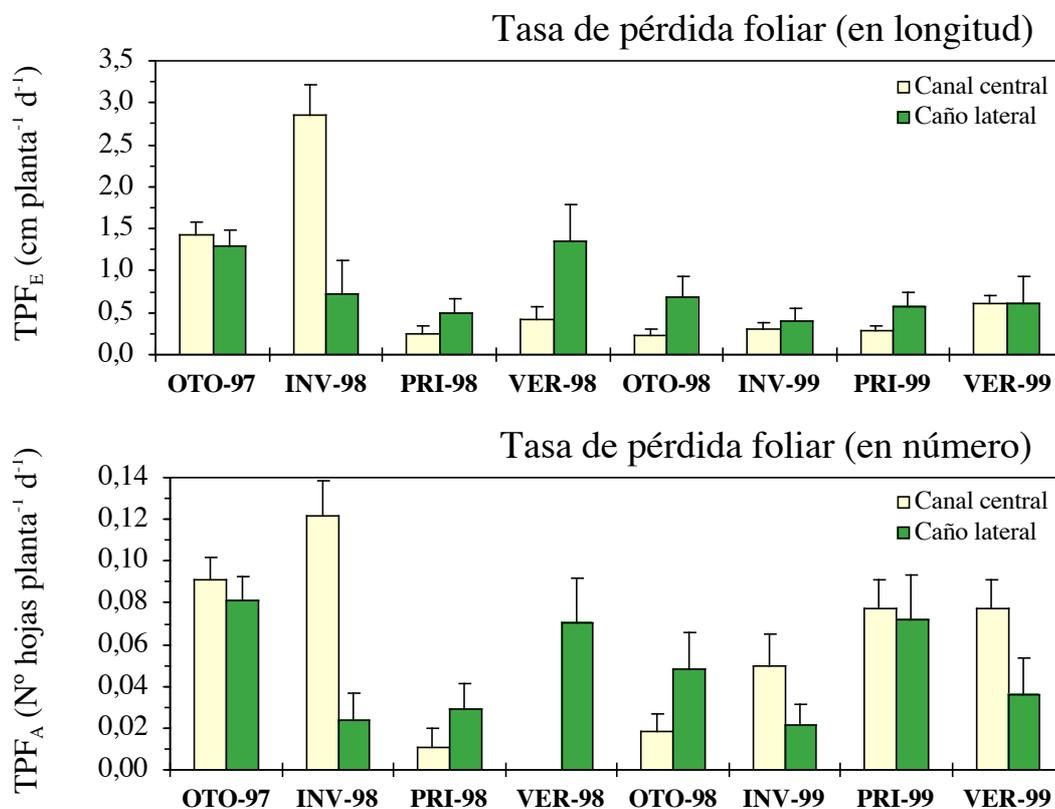


Figura 15. Variación estacional de la tasa de pérdida foliar en longitud y la tasa de pérdida foliar en número de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. Las barras representan el error estándar.

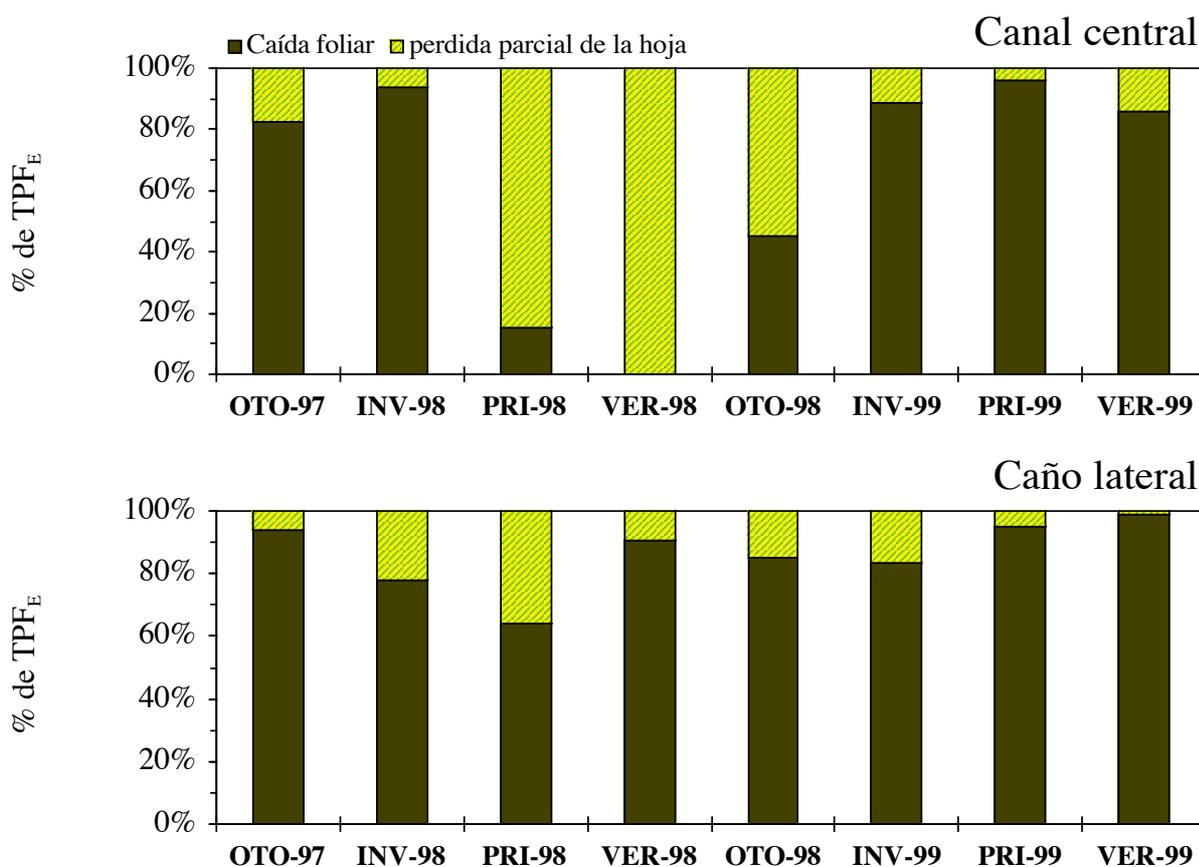


Figura 16. Variación estacional de los procesos de pérdida foliar en *Z. noltii* para las dos praderas estudiadas. Las gráficas representan el porcentaje de pérdidas debidas a una caída total de la hoja frente a una pérdida parcial de la misma. Los porcentajes se han estimado en función de la pérdida foliar en términos de longitud (TPF_E).

2.3.6.7. Tasa de elongación rizomática (TEI) y tasa de aparición internodal (TAI)

En la Figura 17 se muestran las tasas de crecimiento rizomático basadas tanto en la elongación (TEI), como en la aparición de unidades internodales (TAI). Para ambas aproximaciones, en la pradera del canal central se observó un gran incremento de crecimiento rizomático durante el periodo de primavera-otoño de 1998. Entre el invierno y la primavera de 1998, las TEI pasaron de 1,2 a 4,6 mm d^{-1} . A partir de la primavera y hasta el invierno de 1999 las TEI decrecieron progresivamente hasta valores en torno a 1,5 mm d^{-1} , en donde se estabilizaron hasta finalizar el periodo de estudio.

Las TAI mostraron una mayor oscilación estacional. El incremento fuerte de las TEI detectado en la primavera de 1998 estuvo acompañado por un incremento paralelo de las TAI. Sin embargo, mientras el incremento de la TEI fue de 275%, la TAI aumentó un 85%, repartiéndose el aumento de elongación rizomática entre una mayor producción de unidades internodales y un aumento de la longitud de las mismas. En general, se observaron mayores TAI ($\approx 0,3$ entrenudos d^{-1}) durante periodos cálidos y mínimas ($0,15$ entrenudos d^{-1}) durante el invierno.

En el caño lateral, el crecimiento rizomático aumentó en la primavera de 1998, aunque con menos intensidad que el incremento observado en las plantas del canal central. Las TEI mostraron tras dicho máximo un mínimo absoluto ($0,5$ $mm d^{-1}$), posteriormente estabilizándose en $1,5$ $mm d^{-1}$. Las TAI, además del máximo primaveral, mostraron un aumento en la primavera y el verano de 1999.

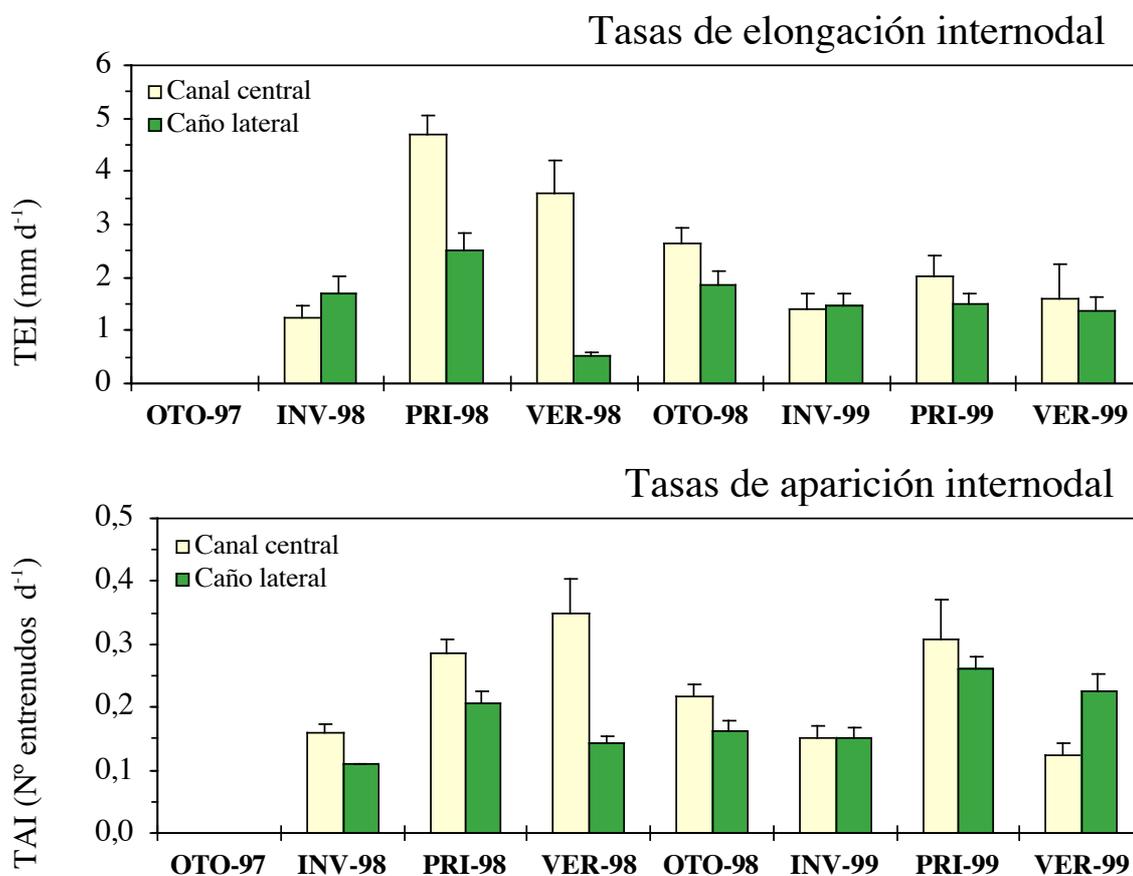


Figura 17. Variación estacional de la tasa de elongación internodal (TEI) y la tasa de aparición internodal (TAI) de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. Las barras representan el error estándar ($n=15$).

2.3.6.8. Tasas de elongación radicular (TER) y tasa de aparición radicular (TAR)

La Figura 18 muestra la evolución de las TER y TAR estimadas en ambas praderas durante el periodo de estudio. Tal y como se ha comentado previamente, la fragilidad del sistema radicular de *Z. noltii* dificultó la estimación de estas variables. Por este motivo, la interpretación de éstas tendrá un carácter más cualitativo que cuantitativo.

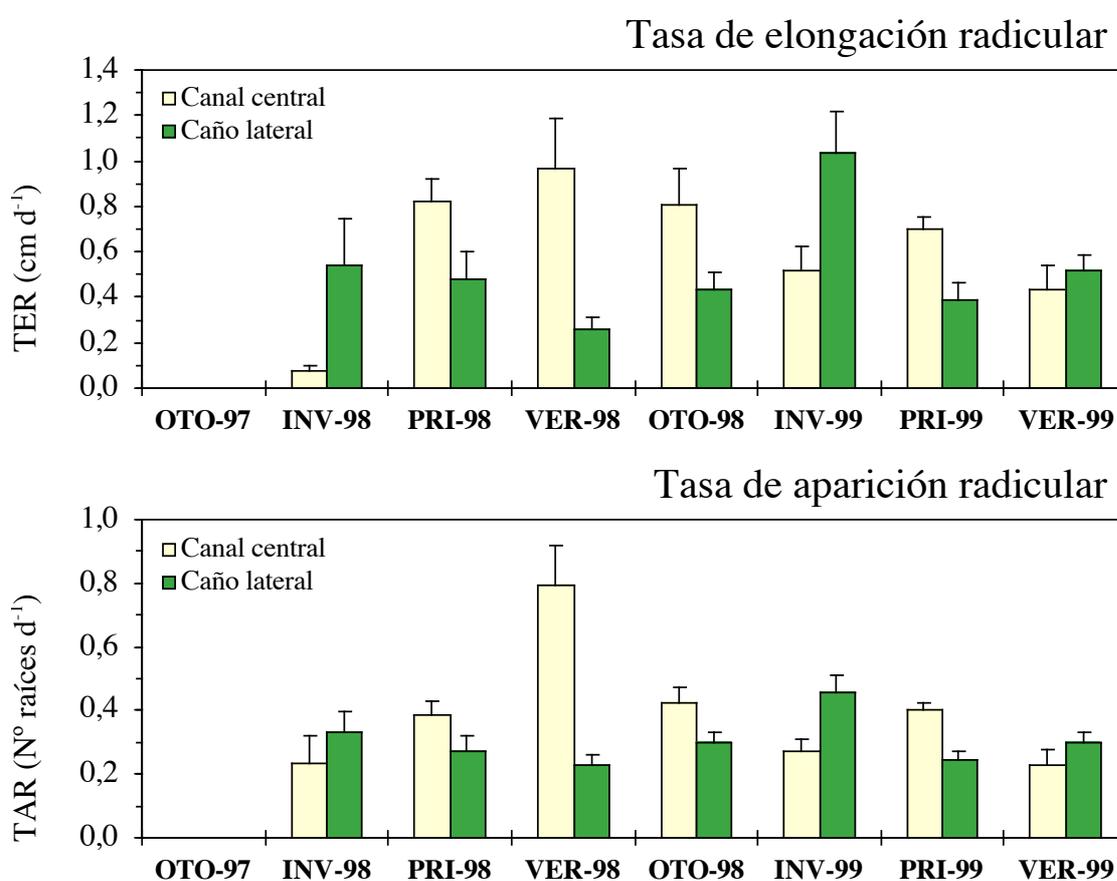


Figura 18. Variación estacional de la tasa de elongación rizomática (TER) y de la tasa de aparición radicular (TAR) de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. Las barras representan el error estándar.

Como en variables anteriores, durante la primavera de 1998, en las plantas del canal central se detectó un aumento de la TER, que permaneció hasta el otoño de 1998, tras lo cual descendió progresivamente hasta valores similares a los estimados en plantas del caño lateral.

En las plantas del caño lateral, la TER permanecieron en torno a 0,5 cm d⁻¹, a excepción de un mínimo en el verano de 1998 y un máximo en invierno de 1999. Las TAR, por el contrario se mantuvieron alrededor de 0,3-0,4 raíces d⁻¹ en ambas praderas, a excepción del verano de 1998, cuando llegaron a duplicarse en el canal central.

2.3.7. Producción

A partir de las variaciones en densidad (Figura 6) y las tasas de crecimiento foliar y rizomático (Figura 11) se ha estimado la producción estacional media durante el periodo de estudio (Figura 19). Al igual que otras variables, el comportamiento temporal de producción estacional mostró notables diferencias entre praderas a lo largo de 1998. Tras el periodo de tormentas de finales de 1997, en el canal central se observó una producción repartida equitativamente entre las fracciones foliar y subterránea, aunque de magnitud muy inferior a la registrada en el caño lateral. En la primavera de ese año, sólo la producción subterránea en el canal central superó los 1.600 gPS m⁻² (más del 25% de la producción total anual estimada en esta zona de la ría). En tan sólo un periodo de 6 meses (primavera y verano), la producción estimada en esta pradera alcanzó valores cercanos al 75% de la producción total en ese año (6300 g PS m⁻²). En el caño lateral, aunque la producción estimada estuvo más equilibrada a lo largo del año, también se observó un máximo primaveral. No obstante, en esta zona de la ría la producción anual no alcanzó los 4600 g PS m⁻², que se estima que produjo la pradera situada en el canal central durante los 6 meses posteriores al periodo de tormentas (primavera-verano).

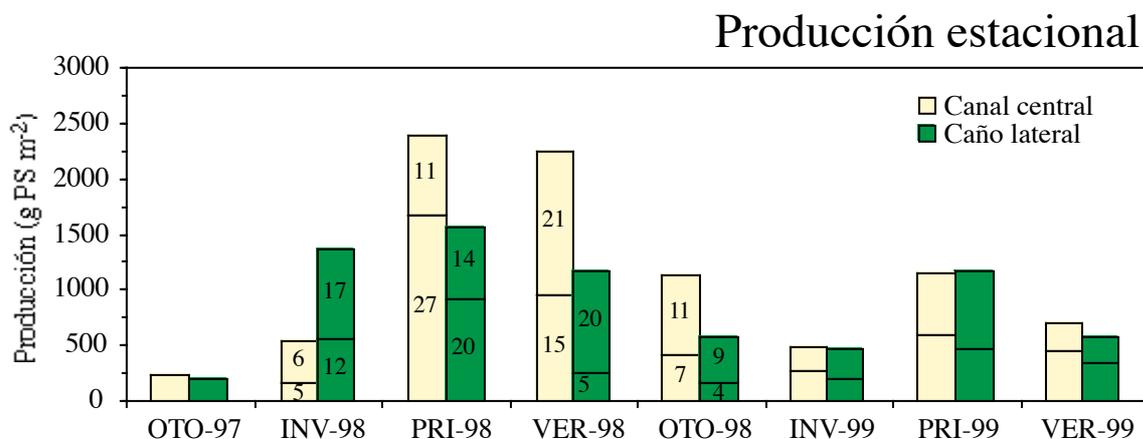


Figura 19. Producción estacional integrada en las dos praderas estudiadas. Cada estación se considera un periodo de 90 días. Cada columna está dividida en dos compartimentos correspondientes a la fracción foliar y a la fracción subterránea (compartimentos superior e inferior respectivamente). Debido a las anomalías observadas durante 1998, en las columnas de dicho año se han reflejado los porcentajes estacionales de cada fracción con respecto a la correspondiente producción anual total de cada pradera.

2.3.8. Fotosíntesis

2.3.8.1. Pigmentos fotosintéticos

En el canal central, el contenido en clorofila mostró un patrón diferente durante los dos ciclos anuales (Figura 20). A lo largo de 1998, el contenido en clorofila presentó valores próximos a $8 \mu\text{g g PS}^{-1}$, con un mínimo invernal y un máximo estival. Por el contrario, en 1999, se observó un incremento generalizado del contenido en clorofila con valores alrededor de $18 \mu\text{g g PS}^{-1}$. En el invierno de dicho año se detectó un máximo relativo, aunque sensiblemente inferior a los $29 \mu\text{g g PS}^{-1}$ registrados en las plantas de esta pradera durante el verano de 1999. Durante todo el periodo de estudio, la relación *cla/clb* permaneció entre 2 y 2,5.

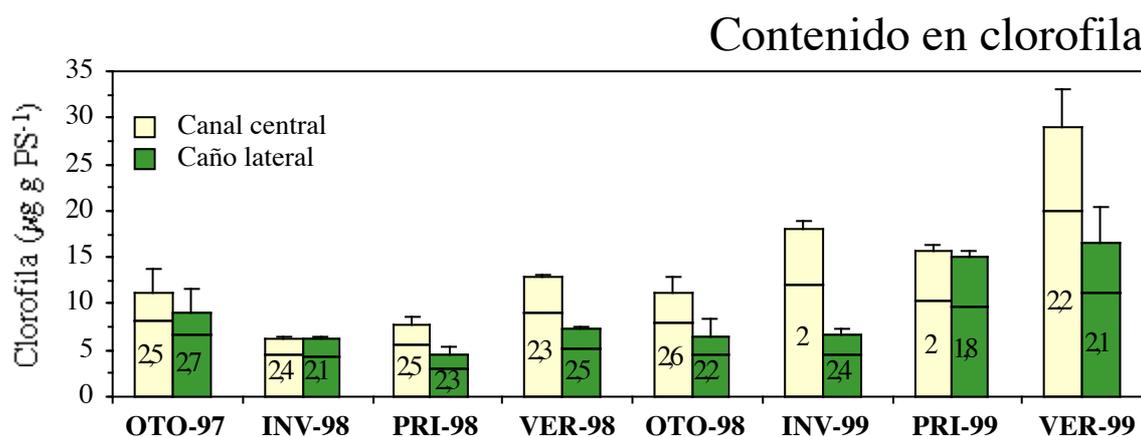


Figura 20. Variación estacional del contenido en clorofila *a* y *b* en los tejidos foliares de *Z. noltii* para las dos praderas estudiadas. El compartimento inferior de cada barra representa el contenido en clorofila *a*, el superior el contenido en clorofila *b* y la altura de la columna el contenido en clorofila total. Los números situados en el compartimento inferior expresan el índice *cla/clb*. Las barras representan el error estándar de la clorofila total.

En el caño lateral también se observaron diferencias interanuales. En invierno de 1998, el contenido en clorofila disminuyó hasta niveles de $1,5 \mu\text{g g PS}^{-1}$. En muestreos posteriores las variaciones temporales no fueron significativas hasta la primavera de 1999 cuando se detectó un aumento significativo en el contenido en clorofila, debido especialmente a un incremento en clorofila *b*. En esta pradera, la relación *cla/clb* también permaneció entre 2 y 2,5.

2.3.8.2. Capacidad fotosintética ($F_{\text{máx}}$)

La dos praderas estudiadas mostraron notables diferencias tanto cuantitativas, como cualitativas en la capacidad fotosintética de sus plantas (Figura 21). Las plantas del canal central mostraron una $F_{\text{máx}}$ significativamente mayor que las plantas del caño lateral (Tabla 1, ver anexo estadístico). A lo largo de 1998, la $F_{\text{máx}}$ de las plantas del canal central mostró poca variabilidad, con valores en torno a $180\text{-}200 \text{ nmol O}_2 \text{ gPS}^{-1} \text{ s}^{-1}$. A finales de dicho año se detectó un gran incremento, alcanzándose durante el año siguiente, aunque con un mínimo primaveral, valores de hasta $1000 \text{ nmol O}_2 \text{ gPS}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Por el contrario, la $F_{\text{máx}}$ de las plantas del caño lateral varió entre $50\text{-}250 \text{ nmol O}_2 \text{ gPS}^{-1} \text{ s}^{-1}$, describiendo un patrón estacional de mínimos primaverales y máximos en otoño-invierno.

2.3.8.3. Eficiencia fotosintética (α)

La eficiencia fotosintética no mostró diferencias significativas entre praderas. Hasta el otoño de 1998, los valores de α permanecieron próximos a $1 \text{ nmol O}_2 \text{ m}^{-2} \mu\text{mol}^{-1} \text{ g PS}^{-1}$, exceptuando un ligero incremento estival (Figura 21). Durante el año 1999 se observó una gran variabilidad entre las réplicas de cada muestra, lo cual enmascaró las posibles diferencias entre praderas.

2.3.8.4. Intensidad de saturación (I_{sat})

En general, las intensidades de saturación mostraron una tendencia muy similar a la descrita para la capacidad fotosintética, debido principalmente a la escasa variabilidad estacional detectada en la eficiencia fotosintética (Figura 21). Durante todo el periodo de estudio, en el canal central las intensidades de saturación fueron mayores o igual a $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, permaneciendo en torno a $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ hasta el otoño de 1998 e incrementándose posteriormente hasta valores de $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. En el caño lateral, las intensidades de saturación fueron mínimas en primavera-verano y máximas en otoño-invierno. Los valores mínimos ($\approx 50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) se estimaron en la primavera de 1998.

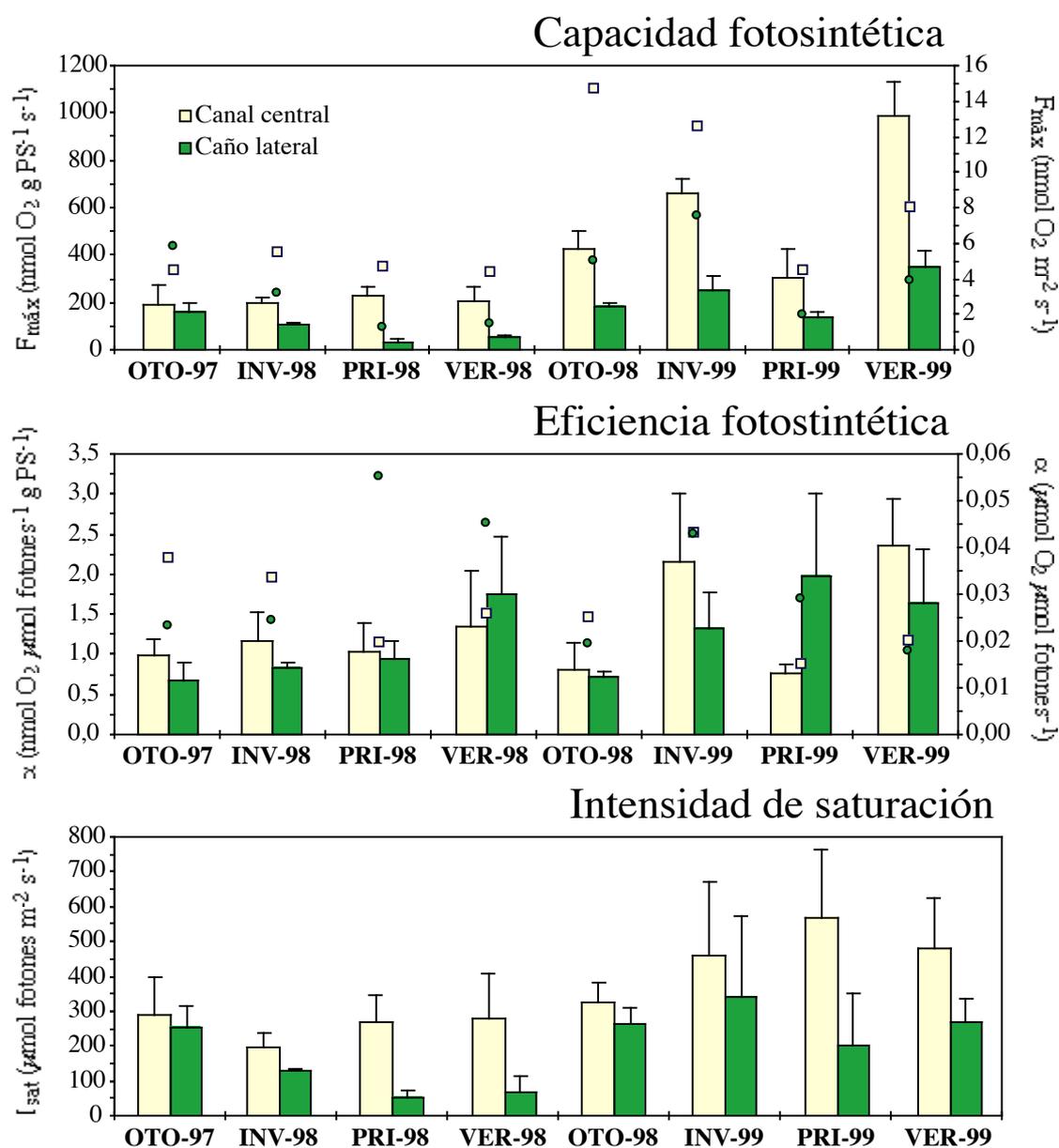


Figura 21. Variación estacional de los parámetros fotosintéticos de *Z. noltii* en las dos praderas estudiadas. En las dos gráficas primeras los cuadrados (canal central) y los círculos (caño lateral) representan los valores estacionales medios de los parámetros en función de la superficie foliar. Las barras representan el error estándar (n=3).

2.4. Discusión

La abundancia y la producción de las fanerógamas marinas de regiones templadas se ha correlacionado frecuentemente con la luz y la temperatura (Hillman *et al* 1989, Olesen y Sand-Jensen 1994, Lee y Dunton 1996). En estas latitudes, la biomasa describe un patrón anual unimodal, con máximos estivales y mínimos invernales (Sand-Jensen 1975, Pérez-Lloréns y Niell 1993, Laugier *et al.* 1999, Brun 1999). No obstante, las diferencias locales en luz y temperatura pueden generar desviaciones de este patrón general. Así, los repetidos episodios de tormentas registrados entre el otoño de 1997 y el invierno de 1998 (Figura 4) frente a la costa de El Algarve pudieron originar el mínimo de biomasa registrado en el canal central de *Ria Formosa* durante la primavera de 1998. Durante este mínimo, las plantas presentaron un porcentaje elevado de biomasa subterránea (60%) y se detectó una presencia significativa de restos vegetales (Figura 5). Debido a la cercanía de la masa oceánica y el alto grado de exposición a sus corrientes (Figura 1), a finales del periodo invernal de 1998 la zona del canal central sufrió un fenómeno esporádico de enterramiento por sedimento arenoso que generó la aparición de zonas desnudadas dentro de la pradera (observación personal). Gracias a la protección natural que ofrece la estructura de canales y caños en la ría, el fenómeno de enterramiento no afectó al caño lateral, donde se detectó un máximo invernal de biomasa superior a 170 g PS m⁻². En esta pradera, los cambios en densidad explicaron más de un 80% de la variabilidad estacional de la biomasa ($p < 0,001$). Este comportamiento ha sido previamente observado en poblaciones de *Z. noltii* (Laugier *et al.* 1999).

La respuesta de las fanerógamas marinas a fenómenos de enterramiento ha sido estudiada en poblaciones submareales (Marbà y Duarte 1995, Vermaat *et al* 1997). En zonas de deposición sedimentaria o movimientos de dunas submarinas, se ha observado que el crecimiento de estas plantas soporta tasas de sedimentación de hasta 5-10 cm por año. En estas situaciones, la supervivencia depende de la ubicación superficial del tejido foliar, es decir, depende de la disponibilidad de luz para realizar la fotosíntesis. En el caso de especies de gran tamaño, como *Enhalus acoroides*, los fenómenos de enterramiento difícilmente afectan a los haces foliares. Sin embargo, para la mayoría de las especies, la

supervivencia depende de la reposición del tejido fotosintético en la columna de agua, ya sea por elongaciones rizomáticas verticales (*Cymodocea nodosa*, *Posidonia oceanica*, *Thalassia testudinum*), como por un crecimiento horizontal del rizoma (*Zostera marina*, *Halophila ovalis*). En estos procesos, el desarrollo vegetativo, o desarrollo clonal, es el mecanismo principal de mantenimiento y expansión de la población. En situaciones de alto dinamismo sedimentario se ha comprobado que únicamente sobreviven especies con una velocidad de colonización elevada (Marbà y Duarte 1995). En el caso del canal central, *Zostera noltii* demostró poseer esa velocidad, reflejada en la respuesta rápida a nivel de biomasa y densidad tras el fenómeno de enterramiento. Un mínimo de biomasa, con un porcentaje elevado de tejido subterráneo, junto a un fuerte incremento de la densidad poblacional (> 100 %, Figura 6) fueron reflejos del cambio morfológico que sufrió esta población.

Actualmente, los cambios morfológicos descritos en praderas monoespecíficas han sido asociados a situaciones de competencia intraespecífica (Creed 1999). Este tipo de competencia es más habitual en especies de pequeño porte. Los módulos vegetales¹ estrechos dificultan los procesos de integración clonal², ya que el trasiego de fluidos depende inversamente del área transversal del conducto (White y Gaufr 1998). En el caso de las plantas del canal central, la variabilidad morfométrica no se pudo asociar a un fenómeno de competencia intraespecífica. La disminución de la longitud foliar (65%, Figura 7) y el aumento de la longitud internodal (70%, Figura 8) se observó tras la aparición de zonas desnudas, donde disminuyeron las posibles limitaciones por luz. Estos cambios morfológicos estuvieron asociados a tasas elevadas de crecimiento (Figura 11) tanto foliar como rizomático (Figuras 12 y 13). La reducción del intervalo de plastocrono (Figura 14) minimizó el tiempo de formación foliar, lo cual originó una aparición acelerada de hojas y entrenudos. El efecto de esta respuesta permitió la recolonización del espacio despoblado en un periodo de 6 meses.

¹ *Módulo vegetal*: Hoja, entrenudo o raíz.

² *Integración clonal*: Interdependencia entre la fisiología, crecimiento y reproducción de haces conectados. La integración clonal implica la transferencia de recursos (agua, gases, nutrientes y otros metabolitos) entre haces unidos por un mismo rizoma (Hartnett y Bazzaz 1983).

La plasticidad fenotípica de *Z. noltii* y su eficiencia en el proceso de recolonización se ajusta a la hipótesis planteada sobre la dependencia entre la talla de las fanerógamas marinas y la dinámica de la especie (Duarte 1991). Esta relación se basa en las diferencias alométricas observadas entre las especies *colonizadoras*, generalmente de talla pequeña y crecimiento rápido (ej. *Halophila ovalis*), y las especies propias de una situación de *clímax*³, que se caracterizan por su gran porte y un crecimiento lento (ej. *Posidonia oceanica*). La notable caída foliar detectada en las plantas del canal central en invierno de 1998 también contribuyó a disminuir las posibilidades de autoensombrecimiento dentro de la pradera. El aumento de luz incidente se tradujo en una disminución del intervalo de plastocrono y en un aumento de las tasas de elongación foliar y rizomática. La respuesta morfométrica detectada en hojas y entrenudos originó un nuevo morfotipo de hojas pequeñas y entrenudos largos que apareció en una situación favorable para el equilibrio entre la demanda de recursos y su incorporación. Así, mientras en el caño lateral se observó una única dependencia inversa entre la biomasa y la longitud internodal (Figura 22), en el canal central se detectaron dos relaciones lineales ajustables, respectivamente, a periodos con una disponibilidad de luz y nutrientes alta (entrenudos largos) o baja (entrenudos cortos).

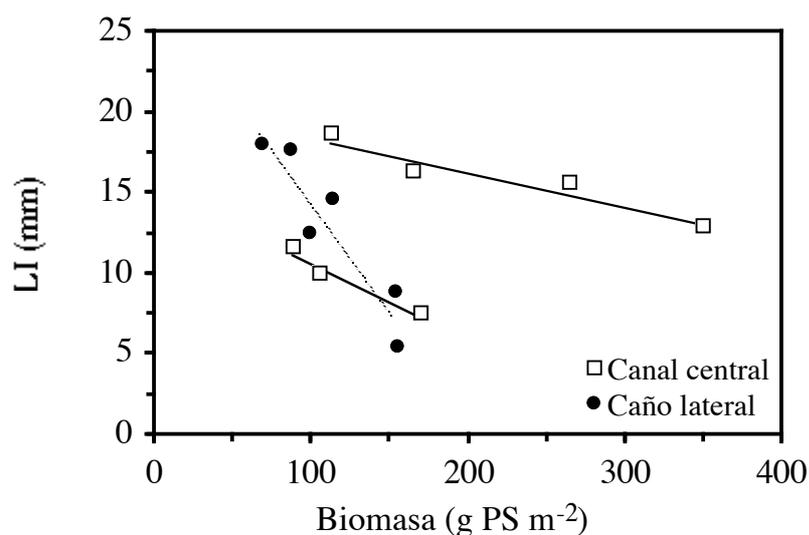


Figura 22. Relación entre la biomasa y la longitud internodal (LI) en las dos praderas estudiadas.

³ *Clímax*: La etapa final de equilibrio en la sucesión geobotánica (Font-Quer, 1977).

La relación inversa entre la luz y la talla foliar es un fenómeno observado en repetidas ocasiones para otras especies (ej. *Z. marina*, Setchell 1929; *Z. japonica*, Harrison 1982). Pérez-Lloréns y Niell (1993) también observaron esta relación en poblaciones intermareales de *Z. noltii*, interpretándose la existencia de un morfotipo de hojas estrechas en zonas del intermareal alto como una adaptación a la emersión. Junto a las diferencias morfológicas también se detectaron diferencias fisiológicas, observándose en las plantas de hojas estrechas una capacidad fotosintética mayor y tasas de fotorrespiración menores. En nuestro estudio, también se detectaron diferencias fotosintéticas entre las plantas del canal central y del caño lateral (Figura 21). A partir de la primavera de 1998, se registraron divergencias en el contenido pigmentario. Junto a la disminución de la longitud foliar se detectó un incremento del contenido pigmentario y de la capacidad fotosintética, afectando a las intensidades de saturación para la fotosíntesis.

En *Zostera marina*, se ha comprobado que más de un 95% de los cloroplastos funcionales se distribuyen en la epidermis del tejido foliar, concentrando en esta parte de la hoja la mayor parte del contenido pigmentario (Mazzella *et al.* 1981). En *Z. noltii* también se ha observado esta ubicación preferente de los cloroplastos funcionales (observación personal). Así, el aumento de pigmentos fotosintéticos por unidad de peso detectado en el canal central pudo estar originado por la reducción de la talla foliar (longitud y anchura, Figura 7), como consecuencia de un aumento de la relación superficie/volumen, afectando de forma similar a los parámetros fotosintéticos de la planta. Este comportamiento explicaría la relación negativa detectada entre la anchura foliar y la capacidad fotosintética de estas plantas (Figura 23). A pesar de la escasa precisión en la medida, la variación de la anchura foliar en plantas del canal central explicó un 70 % de la variabilidad de su capacidad fotosintética ($p < 0,001$). Por el contrario, esta relación no se detectó en plantas del caño lateral, donde la talla de las plantas no mostró una gran variabilidad. En el caño lateral, las hojas difícilmente registraron anchuras inferiores a 2 mm y la capacidad fotosintética raramente superó los 400 nmol O₂ gPS s⁻¹. Entre otras especies con marcadas diferencias morfométricas, como *C. nodosa* y *P. oceanica*, también se ha observado una capacidad fotosintética superior en especies de menor dimensión foliar (Invers *et al.* 1999). Estas mismas diferencias se han detectado entre macrófitos oportunistas del género *Ulva*, cuyos talos están formados por una bicapa celular. Al comparar entre dos especies con

células de diferente volumen, la especie de células menores, y por lo tanto con un talo de espesor menor, mostró una capacidad fotosintética mayor (Pérez-Lloréns *et al.* 1996).

En su trabajo sobre la morfología de las plantas y la estructura de las praderas de *Z. marina*, Short (1983) detectó una relación directa entre la talla de los módulos estructurales (hojas, entrenudos y raíces) y la disponibilidad de amonio en el agua intersticial. La relación entre la anchura foliar de esta especie y la naturaleza arenosa del sedimento ha sido un fenómeno descrito desde los primeros trabajos realizados sobre las praderas de fanerógamas marinas (Ostenfeld 1908, Setchell 1929). En estos trabajos se relaciona la talla de la planta con la disponibilidad de nitrógeno en sedimento, sugiriendo que los cambios morfológicos de estas poblaciones están originados por situaciones de crecimiento limitado.

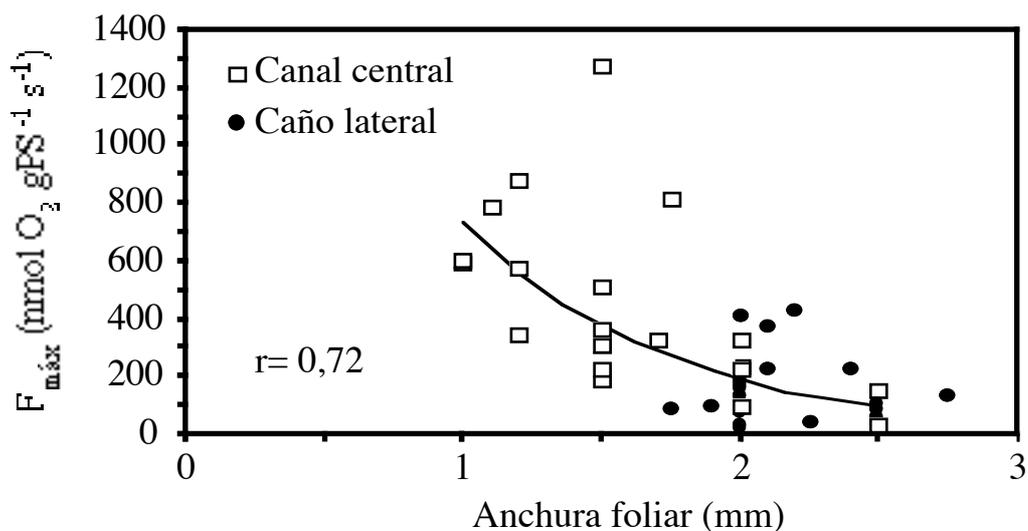


Figura 23. Correlación entre la anchura foliar y la capacidad fotosintética en las dos praderas estudiadas. El ajuste y el coeficiente de correlación corresponden a los datos del canal central (n=23).

A pesar de poblar sistemas oligotróficos, las fanerógamas marinas han desarrollado pocos mecanismos para la conservación de nutrientes dentro de la pradera. Las situaciones de crecimiento limitado por nutrientes han sido recogidas en numerosos estudios (Short *et al.* 1985; Powell *et al.* 1989, Alcoverro *et al.* 1997). Si bien es cierto que poseen la capacidad de reabsorber nutrientes desde las hojas maduras, reduciendo así la demanda de nutrientes externos (Borum *et al.* 1989), también ocurre que la eficiencia de este

mecanismo depende notablemente de la esperanza de vida foliar (Hemminga *et al* 1999). La eficiencia de reabsorción disminuye en especies con una producción subterránea elevada y con la pérdida prematura del tejido foliar (Stapel y Hemminga 1997) y *Zostera noltii* posee ambas características. El dinamismo elevado de estas poblaciones (tasas de pérdida y de renovación altas) y la notable producción subterránea minimizan las posibilidades de conservación de nutrientes mediante esta ruta. No obstante, la naturaleza lábil de los tejidos de *Z. noltii* y sus tasas de pérdida elevadas permiten un reciclado rápido y eficiente de estos nutrientes, cuya incorporación ofrece una ruta alternativa para la conservación de nutrientes dentro del sistema.

En el caso particular de la pradera del canal central, el contenido elevado de nitrógeno foliar descartó la posibilidad de un crecimiento limitado por nitrógeno. Durante los periodos de crecimiento máximo (primavera y verano de 1998), el contenido en los tejidos subterráneos llegó a presentar valores inferiores al 1% PS (considerado crítico para los tejidos subterráneos, Pedersen y Borum 1993). Sin embargo, en función de los porcentajes bajos de C y las tasas elevadas de elongación internodal, dichos mínimos se atribuyeron a procesos de dilución por crecimiento (Stocker 1980). En las plantas del caño lateral también se observaron mínimos de nitrógeno interno en la primavera de 1998. No obstante, para esta población sí se consideró posible una disponibilidad limitada de N, explicándose las tasas de crecimiento elevadas mediante el consumo de las reservas acumuladas durante el invierno anterior (Kraemer y Mazzella 1999). Este comportamiento explicaría la disminución de crecimiento en términos de nitrógeno y el reducido incremento de producción, a pesar del notable incremento observado en otros puntos de la ría (canal central, Figura 19).

A pesar de la importancia reconocida del sistema subterráneo de las fanerógamas marinas (McRoy y Barsdate 1970, Duarte y Sand-Jensen 1990, Duarte *et al.* 1998), todavía existe poca información sobre la biomasa y la producción de esta fracción vegetal (Duarte y Chiscano 1999). Las cifras son aún más escasas cuando se intenta recabar información sobre la fracción radicular. Las dificultades metodológicas parecen ser la causa principal de este desequilibrio de publicaciones (Dennison 1990). Sin embargo, en especies con una producción subterránea importante, como en *Z. noltii*, sería necesario superar dichas

dificultades, ya que sólo la producción de tejido rizomático puede superar el 30% de la producción anual (Duarte *et al.* 1998, Brun 1999).

Tras los fenómenos de enterramiento sufridos en el canal central, el periodo de recuperación de la población comenzó con una respuesta llamativa de la fracción subterránea. En la primavera de 1998, la tasa de crecimiento en peso de los tejidos subterráneos llegó a superar el 70 % del crecimiento total de la planta, generando más de un 25% de la producción anual total estimada en esa población. En esta primera fase, que hemos considerado de ocupación, las tasas elevadas de elongación y de aparición internodal (5 mm d^{-1} y $> 0,3$ entrenudos d^{-1} , respectivamente) permitieron cubrir rápidamente las zonas desnudas dentro de la pradera con entrenudos de gran longitud (2 cm). El aumento del fotoperiodo y la temperatura propios de la primavera pudo haber estimulado la disminución del intervalo de plastocrono (Jame *et al.* 1998). No obstante, el desfase observado durante 1998 entre las plantas de ambas praderas para esta variable pudo estar relacionado con las variaciones externas no estacionales. El mínimo de intervalo de plastocrono, prolongado hasta el verano de 1998, facilitó la distribución de la producción entre las fracciones foliares y subterráneas de las plantas del canal central, permitiendo una ocupación máxima del espacio. El aumento primaveral de producción generó un máximo de biomasa estival con un 63% de biomasa subterránea. A pesar de los costes bajos de mantenimiento que generan los tejidos subterráneos, con tasas de respiración por unidad de peso 3 veces inferiores que las del tejido foliar (Hemminga 1998), este desequilibrio de biomasa pudo provocar una gran disminución de la producción fotosintética con respecto a los costes de mantenimiento. Esta situación sería arriesgada para la población en condiciones de baja irradiancia (Hemminga 1998). Sin embargo, el proceso de recuperación se desarrolló durante las estaciones de primavera y verano, facilitando el suministro de luz para una respuesta acelerada de la población.

En una segunda etapa de este proceso de recuperación (etapa de expansión), la producción de tejidos, aún elevada, favoreció el crecimiento foliar, observándose para el otoño una equivalencia de biomasa foliar y subterránea. En esta fase también se observó un notable incremento de crecimiento radicular llegando a estimarse tasas máximas de aparición radicular con valores de $0,8$ raíces d^{-1} . La naturaleza efímera de los tejidos subterráneos en *Z. noltii* (Duarte 1991) proporciona una entrada importante de materia

orgánica en los primeros centímetros del sedimento la cual, gracias a la importante comunidad bacteriana asociada a estas poblaciones (Donnelly y Herbert 1999), podría ser rápidamente reciclada suministrando una parte importante de los requerimientos nutricionales (Welsh *et al.* 1996). En praderas de *Z. marina*, el balance entre el reclutamiento y la mortalidad de haces se ha descrito como un mecanismo de regulación de la población (Olesen y Sand-Jensen 1994). En especies tan productivas como *Z. noltii*, la naturaleza efímera y lábil de sus tejidos permite un reciclado rápido de nutrientes que ayuda a mantener una dinámica rápida de la población con unas producciones anuales muy elevadas.

Todos los fenómenos descritos hasta el momento se basan en la suposición de que las plantas, especialmente las del canal central, están sometidas a un régimen de luz no limitante para el crecimiento. En las dos poblaciones estudiadas, la ubicación intermareal somete diariamente a las plantas a un estrés adicional por efectos de emersión (temperatura y desecación, Pérez-Lloréns *et al.* 1994). No obstante, dichos periodos de emersión también permiten una elevada disponibilidad de luz. Estas condiciones ofrecen una ventaja frente a los procesos de eutrofización, ya que la luz es uno de los recursos más influenciados indirectamente (EUMAC 1994) y su disponibilidad es indispensable para utilizar eficientemente otros recursos.

Comparando el comportamiento de la pradera situada en el caño lateral con la situada en el canal central, podríamos concluir que el patrón armónico de las variables externas durante los ciclos estacionales permite un acoplamiento temporal de las variables biológicas de *Zostera noltii* que se traducen en la estabilidad morfológica de la población. Por el contrario los trastornos aleatorios en la disponibilidad de recursos externos, especialmente de la luz, pueden generar respuestas desfasadas entre las variables biológicas como el intervalo de plastocrono y la tasa de crecimiento, que se manifiestan a través de las variaciones morfométricas a nivel de población.

Apéndice estadístico

Este anexo resume el resultado de las comparaciones *a posteriori* realizadas en las variables donde se detecta un efecto significativo de las fuente de variación (Tabla 1). Como en casos anteriores, las comparaciones con resultados significativos se indican mediante el uso de asteriscos en la celda correspondiente. El uso de 1 ó 2 asteriscos depende de la probabilidad de la prueba siendo (*): $p < 0,05$ y (**): $p < 0,001$.

Las fuentes de variación en todos los casos son:

- **(1):** *la ubicación de la pradera.* Esta fuente de variación (o tratamiento) contempla dos niveles, **CL** (caño lateral) y **CC** (canal central).
- **(2):** *la estación del año.* Esta fuente de variación recoge de 7 a 8 niveles debido a la falta de resultados para algunas variables en el nivel de otoño de 1997.

Biomasa

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■															**
CL	inv-98	2		■														*
CL	pri-98	3			■													*
CL	ver-98	4				■												*
CL	oto-98	5					■							*				**
CL	inv-99	6						■						*				**
CL	pri-99	7							■									*
CL	ver-99	8								■								*
CC	oto-97	9									■							
CC	inv-98	10										■						*
CC	pri-98	11											■					*
CC	ver-98	12					*	*						■				*
CC	oto-98	13													■			*
CC	inv-99	14														■		**
CC	pri-99	15															■	*
CC	ver-99	16	**		*	*	**	**	*	*		*	*		*	**	*	■

Densidad de haces foliares

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■															
CL	inv-98	2		■														
CL	pri-98	3			■													
CL	ver-98	4				■												
CL	oto-98	5					■											
CL	inv-99	6						■						*			*	*
CL	pri-99	7							■									
CL	ver-99	8								■								
CC	oto-97	9									■							
CC	inv-98	10										■						
CC	pri-98	11											■					
CC	ver-98	12						*						■				
CC	oto-98	13													■			
CC	inv-99	14														■		
CC	pri-99	15						*									■	
CC	ver-99	16						*										■

Longitud foliar

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■		*		*		**				**	**	**	**	**	**
CL	inv-98	2		■					**				**	**	**	**	**	**
CL	pri-98	3	*		■						*	*	*			**	**	
CL	ver-98	4				■			*			*	**	*	**	**	**	*
CL	oto-98	5	*				■				*	**	**		*	**	**	
CL	inv-99	6						■	**				**		**	**	**	**
CL	pri-99	7	**	**		*		**	■		**	**					*	
CL	ver-99	8								■	*	**	*			**	**	
CC	oto-97	9			*		*		**	*	■		**	**	**	**	**	**
CC	inv-98	10			**	*	**		**	**		■	**	**	**	**	**	**
CC	pri-98	11	**	**	*	**	**	**		*	**	**	■					
CC	ver-98	12	**	**		*		**			**	**		■				
CC	oto-98	13	**	**		**	*	**			**	**			■			
CC	inv-99	14	**	**	**	**	**	**		**	**	**				■		
CC	pri-99	15	**	**	**	**	**	**	*	**	**	**					■	
CC	ver-99	16	**	**		*		**			**	**						■

Longitud internodal

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1	■		**				**	*				*	*	
CL	pri-98	2		■	**											
CL	ver-98	3	**	**	■	**	**	**			**	**	**	*		
CL	oto-98	4			**	■			*							
CL	inv-99	5			**		■		*						*	
CL	pri-99	6			**			■								
CL	ver-99	7	**			*	*		■		*					
CC	inv-98	8	*							■						
CC	pri-98	9			**				*		■				*	
CC	ver-98	10			**							■				
CC	oto-98	11			**								■			
CC	inv-99	12	*		*									■		
CC	pri-99	13	*			*	*				*				■	
CC	ver-99	14														■

Carbono foliar

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■								*							
CL	inv-98	2		■							**							
CL	pri-98	3			■						*							
CL	ver-98	4				■					*							
CL	oto-98	5					■				*							
CL	inv-99	6						■			*							
CL	pri-99	7							■		*							
CL	ver-99	8								■	*							
CC	oto-97	9	*	**	*	*	*		*		■	**	*	*	**	*	*	**
CC	inv-98	10									**	■						
CC	pri-98	11									*		■					
CC	ver-98	12									*			■				
CC	oto-98	13									**				■			
CC	inv-99	14									*					■		
CC	pri-99	15									*						■	
CC	ver-99	16									**							■

Nitrógeno foliar

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■		**				*	*						*	*	
CL	inv-98	2		■	**				*	*						*	*	
CL	pri-98	3	**	**	■	*	*	**	*	*	**	**	**	**	**	**	*	**
CL	ver-98	4			*	■						*			**	**		
CL	oto-98	5			*		■					*			**	**		
CL	inv-99	6			**			■								*		
CL	pri-99	7	*	*	*				■		*	**			**	*		
CL	ver-99	8	*	*	*					■	*	**			**	**		
CC	oto-97	9			**				*	*	■					*	*	
CC	inv-98	10			**	*	*		**	**		■		*			**	*
CC	pri-98	11			**								■		*	**		
CC	ver-98	12			**							*		■	*	**		
CC	oto-98	13			**	**	**		**	**			*	*	■		**	*
CC	inv-99	14	*	*	**	**	**	*	**	**	*		**	**		■	**	**
CC	pri-99	15	*	*	*						*	**			**	**	■	
CC	ver-99	16			**							*			*	**		■

Índice C:N foliar

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■		**				*								*	
CL	inv-98	2		■	**				*	*							*	
CL	pri-98	3	**	**	■	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
CL	ver-98	4			**	■					*				*	*		
CL	oto-98	5			**		■				*				*	**		
CL	inv-99	6			**			■										
CL	pri-99	7	*		**				■		**	*			*	*		
CL	ver-99	8			**					■	*	*			*	*		
CC	oto-97	9			**	*	*		**	*	■						**	*
CC	inv-98	10			**				*	*		■					*	
CC	pri-98	11			**								■		*			
CC	ver-98	12			**									■	*			
CC	oto-98	13			**	*	*		*	*			*	*	■		**	*
CC	inv-99	14	*	*	**	*	**	*	**	**	*		*	*		■		
CC	pri-99	15	*	*	**			*			**	*			**	**	■	
CC	ver-99	16			**						*				*			■

Carbono en tejidos subterráneos

Fuente de variación 1

	CL	CC
CL		*
CC	*	

Fuente de variación 2

	casos	1	2	3	4	5	6	7
inv-98	1		*	*				*
pri-98	2	*						
ver-98	3	*						
oto-98	4							
inv-99	5							
pri-99	6							
ver-99	7	*						

Nitrógeno en tejidos subterráneos

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1		*			**							*		
CL	pri-98	2	*				**							**		
CL	ver-98	3					**							**		
CL	oto-98	4					**	*	**	**	**	**	**	**		
CL	inv-99	5	**	**	**	**					**	**			**	
CL	pri-99	6		**			*								*	
CL	ver-99	7					**							**		
CC	inv-98	8					**							**		
CC	pri-98	9					**	**						**		
CC	ver-98	10					**	**						**		
CC	oto-98	11					**							**		
CC	inv-99	12	*	**	**	**			**	**	**	**	**		**	**
CC	pri-99	13					**	*						**		
CC	ver-99	14					**							**		

Índice C:N subterráneo

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1	■	**			*							*		
CL	pri-98	2	**	■	**	**	**	**	**	**	*	*	**	**	**	**
CL	ver-98	3		**	■		*							*		
CL	oto-98	4		**		■	**							**		
CL	inv-99	5	*	**	*	**	■		*	*	**	**	*		*	
CL	pri-99	6		**				■			*	**				
CL	ver-99	7		**			*		■					*		
CC	inv-98	8		**			*			■				**		
CC	pri-98	9		*			**	*			■			**		*
CC	ver-98	10	*	*			**	**				■		**		*
CC	oto-98	11		**			*						■	*		
CC	inv-99	12	*	**	*	**			*	*	**	**	*	■	**	
CC	pri-99	13		**			*							**	■	
CC	ver-99	14		**							*	*				■

Tasa de elongación foliar (TEF)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■	*	*	*	**		*				*	**	*			
CL	inv-98	2	*	■														
CL	pri-98	3	*		■						*					*		
CL	ver-98	4	*			■					*					*		
CL	oto-98	5	**				■				*					*		
CL	inv-99	6						■										
CL	pri-99	7	*						■									
CL	ver-99	8								■								
CC	oto-97	9			*	*	*				■			**				
CC	inv-98	10										■		*				
CC	pri-98	11	*										■			*		
CC	ver-98	12	**								**			■		**		
CC	oto-98	13	*								*				■	*		
CC	inv-99	14			*	*	*					*	**	*		■		
CC	pri-99	15															■	
CC	ver-99	16																■

Tasa de aparición foliar (TAF)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1	■													
CL	pri-98	2		■												
CL	ver-98	3			■											
CL	oto-98	4				■										
CL	inv-99	5					■				*	*	*			
CL	pri-99	6						■								
CL	ver-99	7							■							
CC	inv-98	8								■	*	*				
CC	pri-98	9					*			*	■					*
CC	ver-98	10	*		*		*			*		■				*
CC	oto-98	11					*						■			
CC	inv-99	12												■		
CC	pri-99	13													■	*
CC	ver-99	14									*	*			*	■

Intervalo de plastocrono (IP)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1	■									*				
CL	pri-98	2		■			**									
CL	ver-98	3			■						*	*				
CL	oto-98	4				■					**	**				
CL	inv-99	5		**			■				**	**	*			
CL	pri-99	6						■			**	**				
CL	ver-99	7							■			*				
CC	inv-98	8								■	**	**				
CC	pri-98	9			*	**	**	**	*	**	■		*	**		
CC	ver-98	10	*		*	**	**	**	*	**		■	*	**		*
CC	oto-98	11					*				*	*	■			
CC	inv-99	12									**	*		■		
CC	pri-99	13													■	
CC	ver-99	14										*				■

Tasa de renovación foliar en longitud (TRF_E)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■	*	**	**	**	*	**	**		*	**	**	**	**	**	
CL	inv-98	2	*	■							*		**	*	**		*	
CL	pri-98	3	**		■						*		**		*		*	
CL	ver-98	4	**			■					*		**	*	**		*	
CL	oto-98	5	**				■				**		*					
CL	inv-99	6						■					**	**	**		**	
CL	pri-99	7	*						■		**		*					
CL	ver-99	8	*							■	**							
CC	oto-97	9		*	**	*	**		**	**	■		**	**	**	**	**	**
CC	inv-98	10	*									■	**	**	**		**	
CC	pri-98	11	*	**	**	**	*	**	*		**	**	■			*		
CC	ver-98	12	**	*		*		**			**	**		■				
CC	oto-98	13	**	**	*	**		**			**	**			■			
CC	inv-99	14	**								**		*			■	*	
CC	pri-99	15	**	*	*	*		**			**	**				*	■	
CC	ver-99	16																■

Tasa de renovación foliar en número (TRF_A)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1	■													
CL	pri-98	2		■												
CL	ver-98	3			■						*					
CL	oto-98	4				■										
CL	inv-99	5					■				*					
CL	pri-99	6						■								
CL	ver-99	7							■							
CC	inv-98	8			*		*			■						
CC	pri-98	9									■					
CC	ver-98	10										■				
CC	oto-98	11											■			
CC	inv-99	12												■		
CC	pri-99	13													■	
CC	ver-99	14														■

Tasas de pérdida foliar en longitud (TPF_E)

	casos	1	2	3	4	5	6	7
inv-98	1	■	*		*	*	*	
pri-98	2	*	■					
ver-98	3			■				
oto-98	4	*			■			
inv-99	5	*				■		
pri-99	6	*					■	
ver-99	7							■

Tasas de pérdida foliar en número (TPF_A)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1	■							*						
CL	pri-98	2		■						*						
CL	ver-98	3			■											
CL	oto-98	4				■										
CL	inv-99	5					■			*						
CL	pri-99	6						■								
CL	ver-99	7							■							
CC	inv-98	8	*	*			*			■	*	*	*			
CC	pri-98	9								*	■					
CC	ver-98	10								*		■				
CC	oto-98	11								*			■			
CC	inv-99	12												■		
CC	pri-99	13													■	
CC	ver-99	14														■

Tasa de elongación internodal (TEI)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1	■					*			**	**				*
CL	pri-98	2		■												
CL	ver-98	3			■			*			**	**				
CL	oto-98	4				■		*			*	*				
CL	inv-99	5					■	**			**	**				
CL	pri-99	6	*		*	*	**	■						*		
CL	ver-99	7							■							
CC	inv-98	8								■	*	*				
CC	pri-98	9	**		**	*	**			*	■			**		
CC	ver-98	10	**		**	*	**			*		■		**		
CC	oto-98	11											■			
CC	inv-99	12						*			**	**		■		
CC	pri-99	13	*												■	
CC	ver-99	14														■

Tasa de aparición internodal (TAI)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CL	inv-98	1	■		*						*					
CL	pri-98	2		■	**											
CL	ver-98	3	*	**	■	**	*	**			**	**	**	*		
CL	oto-98	4			**	■					*					
CL	inv-99	5			*		■				**					
CL	pri-99	6			**			■			**					
CL	ver-99	7							■		**	*				
CC	inv-98	8								■	**	*				
CC	pri-98	9	*		**	*	**	**	**	**	■			**		
CC	ver-98	10			**				*	*		■				
CC	oto-98	11			**								■			
CC	inv-99	12			*						**			■		
CC	pri-99	13													■	
CC	ver-99	14														■

Contenido en clorofila total

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■		*											*		**
CL	inv-98	2		■					**	**				*		**	**	**
CL	pri-98	3	*		■				**	**	**			**	**	**	**	**
CL	ver-98	4				■			*	*						**	*	**
CL	oto-98	5					■		*	**				*		**	**	**
CL	inv-99	6						■	*	**				*		**	**	**
CL	pri-99	7		**	**	*	*	*	■			*	*					**
CL	ver-99	8		**	**	*	**	**		■		**	*					*
CC	oto-97	9			**						■					**		
CC	inv-98	10							*	**		■		*		**	**	**
CC	pri-98	11							*				■				*	**
CC	ver-98	12		*	**		*	*				*		■				**
CC	oto-98	13			**										■			**
CC	inv-99	14	*	**	**	**	**	**				**	*			■		*
CC	pri-99	15		**	**	*	**	**				**	*				■	**
CC	ver-99	16	**	**	**	**	**	**	*		**	**	**	*	**			■

Capacidad fotosintética (por unidad de peso seco)

1	2	casos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
CL	oto-97	1	■													**		**
CL	inv-98	2		■											*	**		**
CL	pri-98	3			■										*	**		**
CL	ver-98	4				■									*	**	*	**
CL	oto-98	5					■									**		**
CL	inv-99	6						■								*		**
CL	pri-99	7							■							**		**
CL	ver-99	8								■								**
CC	oto-97	9									■					*		**
CC	inv-98	10										■				**		**
CC	pri-98	11											■			*		**
CC	ver-98	12												■		**		**
CC	oto-98	13		*	*	*									■			**
CC	inv-99	14	**	**	**	**	**	**	*	**		*	**	*	**	■		*
CC	pri-99	15								*							■	**
CC	ver-99	16	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	■

Capacidad fotosintética (por unidad de superficie)

Fuente de variación 2

	casos	1	2	3	4	5	6	7	8
oto-97	1								
inv-98	2								
pri-98	3					*	**		
ver-98	4					*	**		
oto-98	5			*	*			*	
inv-99	6			**	**			*	
pri-99	7					*	*		
ver-99	8								

Intensidad de saturación

Fuente de variación 1:

	CL	CC
CL		*
CC	*	

Capítulo 3

Desarrollo de un medio bifásico para la propagación vegetativa de *Zostera noltii* Hornem.

Peralta G, Pérez-Lloréns JL, Brun F, Hernández I, Vergara JJ (2000) Vegetative propagation of *Zostera noltii* Hornem in a biphasic medium Implications for ecophysiological experiments. *Biologia Marina Mediterranea* 7 (2): 111-114

3.1. Introducción

En los últimos años, la regresión de numerosas praderas de fanerógamas marinas ha fomentado el cultivo de algunas de estas especies bajo condiciones controladas de laboratorio (Bird y Jewett-Smith 1994; Balestri *et al.* 1998). El desarrollo de una técnica de crecimiento *in vitro* es una herramienta muy útil para estudiar la respuesta de estas plantas ante cambios ambientales. El conocimiento previo de las posibles respuestas ante estímulos externos es un primer paso para cultivar y clonar organismos más resistentes y productivos. La producción controlada de fanerógamas marinas se convertiría en una solución para las técnicas de restauración de las praderas ya que actualmente un importante número de técnicas se basan en la extracción de plantas de una pradera donante, con el consecuente impacto que implica para ésta.

Para la mayoría de la especies de fanerógamas marinas, la falta de un medio de cultivo apropiado impide o dificulta el crecimiento bajo condiciones de laboratorio. Estudios recientes han demostrado que, para algunas especies, los medios bifásicos dan mejores resultados que los medios de una sola fase (Loquès *et al.* 1990 para *Posidonia oceanica*; Bird y Jewett-Smith 1994 para *Halophila engelmannii*; Bird *et al.* 1998, para *Halophila decipiens*), e incluso, algunas de estas especies no tienen capacidad para crecer en medios totalmente líquidos (*H. engelmannii* y *H. decipiens*; Bird *et al.* 1998). *Posidonia oceanica*, *H. engelmannii* y *H. decipiens* muestran una buena respuesta de crecimiento cuando se utiliza, para raíces y rizomas, una capa de carbono activo solidificado con agar, aunque cada una tiene sus propios requerimientos nutricionales, hormonales y vitamínicos (Loquès *et al.* 1990; Bird *et al.* 1998).

Otro método desarrollado con éxito ha sido la germinación y propagación *in vitro* de semillas de fanerógamas marinas (Balestri *et al.* 1998; Bird *et al.* 1998). Desafortunadamente, este método es poco útil cuando el ciclo de reproducción sexual de la especie es impredecible y de dudosa viabilidad. Para estas especies la supervivencia de la población depende casi exclusivamente de la propagación clonal (Marbà y Walker 1999).

En esta situación se encuentran las praderas de *Zostera noltii* cuya producción de flores es infrecuente y escasa (Marbà *et al* 1996, Brun 1999).

Actualmente, los estudios de fanerógamas marinas en laboratorio se desarrollan durante periodos experimentales del orden de meses (Short *et al.* 1995; van Katwijk *et al.* 1998). Dada la escasa bibliografía que existe en especies de porte pequeño, dicha escala temporal parece tener su origen en el estudio de especies grandes con reservas nutricionales elevadas y tasas de crecimiento lentas (Duarte 1991). Duarte (1999), basándose en una revisión bibliográfica de los últimos años (1989-1997), mostró el desequilibrio de la producción científica en el campo de las fanerógamas marinas. Un 35 % de los artículos publicados se centraron en tan sólo 3 especies de gran porte (*Thalassia testudinum*, *P. oceanica* y *Z. marina*). Únicamente un 12 % de la investigación incluyó trabajos de laboratorio. La escasa producción bibliográfica sobre fanerógamas marinas de pequeño porte es comprensible teniendo en cuenta las dificultades de su manejo. Aunque si bien es cierto que la fragilidad de estas especies dificultan su manipulación, no es menos cierto que pueden mostrar una respuesta más rápida en estudios ecofisiológicos.

En este capítulo, los objetivos fueron 1) estudiar la posibilidad de propagar haces vegetativos de *Z. noltii* en un medio artificial y 2) definir el intervalo temporal mínimo para obtener efectos significativos de un tratamiento experimental en las tasas de crecimiento de *Z. noltii*.

3.2. Material y métodos

3.2.1. Recolección de plantas

Para la realización de este experimento se recolectaron plantas de *Z. noltii* de una pradera donante monoespecífica situada en el intermareal de la marisma de los Toruños (bahía de Cádiz) (para una mayor descripción de la zona ver Brun 1999). Las plantas, todas ellas de similar estado de desarrollo, se recolectaron entre julio y agosto de 1998, aprovechando los periodos de bajamar.

3.2.2. Medio de cultivo

Como medio de cultivo se empleó agua de mar filtrada (salinidad 37) sin enriquecer. La propagación de haces vegetativos se realizó en un medio bifásico, después de intentos fallidos en medios monofásicos líquidos (datos no mostrados).

Una primera fase de este medio se solidificó con la adición de un 2 % (peso/volumen) de agar al agua de mar. Las unidades vegetales se plantaron unos segundos previos a la solidificación. Esta fase actuó a modo de sustrato para el desarrollo de la fracción subterránea de las plantas (rizoma y raíces). Sobre la fase sólida, se dispuso una segunda fase líquida de agua de mar filtrada.

3.2.3. Unidades vegetales

Para la propagación de las plantas se seleccionaron regiones axiales apicales (capítulo 1, Figuras 1 y 2), limpias y sin daños físicos. A efectos experimentales, se tomó inicialmente como unidad vegetal los 2 entrenudos más cercanos al meristemo apical primario con sus correspondientes hojas y raíces.

3.2.4. Diseños experimentales

Para probar la viabilidad del medio de propagación, se estimaron tasas de crecimiento en *Z. noltii* bajo distintas condiciones experimentales. Estas tasas se compararon con tasas de crecimiento *in situ* estimadas en la pradera donante durante el periodo experimental.

Los diseños experimentales fueron:

3.2.4.1. DISEÑO 1: Crecimiento de *Z. noltii* en medio bifásico bajo condiciones controladas

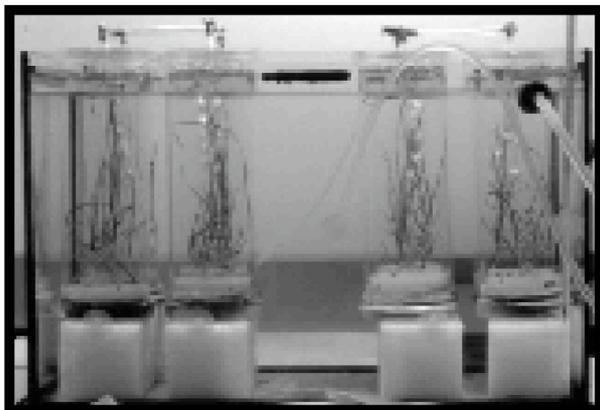
Se cultivaron grupos de 4 plantas en cámaras cilíndricas de plexiglás® (8 cm de diámetro y 24 cm de altura). En cada cámara, el medio de cultivo constó de una fase sólida de 3 cm de altura y una fase líquida de 900 ml (18 cm de altura). Para prevenir la falta de nutrientes y el crecimiento excesivo de microorganismos, se mantuvo un burbujeo de aire continuo y se renovó la fase líquida cada 2 días. Para controlar la temperatura, los cilindros se sumergieron en un acuario con agua destilada. Este agua circuló a flujo constante entre el acuario y un sistema de refrigeración (Figura 1).

Las plantas se cultivaron durante 16 días a una intensidad de $150 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y una temperatura de $18,5 \text{ }^\circ\text{C}$. La luz se suministró con tubos fluorescentes (Philips TL20W/54RS) y se simuló un fotoperiodo de 12:12 horas.

3.2.4.2. DISEÑO 2: Crecimiento de *Z. noltii* en medio bifásico bajo condiciones semicontroladas

Para obtener un suministro de luz natural, un diseño experimental similar al anterior se situó en el tejado del Centro Andaluz de Estudios Marinos (CASEM, Cádiz). Las incubaciones se mantuvieron durante 10 días en la primera quincena de agosto de 1998. Ocasionalmente y a pesar del sistema de refrigeración, en horas de máxima insolación llegaron a registrarse temperaturas ligeramente superiores a 35°C .

Diseño 1



Diseño 2



Diseño 3

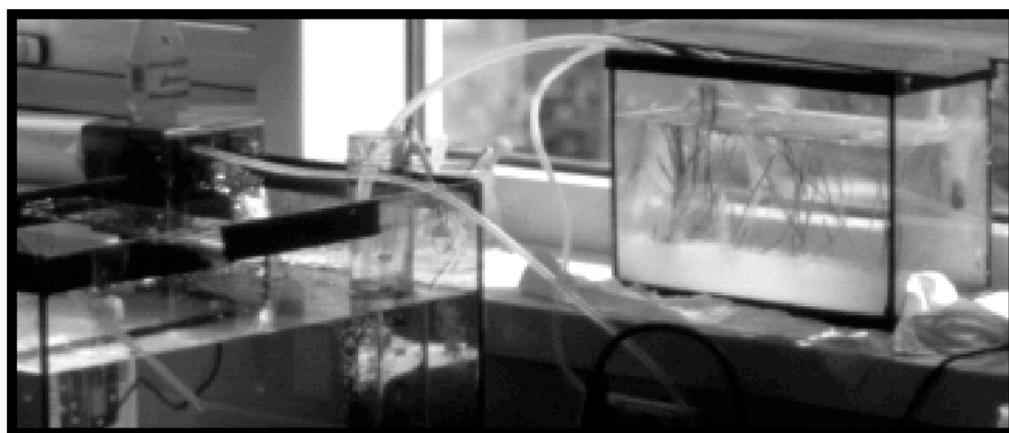


Figura 1. Diseños experimentales. Para mayor detalle de los diseños 1 y 2 ver capítulo 4, Figura 1.

3.2.4.3. DISEÑO 3: Mantenimiento de *Z. noltii* en medio bifásico bajo condiciones no controladas

En un tercer experimento se estudió la supervivencia de *Z. noltii* en medio bifásico durante periodos más prolongados. En este caso, el medio de cultivo se desarrolló en un acuario de 9 litros. En el fondo del acuario se extendió una fase sólida con 4 cm de altura y una fase líquida de 7 litros (16 cm de altura). Se instaló un sistema de burbujeo y flujo constante de agua para homogeneizar la fase líquida y generar un suministro de nutrientes (Figura 1.C). El acuario se situó en una ventana orientada al Este y durante un periodo de 6 semanas, se mantuvo en incubación un grupo de 5 plantas.

3.2.5. Estimaciones de crecimiento

El crecimiento se estimó a partir de diferencias en peso fresco, longitud y número de módulos vegetales (hojas, entrenudos y raíces). Las variables medidas en los diseños experimentales y en la pradera se muestran en la Tabla 1. La metodología seguida está descrita en el capítulo 2.

Tabla 1. Variables estimadas en *Z. noltii* para los diseños experimentales (1, 2, 3) y en el medio natural (pradera). TC_{PF}: tasa de crecimiento en peso fresco, TEF: tasa de elongación foliar, TAF: tasa de aparición foliar, TRF_E: tasa de renovación foliar (en longitud), IP: intervalo de plastocrono, TEI: tasa de elongación internodal, TAI: tasas de aparición internodal, TER: tasa de elongación radicular y TAR: tasa de aparición radicular.

Variables	DISEÑO 1	DISEÑO 2	DISEÑO 3	PRADERA
TC_{PF}	+	+	-	-
TEF	+	+	+	+
TAF	+	+	+	+
TRF_E	+	+	+	+
IP	+	+	+	+
TEI	+	+	+	+
TAI	+	+	+	+
TER	+	+	+	-
TAR	+	+	+	-

El efecto de los diseños experimentales sobre las variables estimadas se analizó mediante un ANOVA de una vía (Zar 1984). Para la TER, la TRF_E y el IP, los problemas de heterocedasticidad se solventaron mediante transformaciones logarítmicas. Las comparaciones *a posteriori* se realizaron mediante el test de Tukey (Zar 1984). En todos los casos, el nivel de significación seleccionado fue de 0,05.

En caso necesario, y con fines comparativos, los resultados de otros autores se transformaron mediante las relaciones siguientes (Peralta, datos no publicados): peso fresco/peso seco = 6; longitud/peso seco (raíces)= 7,2 cm/mg.

3.3. Resultados

Durante la realización de los experimentos que se presentan en este capítulo, no se detectó la muerte de ninguna planta de *Z. noltii* propagada en el medio de cultivo bifásico. Las tasas de crecimiento en peso fresco (TC_{PF}) sólo se estimaron en los diseños 1 y 2, registrándose valores entre 3 y 7 mg PF planta⁻¹ d⁻¹.

Las tasas de elongación foliar (TEF) variaron entre 1,2 y 2,8 cm planta⁻¹ d⁻¹, siendo significativamente menores en plantas propagadas en un medio de cultivo bifásico que en plantas de la pradera (Tabla 2). Las tasas de aparición foliar (TAF) variaron entre 0,2 y 0,4 hojas planta⁻¹ d⁻¹. Únicamente las plantas cultivadas en el diseño 2 mostraron TAF significativamente inferiores que las de la pradera. El intervalo de plastocrono (IP) varió entre 2,5 y 5 días y no se detectaron diferencias significativas entre grupos (Tabla 2).

Para todas las variables estudiadas en la fracción subterránea (TEI, TAI, TER, TAR), las plantas cultivadas en el diseño 2 mostraron valores significativamente inferiores que los valores estimados en plantas bajo condiciones naturales (Tabla 2).

En general, las plantas cultivadas en el diseño 2 mostraron un crecimiento significativamente inferior que las plantas de la pradera (Tabla 2). Sin embargo, esta reducción del crecimiento no se interpretó como un efecto negativo del medio de cultivo, ya que esta respuesta no se detectó bajo otros diseños experimentales donde también se empleó un medio de cultivo bifásico (diseño 1 y diseño 3). Comparadas con otros trabajos,

las variables estimadas estuvieron en el rango de las dadas para esta especie en otras comunidades naturales (Tabla 2, última columna).

Tabla 2. Resultados de las variables estimadas en *Z. noltii* para los diseños experimentales (1, 2, 3) y el medio natural (pradera). Para comparar los resultados obtenidos en este trabajo, se muestran resultados estivales obtenidos en la bibliografía (OTROS). TC_{PF} (mg PF planta⁻¹ d⁻¹): tasa de crecimiento estimada a partir del cambio en peso fresco de la planta, TAF (hojas planta⁻¹ d⁻¹): tasa de aparición foliar. TEF (cm planta⁻¹ d⁻¹): tasa de elongación foliar, TLR (d⁻¹): tasa de renovación foliar, IP (d): intervalo de plastocrono, TAI (entrenudos d⁻¹): tasa de aparición internodal, TEI (mm d⁻¹): tasa de elongación internodal. TAR (raíces d⁻¹): tasa de aparición radicular. TER (cm d⁻¹): tasa de elongación radicular, t: periodo experimental (días), n: número de réplicas. Los datos representan la media y la desviación típica. Dentro de una misma fila, la no coincidencia de caracteres alfabéticos entre celdas expresa diferencias significativas entre sus valores.

	DISEÑO 1	DISEÑO 2	DISEÑO 3	PRADERA	OTROS
TC _{PF}	7,07 ± 3,76 ^x	3,33 ± 2,26 ^y	-	-	
TEF	1,64 ± 0,48 ^x	1,17 ± 0,36 ^x	1,36 ± 0,68 ^x	2,79 ± 1,07 ^y	0,8-0,9 ^{1,+}
TAF	0,26 ± 0,11 ^{xy}	0,24 ± 0,11 ^x	0,33 ± 0,08 ^{xy}	0,43 ± 0,09 ^y	
TRF _E	0,04 ± 0,01 ^{xy}	0,03 ± 0,01 ^x	0,05±0,02 ^{xy}	0,07±0,02 ^y	0,05-0,06 ^{2,+} 0,01-0,04 ^{3,++}
IP	4,7 ± 2,3 ^x	5,3 ± 3,0 ^x	3,3 ± 1,0 ^x	2,4 ± 0,6 ^x	14 ¹
TEI	1,1 ± 0,6 ^x	0,5 ± 0,3 ^y	1,3 ± 0,5 ^x	1,1 ± 0,5 ^{xy}	0,2 ^{1,+}
TAI	0,13 ± 0,02 ^x	0,08 ± 0,05 ^y	0,13±0,03 ^{xy}	0,17±0,00	
TER	0,57 ± 0,40 ^x	-0,07±0,14 ^y	1,33 ± 0,46 ^x	-	0-1,8 ^{1,++}
TAR	0,29 ± 0,16 ^x	0,04 ± 0,17 ^y	0,38 ± 0,11 ^x	-	
t	16	10	40	6	
n	8	8	5	6	

¹Marbá *et al.* 1996; ²Vermaat *et al.* 1987; ³Philippart 1995.

⁺ Datos originales a partir de cambios en longitud. ⁺⁺ Datos originales a partir de cambios en peso.

3.4. Discusión

El crecimiento de fanerógamas marinas en medios bifásicos, con un sustrato solidificado por agar, ha sido demostrado recientemente (Bird y Jewett-Smith 1994; Balestri *et al.* 1998). Estos estudios muestran la utilidad de un medio de cultivo bifásico para la propagación vegetativa de las fanerógamas marinas, siempre que se tengan en cuenta los distintos requerimientos nutricionales, hormonales y vitamínicos de cada especie (Bird *et al.* 1998). En este estudio no se emplearon aditivos para la elaboración del medio de cultivo, exceptuando el agar. A la vista de los resultados y ya que no se detectó mortalidad o deterioro de las plantas, la renovación de la fase líquida cada 48 horas se consideró suficiente para cubrir los requerimientos de *Z. noltii* durante el periodo experimental.

Teniendo en cuenta que sólo uno de los diseños experimentales (diseño 2) mostró diferencias significativas con el medio natural, este trabajo pone de manifiesto la viabilidad de la propagación de *Z. noltii* en un medio de cultivo bifásico. Las bajas tasas de crecimiento detectadas en el diseño 2 (Tabla 2), no parecen ocasionadas por el medio de cultivo teniendo en cuenta que estos efectos negativos no fueron detectados en los demás experimentos (diseño 1 y 3, Tabla 2). La reducción del crecimiento en el diseño 2 pudo estar presumiblemente relacionado con las elevadas temperaturas registradas durante su realización. Este experimento se realizó durante el mes de agosto bajo condiciones extremas de temperatura (apenas controlables por el sistema de refrigeración), las cuales llegaron a superar los 35 ° C en horas de máxima insolación. Para *Z. marina*, se ha comprobado que las temperaturas superiores a 25 °C tienen efectos negativos en el crecimiento. A esas temperaturas, los beneficios fotosintéticos disminuyen en función de un notable incremento en las tasas de respiración y el transporte de carbohidratos hacia tejidos subterráneos queda suprimido (Zimmerman *et al* 1989). De una forma similar, para *Z. noltii* los periodos cortos de temperatura elevada pudieron mermar las tasas de crecimiento al igual que se observa en verano para praderas naturales (capítulo 2, figura 11).

La viabilidad del medio de cultivo bifásico para la propagación de *Z. noltii* también se probó posteriormente en pruebas de trasplante realizadas en la marisma de los Toruños. En estas pruebas, haces foliares anclados en viales con agua de mar solidificada (agar 2%) y transplantados en la franja intermareal, mostraron elevados porcentajes de supervivencia tras de 1 mes de permanencia en estas condiciones (Brun, inédito).

Una gran ventaja de este método es la oportunidad que ofrece para estudiar las tasas de crecimiento radicular. *Z. noltii* es una especie con un sistema radicular de notable fragilidad (den Hartog 1970), lo cual dificulta su estudio por problemas de manipulación (capítulo 2). El estudio del crecimiento radicular es una asignatura aún pendiente en la investigación sobre fanerógamas marinas. A pesar de la importancia del sistema radicular como fuente de entrada de nutrientes y de la relación superficie/volumen en los procesos de incorporación de estos recursos, es sorprendente la escasa bibliografía sobre el crecimiento en raíces. Estos recursos bibliográficos son aún menores cuando se intenta recabar información sobre especies de sistema radicular frágil como el que posee *Z. noltii*. En el mejor de los casos este crecimiento se ha estudiado en función de los cambios en biomasa. En praderas submareales de *Z. noltii* se han detectado tasas medias de crecimiento radicular de $0,1 \text{ mg PS rizoma}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Marbá *et al.* 1996). Aunque no se han encontrado referencias externas para transformar estos resultados en longitud o superficie radicular, a partir de nuestras propias observaciones se calculó que estas tasas corresponden a crecimientos radiculares de $0,7 \text{ cm raíces rizoma}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Estos valores son similares a los registrados en plantas crecidas en el medio solidificado con agar. El crecimiento vegetativo de *Z. noltii* en este medio facilita la manipulación de los tejidos radiculares, disminuyendo las subestimaciones de crecimiento por fractura radicular.

Un objetivo secundario abordado en este capítulo fue estudiar la viabilidad de la reducción del tiempo experimental en estudios ecofisiológicos de *Z. noltii*. Actualmente, para el estudio de fanerógamas marinas en mesocosmos, se mantienen periodos experimentales del orden de meses (Short *et al.* 1995; van Katwijk *et al.* 1997). Estos periodos son lógicos cuando se estudian especies de gran porte, como *P. oceanica* o *Z. marina*. Estas especies presentan sistemas rizomáticos y radiculares gruesos (den Hartog 1970) donde pueden acumular una cantidad mayor de sustancias de reservas. El grosor de los rizomas favorece positivamente la integración clonal entre las estructuras vegetales y

permite un uso más eficiente de las sustancias de reserva (Duarte 1991). Además, las fanerógamas de gran porte poseen intervalos de plastocrono largos y tasas de crecimiento y de renovación lentas que compensan con esperanzas de vida prolongadas (Duarte 1991). Todas estas características les permiten amortiguar los efectos de una limitación de recursos (Marbà *et al.* 1996), siendo necesaria una exposición muy prolongada para detectar el efecto ecofisiológico de las limitaciones.

Por el contrario, las especies pequeñas como *Z. noltii* poseen rizomas delgados (den Hartog 1970), que limitan la integración clonal y la capacidad de almacenar sustancias de reserva (Duarte 1991, Marbà *et al.* 1996). Además, estas especies poseen intervalos de plastocrono reducidos y tasas de crecimiento y renovación altas (Marbà *et al.* 1996) los cuales generan una demanda elevada de recursos, metabolizando rápidamente sus escasas reservas. Por todo ello, las especies de pequeño porte dependen básicamente de la disponibilidad externa de recursos (Kraemer y Mazzella 1999) y por lo tanto responden rápidamente a los cambios en su disponibilidad (Marbà *et al.* 1996).

Los periodos de cultivos presentados en este trabajo estuvieron comprendidos entre 10 y 40 días. Tras 16 días de cultivo (diseño 1 y diseño 3), las variables estudiadas no mostraron diferencias significativas atribuibles al periodo experimental. Por el contrario, las variables estimadas tras 10 días de cultivo mostraron valores significativamente menores que los registrados en periodos más extensos. No obstante, estas diferencias no son atribuibles exclusivamente a la duración experimental. El efecto de la temperatura, discutido anteriormente, también pudo ser responsable del menor crecimiento en dicho experimento. Aún así, podemos afirmar que los periodos experimentales de 2 a 4 semanas son suficientes para detectar los efectos de un tratamiento de disponibilidad de recursos externos en la tasa de crecimiento de *Z. noltii*.

La escala temporal de los procesos biológicos es un factor básico a considerar en un diseño experimental de corte ecofisiológico. Para experimentar con fanerógamas marinas, la relación que existe entre la talla y la dinámica de la especie debería tenerse en cuenta a la hora de realizar estos diseños (Duarte 1991). La propagación vegetativa de *Zostera noltii* en un medio de cultivo bifásico es una herramienta útil para realizar estos experimentos. La manipulación de esta especie en este medio de cultivo permite trabajar con periodos experimentales reducidos con una precisión elevada en la manipulación de las plantas,

proporcionando el cuidado adecuado para estudiar el crecimiento de unidades frágiles como las raíces.

Capítulo 4

Efecto de la disponibilidad de luz en el crecimiento de *Zostera noltii* Hornem.

Peralta G, Pérez-Lloréns JL, Hernández I, Vergara JJ (2002) Effects of light availability on growth, architecture and nutrient content of the seagrass *Zostera noltii* Hornem. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 269: 9-26

4.1. Introducción

El aumento de los procesos de eutrofización como consecuencia de las actividades antropogénicas y la consecuente disminución de luz disponible para los macrófitos acuáticos han sido algunas de las principales causas asociadas a la desaparición de praderas de las fanerógamas marinas a nivel mundial (Orth y Moore 1983, den Hartog 1994). Ante la necesidad de conocer los efectos de la variabilidad de este recurso en la dinámica o supervivencia de las distintas especies, se han realizado estudios para estimar los requerimientos fotosintéticos de estos organismos en periodos anuales (Duarte 1991, Czerny y Dunton 1995, Philippart 1995, Herza y Dunton 1998). Basándose en observaciones sobre praderas distribuidas a lo largo de todo el planeta, Duarte (1991) detectó un límite de distribución en profundidad y propuso un algoritmo, relacionado con el coeficiente de atenuación de la luz en el agua, para determinar una profundidad máxima de colonización. Para la mayoría de las especies, los límites verticales de colonización estuvieron en profundidades donde se alcanza un 11 % de la radiación superficial. Otros autores (Kenworthy y Hauxner 1991, Czerny y Dunton 1995) analizaron la importancia morfológica y fisiológica de las distintas especies para sobrevivir ante condiciones de luz reducidas. La proporción entre el sistema foliar y el sistema rizomático-radicular definen la productividad y las demandas respiratorias de la planta (Hemminga 1998). Mientras que, características como el grosor de la hoja determinan propiedades como la capacidad fotosintética de la planta (Lambers *et al.* 1998).

Algunos trabajos previos demostraron que la reducción en la disponibilidad de luz genera una disminución del crecimiento, de la biomasa y de la densidad de haces foliares (Burkholder y Doheny 1968, Backman y Barilotti 1976). En estudios más recientes se ha observado que las poblaciones de *Thalassia testudinum*, *Halodule wrightii* o *Zostera marina* no sobreviven bajo intensidades inferiores al 15 % de la radiación superficial (Dennison *et al.* 1993, Czerny y Dunton 1995). Uno de los fenómenos asociados a la reducción de luz es el consumo rápido del oxígeno presente en los sedimentos. En algunas fanerógamas se ha demostrado la liberación radicular de oxígeno fotosintético. Este mecanismo permite mantener niveles óxicos en la rizosfera y facilita la tolerancia a los

periodos nocturnos y, en general, periodos cortos, de anoxia (Smith *et al.* 1988, Pedersen *et al.* 1998, Connel *et al.* 1999). Durante los periodos de oscuridad se detiene el trasiego de sustancias (oxígeno y metabolitos) desde las hojas hasta los tejidos subterráneo (Zimmerman y Alberte 1996). En esa situación las raíces sobreviven mediante el metabolismo anaerobio de sus reservas de carbono (Smith *et al.* 1988), pero una situación prolongada de oscuridad, o niveles de luz inferiores a la intensidad de compensación para la fotosíntesis, terminaría produciendo la muerte celular de los tejidos radiculares y posteriormente de toda la planta (Hemminga 1998).

En casi todos estos trabajos se estudiaron praderas submareales donde la luz se considera el principal recurso limitante. De aquellos, muy pocos se dedicaron al estudio de especies de pequeño porte, con reservas nutricionales escasas. La bibliografía es aún más limitada cuando se trata de conocer la respuesta en praderas intermareales. En estas poblaciones, sólo Philippart (1995) estudió el efecto del ensombrecimiento sobre el crecimiento de *Z. noltii*, encontrando que una reducción de luz provoca un descenso lineal del crecimiento foliar y que bajo intensidades de luz del 30% de la irradiancia superficial las tasas de pérdida foliar se triplican. Keller y Harris (1966) sugirieron que la posición óptima para una población intermareal de fanerógamas está condicionada por el compromiso entre la desecación y las condiciones de luz. Las investigaciones previas no han planteado de manera rigurosa la posibilidad de un efecto negativo en el crecimiento debido a la exposición prolongada a irradiancias elevadas. Sin embargo, esta posibilidad también debería ser estudiada para aquellas praderas capaces de soportar periodos de emersión prolongados (ej. praderas situadas en caños secundarios de marismas), o para las que habitan el intermareal alto de costas con una amplitud de marea reducida (Mar Mediterráneo).

Para la elaboración de este capítulo se planteó el estudio del crecimiento de *Z. noltii* en función del régimen diario de disponibilidad de luz. Para conseguir un gradiente de luz natural y al mismo tiempo descartar los posibles efectos de la desecación se diseñó un mesocosmos que respetara las variaciones naturales diarias de intensidad y fotoperiodo y al mismo tiempo permitiera el mantenimiento constante de las plantas en inmersión.

4.2. Material y métodos

4.2.1.1. Selección de plantas

La pradera donante fue una pradera monoespecífica situada en la franja intermareal de la marisma de la península de Los Toruños, en la bahía de Cádiz (véase capítulo 3). La recolección de las plantas se realizó en noviembre de 1998 durante un periodo de marea baja. Se seleccionaron ejemplares de estado de desarrollo similar. Como unidad experimental de *Z. noltii*, se seleccionaron porciones apicales con dos entrenudos y sus correspondientes hojas y raíces.

4.2.2. Montaje experimental

4.2.2.1. Medio de cultivo

Para propagar los haces vegetativos de *Z. noltii* se empleó un medio de cultivo bifásico de agua de mar no enriquecida. Este medio estuvo formado por una fase sólida (agar 2% peso/volumen) bajo una fase líquida (véase el capítulo 3).

4.2.2.2. Diseño físico del experimento

La fuente de luz utilizada en este experimento fue de origen natural, para lo cual la estructura experimental se instaló en la azotea del Centro Andaluz Superior de Estudios Marinos (CASEM, Cádiz).

Las plantas se incubaron, durante 14 días, en cámaras cilíndricas de plexiglás® (8 cm de diámetro y 24 cm de altura) a temperatura constante de 18,5 °C. Para controlar la temperatura, las cámaras se sumergieron en un acuario con agua destilada, la cual circuló a flujo constante entre el acuario y un sistema de refrigeración (figura 1). El control térmico fue posible gracias a las suaves condiciones meteorológicas registradas durante el periodo experimental.

En cada cámara cilíndrica se cultivaron grupos de 4 plantas. El medio de cultivo estuvo formado por una fase sólida de 3 cm de altura (agar 2 % peso/volumen) bajo una fase líquida de 900 ml (18 cm de altura). Para prevenir la falta de nutrientes, los cambios de pH y el crecimiento excesivo de microorganismos, se mantuvo un burbujeo de aire continuo y se renovó la fase líquida del medio cada 2 días. El experimento se realizó

utilizando un total de 8 cilindros (2 por cada nivel de luz). La selección de niveles de luz se explica con detalle en el siguiente apartado.

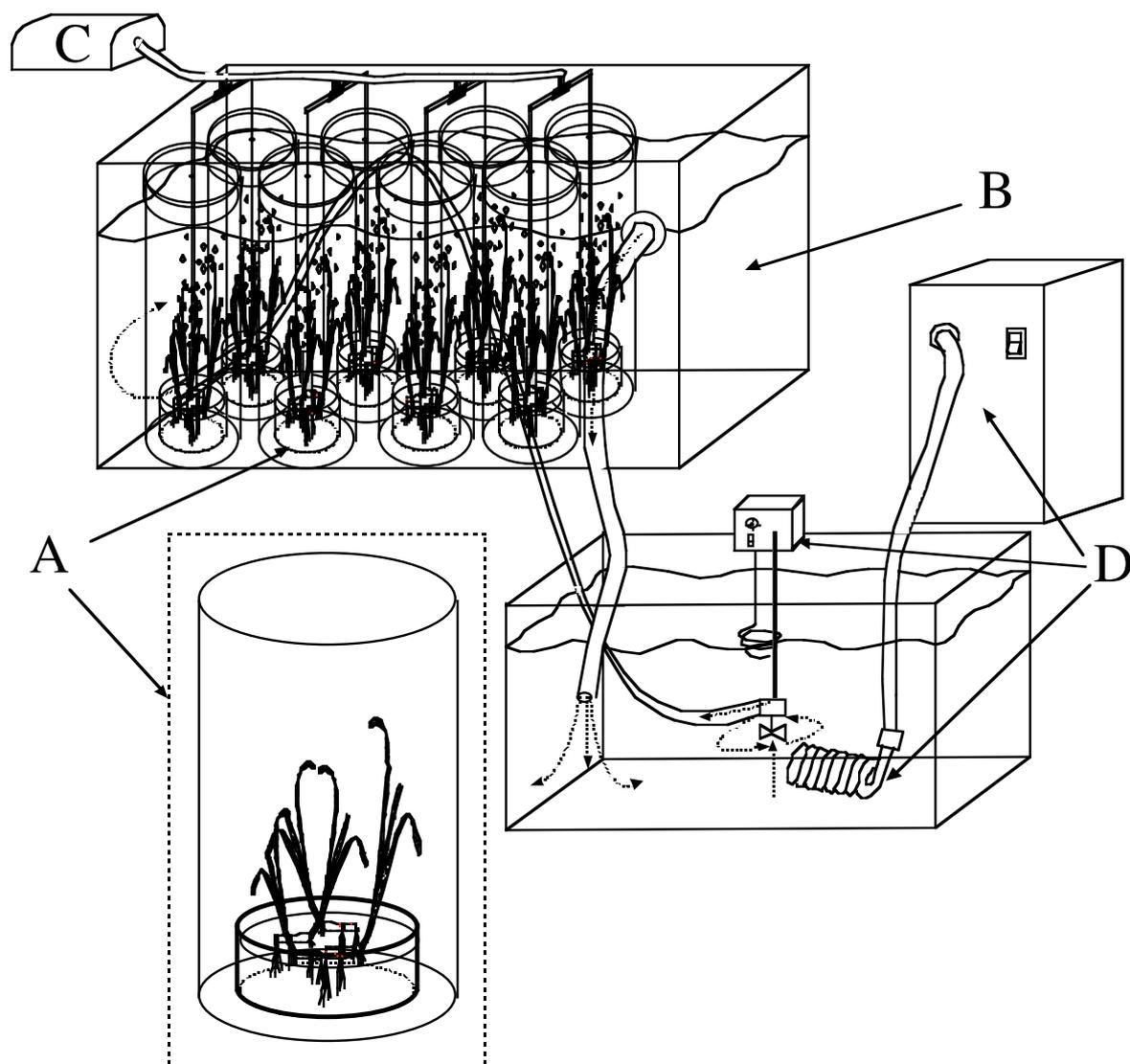


Figura 1. Diseño físico experimental. A: cilindros de plexiglás® utilizados para las incubaciones de *Z. noltii* (con un detalle ampliado de uno de ellos). B: acuario en el que se sumergen los cilindros para mantener la temperatura constante. C: sistema de burbujeo instalado en cada cilindro. D: circuito de refrigeración, en el que una resistencia y un dedo frío mantienen la temperatura del agua constante en un segundo acuario. Entre los dos acuarios, el agua circula a velocidad constante según el movimiento descrito por las flechas discontinuas.

4.2.3. Diseño del tratamiento¹ de luz

Para estudiar el efecto de la disponibilidad de luz en el crecimiento de *Z. noltii* se cultivaron ejemplares vegetativos bajo distintos rangos de irradiancia. Aunque se utilizó una fuente de luz natural, mediante el uso de filtros neutros se modificaron los rangos de disponibilidad.

Los rangos de luz se seleccionaron en función de los siguientes factores:

a) Los parámetros fotosintéticos de *Z. noltii* en otoño

La elección de rangos de luz se diseñó en función de las intensidades de saturación (I_{sat}) y de compensación (I_c) de la actividad fotosintética de *Z. noltii* en la estación otoñal. Los valores utilizados se estimaron en otoño de 1998 en el parque Natural de Ria Formosa (véase capítulo 2). Estos resultados se consideraron extrapolables teniendo en cuenta la cercanía geográfica de ambas localidades.

Como I_{sat} se consideró un valor medio de $330 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Como I_c se consideró un valor medio de $21 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esta intensidad de compensación se calculó a partir de la respiración de los fragmentos foliares. En la bibliografía se discute la utilidad de este valor para extrapolar conclusiones a nivel de organismo (Hemminga 1998). No obstante, teniendo en cuenta que el error cometido sería una subestimación de la intensidad de compensación, no disponiéndose de una correcta estimación extrapolable a *Z. noltii* en estas latitudes, se aceptó el valor de dicho parámetro para el diseño del tratamiento de luz.

Además de I_{sat} e I_c , se consideró una intensidad máxima de $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, para detectar posibles procesos de fotoinhibición (I_{inh}). En función de estas intensidades se definieron los siguientes rangos de luz:

- Intensidades inferiores a la intensidad de compensación para la fotosíntesis ($I < I_c$).
- Intensidades superiores a la intensidad de compensación e inferiores a la intensidad de saturación ($I_c < I < I_{\text{sat}}$).

¹ Tratamiento experimental: Este término hace referencia a la variable manipulada (en este caso la luz).

- Intensidades superiores a la intensidad de saturación e inferiores a la intensidad considerada umbral para la fotoinhibición ($I_{\text{sat}} < I < I_{\text{inh}}$).
- Intensidades superiores a la intensidad considerada umbral para la fotoinhibición ($I_{\text{inh}} < I$).

b) El registro de luz en la zona de estudio

Una semana previa al periodo experimental se realizaron registros horarios de intensidades medias con un sensor plano (LI-192SA). Estos registros se realizaron en dos días, uno despejado y otro nublado (Tabla 1).

Tabla 1. Distribución de luz en octubre, en un día despejado y otro nublado, según los rangos de luz considerados. Los valores representan el número de horas al día en las que se daban las condiciones descritas en la primera columna.

Rango de luz	Día despejado	Día nublado
Oscuridad	11	11,5
$I < I_c$	1,5	1,5
$I_c < I < I_{\text{sat}}$	2,5	4,5
$I_{\text{sat}} < I < I_{\text{inh}}$	3	6,5
$I_{\text{inh}} < I$	6	0

c) El coeficiente de atenuación de los filtros neutros empleados

Como filtros neutros para la luz se utilizaron capas de filtro textil negro. El coeficiente de atenuación de la luz en este material se estudió a partir de dos intensidades iniciales de luz (2.700 y $900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente). Bajo ambas condiciones se obtuvo un coeficiente de atenuación de $0,29 \text{ capa}^{-1}$ (Figura 2).

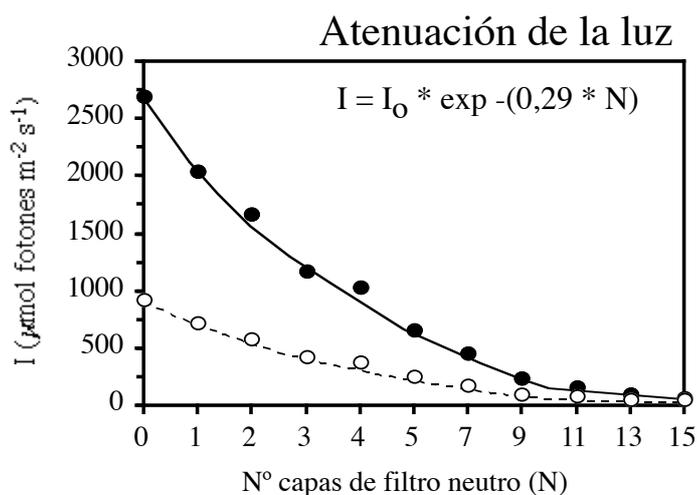


Figura 2. Coeficiente de atenuación de la luz de los filtros neutros utilizados en el diseño experimental.

En función de este coeficiente y teniendo en cuenta el registro de luz en los dos días estudiados, los niveles² experimentales de luz considerados fueron:

- **100 % I_0 : Disponibilidad de luz alta y riesgo de fotoinhibición elevado.** En este nivel no se utilizaron filtros, evitándose cualquier protección frente a intensidades de luz potencialmente fotoinhibitorias.
- **42 % I_0 : Disponibilidad de luz alta y riesgo de fotoinhibición reducido.** En este nivel los cilindros se envolvieron con 3 capas de filtro neutro, evitándose intensidades superiores a $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pero sin reducir la disponibilidad de luz saturante para la fotosíntesis.
- **7,4 % I_0 : Disponibilidad de luz reducida.** Los cilindros sometidos a este nivel se cubrieron con 9 capas de filtro neutro, reduciendo la disponibilidad de luz a un rango de intensidades entre I_c e I_{sat} .
- **1,3 % I_0 : Disponibilidad de luz limitante.** En este nivel último nivel, los cilindros se envolvieron con 15 capas de filtro neutro, reduciendo la disponibilidad de luz a un rango de intensidades inferiores a I_c .

² Nivel experimental: Cada una de las subdivisiones experimentales dentro del *tratamiento* correspondiente. En este caso, cada porcentaje de luz seleccionados es un *nivel* dentro del *tratamiento* de luz.

4.2.4. Medidas morfométricas y estimación de variables

Según la metodología descrita en el capítulo 2, se pesaron las plantas y se realizaron las medidas morfométricas de las distintas estructuras vegetales al inicio y al final del experimento. Al finalizar el periodo de cultivo, se estimó la contribución en el peso de las fracciones foliar y subterránea en la biomasa total y la relación PF/PS de ambas fracciones. A partir de estas medidas se estimaron las variables recogidas en la Tabla 2.

Tabla 2. Variables estimadas a partir del peso y las medidas morfométricas de *Z. noltii*.

Variable	Abreviatura	Unidades
Longitud foliar	LF	cm
Anchura foliar	AF	mm
Longitud internodal	LI	cm
Longitud radicular	LR	cm
Peso seco total	PS _t	mg PS planta ⁻¹
Carbono interno en el tejido foliar	C foliar	% PS
Nitrógeno interno en el tejido foliar	N foliar	% PS
Carbono interno en el tejido subterráneo	C subt	% PS
Nitrógeno interno en el tejido subterráneo	N subt	% PS
Tasa de crecimiento	TC	mg PS planta ⁻¹ d ⁻¹
Tasa de elongación foliar	TEF	cm planta ⁻¹ d ⁻¹
Tasa de aparición foliar	TAF	hojas planta ⁻¹ d ⁻¹
Tasa de renovación foliar en longitud	TRF _E	d ⁻¹
Tasa de renovación foliar en número	TRF _A	d ⁻¹
Intervalo de plastocrono	IP	d
Tasa de pérdida foliar en longitud	TPF _E	cm planta ⁻¹ d ⁻¹
Tasa de pérdida foliar en número	TPF _A	hojas planta ⁻¹ d ⁻¹
Tasa de elongación internodal	TEI	cm d ⁻¹
Tasa de aparición internodal	TAI	entrenudos d ⁻¹
Tasa de elongación radicular	TER	cm d ⁻¹
Tasa de aparición radicular	TAR	raíces d ⁻¹

4.2.5. Análisis estadístico

El efecto del tratamiento de luz en las variables estudiadas se analizó mediante un análisis de la varianza de 1 vía (ANOVA, Zar 1984). En la LR, los problemas de heterocedasticidad se resolvieron mediante transformación logarítmica. Para estudiar el efecto en las TAI, se empleó un análisis no paramétrico de la varianza (test de Krustall-Wallis, Zar 1984). En los análisis paramétricos, las comparaciones *a posteriori* se realizaron mediante el test de Tukey. En todos los casos se consideró un nivel de significación de 0,05.

4.3. Resultados

4.3.1. Disponibilidad de luz en los niveles experimentales

Durante el periodo experimental, el fotoperiodo fue de 13:11 h (luz:oscuridad). La disponibilidad de luz en cada nivel experimental se estudió en función de los rangos de luz considerados (Figura 3). Los cilindros cubiertos con 15 capas de tul negro (1,3 % I_0) sólo recibieron intensidades de luz inferiores a la de saturación (I_{sat}), con un máximo de horas en intensidades inferiores a I_c . Los cilindros sometidos a 7,4 % I_0 recibieron gran parte del día intensidades comprendidas entre I_c e I_{sat} . En los cilindros del nivel 42 % I_0 se observó un máximo de horas con irradiancias superiores a I_{sat} , aunque inferiores a $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (I_{inh}). Finalmente los cilindros sin protección frente a la radiación solar (100 % I_0) recibieron principalmente intensidades superiores a $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (I_{inh}).

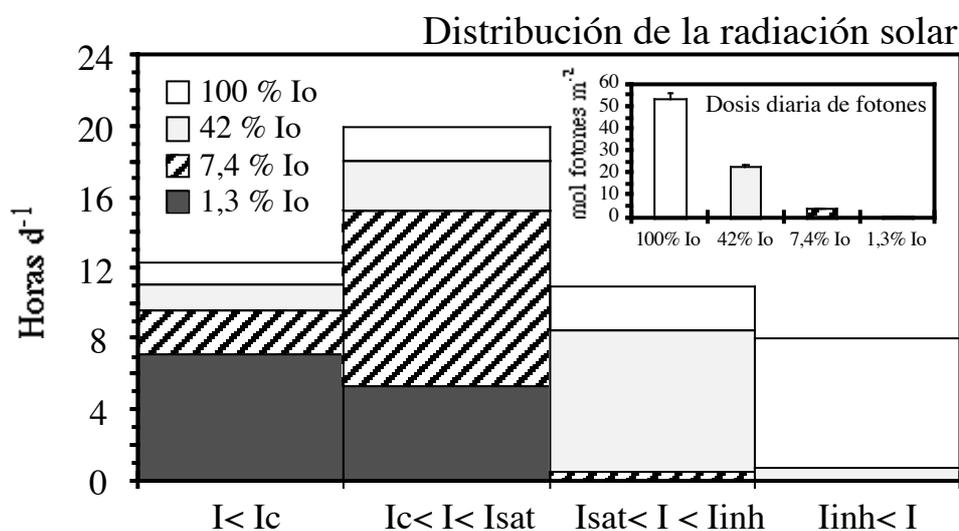


Figura 3. Distribución de la radiación solar incidente en los niveles experimentales (leyenda) según los rangos de luz considerados (eje de abscisas). Cada columna representa un rango de luz y cada compartimento de la misma, el número medio de horas diarias que recibió cada nivel experimental. La figura insertada en el gráfico representa la dosis de luz diaria que recibió cada nivel experimental.

4.3.2. Variables biológicas

4.3.2.1. Morfometría

La morfometría de los módulos vegetales de *Z. noltii* (hojas, entrenudos y raíces) no varió significativamente a lo largo del periodo experimental (Tabla 3). Las dimensiones morfométricas oscilaron en torno a longitudes foliares medias de 12,5 cm, anchuras foliares de 1,5 mm, longitudes internodales de 2,2 cm y longitudes radiculares de 3 cm (Tabla 3).

4.3.2.2. Peso seco (PS_t)

El PS_t medio al finalizar el periodo experimental fue inferior a 50 mg planta⁻¹ (Tabla 3), variando significativamente según el tratamiento de luz. Bajo 42% I_0 , el PS_t fue significativamente superior que el PS_t bajo otros niveles de luz (Tabla 3). El tratamiento de luz no afectó significativamente al reparto de biomasa entre la fracción foliar y la subterránea (BA/BS). Este cociente presentó valores en torno a 2.

Tabla 3. Efecto del tratamiento de luz en la morfometría y el peso de *Z. noltii*. Los datos representan la media y el error estándar. LF: longitud foliar, AF: anchura foliar, LI: longitud internodal, LR: longitud radicular, PS_t : peso seco total al finalizar el experimento, BA/BS: relación biomasa epígea/biomasa hipógea, n: número de réplicas. La última columna muestra el resultado del ANOVA (**: $p < 0,001$). Dentro de la fila correspondiente a PS_t , el código alfabético muestra los resultados de la comparación *a posteriori*. La no coincidencia de caracteres implica diferencias significativas entre niveles experimentales.

Variable	Inicial	Final				p
		100% I_0	42% I_0	7,4% I_0	1,3% I_0	
LF	13,2±0,4	12,8±0,9	13,7±0,7	11,7±0,5	12,9±1,2	-
AF		1,5±0,00	1,6±0,04	1,6±0,04	1,6±0,05	
LI	2,2±0,1	1,9±0,2	2,3±0,2	1,9±0,3	2,4±0,1	-
LR	3,0±0,2	3,8±1,6	3,2±0,5	1,7±0,3	2,3±0,4	-
PS_t		46,7±4,5 ^a	65,8±6,1 ^b	39,9±2,0 ^a	42,5±3,8 ^a	**
BA/BS		2,0±0,3	1,7±0,1	2,2±0,3	2,8±0,3	-
n	32	8	8	8	8	

4.3.2.3. Carbono interno

El contenido de C foliar (rango 27-34 %PS) fue significativamente distinto ($p < 0,001$) que el contenido en C registrado en la región subterránea (rango 26-32 % PS) (Figura 4.A). En ambas fracciones se detectó un efecto significativo de la luz (Tabla 4). No obstante, en la fracción subterránea, dichas diferencias no se reflejaron en las comparaciones *a posteriori*. En la fracción foliar, las plantas cultivadas bajo 100 % I_0 y 42 % I_0 mostraron un contenido en C foliar significativamente superior a las plantas cultivadas bajo las otras intensidades. Además, las plantas cultivadas bajo 1,3 % I_0 mostraron valores de C foliar significativamente inferiores que las plantas cultivadas bajo otros niveles experimentales.

4.3.2.4. Nitrógeno interno

El contenido foliar de N (rango 2-3 % PS) fue significativamente distinto ($p < 0,001$) que el estimado en partes subterráneas (rango 0,9-2 % PS) (Figura 4.B), resultando ambas fracciones vegetales afectadas significativamente por el tratamiento de luz (Tabla 4). Así, las plantas sometidas a 100 % I_0 mostraron valores de N (foliar y subterráneo) significativamente inferior que las plantas cultivadas bajo 7,4 % I_0 y 1,3 % I_0 . Las plantas cultivadas bajo 15 capas de filtro neutro (1,3 % I_0) mostraron un contenido en N foliar significativamente superior que las cultivadas en niveles de 100 % I_0 y 42 % I_0 . En la fracción subterránea, se observó la misma tendencia, aunque las plantas cultivadas bajo 1,3 % I_0 mostraron, además, un contenido en nitrógeno significativamente mayor que las cultivadas bajo 7,4 % I_0 .

4.3.2.5. Índice C:N

Como en las dos variables anteriores, el índice C:N mostró valores significativamente distintos ($p < 0,001$) entre la fracción foliar (rango 10-20) y la fracción subterránea (rango 15-40) (Figura 4.C). En ambas fracciones se detectó un efecto significativo de la luz (Tabla 4). Tanto en la parte foliar como en la subterránea, las plantas cultivadas bajo 9 y 15 capas de filtro neutro (7,4 y 1,3 % I_0 , respectivamente) mostraron índices C:N significativamente inferiores que las plantas cultivadas bajo 100 y 42 % I_0 .

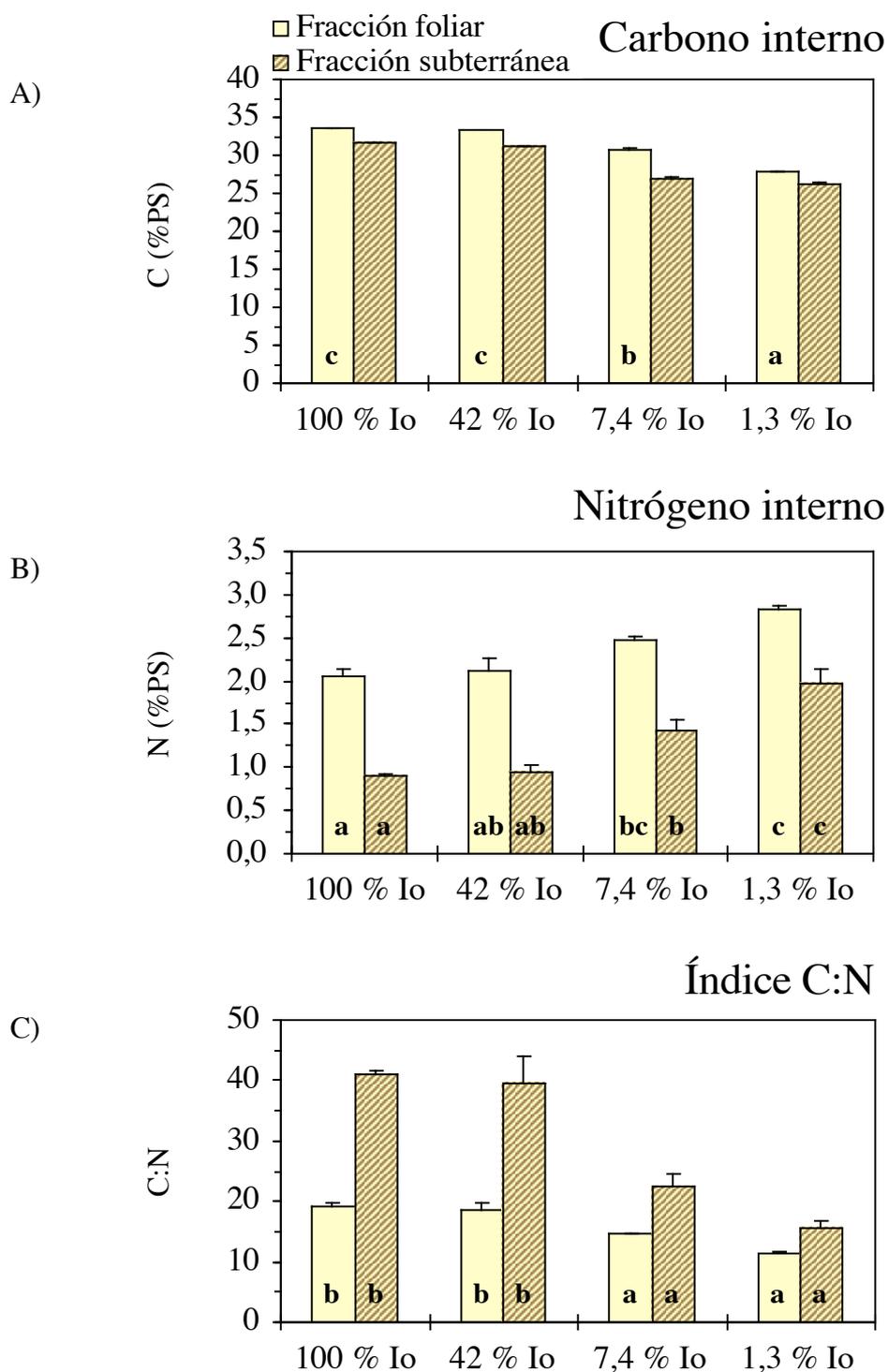


Figura 4. Efecto del tratamiento de luz en el contenido en carbono, nitrógeno y la relación atómica C:N de los tejidos foliares y subterráneos de *Z. noltii*. Para cada fracción (foliar y subterránea), el código alfabético en la base de las columnas muestra la comparación *a posteriori* entre niveles experimentales. La no coincidencia de caracteres representa la diferencia significativa entre los niveles. Las barras representan el error estándar.

Tabla 4. Resumen estadístico del efecto del tratamiento de luz en *Z. noltii*. La presencia de la letra T junto a la variable indica la transformación logarítmica de los resultados.

Variable	Efecto de la luz
C foliar	**
C subt.	*
N foliar	*
N subt.	**
C:N _{ato} foliar	**
C:N _{ato} subt.	**
TC	**
TEF	**
TAF	*
TRF _E T	**
TRF _A	*
TPF _E T	*
TPF _A (42 % I _o no incluido)	-
IP	-
TEI	**
TAI	-
TER T (1,3 % I _o no incluido)	*
TAR (1,3 % I _o no incluido)	*

(*): p < 0,05; (**): p < 0,001

4.3.2.6. Tasa de crecimiento (TC)

La luz mostró un efecto significativo en la tasa de crecimiento (Tabla 4). Estas tasas variaron entre 1 y 2,4 mg PS planta⁻¹ d⁻¹ (Figura 5), exceptuando en aquellas plantas cultivadas bajo intensidades de 1,3 % I₀ en las que no registraron TC positivas. Este fenómeno se interpretó como un proceso de autoalimentación sin suministro externo de energía, o al menos un suministro insuficiente para permitir el crecimiento. El crecimiento óptimo, tanto de la fracción foliar como de la fracción subterránea, ocurrió bajo condiciones de 42 % I₀. En el nivel susceptible de intensidades fotoinhibitorias (100 % I₀) se detectaron las mayores producciones relativas de tejido foliar.

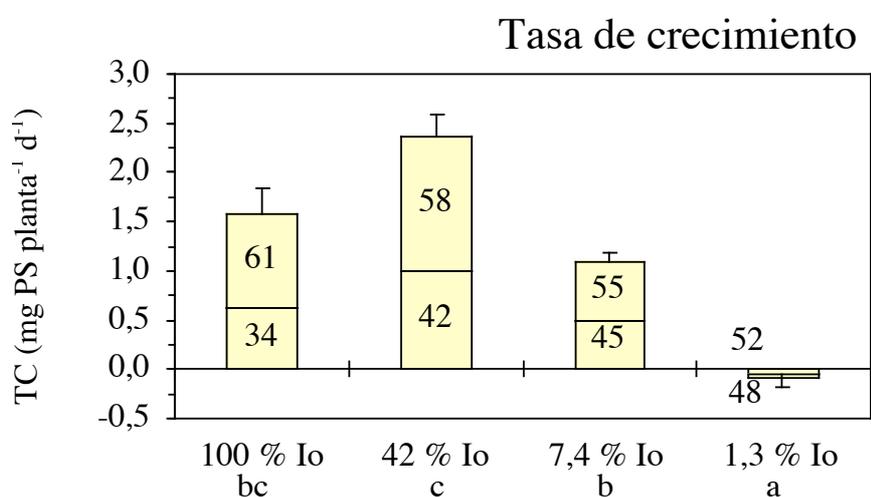


Figura 5. Efecto del tratamiento de luz en la tasa de crecimiento en *Z. noltii*. En cada columna, el compartimento superior representa a la fracción foliar y el inferior a la fracción subterránea (el número asociado indica el porcentaje correspondiente). El código alfabético bajo el eje de abscisas muestra la comparación *a posteriori* del tratamiento. La no coincidencia de caracteres representa la diferencia significativa entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar del crecimiento total.

4.3.2.7. Tasa de elongación foliar (TEF)

El tratamiento de luz afectó significativamente la TEF (Tabla 4). Los valores oscilaron entre 0,7 y 2,9 cm planta⁻¹ d⁻¹ (Figura 6.A). Bajo intensidades de 42 % I_o, las plantas mostraron TEF máximas (2,9 cm planta⁻¹ d⁻¹) con valores significativamente distintos que las plantas cultivadas bajo otros niveles (Figura 6.A). Las diferencias entre niveles experimentales se originaron principalmente por diferencias en la producción axilar. Las plantas cultivadas bajo 1,3 % I_o mostraron TEF significativamente inferiores (0,7 cm planta⁻¹ d⁻¹). Aunque en este nivel, las diferencias se originaron por una menor producción tanto axilar como axial.

4.3.2.8. Tasa de aparición foliar (TAF)

El tratamiento de luz afectó significativamente a las TAF (Tabla 4). Las plantas cultivadas bajo intensidades de 42 % I_o mostraron TAF significativamente superiores que las registradas en plantas cultivadas bajo 7,4 % I_o (Figura 6.B). En el caso particular del nivel 1,3 % I_o, como únicamente 4 plantas generaron nuevas unidades foliares en el periodo de estudio, el análisis estadístico no pudo detectar las diferencias observadas en este nivel. Como en la variable anterior, las diferencias entre los niveles experimentales se originaron principalmente por las diferencias en la producción axilar, exceptuando el cultivo bajo 1,3 % I_o donde también se detectó un descenso de la producción axial.

4.3.2.9. Tasas de renovación foliar en longitud (TRF_E) y en número (TRF_A)

Las TRF_E y TRF_A mostraron valores similares e inferiores a 0,06 d⁻¹ (Figura 7). En ambos casos se detectó un efecto significativo del tratamiento de luz (Tabla 4). Bajo 7,4 % I_o, las TRF_E y TRF_A mostraron valores significativamente distintos que los estimados en plantas cultivadas bajo 100 y 42 % I_o. Las plantas cultivadas bajo 1,3 % I_o mostraron TRF_E significativamente distintos que las cultivadas a otros niveles. En el caso de las TRF_A, la escasa aparición de hojas bajo 1,3 % I_o dificultó el análisis estadístico de esta variable y sólo se detectaron tasas significativamente menores en el nivel 7,4% I_o.

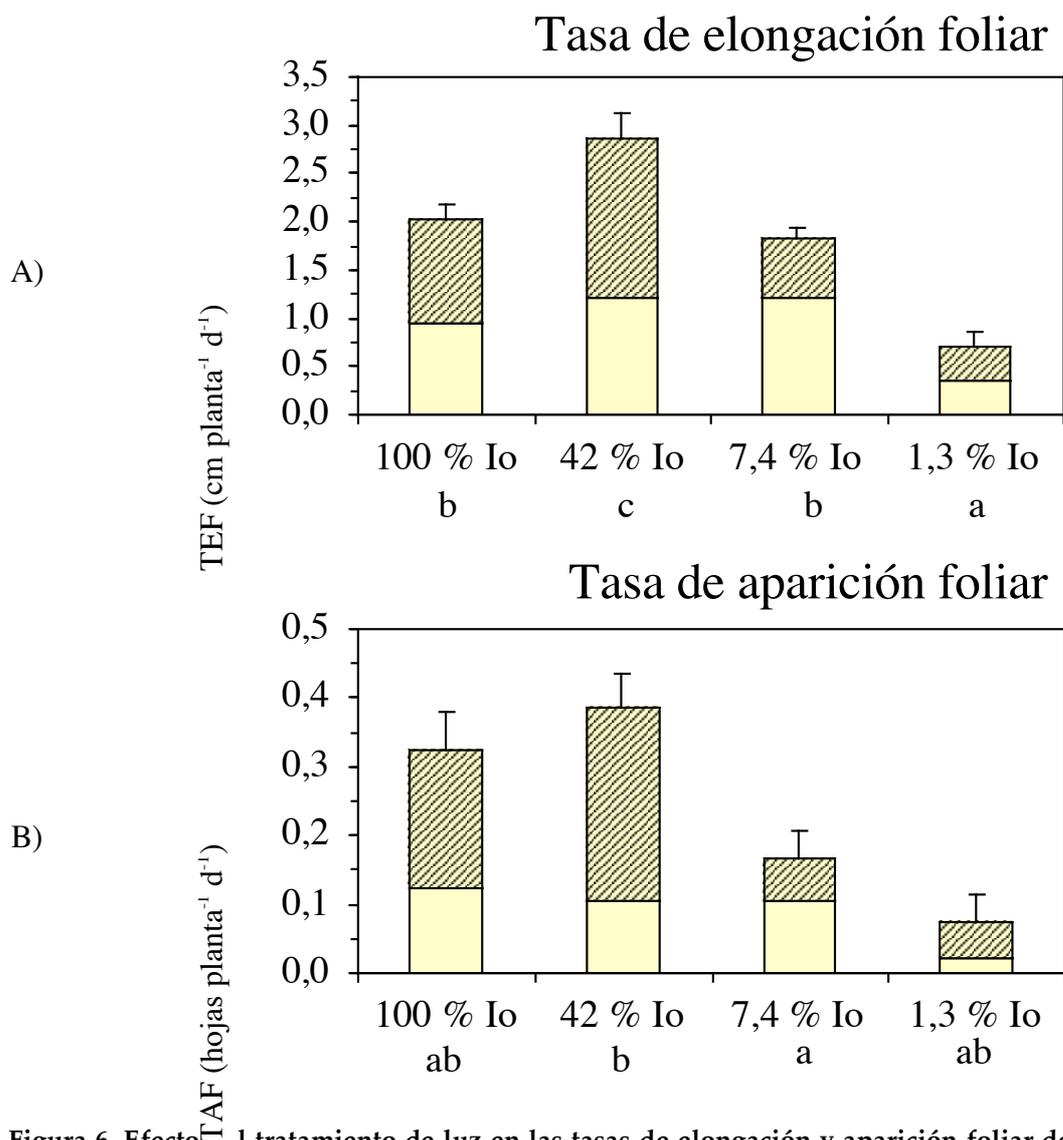


Figura 6. Efecto del tratamiento de luz en las tasas de elongación y aparición foliar de *Z. noltii*. La fracción rayada de la columna simboliza la contribución de los meristemos axilares y la no rayada la del meristemo apical. El código alfabético bajo el eje de abscisas muestra la comparación *a posteriori* del tratamiento. La no coincidencia de caracteres representa la diferencia significativa entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

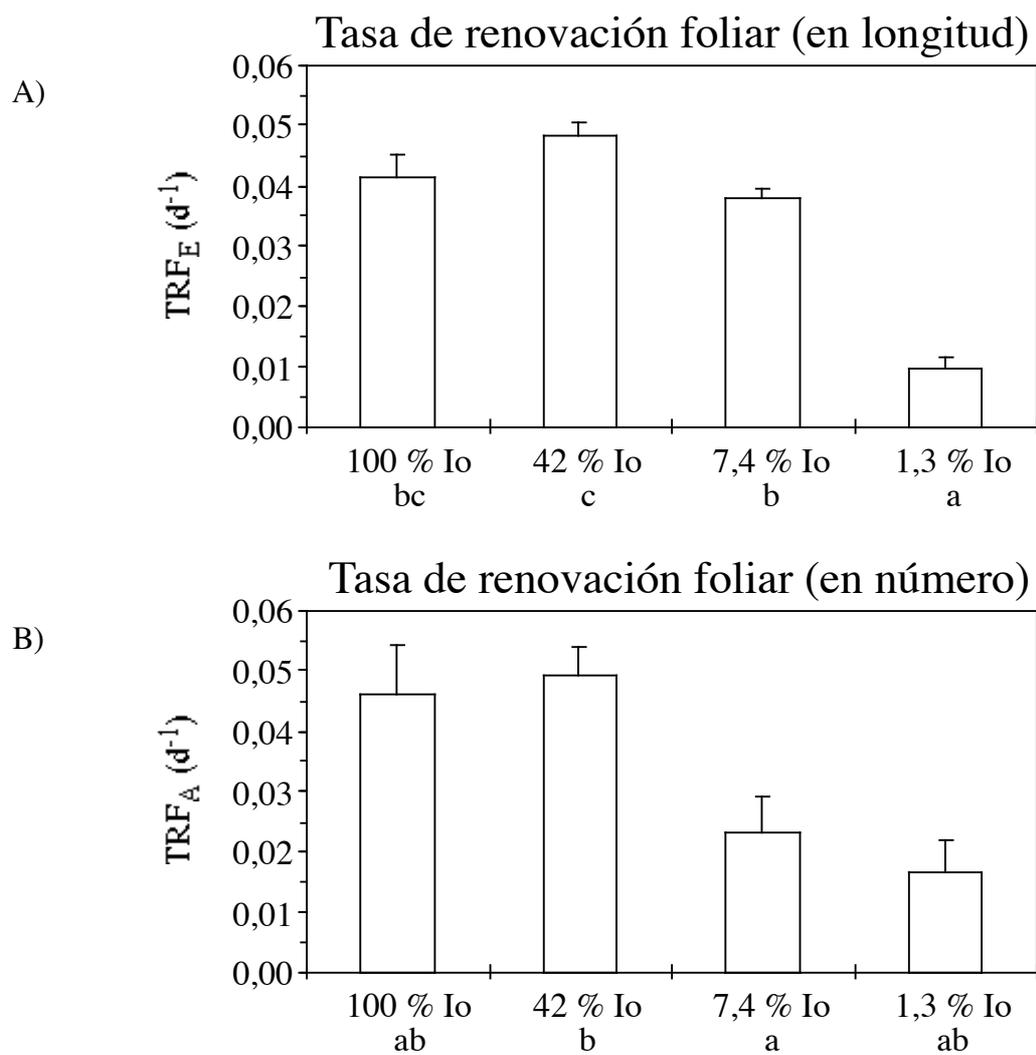


Figura 7. Efecto del tratamiento de luz en las tasas de renovación foliar en longitud y en número de *Z. noltii*. El código alfabético bajo el eje de abscisas muestra la comparación *a posteriori* entre niveles experimentales. La no coincidencia de caracteres representa la diferencia significativa entre niveles. Las barras representan el error estándar.

4.3.2.10. Intervalo de plastocrono (IP)

El tratamiento de luz no afectó significativamente al intervalo de plastocrono (Tabla 4), el cual mostró valores entre 10 y 12 días (Figura 8). No obstante, entre las plantas cultivadas a 1,3% I_0 , sólo 2 de las 8 plantas generaron hojas nuevas a partir del meristemo apical.

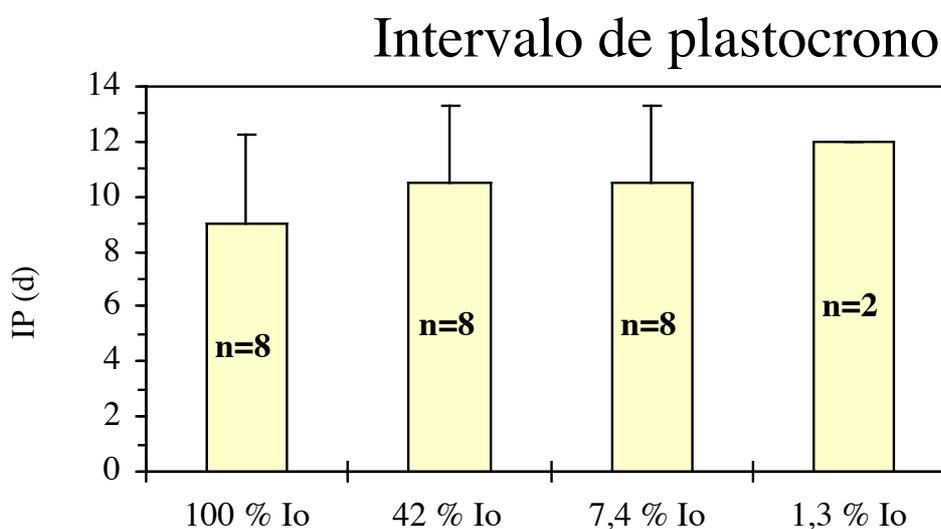


Figura 8. Efecto del tratamiento de luz en el intervalo de plastocrono de *Z. noltii*. Las barras representan el error estándar.

4.3.2.11. Tasas de pérdida foliar en longitud (TPF_E) y en número (TPF_A)

Las tasas de pérdida foliar estimadas en longitud y número (TPF_E y TPF_A) mostraron un comportamiento similar. Ambas tasas se correlacionaron significativamente ($r= 0,94$; $n=20$; $p< 0,001$; Figura 9.A). Por este motivo, sólo se representan los resultados correspondientes a las TPF_E .

A pesar de la relación encontrada entre ambas tasas de pérdida, el tratamiento de luz únicamente mostró un efecto significativo sobre las TPF_E (Tabla 4). Los valores de estas tasas fueron inferiores a $3 \text{ cm planta}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Figura 9.B). Las plantas cultivadas bajo

intensidades de 1,3 % I_0 mostraron tasas de pérdida foliar en longitud significativamente distintas que las cultivadas bajo 100 y 42 % I_0 .

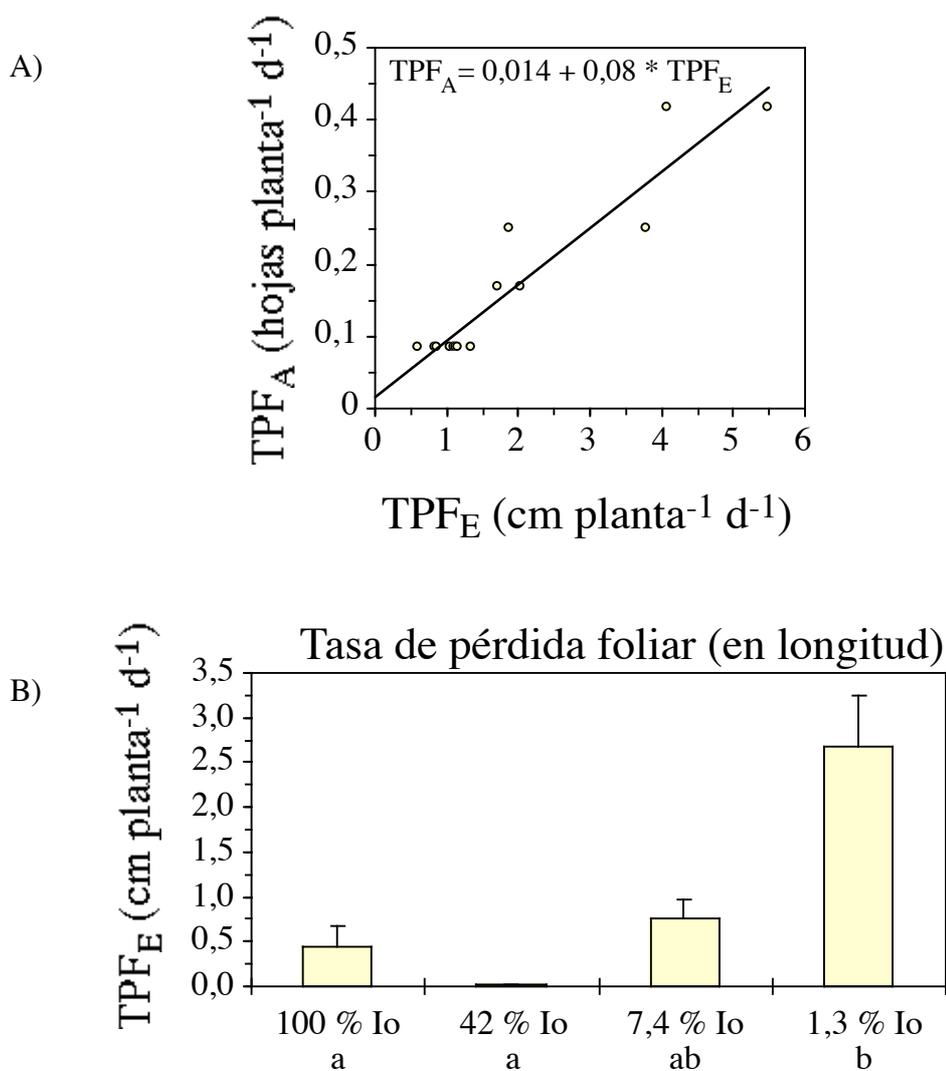


Figura 9. A) Relación lineal entre las tasas de pérdida foliar en longitud (TPF_E) y en número (TPF_A) en *Z. noltii*. B) Efecto del tratamiento de luz en la tasa de pérdida foliar en longitud en *Z. noltii*. El código alfabético bajo el eje de abscisas muestra la comparación *a posteriori* entre niveles experimentales. La no coincidencia de caracteres representa la diferencia significativa entre niveles. Las barras representan el error estándar.

4.3.2.12. Tasa de elongación internodal (TEI) y tasa de aparición internodal (TAI)

El tratamiento de luz influyó significativamente en las TEI (Tabla 4). Las plantas cultivadas bajo 1,3 % I_0 mostraron valores de 0,03 cm d^{-1} frente a los 0,14 y 0,16 cm d^{-1} de las plantas cultivadas bajo 100 y 42 % I_0 , respectivamente (Figura 10.A). Únicamente se detectó la elongación de entrenudos laterales (axilares) en plantas cultivadas bajo 42% I_0 . Por el contrario, en las TAI no se detectaron diferencias significativas originadas por el tratamiento de luz debido a la heterogeneidad del número de observación entre los niveles experimentales (Tabla 4, Figura 10.B).

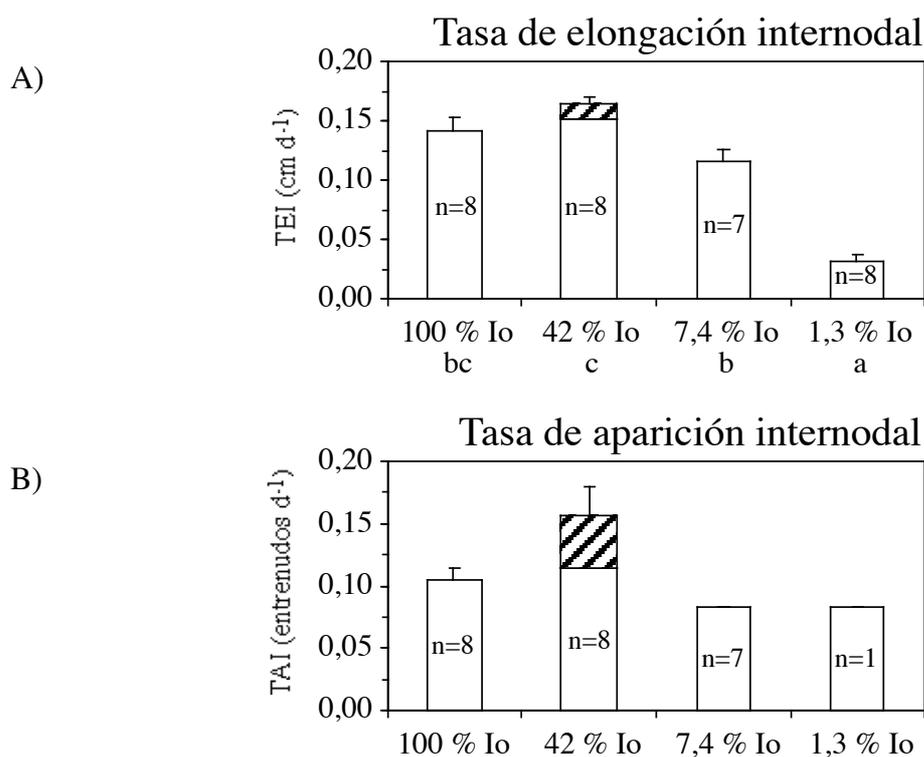


Figura 10. Efecto del tratamiento de luz en la tasa de elongación internodal y la tasa de aparición internodal de *Z. noltii*. La fracción rayada de las columnas representan la producción de entrenudos laterales y la no rayada la de entrenudos axiales. El código alfabético bajo el eje de abscisas muestra la comparación *a posteriori* entre niveles experimentales. La no coincidencia de caracteres representa la diferencia significativa entre niveles. Las barras representan el error estándar, n es el número de datos.

4.3.2.13. Tasa de elongación radicular (TER) y tasa de aparición radicular (TAR)

Durante el periodo de estudio, las plantas cultivadas bajo intensidades de 1,3 % I_0 no generaron nuevas unidades radiculares, y únicamente una de estas plantas registró una TER positiva. La falta de observaciones para una estimación correcta de la producción radicular en este nivel experimental, llevó a la determinación de excluirlo de los análisis estadísticos (Tabla 4, Figura 11).

Para el resto de los niveles experimentales, el tratamiento de luz tuvo un efecto significativo tanto en las TER como en las TAR (Tabla 4). Para ambas tasas, las plantas cultivadas bajo intensidades de 42 % I_0 mostraron valores significativamente mayores que las plantas cultivadas bajo intensidades de 7,4 % I_0 (Figura 11).

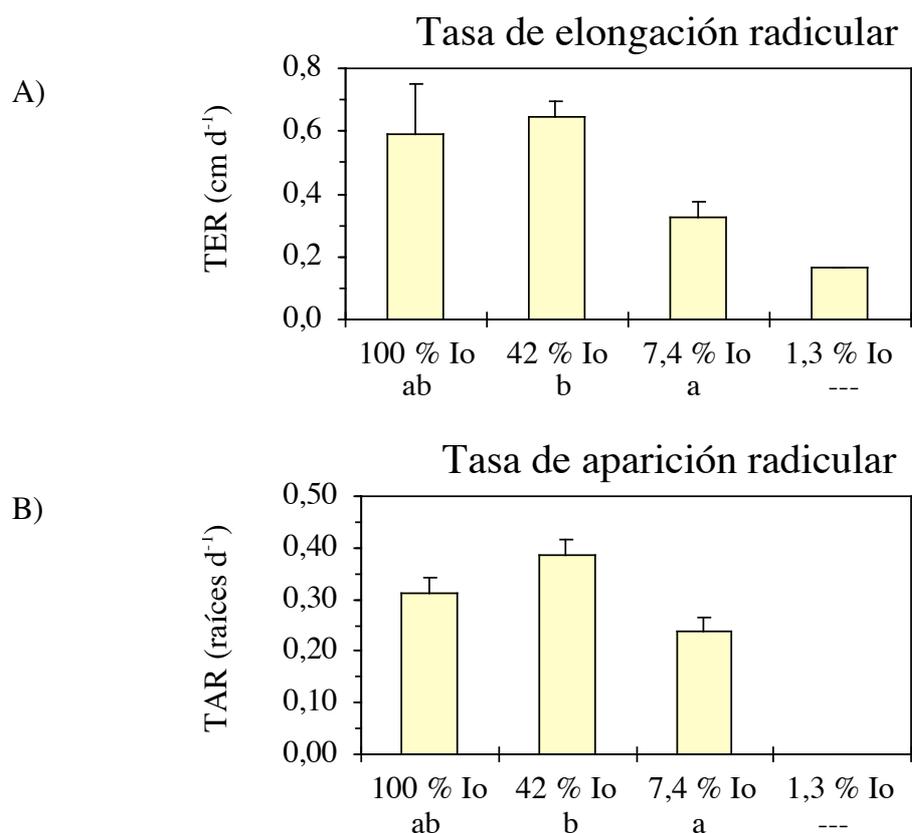


Figura 11. Efecto del tratamiento de luz en la tasa de elongación radicular y la tasa de aparición radicular de *Z. noltii*. El código alfabético bajo el eje de abscisas muestra la comparación *a posteriori* del efecto del tratamiento. La no coincidencia de caracteres representa la diferencia significativa entre niveles experimentales (el nivel 1,3 % I_0 no se incluyó en el análisis estadístico). Las barras representan el error estándar.

4.4. Discusión

La reducción de luz tuvo un efecto significativo en el crecimiento de *Z. noltii*. A partir de una disponibilidad del 42% de I_0 , el crecimiento disminuyó con la reducción de luz. Sin embargo, contrariamente a los resultados obtenidos por [Philippart \(1995\)](#), la exposición a un 100% de I_0 mostró un efecto inhibitorio sobre el crecimiento. En el trabajo de [Philippart \(1995\)](#), la reducción en la disponibilidad de luz se estudió sobre una pradera de *Z. noltii* ubicada en una zona del intermareal con 3 horas de emersión por ciclo de marea. En dicho trabajo, la reducción de luz tuvo un efecto negativo en todos los casos. Las tasas de crecimiento relativas fueron máximas en el control (100% de la luz incidente), y del mismo orden de magnitud que las tasas de renovación estimadas en el nivel de 42% I_0 de este capítulo. En plantas sometidas a un 15% de luz incidente se triplicaron las tasas de pérdidas foliares. No obstante, hay que tener en cuenta que estas plantas estuvieron sometidas a ciclos diarios de marea. A lo largo de un ciclo de marea, la atenuación generada por la columna de agua varía, siendo especialmente elevada, durante los movimientos de vaciante y creciente, cuando la altura de la columna de agua es aún escasa y el agua presenta un grado de turbidez elevado ([Vergara et al. 1997](#)).

En el presente trabajo, se estudió el efecto de la luz eliminando los posibles efectos generados por la emersión y los ciclos de marea. La atenuación de la luz estuvo únicamente generada por los filtros neutros empleados en el diseño del tratamiento y aunque las diferencias en TC entre los niveles de 100% y 42 % I_0 no llegaron a ser significativas, el efecto negativo de la sobreexposición luminosa quedó de manifiesto al estudiar las tasas de elongación foliar. La exposición a irradiancias elevadas ($> 1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante periodos diarios de 7 horas, pudo provocar daños originados por el exceso de radiación o por un posible efecto de la radiación UV. En plantas terrestres la epidermis foliar actúa como pantalla protectora ante estas radiaciones ([Lambers et al. 1998](#)), pero en *Z. noltii* la superficie fotosintética se concentra precisamente en dicha epidermis. En cualquier caso, los niveles dañinos de radiación disminuyen el rendimiento del aparato fotosintético y aumentan los costes de mantenimiento por mecanismos de disipación de energía ([Long et al. 1994](#)). En el caso mostrado en este capítulo, la reducción de

crecimiento repercutió principalmente en la producción de los meristemas axilares, observándose para esta región de la planta una menor producción foliar y la ausencia de elongación de sus entrenudos.

La detección de una respuesta de crecimiento óptima a un 42% de I_0 coincidió con los niveles de irradiancia a los que se detectan máximos de biomasa en otras fanerógamas marinas (ej. *Thalassia testudinum* y *Halodule wrightii*, Czerny y Dunton 1995), y está de acuerdo con los máximos de biomasa de *Z. noltii* detectados en praderas intermareales a profundidades de 0,8-1 m a partir del nivel máximo de pleamar (Brun 1999). A este nivel, el número de horas al día con luz saturante para la fotosíntesis (H_{sat}) fue cercano a 9 horas, siendo la irradiancia inferior a $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 8 horas. Para *Z. marina* se ha calculado que, para cubrir las demandas diarias de carbono en una planta, es necesario un H_{sat} mínimo de 4-6 horas d^{-1} (Denninson y Alberte 1986). En el caso de *Z. noltii*, para cubrir estas demandas, el mínimo de H_{sat} será inferior que en el caso de *Z. marina*, en función de un mayor valor de la razón BA/BS (Duarte 1991), la cual desequilibra el balance entre producción y costes de mantenimiento hacia una producción relativa mayor.

La disminución generalizada del crecimiento, en todas las unidades estructurales, observada en niveles de 7,4 y 1,3 % I_0 sugiere una limitación por luz. En dichos niveles se estimaron H_{sat} de 0,5 y 0 horas d^{-1} respectivamente, disponiendo únicamente de irradiancias subsaturantes para la fotosíntesis. La talla pequeña de *Z. noltii* le proporciona una ventaja competitiva cuando los nutrientes no son un recurso limitante (Kraemer y Mazzella 1999). Sin embargo, esta misma característica limita su capacidad de almacenamiento, presentando una gran dependencia de la disponibilidad externa de recursos (Kraemer y Mazzella 1999). La reducción de la disponibilidad de luz limita la producción de esqueletos carbonados, lo cual, junto a la demanda respiratoria de los tejidos, explicaría el descenso significativo de C interno. Esta reducción de esqueletos carbonados también explicaría el incremento de N interno, acumulado ante la falta de energía para producir nuevos tejidos. No obstante, si este N no es asimilado rápidamente, podría originar daños fisiológicos en los tejidos potenciando los efectos negativos de la reducción de luz (van Katwijk *et al.* 1997). En el caso de las plantas sometidas a irradiancias de 1,3% I_0 , la reducción de luz alcanzó niveles extremos. En este nivel, la dosis diaria de luz fue inferior a 0,8 moles fotones m^{-2} , distribuidos entre 2 horas de irradiancias subsaturantes para la

fotosíntesis. Las TEF, TRF_E y TEI, significativamente inferiores que en otros niveles, se mantuvieron a expensas de una reducción de la biomasa. La generación de nuevas unidades estructurales a partir del meristemo apical quedó limitada a la producción de una hoja, y su correspondiente entrenudo, en 2 de las plantas cultivadas, y la TPF_E, como en otras especies previamente estudiadas (Philippart 1995, Lee y Dunton 1997), aumentó significativamente como respuesta a la reducción de luz. La reducción en la disponibilidad de luz provoca en las fanerógamas marinas un efecto negativo en cascada (Hemminga 1998). La limitación de la fotosíntesis bloquea el transporte de energía y oxígeno entre la fracción foliar y la fracción subterránea. La falta de oxígeno favorece la anoxia en la rizosfera y anula los mecanismos de tolerancia de los tejidos subterráneos. A su vez, las condiciones de anoxia desencadenan la producción de fitotoxinas que terminan dañando irreversiblemente estos tejidos hasta su muerte celular.

A pesar del descenso general en el crecimiento ante la reducción de luz, éste se mantuvo en la región axial de las plantas hasta intensidades de 7,4 % I₀. La adaptación del crecimiento a la disponibilidad de luz mediante la modificación de la producción axilar es un fenómeno previamente observado en praderas naturales de *Z. noltii* (Brun 1999). En las praderas intermareales situadas en la marisma de la península de Los Toruños, se observó un crecimiento axial neto positivo a lo largo de todo el ciclo anual, frente a un crecimiento axilar neto variable entre rangos positivos en primavera y verano, y rangos negativos en otoño e invierno. En *Z. noltii*, algunas de las consecuencias de la morfología pequeña son los bajos requerimientos lumínicos, para satisfacer los costes de mantenimiento, y la intensidad de saturación elevada. Por un lado, las hojas pequeñas generan una mayor relación superficie/volumen con el consecuente aumento de la capacidad fotosintética y de la intensidad de saturación (capítulo 2), y por otro lado, un sistema subterráneo (con rizomas y raíces delgados) equilibrado en peso con el sistema foliar, permite costes de mantenimiento relativamente bajos, disminuyendo la intensidad de compensación para la planta.

Independientemente de los fenómenos de desecación, las irradiancias registradas en nuestras latitudes provocarían un efecto negativo en el crecimiento de *Z. noltii* si a lo largo del día la disponibilidad de luz fuese del 100% de la radiación superficial. Como en un gran número de especies, el óptimo de radiación para el crecimiento de *Z. noltii* se sitúa en

torno al 50 % de la radiación incidente. Por otro lado, la estrategia de crecimiento de *Z. noltii* permite su supervivencia a niveles de irradiancia inferiores al 10% I_0 . En condiciones de luz limitante primero desciende la producción axilar, y, sólo bajo situaciones de ensombrecimiento críticas, desciende la producción axial. Esta respuesta ante situaciones de luz limitante, podría permitir a las praderas intermareales de *Z. noltii* tolerar situaciones moderadas de eutrofización.

Capítulo 5

Efecto combinado de la disponibilidad de luz y las condiciones del sedimento en el crecimiento de *Zostera marina* L. y *Z. noltii* Hornem.

Gran parte de los resultados de este capítulo han sido publicados en el artículo:
Peralta G, Bouma TJ, van Soelen J, Pérez-Lloréns JL, Hernández I (2003) On the use of ammonium and nitrate for sediment fertilization in seagrass restoration: case a mesocosm study of nitrate and ammonium for on *Zostera marina* L. *Aquatic Botany* 75: 95-110

5.1. Introducción

El incremento de vertidos agrícolas y urbanos en aguas costeras ha provocado el aumento de las concentraciones de nutrientes generando numerosos procesos de eutrofización. Un efecto secundario de estos procesos es la reducción de luz, ya sea por el aumento de la turbidez que provocan los vertidos, ya sea por la proliferación masiva de microalgas y macroalgas tras la fertilización del sistema (Sfriso y Pavoni 1994). La reducción de luz genera una disminución del crecimiento vegetal y, en el caso de sistemas en proceso de eutrofización, la respuesta de la comunidad se complica por el efecto de otras variables afectadas en el proceso. Algunos trabajos previos han demostrado que el incremento de la concentración de nutrientes en la columna de agua puede provocar un efecto negativo sobre las poblaciones de fanerógamas marinas. Así, por ejemplo, en *Zostera marina* se ha comprobado que las concentraciones de amonio superiores a $25 \mu\text{M}$ son negativas para el crecimiento a corto plazo (van Katwijk *et al.* 1997). Para esta especie también se ha observado un efecto negativo a largo plazo de las concentraciones elevadas de nitrato en la columna (Burkholder *et al.* 1992). En *Z. noltii* también se ha comprobado un efecto negativo del amonio sobre el crecimiento a partir de concentraciones de $16 \mu\text{M}$ (Brun 1999).

La mayoría de estos trabajos se centran en las condiciones de la columna de agua. Esta metodología esta motivada por el incremento generalizado de los procesos de eutrofización en aguas costeras. La composición química de la columna de agua afecta de forma directa a las fanerógamas marinas debido a su capacidad de incorporar nutrientes a tasas elevadas por vía foliar (Stapel *et al.* 1996). Sin embargo, la capacidad de incorporar nutrientes a través de las hojas no reduce la importancia del sedimento en el desarrollo de estas plantas. Puesto que, como se ha comentado en capítulos anteriores, hasta los efectos negativos generados por la reducción de luz están relacionados íntimamente con las condiciones que rodean al sistema rizomático-radicular (Hemminga 1998).

En la última década, la comunidad científica se ha esforzado en conocer los efectos de la anoxia y la importancia de una rizosfera óxica en la supervivencia de las plantas (Smith *et al.* 1988, Pulich 1989, Pedersen *et al.* 1998, Connell *et al.* 1999). El trasiego de

sustancias entre módulos vegetales (hojas, entrenudos y raíces) juega un papel fundamental en el metabolismo de una planta (Zimmerman y Alberte 1996). A su vez, este trasiego de sustancias es directamente proporcional al área transversal de los conductos de comunicación (espacios lagunares, haces vasculares; White y Gaus 1998). En especies con un sistema subterráneo desarrollado, como *Cymodocea rotundata*, la liberación de oxígeno en la rizosfera puede generar una zona óxica de hasta 80 μm de espesor (Pedersen *et al.* 1998). Al menos para *Z. marina*, se ha demostrado que el mantenimiento del trasiego de oxígeno dentro de la planta es fundamental para el transporte de sustancias entre las hojas, el rizoma y las raíces (Zimmerman y Alberte 1996). En condiciones de baja disponibilidad de luz y anoxia subterránea, el transporte de oxígeno y carbono entre hojas y raíces se bloquea y la reserva radicular de carbohidratos suministra una fuente de energía limitada para el mantenimiento temporal de los tejidos vía metabolismo anaeróbico (Zimmerman y Alberte 1996). En la mayoría de las especies estudiadas se ha comprobado la tolerancia de estas plantas a los periodos nocturnos de anoxia. Sin embargo, periodos más prolongados podrían producir la muerte celular en el tejido radicular, una vez consumidas las sustancias de reserva.

En los últimos años, muy pocos estudios han abordado el efecto de los niveles de nitrógeno en el sedimento sobre el crecimiento de estos organismos, siendo la mayoría de las referencias existentes anteriores a la década de los 90. Pulich (1989) estudió en dos épocas del año (primavera y otoño) el efecto del enriquecimiento de N en el sedimento sobre poblaciones de *Halodule wrightii* y *Ruppia maritima*. Empleó fuentes de N orgánica e inorgánica, practicando enriquecimientos en sedimento del 0,3 % en peso. La respuesta al tratamiento fue diferente en cada especie. *Halodule wrightii*, con un 66% de biomasa subterránea, sólo respondió al tratamiento durante el otoño, observándose una estimulación del crecimiento de mayor magnitud en condiciones de enriquecimiento con N orgánico. Por el contrario, en *R. maritima*, con un 31 % de biomasa subterránea, respondió de manera positiva, independientemente de la época del año o de la naturaleza del N (orgánica o inorgánica). En *Z. marina*, los sedimentos de granulometría fina, ricos en materia orgánica, también favorecen el crecimiento de la población en comparación con los sedimentos arenosos, pobres en nutrientes (Short 1987). En el trabajo de Short, las diferencias en biomasa se atribuyeron a las concentraciones intersticiales de amonio, las

cuales fueron superiores en sedimentos arenosos, a pesar de una mayor tasa de renovación en sedimentos orgánicos.

Los efectos negativos de la reducción de luz y de las cantidades excesivas de nutrientes sobre el crecimiento de las fanerógamas marinas son conclusiones reiteradamente recogidas en la bibliografía. No obstante, pocos o ninguno de estos trabajos estudia cómo afecta la disponibilidad de luz a los límites de tolerancia de dichos nutrientes.

El objetivo de este capítulo es estudiar cómo responde el crecimiento de dos especies con distinta estrategia de crecimiento (*Z. marina* y *Z. noltii*) a tratamientos simultáneos de luz y nitrógeno en el sedimento. Teniendo en cuenta que en poblaciones naturales es habitual la situación de anoxia en sedimento, se marcó un objetivo secundario para estudiar cómo afecta el potencial redox que rodea al sistema rizomático-radicular en la respuesta de estas dos especies.

5.2. Material y métodos

5.2.1. Selección de plantas

El experimento se llevó a cabo con dos especies del género *Zostera*, *Z. marina* L. y *Z. noltii* Hornem. Como pradera donante se seleccionó una población mixta situada en el intermareal de Zandkreek (Zealand, Países Bajos). En esta comunidad vegetal, el ciclo de vida de ambas especies es de carácter anual. Cada año, los haces foliares aparecen durante la primavera y desaparecen en invierno. La recolección de plantas se realizó a finales de mayo durante un periodo de marea baja. Las plantas se recolectaron del intermareal superior, tomándose únicamente plantas jóvenes en estado de desarrollo similar (un solo haz foliar en el caso de *Z. marina*).

El transplante de las dos especies al mesocosmos se realizó el mismo día de la recolección. Las plantas permanecieron en periodo de aclimatación durante una semana. En el caso de *Z. marina*, se transplantaron plantas completas constituidas por un único haz foliar. En el caso de *Z. noltii* se utilizaron sólo las regiones apicales de las plantas, formadas por dos entrenudos de rizoma junto con las unidades foliares y radiculares correspondientes.

5.2.2. Diseño del mesocosmos

5.2.2.1. Diseño físico

Para elaborar la estructura física del mesocosmos (Figura 1) se utilizaron los siguientes componentes:

- Unidad central de madera (capacidad de 200 x 60 x 60 cm³).
- Juego de lámparas.
- Contenedor de agua.
- Circuito de refrigeración.

Los extremos de la unidad central (13 cm en cada lado) se aislaron con paneles de madera. Dichos espacios se utilizaron como zona de aclimatación térmica del agua entrante y como rebosadero (a 51 cm de altura) respectivamente. La zona central se reservó para colocar macetas.

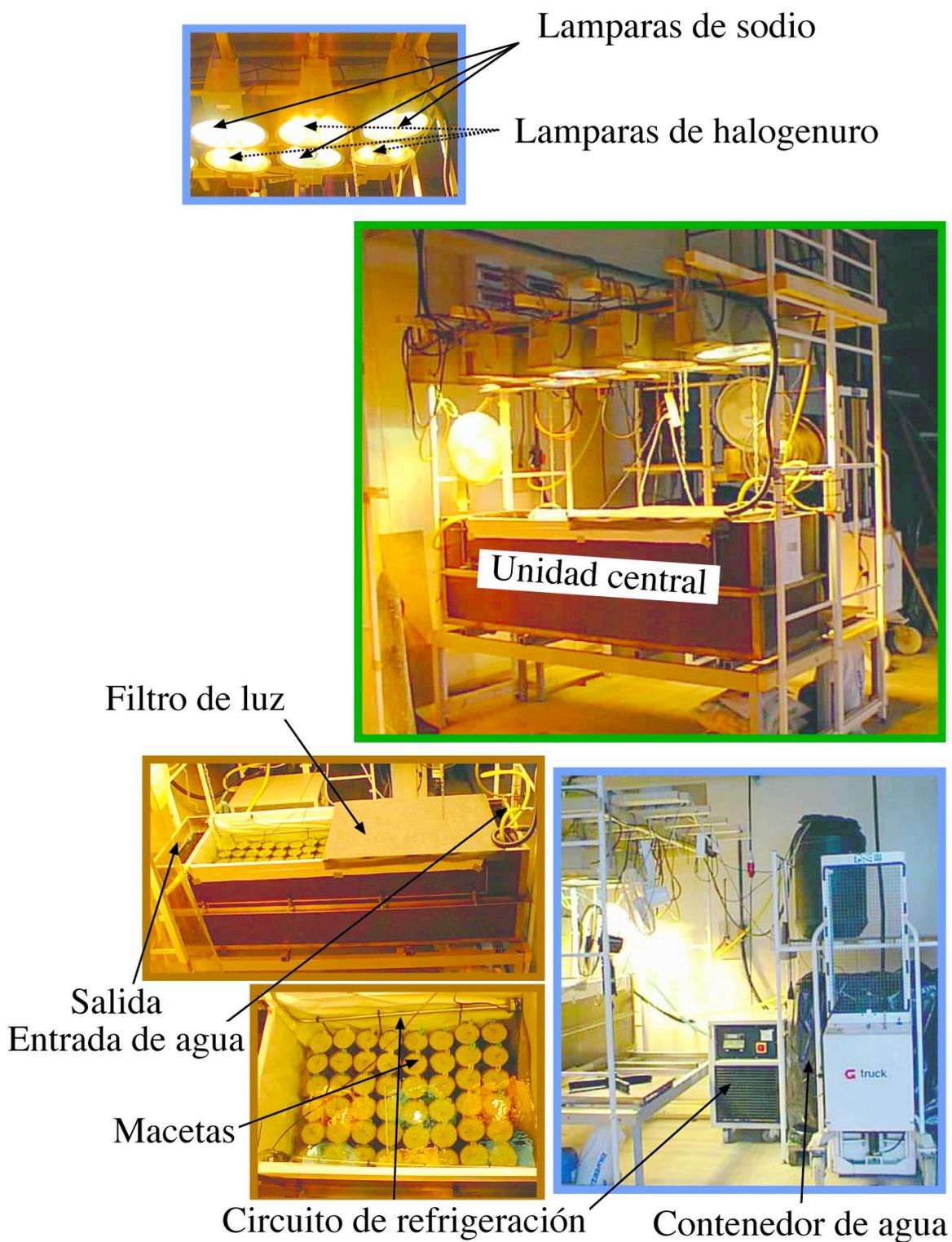


Figura 1. Diseño físico y experimental del mesocosmos.

La luz del mesocosmos se suministró con un juego de luces formado por 5 lámparas de sodio de alta presión (tipo SGR 102-400, 1 x SON-T 400 W) y 5 de halogenuros metálicos (tipo MGR 102-400, 1 x HPI-T 400 W). Las lámparas se suspendieron a 1 m de altura sobre el borde superior del contenedor de madera. Ambos tipos de iluminación se alternaron en 2 filas de 5 lámparas (Figura 1). Durante el periodo experimental se simuló un ciclo de luz:oscuridad de 18:6 h.

El agua procedió del canal Oesterschelde. Este canal presenta una salinidad de 28-29 y posee una morfometría semicerrada, comunicada por el oeste con el Atlántico Norte. Para evitar problemas de suministro generados por los movimientos de marea, durante los periodos de marea alta se bombeó el agua hasta un contenedor situado junto al mesocosmos. El suministro de agua en el mesocosmos se realizó mediante el bombeo constante de 100 l/h. La temperatura se mantuvo constante a 18° C mediante un circuito de refrigeración. Este circuito se instaló en las paredes internas del cuerpo de madera. Finalmente, para homogeneizar la columna de agua se instalaron 8 bombas en diversos puntos del sistema.

5.2.2.2. Diseño de los tratamientos¹ experimentales

El experimento se diseñó utilizando tratamientos combinados de luz y sedimento. En el sedimento se aplicaron 2 tratamientos de naturaleza distinta: tratamiento de nitrógeno y tratamiento de potencial redox (Figura 2).

5.2.2.2.1. Tratamiento de luz

El tratamiento de luz se diseñó en función de la respuesta fotosintética de las plantas, seleccionándose dos niveles²:

L1: luz no saturante para la fotosíntesis ($55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

L2: luz saturante para la fotosíntesis ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

La obtención de ambos niveles se consiguió mediante el uso de filtros neutros.

¹ *Tratamiento experimental:* Este término hace referencia a la variable manipulada (en este caso la luz, el nitrógeno intersticial o el potencial redox).

² *Nivel experimental:* Cada una de las subdivisiones experimentales dentro del *tratamiento* correspondiente.

5.2.2.2. Tratamientos de sedimento

Para simular distintas condiciones de sedimento se empleó un sistema de macetas cilíndricas (8,5 cm de diámetro y 25 cm de altura). Cada maceta se rellenó con 1,9 kg de PS de sedimento arenoso. El sedimento empleado fue una mezcla de 1/4 de arena procedente del canal Oesterschelde y 3/4 de arena comercial Zilverzand®. La composición de ambos sedimentos se recoge en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición media de los sedimentos y la materia orgánica empleados para el cultivo de las plantas.

Muestra	N total (% PS)	P total (% PS)	C orgánico (% PS)
Sedimento del Canal	0,00	0,03	0,11
Zilverzand®	0,00	0,00	0,00
Materia orgánica	1,3		38

Tratamiento de nitrógeno

En cada maceta, la composición inicial del sedimento se modificó con la adición de fertilizantes inorgánicos de liberación lenta (Osmocot®). Los niveles de nitrógeno seleccionados fueron:

- N1:** no enriquecimiento
- N2:** enriquecimiento moderado
- N3:** enriquecimiento alto.

Las cantidades de nutrientes añadidas en cada nivel y la composición final de los sedimentos vienen recogidos en Figura 2 y Tabla 2, respectivamente.

Tratamiento de potencial redox

Para el tratamiento de potencial redox se añadió materia orgánica al sedimento en forma de restos vegetales (1 g/maceta) y celulosa (1g/maceta). Como resto vegetal se utilizó una mezcla pulverizada de plantas de marisma (véase composición en la Tabla 1). Este tratamiento se aplicó únicamente en las macetas sometidas al nivel N3 del tratamiento de nitrógeno (ver Figura 2).

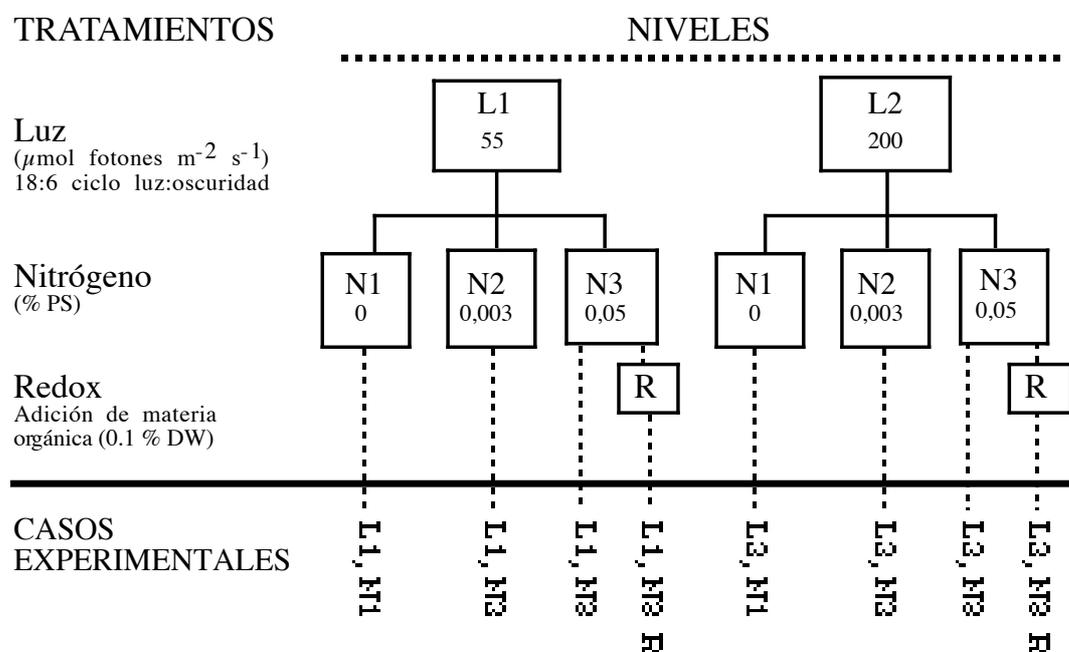


Figura 2. Esquema conceptual del diseño experimental. En cada código alfanumérico, las letras hacen referencia a las variables modificadas en los tratamientos, siendo L: luz, N: nitrógeno y R: potencial redox, mientras los números indican los niveles dentro de cada tratamiento. Dentro de cada caja se indica el valor de la variable en el nivel correspondiente. La materia orgánica añadida es celulosa y restos vegetales a partes iguales. La naturaleza de los aditivos se detalla en tablas anteriores.

Tabla 2. Composición final de los sedimentos en función de los tratamientos de nitrógeno y potencial redox. Los valores de la tabla representan el valor medio y la desviación típica de cada nivel experimental (n=24).

Nivel experimental	C org (g/maceta)	N total (g/maceta)	P total (g/maceta)
N1	0,53 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,54 ± 0,00
N2	0,53 ± 0,00	0,05 ± 0,00	1,67 ± 0,05
N3	0,53 ± 0,00	0,85 ± 0,01	3,81 ± 0,07
N3-R	1,90 ± 0,04	0,87 ± 0,01	3,80 ± 0,04

Una vez instalados los tratamientos en el mesocosmos, y para evitar posibles problemas derivados de la interacción inicial agua-sedimento, el mesocosmos se mantuvo en funcionamiento (sin plantas) durante tres semanas como periodo de rodaje.

El transplante de las dos especies se realizó de forma individual (1 planta por maceta). En cada nivel de luz y sedimento se cultivaron 6 réplicas de cada especie (96 plantas en total). Con el fin de evitar efectos no controlados derivados de la ubicación de la planta dentro del mesocosmos, se diseñó un sistema de rotación. La situación de las macetas en la cavidad central del mesocosmos se interpretó como una matriz imaginaria de 6 filas x 8 columnas. En cada celda se colocaron ejemplares de las dos especies sometidos al mismo caso³ experimental (2 macetas por celda). Para evitar distribuciones no homogéneas de nutrientes en la columna de agua, los niveles de sedimento se alternaron entre celdas continuas. La rotación de las macetas se realizó dos veces por semana, variando la posición de las celdas un espacio dentro de cada fila y otro dentro de cada columna.

La duración del periodo experimental fue de 2 meses. A efectos gráficos y estadísticos, y teniendo en cuenta la dificultad que supuso el diseño experimental, los tratamientos de nitrógeno y potencial redox se trataron como un único tratamiento de sedimento. No obstante a la hora de discutir los resultados se tuvo en cuenta la naturaleza de los casos.

5.2.3. Variables químicas

5.2.3.1. Estado redox en sedimento

El estado redox se estudió únicamente en aquellos sedimentos sometidos al nivel de nitrógeno de alto enriquecimiento sin y con adición de materia orgánica (N3 y N3-R). Este seguimiento se realizó mediante lecturas de diferencia de potencial redox en el sedimento, para lo cual se utilizaron electrodos de acero inoxidable de 25 cm de longitud referidos a un electrodo Ag/AgCl. Dada la dependencia entre el potencial eléctrico, el pH y la

³*Caso experimental:* Cada una de las subdivisiones experimentales que resulta de la combinación de varios tratamientos (ver Figura 2).

temperatura, la calibración de los electrodos se realizó con tampones fosfatos (saturados de hidroquinonas) de pH 4, 7 y 10, a una temperatura de 18 °C.

Las lecturas de potencial se realizaron 2 horas después de comenzar el periodo diario de luz, a una profundidad de 10 cm. En cada muestra se tomaron 6 réplicas de cada caso experimental estudiado.

5.2.3.2. Toma de muestras de agua intersticial

La toma de muestras de agua intersticial se realizó con tubos permeables especialmente diseñados para la toma de muestras en suelos húmedos (Rhizon SMS®). Estos dispositivos están formados por una membrana porosa que rodea a un alfiler de 10 cm de longitud. El extremo que penetra en el sedimento está sellado con resina y el otro extremo se conecta a una jeringuilla para la toma de muestras mediante succión. El agua intersticial se tomó de la franja de sedimento comprendida entre 2 y 12 cm de profundidad. Para cada muestra se tomaron 6 réplicas de cada caso experimental.

5.2.4. Variables biológicas

Como consecuencia de los numerosos tratamientos y réplicas por cada caso experimental, el seguimiento simultáneo de las dos especies en cultivo fue imposible por razones de tiempo. Por este motivo, y teniendo en cuenta los conocimientos previos sobre la capacidad de desarrollo y recuperación de *Z. noltii*, se decidió no examinar el crecimiento de las plantas de esta especie durante los dos meses iniciales del experimento (tiempo en el que se realizó el seguimiento de *Z. marina*). Dos semanas previas al final, las regiones apicales de las plantas de *Z. noltii* volvieron a transplantarse en sus correspondientes macetas (ver apartado 5.1.1).

5.2.4.1. Medidas no destructivas

5.2.4.1.1. Medidas morfométricas

Zostera marina

A partir de la primera semana del periodo experimental, y con una precisión milimétrica, en cada planta de *Z. marina* se realizaron medidas morfométricas cada 12

días. Las variables estimadas (según la metodología descrita en el capítulo 2) se recogen en la Tabla 3.

Zostera noltii

La caracterización morfométrica de las plantas de *Z. noltii* no se realizó hasta las dos últimas semanas de experimentación, estudiándose las diferencias morfométricas entre el comienzo y el final de dicho periodo. Las variables estimadas para esta especie se recogen en la Tabla 3.

Tabla 3. Variables y parámetros estimados en *Z. marina* y *Z. noltii*.

Variable	Abreviatura	Unidades	<i>Z. marina</i>	<i>Z. noltii</i>
Longitud foliar	LF	cm	+	+
Anchura foliar	AF	mm	+	+
Longitud internodal	LI	cm	-	+
Anchura internodal	AI	mm	-	+
Longitud radicular	LR	cm	-	+
Peso seco total	PS _t	g PS planta ⁻¹	+	+
Carbono foliar	C foliar	% PS	+	+
Nitrógeno foliar	N foliar	% PS	+	+
Tasa de crecimiento	TC	mg PS planta ⁻¹ d ⁻¹	+*	+
Tasa de elongación foliar	TEF	cm planta ⁻¹ d ⁻¹	+	+
Tasa de aparición foliar	TAF	hojas planta ⁻¹ d ⁻¹	+	+
Tasa de renovación foliar en longitud	TRF _E	d ⁻¹	+	+
Tasa de renovación foliar en número	TRF _A	d ⁻¹	-	+
Intervalo de plastocrono	IP	d	+	+
Tasa de pérdida foliar en longitud	TPF _E	cm planta ⁻¹ d ⁻¹	+	+
Tasa de pérdida foliar en número	TPF _A	hojas planta ⁻¹ d ⁻¹	-	+
Tasa de elongación internodal	TEI	mm d ⁻¹	-	+
Tasa de aparición internodal	TAI	entrenudos d ⁻¹	-	+
Tasa de elongación radicular	TER	cm d ⁻¹	-	+
Tasa de aparición radicular	TAR	raíces d ⁻¹	-	+
Capacidad cuántica	TTEr _{máx}	μmol e ⁻ m ⁻² s ⁻¹	+	+
Eficiencia cuántica	α _f	μmol e ⁻ μmol fotones ⁻¹	+	+
Coefficiente de fotoinhibición	β _f	μmol e ⁻ μmol fotones ⁻¹	+	-
Intensidad de saturación	I _{sat,f}	μmol fotones m ⁻² s ⁻¹	+	+
Rendimiento cuántico óptimo	F _v /F _m	adimensional	+	+

* sólo para tejido foliar

5.2.4.1.2. Medidas de fluorescencia de la clorofila *a*

Durante los últimos años, los avances tecnológicos han hecho del método de la fluorescencia una herramienta básica en estudios de fisiología vegetal. El complejo espectro de la fluorescencia emitida por las moléculas de clorofila *a in vivo* ha sido objeto de estudio en los últimos 40 años. Los avances en este campo, junto al desarrollo de la técnica de fluorimetría de amplitud modulada (PAM, Schreiber *et al.* 1986) han proporcionado una técnica no destructiva para la evaluación de la capacidad fotosintética y el estado fisiológico de las plantas (Krause y Weis, 1991).

De forma análoga a la respuesta de técnicas oximétricas, la variación de la tasa de transporte electrónico relativo (TTEr) respecto a la luz, permite una evaluación cualitativa del aparato fotosintético de la planta. Esta tasa de transporte de electrones se estima a partir de la respuesta fluorimétrica del tejido fotosintético, como resultado del producto entre el rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II ($\Delta F/F_m'$) y la intensidad luminosa (I) (Flores-Moya *et al.* 1998):

$$TTEr = \frac{\Delta F}{F_m'} * I ; (\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1})$$

Otro parámetro fluorimétrico de notable utilidad es el denominado rendimiento cuántico óptimo (F_v/F_m). Para plantas vasculares, Björkman y Demmig (1987) demostraron que en numerosas especies y ecotipos, el valor de F_v/F_m en hojas no estresadas está cercano a 0,83. Este valor se toma como un punto de referencia para determinar el estado fisiológico (o grado de estrés) del aparato fotosintético.

En este experimento, los parámetros F_v/F_m y $\Delta F/F_m'$ se determinaron mediante el uso de un fluorímetro de amplitud modulada (PAM-2000, Walz). Para determinar la curva TTEr-I se utilizaron 12 intensidades luminosas, entre 0 y $550 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Estas medidas se realizaron al finalizar el periodo experimental y antes de iniciar las medidas destructivas. En cada planta, la respuesta fluorimétrica se estudió sobre la hoja más joven bien formada y con aspecto saludable, a unos 2-4 cm (según el tamaño total de la misma) desde la marca de la vaina.

Para estandarizar los resultados, las medidas se realizaron en condiciones de inmersión con una distancia superficie foliar-sensor de 4 mm y a una temperatura de 18 °C. Las curvas TTEr-I se ajustaron a diferentes modelos según la especie considerada.

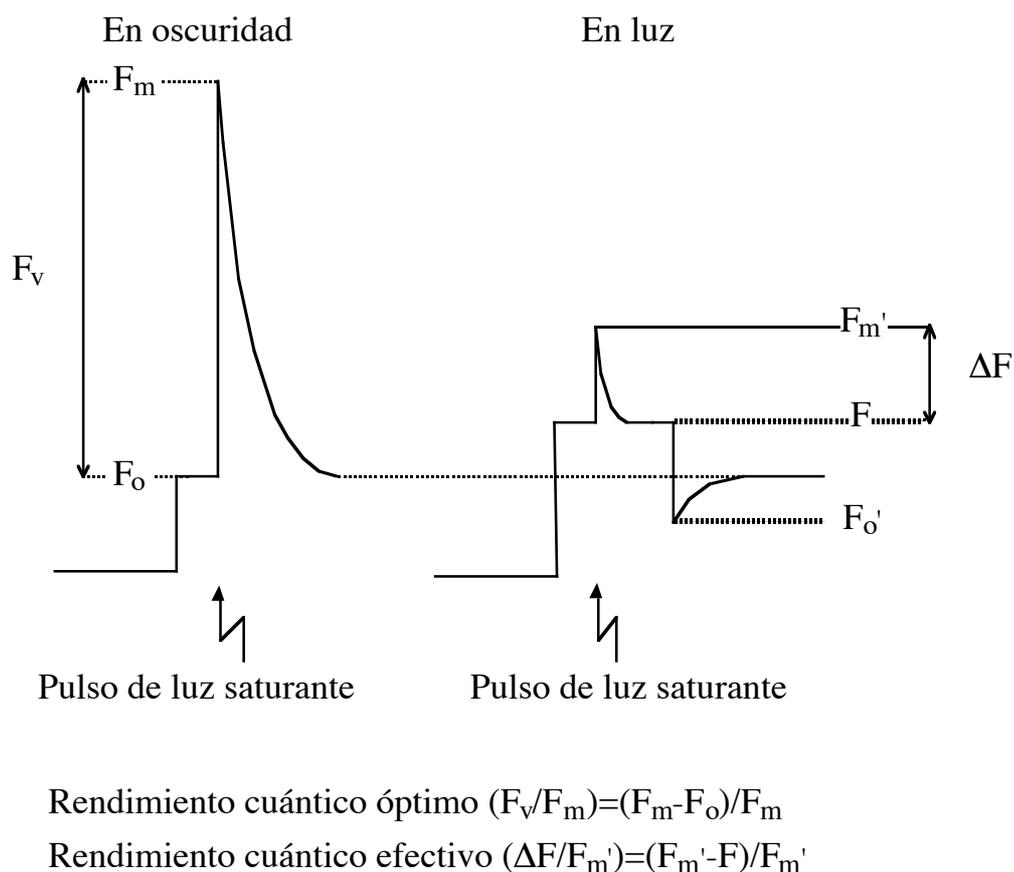


Figura 3. Nomenclatura estándar de las variables características de fluorescencia y definición de parámetros (modificado de Schreiber *et al.* 1995).

Zostera marina

En *Z. marina*, un alto porcentaje de las respuestas TTEr-I describieron una curva de fotoinhibición. Para las respuestas fotosintéticas con síntomas de fotoinhibición, Platt *et al.* (1980) describieron un modelo para fitoplancton marino con un parámetro (β) que caracteriza el grado de fotoinhibición de las curvas fotosíntesis-irradiancia. Tomando este

modelo como referencia, las curvas TTEr-I descritas por *Z. marina* se ajustaron a la siguiente ecuación:

$$TTEr = TTEr_s * \left(1 - e^{-\left[\frac{\alpha_f * I}{TTEr_s} \right]} \right) * e^{-\left[\frac{\beta_f * I}{TTEr_s} \right]}$$

Donde

I es la intensidad luminosa ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

α_f es la eficiencia cuántica ($\mu\text{mol e}^- \mu\text{mol fotones}$)

β_f es la pendiente de fotoinhibición ($\mu\text{mol e}^- \mu\text{mol fotones}$)

$TTEr_s$ es un artificio matemático con las mismas unidades que la tasa máxima de transporte electrónico relativo ($TTEr_{m\acute{a}x}$), o capacidad cuántica ($\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). La relación entre ambos parámetros se expresa en la siguiente ecuación:

$$TTEr_{m\acute{a}x} = TTEr_s * \left(\frac{\alpha_f}{\alpha_f + \beta_f} \right) * \left(\frac{\beta_f}{\alpha_f + \beta_f} \right)^{\beta_f / \alpha_f}$$

La intensidad de saturación ($I_{sat,f}$) se calculó como el punto de corte entre $TTEr_{m\acute{a}x}$ y α_f :

$$I_{sat,f} = \frac{TTEr_{m\acute{a}x}}{\alpha_f}$$

Zostera noltii

A diferencia de la respuesta fluorimétrica registrada para *Z. marina*, en *Z. noltii* no se detectó una respuesta fotoinhibitoria en las curvas TTEr-I. Por este motivo no se empleó el modelo de ajuste de Platt *et al.* (1980) y se optó por un modelo análogo al empleado en el capítulo 2 para el método oximétrico. Así, en esta especie, la respuesta TTEr-I se ajustó a un modelo de hipérbola rectangular (Baly 1935).

$$TTEr = \frac{TTEr_{m\acute{a}x} \cdot \alpha_f \cdot I}{TTEr_{m\acute{a}x} \cdot (\alpha_f + I)} ; (\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1})$$

Donde:

$TTEr_{m\acute{a}x}$ es la capacidad cuántica ($\mu\text{mol e}^- \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

α_f es la eficiencia cuántica ($\mu\text{mol e}^- \mu\text{mol fotones}$)

I es la intensidad luminosa ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

5.2.4.2. Medidas destructivas

5.2.4.2.1. Peso total y relación longitud-peso seco

Finalizado el periodo de medidas no destructivas, cada planta se dividió en módulos estructurales (hojas, rizomas, raíces). Los distintos grupos se secaron a 60-80 °C durante 48 horas, obteniéndose para cada planta el peso total y las relaciones longitud-peso seco de cada módulo.

5.2.5. Análisis estadístico

Tanto en *Z. marina*, como en *Z. noltii*, los efectos de la luz y el sedimento se analizaron mediante un análisis de la variancia (ANOVA) de 2 vías. Los problemas de heterocedasticidad se solucionaron mediante transformación logarítmica de las variables. Las comparaciones *a posteriori* se realizaron mediante el test de Tukey (Zar 1984). Para las variables con un ANOVA positivo, los resultados de las pruebas *a posteriori* se muestran en las figuras correspondientes mediante un código alfabético, cuya interpretación se explica en el pie de cada figura. La ubicación de dicho código depende del efecto significativo del tratamiento. En variables donde se observa un efecto significativo de la interacción de las fuentes de variación (luz y sedimento), el código se representa sobre las columnas de los casos experimentales. Para el resto de situaciones, en la leyenda de la gráfica se representa el resultado correspondiente al tratamiento de luz y bajo el eje de abscisas, el correspondiente al tratamiento de sedimento. En todos los casos se seleccionó un nivel de significación de 0,05.

5.3. Resultados

5.3.1. Variables químicas

5.3.1.1. Estado de potencial redox en sedimento

Tras el periodo de rodaje, en sedimentos enriquecidos con materia orgánica el potencial eléctrico registró medidas iniciales de -90 mV frente a 250 mV en sedimentos sin adición de materia orgánica (Figura 4). Inicialmente, el tratamiento de luz no afectó significativamente a las diferencias de potencial registradas en ambos niveles de sedimento (Tabla 4). Los sedimentos enriquecidos con materia orgánica (N3-R) donde se cultivaron plantas de *Z. marina*, los valores de potencial redox permanecieron entre -90 y -100 mV a lo largo del periodo experimental. Por el contrario, en los sedimentos no tratados con materia orgánica (N3), sí se detectó una reducción del potencial de hasta 200 mV tras 50 días de cultivo (Figura 4).

Por el contrario, en las macetas donde se cultivaron plantas de *Z. noltii* se detectó un efecto significativo tanto del tratamiento de luz como de la adición de materia orgánica (Tabla 4). Comparando los resultados con los obtenidos en *Z. marina*, la disponibilidad de luz saturante (L2) generó un incremento de potencial de más de 150 mV. Mientras que en condiciones de luz subsaturante (L1), en sedimentos enriquecidos con materia orgánica se registraron potenciales de -100 mV frente a 90 mV detectados en sedimentos sin adición de materia orgánica.

5.3.1.2. Concentración de nutrientes en el agua intersticial

5.3.1.2.1. Nitrito y nitrato

Tras 50 días de cultivo, la concentración de nitrito y nitrato en el agua intersticial resultó afectada significativamente por los tratamientos de luz, sedimento y la combinación de ambos (Tabla 4). En los niveles de enriquecimiento alto en nitrógeno (N3, N3-R), el agua intersticial presentó concentraciones similares para ambas especies. En estos niveles no se detectó un efecto significativo de la luz, aunque la concentración de N estuvo notablemente afectada por la adición inicial de materia orgánica (Figura 5). Para ambas

especies, en sedimentos no rectificadas con materia orgánica (N3) la concentración de nitrito y nitrato mostró valores de 5 a 25 veces superiores a los registrados en sedimentos enriquecidos con materia orgánica. En niveles de no enriquecimiento o enriquecimiento moderado (N1 y N2), las concentraciones fueron del orden de $10 \mu\text{M}$ (1000 veces inferiores que en sedimentos de N3). En sedimentos donde se cultivaron plantas de *Z. marina*, la concentración fue significativamente inferior bajo niveles de luz subsaturantes para la fotosíntesis (L1). Por el contrario, para sedimentos donde se cultivaron plantas de *Z. noltii*, las concentraciones llegaron a ser significativamente inferiores bajo el nivel de luz saturante (L2).

5.3.1.2.2. Amonio

Las concentraciones intersticiales de amonio mostraron un comportamiento parecido en los sedimentos de *Z. marina* y *Z. noltii* (Figura 5). Los valores registrados en ambos casos estuvieron básicamente afectados por el tratamiento en sedimento (Tabla 4, Figura 5). Las concentraciones de amonio variaron entre los $150 \mu\text{M}$ de sedimentos tipo N1 y los 30 mM de sedimentos tipo N3. Curiosamente, la adición de materia orgánica no afectó significativamente a las concentraciones intersticiales de amonio. El tratamiento de luz únicamente originó diferencias significativas en los sedimentos de *Z. marina* no enriquecidos. En este nivel de sedimento, tras 50 días de cultivo y bajo condiciones de luz saturante (L2) las concentraciones de amonio disminuyeron significativamente.

Durante el experimento, en la columna de agua las concentraciones de amonio fueron inferiores a $1,5 \mu\text{M}$ y las de nitrito y nitrato inferiores a $10 \mu\text{M}$ (datos no mostrados).

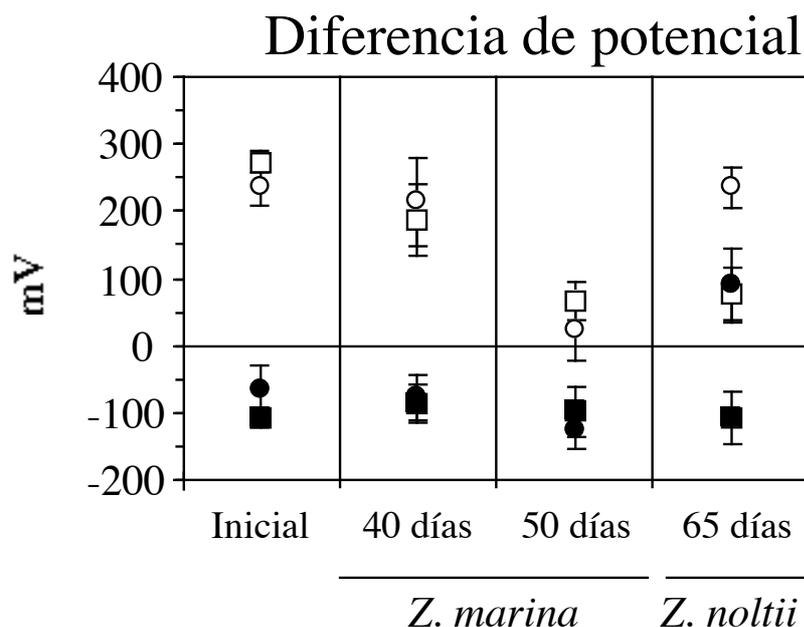


Figura 4. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en las diferencias de potencial en el sedimento. Los símbolos blancos representan sedimentos sin adición de materia orgánica (N3), los símbolos negros representan sedimentos con adición de materia orgánica (N3-R). Los cuadrados representan sedimentos sometidos a luz no saturante para la fotosíntesis (L1) y los círculos, sedimentos sometidos a luz saturante (L2). Las diferencias de potencial entre niveles experimentales se estimaron en una etapa inicial, común para las dos especies, a los 40 y 50 días (periodo 3 y periodo 4) en macetas de *Z. marina*, y a los 65 días en macetas de *Z. noltii*. Las barras representan el error estándar ($3 \leq n \leq 6$).

Tabla 4. Resumen estadístico del efecto de los tratamientos de luz y potencial redox en las variables químicas medidas en el sedimento de cultivo de *Z. marina* y *Z. noltii*. Fuente de variación 1: tratamiento de luz, 2: tratamiento redox.

Variable	Especie	tiempo (días)		Fte. variación		
				1	2	1x2
Diferencia de potencial	<i>Z. marina</i>	Inicial		-	**	-
		40		-	**	-
	<i>Z. marina</i>	50		-	**	-
	<i>Z. noltii</i>	65		**	**	-
	<i>Z. marina</i>	40	T	-	**	-
Nitrito y nitrato	<i>Z. marina</i>	50	T	*	**	*
	<i>Z. noltii</i>	65	T	**	**	*
	<i>Z. marina</i>	40	T	-	*	-
Amonio	<i>Z. marina</i>	50	T	*	**	**
	<i>Z. noltii</i>	65	T	*	**	-

(*): $p < 0,05$; (**): $p < 0,001$

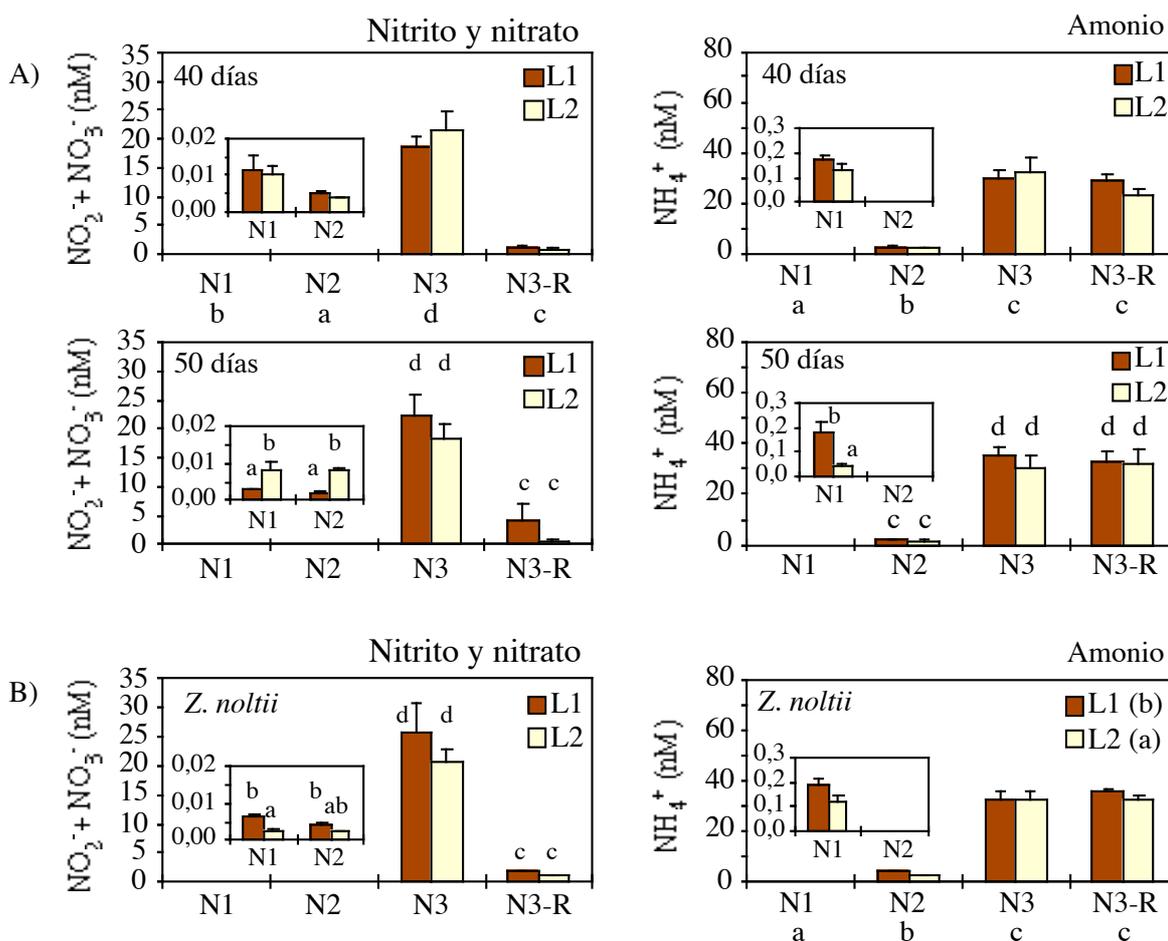


Figura 5. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la concentración de nitrógeno en el agua intersticial de los sedimentos de cultivo de *Z. marina* y *Z. noltii*. A) Concentración de nitrógeno en el sedimento de cultivo de *Z. marina* tras 40 y 50 días de experimentación. B) Concentración de nitrógeno en el sedimento de cultivo de *Z. noltii* tras 65 días de experimentación. Los resultados para los niveles N1 y N2 se representan en detalle (gráfica interna). Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto del tratamiento de luz (en la leyenda), del tratamiento de sedimento (bajo el eje de abscisas) o del efecto combinado de ambos (sobre las columnas) (Tabla 1). La no coincidencia de caracteres entre niveles, o casos (ver nota 1 en página 130) para un efecto combinado de tratamientos, refleja diferencias significativas entre los mismos. Las barras representan el error estándar.

5.3.2. Variables biológicas

Antes de mostrar los resultados biológicos, es necesario puntualizar que la comparación interespecífica de estas variables está limitada por la intensa floración acaecida entre las plantas de *Z. marina*. Debido al elevado porcentaje de plantas con flores al finalizar el periodo experimental (76 %, Figura 6) y a las diferencias de crecimiento entre plantas vegetativas y plantas generativas (ver discusión), se evitará el carácter cuantitativo de las comparaciones interespecíficas entre *Z. marina* y *Z. noltii*.

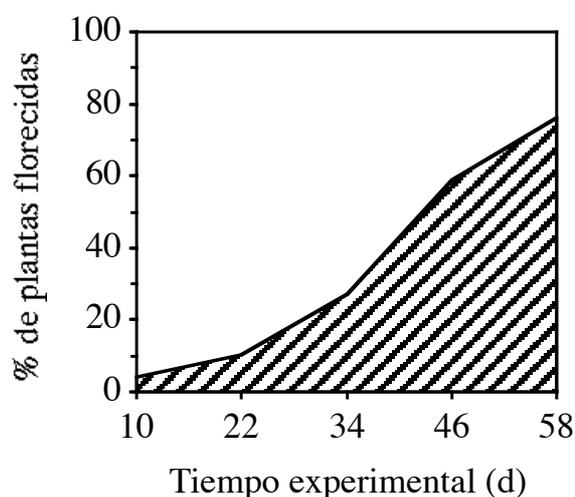


Figura 6. Porcentaje de plantas de *Z. marina* florecidas durante el periodo experimental.

5.3.2.1. *Zostera marina*

Las variables estudiadas en *Z. marina* variaron progresivamente a lo largo del periodo experimental (Figura 7, Tabla 5). En términos de morfometría y crecimiento, los valores aumentaron exponencialmente durante las cuatro primeras semanas, estabilizándose posteriormente. Teniendo en cuenta este comportamiento, y con el objetivo de no complicar en exceso la exposición de los resultados, en gráficas posteriores se mostrarán los resultados correspondientes a los 10 últimos días.

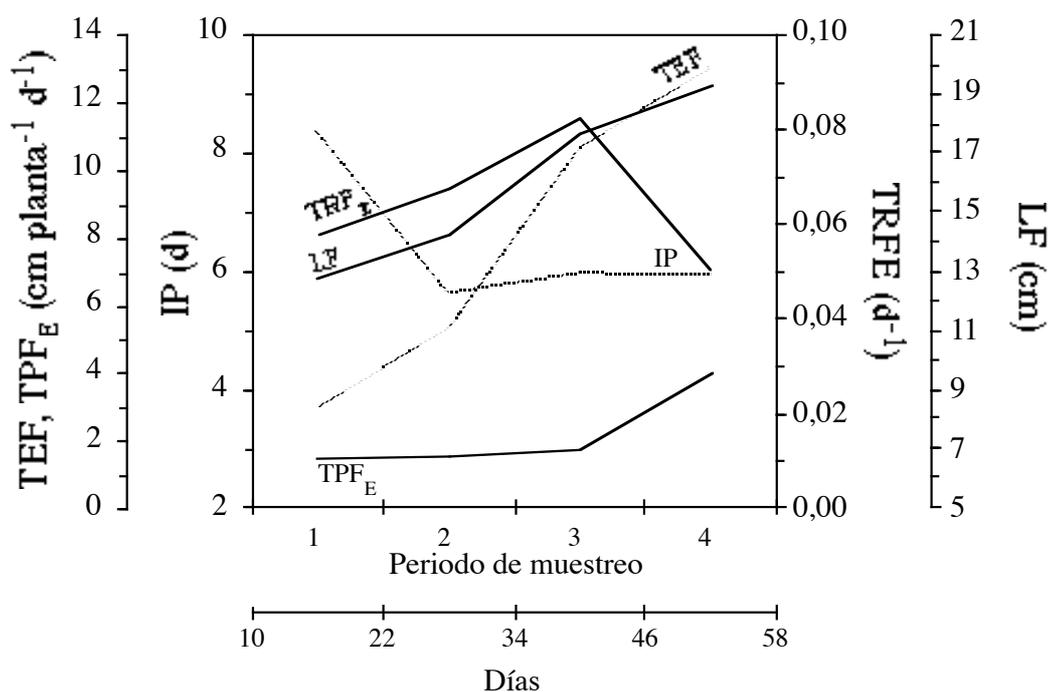


Figura 7. Evolución del valor medio de las variables estudiadas en *Z. marina*

5.3.2.1.1. Morfometría, peso y composición nutricional

Por las razones previamente expuestas (capítulo 2), las tallas medias de cada nivel experimental se estimaron a partir de las tallas máximas registradas en cada planta.

Longitud foliar (LF)

Tras 40 días de cultivo, las LF, inicialmente entre 10 y 15 cm, variaron entre 9,5 y 26,5 cm (Figura 8.A). A lo largo del periodo experimental el tratamiento de luz no afectó significativamente a esta variable, aunque sí el tratamiento de sedimento (Tabla 5). En sedimentos moderadamente enriquecidos (N2), las plantas mostraron hojas significativamente más largas que las de plantas cultivadas en sedimentos no enriquecidos (N1) y en sedimentos con un enriquecimiento alto sin adición de materia orgánica (N3). La adición de materia orgánica al sedimento afectó significativamente a la longitud foliar de las plantas y aquellas cultivadas en sedimentos tipo N3-R mostraron longitudes significativamente mayores que las cultivadas en N1.

Anchura foliar (AF)

La anchura foliar también aumentó durante el periodo experimental. No obstante, por razones de precisión (capítulo 2), esta variable se comenta con un carácter informativo, siendo excluida del tratamiento estadístico.

La anchura foliar permaneció entre 2 y 3,5 mm (Figura 8.B). Las plantas cultivadas bajo luz no saturante para la fotosíntesis (L1) presentaron hojas más estrechas que las cultivadas bajo luz saturante (L2). En función del sedimento, en aquellos no enriquecidos (N1) se observaron plantas con hojas más estrechas.

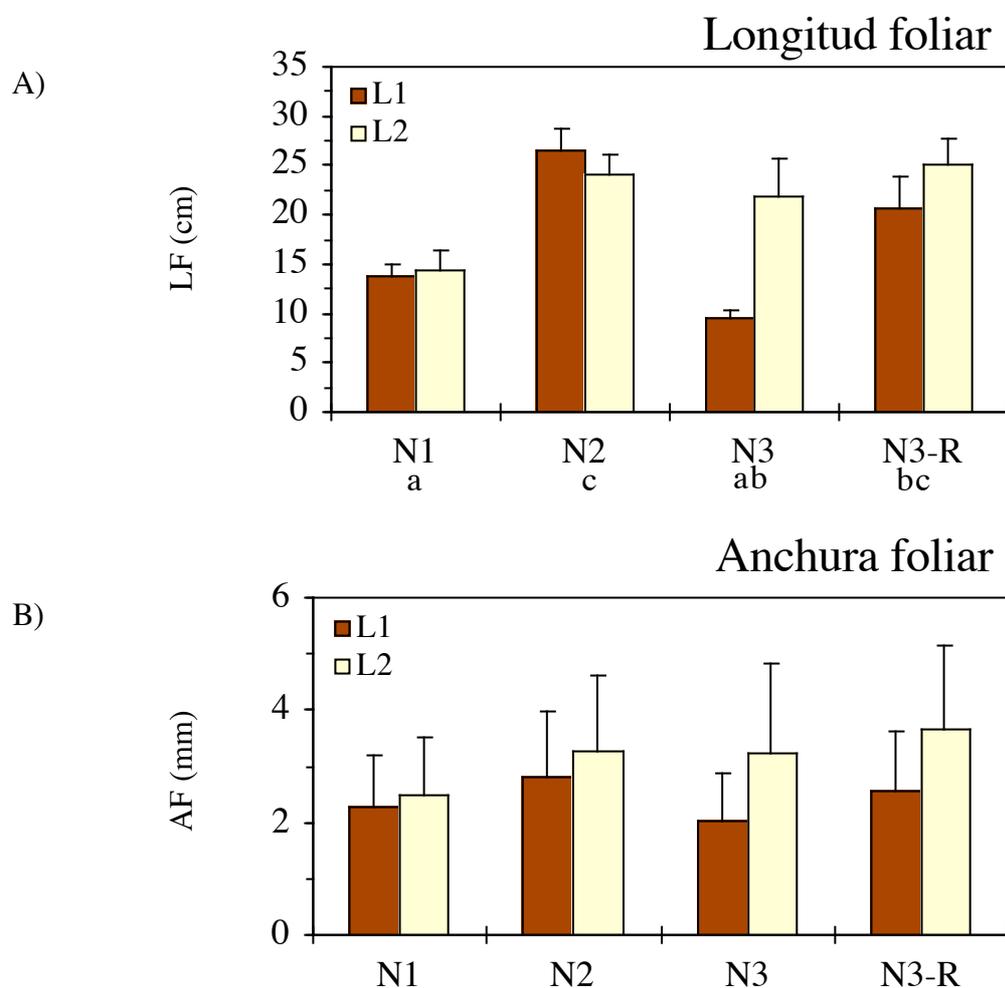


Figura 8. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la morfometría de *Z. marina*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto del tratamiento de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres entre niveles refleja diferencias significativas entre los mismos. Las barras representan el error estándar.

Peso (PS_t)

Al finalizar el periodo experimental, el peso seco de las plantas osciló entre 0,07 y 1,4 g PS planta⁻¹ (Figura 9). Salvo pocas excepciones, el porcentaje de tejido rizomático no superó el 5%, llegando a registrarse mínimos del 2%. El tejido radicular varió entre 4 y 14 % PS, observándose una disminución progresiva en su proporción con el aumento en la disponibilidad de nitrógeno en sedimento (ver detalle en Figura 9).

Tanto el tratamiento de luz como el de sedimento afectaron significativamente al peso final de las plantas (Tabla 5). Bajo condiciones de L1, las plantas mostraron un peso final significativamente inferior al de las plantas cultivadas bajo condiciones de L2 (0,15 y 0,8 g PS planta⁻¹ respectivamente). El enriquecimiento moderado de nitrógeno generó un incremento significativo del peso de las plantas. En cuanto al efecto de un enriquecimiento en nitrógeno elevado (N3 y N3-R), el peso de *Z. marina* mostró notables variaciones en función del tratamiento de luz y de la adición inicial de materia orgánica. Bajo luz saturante (L2), únicamente en sedimentos con adición de materia orgánica el peso aumentó significativamente con respecto al control (N1). Bajo luz subsaturante (L1), las plantas cultivadas en sedimentos tipo N3 mostraron los pesos mínimos para esta especie (0,07 g planta⁻¹).

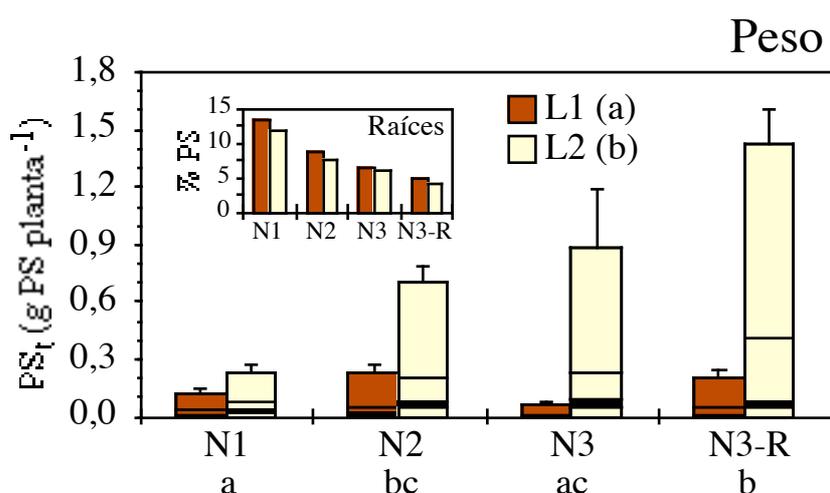


Figura 9. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en el peso de *Z. marina* y detalle de la proporción de biomasa radicular. En la gráfica principal, las columnas están divididas en fracciones representando, de arriba a abajo, hojas, entrenudos foliares, rizomas (en negro) y raíces. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto del tratamiento de luz (en la leyenda) y del tratamiento de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres entre niveles refleja diferencias significativas entre los mismos. Las barras representan el error estándar.

Contenido foliar en nutrientes

Tanto el contenido de carbono, como el de nitrógeno foliar estuvieron afectados únicamente por el tratamiento en sedimento (Tabla 5). El contenido en C varió entre 25 y 30% de PS (Figura 10.A). Las plantas cultivadas en suelos moderadamente enriquecidos (N2) mostraron un contenido en C foliar significativamente superior que el detectado en las plantas cultivadas en sedimentos no enriquecidos (Figura 10.A).

Por otro lado, el contenido en N foliar presentó valores cercanos al valor considerado como crítico para el tejido foliar de fanerógamas marinas (1,8% PS, Duarte 1991). El contenido en nitrógeno osciló entre 1,5 y 2 % de PS. Las plantas cultivadas en sedimentos tipo N1 mostraron valores de N significativamente inferiores que los detectados en N2 y N3-R. Bajo niveles de luz, tanto saturante (L2), como no saturante (L1), el valor de 1,6 % PS detectado en plantas cultivadas en sedimentos tipo N1 sugiere una limitación de crecimiento por N. Junto a este caso, únicamente las plantas cultivadas en sedimentos tipo N3 y bajo condiciones de L2 mostraron niveles de N inferiores al 1,8 %PS.

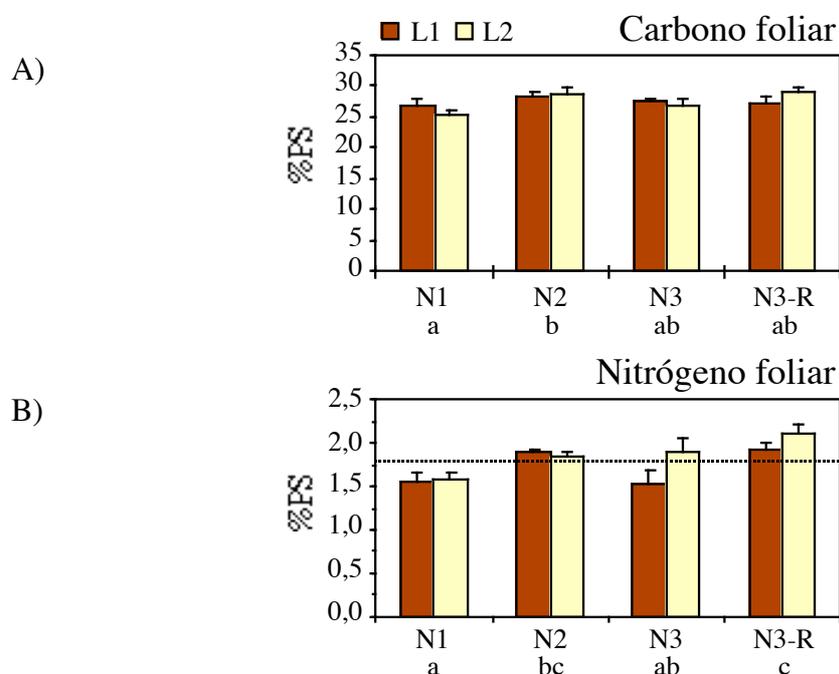


Figura 10. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en el contenido de carbono y nitrógeno foliar de *Z. marina*. La línea discontinua en la gráfica de N foliar representa el valor considerado crítico para fanerógamas marinas (Duarte 1991). Los códigos alfabéticos bajo el eje de abscisas muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto del tratamiento de sedimento. Las diferencias significativas vienen representadas por la no coincidencia de caracteres entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.1.2. Tasa de crecimiento (TC)

En *Z. marina*, debido a la falta de datos correspondientes a la porción subterránea, no se dispone de resultados de crecimiento total de la planta. Por este motivo las tasas de crecimiento en peso seco corresponden únicamente a la fracción foliar. La tasa de crecimiento foliar (TC) se estimó en función de la tasa de elongación foliar (TEF) y de la relación longitud-peso seco. No obstante, al ser ésta última de carácter destructivo y considerando que la morfología media de esta especie varió notablemente a lo largo del experimento (Figura 8), la TC se estimó únicamente para el último intervalo de muestreo.

Las TC variaron en un amplio rango comprendido entre 1 y 48 mg PS planta⁻¹ d⁻¹ (Figura 11). Los dos tratamientos (luz y sedimento) y el efecto combinado de ambos afectaron significativamente a esta variable (Tabla 5). En condiciones de luz no saturante (L1), las plantas mostraron valores inferiores a 8,5 mg PS planta⁻¹ d⁻¹. Si se comparan los valores con el crecimiento de plantas cultivadas en suelos no enriquecidos (N1), la adición de nitrógeno no generó diferencias significativas en la tasa de crecimiento. No obstante, las plantas cultivadas en sedimentos tipo N3 registraron las tasas de crecimiento mínimas con valores de 1 mg PS planta⁻¹ d⁻¹. Éstas fueron significativamente inferiores a los valores estimados en plantas cultivadas tanto en suelos con materia orgánica añadida (N3-R) como en suelos moderadamente enriquecidos (N2). Por el contrario, en condiciones de luz saturante (L2), la adición de nitrógeno al sedimento sí estimuló significativamente las TC (Figura 11). Entre los distintos niveles con adición de nitrógeno (N2, N3, N3-R) no llegaron a detectarse diferencias significativas en las TC, registrándose los valores máximos (48 mg PS planta⁻¹ d⁻¹) para las plantas cultivadas en sedimentos tipo N3-R.

Estudiando el crecimiento en términos de longitud (TEF) y en términos de aparición de nuevas unidades foliares (TAF), se detectó una fuerte correlación directa entre ambas tasas ($r=0,95$, $p<0,001$) (Figura 12). Por este motivo, y tratando de evitar una exposición redundante de información, se consideró oportuno omitir de este apartado los resultados obtenidos a partir de uno de estos cambios. De este modo, considerando que los cambios en longitud expresan de una forma más intuitiva la generación foliar a partir de los meristemas, sólo se mostrarán las variables estimadas a partir de dicha variación (TEF, TRF_E, TPF_E; ver Tabla 3).

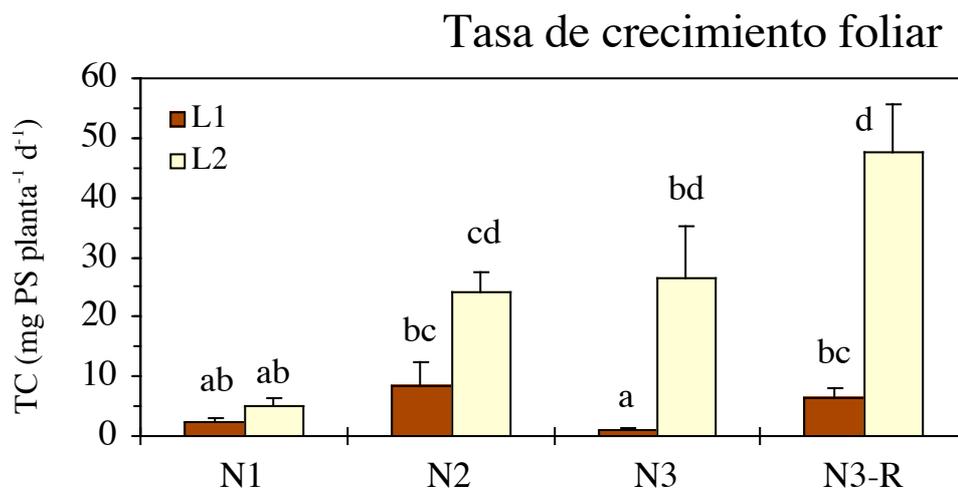


Figura 11. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de crecimiento foliar de *Z. marina*. El código alfabético sobre las columnas muestra las comparaciones *a posteriori* del efecto combinado de los dos tratamientos. La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre casos experimentales. Las barras representan el error estándar.

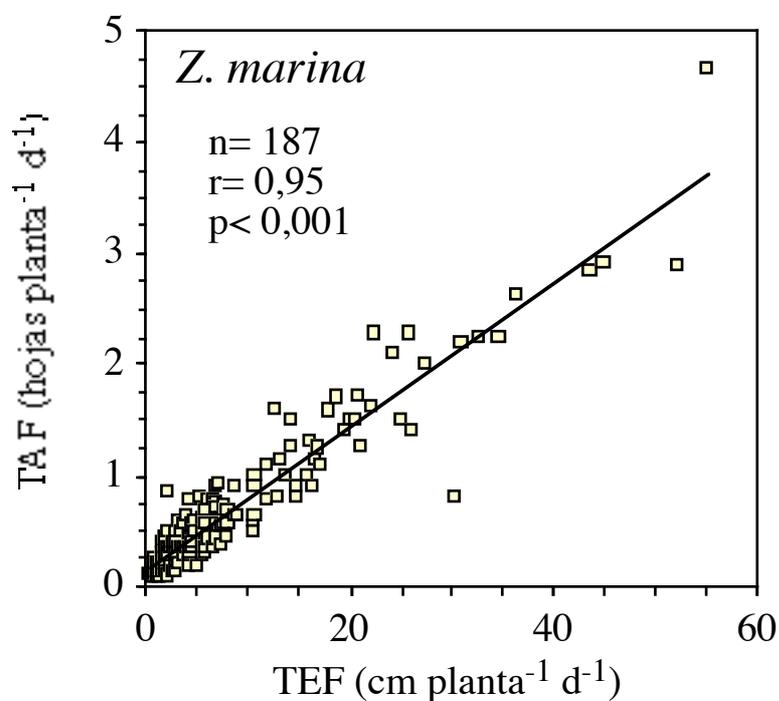


Figura 12. Correlación entre la tasa de elongación foliar (TEF) y la tasa de aparición foliar (TAF) en *Z. marina*.

5.3.2.1.3. Tasa de elongación foliar (TEF)

Desde las primeras medidas, los tratamientos de luz y sedimento afectaron significativamente a las tasas de elongación foliar (Tabla 5). En los últimos 12 días, las TEF variaron notablemente entre los niveles experimentales, registrándose valores comprendidos entre 1,5 y 35 cm planta⁻¹ d⁻¹ (Figura 13). La respuesta de esta variable a los tratamientos de luz y sedimento reflejó los mismo resultados ya descritos para las tasas de crecimiento foliar. Bajo condiciones de luz subsaturantes (L1), el enriquecimiento elevado de nitrógeno generó un mínimo de crecimiento en suelos sin materia orgánica añadida (N3). Por el contra, bajo condiciones de luz saturante (L2), todos los niveles de adición de nitrógeno estimularon las TEF, siendo máximas en plantas cultivadas en suelos con materia orgánica añadida (N3-R).

5.3.2.1.4. Tasa de renovación foliar en longitud (TRF_E)

Aunque a distinta escala temporal, tanto el tratamiento de luz como el tratamiento de sedimento afectaron significativamente a la TRF_E (Tabla 5). Transcurridas las tres primeras semanas, el tratamiento de luz afectó significativamente a esta variable (Tabla 5). Sin embargo, en el último muestreo sólo el tratamiento de sedimento afectó significativamente a las TRF_E. En estos últimos 12 días, las TRF_E variaron entre 0,02 y 0,07 d⁻¹ (Figura 13). Tomando como nivel de referencia las TRF_E en plantas cultivadas en suelos no enriquecidos (N1), el enriquecimiento moderado de nitrógeno (N2) estimuló significativamente las TRF_E (Figura 13). Dicho efecto también se detectó en sedimentos con un enriquecimiento alto de nitrógeno y adición de materia orgánica (N3-R).

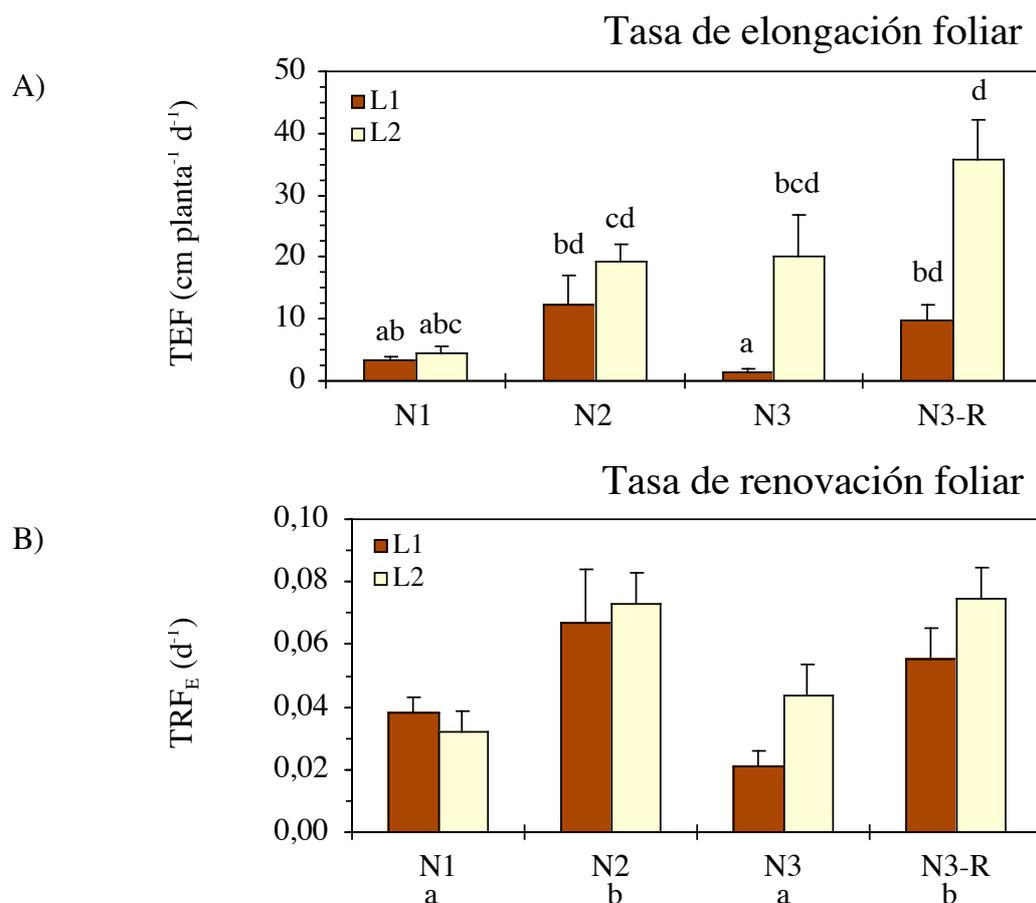


Figura 13. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de elongación foliar (TEF) y la tasa de renovación foliar en longitud (TRF_E) de *Z. marina*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto del tratamiento de sedimento (bajo el eje de abscisas) o del efecto combinado de los dos tratamientos (sobre las columnas). La no coincidencia de caracteres implica diferencias significativas entre niveles o casos experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.1.5. Intervalo de plastocrono (IP)

Las plantas vegetativas del género *Zostera* presentan una ramificación monopódica⁴. Por el contrario, la ramificación de las plantas generativas de *Z. marina* es de naturaleza simpódica⁵ (Tomlimson 1974). En capítulos anteriores se estimó el intervalo de plastocrono a partir de las hojas generadas por el meristemo apical. No obstante, como

⁴*Monopodio*: tipo de ramificación que se compone de un eje principal, en cuyo ápice se halla perdurablemente el punto vegetativo y de cuyos flancos arrancan ramificaciones secundarias.

⁵*Simpodio*: Tipo de ramificación que consiste en una serie de brotes concrecentes, unidos por sus extremos en un solo cuerpo axial.

consecuencia del fenómeno intenso de floración en *Z. marina* (Figura 6), el IP de esta especie se estimó a partir los meristemos de producción máxima entre cada dos medidas.

Los tratamientos de luz y sedimento afectaron significativamente al IP a lo largo del periodo experimental, aunque con diferencias temporales (Tabla 5). En los últimos 12 días, el IP de las plantas cultivadas bajo L2 varió entre 3 y 7 días (Figura 14). Estos valores fueron significativamente inferiores que los registrados en plantas cultivadas bajo L1 (6-8 días). Bajo ambos niveles de luz, los mínimos de IP se observaron en plantas cultivadas en sedimentos tipo N3-R. En estas plantas, los valores fueron significativamente inferiores que los detectados en plantas cultivadas en suelos no enriquecidos (N1).

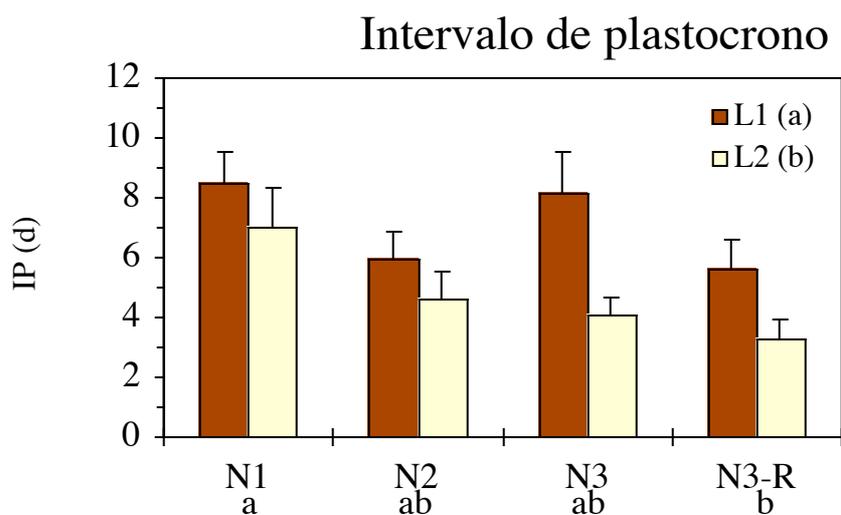


Figura 14. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en el intervalo de plastocrono de *Z. marina*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto de los tratamientos de luz (en la leyenda) y de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

Tabla 1. Resumen estadístico del efecto de los tratamientos de luz y sedimento en las variables estimadas en *Z. marina*. El resumen estadístico de las variables LF, TEF, TRF_E, IP y TPF_E viene organizado en intervalos de muestreo (1-4). Para el resto de variables, la tabla refleja los resultados correspondientes al último intervalo de muestreo (46- 56 días). LF (longitud foliar) en el tiempo final de cada intervalo, PS₁ (peso de la planta) C foliar (carbono foliar), N foliar (nitrógeno foliar), TC (tasa de crecimiento), TEF (tasa de elongación foliar), TRF_E (tasa de renovación foliar), IP (Intervalo de plastocrono), TPF_E (tasa de pérdida foliar), TTE_r^{max} (Capacidad cuántica), α_f (eficiencia cuántica), β_f (coeficiente de fotoinhibición), I_{sat,f} (Intensidad de saturación), F_v/F_m (rendimiento cuántico óptimo). Fuentes de variación (1): Luz, (2): Sedimento. La letra T bajo las variables hace referencia a la transformación logarítmica de los resultados por problemas de heterocedasticidad. Las celdas vacías implican ausencia de resultados.

Intervalo	Fte. de variación	Variable	LF	PS ₁	C foliar	N foliar	TC	TEF	TRF _E	IP	TPF _E	TTE _r ^{max}	α_f	β_f	I _{sat,f}	F _v /F _m
						T	T	T			T			T		
1 (22 días)	1	-	-	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1x2	-	-	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 (34 días)	1	-	-	-	-	-	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*
	2	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1x2	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*	*	*	*	*	*
3 (46 días)	1	-	-	-	-	-	**	**	**	-	*	*	*	*	*	*
	2	*	*	*	*	*	**	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	1x2	-	-	-	-	-	*	-	-	-	*	*	*	*	*	*
4 (58 días)	1	-	**	-	-	**	**	**	-	*	*	*	*	*	*	*
	2	**	**	*	**	**	**	**	**	*	*	*	*	*	*	*
	1x2	-	-	-	-	*	*	*	-	-	-	-	-	-	-	-

(*): p<0,05; (**):p<0,001

5.3.2.1.6. Tasa de pérdida foliar (TPF_E)

A diferencia de otras variables, la TPF_E no mostró un comportamiento temporal progresivo. Por el contrario, los valores se dispararon a partir de los 40 días de cultivo (Figura 7), comenzando un declive prematuro de las plantas.

El tratamiento de luz parece ser el factor que mejor explica las diferencias registradas en esta variable (Tabla 5). Anecdóticamente, en el tercer periodo de muestreo (periodo anterior) se observó un efecto significativo de todas las fuentes de variación consideradas (Tabla 5). Este efecto estuvo generado por el desfase temporal en el comienzo del declive foliar entre los niveles de sedimento sometidos a condiciones de luz saturante (L2) (ver Figura 15 y detalle).

En las dos últimas semanas, las TPF_E variaron significativamente con el tratamiento de luz (Tabla 5). Bajo condiciones de L2, llegaron a registrarse TPF_E máximas de 8 cm planta⁻¹ d⁻¹ (valores 4 veces superiores que las TPF_E máximas registradas bajo L1).

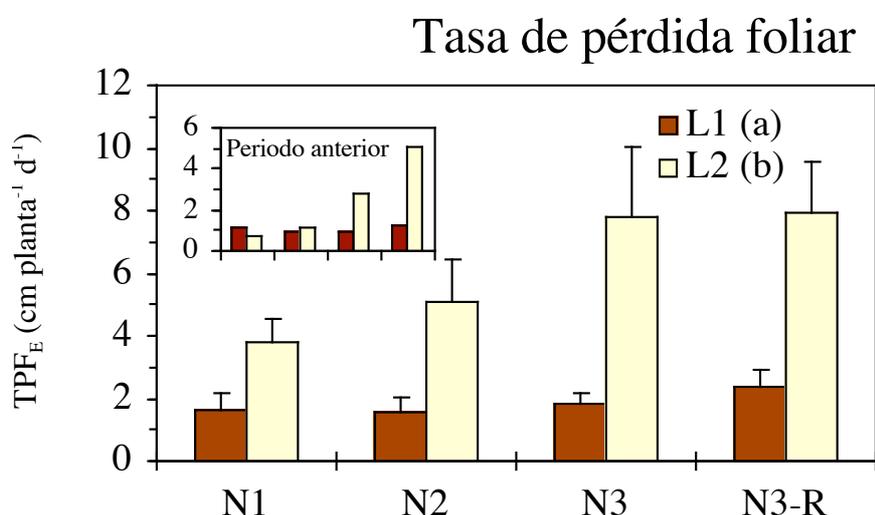


Figura 15. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de pérdida foliar de *Z. marina* y detalle de la situación en el periodo anterior. El código alfabético en la leyenda de la figura muestra la comparación *a posteriori* del efecto del tratamiento de luz. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.1.7. Respuesta fluorimétrica

Ningún tratamiento experimental afectó significativamente a los parámetros fotosintéticos calculados a partir de la respuesta fluorimétrica de los tejidos foliares ($TTER_{m\acute{a}x}$, α_f , β_f , $I_{sat,f}$; Tabla 5). La existencia de coeficientes positivos de fotoinhibición (β_f), especialmente en plantas sometidas a niveles de luz saturante (L2), mostró la sensibilidad de esta especie a situaciones de elevada disponibilidad de luz (Figura 16). El rendimiento cuántico óptimo estuvo afectado significativamente por el tratamiento de sedimento (F_v/F_m), detectándose diferencias significativas entre las plantas cultivadas en sedimentos moderadamente enriquecidos (N2) y las aquellas cultivadas en sedimentos tipo N3-R. En este último nivel, se detectaron valores mínimos de 0,6, lo cuales podrían interpretarse como un indicio de estrés moderado en el aparato fotosintético de estas plantas.

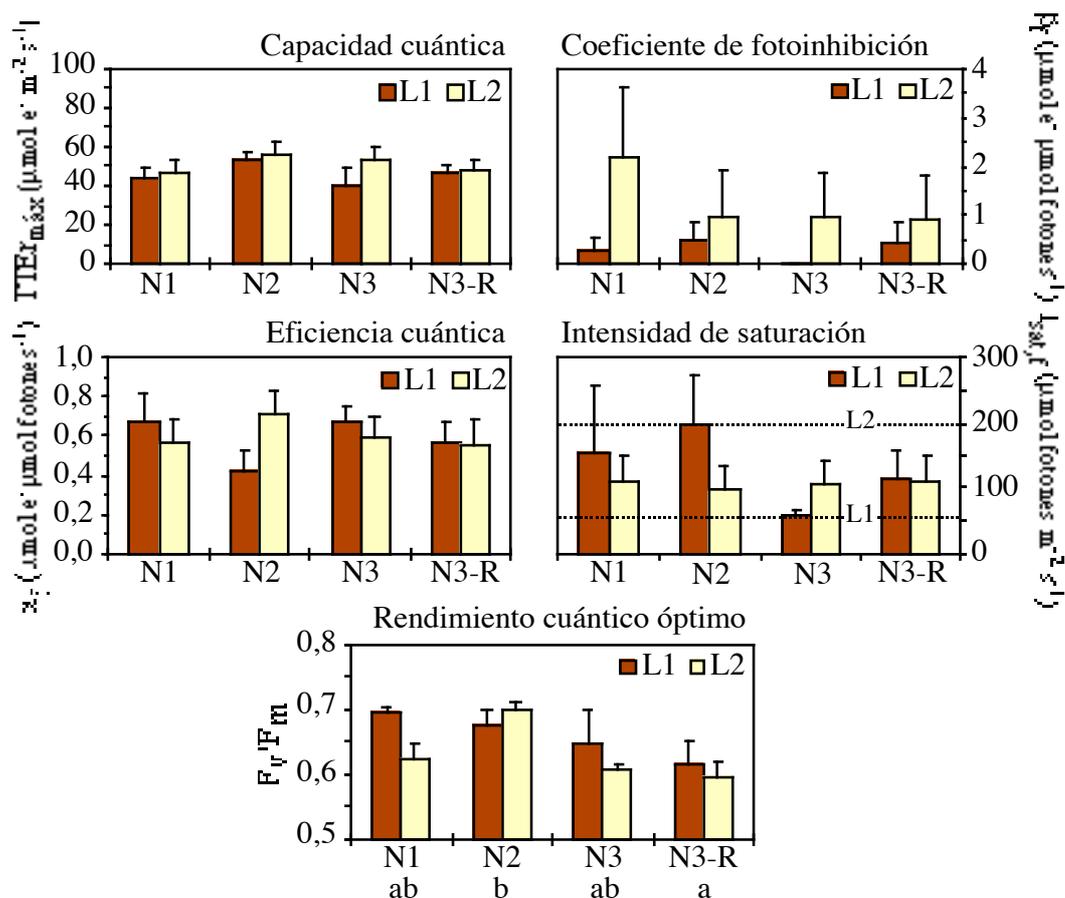


Figura 16. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la respuesta fluorimétrica de *Z. marina*. Las líneas discontinuas en la figura de intensidad de saturación representan la intensidad de los niveles experimentales correspondientes (L1 y L2). El código alfabético bajo el eje de abscisas muestra la comparación *a posteriori* del efecto del tratamiento de sedimento. La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.2. *Zostera noltii*

5.3.2.2.1. Morfometría, peso y composición nutricional

Como en *Z. marina*, la caracterización morfométrica de los distintos módulos de *Z. noltii* (hojas, rizomas y raíces) se realizó a partir de la talla máxima en cada planta.

Morfometría foliar

La longitud foliar (LF) de *Z. noltii* mostró valores comprendidos entre 7,5 y 17 cm. Los dos tratamientos experimentales (luz y sedimento) originaron diferencias significativas en esta variable (Tabla 6). Bajo intensidades de luz no saturantes (L1), las plantas desarrollaron hojas de longitud significativamente más largas que las plantas cultivadas bajo intensidades de luz saturantes (L2, Figura 17.A). En sedimentos de enriquecimiento elevado en nitrógeno sin adición de materia orgánica (N3), las plantas desarrollaron hojas significativamente más cortas que en otros sedimentos. Este comportamiento fue especialmente llamativo en plantas cultivadas bajo L1, en las que se registraron longitudes similares a las detectadas en plantas cultivadas bajo L2 (8 cm, Figura 17.A). El ancho foliar se mantuvo entre 1-1,2 mm en todos los niveles experimentales (Figura 17.B).

Morfometría rizomática

Los tratamientos de luz y sedimento, así como el efecto combinado de ambos, afectaron significativamente a la longitud internodal (LI; Tabla 6). Bajo condiciones de luz saturante (L2), esta variable aumentó significativamente en plantas cultivadas en sedimentos enriquecidos moderadamente (N2), mostrando valores máximos de 2,4 cm (Figura 17.C). En el resto de casos experimentales la LI fluctuó levemente alrededor de 1,5 cm, exceptuando aquellas plantas cultivadas bajo L1 y en sedimentos tipo N3, en las cuales se detectaron longitudes mínimas de 0,6 cm. Este valor fue significativamente inferior que los registrados en plantas cultivadas bajo L2 en suelos enriquecidos con nitrógeno (N2, N3, N3-R). La anchura internodal (AI) permaneció entre 1 y 1,2 mm en todos los niveles experimentales (Figura 17.D).

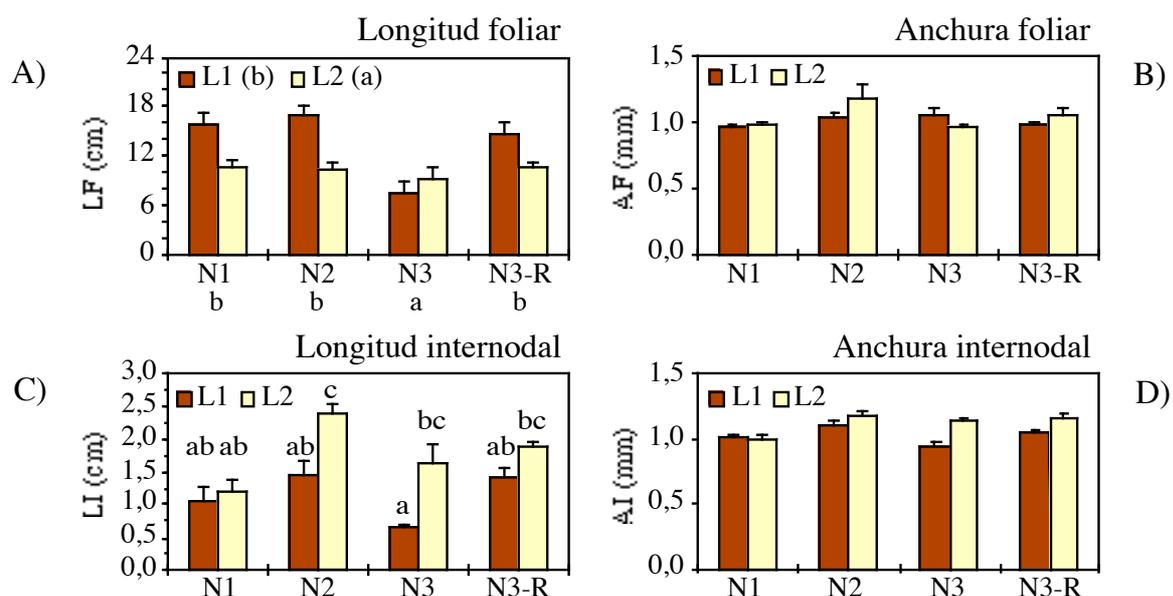


Figura 17. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la morfometría foliar y rizomática de *Z. noltii*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto de los tratamientos de luz (en la leyenda), de sedimento (bajo el eje de abscisas) y/o de ambos tratamientos (sobre las columnas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

Longitud radicular (LR)

La longitud radicular varió entre 2 y 6 cm (Figura 18.A) y estuvo significativamente afectada por el tratamiento de sedimento (Tabla 6). Nuevamente, las plantas cultivadas en sedimentos con un enriquecimiento elevado en nitrógeno sin adición de materia orgánica (N3) mostraron valores mínimos, significativamente inferiores que las cultivadas en suelos no enriquecidos (N1).

Peso (PS_t)

Al finalizar las dos semanas de seguimiento, el peso seco medio por planta, varió entre 10 y 45 mg PS planta⁻¹ (Figura 18.B). Tanto el tratamiento de luz como el de sedimento afectaron significativamente a esta variable (Tabla 6). Las plantas cultivadas bajo luz no saturante (L1) registraron pesos máximos de 30 mg PS, significativamente inferiores que las cultivadas bajo luz saturante (L2), las cuales registraron máximos de 40 mg PS (Figura 18.B). Bajo ambos niveles de luz, el enriquecimiento con nitrógeno (N2 y N3-R) estimuló significativamente el aumento de peso por planta. Dicho aumento no fue

observado en plantas cultivadas en sedimentos tipo N3, donde las plantas cultivadas bajo L1 registraron los mínimos de peso (10 mg PS). Como en el caso de *Z. marina*, las plantas de *Z. noltii* cultivadas en suelos tipo N1 registraron los mayores porcentajes de biomasa radicular. con medias de 11% PS frente a máximos del 7 % PS para el resto de casos experimentales.

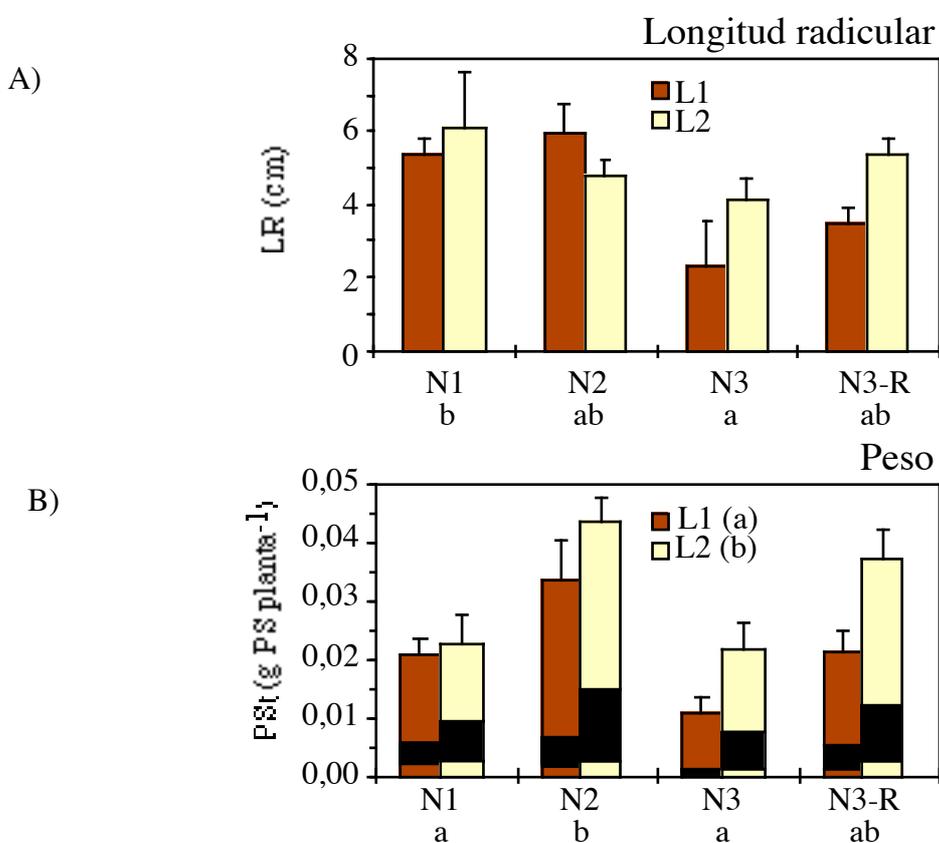


Figura 18. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la longitud radicular media y el peso de *Z. noltii*. En la figura correspondiente al peso final, las columnas se han fragmentado según el peso correspondiente (de arriba a abajo) de las hojas, rizomas (negro) y raíces. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto del tratamiento de luz (en la leyenda) y/o del tratamiento de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

Contenido foliar de nutrientes

Tanto el tratamiento de luz como el de sedimento afectaron significativamente al contenido en carbono y nitrógeno foliar (Tabla 6). Bajo condiciones de luz saturante (L2), las plantas mostraron un contenido en C significativamente inferior que las plantas cultivadas bajo L1 (Figura 19.A). En sedimentos con un enriquecimiento alto de N sin adición de materia orgánica (N3), el contenido en C fue significativamente inferior que en sedimentos complementados con materia orgánica (N3-R) (Figura 19.A). Como en el caso del carbono, el contenido en N foliar también fue significativamente mayor en plantas cultivadas bajo L1. Además, bajo los dos niveles de luz, las plantas cultivadas en sedimentos tipo N3-R mostraron máximos de N foliar, con valores significativamente mayores que los registrados en sedimentos no enriquecidos (N1) (Figura 19.B).

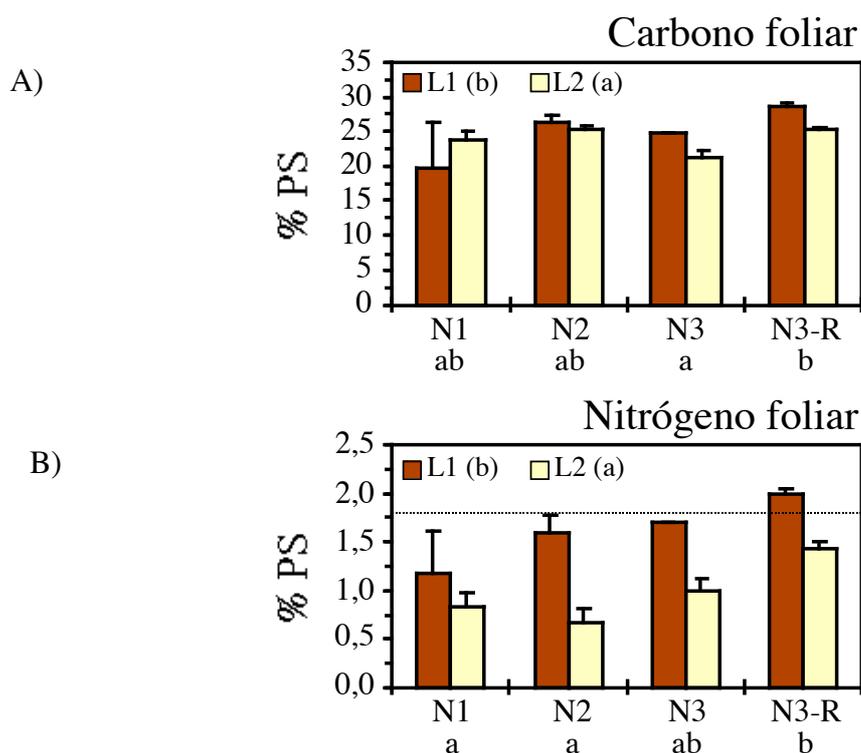


Figura 19. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en el contenido de carbono y nitrógeno foliar de *Z. noltii*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto de los tratamientos de luz (en la leyenda) y de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.2.2. Tasa de crecimiento (TC)

A diferencia de *Z. marina*, en *Z. noltii* se estimaron las tasas de crecimiento para toda la planta (Figura 20). En esta especie, las tasas de crecimiento variaron entre 0,1 y 1,7 mg PS planta⁻¹ d⁻¹. Como en casos anteriores, tanto el tratamiento de luz como el de sedimento afectaron significativamente a esta variable (Tabla 6). Las plantas cultivadas bajo condiciones de luz no saturante (L1) exhibieron TC significativamente inferiores que las cultivadas bajo L2 (Figura 20). Bajo ambos niveles de luz, los mínimos de crecimiento se registraron en plantas cultivadas en sedimentos con un enriquecimiento elevado en nitrógeno sin adición de materia orgánica (N3) (0,4 mg PS planta⁻¹ d⁻¹). Por otra parte, los máximos de crecimiento se registraron en sedimentos con un enriquecimiento moderado en nitrógeno (N2) (1,4 mg PS planta⁻¹ d⁻¹), siendo estos valores significativamente mayores que los registradas en suelos no enriquecidos (N1).

La distribución del crecimiento entre los distintos módulos también mostró ligeras diferencias entre casos experimentales (Figura 20). En general, el porcentaje de crecimiento rizomático fue ligeramente superior bajo L2 en detrimento del porcentaje foliar. Por otro lado, el crecimiento de raíces no mostró ningún comportamiento asociado al tratamiento de luz, siendo máximo en sedimentos tipo N1. Excepcionalmente, bajo L1, el crecimiento de plantas cultivadas en sedimentos tipo N3, se repartió equilibradamente entre las hojas y el rizoma, registrándose un crecimiento radicular insignificante.

Con el fin de profundizar en el efecto de los tratamientos sobre el crecimiento, se realizó un análisis detallado de éste en cada módulo vegetal (hojas, rizomas y raíces).

5.3.2.2.3. Tasa de elongación foliar (TEF)

Las tasas de elongación foliar en *Z. noltii* variaron entre 0,15 y 2,35 cm planta⁻¹ d⁻¹ (Figura 21.A). El tratamiento de sedimento afectó significativamente a esta variable (Tabla 6). Bajo los dos niveles de luz, las plantas cultivadas en sedimentos con un enriquecimiento moderado en nitrógeno (N2) mostraron TEF significativamente superiores a las registradas en plantas cultivadas en suelos no enriquecidos (N1) (Figura 21.A). Los mínimos de elongación foliar se registraron en sedimentos de enriquecimiento elevado sin adición de materia orgánica (N3).

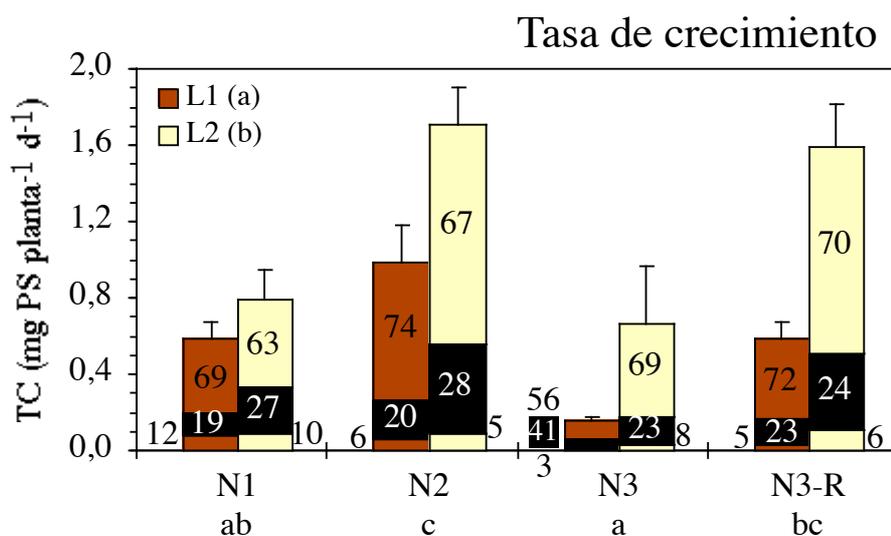


Figura 20. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de crecimiento de *Z. noltii*.

Las columnas están fragmentadas representado de arriba a abajo, hojas, entrenudos y raíces. En cada compartimento se indica el porcentaje del correspondiente módulo vegetal. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto de los tratamientos de luz (en la leyenda) y de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.2.4. Tasa de aparición foliar (TAF)

Bajo condiciones de luz no saturante (L1), las plantas cultivadas en sedimentos tipo N3 no generaron nuevas unidades foliares durante el intervalo temporal estudiado. A efectos matemáticos, se eliminó este nivel de sedimento del análisis estadístico. No obstante, esta respuesta se interpretó como un efecto negativo de los tratamientos en la TAF.

En el resto de casos experimentales, las TAF variaron entre 0,1 y 0,4 hojas planta⁻¹ d⁻¹ (Figura 21.B). Tanto el tratamiento de luz como el tratamiento de sedimento afectaron significativamente a esta tasa (Tabla 6). Las plantas cultivadas bajo L1 registraron TAF significativamente inferiores que las registradas bajo condiciones de luz saturante (L2). En plantas cultivadas en sedimentos tipo N2, las TAF fueron significativamente superiores que las detectadas en plantas cultivadas en sedimentos no enriquecidos (N1).

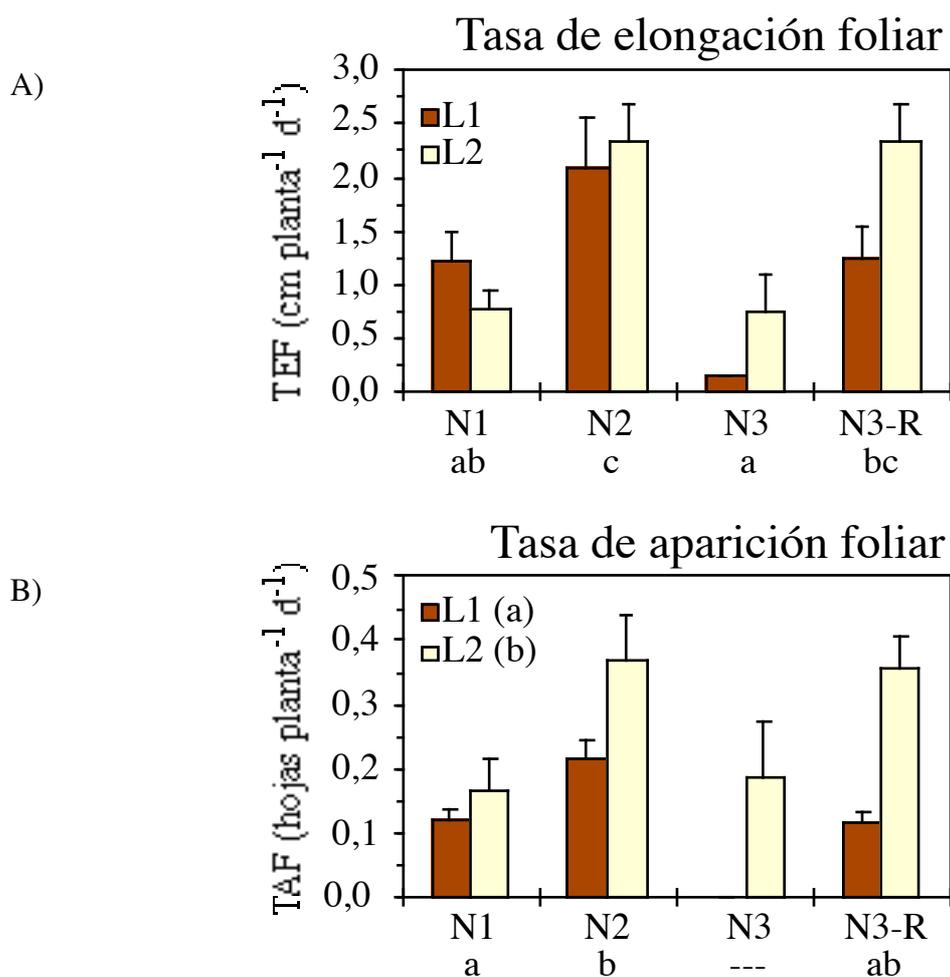


Figura 21. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de elongación foliar y la tasa de aparición foliar de *Z. noltii*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto de los tratamientos de luz (en la leyenda) y de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

Tabla 6. Resumen estadístico del efecto de los tratamientos de luz y sedimento en las variables estimadas en *Z. noltii*. LF (longitud foliar), LI (longitud internodal), LR (longitud radicular), PS_t (peso), C foliar (carbono foliar), N foliar (nitrógeno foliar), TC (tasa de crecimiento total), TEF (tasa de elongación foliar), TAF (tasa de aparición foliar), TRF_E (tasa de renovación foliar en longitud), TRF_A (tasa de renovación foliar en número), IP (intervalo de plastocrono), TPF_E (tasa de pérdida foliar en longitud), TPF_A (tasa de pérdida foliar en número), TEI (tasa de elongación internodal), TAI (tasa de aparición internodal), TER (tasa de elongación radicular), TAR (tasa de aparición radicular), $TTEr_{máx}$ (capacidad cuántica), α_f (eficiencia cuántica), $I_{sat,f}$ (Intensidad de saturación), F_v/F_m (eficiencia cuántica óptima). Fuentes de variación (1): Luz, (2): Sedimento. La letra T junto a las variables hace referencia a la transformación logarítmica de los resultados por problemas de heterocedasticidad.

Fuente de variación:			1	2	1x2
Variable					
LF			**	*	-
LI			**	**	*
LR			-	*	-
PS_t			*	**	-
C foliar			**	*	-
N foliar			**	**	-
TC			**	**	-
TEF			-	**	-
TAF		sin N3	**	*	-
TRF_E			*	*	-
TRF_A	T	sin N3	*	-	-
IP		sin N3	*	-	-
TPF_E			-	-	-
TPF_A	T		**	*	-
TEI			**	**	-
TAI			*	*	-
TER			*	-	-
TAR			-	-	-
$TTEr_{máx}$			*	-	**
α_f			-	*	-
$I_{sat,f}$			-	*	-
F_v/F_m			*	**	*

(*): $p < 0,05$; (**): $p < 0,001$

5.3.2.2.5. Tasa de renovación foliar en longitud (TRF_E)

La renovación foliar en términos de longitud estuvo significativamente afectada por los dos tratamientos (luz y sedimento, Tabla 6). Entre los distintos casos experimentales, los valores de TRF_E variaron entre 0,01 y 0,05 d⁻¹ (Figura 22.A). La disponibilidad de luz afectó positivamente a esta variable, observándose valores significativamente superiores en plantas cultivadas bajo una luz saturante (L2). En ninguno de los niveles de enriquecimiento en nitrógeno las TRF_E variaron significativamente con respecto a los valores estimados en plantas cultivadas en sedimentos no enriquecidos (N1). No obstante, en sedimentos con un enriquecimiento en nitrógeno alto sin adición de materia orgánica (N3), se registraron los valores mínimos (0,015 d⁻¹), siendo significativamente inferiores que los registrados en sedimentos tipo N2 y N3-R.

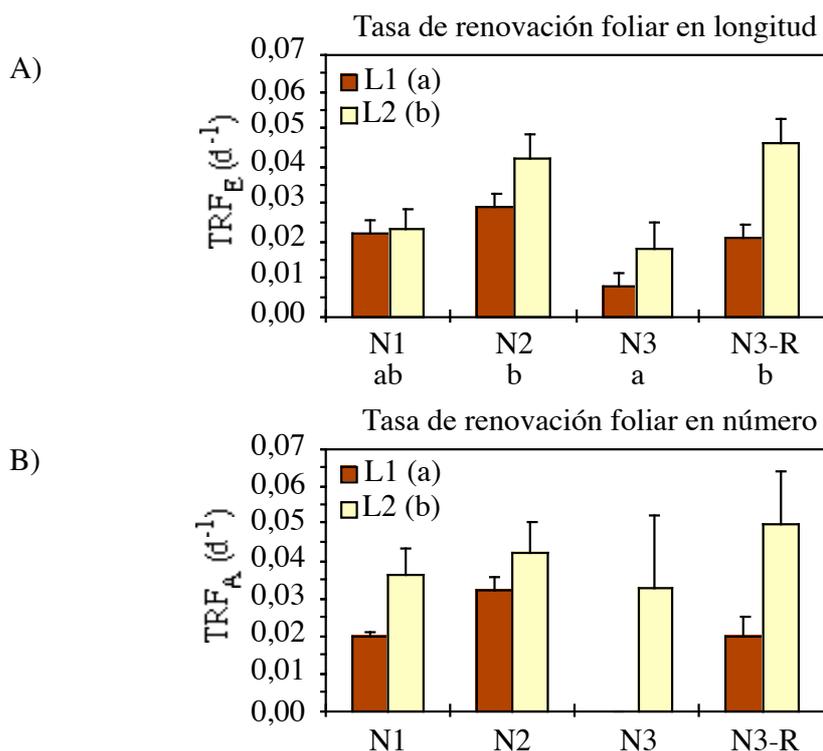


Figura 22. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de renovación foliar en longitud (TRF_E) y en la tasa de renovación foliar en número (TRF_A) de *Z. noltii*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto de los tratamientos de luz (en la leyenda) y de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.2.6. Tasa de renovación foliar (en número, TRF_A)

Dado que en el caso experimental donde se combinan los niveles N3 y L1, no se detectó la aparición de nuevas estructuras foliares, se eliminó del análisis estadístico el nivel de sedimento con enriquecimiento elevado en nitrógeno sin adición de materia orgánica (N3).

Para el resto de casos experimentales, las TRF_A variaron en un rango similar al detectado en cambios de longitud (TRF_E), permaneciendo entre 0,02 y 0,05 d⁻¹ (Figura 22). Esta variable respondió significativamente al tratamiento de luz (Tabla 6), y como en la variable anterior, se registraron TRF_A significativamente superiores bajo condiciones de luz saturante (L2).

5.3.2.2.7. Intervalo de plastocrono (IP)

Como en todas las variables estimadas a partir de la aparición de nuevas unidades foliares, por falta de datos bajo L1, se eliminó el nivel N3 del análisis estadístico. En el resto de casos experimentales, el intervalo de plastocrono varió entre 8 y 13 días (Figura 23). El tratamiento de luz afectó significativamente a esta variable (Tabla 6), observándose un IP de mayor duración en plantas cultivadas bajo L1 (Figura 23). Bajo L2, el valor máximo (12 días) se detectó en sedimentos tipo N3.

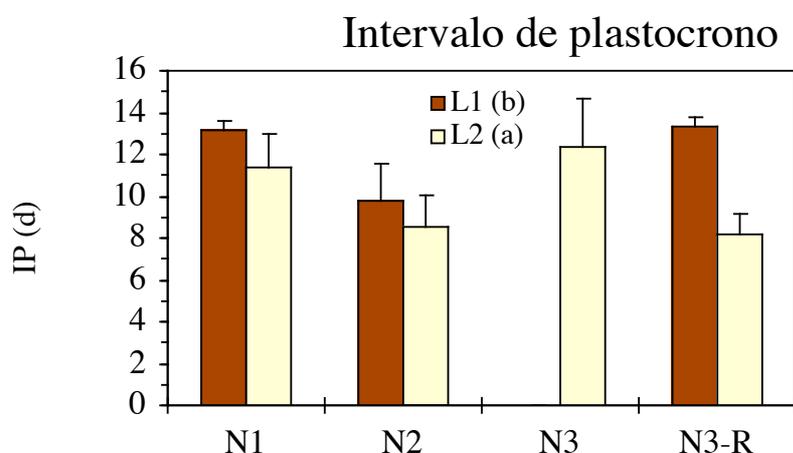


Figura 23. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en el intervalo de plastocrono de *Z. noltii*. Los códigos alfabéticos en la leyenda muestran la comparación *a posteriori* del efecto del tratamiento de luz. La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.2.8. Tasa de pérdida foliar en longitud (TPF_E) y tasa de pérdida foliar en número (TPF_A)

Las tasas de pérdida foliar en longitud (TPF_E) no mostraron variaciones significativas en función de los tratamientos experimentales (Tabla 6). En todos los casos las pérdidas estuvieron en torno a los 1,9 cm planta⁻¹ d⁻¹ (Figura 24.A).

Por el contrario, al estimar las tasas de pérdida a partir de las unidades foliares (TPF_A), tanto el tratamiento de luz, como el tratamiento de sedimento afectaron significativamente a esta variable (Tabla 6). Las TPF_A fueron significativamente mayores bajo condiciones de luz saturante (L2) (Figura 24.B) y bajo ambos niveles de luz, las plantas cultivadas en sedimentos con enriquecimiento alto de nitrógeno y adición de materia orgánica (N3-R) exhibieron valores de pérdida significativamente mayores que aquellas cultivadas en sedimentos tipo N1.

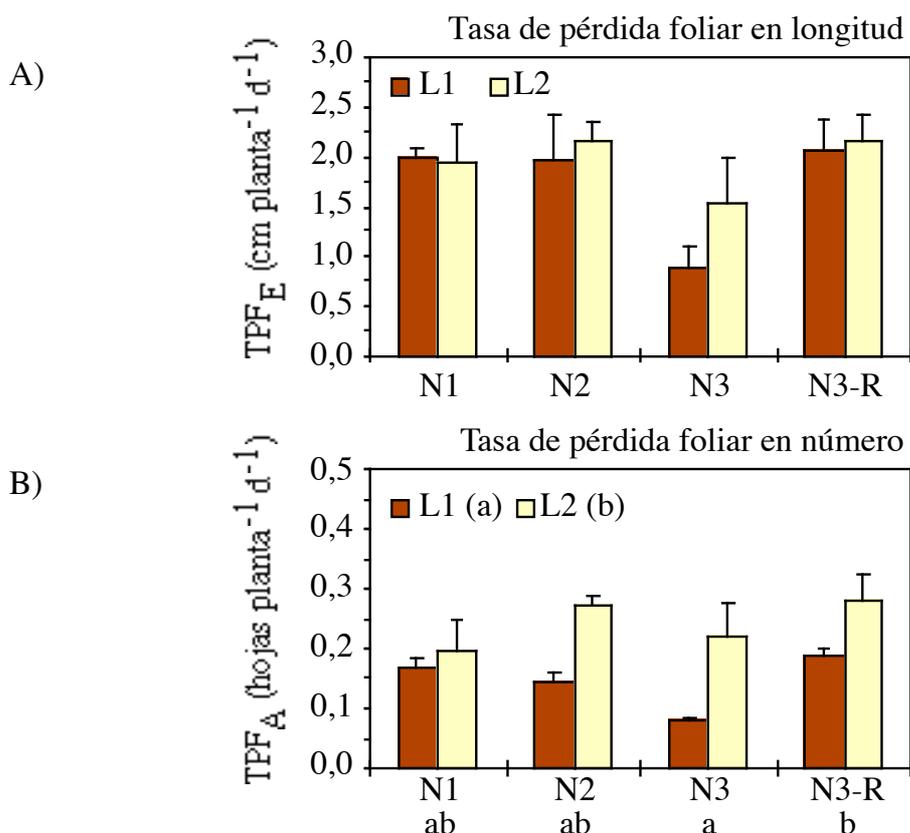


Figura 24. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de pérdida foliar longitud (TPF_E) y la tasa de pérdida foliar en número (TPF_A) de *Z. noltii*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto de los tratamientos de luz (en la leyenda) y de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.2.9. Tasa de elongación internodal (TEI)

Entre los distintos casos experimentales, la tasa de elongación internodal varió sensiblemente entre 0,5 y 3,5 mm d⁻¹ (Figura 25.A). Los tratamientos de luz y sedimento afectaron significativamente a esta variable (Tabla 6). La disponibilidad de luz afectó positivamente a la producción de tejido rizomático, observándose bajo condiciones de luz saturante (L2) valores de TEI significativamente superiores a los registrados bajo L1. Los sedimentos con un enriquecimiento moderado de nitrógeno (N2) y un enriquecimiento elevado complementado con materia orgánica (N3-R) mostraron elongaciones rizomáticas significativamente superiores a las detectadas en sedimentos no enriquecidos (N1). Los mínimos de TEI se registraron en plantas cultivadas en sedimentos tipo N3.

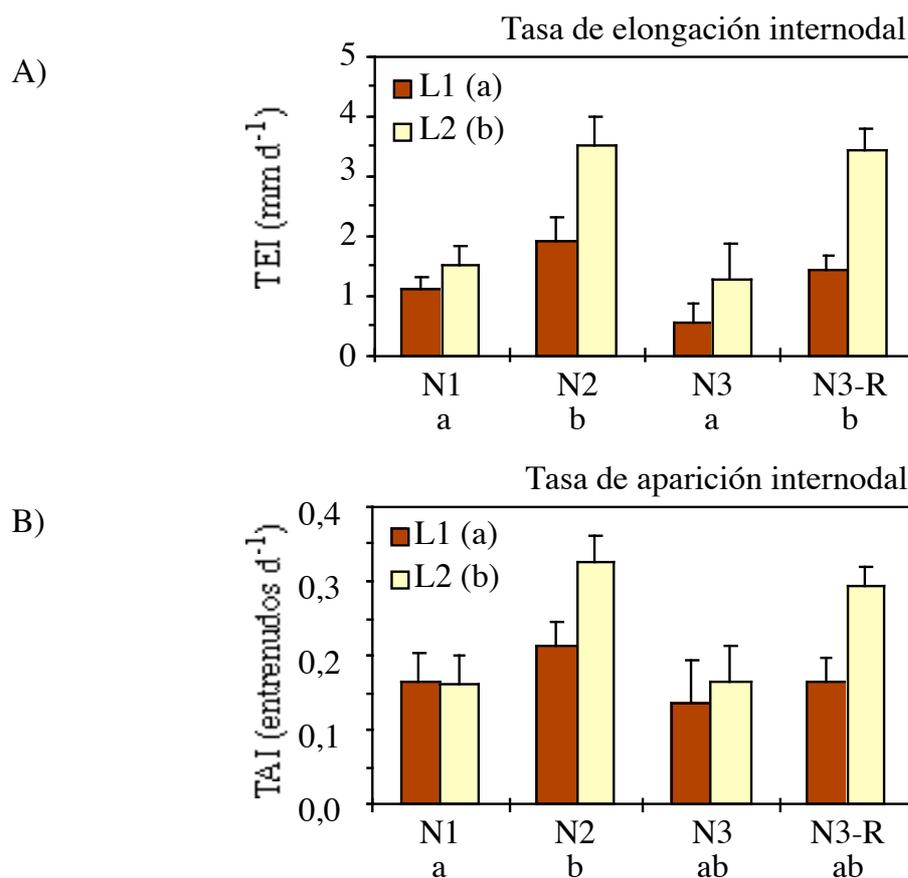


Figura 25. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de elongación internodal (TEI) y en la tasa de aparición internodal (TAI) de *Z. noltii*. Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto de los tratamientos de luz (en la leyenda) y de sedimento (bajo el eje de abscisas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.2.10. Tasa de aparición internodal (TAI)

Las tasas de aparición internodal variaron entre 0,1 y 0,3 entrenudos d^{-1} . Los tratamientos experimentales también afectaron significativamente a esta tasa (Tabla 6) observándose el mismo comportamiento descrito en las TEI (Figura 25.B). Aunque para esta variable únicamente las plantas cultivadas en sedimentos tipo N2 mostraron valores significativamente superiores que los detectados en suelos no enriquecidos (N1).

5.3.2.2.11. Tasa de elongación radicular (TER) y tasa de aparición radicular (TAR)

Para estas dos variables, el número de datos disponibles en los distintos casos experimentales presentó una elevada heterogeneidad. En sedimentos tipo N3 únicamente 2 ó 3 plantas mostraron tasas detectables de elongación radicular, y en condiciones de luz no saturante (L1), sólo 1 de ellas generó nuevas unidades radiculares. Esta heterogeneidad de los resultados dificultó el análisis estadístico de las dos variables y sólo para las tasas de elongación radicular se detectó un efecto significativo del tratamiento de luz (Tabla 6). Las TER variaron dentro de un amplio rango comprendido entre 0,03 y 1,1 $cm d^{-1}$ (Figura 26.A). Las plantas cultivadas bajo L2 mostraron valores significativamente superiores que los estimados en plantas cultivadas bajo L1. Por el contrario, las TAR no mostraron respuestas significativas a los tratamiento de luz y sedimento (Tabla 6), presentando valores cercanos a las 0,3 raíces d^{-1} (Figura 26.B).

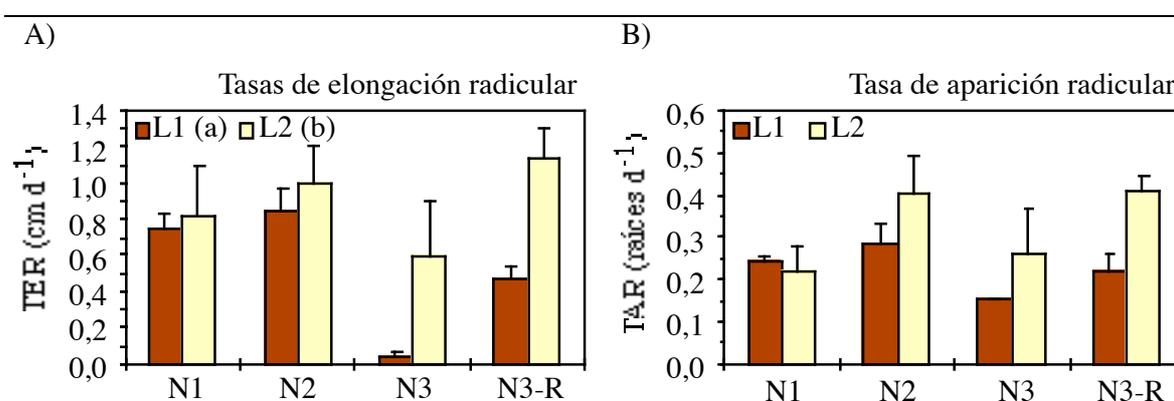


Figura 26. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la tasa de elongación radicular (TER) y en la tasa de aparición radicular (TAR) de *Z. noltii*. Los códigos alfabéticos en la leyenda muestran la comparación *a posteriori* del efecto del tratamientos de luz. La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.3.2.2.12. Respuesta fluorimétrica

A diferencia de *Z. marina*, en *Z. noltii* no se detectaron respuestas fluorimétricas con síntomas de fotoinhibición. Para esta especie, los parámetros fotosintéticos estimados a partir de la respuesta fluorimétrica sí mostraron diferencias significativas generadas por los tratamientos experimentales (Tabla 6).

La capacidad cuántica ($TTEr_{m\acute{a}x}$) de esta especie estuvo afectada por los dos tratamientos experimentales y el efecto combinado de ambos (Tabla 6). En sedimentos con un enriquecimiento moderado en nitrógeno (N2) y con un enriquecimiento elevado en nitrógeno complementado con materia orgánica (N3-R), las plantas cultivadas bajo condiciones de luz no saturante (L1) mostraron una capacidad cuántica significativamente superior que la detectada en plantas cultivadas en condiciones de luz saturante (L2) (Figura 27). Por el contrario, en el resto de casos experimentales no se observaron diferencias significativas para este parámetro.

Por otro lado, la eficiencia cuántica (α_f) estuvo afectada significativamente por el tratamiento de sedimento (Tabla 6). Las plantas cultivadas en sedimentos tipo N3-R mostraron valores significativamente inferiores que los registrados en plantas cultivadas en sedimentos no enriquecidos (N1) y sedimentos tipo N2 (Figura 27).

Como en la eficiencia cuántica, la intensidad de saturación ($I_{sat,f}$) estuvo significativamente afectada por el tratamiento en sedimento (Tabla 6). Para esta especie las intensidades de saturación fueron inferiores a las registradas en *Z. marina* (Figura 16). Las plantas cultivadas en sedimentos tipo N3-R mostraron valores significativamente superiores que los registrados en otros niveles experimentales de sedimento (Figura 27). Bajo L2, las plantas cultivadas en sedimentos tipos N1 o N2 mostraron intensidades de saturación inferiores a los $55 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ seleccionados como nivel de luz no saturante. Este comportamiento también se observó en plantas cultivadas bajo L1 en sedimentos tipo N3.

Por último, en *Z. noltii* el rendimiento cuántico óptimo (F_v/F_m) también estuvo afectado por los dos tratamientos experimentales y su efecto combinado (Tabla 6). En la mayoría de los casos experimentales, este parámetro fluorimétrico mostró valores superiores a 0,7, detectándose valores inferiores únicamente en las plantas cultivadas en

sedimentos tipo N3-R (Figura 27). En este nivel de sedimento, bajo condiciones de L2 las plantas mostraron síntomas evidentes de estrés fotosintético, con valores mínimos de F_v/F_m (0,44), significativamente menores que los detectados en el resto de casos experimentales.

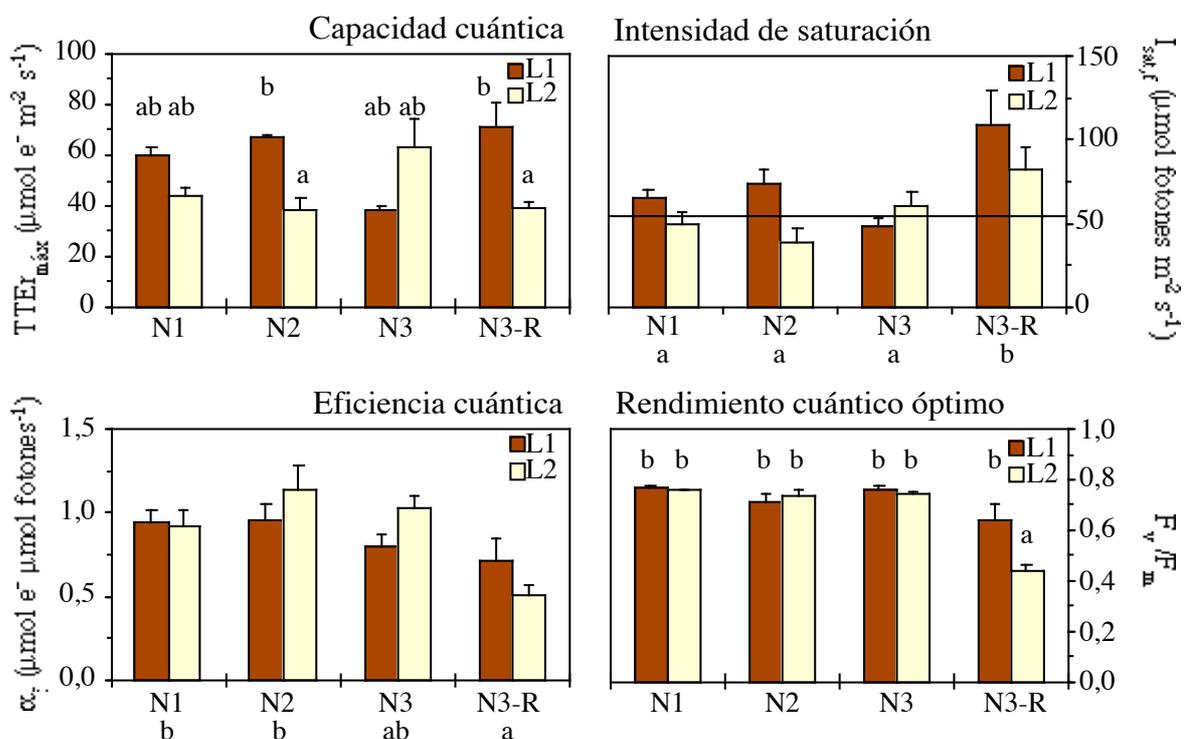


Figura 27. Efecto de los tratamientos de luz y sedimento en la respuesta fluorimétrica de *Z. noltii*. La línea discontinua en el gráfico de intensidad de saturación representa al valor de $55 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ seleccionado como nivel de luz subsaturante (L1). Los códigos alfabéticos muestran las comparaciones *a posteriori* del efecto del tratamiento de sedimento (bajo el eje de abscisas) o del efecto combinado de los dos tratamientos (sobre las columnas). La no coincidencia de caracteres indica diferencias significativas entre niveles o casos, experimentales. Las barras representan el error estándar.

5.1. Discusión

El crecimiento de *Z. marina* y *Z. noltii* en respuesta al enriquecimiento en nitrógeno estuvo relacionado con la cantidad y la forma de nitrógeno disponible en sedimento (amonio, o nitrito y nitrato), así como con la disponibilidad de energía fotosintética para la asimilación de dicho elemento.

Las fanerógamas marinas tienen la capacidad de incorporar nitrógeno a través de las raíces y las hojas (Short y McRoy 1984). Desde ambas superficies vegetales, el amonio es la fuente de nitrógeno inorgánica preferida. La tasa de incorporación de este cation depende de la concentración externa, así como del gradiente electroquímico, y puede alcanzar valores superiores a los valores máximos de incorporación de nitrato (Ullrich *et al* 1987, Short y McRoy 1984). En nuestro experimento, el enriquecimiento moderado de nitrógeno en sedimento estimuló significativamente el crecimiento de *Z. marina* y de *Z. noltii*. Sin embargo, los bajos niveles de nitrógeno foliar detectados en el caso de *Z. noltii* podrían ser el reflejo de un trasiego limitado de nutrientes desde las raíces hasta las hojas, consecuencia del diámetro estrecho de sus módulos vegetales (White y Gaus 1998). En dicho caso, el mantenimiento de una producción elevada en esta especie también dependería de la incorporación foliar de nutrientes. No obstante, junto a una limitada integridad clonal, hay que considerar la posibilidad de un deterioro en la actividad metabólica de esta especie lo cual explicaría sus elevadas tasas de pérdida foliar y los valores elevados del intervalo de plastocrono. En cualquier caso, para ambas especies, la disponibilidad de luz saturante probablemente aceleró la asimilación de recursos nutricionales, detectándose una respuesta mayor bajo estas condiciones. Tanto en sedimentos de enriquecimiento moderado como en sedimentos no enriquecidos, el nitrógeno disponible en el agua intersticial estuvo básicamente en forma de amonio. A diferencia del nitrato, la incorporación de amonio se produce sin gasto de energía metabólica (Ullrich *et al.* 1987). No obstante, dado que la acumulación de amonio en el interior de la célula genera efectos negativos para ésta (Marschner 1995), una vez incorporado es necesaria una asimilación rápida, lo cual requiere energía metabólica y esqueletos carbonados (Lewis *et al.* 1987). Cuando la incorporación de amonio es más rápida que la asimilación, éste compuesto puede ocasionar daños celulares alterando el

gradiente electroquímico de las membranas (Lambers *et al.* 1998). Cuando la incorporación es a través de las hojas, la alteración electroquímica puede desacoplar la cadena de transporte de electrones, inhibiendo la fotosíntesis (Pearson y Stewart 1993), y por lo tanto reduciendo la disponibilidad de energía para la asimilación del amonio incorporado. En *Z. marina* se ha comprobado que, a corto plazo, el amonio presente en la columna de agua puede afectar negativamente a las plantas desde concentraciones de 25 μM (van Katwijk *et al.* 1997). Este tipo de efectos fue descartado en nuestro experimento debido a los valores bajos de amonio detectados en la columna de agua (1,5 μM).

En el agua intersticial las concentraciones de nutrientes suelen ser más elevadas que las concentraciones en la columna de agua. En sedimentos no eutróficos, estas concentraciones fácilmente superan los 150 $\mu\text{moles l}^{-1}$ (Tuominen *et al.* 1999). La mayor parte del amonio que entra vía raíces suele ser asimilado primero en una forma orgánica sencilla antes de ser transportado hacia las hojas (Larcher 1995). Así, aun cuando se producen pequeños desajustes entre la incorporación y la asimilación de amonio, se reducen los riesgos fisiológicos para el aparato fotosintético gracias a la distancia entre el punto de entrada y la superficie foliar.

La respuesta de *Z. marina* y *Z. noltii* a un enriquecimiento elevado de nitrógeno varió en función de la forma de nitrógeno disponible en sedimento y de la disponibilidad de luz para producir energía fotosintética. En estos sedimentos, las concentraciones tanto de nitrito y nitrato (hasta 20 mM) como de amonio (hasta 30 mM) fueron muy elevadas incluso para ambientes muy eutróficos. No obstante, las cantidades de nitrógeno utilizadas para su simulación fueron muy inferiores a las detectadas en suelos intermareales con problemas graves de contaminación, donde el N total en sedimento puede alcanzar valores superiores al 1 %PS (Carballeira *et al.* 1997). La adición de materia orgánica en sedimento generó una notable respuesta en el potencial redox del sedimento, registrándose durante el seguimiento experimental diferencias de potencial negativas, propias de ambientes anóxicos. La presencia de materia orgánica en sedimento estimula la producción bacteriana, demandando una gran cantidad de oxígeno. Una vez consumido el oxígeno, el metabolismo anaeróbico de las bacterias toma, en primer lugar, compuestos oxidados de nitrógeno como aceptor final de electrones (NO_3^- y NO_2^-) reduciéndolos hasta amonio o

nitrógeno molecular (Valiella 1995). La concentración intersticial de nitrito y nitrato fue 20 veces menor en suelos reducidos mediante la adición de materia orgánica.

En condiciones de enriquecimiento elevado de nitrógeno con adición de materia orgánica (sedimentos tipo N3-R), las concentraciones elevadas de amonio intersticial pudieron provocar una entrada radicular importante de este nutriente. Si bien la incorporación de amonio se produce a favor de un gradiente electroquímico, sin costes metabólicos para la planta, su asimilación tiene que realizarse en las propias raíces antes de ser transportado hacia las hojas donde su presencia podría desacoplar la actividad fotosintética (Lewis *et al.* 1987). La asimilación radicular de amonio requiere el suministro de esqueletos carbonados procedentes de la fotosíntesis. En plantas de trigo se ha comprobado que hasta un 40 % del carbono destinado a fines estructurales y de la energía que llega hasta las raíces en plantas cultivadas en nitrato, se invierten en la asimilación de nitrógeno cuando las plantas se cultivan en amonio (Lewis *et al.* 1987). Esta respuesta explicaría la disminución del porcentaje de biomasa radicular observada en plantas de *Z. marina* cultivadas en sedimentos con un enriquecimiento elevado en nitrógeno, donde la concentración de amonio intersticial alcanza concentraciones superiores a 30 mM. El trasiego de metabolitos a través de la planta supone un compromiso entre la distancia recorrida y el diámetro del conducto utilizado (White y Gauf 1998). En nuestro caso, junto a un escaso porcentaje de biomasa subterránea, las plantas de *Z. marina* mostraron hojas de mayores dimensiones que las plantas de *Z. noltii*. Estas características podrían suponer una ventaja en la producción fotosintética y en el trasiego de sustancias entre hojas y raíces frente a *Z. noltii*. En esta situación, la capacidad de la planta de asimilar el amonio incorporado a través de las raíces determinaría la respuesta positiva o negativa del crecimiento ante concentraciones de amonio tan elevadas. En ambas especies, bajo condiciones de luz saturante, la respuesta fue positiva, observándose un incremento significativo del contenido en N foliar asociado a unas tasas de crecimiento significativamente mayores a las registradas en sedimentos no enriquecidos. Por el contrario, bajo condiciones de luz subsaturante, las tasas de crecimiento fueron menores, probablemente como consecuencia de una asimilación limitada por falta de energía fotosintética.

En el caso de sedimentos muy enriquecidos en nitrógeno sin adición de materia orgánica (sedimentos tipo N3), las concentraciones de nitrito y nitrato fueron del mismo orden de magnitud que las concentraciones de amonio. En plantas de maíz se ha observado que la síntesis de la estructura proteica de la enzima nitrato reductasa se estimula tanto en presencia de nitrato, como en presencia de nitrato amónico (Campbell 1987). La nitrato reductasa es una enzima de rápida renovación. En trabajos previos se ha comprobado que al transferir células de levadura, cultivadas en nitrato, a medios de amonio, la actividad de la nitrato reductasa no desaparece por una inactivación reversible en el medio de amonio, sino por el cese de la síntesis enzimática ante la falta de sustrato (Hipkin y Cannons 1987). En plantas superiores se ha comprobado que las tasas respiratorias radiculares aumentan al incorporar nitrato (Wallace 1987). La inversión de energía en síntesis enzimática e incorporación de formas oxidadas de nitrógeno podría reducir notablemente la capacidad de asimilar el amonio incorporado. Si la reducción de energía es excesiva, podría desajustar el equilibrio entre la incorporación y la asimilación de este compuesto, acumulándose niveles de amonio nocivos para la planta. Esto explicaría el descenso en crecimiento detectado en ambas especies cuando nitrato y amonio estuvieron disponibles en concentraciones elevadas. Además, en estas condiciones, la reducción de la disponibilidad de luz fue decisiva, llegando a detectarse una inhibición total de la generación foliar en *Z. noltii* durante su seguimiento experimental.

En angiospermas terrestres monocotiledóneas, el fotoperiodo y la temperatura explican el comportamiento del intervalo de plastocrono mediante relaciones no lineales (Kirby 1995, McMaster 1997). Con el fotoperiodo, el intervalo de plastocrono describe una curva michaeliana invertida que se asintotiza a partir de fotoperiodos de 18 horas de luz. Por otro lado, el intervalo de plastocrono describe con la temperatura una hipérbola con óptimos de aparición foliar a 20 ° C. En nuestro caso, la temperatura (18 °C) y el fotoperiodo (18 horas de luz al día) elegidos estuvieron próximos a los óptimos descritos para angiospermas terrestres. Descartada la variabilidad originada por los cambios de temperatura o de fotoperiodo, la evolución del intervalo de plastocrono bajo los distintos tratamientos podría interpretarse como un reflejo del estado fisiológico de las plantas, esperándose un aumento del intervalo de plastocrono en condiciones subóptimas para la planta. En el caso de *Z. noltii*, exceptuando las plantas cultivadas en sedimentos con enriquecimiento en nitrógeno elevado sin adición de materia orgánica y condiciones de luz

subsaturante, los intervalos de plastocrono detectados fueron ligeramente elevados, aunque de la misma magnitud que los registrados en poblaciones naturales (capítulo 2; Figura 14). En el caso de *Z. marina*, esta variable mostró valores muy bajos para esta especie e incluso inferiores a los observados en *Z. noltii*. Las plantas sometidas a un enriquecimiento moderado llegaron a registrar valores de 4 días. No obstante, hay que tener en cuenta que estos valores no correspondieron a la producción foliar de haces vegetativos, sino a la producción de haces generativos. *Zostera marina* produce inflorescencias de gran tamaño (>0,35 g PS, [Marbà et al. 1996](#), [Olesen 1999](#)) y de esperanza de vida muy limitada (41 días desde la aparición detectable de la espata⁶ hasta el deterioro del haz; [Olesen 1999](#)). En su corta duración, los haces generativos pueden llegar a producir de 2 a 22 espatas por haz. Cada espata implica la producción de una nueva unidad foliar lo cual supone intervalos de plastocrono mínimos de 2 días. En poblaciones perennes de *Z. marina*, la producción de haces generativos puede llegar a representar el 19 % de la producción anual total ([Marbà et al. 1996](#)). En este experimento, los haces generativos representaron a más del 90 % de la muestra. Sin embargo, hay que tener en cuenta que las plantas utilizadas en este experimento proceden de una población anual (Zandkreek, Países Bajos) con un elevado porcentaje de floración ([Hemminga et al. 1994](#)). En estas latitudes, algunas praderas intermareales de *Z. marina* desarrollan una estrategia anual que consiste en la floración masiva de la población, cuya supervivencia a la estación invernal depende de la germinación de sus semillas ([Olesen 1999](#)).

En los últimos años, en praderas de fanerógamas marinas se ha puesto en duda el papel del sistema rizomático como entrada principal de nutrientes para el crecimiento de la población ([Hemminga et al. 1991](#), [Stapel et al. 1996](#)). Para llegar a esta conclusión se han tenido en cuenta factores como la elevada capacidad de incorporar nutrientes a través del tejido foliar y la posibilidad de una limitación de nutrientes en la rizosfera por problemas de difusión desde el agua intersticial ([Stapel et al. 1996](#)). Las condiciones experimentales simuladas en nuestro experimento no nos permiten contrastar esta hipótesis. La fuente de nutrientes se situó en el sedimento, originándose concentraciones elevadas que podrían mantener una difusión rápida en la rizosfera. No obstante, mediante este experimento sí ha quedado de manifiesto la capacidad de estos organismos de incorporar los nutrientes

⁶ *Espata*: Órgano foliáceo que envuelve a la inflorescencia (Font Quer 1977)

presentes en el agua intersticial. Estos nutrientes son una fuente segura de suministro gracias a la actividad de reciclado que se desarrolla en el suelo de estas poblaciones. En praderas naturales más del 50% de la producción pasa por la ruta de la descomposición (Duarte y Cebrián 1996). La actividad bacteriana en suelos de estas poblaciones es hasta 3 veces mayor que la detectada en suelos no poblados (Mcglathery *et al.* 1998, Donnelly y Herbert 1999). Parte de dicha comunidad se desarrolla en la superficie de las raíces y los rizomas de las fanerógamas e incluso se ha demostrado una relación directa entre la excreción subterránea de metabolitos y la actividad bacteriana (Welsh *et al.* 1997, Blaabjerg *et al.* 1998).

La anaerobiosis en sedimentos de praderas de fanerógamas está favorecida por el mismo metabolismo bacteriano que recicla la materia orgánica. En especies como *Z. marina*, *Cymodocea rotundata* o *Halophila ovalis*, se ha detectado la liberación de oxígeno a través de las raíces. Esta liberación permite la supervivencia de las plantas en suelos anóxicos gracias a la formación de una delgada atmósfera óxica alrededor de los tejidos (Izumi *et al.* 1980, Sand-Jensen *et al.* 1982, Pedersen *et al.* 1998, Connell *et al.* 1999). En praderas submareales, el oxígeno que llega hasta las raíces proviene básicamente de la actividad fotosintética. Durante el día, el oxígeno y los metabolitos fotosintéticos (ej. sacarosa) se distribuyen desde la superficie foliar hacia las raíces. Sin embargo, durante los periodos nocturnos se suprime la producción de oxígeno y se bloquea el transporte de metabolitos (Zimmerman y Alberte 1996). En condiciones de anaerobiosis radicular, la supervivencia de los tejidos se mantiene mediante el metabolismo anaeróbico de las sustancias de reservas presentes en estos tejidos (Zimmerman y Alberte 1996). En especies con baja capacidad de reserva, como *Z. noltii*, esta situación no es sostenible durante periodos prolongados. Para el caso mostrado en este capítulo, en ninguna de las dos especies estudiadas se detectaron efectos negativos atribuibles a fenómenos de anoxia subterránea. A pesar de los valores de potencial redox negativos registrados en sedimentos con adición de materia orgánica, e incluso bajo condiciones de luz no saturante para la fotosíntesis, el fotoperiodo prolongado que se fijó en este experimento (18 h/día) podría haber proporcionado las condiciones adecuadas para mantener el trasiego de oxígeno dentro de la planta y proporcionar una atmósfera óxica en la rizosfera.

En general, los procesos de eutrofización generan una entrada elevada de nutrientes en el sistema. Dicha entrada de nutrientes suele ir acompañada de un aumento de la

reducción de luz en la columna de agua, principalmente como consecuencia del aumento de producción de organismos vegetales oportunistas (mareas verdes, Vergara *et al.* 1997). Un efecto secundario del incremento de producción vegetal es el aumento de exportación⁷ de biomasa mediante la descomposición bacteriana, la cual genera problemas de anoxia (Hernández *et al.* 1997). Un incremento de nutrientes asociado a una situación de anoxia genera la aparición de elevadas concentraciones de amonio, cuya incorporación en los tejidos de fanerógamas se produce a favor de un gradiente electroquímico. En esta situación, la disponibilidad de luz determinará la viabilidad de la pradera bajo las nuevas condiciones. Si la disponibilidad de luz es elevada (luz saturante y fotoperiodos prolongados), la producción fotosintética mantendrá niveles óxicos en la rizosfera y suministrará los esqueletos carbonados y la energía para asimilar el amonio incorporado, asegurando la viabilidad de la pradera hasta los límites del autoensombrecimiento. Si por el contrario, la disponibilidad de luz es baja, se dificulta el trasiego de sustancias que queda bloqueado frente a la carencia de oxígeno. Esto disminuye la capacidad de asimilación de amonio, cuya presencia en forma iónica altera la naturaleza de las membranas celulares afectando negativamente a los procesos fisiológicos de la planta, lo cual podría originar el declive de la pradera. Los rangos de luz adecuados para una pradera de fanerógamas marinas dependerán de la especie y/o de la población y vendrán determinadas por la velocidad de incorporación de los nutrientes, la eficiencia del trasiego de sustancias dentro de la planta, así como por sus características fotosintéticas y respiratorias.

⁷ En este caso, se debe interpretar *exportación* como salida de biomasa del sistema.

Capítulo 6

Síntesis final

A lo largo de los capítulos anteriores se han puesto de manifiesto una serie de variables (luz y nitrógeno inorgánico) que afectan al crecimiento de *Z. noltii*. Tras el seguimiento de campo y los estudios de laboratorio podemos concluir que la luz es la variable principal que regula el crecimiento de esta especie. No obstante, bajo su influencia, otras variables, como la disponibilidad de nitrógeno, también pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo de la población.

En este capítulo se analiza en detalle y por separado el efecto de la luz y del nitrógeno en el desarrollo vegetal, implicando aquellos procesos relacionados con el crecimiento y su posible acción reguladora.

6.1. La luz, el motor del crecimiento regulado por el tamaño

La luz es la fuente de energía de los organismos fotosintéticos. De este recurso, la intensidad luminosa que alcanza la superficie foliar y el fotoperiodo son las dos variables que determinan la energía utilizable en el crecimiento vegetal ([Figura 1](#)). La intensidad luminosa define las tasas instantáneas de fotosíntesis en función de los parámetros fotosintéticos de la planta ($F_{\text{máx}}$, α). La variación de estas tasas fotosintéticas a lo largo del fotoperiodo junto a la superficie foliar disponible en la planta definen la producción fotosintética diaria (O_2 , ATP, NADPH, C_{org}) a nivel de organismo. Parte de esta producción es consumida en los gastos metabólicos. Estos gastos incluyen los costes de mantenimiento de los tejidos, o respiración de mantenimiento (R_o), y los costes originados por los procesos de incorporación y asimilación de nutrientes, incluyendo los gastos por síntesis enzimática generados en ciertos procesos. Las repercusiones de este segundo tipo de gastos se analizarán en un apartado posterior.

Para estimar los costes de mantenimiento hay que distinguir entre la biomasa foliar y la biomasa subterránea (rizoma y raíces) ([Figura 1](#)). Para fanerógamas marinas se ha comprobado que la respiración de mantenimiento en los tejidos fotosintéticos (R_f) es tres veces superior que la registrada en los tejidos subterráneos (R_s) (Hemminga 1998). Las ventajas o desventajas de una distribución desproporcionada de biomasa entre ambos tipos de tejidos dependen de la disponibilidad de recursos externos, los cuales finalmente definen el balance entre la producción fotosintética y los gastos metabólicos.

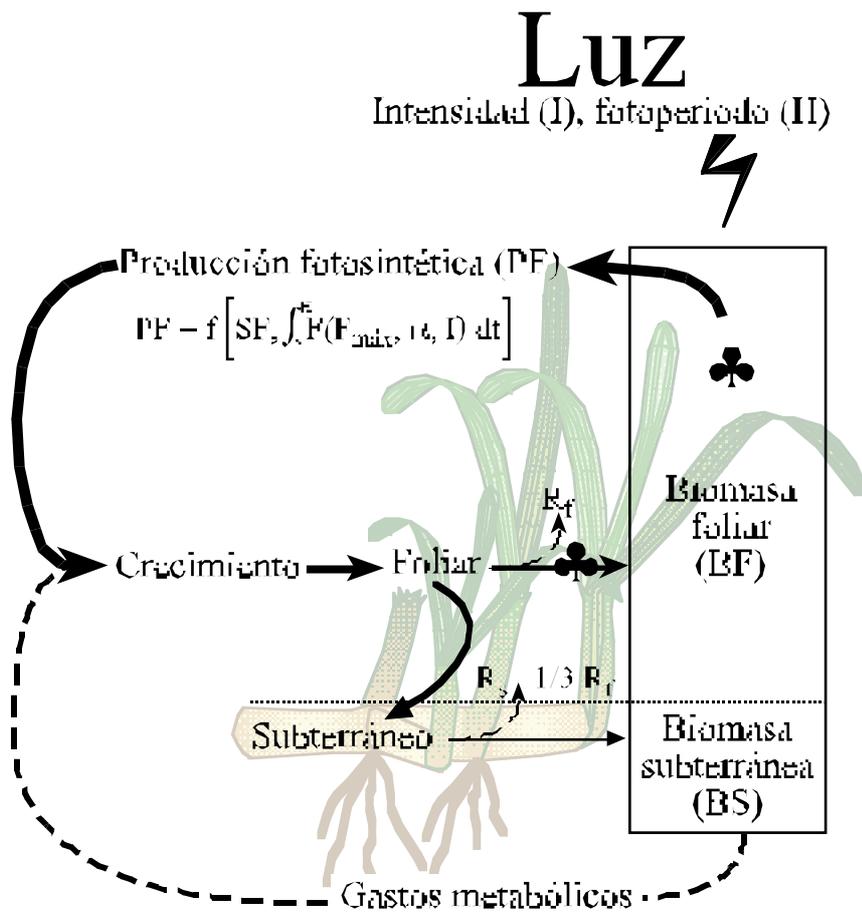


Figura 1. Esquema conceptual de los flujos de energía a través de una planta vegetativa de *Z. noltii*. La flechas continuas simbolizan flujos de entrada de energía y las discontinuas flujos de salida. SF: superficie foliar, F: tasa instantánea de fotosíntesis, $F_{\text{máx}}$: capacidad fotosintética, α : eficiencia fotosintética, R_f : respiración foliar, R_s : respiración subterránea. Los tréboles simbolizan otros procesos dentro de la cadena explicados en la figura siguiente.

Cuando la producción fotosintética supera los gastos metabólicos de la planta, los beneficios¹ fotosintéticos se invierten en el crecimiento vegetal (Figura 1). En el caso de *Zostera noltii*, como en otras fanerógamas marinas, las plantas vegetativas se desarrollan mediante un crecimiento clonal² que provoca la formación de un simpodio³ (Tomlinson 1974). En plantas con este tipo de crecimiento se han descrito fenómenos de dominancia

¹ Entiéndase como *beneficio* la producción fotosintética neta tras eliminar los gastos metabólicos.

² *Crecimiento clonal*: Crecimiento sin mezcla genética mediante la repetición de módulos estructurales.

³ *Simpodio*: tipo de ramificación que consiste en una serie de brotes concrecentes, unidos por sus extremos en un solo cuerpo axial.

apical⁴, los cuales están muy relacionados con los procesos de integración clonal⁵. En especies de módulos estrechos, como en *Zostera noltii*, la integración clonal está limitada por el diámetro de los conductos (haces vasculares, espacios lagunosos), cuya dimensión se relaciona directamente con el flujo que soportan (White y Gauf 1998). Por todo ello, se podría esperar que los procesos de dominancia apical pierdan su efectividad tras las primeras etapas de desarrollo de las ramificaciones⁶.

Por una simple cuestión de economía, los propios tejidos fotosintéticos tendrían que ser los primeros tejidos beneficiados con el crecimiento vegetal. Como en otras fanerógamas marinas, dentro de un haz foliar de *Z. noltii* la tasa de crecimiento de una hoja decrece de manera exponencial en función de la posición relativa que ocupa dentro del mismo. Un meristemo foliar (apical o axilar) es capaz de mantener en estado de formación de 2 a 3 hojas (Pedersen y Borum 1993). La aparición de una cuarta hoja, implica la madurez de la hoja formada en primer lugar.

Por lo tanto, se puede afirmar que el tamaño alcanzado por una hoja madura depende directamente de la tasa de crecimiento y del intervalo de plastocrono propios del periodo de crecimiento de la hoja (Figura 2). No obstante, esta relación se complica al estudiar su variabilidad temporal, debido a la relación inversa que existe entre la tasa de crecimiento y el intervalo de plastocrono. El aumento de la disponibilidad de recursos (luz y nutrientes) se traduce en un incremento de la tasa de crecimiento, la cual favorece la generación de nuevas unidades foliares, es decir, favorece la disminución del intervalo de plastocrono.

Hasta la actualidad, debido al rango limitado de variación del intervalo de plastocrono, en especies de gran tamaño, como *Posidonia oceanica*, esta variable se ha interpretado como un parámetro específico que permite distinguir estrategias de colonización (Marbà *et al.* 1996) o desarrollar técnicas de datación (Pergent 1990). En trabajos con especies de módulos más pequeños y un comportamiento más dinámico (ej. *Cymodocea nodosa*), incluso se ha llegado a estudiar su variación temporal (Marbà *et al.*

⁴ *Dominancia apical* o ápice dominante. Término derivado a su vez del termino *dominante*, con el cual se define a las fuerzas indirectas propias de los organismos, capaces de dirigir, encauzar, distribuir, regular, concentrar y aun transformar la energía según cierto plan vital específico (en este caso concreto, el desarrollo prioritario del haz apical).

⁵ *Integración clonal*: Interdependencia entre la fisiología, crecimiento y reproducción de haces conectados. La integración clonal implica la transferencia de recursos (agua, gases, nutrientes y otros metabolitos) entre haces unidos por un mismo rizoma (Hartnett y Bazzaz 1983).

⁶ Entiéndase como *ramificación* a un haz lateral con entrenudos desarrollados.

1996). Sin embargo, ninguno de estos trabajos definen con claridad las causas externas que controlan los cambios de esta variable.

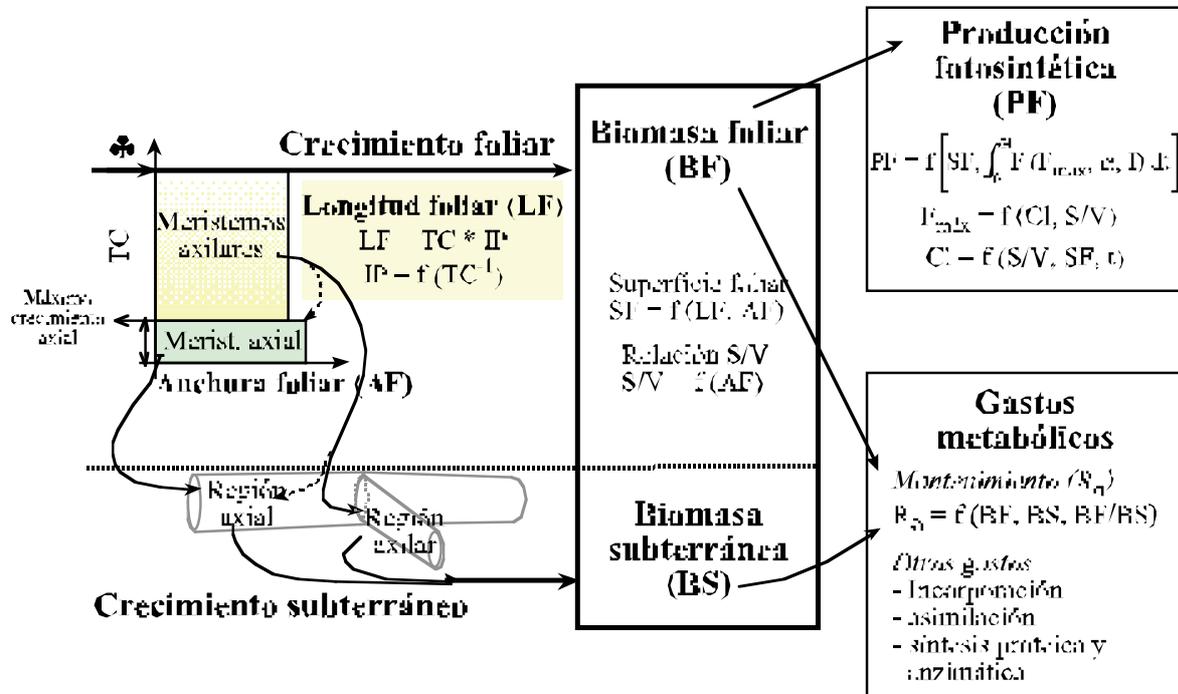


Figura 2. Esquema conceptual de flujos de energía donde se detallan algunos procesos indicados en el esquema anterior (♣). TC: tasa de crecimiento, IP: intervalo de plastocrono, F: tasa de fotosíntesis instantánea, H: fotoperiodo, $F_{máx}$: capacidad fotosintética, α : eficiencia fotosintética, I: intensidad luminosa, t: tiempo, Cl: clorofila.

Tras los resultados obtenidos en el capítulo 2, para *Z. noltii* se puede afirmar que la tasa de crecimiento y el intervalo de plastocrono están relacionados. No obstante, aún es necesario un estudio que analice en profundidad la relación del intervalo de plastocrono con las variables externas para poder predecir los fenómenos de desacoplamiento temporal entre ambas variables biológicas. Estos fenómenos de desacoplamiento pueden tener repercusiones poblacionales muy importantes, afectando a la longitud foliar representativa de la pradera. Así, estudiando la variabilidad temporal de la longitud foliar y del cociente entre el la tasa de crecimiento y el intervalo de plastocrono en praderas de *Z. noltii* independientes se detectó una relación lineal significativa (Figura 3, $p < 0,002$). Esta relación apoya esta teoría según la cual la disminución drástica en la talla foliar, observada en las plantas del canal central en la primavera de 1998, se originó por un descenso

significativo del intervalo de plastocrono previo al incremento en la tasa de crecimiento foliar (capítulo 2: figuras 11, 12 y 14).

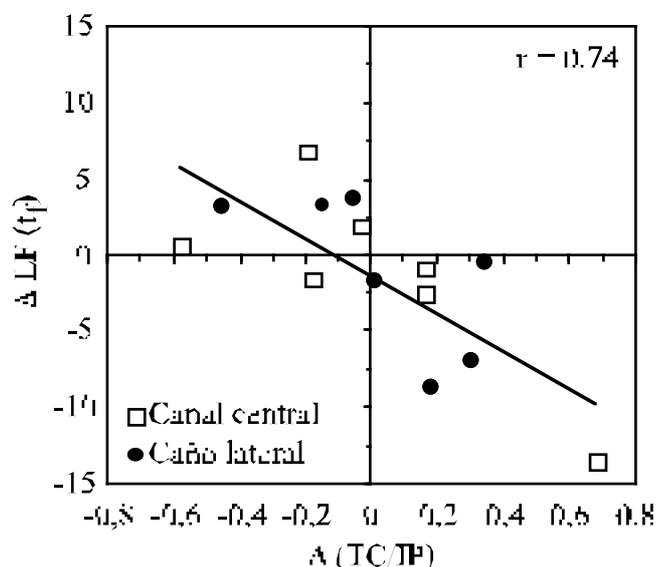


Figura 3. Relación lineal entre la evolución de la longitud foliar máxima (ΔLF) y la evolución del cociente entre la tasa de crecimiento (TC) y el intervalo de plastocrono (IP) en plantas de dos praderas de *Z. noltii*. Datos procedentes del capítulo 2.

Un incremento en la producción fotosintética no sólo repercute en la tasa de crecimiento foliar de un meristemo y en su intervalo de plastocrono. Tomando como punto de partida un meristemo apical, cuando la producción fotosintética cubre los gastos de crecimiento de este meristemo, el excedente se invierte en la producción de meristemos intercalares o en la activación de meristemos axilares (capítulo 4). Los meristemos axilares son meristemos secundarios situados en el polo opuesto del punto de intersección de las hojas rizomáticas⁷. Dado el origen secundario de estos focos de crecimiento, se puede esperar que el tamaño de este tipo de meristemo sea inferior al tamaño del meristemo apical, a partir del cual se desarrolló el entrenudo portador de este meristemo secundario. Este hecho se comprobó comparando la anchura foliar de las hojas axiales y axilares de plantas cultivadas bajo distintas condiciones de luz y disponibilidad de nitrógeno (Figura 4). En efecto, las hojas axilares mostraron una anchura sensiblemente menor ($p < 0,001$) que la observada en hojas axiales y se detectó una relación positiva significativa ($p < 0,002$) entre el diámetro de los entrenudos portadores y la anchura foliar. Bajo condiciones

⁷ Hoja rizomática: hoja del haz apical que queda abandonada en los nudos como consecuencia del crecimiento rizomático.

naturales, el desarrollo de ramificaciones durante periodos de crecimiento máximo permite el reclutamiento de nuevos haces, los cuales una vez alejados del meristemo apical actuarían como haces apicales con hojas más estrechas (Figura 2). Resumiendo, si la producción se invierte principalmente en el crecimiento a partir de los meristemos axilares se origina una disminución de la anchura foliar a nivel de población (Figura 2).

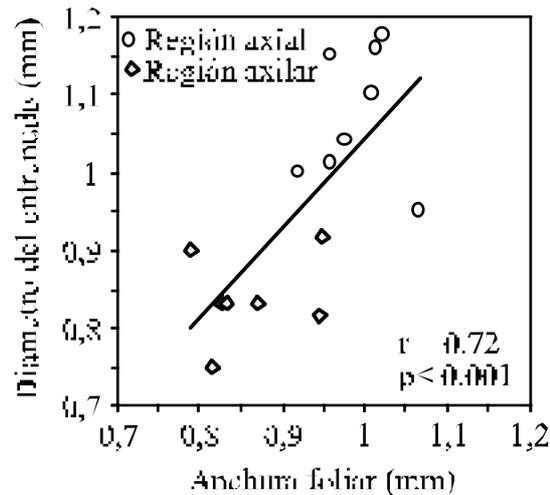


Figura 4. Relación entre la anchura foliar y el diámetro del entrenudo portador en las regiones axiales y axilares en las plantas de *Z. noltii*. Datos procedentes del capítulo 5.

En nuestras latitudes, la primavera es la estación del año más propicia para el crecimiento vegetal. Durante esta estación la irradiancia y el fotoperiodo aumentan, alcanzando sus valores máximos cuando aún no se han registrado los de temperatura. Un proceso acentuado de ramificación, o proceso de reclutamiento, durante esta época aumenta la probabilidad de supervivencia de la pradera durante estaciones menos favorables. Los haces nuevos más estrechos poseen una ventaja competitiva bajo condiciones de luz no limitantes. Al disminuir la anchura, indirectamente aumenta la relación superficie/volumen de las hojas. En fanerógamas marinas se ha comprobado que la actividad fotosintética se lleva a cabo precisamente en la epidermis del tejido foliar (Zimmerman *et al.* 1996), observándose una relación inversa entre la anchura y la capacidad fotosintética por unidad de peso (capítulo 2; Figura 23). A efectos prácticos, cuando los niveles de luz incidentes son saturantes, una cantidad de biomasa foliar inferior podría generar la misma producción fotosintética con un gasto de mantenimiento menor, el cual se traduciría en una utilización más eficiente de los recursos energéticos.

No obstante, también hay que tener en cuenta que todas estas ventajas se convierten en inconvenientes cuando la intensidad de la luz incidente disminuye. En condiciones de luz subsaturantes, los organismos cuya biomasa foliar no genera la producción fotosintética suficiente para cubrir los gastos metabólicos de toda la planta perecerían. Bajo estas circunstancias sólo sobreviven aquellos individuos cuya proporción de biomasa foliar y subterránea permite un balance positivo entre la producción fotosintética y el gasto metabólico.

6.2. Otros gastos metabólicos: La importancia de una incorporación y una asimilación equilibradas.

Cuando la disponibilidad de luz es limitada, cualquier proceso que genere un incremento metabólico sin un aumento asociado de producción fotosintética podría desencadenar el declive del organismo, llegando a niveles letales en casos extremos.

La regresión de praderas de fanerógamas marinas asociadas a procesos de eutrofización se ha considerado un efecto causado principalmente por la reducción de luz desencadenada de este tipo de procesos. Otra causa que también se ha sugerido es el posible efecto nocivo de los niveles de nutrientes que se alcanzan en los sistemas eutróficos.

Si bien es cierto que existe una descripción clara de los efectos negativos que provocan una incorporación excesiva de amonio, también es cierto que aún existe una gran confusión sobre el efecto negativo generado por una incorporación excesiva de nitrato. Tras los resultados obtenidos en el capítulo 5, el nitrato sí parece provocar un efecto negativo a concentraciones elevadas. Sin embargo, a diferencia del amonio, este efecto no parece originado por una actividad directa de estos iones en el interior de los tejidos, sino más bien como consecuencia de un incremento excesivo en el gasto metabólico, llegando a provocar efectos letales en condiciones de luz subsaturante (capítulo 5; Figuras 11 y 21).

Las fanerógamas marinas tienen la particularidad de incorporar nutrientes a través de las raíces y de las hojas. El amonio es la fuente de nitrógeno inorgánico más económico para estas plantas, ya que no es necesario un gasto metabólico para su incorporación, la cual se produce a favor de un gradiente electroquímico (Figura 5). No obstante, esta fuente de nitrógeno necesita ser rápidamente asimilada en forma orgánica dado que su carga

positiva despolariza el potencial de las membranas celulares. Esta asimilación requiere los productos sintetizados durante la fotosíntesis (C_{org} , ATP, NADPH; Figura 5) cuyo transporte hacia las raíces se bloquea si se suprime el trasiego de oxígeno (Figura 5) (Zimmerman *et al* 1998).

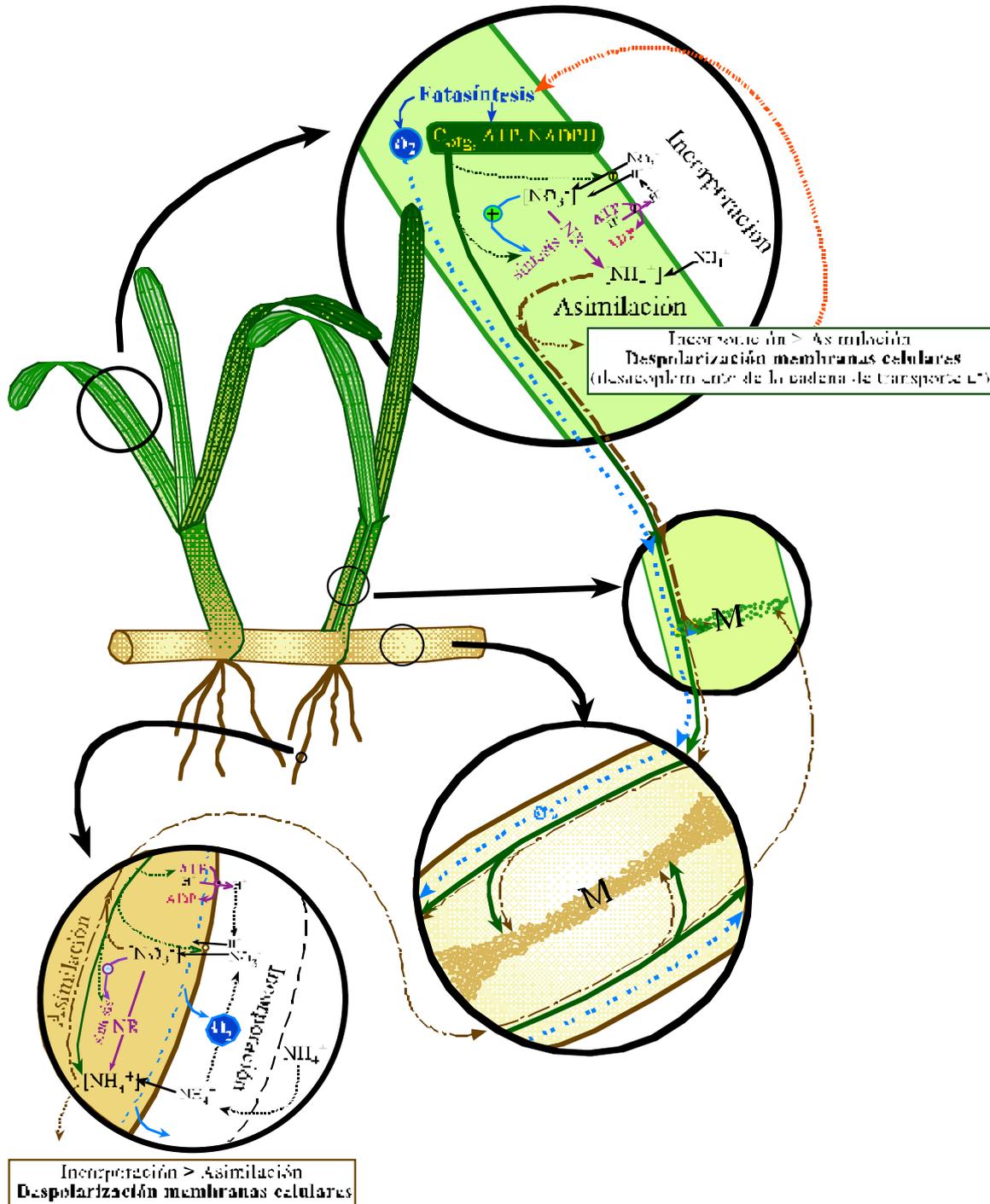


Figura 5. Esquema conceptual del proceso de incorporación y asimilación de amonio y nitrato a través de las superficies foliares y radicales de una planta de *Z. noltii*. M: meristemo, NR: nitrato reductasa, T: proteína transportadora, P: bomba de protones.

En caso de una elevada disponibilidad externa de amonio y unos niveles de luz no saturantes, las tasas de incorporación podrían superar a las tasas de asimilación despolarizando las membranas de las células cercanas. Si la incorporación es vía foliar, este efecto alteraría la cadena de transporte de electrones anulando la producción fotosintética de la zona foliar afectada y comenzando así un bucle negativo en la producción fotosintética con consecuencias letales. Si la incorporación es a través de las raíces, las consecuencias, aunque negativas, no afectaría directamente a las células donde se lleva a cabo la actividad fotosintética, lo cual aumentaría el periodo disponible con posibilidades de recuperación.

En cualquiera de estas dos situaciones, cualquier proceso que incremente los gastos metabólicos resultaría negativo para la planta. El nitrato es una fuente de nitrógeno metabólicamente costosa. Su incorporación, en contra de un gradiente electroquímico, requiere el consumo de ATP y la producción de proteínas transportadoras, y su asimilación requiere la formación de enzimas (nitrato y nitrito reductasas, NR) que previamente lo reduzcan hasta amonio. La formación de estas enzimas se induce en presencia de sustrato (NO_3^- , NO_2^-) y las elevadas tasas de renovación que manifiestan favorecen la pérdida de la actividad por la falta de síntesis enzimática, una vez consumido dicho sustrato (Figura 5).

Estos mecanismos reguladores son de gran utilidad cuando el nitrógeno es un recurso limitante para la planta. Sin embargo, cuando la fuente de nitrógeno inorgánico está formada por elevadas concentraciones de nitrato y amonio, la incorporación de nitrato, y su posterior asimilación, generaría un gasto metabólico innecesario, en detrimento de la asimilación del amonio incorporado (capítulo 5).

Tras los resultados obtenidos a lo largo de este trabajo, aunque confirmamos el efecto negativo de la disponibilidad excesiva de nitrógeno inorgánico, discrepamos con la posibilidad de prefijar un nivel negativo de dichos recursos.

Para considerar la posibilidad de una disponibilidad excesiva de recursos nutricionales (en este caso amonio y nitrato) es necesario evaluar la disponibilidad de luz, y las características fotosintéticas y metabólicas de la población, teniendo en cuenta factores como la vía de entrada de los nutrientes (vía foliar o vía radicular) y la presencia conjunta de formas incorporables.

6.3. Los objetivos futuros

La información aportada en esta tesis doctoral amplía los conocimientos existentes sobre el funcionamiento de las poblaciones de fanerógamas marinas, tan importantes y necesarias para mantener la riqueza ecológica en los sistemas costeros. Además, este trabajo origina un punto de partida para investigaciones futuras en este campo. Actualmente existe un gran reto en el campo de la restauración de estos sistemas. Las prácticas de restauración con éxito son escasas y muy costosas. Sin embargo, esta solución parece cada vez más necesaria si se quiere recuperar la calidad en sistemas acuáticos depauperados.

La plasticidad morfométrica de las especies de porte pequeño, como respuesta a las variaciones externas aleatorias, es una característica poco observada en las especies de módulos estructurales de gran tamaño, capaces de amortiguar los efectos de las variaciones a corto plazo mediante el consumo de las sustancias de reserva. El conocimiento de estas características hasta un nivel de predicción fiable permitiría elaborar actuaciones mixtas de restauración, favoreciendo, como en sucesiones naturales, que las especies de pequeño porte preparen el entorno para favorecer la supervivencia de las especies de gran tamaño.

A partir de las conclusiones obtenidas en esta tesis doctoral, las principales cuestiones que surgen, y por lo tanto que plantean los objetivos futuros, son: 1) ¿qué variables determinan finalmente el reparto de producción entre la fracción foliar y la fracción subterránea?, 2) ¿qué variables definen al intervalo de plastocrono?, es decir, ¿qué variables determinan, y de qué forma, la formación de nuevos módulos estructurales (hojas, rizomas, raíces), en detrimento del mayor desarrollo de los módulos formados previamente?. Dar respuesta a estas cuestiones requiere una labor de investigación minuciosa que se escapa a los objetivos iniciales de esta tesis doctoral, pero que será abordada en proyectos futuros.

Conclusiones

1. Las praderas de *Zostera noltii* que pueblan el intermareal fangoso del Parque Natural de *Ria Formosa* presentan una variación estacional de biomasa con un patrón unimodal de máximos primaverales. A diferencia de las especies de gran porte, las cuales presentan una baja tasa de crecimiento subterráneo, en poblaciones de *Z. noltii* es indispensable realizar un seguimiento simultáneo de las fracciones foliares y subterráneas, ya que el crecimiento de rizomas y raíces puede llegar a generar estacionalmente más de un 25 % de la producción anual.
2. La sensibilidad de esta especie a las variables externas, junto a una tasa de renovación elevada, favorece una gran plasticidad morfológica a nivel de población. Esta plasticidad genera adaptaciones fenotípicas a corto plazo frente a los cambios aleatorios propios de este entorno, permitiendo un uso más eficiente de los recursos disponibles. Además, las adaptaciones fenotípicas están reguladas por el equilibrio entre la tasa de crecimiento y el intervalo de plastocrono, las cuales están afectadas de forma inversa por las mismas variables externas.
3. En plantas de *Z. noltii*, la reducción de la anchura foliar genera un incremento del contenido pigmentario y de la capacidad fotosintética por unidad de peso en función de un aumento de la relación superficie/volumen.
4. Las plantas vegetativas de *Z. noltii* crecen favorablemente en un medio bifásico de agua de mar. Dicho medio está formado por una fase líquida, para el crecimiento foliar, y una fase solidificada con agar (2% peso:volumen) que sirve de soporte para el crecimiento del rizoma y las raíces. La utilización de este medio de cultivo ofrece una herramienta de trabajo para los experimentos a corto plazo de corte ecofisiológico.
5. Los periodos experimentales de 2 semanas permiten detectar los posibles efectos significativos de las variaciones ambientales en la tasa de crecimiento de *Z. noltii*.

6. La disminución en la tasa de crecimiento de *Z. noltii* como consecuencia de una disponibilidad limitada de energía luminosa afecta, en primer lugar, a las regiones axilares, disminuyendo primero el crecimiento de raíces y rizomas y segundo el crecimiento foliar. De forma similar, las limitaciones más severas afectan a la región axial, reduciéndose el crecimiento del meristemo apical únicamente en condiciones extremas de limitación.
7. Independientemente de los efectos de la emersión, una exposición continuada de las plantas vegetativas de *Z. noltii* al 100 % de la radiación superficial en latitudes templadas genera efectos negativos en el crecimiento como consecuencia de una sobreexposición luminosa.
8. Tanto *Z. marina* como *Z. noltii* incorporan eficientemente nitrógeno inorgánico a través de las raíces, llegando a tolerar concentraciones de amonio supuestamente letales en la columna de agua. La tolerancia de ambas especies a elevadas concentraciones externas de amonio depende de la capacidad de asimilación de las plantas. Dicha capacidad está determinada por el balance entre la producción fotosintética y el gasto metabólico.
9. Bajo condiciones de una disponibilidad de nitrógeno inorgánico elevada, la presencia conjunta de altas concentraciones de amonio y de nitrato puede provocar efectos negativos en el crecimiento de *Z. marina* y de *Z. noltii*, como consecuencia de un aumento en el gasto metabólico en detrimento de la asimilación del amonio incorporado.

Bibliografía

- Alcoverro, T; Duarte, CM; Romero, J. 1995. Annual growth dynamics of *Posidonia oceanica*: contribution of large scale versus local factors to seasonality. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 120, 203-210.
- Alcoverro, T.; Romero, J.; Duarte, C. M.; López, N. I. 1997. Spatial and temporal variations in nutrient limitation of seagrass *Posidonia oceanica* growth in the NW Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 146, 155-161.
- ASLO 2000. *Aquatic Sciences meeting: Research across boundaries*. Copenhagen, 5-9 Junio.
- Auby I, Labourg PJ. 1996. Seasonal dynamics of *Zostera noltii* Hornem. in the bay of Arcachon (France). *J. Sea Res.* 35, 269-277.
- Backman TW, Barilotti DC. 1976. Irradiance reduction: effects on standing crops of the eelgrass *Zostera marina* in a coastal lagoon. *Mar. Biol.* 43, 33-40.
- Balestri E, Piazzì L, Cinelli F. 1998. *In vitro* germination and seedling development of *Posidonia oceanica*. *Aquat. Bot.* 60, 83-93.
- Baly ECC. 1935. The kinetics of photosynthesis. *Proc. R. Soc. Lond. B* 117, 218-239.
- Bird KT, Johnson JR, Jewett-Smith J. 1998. *In vitro* culture of the seagrass *Halophila decipiens*. *Aquat. Bot.* 60, 377-387.
- Bird KT, Jewett-Smith J. 1994. Development of a medium for *in vitro* propagation of the seagrass *Halophila engelmannii*. *Can. J. Bot.* 72, 1503-1510.
- Björkman O, Demmig B. 1987. Photon yield of O₂-evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170, 489-504.
- Blaabjerg V, Mouritsen KN, Finster K. 1998. Diel cycles of sulphate reduction rates in sediments of a *Zostera marina* bed (Denmark). *Aquat. Microb. Ecol.* 15, 97-102.
- Bortone SA. 2000. *Seagrasses. Monitoring, ecology, physiology and management*. CRC Press LLC. Boca Raton.
- Borum J, Murray L, Kemp WM. 1989. Aspects of nitrogen acquisition and conservation in eelgrass plants. *Aquat. Bot.* 35, 289-300.
- Bowes BG. 1994. *A colour atlas of plant structure*. Manson Publishing Ltd. London.
- Brun F. 1999. *Patrones estructurales y dinámicos de las praderas de Zostera noltii Hornem. del parque natural de la bahía de Cádiz*. Tesis de licenciatura. Universidad de Cádiz. 166 pp.
- Burkholder JM, Glasgow HB, Cooke JE. 1992. Water-column nitrate enrichment promotes decline of eelgrass *Zostera marina*: evidence from seasonal mesocosm experiments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 81, 163-178.
- Burkholder JM, Glasgow HB, Cooke JE. 1994. Comparative effects of water-column nitrate enrichment on eelgrass *Zostera marina*, shoalgrass *Halodule wrightii*, and widgeongrass *Ruppia maritima*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 105, 121-138.
- Burkholder PR, Doheny TE. 1968. *The biology of eelgrass*. Department of conservation and waterways. Hempstead. New York.

- Campbell WH. 1987. Regulation of nitrate reductase in maize: an immunochemical approach. En: Ullrich WR, Aparicio PJ, Syrett PJ, Castillo F. (ed). *Inorganic nitrogen metabolism*. Springer-Verlag. Berlin.
- Carballeira A., Carral E, Puente XM, Villares R. 1997. *Estado de conservación de la costa de Galicia: Nutrientes y metales pesados en sedimentos y organismos intermareales*. Universidade, Servicio de Publicacións e Intercambio Científico da Universidade de Santiago de Compostela. 107pp.
- Connel EL, Colmer, TD, Walker D. 1999. Radial oxygen loss from intact roots of *Halophila ovalis* as a function of distance behind the root tip and shoot illumination. *Aquat. Bot.* 63, 219-228.
- Costanza R, d'Arge R, de Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg D, Naeem S, Oneill RV, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P, van der Belt M. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387, 253-260.
- Creed JC. 1999. Distribution, seasonal abundance and shoot size of the seagrass *Halodule wrightii* near its southern limit at Rio de Janeiro state, Brazil. *Aquat. Bot.* 65, 47-58.
- Czerny AB, Dunton KH. 1995. The effects of *in situ* light reductions on the growth of two subtropical seagrasses, *Thalassia testudinum* and *Halodule wrightii*. *Estuaries* 18, 418-427.
- Davis, RC., Short, FT. 1997. Restoring eelgrass, *Zostera marina* L., habitat using a new transplanting technique: the horizontal rhizome method. *Aquat. Bot.* 59, 1-15
- Day JW, Hall CAS, Kemp WM, Yáñez-Aracibia. 1989. *Estuarine Ecology*. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- de Vooy CGN. 1979. Primary production in aquatic systems. En: *The Global Carbon Cycle*. Bolin, B, Degens ET, Kempe S, Ketner P, eds. John Wiley & Sons, New York.
- den Hartog C. 1970. *The seagrasses of the world*. North-Holland Publishing Co. Amsterdam. 275 pp.
- den Hartog C. 1983. Structural uniformity and diversity in *Zostera*-dominated communities in Western Europe. *Mar. Technol. Soc. J.* 17, 6-14.
- den Hartog C. 1994. Suffocation of a littoral *Zostera* bed by *Enteromorpha radiata*. *Aquat. Bot.* 47, 21-28.
- den Hartog C, Polderman PJG. 1975. Changes in the seagrass populations of the Dutch Waddenzee. *Aquat. Bot.* 1, 141-147.
- Denninson WC, Alberte RS. 1986. Photoadaptation and growth of *Zostera marina* L. (eelgrass) transplants along a depth gradient. *J. Exp. Mar. Biol.* 98, 265-282.
- Denninson WC. 1990. Seagrasses: chlorophyll content. En: Phillips, RC (Ed.), *Seagrass Research Methods*, UNESCO.
- Dennison WC, Orth RJ, Moore KA, Stevenson JC, Carter V, Kollar S, Bergstrom PW, Batiuk RA. 1993. Assessing water quality with submersed aquatic vegetation: habitat requirements as barometers of Chesapeake Bay health. *Bioscience* 43, 86-94.

- Donnelly AP, Herbert RA. 1999. Bacterial interactions in the rizosphere of seagrass communities in shallow coastal lagoons. *Journal of Applied Microbiology* 85, 151-160.
- Duarte CM. 1990. Seagrass nutrient content. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 67, 201-207.
- Duarte CM. 1991. Allometric scaling of seagrass form and productivity. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 77, 289-300.
- Duarte CM. 1999. Seagrass ecology at the turn of the millennium: challenges for the new century. *Aquat. Bot.* 65, 7-20.
- Duarte C, Merino M, Agawin NSR, Uri J, Fortes MD, Gallegos ME, Marbà N, Hemminga MA. 1998. Root production and belowground seagrass biomass. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 171, 97-108.
- Duarte CM, Cebrián J. 1996. The fate of marine autotrophic production. *Limnol. Oceanogr.* 41, 1785-1766.
- Duarte C, Chiscano CL. 1999. Seagrass biomass and production: a reassessment. *Aquat. Bot.* 65, 159-174.
- Duarte C, Sand-Jensen K. 1990. Seagrass colonization: biomass development and shoot demography in *Cymodocea nodosa* patches. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 67, 97-103.
- Erfteemeijer PLA, Stapel J. 1999. Primary production of deep-water *Halophila ovalis* meadows. *Aquat. Bot.* 65, 71-82.
- EUMAC 1994. *Eutrophication and Macrophytes. Proceedings of the first EUMAC Workshop held in Venice 25-27 November 1994*. Kamermans y Nienhuis (Eds.). Yerseke.
- Flores-Moya A, Gomez I, Vinegla B, Altamirano M, Perez-Rodriguez E, Maestre C, Caballero RM, Figueroa FL. 1998. Effects of solar radiation on the endemic Mediterranean alga *Rissoella verruculosa*: photosynthetic performance, pigment content and activities of enzymes related to nutrient uptake. *New Phytol* 139, 673-683.
- Fonseca MS, Kenworthy WJ, Colby, Rittmaster, Thayer GW. 1990. Comparisons of fauna among natural and transplanted eelgrass *Zostera marina* meadows: criteria for mitigation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 65, 251-264
- Fonseca MS, Kenworthy WJ, Thayer GW. 1998. *Guidelines for the conservation and restoration of seagrasses in the United States and adjacent waters*. NOAA Coastal Ocean Program Decision Analysis Series No. 12. NOAA Coastal Ocean Office, Silver Spring, MD.
- Font-Quer P. 1977. *Diccionario de Botánica*. Editorial Labor, S.A. Barcelona.
- Gómez-Orea D. 1999. *Evaluación del impacto ambiental*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Gray CA, Chick RC, Mcelligott DJ. 1998. Diel changes in assemblages of fishes associated with shallow seagrass and bare sand. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 46, 849-859.

- Harlin MM, Thorne-Miller B, Boothroyd JC. 1982. Seagrass-sediment dynamics of a flood-tidal delta in Rhode Island. *Aquat. Bot.* 14, 127-138.
- Harnett DC, Bazzaz FA. 1983. Physiological integration among intraclonal ramets in *Solidago canadensis*. *Ecology* 64, 779-788.
- Harrison PG. 1982. Comparative growth of *Zostera japonica* Aschers. & Graebn. and *Z. marina* L. under simulated intertidal and subtidal conditions. *Aquat. Bot.* 14, 373-379.
- Heck KL, Able K, Roman C, Fahay M. 1995. Composition, abundance, biomass and production of macrofauna in a New England estuary: comparison among eelgrass meadows and other nursery habitats. *Mar. Biol.* 35, 345-357.
- Hemminga MA. 1998. The root/rhizome system of seagrasses: an asset and burden. *J. Sea Res.* 39, 183-196.
- Hemminga MA, Marbà N, Stapel J. 1999. Nutrient resorption, leaf longevity and nutrient retention in seagrass meadows. *Aquat. Bot.* 65, 141-158.
- Hemminga MA, Harrison PG, Van Lent F. 1991. The balance of nutrient losses and gains in seagrass meadows. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 71, 85-96.
- Hemminga MA, Koutstaal BP, van Soelen J, Merks AGA. 1994. The nitrogen supply to intertidal eelgrass (*Zostera marina*). *Mar. Biol.* 118, 223-227.
- Hernández I, Peralta G, Pérez-Lloréns JL, Vergara JJ, Niell FX. 1997. Biomass and dynamics of growth of *Ulva* species in Palmones River Estuary. *J. Phycol.* 33, 764-772.
- Herza SZ, Dunton KH. 1998. Light and carbon balance in the seagrass *Thalassia testudinum*: evaluation of current production models. *Mar. Biol.* 132, 711-721.
- Hillman K, Walker DI, Larkum AWD, McComb AJ. 1989. Productivity and nutrient limitation. En Larkum AWD, McComb AF, Shepherd SA (eds.), *Biology of Seagrass. A treatise on the biology of seagrasses with special reference to Australian region*. Aquatic Plant Studies 2, Elsevier, Amsterdam, 635-685 pp.
- Hipkin CR, Cannons AC. 1987. The regulation of nitrate reductase in yeasts. En: Ullrich WR, Aparicio PJ, Syrett PJ, Castillo F. (ed). *Inorganic nitrogen metabolism*. Springer-Verlag, Berlin.
- Invers O, Pérez M, Romero J. 1999. Bicarbonate utilization in seagrass photosynthesis: role of carbonic anhydrase in *Posidonia oceanica* (L.) Delile and *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 235, 125-133.
- Izumi H, Hattori A, McRoy CP. 1980. Nitrate and nitrite in interstitial waters of eelgrass beds in relation to the rhizosphere. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 47, 191-201.
- Jame YW, Cutforth HW, Ritchie JT. 1998. Interaction of temperature and daylength on leaf appearance rate in wheat and barley. *Agricultural and Forest Meteorology* 92, 241-249.
- Jeffrey SE, Humphrey GF. 1975. New spectrophotometric equations for the determination of chlorophylls *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 167, 191-194.

- Kemp WM. 2000. Seagrass ecology and management: an introduction. En: *Seagrasses. Monitoring, ecology, physiology and management*. CRC Press LLC. Boca Raton.
- Kenworthy WJ, Haunert DE. 1991. The light requirements of seagrasses: proceedings of a workshop to examine the capability of water quality criteria, standards and monitoring programs to protect seagrasses (Technical Memorandum) NMFS-SEFC-287). "National Oceanic and Atmospheric Administration", Beaufort, North Carolina.
- Kirby EJM. 1995. Factors affecting rate of leaf emergence in barley and wheat. *Crop Sci.* 35, 11-19.
- Kraemer GP, Mazzella L. 1999. Nitrogen acquisition, storage, and use by the co-occurring Mediterranean seagrasses *Cymodocea nodosa* and *Zostera noltii*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 183, 95-103.
- Krause GH, Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42, 313-349.
- Lambers H, Chapin FS, Pons TL. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer-Verlag. New York. 540 pp.
- Larcher W. 1995. *Physiological plant ecology*. 3rd Ed. Springer-Verlag. New York. 506 pp.
- Larkum AWD, McComb AJ, Shepherd SA. 1989. *Biology of Seagrasses*. Elsevier. Amsterdam.
- Laugier T, Rigollet V, de Casabianca ML. 1999. Seasonal dynamics in mixed eelgrass beds, *Zostera marina* L. and *Z. noltii* Hornem., in a Mediterranean coastal lagoon (Thau lagoon, France). *Aquat. Bot.* 63, 51-69.
- Lee KS, Dunton KH. 1996. Effects of *in situ* light reduction on the maintenance, growth and partitioning of carbon resources in *Thalassia testudinum* Banks ex König. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 210, 53-73.
- Lee KS, Dunton KH. 1997. Production and carbon reserve dynamics of the seagrass *Thalassia testudinum* in Corpus Christi Bay, Texas, USA. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 143, 201-210.
- Lewis OAM, Fulton B, von Zelewski AAA. 1987. Differential distribution of carbon in response to nitrate, ammonium, and nitrate+ammonium nutrition in wheat. En: Ullrich WR, Aparicio PJ, Syrett PJ, Castillo F. (ed). *Inorganic nitrogen metabolism*. Springer-Verlag. Berlin.
- Lewis RR, Clark PA, Fehring WK, Greening HS, Johansson RO, Paul RT. 1998. The rehabilitation of the Tampa Bay Estuary, Florida, USA, as an example of successful integrated coastal management. *Marine Pollution Bulletin* 37, 468-473.
- Long SP, Humphries S, Falkowski PG. 1994. Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45, 633-662
- Loquès F., Caye G., Meinsesz A. 1990. Axenic culture of selected tissue of *Posidonia oceanica*. *Aquat. Bot.*, 37: 171-188.

- Lubbers L, Boynton WR, Kemp WM. 1990. Variations in structure of estuarine fish communities in relation to abundance of submersed vascular plants. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 65, 1-14.
- Malta EJ. 2000. *Macroalgal mats in a eutrophic lagoon: dynamics and control mechanisms*. Tesis Doctoral. Universidad de Nijmegen. Países Bajos.
- Marbà N, Cebrián J, Enríquez S, Duarte CM. 1996. Growth patterns of Western Mediterranean seagrasses: species-specific responses to seasonal forcing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 133, 203-215.
- Marbà N, Duarte CM. 1995. Coupling of seagrass (*Cymodocea nodosa*) patch dynamics to subaqueous dune migration. *Journal of Ecology* 83, 381-389.
- Marbà N, Duarte CM. 1997. Interannual changes in seagrass (*Posidonia oceanica*) growth and environmental change in the Spanish Mediterranean littoral zone. *Limnol. Oceanogr.* 42, 800-810.
- Marbà N, Walker DI. 1999. Growth, flowering, and population dynamics of temperate Western Australian seagrasses. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 184, 105-118.
- Marschner H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press, London.
- Mazzella L., Mauzerall D., Lyman H., Alberte, RS. 1981. Protoplast isolation and photosynthetic characteristics of *Zostera marina* L. (eelgrass). *Bot. Mar.* 23, 285-289.
- McGlathery KJ, Risgaard-Petersen N, Christensen PB. 1998. Temporal and spatial variation in nitrogen fixation activity in the eelgrass *Zostera marina* rhizosphere. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 168, 245-258.
- McMaster GS. 1997. Phenology, development, and growth of the wheat (*Triticum aestivum* L.) shoot apex: A review. *Advances in Agronomy* 59, 63-118.
- McRoy CP, Barsdate RJ. 1970. Phosphate absorption in eelgrass. *Limnol. Oceanogr.* 15, 6-13.
- McRoy CP, Helfferich C. 1977. *Seagrass Ecosystems: A scientific perspective*. New York.
- Meinesz, A., Molenaar, H., Bellone, E., Loques, F. 1992. Vegetative reproduction in *Posidonia oceanica*. I. Effects of rhizome length and transplantation season in orthotropic shoots. *Mar. Ecol.* 13(2), 163-174
- Nienhuis PH, de Bree HH. 1980. Production and growth dynamics of eelgrass (*Zostera marina*) in brackish lake Grevelingen (The Netherlands). *Neth. J. Sea Res.* 14, 102-118.
- Olesen B. 1999. Reproduction in Danish eelgrass (*Zostera marina* L.) stands: size-dependence and biomass partitioning. *Aquat. Bot.* 65, 209-219.
- Olesen B, Sand-Jensen K. 1994. Biomass-density patterns in the temperate seagrass *Zostera marina* L. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 109, 283-291.
- Orth RJ, Moore KA. 1983. Chesapeake Bay: an unprecedented decline in submerged aquatic vegetation. *Science* 222, 51-53.

- Ostenfeld CH. 1908. On the ecology and distribution of the grass-wrack (*Zostera marina*) in Danish Waters. *Rep. Dan. Biol. Stn.* 16, 1-62.
- Patriquin DG. 1973. Estimation of growth rate, production and age of the marine angiosperm *Thalassia testudinum* König. *Carib. J. Sci.* 13, 111-113.
- Pearson J, Stewart GR. 1993. Tansley Review no. 56. The deposition of atmospheric ammonia and its effects on plants. *New Phytol* 125, 283-305.
- Pedersen O, Borum J, Duarte CM, Fortes MD. 1998. Oxygen dynamics in the rizosphere of *Cymodocea rotundata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 169, 283-288.
- Pedersen MF, Borum J. 1993. An annual nitrogen budget for a seagrass *Zostera marina* population. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 101, 169-177.
- Pérez-Lloréns JL, Vergara JJ, Pino RR, Hernández I, Peralta G, Niell F X. 1996. The effect of photoacclimation on the photosynthetic physiology of *Ulva curvata* and *Ulva rotundata* (Ulvales, Chlorophyta). *Eur. J. Phycol.* 31: 349-359.
- Pérez-Lloréns JL, Niell FX. 1993. Seasonal dynamics of biomass and nutrient content in the intertidal seagrass *Zostera noltii* Hornem. from Palmones River estuary, Spain. *Aquat. Bot.* 46, 49-66
- Pérez-Lloréns JL., Niell FX. 1994. Photosynthesis in air: comparative responses to different temperatures of two morphotypes of *Zostera noltii* Hornem. from Palmones River estuary (southern Spain). *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 25: 2265-2269.
- Pergent G. 1990. Lepidochronological analysis of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile: a standardized approach. *Aquat. Bot.* 37, 39-54.
- Philippart CJM. 1995. Seasonal variation in growth and biomass of an intertidal *Zostera noltii* stand in the Dutch Wadden Sea. *Neth. J. Sea Res.*, 33: 205-218.
- Phillips, RC. 1974. Transplantation of seagrasses, with special emphasis on eelgrass, *Zostera marina* L. *Aquaculture* 4, 161-176
- Phillips, RC. 1980. Responses of transplanted and indigenous *Thalassia testudinum* Banks Ex König and *Halodule wrightii* Aschers. to sediment loading and cold stress. *Contributions in Marine Science* 23, 79-87
- Phillips, RC., Lewis III, RL. 1983. Influence of environmental gradients on variations in leaf widths and transplant success in north American seagrasses. *Marine Technology Society Journal* 17, 59-98
- Platt T, Gallegos CL, Harrison WG. 1980. Phoinhibition in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.* 38, 687-701.
- Powell, G. W. N.; Kenworthy, W. J.; Fourqurean, J. W. 1989. Experimental evidence for nutrient limitation of seagrass growth in a tropical estuary with restricted circulation. *Bull Mar. Sci.* 44, 324-340
- Pulich WM. 1989. Effects of rizosphere macronutrients and sulphide levels on the growth physiology of *Halodule wrightii* Aschers. and *Ruppia maritima* L. s. l. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 127, 69-80.
- Renn CE. 1934. Wasting disease of *Zostera* in American Waters. *Nature, Lond.* 134, 416.

- Sand-Jensen K. 1975. Biomass, net production and growth dynamics in an eelgrass (*Zostera marina* L.) population in Vellerup Vig., Denmark. *Ophelia* 14, 185-201.
- Sand-Jensen K, Prahl C, Stokholm H. 1982. Oxygen release from roots of submerged aquatic macrophytes. *Oikos* 38, 349-354.
- Schreiber U Schliwa U, Bilger W. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth. Res.* 10, 5162.
- Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. 1995. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. En Schulze ED, Caldwell MM. *Ecophysiology of photosynthesis*. Springer-Verlag, Berlin. 49-70.
- Seoane-Camba J. 1965. Estudios sobre las algas bentónicas en la costa sur de la Península Ibérica (litoral de Cádiz). *Inv. Pesc.* 29, 3-216.
- Setchell WA. 1929. Morphological and phenological notes on *Zostera marina* L. *Univ. Calif. Publs. Bot.* 14:389-452.
- Sfriso A, Pavoni B. 1994. Macroalgae and phytoplankton competition in the central Venice lagoon. *Environm. Tech.* 15, 1-14.
- Short FT. 1983. The response of interstitial ammonium in eelgrass (*Zostera marina* L.) beds to environmental perturbations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 68, 195-208.
- Short FT. 1987. Effects of sediment nutrients on seagrasses: literature review and mesocosm experiment. *Aquat. Bot.* 27, 41-57.
- Short, F. T.; Davis, M. W.; Gibson, R. A.; Zimmermann, C. F. 1985. Evidence for phosphorus limitation in carbonate sediments of the seagrass *Syringodium filiforme*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 20, 419-430.
- Short FT, Burdick DM, Kaldy JE. 1995. Mesocosm experiments quantify the effects of eutrophication on eelgrass, *Zostera marina*. *Limnol. Oceanogr.* 40, 740-749.
- Short F, McRoy CP. 1984. Nitrogen uptake by leaves and roots of the seagrass *Zostera marina* L. *Bot. Mar.* 27, 547-555.
- Short F, Wylie-Echeverria S. 1996. Natural and human-induced disturbance of seagrasses. *Environm. Conserv.* 23, 17-27.
- Smith RD, Pregnall, AM, Alberte RS. 1988. Effects of anaerobiosis on root metabolism of *Zostera marina* (eelgrass): implications for survival in reducing sediments. *Mar. Biol.* 98, 131-141.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1981. *Biometry*. W. H. Freeman & Co Eds. San Francisco. 859 pp.
- Stapel J, Aarts TL, van Duynhoven BHM, de Groot JD, van den Hoogen, PHW, Hemminga MA. 1996. Nutrient uptake by leaves and roots of the seagrass *Thalassia hemprichii* in the Spermonde Archipelago, Indonesia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 134, 195-206.
- Stapel J, Hemminga MA. 1997. Nutrient resorption from seagrass leaves. *Mar. Biol.* 128, 197-126.

- Stocker G. 1980. Ecological aspects of seasonal changing in nitrogen content of plant leaves. *Flora* 170, 273-278.
- Tewari A, Joshi HV. 1988. Effect of domestic sewage and industrial effluents on biomass and species diversity of seaweeds. *Bot. Mar.*, 31: 389-397.
- Tomlinson PB. 1974. Vegetative morphology and meristem dependence – the foundation of productivity in seagrasses. *Aquaculture* 4, 107-130.
- Tuominen L, Mäkela K, Lehtonen KK, Haahti H, Hietanen S, Kuparinen J. 1999. Nutrient fluxes, porewater profiles and denitrification in sediment influenced by algal sedimentation and bioturbation by *Monoporeia affinis*. *Estuarine, Coastal, and Shelf Science*. 49, 83-97.
- Ullrich WR, Aparicio PJ, Syrett PJ, Castillo F. 1987. *Inorganic nitrogen metabolism*. Springer-Verlag. Berlin.
- Valdés, B.; Talavera, S.; Fernández-Galiano, E. 1987. *Flora Vascular de Andalucía Occidental*. Vol. 3. Eds. KETRES. 555 pp.
- Valiella I. 1995. *Marine ecological processes*. 2nd Ed. Springer-Verlag. New York. 686 pp.
- van Katwijk MM. 2000. *Possibilities for restoration of Zostera marina beds in the Dutch Wadden Sea*. PhD thesis, University of Nijmegen.
- van Katwijk MM., Vergeer LHT., Schmitz GHW., Roelofs JGM. 1997. Ammonium toxicity in eelgrass *Zostera marina*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 157: 159-173.
- van Katwijk, MM., Schmitz, GHW., Hanssen, LSAM., den Hartog, C. 1998. Suitability of *Zostera marina* populations for transplantation to the Wadden Sea as determined by a mesocosm shading experiment. *Aquat. Bot.* 60, 283-305
- van Tussenbroek BI. 1996. Leaf dimension of transplants of *Thalassia testudinum* in a Mexican Caribbean reef lagoon. *Aquat. Bot.* 55, 133-138
- Vergara JJ, Pérez-Lloréns JL, Peralta G, Hernández I, Niell FX. 1997. Seasonal variation of photosynthetic performance and light attenuation in *Ulva* canopies from Palmones River Estuary. *J. Phycol.* 33, 773-779.
- Vergara JJ, Sebastián M, Pérez-Lloréns JL, Hernández, I. 1998. Photoacclimation of *Ulva rigida* and *Ulva rotundata* arranged in canopies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 165, 283-292.
- Vermaat JE, Agawin NSR, Fortes MD, Uri JS, Duarte DM, Marbà N, Enríquez S, Van Vierssen W. 1997. The capacity of seagrasses to survive increased turbidity and siltation: the significance of growth form and light use. *AMBIO* 26, 499-504.
- Vermaat JE., Hootsmans MJM., Nienhuis PH. 1987. Seasonal dynamics and leaf growth of *Zostera noltii* Hornem., a perennial intertidal seagrass. *Aquat. Bot.*, 28: 287-299.
- Viaroli, P; Bartoli, M; Bondavalli, C; Naldi, M. 1995. Oxygen fluxes and dystrophy in a coastal lagoon colonized by *Ulva rigida* (Sacca di Goro, Po River Delta, Northern Italy). *Fresenius Envir. Bull.* 4, 381-386
- Villano N, Warwick RM. 1995. Meiobenthic communities associated with the seasonal cycle of growth and decay of *Ulva rigida* Agardh in the Palude Della Rosa, Lagoon of Venice. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 41, 181-194.

- Wallace W. 1987. Regulation of nitrate utilization in higher plants. En: Ullrich WR, Aparicio PJ, Syrett PJ, Castillo F. (ed). *Inorganic nitrogen metabolism*. Springer-Verlag. Berlin.
- Welsh DT, Wellsbury P, Bourgués S, de Wit R, Herbert RA. 1996. Relationship between porewater organic-carbon content, sulphate reduction and nitrogen-fixation (acetylene-reduction) in the rizosphere of *Zostera noltii*. *Hydrobiologia* 329, 175-183.
- Welsh DT, Bourgués S, de Wit R, Auby I. 1997. Effect of plant photosynthesis, carbon sources and ammonium availability on nitrogen fixation rates in the rizosphere of *Zostera noltii*. *Aquat. Microb. Ecol.* 12, 285-290.
- West, R.J., Jacobs, N.E., Roberts, D.E. 1990. Experimental transplanting of seagrasses in Botany Bay, Australia. *Marine Pollution Bulletin* 21, 197-203
- White SD, Gauf GG. 1998. The influence of convective flow on rhizome length in *Typha domingensis* over a water depth gradient. *Aquat. Bot.* 62, 57-70.
- Wilson DP. 1949. The decline of *Zostera marina* L. at Salcombe and its effects on the shore. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 28, 395-412.
- Zar JH. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, Inc. New Jersey, 718 pp.
- Zieman JC. 1974. Methods for the study of the growth and production of the turtlegrass, *Thalassia testudinum* König. *Aquaculture* 4, 139-143.
- Zimmerman RC, Smith RD, Alberte S. 1989. Thermal acclimation and whole-plant carbon balance in *Zostera marina* L. (eelgrass). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 130, 93-109.
- Zimmerman RC, Kohrs DG, Alberte RS. 1996. Top-down impact through a bottom-up mechanism: the effect of Limnpet grazing on growth, productivity and carbon allocation of *Zostera marina* L. (eelgrass). *Oecologia* 107, 560-567.
- Zimmerman RC, Alberte RS. 1996. Effect of light/dark transition on carbon translocation in eelgrass (*Zostera marina* L) seedlings. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 136, 305-309.