

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

**Caracterización fisiológica, bioquímica y genética de las
poblaciones mexicanas del pasto marino *Zostera marina***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

Raquel Muñiz Salazar

Ensenada, Baja California

Mayo del 2004

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

Caracterización fisiológica, bioquímica y genética de las
poblaciones mexicanas del pasto marino *Zostera marina*

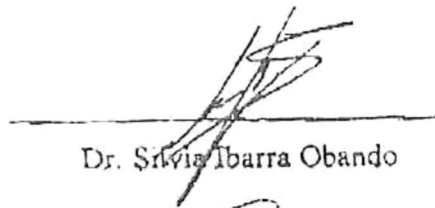
TESIS QUE PRESENTA

Raquel Muñiz Salazar

APROBADA POR



Dr. Alejandro Cabello Pasini



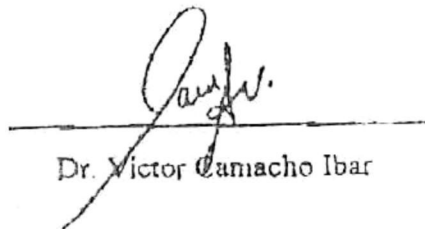
Dr. Silvia Ibarra Obando



Dr. Jorge de la Rosa Vélez



Dr. Sandra L. Talbot



Dr. Victor Camacho Ibar

Resumen

Las poblaciones del pasto marino *Zostera marina* L. que se distribuyen a lo largo de la península de Baja California (México) están expuestas a un amplio rango de irradiancias y temperaturas que podrían modificar su respuesta fisiológica y composición bioquímica. El objetivo de la primera mitad de este estudio fue el de investigar las características fotosintéticas y analizar las diferencias en la composición bioquímica en las hojas de *Z. marina* de una población del norte (Bahía San Quintín, BSQ) y dos poblaciones del sur (Laguna Ojo de Liebre; LOL y Laguna San Ignacio; LSI) de la península de Baja California, con respecto a las variaciones en los niveles de temperatura (ambiental y del agua de mar) e irradiancia (incidente e *in situ*). La temperatura y la irradiancia se registraron utilizando sensores de luz y temperatura colocados en cada uno de los tres sitios de estudio durante un año.

La temperatura de la columna del agua registrada en el sur (LOL y LSI) fue aproximadamente 5–6 °C más alta que en la laguna del norte (BSQ) al igual que la irradiancia *in situ*, la cual fue dos veces mayor en las lagunas del sur que en la laguna del norte. Como resultado de los menores niveles de irradiancia, los niveles de clorofila en las hojas de *Z. marina* fueron aproximadamente dos veces mayores en la población del norte (1.7 mg gPH⁻¹) que en las del sur (0.8 mg gPH⁻¹). Al igual que la clorofila, los niveles de carbohidratos no estructurales (azúcar y almidón) en las hojas fueron mayores en la población del norte que en las del sur, lo cual sugiere que los altos niveles de clorofila son suficientes para compensar los bajos niveles de irradiancia en la laguna del norte, y mantener un balance de carbono positivo. Por el contrario, los niveles de proteínas en las hojas de *Z. marina* de la laguna costera del norte de la península fueron ligeramente menores que en las del sur.

Las horas de fotosíntesis saturada calculadas a partir de las características fotosintéticas y de las mediciones de irradiancia, sugieren que la fotosíntesis de las plantas de LOL y LSI se encuentran saturadas por más de 6 h d⁻¹ durante todo el año, mientras que las plantas de BSQ están limitadas de luz aproximadamente el 15% del año. Consecuentemente un incremento en los valores del coeficiente de atenuación en la

columna de agua podría decrecer potencialmente su supervivencia. No obstante, que los niveles de irradiancia fueron dos veces mayor en la región subtropical, las características fotosintéticas fueron similares entre las tres lagunas. Los resultados de este estudio sugieren que las plantas de *Z. marina* de BSQ al estar expuestas a un menor nivel de irradiancia incidente y un mayor nivel de turbidez del agua con respecto a las poblaciones de LOL y LSI, despliegan tres tipos de respuestas fisiológicas para poder captar mayor cantidad de luz y así mantener tasas fotosintéticas similares a las poblaciones de LOL y LSI: (1) Colonización de áreas más someras, (2) Incremento en el contenido de pigmentos de las hojas y (3) Incremento del área foliar (longitud y ancho del haz).

Como segundo objetivo de este estudio se investigó la estructura genética a escala regional y a escala local en las poblaciones mexicanas de *Z. marina*. Se determinó las características genéticas de cinco poblaciones perennes de *Z. marina* en la costa del Pacífico de Baja California y de cuatro poblaciones anuales del Golfo de California. Las poblaciones de *Z. marina* fueron analizadas genéticamente utilizando nueve loci de microsatélites. El número de alelos por locus varió de 8 a 20, y la heterocigosidad observada y esperada en la costa del Pacífico y del Golfo de California varió de 0.48 a 0.68 y 0.44 a 0.62, respectivamente. Se encontró una diferenciación genética significativa mediante los valores θ_{ST} entre las nueve poblaciones de *Z. marina* analizadas, lo que indica que las poblaciones de *Z. marina* en México se encuentran genéticamente estructuradas. El análisis de AMOVA reveló diferencias genéticas significativas en la varianza de las frecuencias alélicas entre las poblaciones perennes de la costa del Pacífico y las poblaciones anuales del Golfo de California, lo que sugiere un flujo genético restringido entre estas áreas biogeográficas. Las poblaciones de la costa del Pacífico mostraron valores altos de θ_{ST} (0.12 – 0.28), sugiriendo que el flujo genético es restringido. En contraste, una baja pero aún significativa diferenciación genética se detectó entre las poblaciones del Golfo de California ($\theta_{ST} = 0.03 - 0.17$), lo que sugiere que el flujo genético es mucho mayor entre las poblaciones del Golfo en comparación con las del Pacífico. La prueba de aislamiento-por-distancia (IBD), mostró una correlación significativa entre las distancias genéticas [$\theta_{ST} / (1-\theta_{ST})$] y geográficas en las poblaciones

del Golfo de California, mientras que en poblaciones de la costa del Pacífico, no se encontró una significativa correlación.

Se analizó la estructura genética a escala local en la población de *Z. marina* de Bahía San Quintín (BSQ), la cual es una laguna costera con características físicas y químicas heterogéneas. Las praderas de *Z. marina* son el componente vegetal principal de BSQ, sin embargo ha sufrido una disminución del 14% en la cobertura de sus praderas en un periodo de 12 años (1987-1999). No obstante, se desconoce si la reducción en la demografía de las praderas ha ocasionado una disminución en la diversidad genética de la población. Se analizaron muestras de *Z. marina* de siete áreas diferentes a lo largo de BSQ utilizando ocho loci de microsatélites. La heterocigosidad esperada y observada varió de 0.491 a 0.563 y de 0.473 a 0.547, respectivamente. Se encontró una significativa desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) cuando las siete áreas se agruparon como una sola población ($P < 0.006$). Sin embargo, cuando las áreas fueron analizadas por grupos de acuerdo a su distribución geográfica ninguna de ellas mostró estar fuera del equilibrio de HW ($P > 0.006$). Lo anterior indica que existe más de una subpoblación dentro de BSQ (Efecto Wahlund). El análisis de agrupamiento bayesiano ($K = 4$; $L_n = -2749.8$) y los valores de θ_{ST} (0.00 a 0.095) entre pares de poblaciones indican que la población de *Z. marina* en BSQ es heterogénea y que contiene por lo menos 4 grupos diferentes. La prueba de exceso de heterocigosidad, reveló que la población de *Z. marina* en BSQ no ha sufrido un reciente cuello de botella ($P < 0.006$). Sin embargo, bajo el modelo de mutación por pasos (SMM), cinco áreas mostraron niveles significantes de deficiencia de heterocigosidad ($P < 0.006$) lo que sugiere que la población se encuentra en expansión o ha sufrido un ingreso reciente de alelos nuevos.

La realización de este trabajo fue con apoyo de la Universidad Autónoma de Baja California (4033, 4023), Ramsar Convention on Wetlands (WFF/00-2/MEX/3), U.S. Fish and Wildlife Service-North America Wetland Conservation Act, Ducks Unlimited of México (DUMAC), U.S. Geological Survey Alaska Science Center, Molecular Ecology Laboratory y Exportadora de Sal, S.A.

Agradezco al CONACYT el apoyo económico que me brindó para realizar este trabajo de investigación

AGRADECIMIENTOS

Dr. Alejandro Cabello Pasini. Gracias por abrirme las puertas de tu laboratorio y darme mi primera oportunidad de trabajo en el campo científico. Te agradezco por que siempre me animaste a superarme, me enseñaste a siempre dar lo mejor de mí, por tu amistad y tu apoyo en esos malos momentos.

Dra. Sandra Talbot. Son muchas las cosas que he de agradecerte, pero la primera de ellas por tu valiosa amistad. Así también por la hospitalidad que me brindaste, por tu apoyo y tu paciencia durante todo este tiempo de investigación. Gracias por aceptar formar parte de mi comite y por compartir conmigo el maravilloso mundo de la genética.

Dr. Jorge de la Rosa. Te agradezco profundamente por unirme a la aventura de las plantitas y por tu constante interés en esta investigación. Gracias por apoyarme en mis proyectos, por tu confianza, y porque siempre has escuchado mis inquietudes y me has ayudado a seguir adelante en este fascinante mundo de la ciencia. Gracias porque además de brindarme tu apoyo académico, me ofreciste tu amistad. Gracias Jorge.

Dra. Silvia Ibarra. Gracias por tus valiosos comentarios, por el interés a este trabajo y por la confianza que me has brindado en este corto tiempo y el cual espero que continúe.

Dr. Victor Camacho. Agradezco el apoyo que me brindaste durante la realización de esta investigación, por tus asesorías y por las criticas que ayudaron a mejorar este trabajo

Dr. José Zertuche, Oc. Alfredo Chee Barragán, Dr. Isaí Pacheco, gracias por su apoyo incondicional en todo momento, por su amistad y por permitirme formar parte del grupo de Macroalgas.

Lee Tibbitts, David Ward. Gracias amigos por su hacer de su casa un hogar para mi, por su confianza, por su amistad, por el tiempo que siempre han tenido conmigo y por sus deliciosas cenas. Los quiero mucho!!!!

Kevin Sage. Gracias por ayudarme SIEMPRE en el laboratorio, por enseñarme con mucha dedicación las tecnicas moleculares, pero sobre todo por tu amistad. Gracias Kevin por todo.

Ian Williams, Bobby Pearson, John Pearce, Caroline, Elly, Marnie, Joleane Rearick, Talia. James V. Jackson, Judy Gust. Les doy las gracias por su apoyo tanto en lo profesional como en lo personal durante mi estancia en Alaska. Nunca los olvidaré.

Martin Hernández Ayón. Gracias amiguito por escuchar siempre la misma historia, por tus palabras de aliento, por tus buenos deseos, por alentarme a seguir adelante. Gracias por esta corta pero gran amistad.

Juan Manuel López Vivas. Como olvidar las noches de desvelo, el estrés por terminar las tareas pendientes, la aventura en el Golfo de California, nuestras frustraciones y también nuestros logros. Gracias Juan por tu amistad y por tu apoyo.

Oc. Edgar Arroyo. Agradables recuerdos de las inolvidables aventuras en el campo...San Ignacio, San Quintín, el Golfo de California, etc. Gracias amigo por tu compañía en los momentos tristes, estresantes y también en los momentos alegres. Pero a todo esto...y dónde quedo la laguna?

Adán Mejía, Felipe Navarro, Gracias por su apoyo, por sus asesorías, por su tiempo y por los buenos momentos.

Jose M. Guzmán, Alberto Galvez, Zayre, Claudia, Eder, J. Luis B., gracias chicos por su incondicional apoyo y por su amistad.

Dr. Ramón Cajal, Dr. Antonio Trujillo, Dr. Eduardo Santamaría por sus asesorías y por la ayuda que siempre me han otorgado.

M.C. Alejandro Garcia Gastelum por su gran apoyo en la explicación y el manejo del Sistema de Información Geografica (SIG) empleado en el desarrollo de la tesis.

José Luis Osorio. Gracias por ayudarme a descifrar los análisis estadísticos.

Magi, Chely, Rosita, Suemy, Hortensia, Miriam, Angie. Chicas muchas gracias por su gran ayuda durante estos años, por brindarme una sonrisa cada mañana...y sobre todo gracias por su paciencia ;-)

Marco Barbosa, Eduardo, por ayudarme a salir de los contratiempos con las benditas computadoras. Gracias chicos por su paciencia y su tiempo.

Nelva Victoria Cota. Gracias por tu gran ayuda en el laboratorio y en el campo.

A mis cuates del mismo dolor...Nancy, J. Luis, Juan Manuel, Clarissa, Tania, Luis, Verónica. Gracias por acompañarme en mis noches de desvelos, por escuchar mis quejas, por compartir mis logros, por acompañarme en este largo, duro pero reconfortante viaje.

Al Laboratorio Feliz, Miriam, Eneas, Mary, Alonso gracias por su apoyo, por la amistad que nació y aun conservamos. Los quiero mucho!!!

A Cecy, mi amiga, mi confidente, mi comadre, mi vecina, gracias amiga por tu amistad y por siempre estar conmigo en los buenos, en los malos y en los peores momentos, siempre te llevo en mi corazón.

A Julia, Ramón ...gracias amigos por esta duradera amistad...Disculpen no haber compartido mas momentos con uds., pero me esforzaré más.

Y por último, pero no lo menos importante a mis super amigos deportistas, Chela, Rafita, Rubén, Iván, Eva, Chivis, Maru, Dr. Saúl, Cristo, Mauricio, Melissa, Marta T. Sin su compañía matinal y sin el reconfortante jacuzzi-time, hubiera sido muy difícil poder terminar esta tesis... Gracias a todos por abrimme las puerta de su corazón y las de su casa.

Un agradecimiento muy especial para todas aquellas personas que estuvieron

junto a mí durante el pequeño tropiezo que tuve en mi salud.

Gracias por sus pensamientos, por sus oraciones, por sus cartas, por sus

llamadas telefónicas, por sus visitas y por sus palabras de apoyo.

Por siempre estaré agradecida por sus muestras de cariño...fué y ha sido mi

mejor medicina para mi pronta rehabilitación

Que Dios los Bendiga

DEDICATORIAS

Alejandro García Gastelum

Gracias por estar segundo a segundo, año tras año junto a mí
Gracias por tu amor, por tu paciencia, por tus cuidados...por consentirme
Gracias por tu amor incondicional
TE AMO

A mis padres por su amor, por su apoyo, por sus sabios consejos. Porque han sido mi ejemplo de lucha, de perseverancia, de dedicación, de trabajo y de vida.

Clau...gracias hermanita por que siempre me cuidas y me proteges. Te quiero mucho!!!

A mi sobrino Homero Heredia Piña...siempre lucha hasta que veas realizados todos tus sueños

A mis pequeños angelitos...Dani, Biany, Xavi, José Carlos y Oliver. Les dedico con un cariño especial este trabajo, esperando que la entrega que he puesto en el les sirva de inspiración en su vida como a mi me sirvió el de mis padres.

En especial dedico este trabajo a Fernando Romero, mi amigo, mi ángel de la guarda y también mi doctor.... Gracias Fer por cuidarme, por preocuparte de mi salud y de mi bienestar. Gracias por que siempre has estado en todo momento y me has escuchado y consolado cuando más lo he necesitado. Por esas charlas filosóficas tan gratas, por mostrarme nuevas formas de vida.

A Dios por permitirme disfrutar de este nuevo triunfo en mi vida, por darme una nueva oportunidad para ser feliz, gracias por un año más de vida

ÍNDICE

Capítulo I. Introducción General.....	1
Antecedentes generales.....	9
Capítulo II. Caracterización fisiológica del pasto marino <i>Zostera marina</i> en Baja California, México.	20
Resumen	20
Introducción.....	22
Objetivos.....	25
Métodos	26
Área de Estudio.....	26
Variables Ambientales.....	28
Temperatura.....	28
Irradiancia	28
Granulometría	29
Distribución Vertical.....	30
Densidad y Biomasa	30
Morfometría.....	31
Fotosíntesis	31
Análisis Estadístico.....	33
Resultados.....	34
Variables Ambientales.....	34
Temperatura.....	34
Irradiancia	34
Granulometría	35
Distribución Vertical.....	36
Densidad y Biomasa	36

Morfometría.....	38
Fotosíntesis	38
Discusión	52
Capítulo III. Caracterización bioquímica del pasto marino <i>Zostera marina</i> en Baja California, México.....	59
Resumen	59
Objetivos.....	64
Métodos	65
Área de Estudio.....	65
Variables Ambientales.....	67
Temperatura.....	67
Irradiancia.....	67
Caracterización Bioquímica.....	68
Contenido de Pigmentos.....	68
Determinación de Proteínas.....	69
Determinación de Carbohidratos no estructurales.....	70
Determinación de Fibra Neutra	70
Determinación de Fibra Ácida.....	71
Contenido de Cenizas	71
Contenido Calórico.....	72
Análisis Estadístico.....	72
Resultados.....	73
Variables Ambientales.....	73
Temperatura e irradiancia	73
Contenido de Pigmentos.....	73
Contenido de Proteínas.....	74
Contenido de Carbohidratos no estructurales.....	74
Contenido de Fibra Neutra y Fibra Ácida.....	75
Contenido de Cenizas y Contenido Calórico.....	75

Discusión	85
Capítulo IV. Caracterización genética del pasto marino <i>Zostera marina</i> en México.....	93
Resumen	93
Introducción.....	95
Objetivos.....	99
Métodos	100
Área de Estudio.....	100
Análisis Genético.....	102
Extracción de ADN.....	102
Genotipificación	102
Análisis de Datos	103
Diversidad Genética.....	103
Estructura Poblacional.....	104
Relación Genética Entre Poblaciones.....	105
Resultados.....	106
Análisis de Datos	106
Diversidad Genética.....	106
Estructura Poblacional.....	107
Relación Genética entre Poblaciones.....	109
Discusión	116
Capítulo V. Estructura genética de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín.....	126
Resumen	126
Introducción.....	128
Objetivos.....	132
Métodos	133
Área de Estudio.....	133

Análisis Genético.....	135
Extracción de ADN.....	135
Genotipificación	135
Análisis de Datos	136
Diversidad Genética.....	136
Estructura Poblacional.....	137
Asignación Poblacional	137
Detección de Cuello de Botella	138
Relación Genética entre Poblaciones.....	138
Resultados.....	139
Análisis de Datos	139
Diversidad Genética.....	139
Estructura Poblacional.....	140
Asignación Poblacional	140
Detección de Cuello de Botella	141
Relación Genética entre Poblaciones.....	141
Discusión	147
Capítulo VI. Discusion General.....	152
Literatura citada.....	161

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución mundial del pasto marino <i>Zostera marina</i> en las costas del Hemisferio Norte	2
Figura 2. Localización de los sitios de colecta del pasto marino <i>Zostera marina</i> en la costa del Pacífico de Baja California. Bahía San Quintín (BSQ), Laguna Ojo de Liebre (LOL) y Laguna de San Ignacio (LSI).	27
Figura 3. Morfología de un haz vegetativo y un haz reproductivo de <i>Zostera marina</i>	32
Figura 4. Temperatura ambiental y del agua de mar en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.	42
Figura 5. Radiación fotosintéticamente activa (PAR) incidente y submarina en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio.	43
Figura 6. Coeficiente de atenuación (K_0) en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.	44
Figura 7. Distribución del tamaño de grano y contenido de materia orgánica del sedimento dentro de las praderas de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio.....	45
Figura 8. Variación anual de: (A) densidad, (B) biomasa y (C) densidad de haces reproductivos de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.	46
Figura 9. Variación anual de: (A) longitud del haz y (B) ancho del haz de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	47
Figura 10. Respuesta de la fotosíntesis en función de la irradiancia en hojas de <i>Zostera marina</i> de Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio. Evaluado mediante polarografía.	48
Figura 11. Fotosíntesis máxima, eficiencia fotosintética y coeficiente de subsaturación en hojas de <i>Zostera marina</i> en función del tiempo en	

Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	49
Figura 12. Respuesta de la respiración en función de la irradiancia en haces de <i>Zostera marina</i> de Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio. Evaluado mediante polarografía	50
Figura 13. Horas de fotosíntesis saturada (Hsat) en <i>Zostera marina</i> de Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	51
Figura 14. Localización de los sitios de colecta de <i>Zostera marina</i> en la costa del Pacífico de Baja California. Bahía San Quintín (BSQ), Laguna Ojo de Liebre (LOL), Laguna San Ignacio (LSI).....	66
Figura 15. Irradiancia incidente y temperatura superficial del agua de mar en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.	78
Figura 16. Niveles de clorofila $a + b$ en las hojas de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	79
Figura 17. Niveles de proteínas totales y solubles, en las hojas de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	80
Figura 18. Niveles de azúcar y almidón en las hojas de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	81
Figura 19. Niveles de fibra neutra y fibra ácida en las hojas de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	82
Figura 20. Niveles del contenido de cenizas y calorías en las hojas de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	83

Figura 21. Composición bioquímica en porcentaje en las hojas de <i>Zostera marina</i> en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.....	84
Figura 22. Localización de los sitios de colecta de <i>Zostera marina</i> para el análisis genético en la costa del Pacífico de Baja California y en el Golfo de California. Estero Punta Banda (EPB), Bahía San Quintín (BSQ), Laguna Ojo de Liebre (LOL), Laguna San Ignacio (LSI), Bahía Magdalena (BM), Bahía Concepción (BC), Canal del Infiernillo (CI), Bahía Agiabambo (AG) y Bahía Santa María (BSM).....	101
Figura 23. Relación entre la distancia genética (θ_{ST}) y la distancia geográfica entre poblaciones de <i>Zostera marina</i> , a lo largo de patrones de corrientes. (A) Poblaciones de la costa del Pacífico: $r^2 = 0.13$, $P > 0.05$. (B) Poblaciones del Golfo de California: $r^2 = 0.33$, $P < 0.05$	114
Figura 24. Relación genética entre loci de microsatélites de <i>Zostera marina</i> de las poblaciones de la costa del Pacífico y del Golfo de California.	115
Figura 25. Localización de los sitios de colecta de <i>Zostera marina</i> para el análisis genético en Bahía San Quintín, en la costa del Pacífico de Baja California. Cabeza Oeste (A), Brazo Oeste (G), Monte Ceniza (C), Boca (D), Pedregal (E), Molino Viejo (F) y Cabeza Este (G).....	134
Figura 26. Relación genética entre loci de microsatélites de <i>Zostera marina</i> entre diferentes áreas en Bahía San Quintín.	146

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Resultados del ANOVA de dos vías para probar el efecto del tiempo y el sitio de estudio sobre la densidad (haces vegetativos + haces reproductivos), la densidad de haces reproductivos, la biomasa, la longitud y el ancho del haz en <i>Zostera marina</i>	40
Tabla II. Resultados del ANOVA de dos vías para probar el efecto del tiempo y el sitio de estudio sobre la Fotosíntesis máxima (P_{max}), Pendiente inicial (α), Coeficiente de subsaturación (E_K) y Respiración (R) en las hojas de <i>Zostera marina</i>	41
Tabla III. Resultados del análisis de varianza de dos vías para evaluar el efecto del tiempo y el sitio de estudio sobre la concentración de clorofila, azúcar, almidón, proteínas solubles, proteínas totales, fibra neutra, fibra ácida, contenido de ceniza y calorías en los haces de <i>Zostera marina</i>	77
Tabla IV. Valores de diversidad genética y estimaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) en <i>Zostera marina</i> de la costa del Pacífico (EPB, BSQ, LOL, LSI y BM) y el Golfo de California (BC, CI, AG y BSM).....	110
Tabla V. Análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico basado en nueve loci de microsatélites de <i>Zostera marina</i> , entre la Región de la costa del Pacífico (EPB, BSQ, LOL, LSI, BM) y la Región del Golfo de California (CI, BC, AG, BSM).....	111
Tabla VI. Análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico basado en loci de microsatélites de <i>Zostera marina</i> . (a) Entre la Región Templada (EPB, BSQ) y la Región Subtropical (LOL, LSI, BM) de la costa del Pacífico de Baja California; (b) Entre la Región Norte (CI, BC) y la Región Sur (AG, BSM) del Golfo de California	112
Tabla VII. Matriz de comparaciones pareadas de los valores de θ_{ST} entre poblaciones perennes de <i>Zostera marina</i> de la costa del Pacífico (EPB, BSQ, LOL, LSI y BM) y el Golfo de California (BC, CI, AG y BSM).....	113

- Tabla VIII. Valores de diversidad genética y estimaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) en *Zostera marina* en 7 áreas diferentes de Bahía San Quintín: Cabeza Oeste (A), Brazo Oeste (B), Monte Ceniza (C), Boca (D), Pedregal (E) Molino Viejo (F) y Cabeza Este (G). BSQ, significa que todas las muestras se agruparon en una sola y única población. 142
- Tabla IX. Matriz de comparaciones pareadas de los valores de θ_{ST} de *Zostera marina* entre siete áreas diferentes en Bahía San Quintín: Cabeza Oeste (A), Brazo Oeste (B), Monte Ceniza (C), Boca (D), Pedregal (E) Molino Viejo (F), Cabeza Este (G). 143
- Tabla X. Probabilidad del número de poblaciones (K) para los datos agrupados de *Z. marina* en Bahía San Quintín. (Todas las muestras se mezclaron para formar una sola e hipotética población K=1). 144
- Tabla XI. Proporción de la correcta asignación (q) de los individuos para los grupos propuestos a partir del método de agrupamiento Bayesiano: Grupo 1) área A; Grupo 2) área B,C,D; Grupo 3) área E,F; Grupo 4) área G 145

Capítulo I. Introducción General

Zostera marina es la especie de pasto marino con la más amplia distribución en el hemisferio norte, habitando desde regiones árticas hasta regiones subtropicales (Fig.1) (Phillips et al. 1983). En México, *Z. marina* se distribuye a lo largo de la costa del Pacífico de la península de Baja California (Cabello-Pasini 1984; Ibarra-Obando 1989; Riosmena-Rodríguez & Sánchez-Lizaso 1996) y en el Golfo de California (Felger et al. 1980; Phillips et al. 1983; Meling-López & Ibarra-Obando 1999; Santamaría-Gallegos et al. 2000).

Las poblaciones de *Z. marina* que habitan a lo largo de la costa del Pacífico se encuentran expuestas a diferentes condiciones ambientales. El norte de la península de Baja California se caracteriza por ser una Región Templada y estar influenciada por eventos de surgencia recurrentes (Lynn y Simpson, 1987; Ibarra-Obando et al., 2001), mientras que el sur de la península es una Región Subtropical con una importante influencia de Agua Superficial Ecuatorial caracterizada por sus altas temperaturas (Castro et al. 2000). Lo anterior provoca que la temperatura del agua de mar en el sur de Baja California sea de 7 a 15 °C más alta que en la Región norte (Castro et al., 2000; Durazo-Arvizu et al. 2001). Diversos estudios han demostrado que la variación anual en las características fotosintéticas de los pastos marinos es debida a los cambios estacionales en los niveles de temperatura y de irradiancia (Kerr y Strother, 1985; Bulthuis, 1987; Zimmerman et al., 1989; Cabello-Pasini et al., 2002). Sin embargo, aunque se ha sugerido que las fluctuaciones estacionales en la densidad, y la biomasa de *Z. marina* en las lagunas

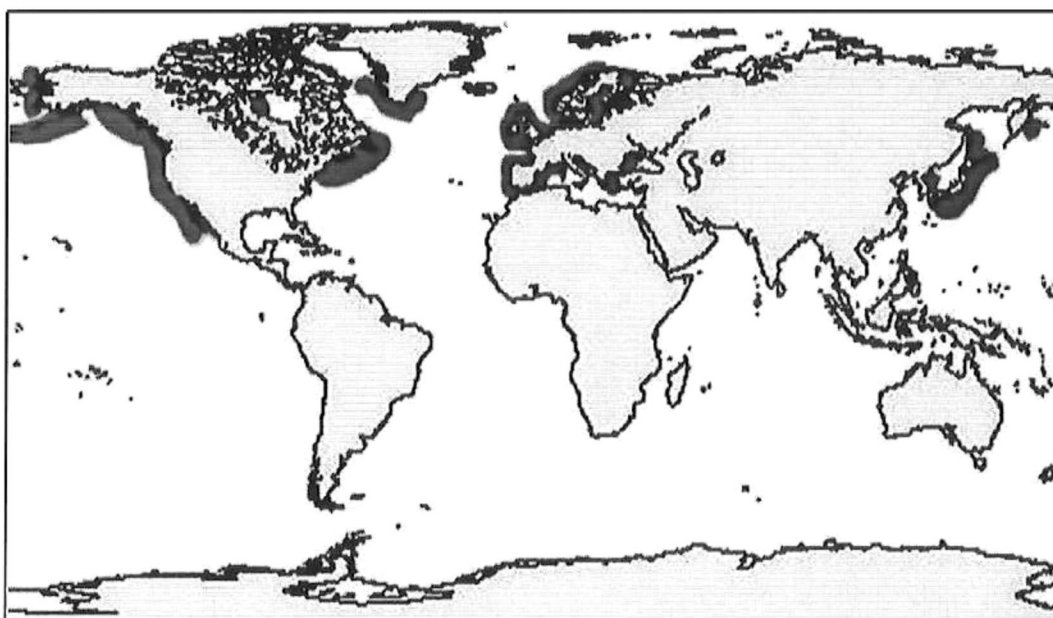


Figura 1. Distribución mundial del pasto marino *Zostera marina* en las costas del Hemisferio Norte

En consecuencia, es importante realizar estudios fisiológicos de *Z. marina* que permitan comprender como influyen los cambios latitudinales y estacionales de irradiancia y temperatura en el crecimiento, la densidad, la biomasa y la morfología entre las plantas de *Z. marina* de la Región Templada y subtropical de la península de Baja California.

La fisiología, la morfología y la composición bioquímica de pastos y otros vegetales marinos están reguladas principalmente por la irradiancia, la temperatura y el contenido de nutrientes en la columna de agua y/o en el sedimento (Backman y Barilotti, 1976; Dunton, 1994; Aguirre-VonWobeser, 2002; Cabello-Pasini et al., 2002; Touchett y Burkholder, 2002). Algunos estudios demuestran que la reducción de >80% de la irradiancia por periodos de dos a tres semanas, a consecuencia de la resuspensión de sedimento, provocó la disminución de dos a cuatro veces la concentración inicial del contenido de carbohidratos solubles en las hojas de *Z. marina* (Burke et al., 1996; Cabello-Pasini et al., 2002). Por otro lado, la reducción experimental del fotoperiodo ocasionó un incremento en los niveles de clorofila en las hojas de *Z. marina* de una laguna de California (Dennison, 1987). De igual manera, los cambios estacionales en los niveles de temperatura e irradiancia en la columna de agua han generado cambios en los niveles de lípidos, proteínas, carbohidratos y otros constituyentes químicos en algunas especies de algas marinas en Baja California (Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991). Consecuentemente, las variaciones en la composición bioquímica de *Z. marina* podrían regular la fisiología de los organismos que se alimentan directamente de *Z. marina*. No obstante las diferencias en la temperatura e irradiancia incidente en el norte y sur de la

península, se desconoce si estas variaciones afectan la composición bioquímica de *Z. marina* en Baja California.

Los pastos marinos difieren ampliamente en historias de vida, fenología, morfología, características fotosintéticas y crecimiento, en función de las variaciones latitudinales y estacionales de irradiancia, temperatura, salinidad y nutrientes principalmente (Hemminga y Duarte, 2001). Sin embargo, también se han encontrado diferencias genéticas en función del tipo de reproducción que presentan estas especies (Procaccini y Mazella, 1998; Procaccini y Waycott, 1998; Reusch et al., 1999; Reusch et al., 2000; Hemminga y Duarte, 2001; Reusch, 2002). Existen diferentes estudios en los que se ha encontrado que las variaciones morfológicas y el tipo de reproducción (clonal o sexual) se relacionan significativamente con las variaciones genéticas en diferentes especies de plantas (Podolsky y Holtsford, 1995; Persson y Gustavsson, 2001; Steinger et al., 2002; Storz, 2002). Para *Halophila stipulacea*, por ejemplo, se encontró que existen diferencias genéticas significativas entre el morfotipo largo de la zona submareal y el morfotipo corto de la zona intermareal (Procaccini et al., 1999). Aparentemente el cambio en la morfología de *Z. marina* dentro de una misma pradera está regulado por factores fisiológicos (Aguirre-VonWobeser, 2002). Entre las poblaciones de *Z. marina* del norte y sur de Baja California se han encontrado diferencias significativas en la morfología de los haces. Los haces del norte son dos veces más largos y dos veces más anchos que los haces del sur de la península (Varela-Valencia, 2001; Cabello-Pasini et al., 2003a). No obstante que existen diferencias morfológicas en los haces de *Z. marina* a lo largo de la península de Baja California, aún no se han realizado estudios genéticos que permitan

determinar si las diferencias morfológicas observadas son consecuencia de diferencias genéticas entre las poblaciones.

Las plantas que se reproducen de manera vegetativa (e. g. por medio de clones), tienen una diversidad genética inter- e intra-poblacional menor que aquellas que se reproducen de manera sexual (Les, 1988). Las historias de vida de las poblaciones de *Z. marina* del Pacífico y del Golfo de California son diferentes en diversos aspectos. Las poblaciones de la costa del Pacífico de Baja California son de vida perenne, reproduciéndose principalmente de manera clonal. En contraste, las del Golfo de California son de vida anual, reproduciéndose exclusivamente de forma sexual durante invierno-primavera, desapareciendo por completo en el verano, cuando la temperatura del agua es superior a los 30 °C (Phillips y Backman, 1983; Ibarra-Obando, 1989; Meling-López y Ibarra-Obando, 1999; Varela-Valencia, 2001). No obstante que existen diferencias en la época y forma de reproducción entre las poblaciones de *Z. marina* del Pacífico y del Golfo de California, aún no se han realizado estudios genéticos que determinen si existen diferencias en la diversidad genética entre las poblaciones perennes del Pacífico y las poblaciones anuales del Golfo de California.

El flujo genético entre poblaciones de especies marinas se restringe por barreras oceanográficas y geográficas, promoviendo así, la formación de grupos genéticamente diferentes (Hedgecock, 1986; Burton, 1998; Terry et al., 2000). Las poblaciones de *Z. marina* que habitan en la costa del Pacífico se encuentran bajo condiciones oceanográficas muy diferentes a las del Golfo de California. La costa del Pacífico está influenciada por la

Corriente de California, con flujo neto hacia el sur y velocidades menores de 12 cm s^{-1} (Lynn & Simpson 1987). En cambio, el Golfo de California está influenciado por el Agua Superficial Ecuatorial, y la velocidad de las corrientes dentro del Golfo, puede exceder los 100 cm s^{-1} y provocar fuertes mezclas (Badan-Dagon et al. 1991). Además, se ha demostrado que la península de Baja California actúa como barrera geográfica, limitando el flujo genético en algunas especies de peces (Terry et al., 2000; Stepien et al., 2001), mamíferos marinos (Schramm-Urrutia, 2002) e invertebrados marinos (Brusca, 1980; Correa-Sandoval y Rodríguez-Cortés, 1998). Así también, la mayor distancia entre las poblaciones de *Z. marina* del Pacífico y el Golfo de California es de más de 2,000 km de costa por la presencia de la península de Baja California. Reusch et al. (2000) encontraron un mayor nivel de diferenciación genética y un menor flujo genético entre poblaciones europeas de *Z. marina* al incrementarse la distancia geográfica entre ellas. La reproducción sexual y la dispersión del polen y las semillas es muy limitada en los pastos marinos, incluyendo a *Z. marina* (De Cock, 1980; Ackerman, 1986, 1997b; Hemminga y Duarte, 2001). Por lo anterior, es muy probable que *Z. marina* muestre una estructura poblacional en la península de Baja California así como en el Golfo de California. Sin embargo, se desconoce como las diferencias oceanográficas, biogeográficas y fenológicas entre la costa del Pacífico y el Golfo de California pueden contribuir en las variaciones genéticas en las poblaciones de *Z. marina* entre estas regiones.

Así como el aislamiento genético está demostrado en escalas regionales, el aislamiento a escalas locales también ha sido documentado (Burton y Feldman, 1981; Hellberg, 1994; Ruckelshaus, 1998; Bilton et al., 2002). Algunos estudios han revelado

una diferenciación genética interpoblacional significativa en estuarios y lagunas costeras para diversas especies de plantas y animales (Fain et al., 1992; Williams y Orth, 1998; Bilton et al., 2002). Bahía San Quintín es una laguna costera con características heterogéneas en el patrón de corrientes, tiempos de residencia del agua así como en los niveles de temperatura, salinidad y nutrientes (Camacho-Ibar et al., 2003; Hernández-Ayón et al., 2004). No obstante que presenta condiciones oceanográficas muy heterogéneas, se desconoce si estas diferencias han propiciado el aislamiento genético de las praderas de *Z. marina* y otras especies que habitan en esta laguna costera.

Las praderas de pastos marinos son extremadamente vulnerables a cambios en los niveles de temperatura, de la irradiancia y de los nutrientes (Short y Wyllie-Echeverria, 1996; Short y Neckles, 1999; Hemminga y Duarte, 2001). En los últimos 30 años, ha desaparecido aproximadamente el 30% del área total mundial de las praderas de pastos marinos debido a cambios en el medio ambiente (Short y Wyllie-Echeverria, 1996; Duarte, 1999). La causa principal a nivel mundial, es la reducción de la luz *in situ* en las praderas, ocasionado por la descarga de materia orgánica y particulada provenientes de áreas agrícolas o urbanas, o por la descargas de ríos o arroyos. En Baja California, se han registrado cambios en la abundancia y distribución de *Z. marina* en Bahía San Quintín (Ward et al., 2004a; Ward et al., 2004b), sin embargo, se desconoce si esta variabilidad es el resultado de cambios temporales en la fisiología de esta especie o por causas antropogénicas. No obstante la importancia ecológica de las praderas de *Z. marina* en las lagunas costeras, hasta la fecha se desconocen los factores que regulan la fotosíntesis, el crecimiento y la composición bioquímica de estos pastos a lo largo de la península de

Baja California. De igual manera, se desconoce si existen diferencias en las características genéticas entre las poblaciones y cual es el nivel de flujo genético entre las praderas de *Z. marina* del Pacífico y del Golfo de California. Consecuentemente, los objetivos de este estudio son: i) Caracterizar las variaciones anuales en la fisiología fotosintética y en la composición bioquímica de las poblaciones de *Z. marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio en relación con los cambios latitudinales y estacionales de irradiancia y temperatura en las diferentes lagunas; ii) Estimar la diferenciación genética dentro y entre cada población de *Z. marina* de la costa del Pacífico y del Golfo de California, iii) Evaluar el grado de diferenciación genética entre las poblaciones perennes de la Región del Pacífico y las poblaciones anuales del Golfo de California, iv) Estimar el grado de estructura genética de *Z. marina* en Bahía de San Quintín.

ANTECEDENTES GENERALES

Zostera marina es la especie de pasto marino con la más amplia distribución en el Hemisferio Norte, donde habita desde regiones subpolares hasta regiones subtropicales. Habita en estuarios y lagunas costeras desde el Mar de Bering hasta la península de Baja California en la costa del Pacífico Norte. También habita en las costas del Océano Atlántico del continente americano y europeo (DenHartog, 1970; Phillips et al., 1983; Hemminga y Duarte, 2001). La distribución de *Z. marina* en México es a lo largo de la costa del Pacífico de la península de Baja California, desde Ensenada (31° N) hasta Bahía Magdalena (24° N) y en el Golfo de California (Ibarra-Obando, 1989; Meling-López y Ibarra-Obando, 1999; Varela-Valencia, 2001).

Las praderas de *Z. marina* son altamente productivas y dinámicas, actuando como refugio y áreas de reproducción de peces, crustáceos, moluscos, poliquetos, diatomeas, etc. (DenHartog, 1970; Felger et al., 1980; Oliveira et al., 1983; Ibarra-Obando et al., 1997; Hemminga y Duarte, 2001). Las hojas de estas plantas son fuente importante de alimento para cientos de miles de gansos, patos y otras aves migratorias que utilizan a las lagunas costeras como áreas de descanso, durante su migración invernal (Kramer, 1976; Ward, 1983; Mather et al., 1998). Por otro lado, los rizomas y raíces de *Z. marina* estabilizan sedimentos no consolidados por lo cual juegan un papel importante en el asolvamiento y erosión de estuarios y lagunas costeras. Por lo anterior, las praderas de pastos marinos han sido consideradas ecosistemas de alto valor ecológico y económico (Constanza et al. 1997). A pesar de la importancia de los pastos marinos en la ecología de los estuarios, lagunas costeras y zonas oceánicas, la mayoría de las investigaciones de

pastos marinos en México solo se han enfocado a su taxonomía, distribución y demografía (Lot-Helgueras, 1977; Aguilar-Rosas y López-Ruelas, 1985; Ibarra-Obando, 1989; Ibarra-Obando y Ríos, 1993; Riosmena-Rodríguez y Sánchez-Lizaso, 1996; Ibarra-Obando et al., 1997; Poumian-Tapia y Ibarra-Obando, 1999), las características fisiológicas, bioquímicas y genéticas de las poblaciones de *Z. marina* en México aún no se han investigado.

La distribución y las características biológicas de los pastos marinos están controladas principalmente por la irradiancia *in situ* (Dennison y Alberte, 1985; Koch, 2001) y la temperatura (Hemminga y Duarte, 2001). Las características fotosintéticas en los pastos marinos varían de acuerdo a los cambios estacionales en irradiancia y temperatura. La fotosíntesis depende de la irradiancia disponible o de la irradiancia absorbida. La curva P-E es la relación gráfica entre la fotosíntesis (P) y la irradiancia (E), y es de gran utilidad para comparar la fisiología y predecir patrones de crecimiento en diferentes especies de pastos. A partir de las curvas P-E puede calcularse la tasa fotosintética máxima (P_{max}), el punto de compensación de luz (E_c), el cual representa la irradiancia a la cual la fotosíntesis es igual a la respiración (R), el coeficiente de subsaturación (E_k), que es la irradiancia a la cual la fotosíntesis se satura y la eficiencia fotosintética (α) que es la pendiente inicial de la curva P-E (Lobban y Harrison, 2000). En una especie de pasto marino de la Región tropical (*Thalassia testudinum*), se observó un máximo en los valores de P_{max} , R y α durante el verano seguido por un decremento de estos parámetros en otoño e invierno (Herzka y Dunton, 1998). El mismo patrón estacional se observó en una especie de zona templada *Zostera noltii*, la cual mostró los

valores más altos de P_{\max} en verano y los más bajos en invierno (Vermaat y Verhagen, 1996).

La disponibilidad de luz es considerada como uno de los parámetros ambientales más importantes que controlan la profundidad a la cual los pastos marinos pueden crecer. La luz en el agua decrece rápidamente al aumentar la profundidad, por lo que la distribución de los pastos marinos se ve confinada a un intervalo muy pequeño de profundidad, desde zonas someras hasta profundidades de menos de 20 m (Hemminga y Duarte, 2001). A mayores profundidades la limitación de luz en los pastos marinos provoca que los organismos presenten un balance de carbono negativo y no puedan sobrevivir. El balance de carbono en la planta es la razón entre el carbono fijado en la fotosíntesis (P) y el consumo de carbono orgánico en la respiración (R) (Hemminga y Duarte, 2001). Un balance positivo ($P > R$) indica que las ganancias de carbono mediante la fotosíntesis son mayores que la pérdida de carbono mediante la respiración. Bajo estas condiciones, la planta mantiene altas tasas de crecimiento y/o almacenamiento de carbohidratos de reserva en los rizomas y en el tejido. La tolerancia a la privación de luz en los pastos varía entre las especies, algunas especies tienen un grado de tolerancia bajo ya que logran sobrevivir sólo un mes (*Halophila ovalis*; Longstaff y Dennison, 1999) en condiciones de limitación de luz. En cambio otras especies pueden sobrevivir hasta cinco meses en condiciones inferiores a sus requerimientos mínimos de luz (*Thalassia testudinum*, Lee, 1997); *Posidonia sinuosa*, Gordon et al., 1994).

El modelo propuesto del balance de carbono para *Z. marina* propuesto por Zimmerman et al. (1989) indica que los periodos de luz saturante para la fotosíntesis (H_{sat}) requeridos para mantener un balance de carbono puede variar entre 3 - 12 h, en función de las razones de fotosíntesis neta:respiración ($P_{net}:R$). Algunos estudios reportan que tanto las razones de $P_{net}:R$ generalmente son mayores durante la primavera y a principios del verano (Sand-Jensen, 1975) cuando el fotoperiodo es largo. En contraste, durante periodos de invierno, cuando los fotoperiodos son cortos, se espera que los requerimientos de H_{sat} que se incrementen como una respuesta a la disminución en las razones de $P_{net}:R$.

Algunos estudios indican que los pastos marinos pueden incrementar el contenido de clorofila en las hojas, como una respuesta fotoadaptativa a la disminución de luz, aunque esto no puede ser mantenido por mucho tiempo (Longstaff y Dennison, 1999). En *Z. marina* y *Z. noltii* la concentración de pigmentos varía estacionalmente de acuerdo al incremento y la disminución en la irradiancia a lo largo del año. Durante los meses de invierno, cuando la irradiancia disminuye, la concentración de clorofila *a* y *b* es mayor que en los meses de verano (Jimenez et al., 1987). Por ejemplo, la reducción de >80% de la irradiancia por periodos de dos a tres semanas debido a la resuspensión de sedimento, resultó en la disminución de dos a cuatro veces la concentración inicial del contenido de carbohidratos solubles en las hojas de *Z. marina* de las costas de California y Baja California (Burke et al., 1996; Cabello-Pasini et al., 2002). Por otro lado, el contenido de nitrógeno en hojas de algunas especies de pastos marinos decrece significativamente al incrementar la irradiancia (Longstaff y Dennison, 1999; Peralta et al., 2002). El contenido

de nitrógeno total en hojas y rizomas de *Posidonia oceanica* varió estacionalmente con valores máximos en invierno y valores mínimos en verano (Invers et al., 2002). El 13% del contenido de nitrógeno en las hojas de *P. oceanica* estuvo representado por proteínas solubles. Sólo existe un estudio reciente que analiza el efecto de la disminución de la irradiancia en la fisiología y en la composición bioquímica de *Z. marina* en México (Cabello-Pasini et al. 2002). En dicho trabajo, se encontró que periodos con irradiancia cercana a cero durante más de 4 semanas, como consecuencia de la resuspensión de sedimento debido a tormentas, provocó la desaparición total de las praderas de *Z. marina* en una zona expuesta. (Cabello-Pasini et al., 2002).

El incremento en la temperatura del agua también afecta directamente el mecanismo de la fotosíntesis, la respiración y el balance positivo de carbono en plantas de *Z. marina*. La fotosíntesis se incrementa con la temperatura en ambientes con irradiancia saturante, mientras que en ambientes con baja irradiancia la fotosíntesis decrece al aumentar la temperatura (Bulthuis, 1987; Zimmerman et al., 1989). El análisis de balance de carbono realizado en hojas de *Z. marina* de una zona templada, mostró que las tasa diarias de respiración exceden a las tasas de fotosíntesis a temperaturas mayores de 25 °C, lo que provocó un déficit de carbono y con ella la mortandad de las plantas durante el verano (Marsh et al., 1986). En un estudio realizado en las costas de California se encontró que entre los 11 – 15.5 °C, la concentración de los nutrientes en la columna de agua y la temperatura mantenían una relación inversa (Zimmerman y Kremer, 1984). Las variaciones en los niveles de temperatura y de nutrientes se reflejan en la composición bioquímica en las macrofitas marinas. Por ejemplo, en el alga *Macrocystis pyrifera*, el

contenido de nitrógeno y proteínas disminuyó al incrementarse la temperatura durante El Niño de 1982-1983 (Gerard, 1984).

Las características morfológicas que hacen diferentes a las praderas de *Z. marina* en su distribución mundial, son entre otras, el largo y el ancho de las hojas. Algunos estudios muestran que las variaciones en la longitud y el ancho de las hojas de algunas especies de pastos marinos, están correlacionadas con variaciones ambientales de luz y temperatura (McMillan, 1978; Backman, 1990; Hemminga y Duarte, 2001; Meling-López, 2001). La selección natural es una fuerza poderosa que crea fenotipos en los organismos permitiendo su adaptación a las diferentes condiciones locales ambientales (Johnston et al., 2001; Steinger et al., 2002). Un análisis de diferenciación poblacional en base a las características fenotípicas, requiere de una base genética, de tal manera que puedan separarse los componentes genéticos de los ambientales. Existen diferentes estudios en los que se ha encontrado que las variaciones morfológicas se relacionan significativamente con las variaciones genéticas en diferentes especies de plantas terrestres y acuáticas (Podolsky y Holtsford, 1995; Persson y Gustavsson, 2001; Steinger et al., 2002; Storz, 2002). En una especie del pasto marino, *Halophila stipulacea*, se encontró que existen diferencias genéticas significativas entre el morfotipo largo de la zona submareal y el morfotipo corto de la zona intermareal (Procaccini et al., 1999). Los haces de *Z. marina* entre las poblaciones a lo largo del Pacífico de Baja California, presentan diferencias morfológicas significativas; haces más largos y más anchos en el norte con respecto a los haces del sur (Varela-Valencia, 2001; Cabello-Pasini et al., 2003a). Así también, dentro de una misma población, se han registrado dos morfotipos

diferentes en los haces de *Z. marina* (Meling-López, 2001; Aguirre-VonWobeser, 2002). Los haces del intermareal presentan hojas más cortas y más delgadas que los del submareal. Aparentemente el cambio en la morfología de *Z. marina* dentro a nivel intra- o inter-pobalcional está regulado por factores fisiológicos (Aguirre-VonWobeser, 2002; Cabello-Pasini et al., 2003a; Cabello-Pasini et al., 2004), sin embargo, aún no se han realizado estudios genéticos que permitan determinar las diferencias morfológicas observadas puedan deberse a factores genéticos.

Los pastos marinos son angiospermas marinas que se reproducen de manera sexual o asexual. Cuando se reproducen sexualmente la polinización se lleva a cabo exclusivamente debajo del agua (polinización hidrofílica). El polen es expulsado de la planta y es dispersado por las corrientes de agua (Ackerman, 1997b, 1997a). Las desventajas de la polinización hidrofílica son que la transportación es estocástica y la probabilidad de fertilización disminuye al incrementarse la distancia geográfica (Ackerman, 1997b, 1997a). A partir de estas observaciones, se ha hipotetizado que este tipo de polinización ha inducido a los pastos marinos a reproducirse principalmente de manera asexual como un mecanismo de conservación (Les, 1988). La reproducción asexual en los pastos marinos es principalmente por propagación vegetativa (clones), mediante la extensión de sus rizomas (Hemminga y Duarte, 2001). Algunos estudios muestran que la dispersión del polen en las plantas de *Z. marina* decae a menos del 10% dentro de los primeros 15 m de la fuente de expulsión (Ackerman, 1986; Ruckelshaus, 1996) y la mayor parte de las semillas de *Z. marina* no son transportadas más de 2 metros

del origen. Sin embargo, la dispersión de haces reproductivos con semillas es de 2 – 4 veces mayor que la dispersión del polen y de las semillas (Reusch, 2002).

Aproximadamente 30 especies que representan 12 géneros de pastos marinos se han estudiado genéticamente por medio de isozimas (Wain et al., 1985). Aunque las isozimas muestran una alta variación genética en plantas terrestres, en diversas especies de angiospermas con polinización hidrofílica se ha encontrado una variabilidad genética baja y un alto grado de homocigosidad. De las especies de pastos marinos estudiadas, solamente *Z. marina*, *Halodule uninervis* y *Phyllospadix scouleri* han mostrado polimorfismo isozimático, mientras que las demás especies han mostrado ser monomórficas (McMillan, 1980, 1981; McMillan, 1982). En general, los resultados isozímicos obtenidos de pastos marinos han sido de tipo cualitativo más que cuantitativo. Debido a que la baja proporción de polimorfismo encontrado en estas especies, impide obtener niveles confiables en diferentes estimadores como, número de alelos, proporción de loci polimórficos, índices de fijación, niveles de heterocigosidad promedio y distancias genéticas, los cuales son importantes para determinar la estructura poblacional en cualquier especie (Nei, 1987). El número de loci o caracteres utilizados en estudios genéticos es muy importante, ya que se ha demostrado que la diversidad genética detectada en cualquier especie depende de dichas características. En un estudio realizado en 21 especies de plantas con reproducción clonal, se encontró que la especie que mostró la diversidad genética más alta, fue aquella en la que se utilizó el mayor número de loci isozímicos (Ellstrand y Roose, 1987).

Además de la técnica de isozimas, existen otras técnicas moleculares recientemente desarrolladas que se han empleado para caracterizar genéticamente las poblaciones de diferentes especies de pastos marinos. Entre las técnicas desarrolladas se pueden mencionar: RFLPs (polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción; (Fain et al., 1992); Fingerprinting (huellas de DNA; (Alberte et al., 1994) y microsatélites. La técnica más exitosa para la evaluación de la diversidad genética a nivel inter- e intra-poblacional en pastos marinos ha sido la de microsatélites (Procaccini y Mazella, 1998; Procaccini y Waycott, 1998; Reusch et al., 1999; Reusch et al., 2000; Reusch, 2002). La principal característica por la que se han utilizado con gran éxito los microsatélites, es que han permitido detectar altos niveles de polimorfismo en comparación con las otras técnicas anteriormente mencionadas. Reusch et al. (1999; 2000a) recientemente desarrollaron y utilizaron 12 marcadores microsatélites en poblaciones europeas de *Z. marina*. Con el empleo de estos microsatélites se logró estimar la estructura clonal, la diversidad genética interpoblacional y el grado de diferenciación genética entre poblaciones europeas de la costa norte del Atlántico. Tales estimaciones no se habían logrado anteriormente empleando la técnica de isozimas, debido al bajo polimorfismo que esta técnica mostraba.

Se ha mencionado que las plantas de *Z. marina* pueden ser capaces de cambiar su historia de vida de perenne a anual cuando las condiciones del hábitat son estresantes (Keddy y Patriquin, 1978). Sin embargo, aún no se ha determinado exactamente si los factores que determinan la presencia y/o ausencia de las plantas perennes y anuales dentro de un mismo hábitat o en hábitats diferentes son de tipo ambiental o genético. Los

primeros trabajos de tipo genético en poblaciones de *Z. marina* se realizaron utilizando isozimas. Gagnon et al. (1980) estudió plantas anuales y perennes de *Z. marina* de una misma población de la costa del Atlántico Norte. Por otro lado, McMillan (1982) comparó una población de vida anual del Golfo de California con una población perenne de la costa de California. En los dos estudios mencionados anteriormente, los autores concluyeron que la forma perenne es genéticamente idéntica a la forma anual, sugiriendo que la forma anual de *Z. marina* es simplemente una variante medioambiental (ecofenotipo), y que no está influenciada por factores genéticos. Sin embargo, ambos estudios sólo se basan en la información genética generada por un solo locus isozímico polimórfico, lo cual indica que el polimorfismo fue extremadamente bajo. De acuerdo a lo anterior, se puede asumir que los resultados obtenidos por Gagnon et al. (1980) y McMillan (1982) no son apropiados para concluir que no existe diferencia genética entre la forma anual y la forma perenne de *Z. marina*, dado los bajos niveles de polimorfismo encontrados en dichos estudios.

Análisis genéticos realizados en poblaciones de plantas y animales muestran que la reducción de grandes extensiones en las poblaciones a varios parches pequeños, provoca un decremento en la diversidad genética y una reducción en el flujo genético (Dudash y Fenster, 2000; Srikwan y Woodruff, 2000; Young et al., 2000). La fragmentación del hábitat tiene efectos negativos significantes en las poblaciones, reduce la diversidad genética, el tamaño genético efectivo poblacional (N_e) e incrementa su aislamiento. Cuando una especie sufre una disminución drástica de su tamaño poblacional, se genera un cuello de botella. El identificar poblaciones que han sufrido recientemente cuellos de

botella es crítico debido a que este proceso incrementa la tasa de endogamia, la pérdida de la diversidad genética y la fijación de alelos deletéreos y por lo tanto reduce el potencial adaptativo e incrementa la probabilidad de extinción de la población (Luikart y Cornuet, 1998; Young y Clarke, 2000; Goodman et al., 2001; Landergott et al., 2001). Durante los últimos 30 años, se han registrado pérdidas de por lo menos 24 especies diferentes de pastos marinos en más de 40 sitios en el mundo. La causa principal ha sido debido a disturbios antropogénicos, como el dragado y la eutroficación en los cuerpos costeros, o bien por el daño mecánico en plantas provocado por actividades marítimas o acuícolas (Short y Wyllie-Echeverría, 1996). En México, solo se ha reportado la disminución en la demografía de una población de *Z. marina* en una laguna costera del Pacífico (Bahía San Quintín, (Ward et al., 2004a; Ward et al., 2004b). Sin embargo, aunque no se han realizado estudios que comprueben la disminución a lo largo del tiempo en la demografía de las praderas de *Z. marina* en diferentes lagunas costeras del Pacífico y del Golfo de California, si se ha podido observar en los últimos años la fragmentación en algunas de estas lagunas (RMS, observación personal). Sin embargo, aún no se han realizado estudios que estimen el nivel de diversidad y estructura genética dentro y entre las diferentes poblaciones de *Z. marina* en México y de esta manera contar con elementos adecuados para su conservación y manejo.

Capítulo II. Caracterización fisiológica del pasto marino *Zostera marina* en Baja California, México.

RESUMEN

Las poblaciones del pasto marino *Zostera marina* L. se distribuyen a lo largo de la península de Baja California (México) y están expuestas a un amplio intervalo de irradiancias y temperaturas que podrían modificar su respuesta fisiológica. Consecuentemente el objetivo de este estudio fue el de investigar la respuesta fotosintética con respecto a las variaciones en los niveles de temperatura e irradiancia en una población del norte (Bahía San Quintín; BSQ) y dos poblaciones del sur (Laguna Ojo de Liebre; LOL y Laguna San Ignacio; LSI) de Baja California, México. La densidad, la biomasa, la morfología, la fenología y las características fotosintéticas de *Z. marina* fueron relacionadas con mediciones continuas de la irradiancia *in situ*, el coeficiente de atenuación y la temperatura en cada una de las lagunas. La irradiancia *in situ* fue aproximadamente dos veces menor en BSQ que en LOL y LSI. Como consecuencia de una mayor irradiancia, las plantas LOL y LSI se distribuyen a un 1 m más de profundidad que las plantas de BSQ. La variación de la biomasa en BSQ fue cuatro veces mayor y estuvo principalmente relacionada por los cambios en la longitud del haz más que por la densidad, mientras que en LOL y LSI la biomasa y la longitud del haz no mostró una variación significativa a lo largo del año. Los valores máximos en la densidad de haces reproductivos correspondieron a los valores máximos de irradiancia *in situ*. La densidad de haces reproductivos fue tres veces mayor en la población de la Región Templada

(BSQ) que en las de la Región Subtropical (LOL, LSI). No obstante que los niveles de irradiancia fueron dos veces mayor en la Región Subtropical, las características fotosintéticas fueron similares entre las tres lagunas. Las horas de fotosíntesis saturada calculadas a partir de las características fotosintéticas y de las mediciones de irradiancia, sugieren que la fotosíntesis de las plantas de LOL y LSI se encuentra saturada de luz por más de 6 h d^{-1} durante todo el año. En contraste, las plantas de BSQ se encuentran limitadas de luz por lo menos durante el 15% del año. Consecuentemente un incremento en los valores del coeficiente de atenuación en la columna de agua podría reducir su supervivencia.

INTRODUCCIÓN

La distribución y supervivencia de los pastos marinos en lagunas costeras y estuarios está influenciada por una variedad de parámetros abióticos y bióticos, sin embargo, la luz es considerada como el factor principal que regula su supervivencia. La distribución vertical de *Z. marina* y otros pastos marinos, por ejemplo, es más somera en lagunas costeras y estuarios con mayor turbidez que en ambientes con agua más clara (Duarte, 1991; Cabello-Pasini et al., 2002). La luz que llega a las praderas de pastos marinos varía anualmente a consecuencia de las fluctuaciones estacionales en la irradiancia incidente, duración de la luz, nivel del agua resuspensión del sedimento y concentración de la materia orgánica en la columna de agua (Zimmerman et al., 1994; Zimmerman et al., 1995; Koch y Beer, 1996). Periodos prolongados de limitación de luz a consecuencia de la resuspensión de sedimento o por la eutroficación, provocan a menudo una disminución en el crecimiento de los pastos marinos o bien la mortalidad de las plantas que crecen a mayor profundidad (Zimmerman et al., 1995; Koch y Beer, 1996; Cabello-Pasini et al., 2002).

Zostera marina es la macrofita marina dominante en las lagunas costeras de la costa del Pacífico de Baja California, México (Ibarra-Obando y Ríos, 1993; Bernardi et al., 2003). La costa del Pacífico de Baja California contiene algunas de las praderas más grandes de *Z. marina* en Norteamérica y junto con el Golfo de California representan el límite sur de esta especie en el hemisferio norte (Riosmena-Rodríguez y Sánchez-Lizaso, 1996). Las praderas de *Z. marina* en Baja California representan una importante fuente de alimento para decenas de miles de aves migratorias, incluyendo al ganso branta negra

(*Branta bernicla*) a lo largo del corredor del Pacífico (Reed et al., 1998) y forma un hábitat crítico para el reclutamiento de peces y moluscos (Santamaria-Gallegos et al., 2000). En la última década el desarrollo urbano de las lagunas costeras de Baja California así como el establecimiento de granjas acuícolas de moluscos y minas de sal, se ha incrementado dramáticamente (Ortega y Castellanos, 1995). Mientras que el impacto de estas actividades en las comunidades de pastos marinos es desconocido, se ha observado un decremento en la abundancia de *Z. marina* como resultado de las operaciones de dragado en una laguna costera del norte de Baja California (Cabello-Pasini, 1984).

A pesar del incremento de las amenazas a los ecosistemas costeros de Baja California, no se ha realizado una evaluación completa de la demografía, la fenología y la fisiología de *Z. marina* a lo largo de su distribución en México. Estudios demográficos previos de *Z. marina* en la costa del Pacífico de Baja California solo se han destinado en gran parte a las lagunas costeras del norte (31 - 32 °N), Estero Punta Banda y Bahía San Quintín (Cabello-Pasini, 1984; Ibarra-Obando y Huerta-Tamayo, 1987; Ibarra-Obando y Ríos, 1993; Poumian-Tapia y Ibarra-Obando, 1999), las cuales se ubican dentro de la distribución central de *Z. marina* en el Pacífico Norte (Phillips et al., 1983). Así mismo, estudios realizados en el Golfo de California se han enfocado solo a una población en el estado de Sonora (29 °N) (Phillips y Backman, 1983; Meling-López y Ibarra-Obando, 1999). Mientras que se ha sugerido que las fluctuaciones estacionales en la densidad y la biomasa de *Z. marina* en las lagunas del norte son el resultado de las variaciones anuales en la temperatura del agua, el efecto de los cambios anuales en la irradiancia *in situ* no ha sido caracterizado. Se ha sugerido que las poblaciones de *Z. marina* en el límite sur de su

distribución son anuales, desapareciendo durante el verano (Phillips, 1983; Phillips et al., 1983). Mientras que lo anterior se ha confirmado para las poblaciones del Golfo de California, la historia de vida, la demografía y la fisiología de las poblaciones que crecen hacia el sur de los 26 °N en la costa de Pacífico de la península de Baja California aún no se conoce. Consecuentemente, el objetivo de este estudio fue el de caracterizar las variaciones anuales en la densidad, la morfología, la biomasa aérea, la densidad de haces reproductivos y la fisiología fotosintética de las poblaciones de *Z. marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio con relación a registros continuos de irradiancia *in situ* y temperatura del agua.

OBJETIVOS

- a) Evaluar las diferencias en la densidad y la biomasa del pasto marino *Z. marina* entre las localidades de Bahía San Quintín (BSQ), Laguna Ojo de Liebre (LOL) y Laguna San Ignacio (LSI) a lo largo del año.
- b) Evaluar si existen diferencias en las características fotosintéticas del pasto marino *Z. marina* entre BSQ, LOL y LSI a lo largo del año.
- c) Determinar si las diferencias en las características fotosintéticas de *Z. marina* entre BSQ, LOL y LSI están correlacionadas con las diferencias de irradiancia y temperatura a lo largo de un año.

MÉTODOS

Área de Estudio

Ejemplares de *Z. marina* fueron colectados en tres lagunas costeras de la costa del Pacífico de Baja California; Bahía San Quintín, (BSQ; 30°24' N, 115°57' O), Laguna Ojo de Liebre (LOL, 27°35' N, 113°50' O) y Laguna San Ignacio (LSI, 26°38' N; 113°06' O) (Fig. 2). En este estudio, BSQ representa la distribución norte de *Z. marina* en Baja California. Esta laguna se encuentra dentro de la region templada de lapensinsula de Baja California, con temperaturas promedio de 12 -18 °C a lo largo del el año y está influenciada por surgencias durante primavera y verano (Alvarez-Borrego et al., 1977; Alvarez-Borrego y Alvarez-Borrego, 1982; Ibarra-Obando et al., 2001). Mientras que LOL y LSI representan el limite sur de la distribución de *Z. marina* en Baja California, las cuales se encuentran dentro de la Región Subtropical, con temperaturas máximas anuales del agua de 26 °C (Alvarado et al., 1986; Alvarez-Borrego, 1992).

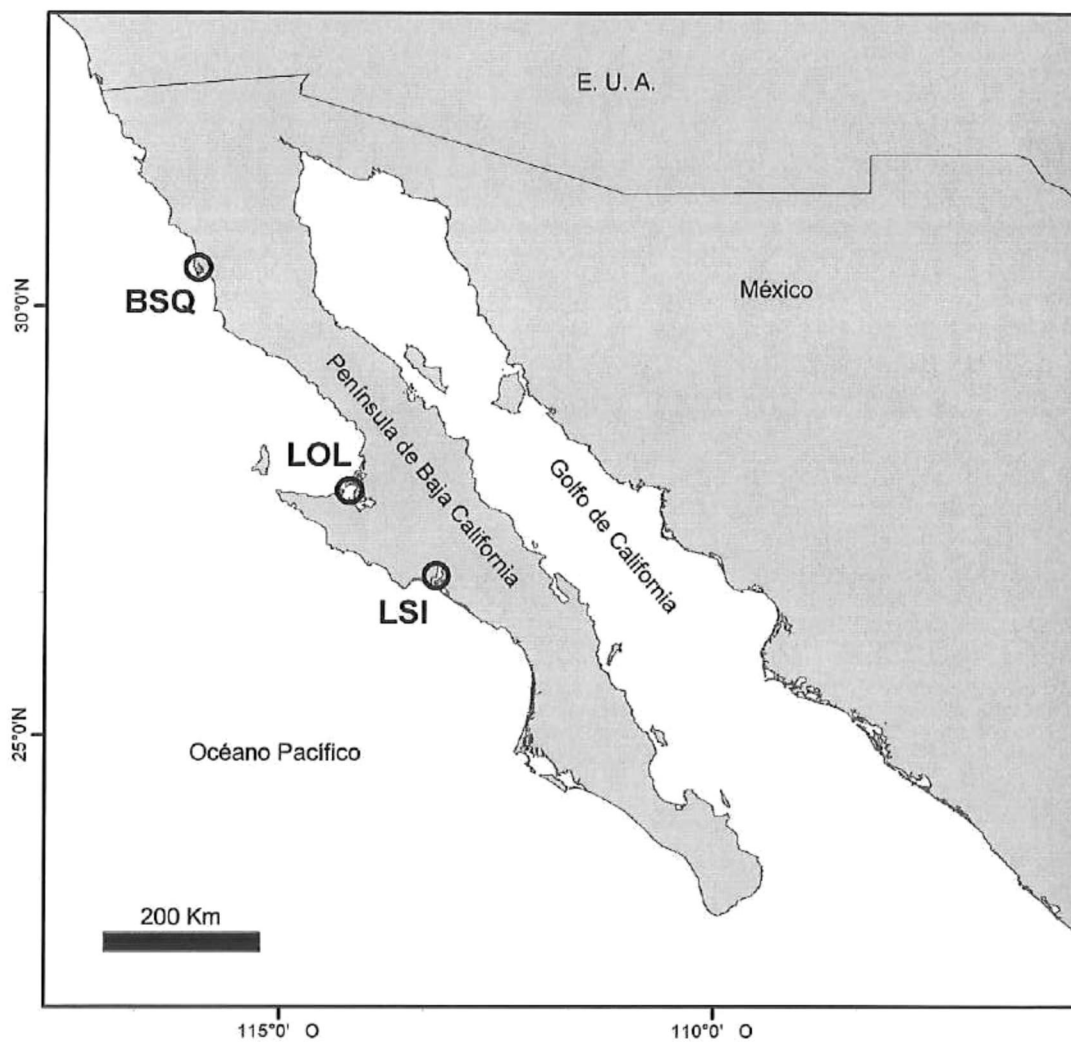


Figura 2. Localización de los sitios de colecta del pasto marino *Zostera marina* en la costa del Pacífico de Baja California. Bahía San Quintín (BSQ), Laguna Ojo de Liebre (LOL) y Laguna de San Ignacio (LSI).

Variables Ambientales

Temperatura ambiental y del agua de mar

La temperatura ambiental y del agua de mar se registraron a intervalos de 0.5 h durante 12 meses, en cada una de las tres lagunas utilizando sensores de temperatura (HOBO, Onset Computers, EUA). Los sensores de temperatura se calibraron en el laboratorio contra un termómetro digital. La temperatura ambiental para cada laguna se registró desde una estación meteorológica ubicada a una altura de aproximadamente 2 metros sobre el suelo. En cada una de las lagunas se colocó un sensor de temperatura submarino ubicado en el límite de la zona intermareal y submareal dentro de la pradera de estudio de *Z. marina*. La ubicación geográfica de los sensores en cada laguna fue la siguiente: BSQ 30.42° N, 115.95° O; LOL 27.65° N, 114.10° O; LSI 26.88° N, 113.15° O. Los datos de cada uno de los sensores, se recuperaron por medio de una tarjeta de adquisición de datos (HOBO, OnSet Computers. EUA) cada seis semanas. Ambas temperaturas fueron promediadas a intervalos diarios.

Irradiancia incidente y submarina

Los niveles de irradiancia incidente y submarina fueron registrados en cada una de las lagunas durante un periodo de 12 meses, utilizando sensores de luz fotosintéticamente activa (LFA; LI-COR, EUA). La irradiancia incidente en cada laguna se midió desde una estación meteorológica ubicada a una altura de aproximadamente 2 metros sobre el suelo mediante sensores de luz 2π (LI-190SA, LICOR). La irradiancia submarina se midió utilizando sensores de luz submarinos 4π (LI-193SA, LICOR). En cada laguna se colocó exclusivamente un sensor, a la altura máxima de la fronda de cada una de las praderas de

Z. marina. La ubicación geográfica de los sensores en cada laguna fue la siguiente: BSQ 30.42° N, 115.95° O; LOL 27.65° N, 114.10° O; LSI 26.88° N, 113.15° O. Los sensores de irradiancia en las tres lagunas fueron limpiados aproximadamente cada seis semanas para eliminar incrustaciones de microalgas y de microorganismos adheridos a la superficie de los sensores. Los datos de ambas irradiancias fueron registrados cada 0.5 h durante 12 meses y fueron recuperados por medio de una tarjeta de adquisición de datos (HOBO-Shuttle, OnSet Comp. EUA) cada seis semanas. La irradiancia incidente y submarina se integraron diariamente desde el amanecer hasta el atardecer expresada como mol cuanta $m^{-2} d^{-1}$. El coeficiente de atenuación (K_o) se calculó de acuerdo a la Ley de Lambert-Beer a partir de los valores de irradiancia incidente y submarina (Kirk, 1994).

$$K_o = \ln (E_o / E_z) z^{-1}$$

Donde E_z es la irradiancia a una profundidad z , E_o es la irradiancia incidente en la parte superior de la pradera y K_o es el coeficiente de atenuación.

Granulometría

El tamaño de grano del sedimento fue determinado en las lagunas de BSQ, LOL y LSI siguiendo el protocolo descrito por Folk (1974). Las muestras de sedimento se colectaron cada 50 m ($n = 8$) en las praderas de *Z. marina* hasta una profundidad de 7 cm, usando un nucleador de 3 cm de diámetro. Las muestras se colocaron en tubos de plástico de 50 mL y fueron transportadas al laboratorio en hieleras. En el laboratorio las muestras se limpiaron de conchas, organismos y fragmentos de hojas y raíces. Cada muestra se secó a 60 °C hasta obtener peso constante. La materia orgánica fue oxidada utilizando H_2O_2 al 35% (v/v) durante una semana hasta que cesó la oxidación. Posteriormente las

muestras se secaron a 60 °C hasta peso constante. El contenido de materia orgánica en el sedimento fue calculado por diferencia de peso previo a la oxidación. Posteriormente se realizó un tamizado seleccionando las fracciones de 1 - 4.5 ϕ , en intervalos de 0.5 ϕ .

Distribución Vertical

El perfil de playa y la profundidad de las praderas de *Z. marina* fueron determinados en diferentes transectos en BSQ, LOL y LSI, utilizando un tránsito, un estadal y una cinta métrica. El punto inicial de los transectos fue la marca de la marea más alta y el punto final la parte más profunda de la pradera.

Densidad y Biomasa

En cada una de las tres lagunas estudiadas, se colectaron aleatoriamente haces de *Z. marina* (hojas y rizomas) utilizando cuadrantes de 400 cm² (n = 10), mediante técnicas manuales y de buceo libre. Las colectas se realizaron cada 6 semanas durante 12 meses siguiendo la metodología de Poumian-Tapia y Ibarra-Obando (1999). Las muestras fueron colocadas en hieleras con agua de mar a aproximadamente 17 °C y transportadas al laboratorio del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California en Ensenada, B. C. El material colectado fue limpiado de epífitas y epibiontes manualmente y se lavó con agua de mar para eliminar residuos de sedimento y posteriormente se eliminó el rizoma dejando sólo los haces. La densidad de haces se evaluó por unidad de área, contabilizando el número de haces (vegetativos + reproductivos; Fig. 3) colectados por cuadrante. La biomasa se evaluó por unidad de área, pesando los haces colectados por cuadrante, en peso seco (PS) y peso húmedo (PH).

Morfometría

La morfología de *Z. marina* en cada laguna se evaluó cada seis semanas. A cada uno de los haces colectados ($n = 10$), se le midió la longitud de la hoja más larga (Fig. 3), desde el punto donde inicia la parte aérea del haz, hasta la punta de la hoja. El ancho del haz se midió en la parte en donde inicia el nacimiento de las hojas (Fig. 3). La longitud se midió con una cinta métrica y el ancho con un vernier digital

Fotosíntesis

La respuesta fotosintética a las variaciones de irradiancia y temperatura en *Z. marina* de BSQ, LOL y LSI se evaluó cada seis semanas por métodos polarográficos ($n = 6$) utilizando aproximadamente 0.3 g de tejido vivo de la segunda hoja de cada individuo, siendo la primer hoja la más joven. El tejido se colocó en cámaras de borosilicato de 5 mL conectadas a un termocirculador para mantener una temperatura igual a la registrada en el momento de la colecta en el campo. La concentración de oxígeno en la cámara se evaluó con agitación continua con electrodos tipo Clark (Rank Brothers, Cambridge, Inglaterra). La luz empleada para activar la fotosíntesis se obtuvo de lámparas de halógeno de 300 W (Quartzline) y la densidad de flujo de fotones se varió usando filtros de densidad neutra (Lee Filters, Inglaterra). La fotosíntesis máxima (P_{max}), la eficiencia fotosintética (α) y el coeficiente de subsaturación (E_k) se determinaron mediante un algoritmo no lineal (Sigma Plot, Jandel Scientific, Chicago Illinois) a partir de los datos de la ecuación exponencial de fotosíntesis descrita por Webb et. al. (1974):

$$P = P_{max} [1 - e^{(-E/E_k)}] + R$$

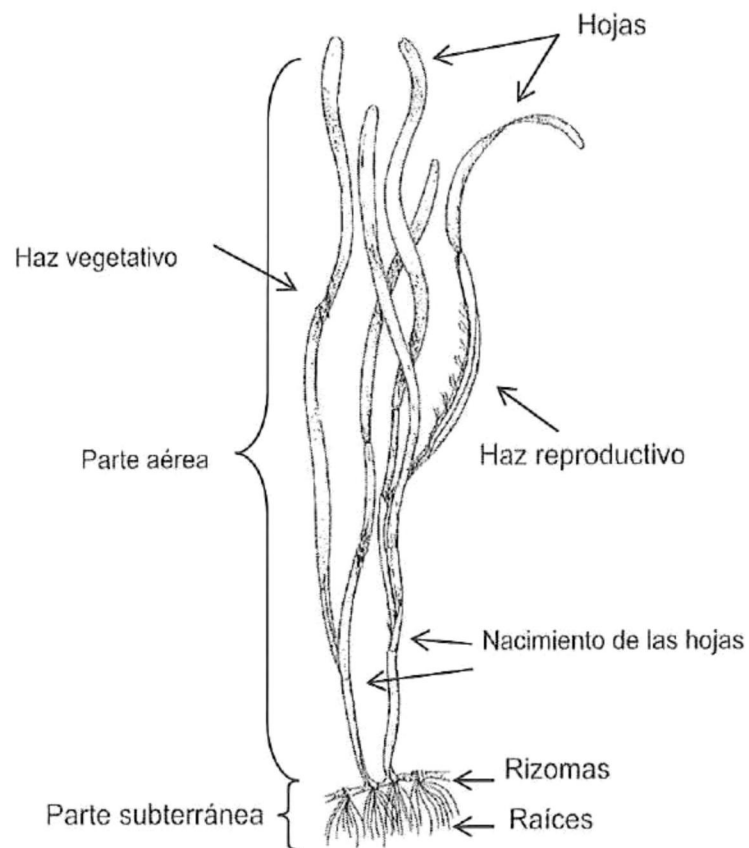


Figura 3. Morfología de un haz vegetativo y un haz reproductivo de *Z. marina*.

Donde P es fotosíntesis, P_{\max} es la fotosíntesis máxima, E es la irradiancia, E_k es el coeficiente de subsaturación y R es la respiración.

Análisis Estadístico

Las diferencias temporales y locales en el tamaño de grano, densidad, biomasa y parámetros fotosintéticos en las tres lagunas (BSQ, LOL y LSI) fueron evaluadas utilizando un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías después de probar la normalidad y homocedasticidad de los datos (Sokal y Rohlf, 1984). Las diferencias en el contenido de la materia orgánica del sedimento entre las tres lagunas se analizaron mediante un ANOVA de una vía. Todas las comparaciones múltiples pareadas se realizaron con una prueba de Tukey. La significancia de las correlaciones entre los datos ambientales y los parámetros demográficos se evaluaron con la correlación de Pearson. El nivel de significancia mínima se estableció en $P < 0.05$.

RESULTADOS

Variables Ambientales

Temperatura ambiental y del agua de mar

La temperatura del aire y del agua de mar se incrementó latitudinalmente de norte a sur (Fig. 4). La temperatura del aire y el agua fue menor entre diciembre y marzo y mayor entre julio y septiembre en las tres lagunas costeras. El promedio de la temperatura máxima del aire fue de 22, 26 y 29 °C en BSQ, LOL y LSI, respectivamente; sin embargo, la temperatura a la sombra alcanzó 40 – 48 °C durante periodos cortos en el verano en LOL y LSI. La temperatura mínima promedio del aire fue de 11, 13 y 15 °C en BSQ, LOL y LSI, respectivamente. La temperatura máxima promedio del agua fue de 22 °C en BSQ y aproximadamente 26 °C en LOL y LSI, respectivamente, mientras que las temperaturas más bajas fueron similares (15 °C) en todas las lagunas. En general, se encontró una fuerte correlación positiva ($P < 0.05$) entre la temperatura diaria del aire y del agua.

Irradiancia incidente y submarina

Los valores de irradiancia diaria integrada presentaron un clásico patrón sinusoidal en LOL y LSI; sin embargo, en la laguna costera del norte la irradiancia *in situ* no varió significativamente a lo largo del año (Fig. 5). Se registró una señal estacional clara de la irradiancia, de la neblina y de las nubes, las cuales introdujeron una reducción considerable en la irradiancia incidente. Los valores máximos de irradiancia incidente diaria integrada se observaron en Junio para las tres lagunas y se incrementó de norte a

sur. Los valores máximos de irradiancia fueron aproximadamente de 30, 55 y 62 mol cuanta $m^{-2} d^{-1}$ en BSQ, LOL y LSI, respectivamente. La máxima irradiancia se alcanzó aproximadamente 2 meses antes de las temperaturas máximas del aire y del agua en las tres lagunas. El valor máximo de irradiancia diaria integrada fue aproximadamente de 5 mol cuanta $m^{-2} d^{-1}$ en BSQ y de 25 mol cuanta $m^{-2} d^{-1}$ en LOL y LSI. La irradiancia diaria incidente y submarina estuvieron positivamente correlacionadas ($P < 0.05$) en las tres lagunas.

Los valores del coeficiente de atenuación (K_0) variaron entre la laguna del norte y las dos lagunas del sur (Fig. 6). Valores de K_0 en BSQ fueron aproximadamente tres veces mayores que aquellos observados en LOL y LSI. En BSQ, los valores máximos de K_0 (aproximadamente $2.1 m^{-1}$) fueron observados durante el invierno mientras que los valores mínimos ($0.6 m^{-1}$) fueron monitoreados durante el verano. En contraste, los valores máximos de K_0 (aproximadamente $0.5 m^{-1}$) fueron observados durante el verano mientras que los valores mínimos se observaron durante el invierno ($0.4 m^{-1}$) en LOL y LSI. Periodos cortos de valores altos de K_0 fueron observados durante la estación de lluvia en el invierno en BSQ.

Granulometría

El tamaño de grano del sedimento en las praderas de *Z. marina* mostró una distribución bimodal en BSQ y unimodal en LOL y LSI (Fig. 7). La composición del sedimento fue relativamente homogénea en LOL y LSI en donde más del 90% del sedimento estuvo compuesto por arena fina y muy fina, originando planicies compactas.

En contraste, la composición del sedimento fue relativamente heterogénea en BSQ, con un 20% de limo y arcilla lo que conformo un sustrato muy blando. El contenido de limo y arcilla fue aproximadamente treinta veces mayor en BSQ que en LOL y LSI. El contenido de materia orgánica en el sedimento fue del 0.5% de peso seco en BSQ y menor del 0.1% en LOL y LSI.

Distribución Vertical

La distancia de la costa y la profundidad de las praderas de *Z. marina* varió entre las lagunas. El límite de las praderas de *Z. marina* fue menor a 250 m de la costa en BSQ mientras que el límite de las praderas fue mayor de 1200 m de la costa en LOL y LSI. El límite superior de la distribución vertical de las praderas de *Z. marina* fue aproximadamente 0.5 m en BSQ, mientras que en LOL y LSI fue de -0.5 m, con respecto al nivel medio del mar (NMM).

Densidad y Biomasa

La densidad de haces promedio anual fue significativamente menor ($P < 0.05$) en BSQ (695 ± 54 haces m^{-2}) que en LOL (992 ± 50 haces m^{-2}) y LSI (1089 ± 52 haces m^{-2}). Se registró un efecto significativo ($P < 0.05$) del tiempo, el sitio y el término de interacción (tiempo x sitio) en la densidad de haces de *Z. marina* (Tabla I). Las fluctuaciones estacionales solo se observaron en BSQ y en LOL (Fig. 8a). La densidad máxima de haces se registró durante junio en BSQ (1352 ± 403 haces m^{-2} , $P < 0.05$) y entre junio y septiembre en LOL (1457 ± 158 haces m^{-2} , $P < 0.05$). La densidad mínima de haces se registró entre octubre y febrero en BSQ (501 ± 77 haces m^{-2} , $P < 0.05$) y de

febrero a marzo en LOL (aproximadamente 450 haces m^{-2}). En contraste con BSQ y LOL, la densidad de haces en LSI fue relativamente constante ($1089 \pm$ haces m^{-2}). La densidad de los haces reproductivos también mostró un claro patrón estacional con densidades máximas a finales de junio en LOL y en LSI y de junio a julio en BSQ (Fig. 8c). Durante junio, los haces reproductivos representaron aproximadamente el 45% de la densidad total de haces en BSQ, mientras que los haces reproductivos solo representaron un 10% y 25% en LOL y LSI, respectivamente. Mientras que hubo un efecto significativo del tiempo en la densidad de haces reproductivos, no se observó un efecto significativo en el sitio y en el término interacción (tiempo x sitio, Tabla I). La densidad de haces reproductivos se correlacionó positivamente ($P < 0.05$) con la irradiancia incidente y submarina en BSQ y LSI.

La biomasa aérea mostró un claro ciclo anual en BSQ y una pequeña, pero significativa fluctuación en LOL y LSI (Fig. 8b, Tabla I). La biomasa promedio anual fue aproximadamente tres veces mayor ($P < 0.05$) en BSQ (40 ± 1.6 gPS m^{-2}) que en LOL (8.9 ± 1.5 gPS m^{-2}) y en LSI (13.7 gPS m^{-2}). En BSQ los valores de biomasa máxima ($P < 0.05$) fueron detectados en Junio (236 ± 68 gPS m^{-2}), mientras que los valores mínimos ocurrieron en Marzo del 2000 (3 ± 0.8 gPS m^{-2}). No se registró un claro patrón estacional de la biomasa aérea en LOL y LSI, aunque los niveles de biomasa fueron significativamente más altos a finales del verano que durante el invierno.

Morfometría

La longitud de los haces de *Z. marina* se incrementó significativamente ($P < 0.05$) entre febrero y octubre en todos los sitios (Fig. 9a). La longitud promedio de los haces fue aproximadamente 3 veces mayor ($P < 0.05$) en BSQ (40.0 ± 0.8 cm) que en LOL (13.2 ± 0.7 cm) y en LSI (12 ± 0.7 cm). El ancho de los haces fue aproximadamente dos veces mayor ($P < 0.05$) en BSQ (0.54 ± 0.01 cm) que en LOL (0.26 ± 0.01 cm) y en LSI (0.32 ± 0.01 cm). De manera similar, el ancho de los haces de *Z. marina* varió significativamente ($P < 0.05$) a través de todo el año (Fig. 9b, Tabla I).

Fotosíntesis

La respuesta fotosintética estacional de *Z. marina* con respecto a la irradiancia en los tres sitios de estudio tendió a saturarse a niveles altos de flujo de fotones (Fig. 10). En general, la evolución del oxígeno de las hojas de *Z. marina* a lo largo del año mostró una respuesta lineal a niveles bajos de irradiancia y posteriormente una saturación a niveles altos. Se encontró un efecto significativo del tiempo ($P < 0.05$), el sitio y el término de interacción (tiempo x sitio) en los valores de P_{\max} de *Z. marina* en BSQ, LOL y LSI, pero los valores no mostraron un claro patrón estacional (Fig. 11, Tabla II). Valores bimensuales de P_{\max} permanecieron relativamente constantes con el tiempo, excepto durante el invierno de 1999 en las tres lagunas. De manera similar, se observó un efecto significativo del tiempo y el término interacción (tiempo x sitio) en α de *Z. marina*, pero no hubo un efecto significativo del sitio (Tabla II). En general los valores de α mostraron un claro patrón estacional de todas las lagunas con valores máximos ($P < 0.05$) observados durante el verano y los mínimos durante el invierno. Hubo un efecto

significante del tiempo, sitio y el término interacción (tiempo x sitio) en los valores de E_k de *Z. marina* (Tabla II). Los valores de respiración resultaron ser aproximadamente el 10% de los valores máximos fotosintéticos en *Z. marina* para las tres lagunas a lo largo de todo el año, sin embargo no hubo un patrón estacional claro de respiración en *Z. marina* en BSQ, LOL y LSI (Fig. 12). Hubo una fluctuación anual clara de las horas de fotosíntesis saturada (H_{sat}) para *Z. marina* entre las lagunas (Fig. 13). Los valores de H_{sat} en todos los sitios siguieron un patrón sinusoidal con tasas máximas durante junio. Los valores mínimos de H_{sat} en BSQ y LOL fueron determinados entre noviembre y enero mientras que valores mínimos de H_{sat} no pudieron ser determinados en LSI. Hubo una mayor fluctuación de H_{sat} en BSQ que en LOL y LSI, a consecuencia de una mayor fluctuación en la irradiancia incidente. Mientras que los valores de H_{sat} en LOL y LSI fueron mayores a 8 h a lo largo del año, valores menores de 8 h se presentaron en un 62% del periodo de muestreo en BSQ. Sin embargo, en BSQ se registraron valores de H_{sat} igual o menores a 6 h durante el 15% del periodo de muestreo.

Tabla I. Resultados del ANOVA de dos vías para probar el efecto del tiempo y el sitio de estudio sobre la densidad (haces vegetativos + haces reproductivos), la densidad de haces reproductivos, la biomasa, la longitud y el ancho del haz en *Zostera marina*.

Variable dependiente	Variable independiente	gl	SC	F	P	Significancia
Densidad de haces (haces m ⁻²)	Tiempo	6	1.5 x 10 ⁶	8.5	<0.001	
	Sitio	2	2.5 x 10 ⁶	14.6	<0.001	***
	Tiempo x sitio	12	1.3 x 10 ⁶	7.5	<0.001	***
	Residual	174	175183			***
Densidad de haces reproductivos (haces m ⁻²)	Tiempo	5	1073	5.9	<0.001	***
	Sitio	2	508	2.8	0.065	n.s.
	Tiempo x sitio	10	240	1.3	0.225	n.s.
	Residual	112	181			
Biomasa (g m ⁻²)	Tiempo	6	2268	14.7	<0.001	***
	Sitio	2	17107	110.9	<0.001	***
	Tiempo x sitio	12	837	5.4	<0.001	***
	Residual	174	154			
Longitud del haz (cm)	Tiempo	6	4907	52.1	<0.001	***
	Sitio	2	41116	436.7	<0.001	***
	Tiempo x sitio	12	1794	19.1	<0.001	***
	Residual	856				
Ancho del haz (cm)	Tiempo	6	0.26	47.9	<0.001	***
	Sitio	2	3.50	647.2	<0.001	***
	Tiempo x sitio	12	0.03	7.1	<0.001	***
	Residual	857				

n.s. indica no significativo; ***, P < 0.001

Tabla II. Resultados del ANOVA de dos vías para probar el efecto del tiempo y el sitio de estudio sobre la Fotosíntesis máxima (P_{\max}), Pendiente inicial (α), Coeficiente de subsaturación (E_k) y Respiración (R) en las hojas de *Zostera marina*.

Variable dependiente	Variable independiente	gl	SC	F	P	Significancia
P_{\max} ($\mu\text{mol O}_2 \text{ gFW}^{-1} \text{ min}^{-1}$)	Tiempo	5	0.271	16.5	<0.001	***
	Sitio	2	0.115	6.9	0.002	**
	Tiempo x sitio	12	0.064	3.9	<0.001	***
	Residual	72	0.016			
α ($\mu\text{mol O}_2 \text{ gPH}^{-1} \text{ min}^{-1}$) * ($\mu\text{mol cuanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ⁻¹	Tiempo	5	5.6×10^{-5}	4.6	0.001	**
	Sitio	2	2.5×10^{-5}	2.0	0.138	n.s.
	Tiempo x sitio	10	3.4×10^{-5}	2.7	0.006	***
	Residual	72	1.2×10^{-5}			
E_k ($\mu\text{mol cuanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Tiempo	5	10752	4.2	0.002	**
	Sitio	2	13619	5.3	0.007	**
	Tiempo x sitio	10	7473	2.9	0.004	**
	Residual	72	2580			
Respiración ($\mu\text{mol O}_2 \text{ gPH}^{-1} \text{ min}^{-1}$)	Tiempo	5	0.0081	8.0	<0.001	***
	Sitio	2	0.0058	5.8	0.005	**
	Tiempo x sitio	10	0.0048	4.7	<0.001	***
	Residual	72	0.0010			

n.s. indica no significativo; **, $P < 0.05$ y ***, $P < 0.001$

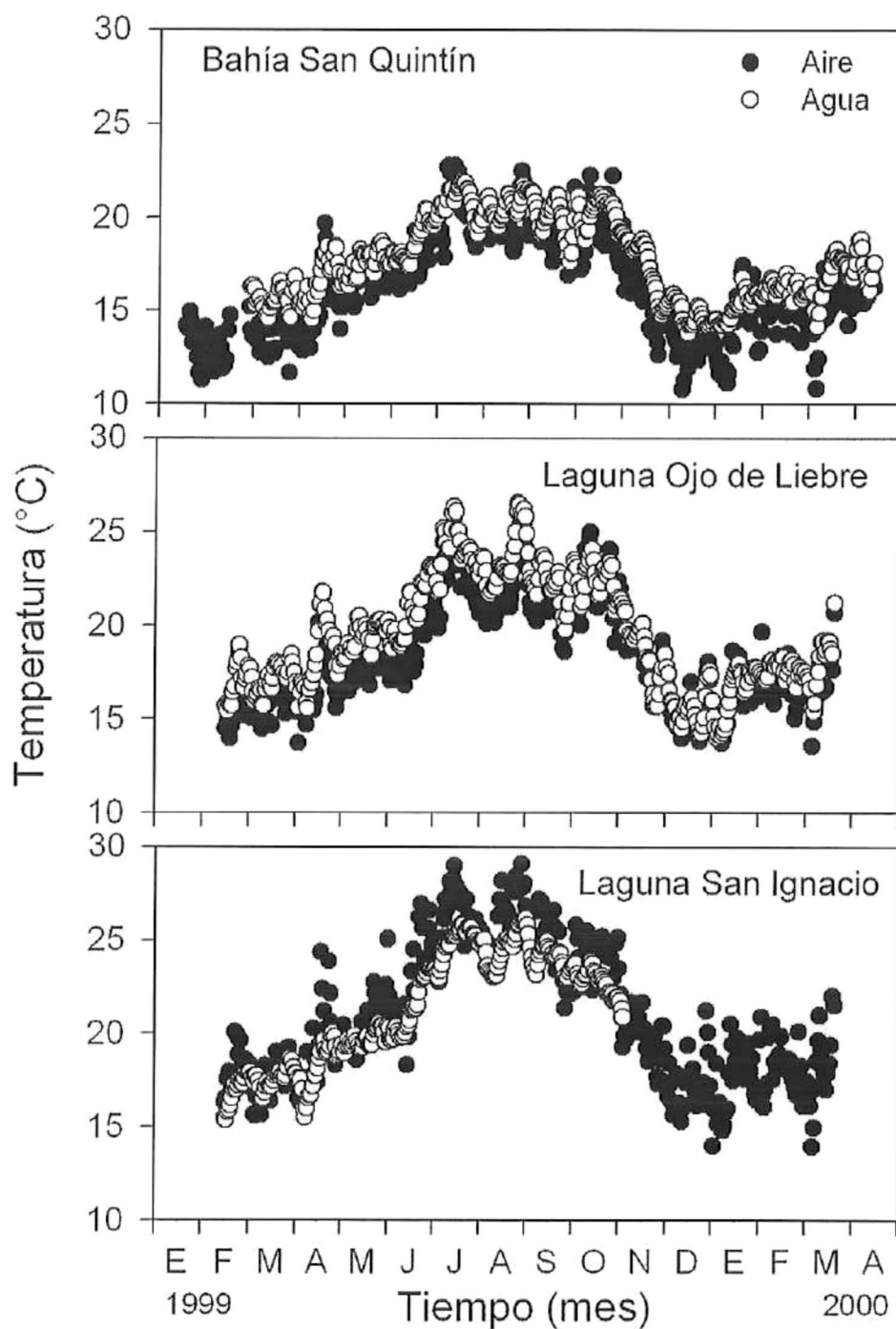


Figura 4. Temperatura ambiental y del agua de mar en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio. La temperatura fue registrada cada 0.5 h y promediado a intervalos diarios usando un termógrafo programable.

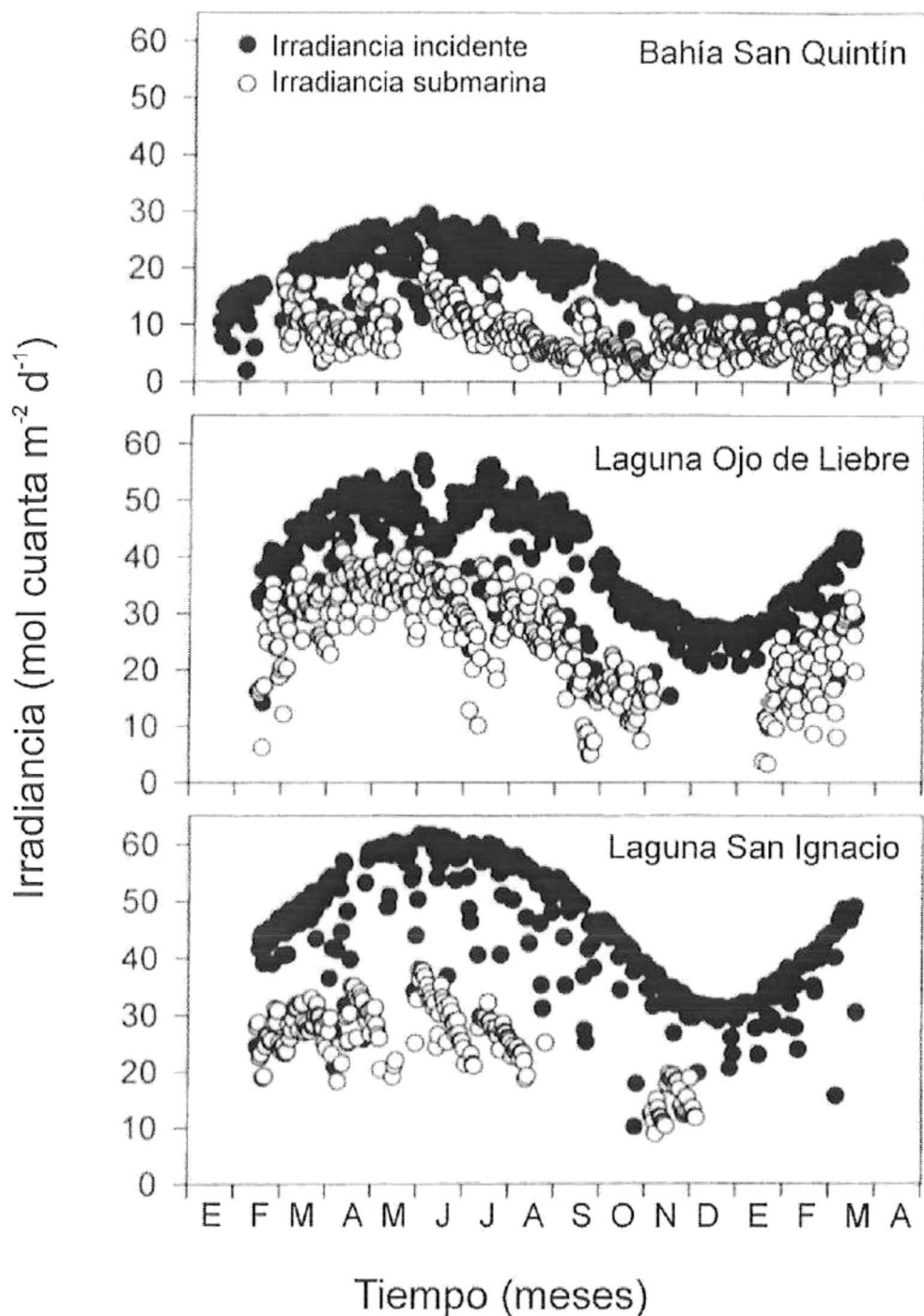


Figura 5. Radiación fotosintéticamente activa (PAR) incidente y submarina en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio. Los niveles de irradiancia fueron registrados en intervalos de cada 0.5 h a lo largo del periodo de estudio y fueron integrados diariamente desde el amanecer hasta al atardecer expresados como $\mu\text{mol cuanta m}^{-2} \text{d}^{-1}$.

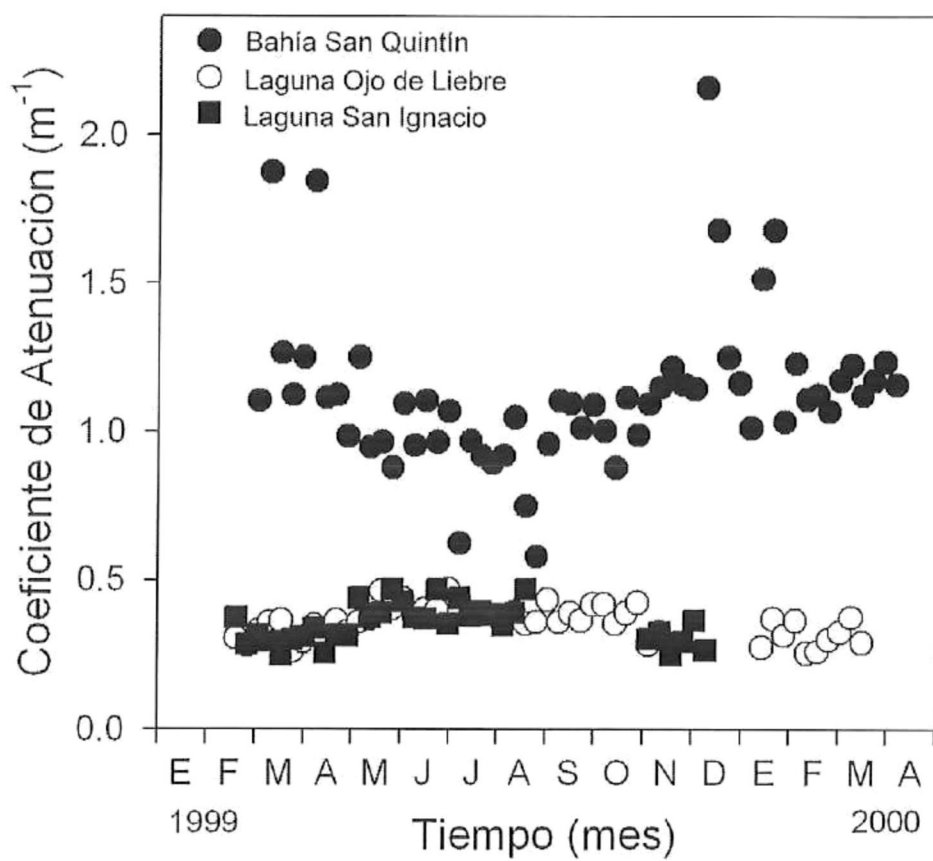


Figura 6. Coeficiente de atenuación (K_0) en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

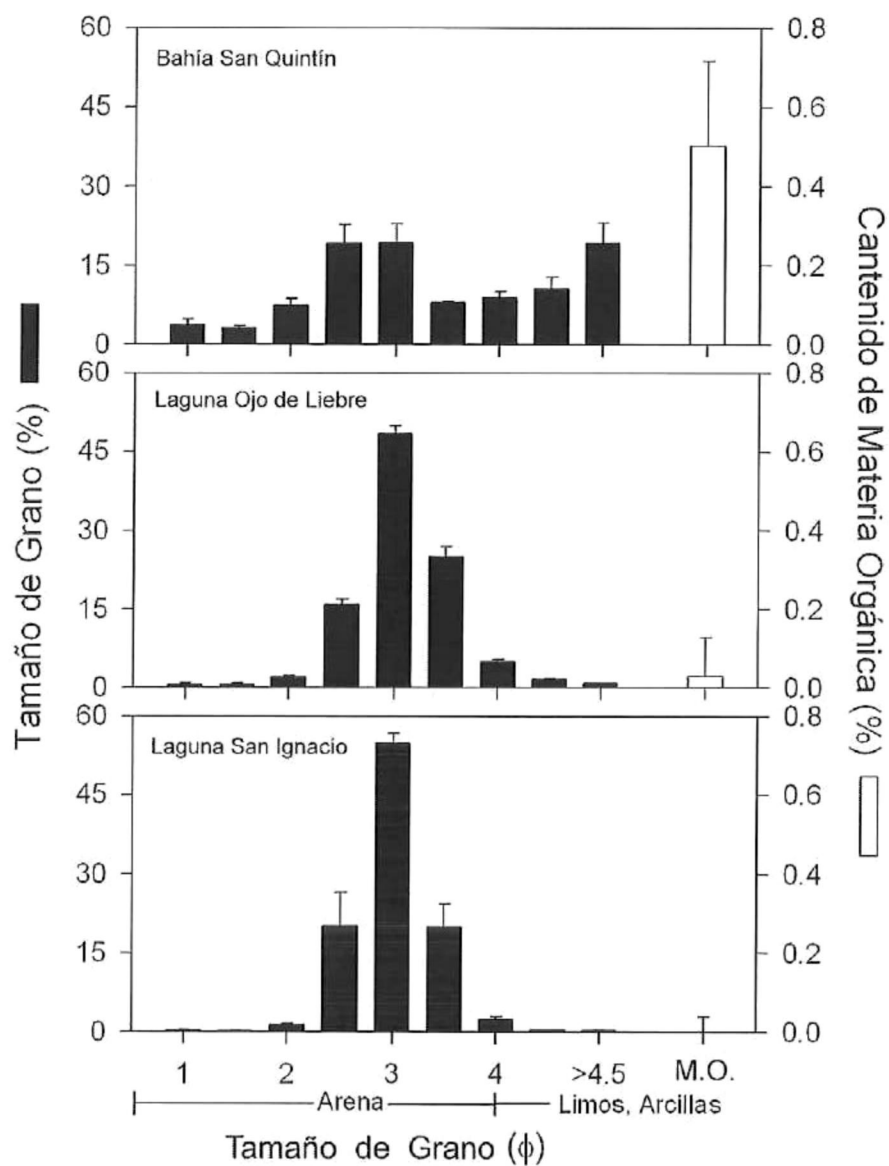


Figura 7. Distribución del tamaño de grano ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 8$) y contenido de materia orgánica ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 8$) del sedimento dentro de las praderas de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio.

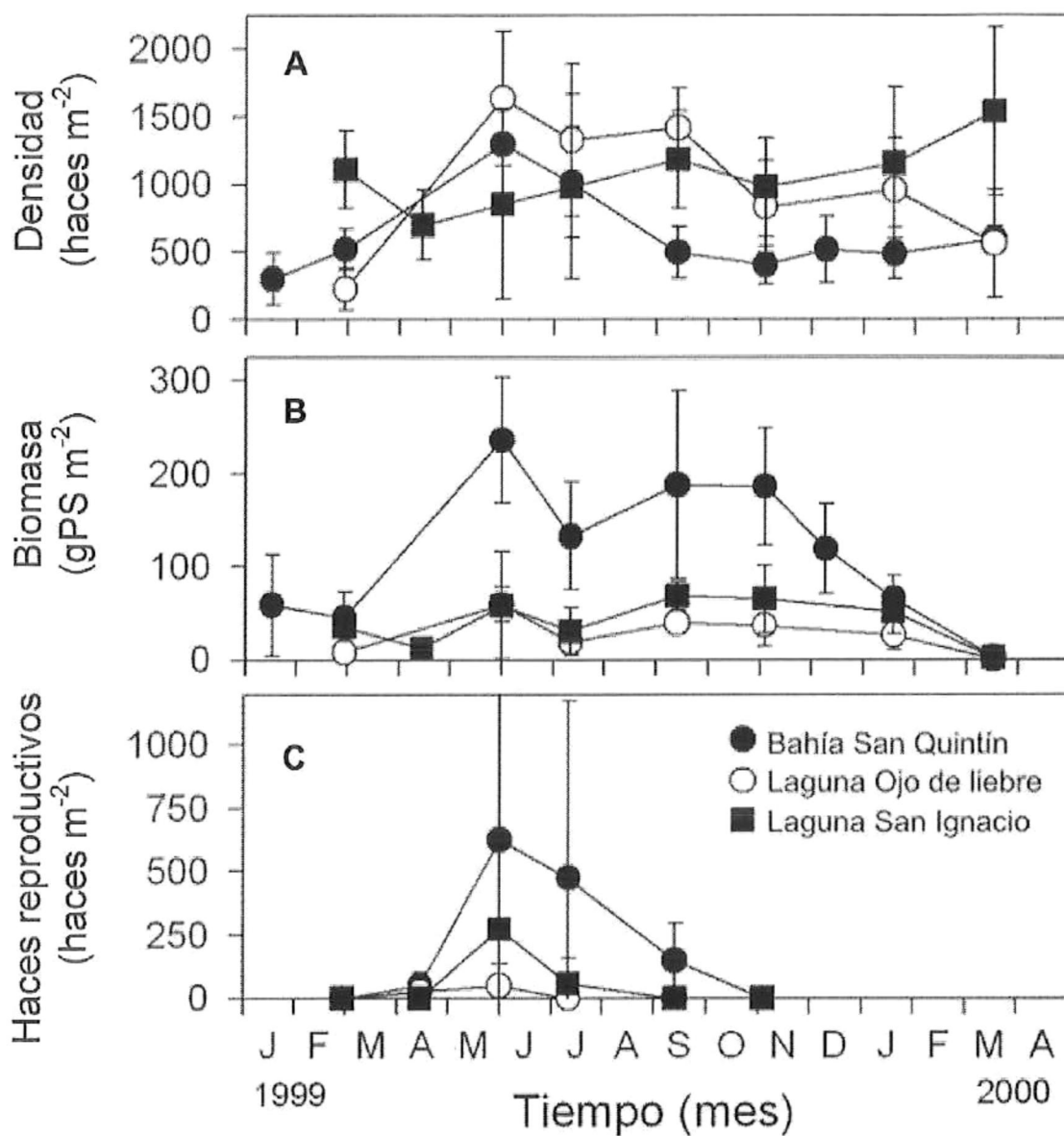


Figura 8. Variación anual de: (A) densidad ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$), (B) biomasa ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$) y (C) densidad de haces reproductivos ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$) de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

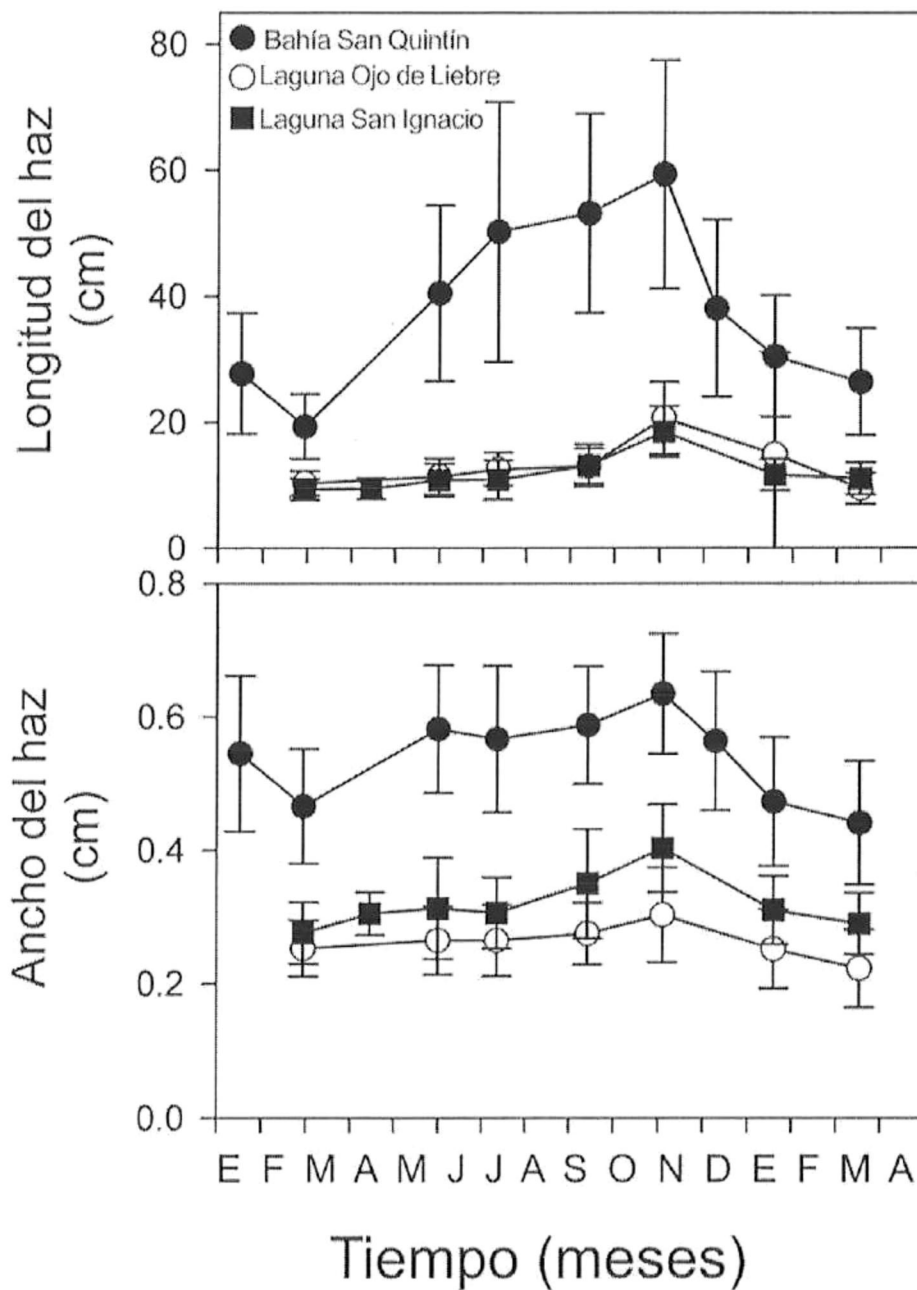


Figura 9. Variación anual de: (A) longitud del haz ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$) y (B) ancho del haz ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$) de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio

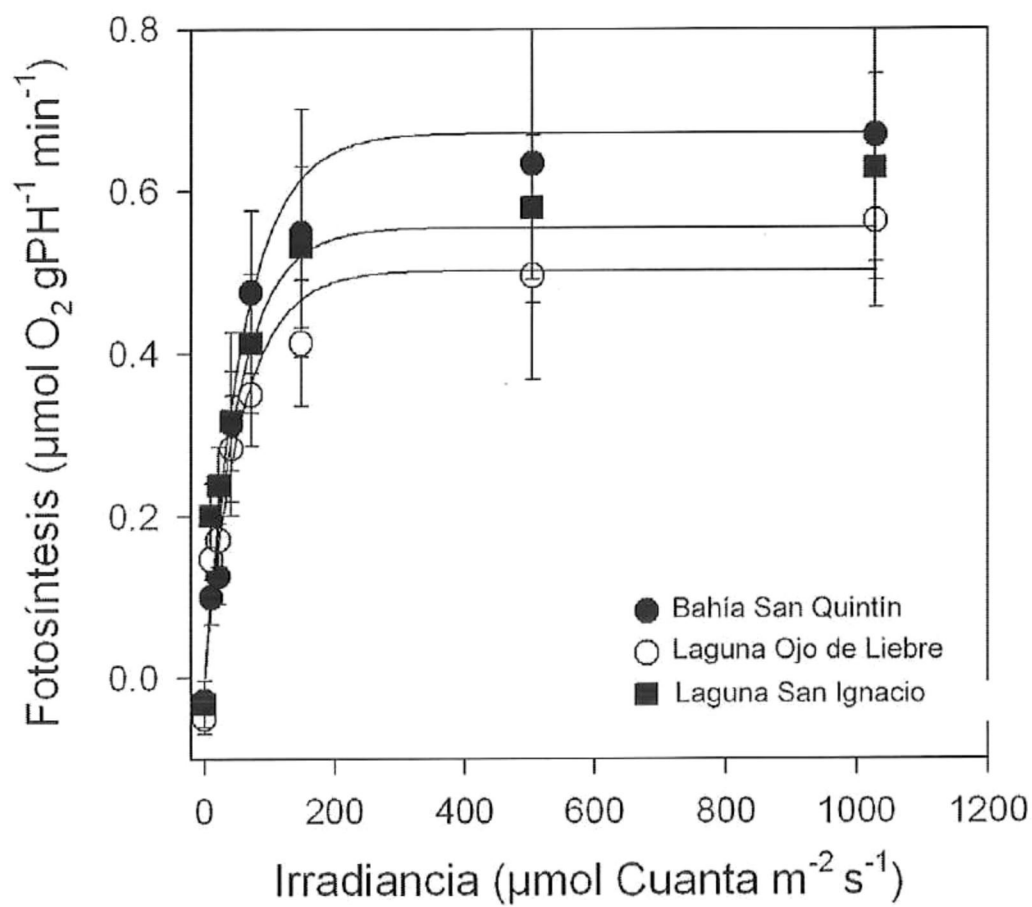


Figura 10. Respuesta de la fotosíntesis en función de la irradiancia ($\bar{X} \pm \text{D.E.}$, $n = 6$), en hojas de *Zostera marina* de Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio. Evaluado mediante polarografía utilizando electrodos de oxígeno.

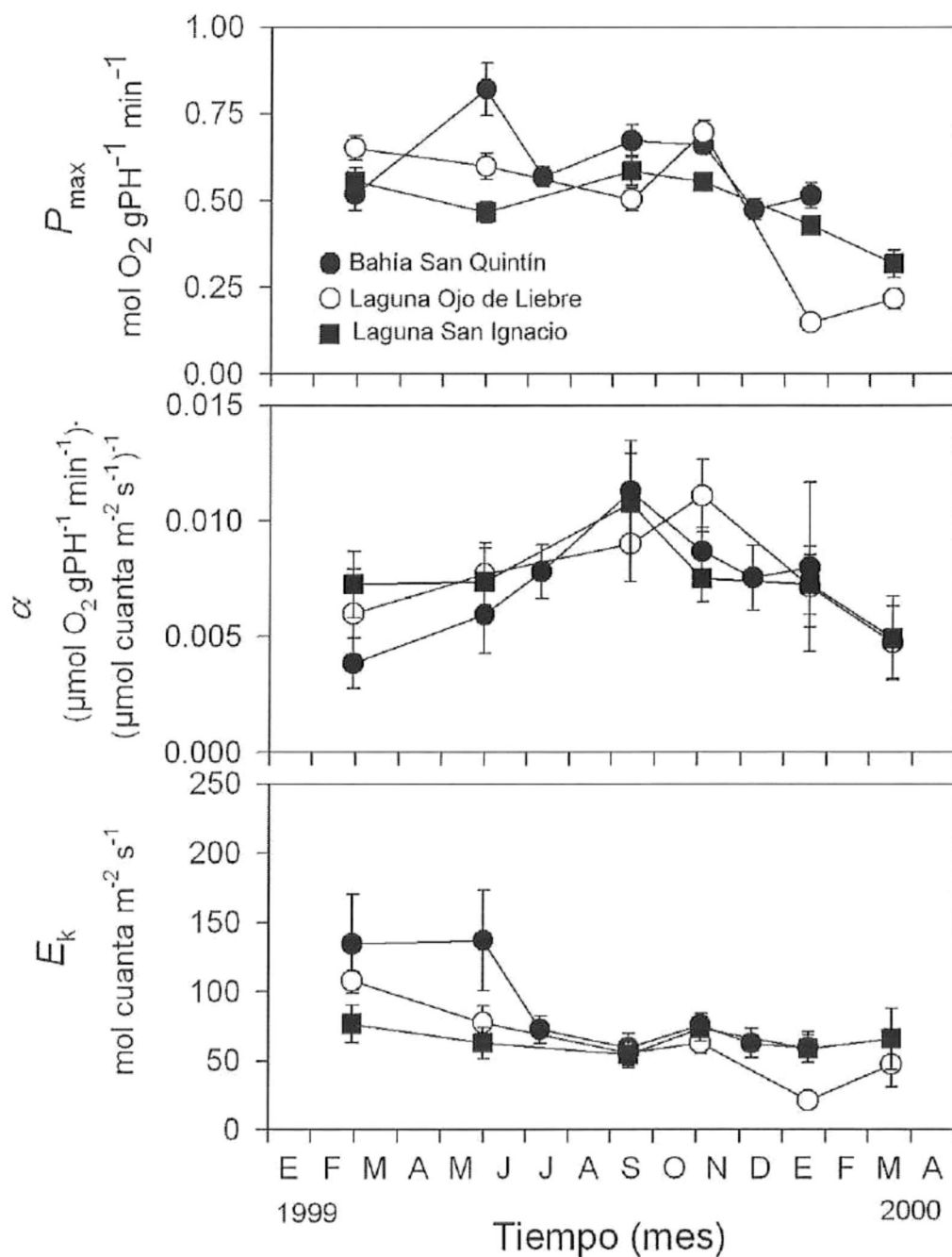


Figura 11. Fotosíntesis máxima (P_{max} ; $\bar{X} \pm D.E.$, $n = 6$), eficiencia fotosintética (α ; $\bar{X} \pm D.E.$, $n = 6$), y coeficiente de subsaturación (E_k ; $\bar{X} \pm D.E.$, $n = 6$), en hojas de *Zostera marina* en función del tiempo en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

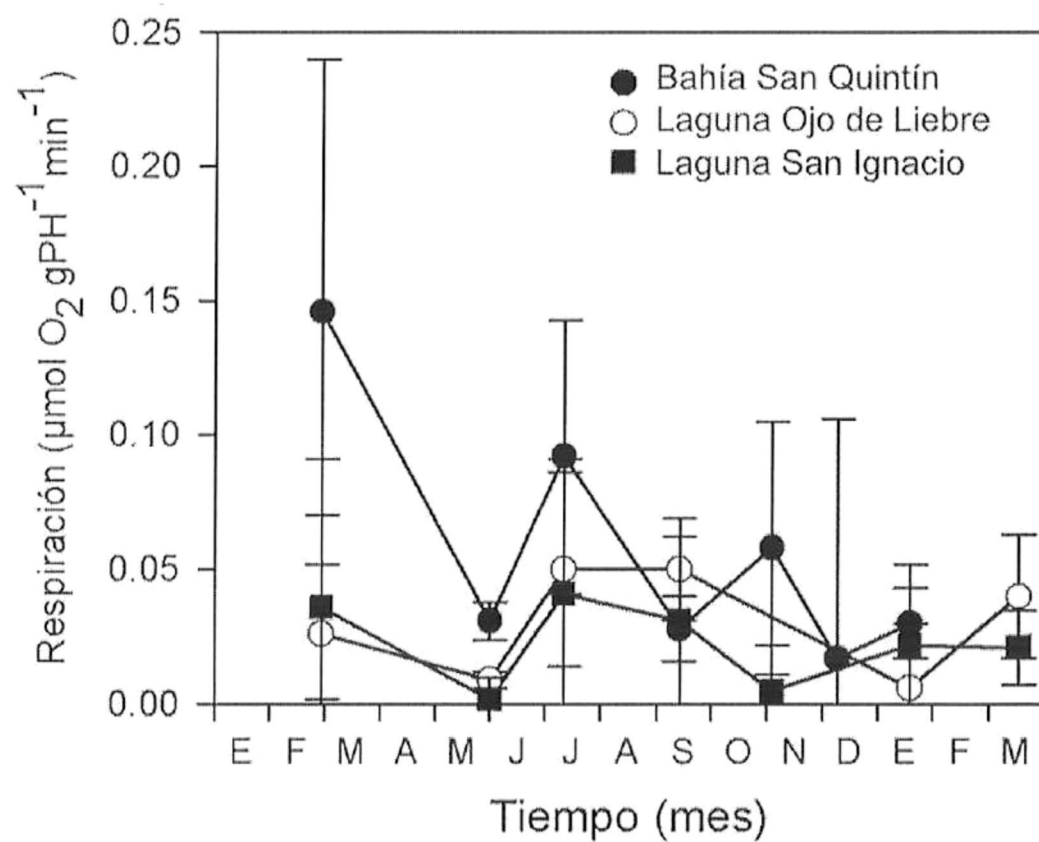


Figura 12. Respuesta de la respiración en función de la irradiancia ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 6$), en haces de *Zostera marina* de Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio. Evaluado mediante polarografía utilizando electrodos de oxígeno

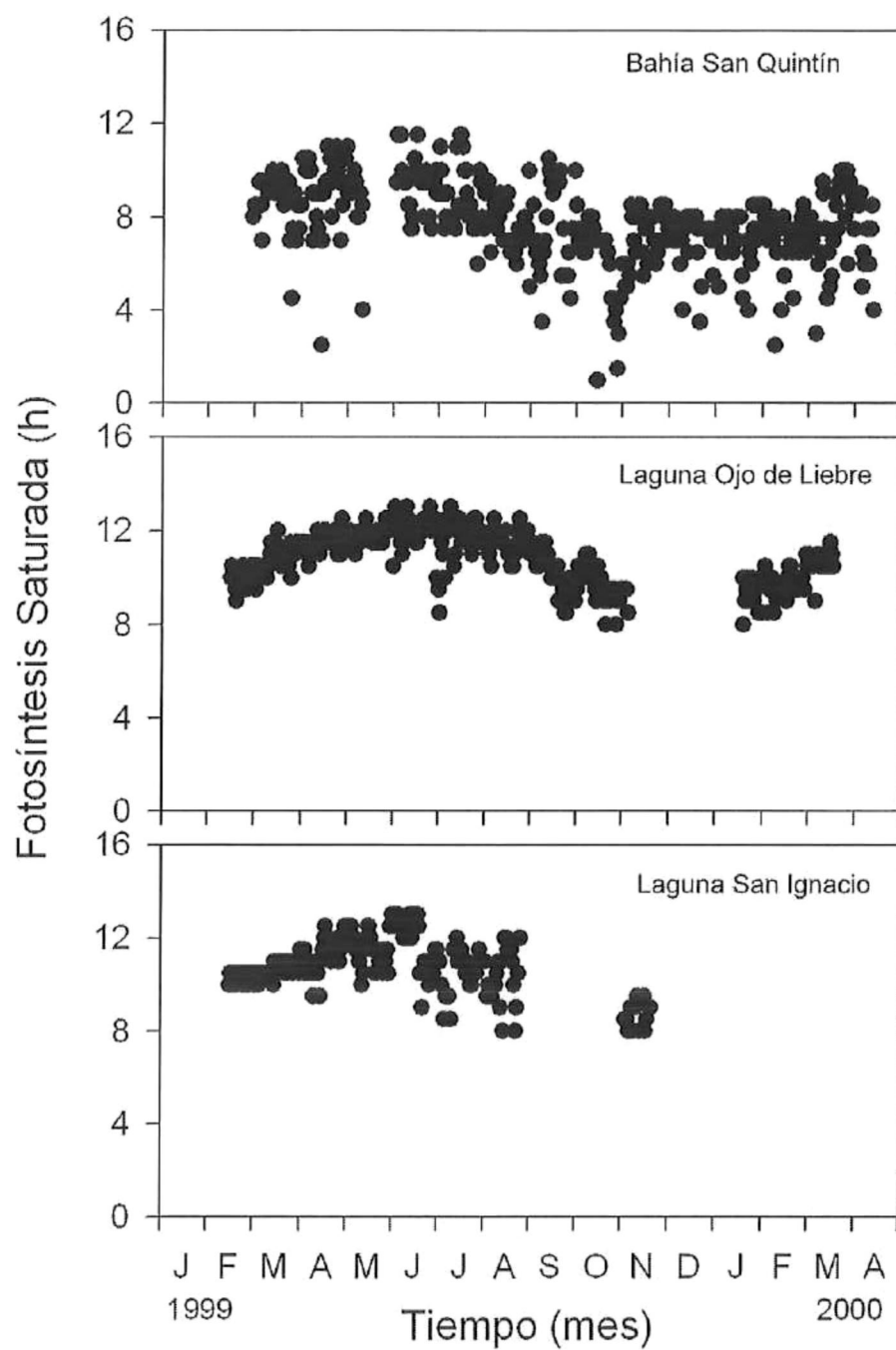


Figura 13. Horas de fotosíntesis saturada (Hsat) en *Zostera marina* de Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

DISCUSIÓN

La península de Baja California comprende ambientes templados y tropicales y representa el límite sur de la distribución para un número de organismos marinos y terrestres en el Hemisferio Norte (Riosmena-Rodríguez y Sánchez-Lizaso, 1996). Este estudio muestra la existencia de temperaturas e irradiancias diferentes entre una laguna costera templada del norte (BSQ) de Baja California y dos lagunas costeras del sur (LOL y LSI), que se encuentran en la región subtropical. Los resultados de este estudio sugieren que estas diferencias en las condiciones ambientales han ocasionado diferencias en las características morfológicas y en la distribución vertical de *Z. marina* en esta área. Sin embargo, la respuesta fotosintética de las poblaciones del sur, es similar a aquellas en la población del norte de Baja California.

Algunos estudios sugieren que la transparencia del agua y la disponibilidad de luz regula la supervivencia y la distribución vertical de los pastos en todo el mundo (Duarte, 1991; Zimmerman et al., 1995). Paralelo a los bajos niveles de irradiancia incidente, los valores del coeficiente de atenuación (K_0) fueron tres veces mayores en BSQ que en LOL y LSI, como consecuencia de una menor transmitancia del agua en la laguna costera del norte. Los mayores valores del K_0 se observaron en BSQ como resultado de un contenido de sedimento más fino en esta laguna. Periodos cortos de alta turbidez se registraron en BSQ probablemente como resultado de la resuspensión del sedimento a consecuencia de las mareas en la laguna. El aporte de sedimento por medio del viento proveniente de los campos de agricultura adyacentes a la laguna es una posibilidad, sin embargo, a la fecha no se ha realizado ningún tipo de medición que compruebe que la aportación eólica del

sedimento tenga efecto en los niveles de turbidez en BSQ. En contraste a BSQ, el tamaño de grano del sedimento en LSI y LOL es mayor y se sedimenta más rápido en la columna de agua, lo que contribuye a que exista una menor turbidez.

Paralelo al incremento de la turbidez del agua en BSQ, se registró un decremento en la abundancia de las praderas submareales de *Z. marina* y una colonización en las zonas someras del intermareal en las últimas dos décadas (Ward et al., 2004b). Colectivamente, estos datos sugieren que la menor irradiancia incidente y la mayor turbidez del agua ha promovido la colonización de áreas más someras en BSQ con respecto a LOL y LSI. Por otro lado, la presencia de haces más largos en BSQ, sugiere que las plantas están compensando los bajos niveles de irradiancia *in situ* al elongar su hojas hacia la superficie y de esta manera poder captar una mayor cantidad de luz para realizar la fotosíntesis.

La biomasa aérea-subterránea de pastos marinos se ha demostrado que está regulada por fluctuaciones estacionales de la densidad y el número de hojas por haz (Vermaat y Verhagen, 1996). En este estudio, la densidad promedio de los haces de *Z. marina* así como también el número de hojas por haz fue relativamente similar entre las tres lagunas a lo largo del año, sin embargo, la longitud del haz y la biomasa área fue aproximadamente 4 veces mayor en BSQ que en LOL y LSI. Sin embargo, se registró una mayor fluctuación de la biomasa, la longitud y el ancho de los haces de *Z. marina* de BSQ con respecto a los del sur. Esto sugiere que la fluctuación anual mayor de la biomasa área en BSQ, relativa con las lagunas del sur, es el resultado de un incremento en

el área del haz más que debido a las fluctuaciones de la densidad. Los resultados de este estudio difieren con lo encontrado por Vermaat & Verhagen (1996), quienes reportan que la variación de la biomasa área fue controlado por los cambios en la densidad del haz y no por el tamaño del haz. En contraste con las plantas de BSQ, las pequeñas fluctuaciones en la biomasa de las praderas de *Z. marina* en LOL y LSI son el resultado de la uniformidad morfológica (longitud y ancho) de los haces a lo largo del año. Similar a la biomasa aérea, se ha demostrado que la biomasa subterránea es dos veces mayor en BSQ que en LOL y LSI (Varela-Valencia, 2001). Esto sugiere que hay una reducción total en el tamaño del haz (hojas, rizoma y raíces) y en la biomasa de *Z. marina* hacia el sur de la distribución de esta especie.

La desaparición total de las poblaciones anuales de *Z. marina* en el límite sur de su distribución se ha atribuido a un incremento en la temperatura del agua (Phillips, 1983; Phillips y Backman, 1983; Meling-López y Ibarra-Obando, 1999). Las poblaciones anuales de *Z. marina* en el Golfo de California (29 °N) desaparecen durante los meses de verano cuando la temperatura sobrepasa los 30 °C (Meling-López y Ibarra-Obando, 1999). La persistencia estacional de las praderas de *Z. marina* a latitudes menores (LSI, 26 °N) en la costa del Pacífico de la península, indica que la historia de vida anual es característica única de las poblaciones del Golfo de California y no de las poblaciones de la costa del Pacífico. Las poblaciones de la costa del Pacífico de Baja California no están expuestas a periodos prolongados de temperatura del agua superior a 26 °C, por lo que su historia de vida se asemeja a las poblaciones de la costa del Pacífico de Estados Unidos y Canadá.

Claras fluctuaciones estacionales en la densidad de haces reproductivos, son típicas de las poblaciones de pastos marinos alrededor del mundo y parecen estar influenciadas principalmente por la disponibilidad de luz (Phillips et al., 1983; Vermaat y Verhagen, 1996; Hemminga y Duarte, 2001). Consistente con estos estudios, la producción de haces reproductivos, en la costa del Pacífico de Baja California se incrementó durante el periodo de máxima irradiancia. Una mayor densidad de haces reproductivos involucra una mayor inversión de energía para la producción de semillas en BSQ con respecto a las lagunas del sur. En contraste, la producción de flores en praderas de *Z. marina* en el Golfo de California parece estar regulada por la temperatura del agua (Melíng-López y Ibarra-Obando, 1999). Aún cuando la temperatura del agua fue dos veces mayor en LOL y LSI, que en BSQ, la densidad de haces reproductivos fue mayor en plantas de *Z. marina* de BSQ en comparación con las de LOL y LSI. Lo anterior, apoya la hipótesis de que la densidad de haces reproductivos de *Z. mariana* las tres lagunas de este estudio, están reguladas por la disponibilidad de luz. En las lagunas del Pacífico de Baja California, los haces reproductivos representan un máximo del 45% del tejido vegetativo, mientras que al final del ciclo del crecimiento en el Golfo de California, el 100% de los haces se convierten en reproductivos y desaparecen después de la dispersión de las semillas (Melíng-López y Ibarra-Obando, 1999; Santamaria-Gallegos et al., 2000). Esto indica que el esquema reproductivo de las poblaciones de *Z. marina* en el límite sur de su distribución en la costa del Pacífico es similar a aquéllas en la Región central, y que la alta tasa de producción de haces reproductivos es característica exclusiva de las poblaciones anuales del Golfo de California.

Mientras que los niveles de irradiancia son de dos a tres veces mayores en Baja California, las características fotosintético de *Z. marina* es menor en comparación con poblaciones de latitudes más altas, por ejemplo, California, EUA (Zimmerman et al., 1994; Zimmerman et al., 1995; Cabello-Pasini, 1996). Esto sugiere que *Z. marina* es menos productiva en el límite sur de su distribución en Baja California, con respecto a aquéllas de áreas más templadas. Estudios previos sugieren que *Z. marina* requiere más de 7 h de Hsat para mantener un balance positivo de carbono y sobrevivir (Zimmerman et al., 1991; Zimmerman et al., 1995; Alcoverro et al., 1999). Nuestros datos indican que la fotosíntesis de *Z. marina* de las poblaciones de LOL y LSI reciben más de 8 h de Hsat y se encuentran saturadas de luz todo el año. En contraste, las plantas de BSQ pueden estar limitadas de luz, especialmente durante los meses de invierno cuando los valores diurnos de Hsat decrecen a menos de 4 h. Esto sugiere que un incremento en la turbidez del agua en BSQ, podría provocar la disminución de Hsat en las plantas de esta laguna y amenazar la supervivencia de *Z. marina* y posiblemente de otras especies de macrofitas marinas.

En este estudio se encontró que el comportamiento fotosintético de *Z. marina* es similar entre todas las poblaciones estudiadas, a pesar de las diferencias en la turbidez del agua y de su distribución vertical. En contraste a la respuesta fotosintética, los niveles de clorofila de los haces fueron dos veces mayores en BSQ que en las lagunas del sur. Este incremento en los niveles de clorofila probablemente es una respuesta fisiológica de los haces a una disminución en la disponibilidad de luz en BSQ, en comparación a las lagunas del sur. Un mayor nivel de pigmentos, así como también una mayor área de la hoja, probablemente compensan una menor disponibilidad de luz en BSQ y ayuda a mantener

un balance positivo de carbono. En general, estos datos indican que *Z. marina* está modificando sus características fisiológicas y biológicas para compensar la disminución en la disponibilidad de luz. Se ha demostrado que la fotosíntesis de *Z. marina* decrece como resultado de un proceso de fotoinhibición provocado por altas irradiancias (Aguirre-VonWobeser, 2002). De acuerdo a lo anterior, es posible que la colonización de ambientes más profundos en LOL y LSI sea una respuesta a un ambiente con una alta irradiancia y a un mecanismo que reduce la fotoinhibición de la fotosíntesis.

Las raíces y los rizomas forman una parte principal en *Z. marina*, debido a que es donde se almacena más del 50% de los carbohidratos no estructurales (azúcar y almidón) por lo que juegan un papel importante en el balance de carbono total (Hemminga y Duarte, 2001). Aún cuando las razones fotosintéticas son similares entre BSQ, LOL y LSI, la razón de biomasa aérea/subterránea es de dos a tres veces mayor en las lagunas del sur que en BSQ (Varela-Valencia, 2001). Esto sugiere que una mayor cantidad de Hsat en las lagunas sureñas promueve una mayor generación de rizomas y raíces para almacenar carbohidratos no estructurales.

En contraste a las poblaciones del Golfo de California, las praderas de *Z. marina* en el límite sur de su distribución en el costa del Pacífico de Baja California parecen seguir un esquema demográfico y reproductivo típico de la mayoría de las poblaciones templadas. Las praderas de *Z. marina* en BSQ parecen responder a una menor disponibilidad de luz, causada por una alta turbidez y una baja irradiancia incidente, mediante la colonización de ambientes más someros. Sin embargo, las poblaciones

sureñas de *Z. marina*, son generalmente submareales y parecen ser menos sensitivas a las fluctuaciones anuales de la irradiancia y de la temperatura del agua. En las dos últimas décadas, el desarrollo industrial y urbano se ha concentrado en las lagunas costeras de Baja California (Ibarra-Obando y Escofet, 1987; Aguirre-Muñoz et al., 2001). Los resultados de este estudio sugieren que mientras las praderas de *Z. marina* en LOL y LSI tienen suficiente luz para cubrir totalmente sus requerimientos de balance de carbono a lo largo de todo el año, un incremento de la turbidez de la columna de agua en BSQ, podría disminuir la capacidad de supervivencia en *Z. marina* y posiblemente la de alguna otra macrofitas marina.

Capítulo III. Caracterización bioquímica del pasto marino

Zostera marina en Baja California, México

RESUMEN

El pasto marino *Zostera marina* L. se distribuye a lo largo de la península de Baja California (México) y está expuesto a un amplio rango de irradiancias y temperaturas que podrían modificar su composición bioquímica. En consecuencia, el objetivo de este estudio fue el de caracterizar las variaciones en la concentración de clorofila, carbohidratos, proteínas, fibra, ceniza y calorías en los haces de *Z. marina* de una población del norte (Bahía San Quintín) y del sur (Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio) de Baja California, México. Las lagunas costeras del sur se encuentran en la Región Subtropical de la península y la temperatura promedio de la columna del agua registrada fue aproximadamente 5–6 °C más alta que en la laguna del norte de la península (Región Templada). Al igual que la temperatura, la irradiancia *in situ* fue dos veces mayor en las lagunas del sur que en la laguna del norte. Como resultado de los menores niveles de irradiancia, los niveles de clorofila en las hojas de *Z. marina* fueron aproximadamente dos veces mayores en la población del norte (1.7 mg gPH⁻¹) que en las del sur (0.8 mg gPH⁻¹) de Baja California. Al igual que la clorofila, los niveles de carbohidratos solubles en las hojas fueron mayores en la población del norte que en las del sur, lo cual sugiere que los altos niveles de clorofila son suficientes para compensar los bajos niveles de irradiancia en la laguna del norte, y mantener un balance de carbono positivo. Por el contrario, los niveles de proteínas en las hojas de *Z. marina* de la laguna

costera del norte de la península fueron ligeramente menores que en las del sur. Al contrario de los niveles de clorofila, carbohidratos no estructurales y proteínas, los niveles de fibra acida, fibra neutra, ceniza y calorías en las hojas de *Z. marina* no varió en las tres lagunas. En general, los resultados indican que las diferentes condiciones ambientales a las que están expuestas las poblaciones de *Z. marina* a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California influyen en la composición bioquímica de las hojas de esta especie.

INTRODUCCIÓN

Zostera marina. es uno de los pastos con más amplia distribución y mayor abundancia en el litoral del Pacífico Mexicano (Ibarra-Obando, 1989; Riosmena-Rodríguez y Sánchez-Lizaso, 1996). En la península de Baja California, *Z. marina* habita lagunas costeras y zonas costeras semiprotegidas desde el Estero Punta Banda (29° N) hasta Bahía Magdalena (24° N) (Cabello-Pasini, 1984; Ibarra-Obando, 1989; Riosmena-Rodríguez y Sánchez-Lizaso, 1996; Cabello-Pasini et al., 2002; Cabello-Pasini et al., 2003a). Estas praderas están distribuidas discontinuamente a lo largo de la península formando poblaciones morfológicamente diferentes (Ibarra-Obando, 1989; Varela-Valencia, 2001; Cabello-Pasini et al., 2003a).

La morfología, la densidad de haces, el crecimiento, el esfuerzo reproductivo y las características fotosintéticas varían en las poblaciones de pastos expuestos a rangos amplios de temperatura e irradiancia (Backman y Barilotti, 1976; McMillan, 1978; Alcoverro et al., 1999; Meling-López, 2001; Cabello-Pasini et al., 2003a). El norte de la península de Baja California se caracteriza por ser una Región Templada y estar influenciada por eventos de surgencia recurrentes, mientras que el sur de la península es una Región Subtropical con una importante influencia de Aguas Superficiales Ecuatorial caracterizadas por sus altas temperaturas (Castro et al., 2000). Lo anterior provoca que la temperatura del agua de mar en el sur de Baja California sea de 7 a 15 °C más alta que en las aguas de la Región Norte (Castro et al., 2000; Durazo-Arvizu et al., 2001). Por otro lado, la irradiancia incidente en el norte de la península es aproximadamente dos veces menor que en el sur (Cabello-Pasini et al., 2003a). Las concentraciones de nutrientes en la

columna de agua son también más elevadas en la Región Norte que en la Región Sur. Como resultado de estas variaciones en las condiciones ambientales, *Z. marina* se ha aclimatado o se ha adaptado para sobrevivir a lo largo de su rango de distribución en Baja California. Los pastos del norte, por ejemplo, están expuestos a menores niveles de irradiancia, y son de dos a tres veces más largos y dos veces más anchos que los de las lagunas del sur, con lo cual aumentan su exposición a la irradiancia incidente (Cabello-Pasini et al., 2003a).

Las praderas de *Z. marina* juegan un papel crítico en la ecología de estuarios y lagunas costeras del mundo entero. Además de modificar la química de la columna de agua y estabilizar los sedimentos, las praderas de *Z. marina* son hábitat y alimento de invertebrados y vertebrados marinos (Hemminga y Duarte, 2001). Las hojas de este pasto, por ejemplo, son consumidas por tortugas (Felger et al., 1980; Brand-Gardner et al., 1999), mientras que la lapa *Tectula depicta* consume la región epitelial de las hojas en lagunas de California (Zimmerman et al., 2001) y de Baja California (ACP, observación personal). Además, decenas de miles de brantas negras (*Branta bernicla*) dependen exclusivamente del consumo de *Z. marina* para sobrevivir durante su migración invernal de Alaska y Canadá hacia las lagunas de Baja California (Reed et al., 1998). En consecuencia, las variaciones en la composición bioquímica de *Z. marina* podrían ser críticas para la fisiología de los organismos que pastorean sobre este vegetal marino.

Al igual que la morfología y la fisiología, la composición bioquímica de pastos y otras macrofitas marinas está regulada en gran medida por parámetros ambientales tales

como la intensidad y la calidad de la luz, el fotoperiodo, la temperatura, los nutrientes y el pastoreo. Por ejemplo, la reducción de >80% de la irradiancia por un periodo de dos a tres semanas debido a la resuspensión de sedimento, provocó la disminución de dos a cuatro veces la concentración inicial del contenido de carbohidratos solubles en las hojas de *Z. marina* (Burke et al., 1996; Cabello-Pasini et al., 2002). Por otro lado, la reducción experimental del fotoperiodo provocó un incremento en los niveles de clorofila en las hojas en *Z. marina* (Dennison y Alberte, 1985). En vegetales marinos de Baja California también se han observado cambios en los niveles de lípidos, proteínas, fibra y otros constituyentes químicos como resultado de cambios estacionales de temperatura e irradiancia en la columna de agua (Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991). No obstante que existen diferencias en la temperatura e irradiancia incidente en el norte y sur de la península (Cabello-Pasini et al., 2003a), se desconoce si estas variaciones afectan la composición bioquímica de los pastos en Baja California. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue el de caracterizar las variaciones en la concentración de clorofila, carbohidratos, proteínas, fibra, ceniza y calorías en los haces de *Z. marina* de la población de la Región Templada (Bahía San Quintín) y Región Subtropical (Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio) de las costa del Pacífico de Baja California. Las diferencias en la composición bioquímica fueron relacionadas con los cambios latitudinales y estacionales de irradiancia y temperatura en las diferentes lagunas.

OBJETIVOS

- a) Comparar la variación estacional del contenido de pigmentos, proteínas, carbohidratos, fibra cruda, cenizas y contenido calórico en las hojas de *Z. marina* entre las localidades de Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio.
- b) Determinar si la variación estacional del contenido de pigmentos, proteínas, carbohidratos, fibra cruda, cenizas y contenido calórico en las hojas de *Z. marina* entre las localidades de Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio está correlacionada con la variación anual de la irradiancia in situ y la temperatura del agua.

MÉTODOS

Área de Estudio

Ejemplares de *Z. marina* fueron colectados en tres lagunas costeras de la costa del Pacífico de Baja California; Bahía San Quintín, (BSQ; 30°24' N, 115 °57' O), Laguna Ojo de Liebre (LOL, 27°35' N, 113°50' O) y Laguna San Ignacio (LSI, 26°38' N, 113°06' O) (Fig. 14). En este estudio, Bahía San Quintín representa la distribución norte (Región Templada) de *Z. marina* en Baja California. Esta laguna se caracteriza por tener temperaturas templadas a lo largo de todo el año y está influenciada por surgencias durante primavera y verano (Alvarez-Borrego et al., 1977; Alvarez-Borrego y Alvarez-Borrego, 1982). Mientras que Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio representan el límite sur distribución de *Z. marina* en Baja California, las cuales se encuentran dentro de la Región Subtropical con temperaturas máximas anuales del agua de 26 °C (Alvarado et al., 1986; Alvarez-Borrego, 1992).

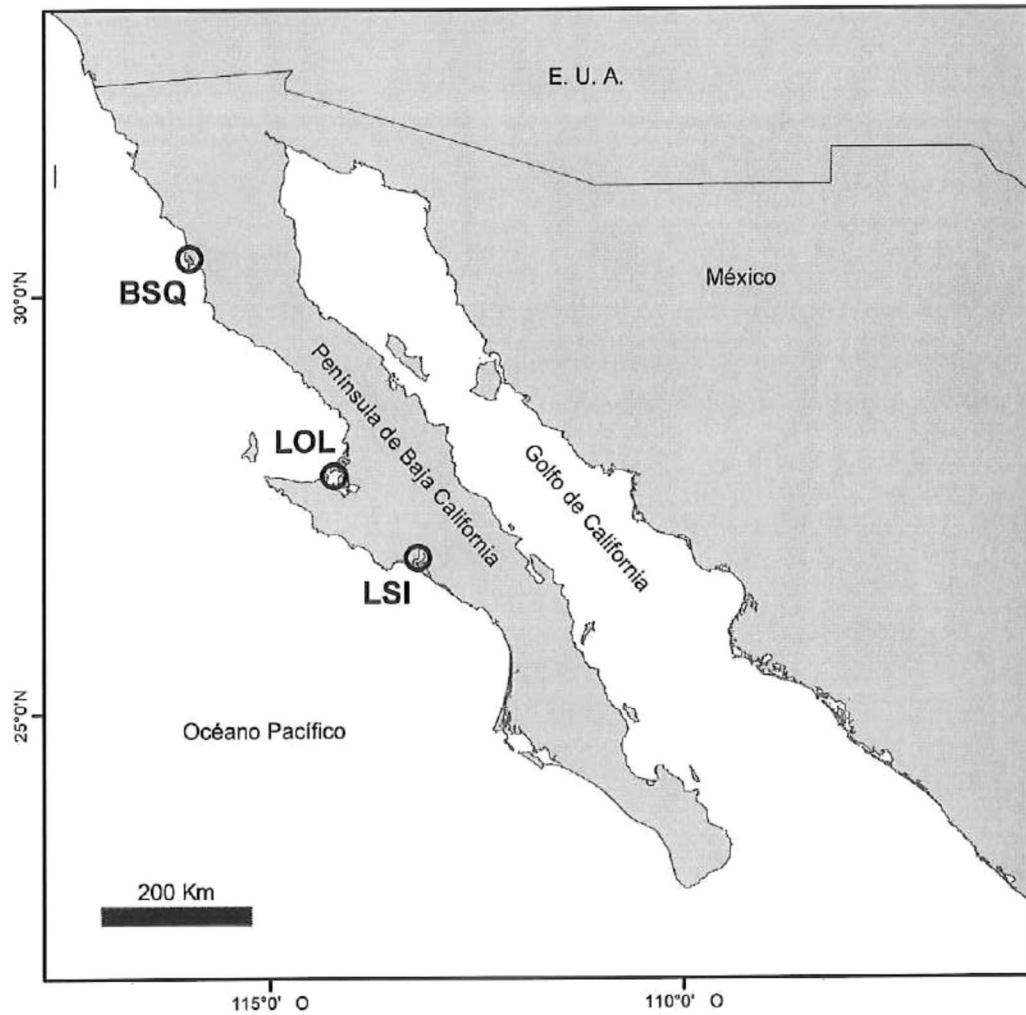


Figura 14. Localización de los sitios de colecta de *Zostera marina* en la costa del Pacífico de Baja California. Bahía San Quintín (BSQ), Laguna Ojo de Liebre (LOL), Laguna San Ignacio (LSI).

Variables Ambientales

Temperatura del agua de mar

La temperatura del agua de mar se registró a intervalos de 0.5 h durante 12 meses, en cada una de las tres lagunas utilizando sensores de temperatura (HOBO, Onset Computers, EUA). Los sensores de temperatura se calibraron en el laboratorio contra un termómetro digital. Se colocó exclusivamente un sensor de temperatura submarino en cada laguna, en el límite de la zona intermareal y submareal dentro de cada pradera de estudio de *Z. marina*. La ubicación geográfica de los sensores en cada laguna fue la siguiente: BSQ 30.42° N, 115.95° O; LOL 27.65° N, 114.10° O; LSI 26.88° N, 113.15° O. Los datos de cada uno de los sensores, se recuperaron por medio de una tarjeta de adquisición de datos (HOBO, OnSet Computers. EUA) cada seis semanas. Ambas temperaturas fueron promediadas a intervalos diarios.

Irradiancia in situ

Los niveles de irradiancia *in situ* fueron registrados en cada una de las lagunas durante un periodo de 12 meses, utilizando sensores de luz fotosintéticamente activa (LFA; LI-COR, EUA). La irradiancia submarina se midió utilizando sensores de luz submarinos 4π (LI-193SA, LICOR). En cada laguna se colocó exclusivamente un sensor, a la altura máxima de la fronda de cada una de las praderas de *Z. marina*. La ubicación geográfica de los sensores en cada laguna fue la siguiente: BSQ 30.42° N, 115.95° O; LOL 27.65° N, 114.10° O; LSI 26.88° N, 113.15° O. Los sensores en las tres lagunas fueron limpiados aproximadamente cada seis semanas para eliminar incrustaciones de microalgas y de microorganismos adheridos a la superficie de los sensores. Los datos de

ambas irradiancias fueron registrados cada 0.5 h durante 12 meses y fueron recuperados por medio de una tarjeta de adquisición de datos (HOBO-Shuttle, OnSet Comp. EUA) cada seis semanas. La irradiancia submarina se integraron diariamente desde el amanecer hasta el atardecer expresada como $\mu\text{mol cuanta m}^{-2}\text{d}^{-1}$.

Caracterización Bioquímica

En cada una de las tres lagunas estudiadas, se colectaron haces de *Z. marina* (n = 10), mediante técnicas manuales y de buceo libre, cada 6 semanas durante 12 meses. Los haces fueron colocados en hieleras con agua de mar a aproximadamente 17 °C y transportados al laboratorio del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California en Ensenada, B.C. El material colectado fue limpiado de epífitas y epibiontes manualmente y lavado con agua de mar para eliminar residuos de sedimento. Los análisis del contenido de pigmentos y proteínas (totales y solubles) realizaron utilizando tejido fresco 24 - 48 h después de la recolección del material. El resto del material fue deshidratado a 60 °C, y posteriormente, se realizó el análisis de carbohidratos no-estructurales (almidón y azúcar), ceniza, fibra cruda (neutra y ácida) y contenido calórico.

Contenido de Pigmentos

La clorofila *a + b* se extrajo de aproximadamente 0.2 g de tejido vivo de la hoja no. 2 (siendo la hoja no. 1 la más joven) (n = 6). El tejido se homogenizó con 5 mL de acetona al 90% (v/v) en un homogenizador de tejido. El homogenizado se centrifugó a 2,000 X g por 15 min. La absorbancia de la clorofila se evaluó con un espectrofotómetro

a 647, 664 y 730 nm. Los niveles de clorofila *a* + *b* se determinaron utilizando la ecuación descrita por Jeffrey & Humphrey (1975):

$$\text{Clorofila } a \text{ (mg mL}^{-1}\text{)} = 11.93 (A_{664} - A_{730}) - 1.93 (A_{647} - A_{730})$$

$$\text{Clorofila } b \text{ (mg mL}^{-1}\text{)} = 20.36 (A_{647} - A_{730}) - 5.50 (A_{664} - A_{730})$$

Donde A_{647} , A_{664} y A_{730} es la absorbancia a las longitudes de onda de 647, 664 y 730nm respectivamente.

Determinación de Proteínas

Las proteínas totales e hidrosolubles en hojas de *Z. marina* fueron extraídas de aproximadamente 0.1 g (tejido fresco) de la hoja no. 2 (n = 6) con un homogenizador de vidrio y una solución tampón que contenía 0.1 M de fosfato (pH 6.8), 2 mM de DTT, 5 mM de EDTA y 0.5 mM de AEBSEF. El homogenizado fue incubado por 30 min a 4 °C y las proteínas totales fueron evaluadas espectrofotométricamente (595 nm) de acuerdo con Bradford (1976) usando suero de albúmina bovina (BSA) como estándar. El homogeneizado fue posteriormente centrifugado a 10,000 × g por 15 min a temperatura ambiente y las proteínas hidrosolubles fueron evaluadas en el sobrenadante. Se tomó 6 µL de sobrenadante y se adicionó 1 mL de azul brillante de Coomassie y se leyó la absorbancia a 595 nm, utilizando BSA como estándar. El contenido de proteínas hidrosolubles y totales, en cada muestra se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{mg proteína} \cdot \text{g PH}^{-1} = (m \cdot A_{595} \cdot \text{VE}) \cdot (\text{VM} \cdot \text{g PH} \cdot \text{FD})^{-1}$$

Donde:

m = pendiente de la curva de calibración

VE = volúmen del extracto

A_{595} = valor de la absorbancia a 595 nm

VM = volúmen de la muestra

gPH = cantidad en gramos de tejido utilizado

FD = Factor de dilución

Determinación de Carbohidratos no estructurales (azúcar y almidón)

Aproximadamente 0.1 g de (tejido vivo) de la hoja no. 2 de haces de *Z. marina* (n = 6) se homogenizó con 1.5 mL de etanol 90% (v/v). El homogenizado se centrifugó a 2,000 X g durante 15 min y se separó el sobrenadante. El homogenizado se extrajo dos veces más a 80 °C por 15 min y los sobrenadantes se mezclaron en un solo tubo. La extracción etanólica se evaporó a temperatura ambiente con una bomba de vacío y los azúcares obtenidos se resuspendieron en 1 mL de agua destilada. La concentración de azúcar (sucrosa + glucosa + fructosa) se determinó espectrofotométricamente con antrona de acuerdo a la metodología descrita por Yemm & Willis (1954). La concentración de azúcares se determinó utilizando glucosa como estándar. El almidón se extrajo de la fracción insoluble del homogenizado añadiendo 1 mL de 0.1 M KOH e incubando por 12 h. La concentración de almidón (equivalentes de glucosa) se determinó con antrona de acuerdo a la metodología previamente descrita.

Determinación de Fibra Neutra

El contenido de fibra neutra en haces de *Z. marina* se determinó siguiendo el método establecido por VanSoest (1967). Aproximadamente 0.25 g de muestra seca y molida (n = 6) se incubó en 50 mL de solución de sulfato de lauril sódico (SDS) durante 1 h en reflujo. Al término de este tiempo, la solución se filtró y el filtro se lavó con agua caliente y acetona hasta eliminar todos los pigmentos. Los filtros con el residuo se secaron a 105 °C durante 12 h y se registró el peso de cada filtro. Posteriormente los filtros se incineraron a 525 °C durante 3 horas y posteriormente se pesaron. El residuo de fibra recuperado se expresó en porcentaje como fibra neutra.

Determinación de Fibra Ácida

Se analizó el contenido de fibra cruda neutra en haces de *Z. marina* siguiendo el método establecido por VanSoest (1967). Aproximadamente 0.25 g de muestra seca y molida (n = 6) se incubó en 25 mL de solución de bromuro de cetil trimetilamonio (CTAB) y ácido sulfúrico durante 1 h en reflujo. Al término de este tiempo, la solución se filtró y el filtro se lavó con agua caliente, acetona y hexano hasta eliminar todos los pigmentos. Los filtros con el residuo se secaron a 105 °C durante toda la noche y se registró el peso de cada filtro. Posteriormente, los filtros se incineraron a 525 °C durante 3 h y posteriormente se pesaron. El residuo de fibra recuperado se expresó en porcentaje como fibra ácida.

Contenido de Cenizas

Aproximadamente 0.5 g de tejido seco y molido de haces de *Z. marina* (n = 6) se incineraron en una mufla a 500 °C durante 4 h. La diferencia de peso antes y después de la incineración se expresó en porcentaje como el contenido de cenizas para cada una de las muestras.

Contenido Calórico

El contenido calórico de los haces se evaluó por medio de combustión total de acuerdo a Tejada-Hernández (1992). Se deshidrataron los haces de *Z. marina* ($n = 5$) a 60°C hasta obtener peso constante y se maceraron en un molino hasta obtener partículas de aproximadamente 2 o 3 mm. Las partículas fueron prensadas en un empastillador y colocadas en una bomba calorimétrica (Parr Instrument Co., EUA) con 30 atm de oxígeno y 2000 ± 0.25 g H_2O destilada. La temperatura de la bomba fue monitoreada cada 0.25 s con un termómetro digital acoplado a un sistema de adquisición de datos (DATAQ-190, EUA). La bomba fue calibrada con pastillas de 1 g de ácido benzoico. Los residuos de la combustión fueron inicialmente titulados con una solución 0.0725 N de Na_2CO_3 . Sin embargo, el contenido calórico de la titulación con el estándar (ácido benzoico) representó menos del 0.5% del contenido calórico total de la muestra y fue omitido posteriormente.

Análisis Estadístico

Se evaluaron las diferencias temporales y espaciales en el contenido de clorofila *a* + *b*, proteínas, carbohidratos, ceniza, fibra y contenido calórico en las hojas de *Z. marina* mediante un análisis de varianza de dos vías (sitio x tiempo) después de probar normalidad y homocedasticidad en los datos (Sokal y Rohlf, 1984). Los datos que no se ajustaron a los criterios de normalidad y homocedasticidad fueron transformados con una función log. Todas las comparaciones múltiples fueron realizadas con pruebas Tukey estableciendo el nivel de significancia en $P < 0.05$.

RESULTADOS

Variables Ambientales

Temperatura del agua de mar e irradiancia in situ

La temperatura media diaria del agua varió a lo largo del año en las tres lagunas (Fig. 15). Las mayores temperaturas observadas durante el verano fueron de 22, 25 y 27 °C en BSQ, LOL y LSI, respectivamente. Las menores temperaturas observadas durante el invierno fueron de 15 °C en el norte y de 16 °C en las lagunas del sur. En general, la irradiancia *in situ* integrada diariamente fue dos veces mayor en las lagunas del sur de la península que en la laguna del norte. Los valores de irradiancia *in situ* integrada diaria presentaron un clásico patrón sinusoidal en LOL y LSI; sin embargo, en la laguna costera del norte, la irradiancia *in situ* no varió significativamente a lo largo del año (Fig. 11). Los valores máximos de irradiancia *in situ* para el norte ($15 \mu\text{mol cuanta m}^{-2} \text{d}^{-1}$) y el sur ($35 \mu\text{mol cuanta m}^{-2} \text{d}^{-1}$) de Baja California se registraron en marzo. En las tres lagunas, las irradiancias máximas se presentaron aproximadamente 3 - 4 meses antes que los valores máximos de temperatura del agua.

Contenido de Pigmentos

En las lagunas costeras del sur, los niveles de clorofila en las hojas de *Z. marina* fueron estadísticamente similares ($P > 0.05$) a lo largo del año, excepto en abril de 1999, y fueron aproximadamente dos veces más bajos que en los pastos de la laguna del norte de la península (Tabla III, Fig. 16). La concentración de clorofila *a + b* en las hojas de *Z. marina* mostraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en función de la época del año, el sitio de estudio y la interacción entre tiempo y sitio de estudio (Tabla III). En los tres

sitios de estudio, los máximos niveles de clorofila fueron observados durante primavera y verano, y los mínimos durante primavera e invierno.

Contenido de Proteínas

La concentración de proteínas solubles y totales en las hojas de *Z. marina* mostraron diferencias significativas ($P < 0.5$) en función de la época del año, el sitio de estudio, y la interacción entre tiempo y sitio de estudio (Fig. 17, Tabla III). Los niveles de proteínas solubles fueron similares en los pastos de las tres lagunas durante casi todo el año ($\approx 7 \text{ mg gPS}^{-1}$); sin embargo, la concentración de proteínas aumentó a aproximadamente al doble durante el invierno de 1999 y la primavera de 2000. Los niveles de proteínas totales en las hojas de *Z. marina* mostraron patrones diferentes en los tres sitios de estudio. En BSQ los máximos valores se observaron en el verano y disminuyeron hacia el invierno, mientras que en LOL los niveles aumentaron desde principios de 1999 hasta la primavera de 2000. En LSI los niveles de proteínas totales en los haces no mostraron un patrón claro.

Contenido de Carbohidratos no estructurales (azúcar y almidón)

La concentración de azúcar en las hojas de *Z. marina* durante el invierno fueron similares en las tres lagunas; sin embargo, en el verano los niveles de carbohidratos fueron aproximadamente el doble ($P < 0.05$) para los pastos de BSQ con respecto a los pastos de las lagunas del sur (Fig. 18). A diferencia del azúcar, los niveles de almidón en los pastos de BSQ a lo largo del año fueron dos veces más altos que los de los pastos del sur de la península. En general, los niveles de azúcar en los haces de *Z. marina* fueron

aproximadamente cinco veces mayores que los niveles de almidón. La concentración de azúcar y almidón en las hojas de *Z. marina* mostraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en función de la época del año, el sitio de estudio, y la interacción entre el tiempo y el sitio de estudio (Tabla III).

Contenido de Fibra Neutra y Fibra Ácida

Las concentraciones de fibra neutra y fibra ácida fueron de 400 y 350 mg gPS⁻¹, respectivamente, a lo largo del año para los pastos de las tres lagunas, excepto durante junio y julio, cuando los valores aumentaron en aproximadamente 30% (Fig. 19). Los niveles de fibra neutra en las hojas de *Z. marina* mostraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en función de la época del año, y de la interacción entre tiempo y sitio de estudio, pero no con relación al sitio de estudio, mientras que los niveles de fibra ácida mostraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en función de la época del año, el sitio de estudio y la interacción entre tiempo y sitio de estudio (Tabla III). En las tres lagunas los niveles de fibra ácida representaron aproximadamente el 75% de los la fibra neutra en los haces de *Z. marina*.

Contenido de Cenizas y contenido calórico

En las tres lagunas el contenido de ceniza en los haces de *Z. marina* disminuyó de invierno (400 mg gPS⁻¹) a primavera y verano (200 mg gPS⁻¹) (Fig. 20). Se observó además, una disminución general del 10% del contenido de ceniza en los pastos de las tres lagunas estudiadas. Por otro lado, el contenido calórico de los haces de *Z. marina* se incrementó de aproximadamente 2.5 kcal gPS⁻¹ en enero de 1999 a aproximadamente 3

kcal gPS⁻¹ en marzo del 2000. Contrario a la disminución de los niveles de ceniza, se observó un incremento general del contenido calórico de las hojas de *Z. marina* de los tres sitios estudiados. La concentración de ceniza y calorías en los haces de *Z. marina* mostraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) en función de la época del año, el sitio de estudio y la interacción entre tiempo y sitio de estudio (Tabla III).

Las composiciones de fibra neutra, proteínas totales, carbohidratos (azúcar + almidón) y ceniza mostraron un comportamiento similar en los pastos de las tres lagunas a lo largo del año (Fig. 21). En general, estos compuestos representaron el 100% de la composición metabólica de los haces a finales de la primavera y principios del verano, disminuyendo hacia el invierno. Los niveles de clorofila representaron menos del 1% del contenido de materia orgánica en las hojas de *Z. marina*.

Tabla III. Resultados del análisis de varianza de dos vías para evaluar el efecto del tiempo y el sitio de estudio sobre la concentración de clorofila, azúcar, almidón, proteínas solubles, proteínas totales, fibra neutra, fibra ácida, contenido de ceniza y calorías en los haces de *Zostera marina*.

Variable Dependiente	Variable Independiente	gl	SC	F	P	Significancia
Clorofila <i>a</i> + <i>b</i> (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	7	0.53	13.7	<0.001	***
	Sitio	2	10.43	269.8	<0.001	***
	Tiempo X Sitio	14	0.17	4.4	<0.001	***
	Residual	114	0.03			
Azúcar (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	8	9,434	54.9	<0.001	***
	Sitio	2	5,023	29.3	<0.001	***
	Tiempo X Sitio	16	1,195	6.9	<0.001	***
	Residual	135	171			
Almidón (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	7	123	31.3	<0.001	***
	Sitio	2	2,760	700.3	<0.001	***
	Tiempo X Sitio	14	27	6.9	<0.001	***
	Residual	120	4			
Proteínas Solubles (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	7	358	171.5	<0.001	***
	Sitio	2	45	20.8	<0.001	***
	Tiempo X Sitio	14	47	22.9	<0.001	***
	Residual	120	2			
Proteínas Totales (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	7	3,172	13.1	<0.001	***
	Sitio	2	13,262	54.9	<0.001	***
	Tiempo X Sitio	14	1,217	5.1	<0.001	***
	Residual	120	241			
Fibra Neutra (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	7	58,240	23.1	<0.001	***
	Sitio	2	3,286	1.3	0.277	n.s.
	Tiempo X Sitio	14	12,589	4.9	<0.001	***
	Residual	91	2,523			
Fibra Ácida (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	6	14,550	49.4	<0.001	***
	Sitio	2	1,301	4.4	0.016	*
	Tiempo X Sitio	12	6,359	21.6	<0.001	***
	Residual	70	294			
Ceniza (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	6	27,155	12.4	<0.001	***
	Sitio	2	6,880	3.2	0.046	*
	Tiempo X Sitio	12	25,782	11.8	<0.001	***
	Residual	137	2181			
Calorías (mg gPS ⁻¹)	Tiempo	7	0.69	65.8	<0.001	***
	Sitio	2	0.44	41.6	<0.001	***
	Tiempo X Sitio	14	0.11	10.1	<0.001	***
	Residual	85	0.01			

n.s. indica no significativo; *, P < 0.05 y ***, P < 0.001

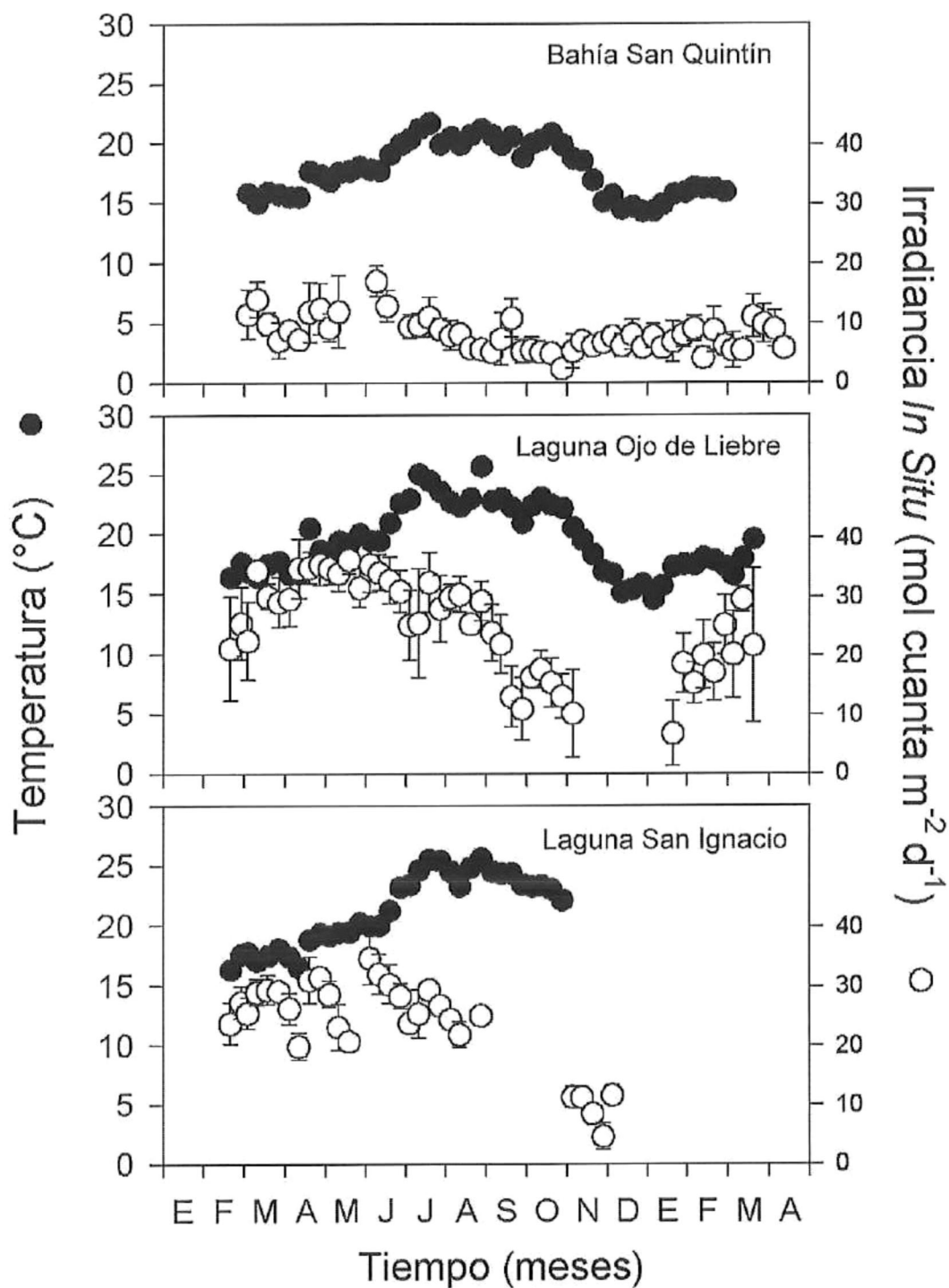


Figura 15. Irradiancia incidente y temperatura superficial del agua de mar en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio. La irradiancia y la temperatura fue registrada cada 0.5 h y promediado a intervalos diarios usando un termógrafo programable.

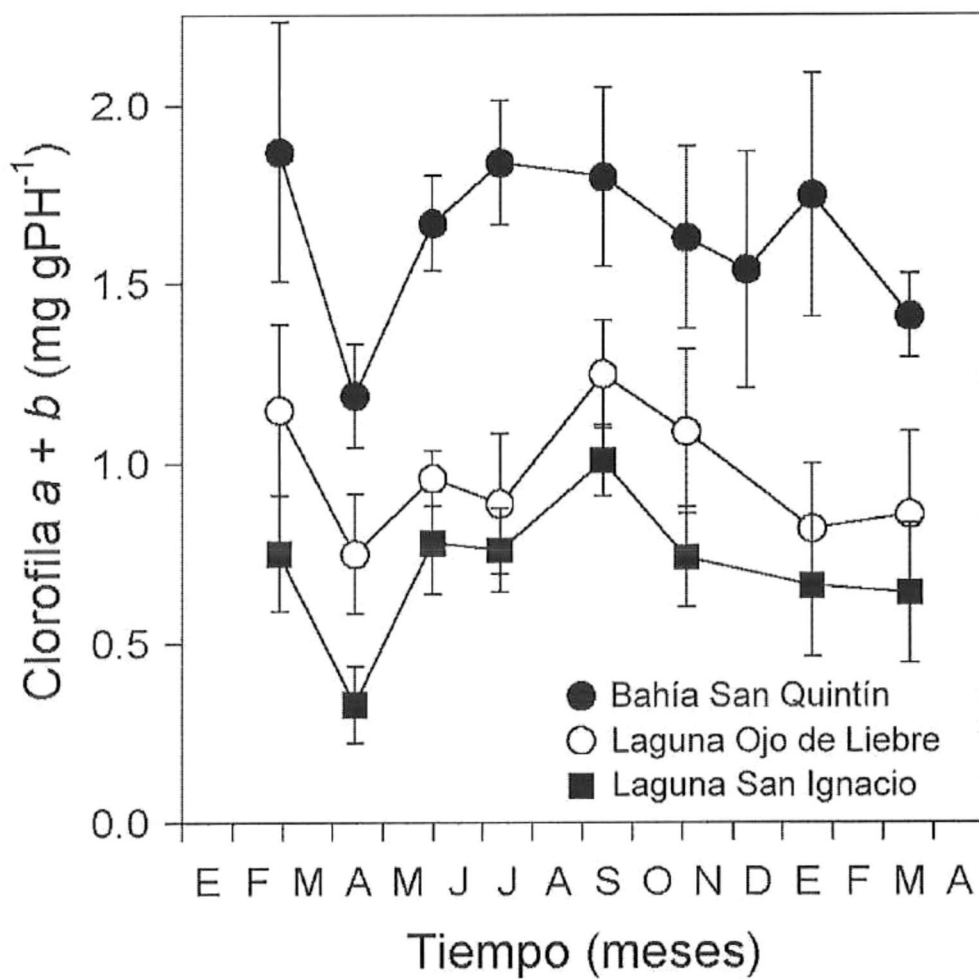


Figura 16. Niveles de clorofila $a + b$ ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 6$), en las hojas de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

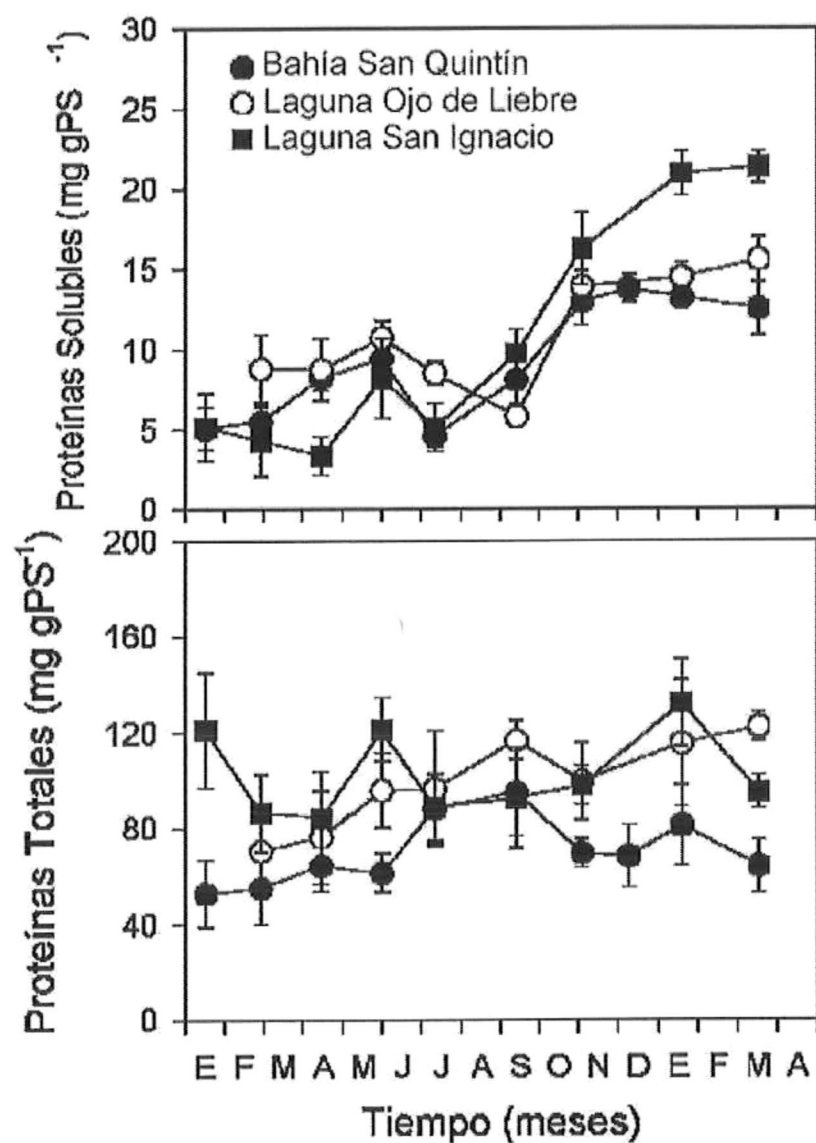


Figura 17. Niveles de proteínas totales y solubles ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$), en las hojas de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

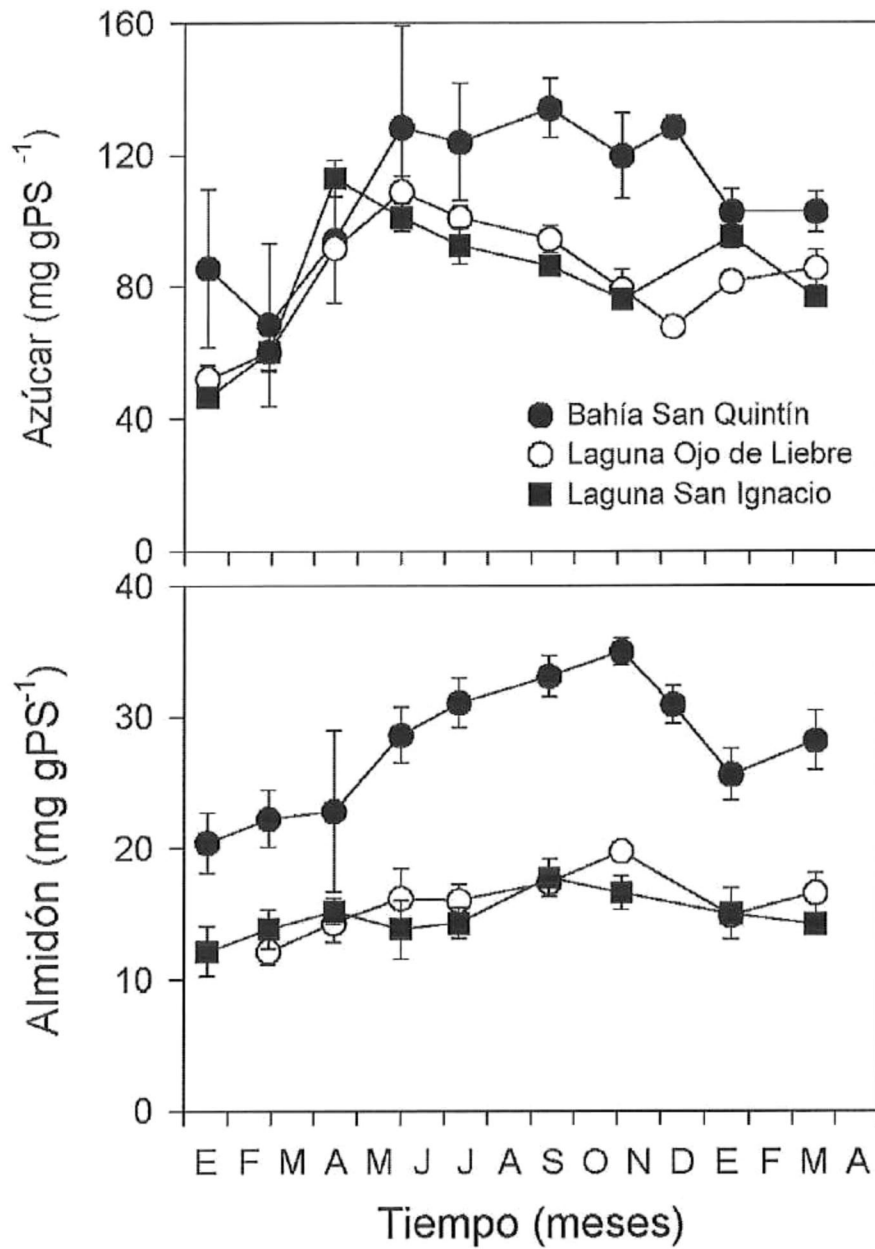


Figura 18. Niveles de azúcar ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$) y almidón ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$), en las hojas de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

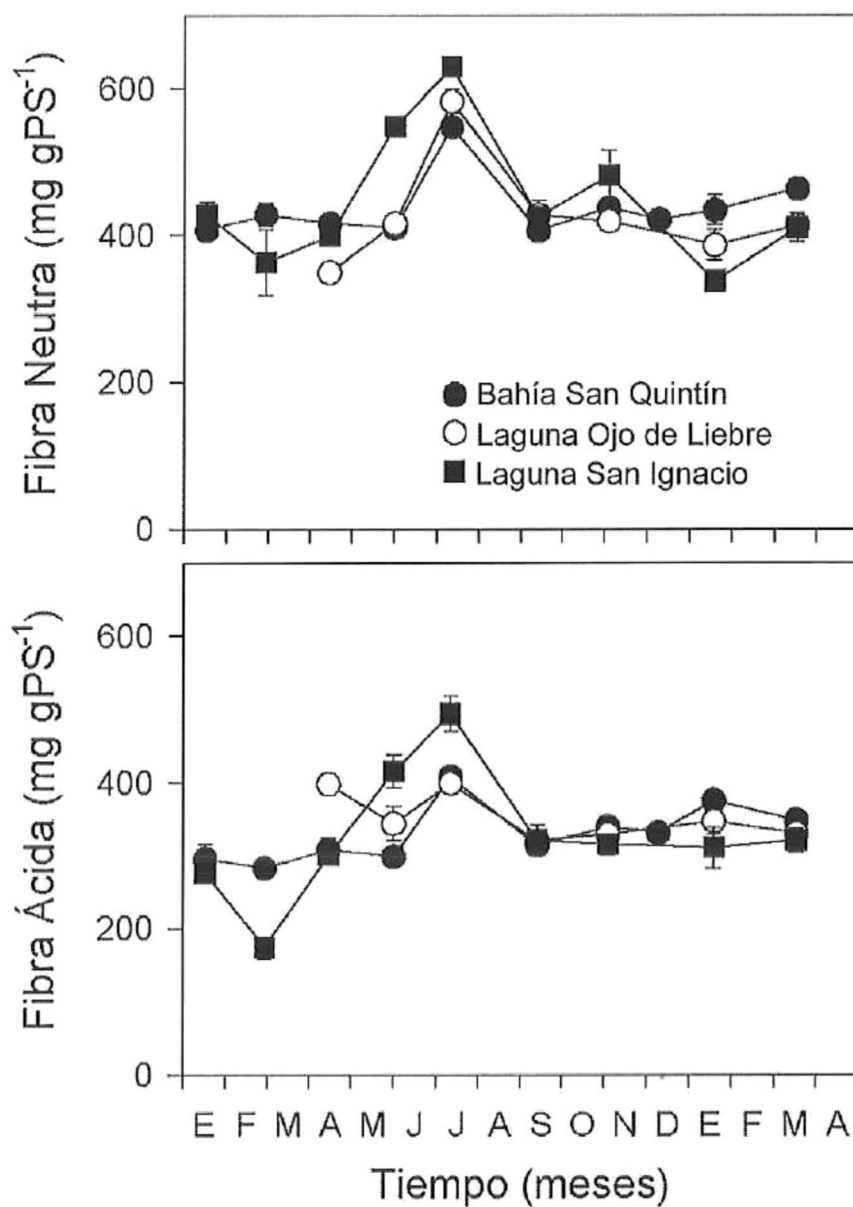


Figura 19. Niveles de fibra neutra ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$) y fibra ácida ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$) en las hojas de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

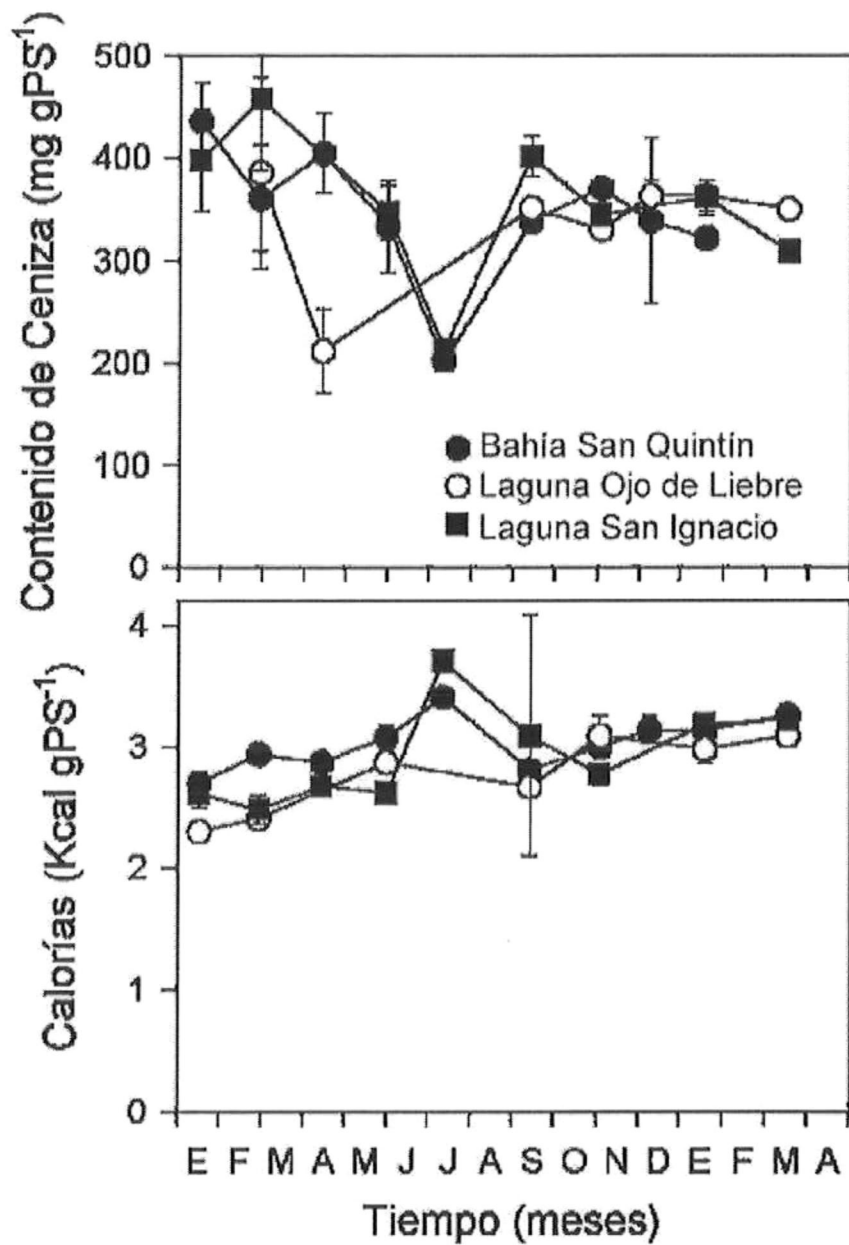


Figura 20. Niveles del contenido de cenizas ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 10$) y calorías ($\bar{X} \pm D.E.$, $n = 5$) en las hojas de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

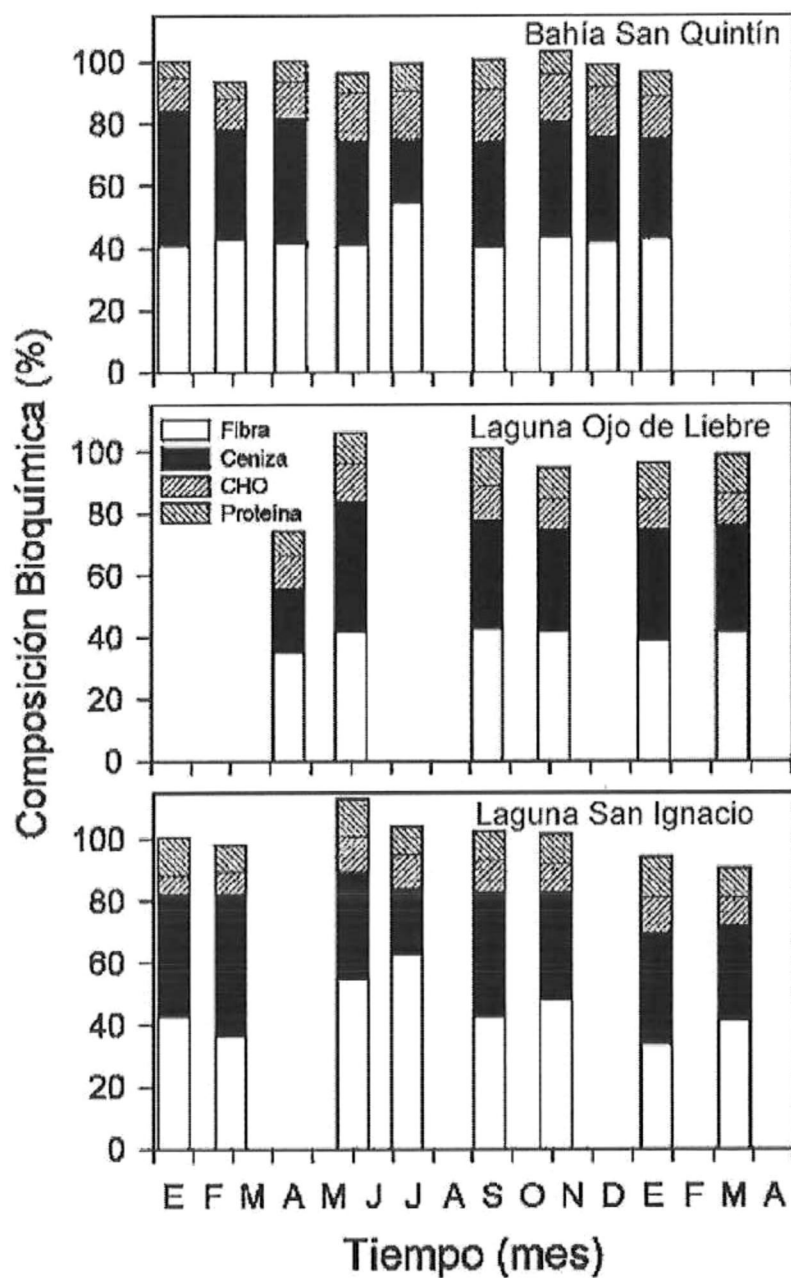


Figura 21. Composición bioquímica en porcentaje en las hojas de *Zostera marina* en Bahía San Quintín, Laguna Ojo de Liebre y Laguna San Ignacio a lo largo del periodo de estudio.

DISCUSIÓN

Baja California abarca regiones subtropicales y templadas, consecuentemente, existe una gran variación en los niveles de irradiancia y temperatura a las que están expuestos los organismos distribuidos a lo largo de esta península. Los resultados de este estudio revelan que los pastos que habitan en las lagunas del sur de la península están expuestos a temperaturas medias de 5-6 °C más altas e irradiancias dos veces mayores que los pastos del norte de Baja California a lo largo del año. No obstante que los niveles de constituyentes orgánicos son similares a los reportados previamente para otras poblaciones (Dawes y Lawrence, 1979; Brand-Gardner et al., 1999), existen claras diferencias entre los haces del pasto marino *Z. marina* del norte (BSQ) y los del sur (LOL y LSI) de la península. En consecuencia, estas diferencias posiblemente impacten el metabolismo de los herbívoros que habitan las diferentes lagunas costeras de Baja California.

Los niveles de clorofila en el tejido de vegetales marinos responden a fluctuaciones estacionales de irradiancia en el campo (Mazzella y Alberte, 1986; Lindqvist y Lignell, 1997). Generalmente, los niveles de clorofila *a* y pigmentos accesorios aumentan en épocas del año con irradiancias o fotoperiodos menores (Lewey y Gorham, 1984). De igual manera, los niveles de pigmentos son generalmente más elevados en *Z. marina* de zonas con menores niveles de irradiancia (Zimmerman et al., 1995). En la laguna del norte de la península, los haces de *Z. marina* probablemente responden a las bajas irradiancias *in situ* aumentando la concentración de clorofilas con respecto a los pastos de las lagunas del sur. De hecho, los pastos de las lagunas del sur de

Baja California se encuentran establecidos a aproximadamente 1 m más de profundidad que los pastos del norte. Cabello-Pasini et al. (2004) han sugerido que la colonización de zonas más profundas por *Z. marina* en las lagunas del sur es el resultado de una mayor disponibilidad de luz en la columna de agua con respecto a la laguna del norte. Los niveles altos de clorofila en los pastos de la laguna norte son consistentes con una respuesta fisiológica de las macrofitas a una aclimatación a niveles bajos de irradiancia (Lapointe, 1981). Debido a que la capacidad fotosintética de los pastos del norte es similar a las del sur, a irradiancias similares, es probable que la aclimatación consista en un aumento en el número de antenas más que en el tamaño de estas. Por otro lado, los niveles de pigmentos en el tejido de macrofitas marinas esta relacionado con la concentración de nitrógeno presente en la columna de agua (Lapointe, 1981; Lewey y Gorham, 1984; Campbell et al., 1999). En algas rojas (p.e. *Gracilaria cornea*), se ha reportado un incremento en el contenido de pigmentos al incrementarse el contenido de nitrógeno en el medio acuático (Campbell et al., 1999; Orduña-Rojas et al., 2002). Por lo anterior, se sugiere que los niveles mayores de pigmentos en las hojas de los pastos en la laguna del norte probablemente sean también el resultado de la mayor disponibilidad de nutrientes en la Región Norte con respecto a la Región Sur de la península debido eventos recurrentes de surgencias en esta zona (Ibarra-Obando et al., 2001; Camacho-Ibar et al., 2003).

El patrón estacional en el contenido de carbohidratos no-estructurales (azúcar + almidón) es típico de algunas poblaciones de pastos marinos (*Z. marina*, *Z. noltii*, *Posidonia oceanica*) en diferentes zonas geográficas (Vermaat y Verhagen, 1996;

Touchett y Burkholder, 2000; Cabello-Pasini et al., 2002). Similar a estos estudios, el contenido de azúcar y almidón en las hojas de *Z. marina* en BSQ así como en LOL y LSI, se incrementó durante el periodo de máxima irradiancia *in situ* (verano), mientras que se encontró una disminución en el invierno, correspondiente a los menores valores de irradiancia *in situ*. Una disminución en los niveles de irradiancia provoca que los organismos presenten un balance de carbono negativo. El balance de carbono en la planta es la razón entre el carbono fijado en la fotosíntesis (P) y el consumo de carbono en la respiración (R) (Hemminga y Duarte, 2001). Un balance negativo ($P < R$) indica que la planta está utilizando directamente el carbono almacenado en el tejido subterráneo (raíces y rizomas) y no del carbono que se produce durante la fotosíntesis en el tejido aéreo (hojas) (Zimmerman et al., 1995). No obstante que los niveles de irradiancia *in situ* son menores en BSQ con respecto a las lagunas del sur, se observó una mayor acumulación de azúcar durante el verano en las hojas de *Z. marina* de BSQ con respecto a LOL y LSI. Por otro lado, Cabello-Pasini et al.(2004) no encontraron una diferencia significativa entre las características fotosintéticas de *Z. marina* entre BSQ-LOL-LSI a lo largo de un ciclo anual. Lo anterior sugiere que los niveles elevados de pigmentos en los pastos de la laguna del norte están compensando los bajos niveles de irradiancia *in situ* y así mantener tasas fotosintéticas similares a los pastos del sur. El incremento de pigmentos en las hojas de las plantas se puede deber a dos factores: 1) un aumento en el tamaño de la antena del aparato fotosintético; 2) un incremento en el número de aparatos fotosintéticos aunado a un aumento en el número de antenas. Los niveles mayores de carbohidratos observados en las plantas de BSQ, expuestas a niveles menores de irradiancia en relación con las plantas del sur, sugieren que la aclimatación se debe a un aumento del número de aparatos

fotosintéticos y antenas. Lo anterior incrementa tanto la eficiencia fotosintética como la capacidad fotosintética de la planta. Por lo anterior, se sugiere la reserva de carbono en plantas de la laguna del norte es suficiente para mantener concentraciones mayores de carbohidratos no estructurales con respecto a las plantas de las lagunas del sur.

Varios estudios han reportado que la reducción de >80% de la irradiancia por periodos mayores de 3 semanas provocó la disminución de dos a cuatro veces la concentración inicial del contenido de azúcar en las hojas de *Z. marina* (Burke et al., 1996; Cabello-Pasini et al., 2002). Sin embargo, un estudio reciente en plantas de *Z. noltii* expuestas a bajos niveles de irradiancia (10% y 2% de la irradiancia *in situ*) muestra un decremento en el contenido de sucrosa en la parte subterránea, pero esta se acumuló en la parte aérea durante las dos primeras semanas (Brun et al., 2003). Esta respuesta, permite reducir el costo de mantenimiento del tejido no fotosintético (parte subterránea) y así poder mantener la fijación de carbono a través de la formación de biomasa fotosintética (parte aérea) y de esta manera sobrevivir en periodos de limitación de luz. Aunque en este estudio no se determinó el contenido de carbohidratos en la parte subterránea, se puede sugerir que el contenido de carbohidratos es mayor en la laguna del norte que en las lagunas del sur, debido a que la biomasa subterránea en plantas de BSQ fue de dos a tres veces mayor en BSQ que en LOL y LSI (Varela-Valencia, 2001). Si lo anterior es cierto, es posible sugerir que las plantas de *Z. marina* en BSQ cuentan con una reserva de carbono en el tejido subterráneo, que les permite traslocar los carbohidratos hacia las hojas durante el periodo de tiempo en el que las plantas se encuentran limitadas de luz

(15% del año; Cabello-Pasini et al., 2003a). Sin embargo, es necesario realizar estudios que permitan confirmar la hipótesis anteriormente planteada.

Durante el periodo de estudio no fue clara la razón de la tendencia anual del aumento del contenido de proteínas y carbohidratos (azúcar + almidón + fibra). Sin embargo, el inicio de la serie de muestreo se caracterizó por ser el final de un evento de El Niño caracterizado por anomalías de hasta 4 °C en la temperatura superficial, mientras que 1999 y 2000 se caracterizaron por presentar una anomalía de la temperatura superficial del agua de aproximadamente -1 °C, como resultado de un fuerte año La Niña (Ladah et al., 1999; Durazo-Arvizu et al., 2001). Por otro lado, a lo largo de este estudio, la temperatura del agua en la zona de estudio de las tres lagunas presentó una disminución general de 1 °C. La temperatura tiene efectos importantes en las rutas metabólicas de las plantas. El incremento en la temperatura del agua afecta directamente el metabolismo y el mantenimiento de un balance positivo de carbono en *Z. marina*. Un balance de carbono realizado en hojas de *Z. marina* de una zona templada, indican que las tasas diarias de respiración en la hoja exceden a las de la fotosíntesis a temperaturas mayores de 25 °C, lo que provoca un balance de carbono negativo con la consecuente mortandad de los haces durante el verano (Marsh et al., 1986). En un estudio realizado en las costas de California se encontró que entre los 11 – 15.5 °C, la concentración de los nutrientes en la columna de agua y la temperatura mantenían una relación inversa (Zimmerman y Kremer, 1984). La menor concentración de nutrientes se observó a temperaturas mayores de 15.5 °C. Las variaciones en los niveles de temperatura y nutrientes se ve reflejado en la fisiología y en

composición bioquímica en el tejido de ciertos vegetales marinos. Por ejemplo, en el alga *Macrocystis pyrifera*, el contenido de nitrógeno y proteínas disminuyó al incrementarse la temperatura durante El Niño de 1982-1983 (Gerard, 1984). Es probable que los bajos niveles de proteínas y carbohidratos en las hojas de *Z. marina* al inicio del estudio hayan sido el resultado de la anomalía térmica en la fisiología del pasto y/o de la disminución en la disponibilidad de nutrientes provocadas por El Niño.

El incremento en los niveles de calorías en los pastos de las tres lagunas a lo largo del año es atribuible al aumento durante el mismo periodo de los niveles de proteínas y carbohidratos, y la disminución en el contenido de ceniza en el tejido. Los contenidos calóricos de proteínas y carbohidratos de vegetales son de 5.73 y 4.18 kcal g⁻¹, respectivamente. A lo largo del año se observó un aumento de 30.88 ± 12.02 mg gPS⁻¹ en el nivel de proteínas totales en los haces de *Z. marina* de las tres lagunas estudiadas, representando un incremento de 0.18 kcal gPS⁻¹. De manera similar, el aumento de 40.71 ± 0.15 mg gPS⁻¹ en los niveles de carbohidratos (azúcar + almidón + fibra) representa un incremento de 0.17 kcal gPS⁻¹. De manera conjunta, el incremento de proteínas y carbohidratos representó un aumento de 0.35 kcal gPS⁻¹. Lo anterior sugiere que el aumento de los niveles de carbohidratos y proteínas a lo largo del año son responsables del incremento de aproximadamente el 53% del contenido calórico del tejido de *Z. marina*. El resto del contenido calórico en las hojas de los pastos debe ser explicado por cambios en los niveles de lípidos, pigmentos, ácidos orgánicos, etc. Aunque los lípidos tienen un contenido calórico más alto que los carbohidratos y proteínas (Graiger, 1983) el contenido de lípidos en las hojas de pastos marinos y otras macrofitas marinas es bajo y

varía desde <1% hasta 2% del peso seco (Dawes y Lawrence, 1979; Westermeir y Gomez, 1996). Por lo anterior, los lípidos y pigmentos podrían ser tan sólo responsables de un cambio de aproximadamente 15% del contenido calórico.

El contenido carbohidratos (fibra + azúcar + almidón), proteína y ceniza son responsables de más del 95% de la composición bioquímica del tejido de las hojas de *Z. marina* a lo largo del año. Esto es inconsistente con lo observado en las hojas de *Thalassia testudinum* en las que estos mismos componentes representan sólo el 50% del peso seco del tejido. Por otro lado, los niveles de pigmentos en las hojas de *Z. marina* son responsables de menos del 0.8% del peso seco. Lo anterior sugiere que los carbohidratos (fibra + azúcar + almidón), proteína y ceniza son los componentes más abundantes del tejido de *Z. marina*. Una serie de animales herbívoros dependen de la calidad, cantidad y disponibilidad de plantas para satisfacer sus requerimientos calóricos. La branta negra (*Branta bernicla*) en algunas regiones de Europa, por ejemplo, se alimenta preferentemente de rizomas que son tejidos bajos en fibra lo cual permite mayor digestibilidad (Mather et al., 1998). De manera similar, la lapa *Tectura depicta* se alimenta de la epidermis de las hojas de *Z. marina* en Monterrey, California, EUA (Zimmerman y Alberte, 1996) y en BSQ, Baja California, México (ACP, observación personal). Este estudio revela diferencias en los contenidos de proteínas, carbohidratos solubles e insolubles y ceniza en las hojas del pasto marino *Z. marina* a lo largo del año en las diferentes lagunas de Baja California; sin embargo, se desconoce si las variaciones en la concentración de estos metabolitos afectan la fisiología de los herbívoros que habitan en ellas.

Capítulo IV. Caracterización genética del pasto marino *Zostera marina* en México

RESUMEN

La morfología y la fisiología de *Zostera marina* varían a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California y el Golfo de California, pero se desconoce si existen diferencias genéticas entre estas poblaciones. Consecuentemente, el objetivo de este trabajo fue el determinar las características genéticas de cinco poblaciones perennes de *Z. marina* en la costa del Pacífico de Baja California y de cuatro poblaciones anuales del Golfo de California. Las poblaciones de *Z. marina* fueron analizadas genéticamente utilizando nueve loci de microsatélites. El número de alelos por locus varió de 8 a 20, y la heterocigosidad observada y esperada en la costa del Pacífico y del Golfo de California varió de 0.48 a 0.68 y 0.44 a 0.62, respectivamente. Se encontró una diferenciación genética significativa mediante los valores θ_{ST} entre las nueve poblaciones de *Z. marina* analizadas. Las poblaciones de *Z. marina* en la costa del Pacífico se encuentran separadas por más de 220 km y mostraron valores altos de θ_{ST} (0.12 – 0.28), sugiriendo que el flujo genético es restringido entre las poblaciones del Pacífico. En contraste, una baja pero significativa diferenciación genética se detectó entre las poblaciones del Golfo de California ($\theta_{ST} = 0.03 - 0.17$), aún cuando estas poblaciones se encuentran separadas por más de 250 km. Esto sugiere que el flujo genético es mucho mayor entre las poblaciones del Golfo en comparación con las del Pacífico. La prueba de aislamiento-por-distancia (IBD), mostró una correlación significativa entre las distancias genéticas [$\theta_{ST} / (1-\theta_{ST})$] y

geográficas (km) en las poblaciones del Golfo de California, mientras que en poblaciones de la costa del Pacífico, no se encontró una correlación significativa. El análisis de AMOVA reveló diferencias genéticas significativas en la varianza de las frecuencias de los alelos entre las poblaciones perennes de la costa del Pacífico y las poblaciones anuales del Golfo de California, lo que sugiere un flujo genético restringido entre estas áreas biogeográficas.

INTRODUCCIÓN

La costa del Pacífico de Baja California y del Golfo de California representan el límite sur de distribución del pasto marino *Zostera marina* L. en el Hemisferio Norte. Biogeográficamente, *Z. marina* habita lagunas costeras aisladas a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California y el Golfo de California, donde ésta representa la macrofitas marina dominante (Meling-López y Ibarra-Obando, 1999; Santamaria-Gallegos et al., 2000; Cabello-Pasini et al., 2003a; Ward et al., 2004b). Las poblaciones de *Z. marina* del Pacífico y del Golfo, están expuestas a diferentes patrones de corrientes y de condiciones ambientales. La costa del Pacífico está influenciada por la Corriente de California, con flujo neto hacia el sur y velocidades menores de 12 cm s^{-1} (Lynn y Simpson, 1987). En cambio, el Golfo de California está influenciado por Agua Superficial Ecuatorial y la velocidad de las corrientes dentro del Golfo, pueden exceder los 100 cm s^{-1} provocando fuertes mezclas (Badan-Dagon, 1998). Por otro lado, Baja California es una península de 1300 km de longitud que separa al Océano Pacífico del Golfo de California y actúa como barrera geográfica, limitando el flujo genético entre diferentes especies de peces (Terry et al., 2000; Stepien et al., 2001), mamíferos marinos (Schramm-Urrutia, 2002) e invertebrados marinos (Brusca, 1980; Correa-Sandoval y Rodríguez-Cortés, 1998). Así mismo, las poblaciones más distantes de *Z. marina* entre el Pacífico y Golfo de California se encuentran separadas por más de 2,000 km a lo largo de la costa de la península de Baja California.

En el ambiente marino, la distribución de las poblaciones se encuentra significativamente limitada por la distancia geográfica entre las poblaciones, la dirección

y la velocidad de las corrientes, así como por las barreras geográficas (Hedgecock, 1986; Burton, 1998; Terry et al., 2000). La limitación en la dispersión de los organismos, disminuye el flujo genético entre las poblaciones, promoviendo la formación de grupos genéticamente diferentes (estructura poblacional). Reusch et al. (2000) encontraron una mayor diferencia genética y un menor flujo genético entre las poblaciones europeas de *Z. marina* al incrementarse la distancia geográfica entre ellas. Debido a que *Z. marina*, como otros pastos marinos, presenta una reproducción sexual limitada y una dispersión restringida de polen y semillas (Ackerman, 1986, 1997b; Hemminga y Duarte, 2001), es muy probable que las poblaciones de *Z. marina* en México muestren una estructura poblacional. Sin embargo, se desconoce como las diferencias oceanográficas y biogeográficas entre la costa del Pacífico y el Golfo de California pueden contribuir a las variaciones genéticas en las poblaciones de *Z. marina* entre estas regiones biogeográficas.

Las estrategias de vida y las características biológicas también son diferentes entre las poblaciones del Pacífico y del Golfo de California. Las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico de Baja California son de vida perenne, mientras que las poblaciones del Golfo de California son de vida anual, desapareciendo por completo durante el verano, cuando la temperatura del agua sobrepasa los 30 °C (Cabello-Pasini et al., 2003a). Las poblaciones de *Z. marina* del Golfo de California se reproducen exclusivamente de manera sexual y el 100% de los haces son reproductivos, mientras que las poblaciones de la costa del Pacífico se reproducen principalmente de manera clonal, por medio de la extensión de sus rizomas y menos del 50% de los haces son reproductivos (Meling-López y Ibarra-Obando, 1999; Santamaria-Gallegos et al., 2000). Por otro lado, la época de

reproducción sexual en las poblaciones del Pacífico se desarrolla durante los meses de primavera-verano, en cambio, las poblaciones del Golfo se reproducen durante invierno-primavera (Poumian-Tapia y Ibarra-Obando, 1999; Meling-López, 2001; Varela-Valencia, 2001). Pese a que existen diferencias en las características biológicas, época y forma de reproducción, entre las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico y las del Golfo de California, aún se desconoce si estas diferencias se ven reflejadas en las características genéticas entre estas poblaciones.

Algunos estudios sugieren que la reproducción clonal limita la diversidad genética de las poblaciones e incrementa la estructura poblacional (Les, 1988). Análisis genéticos isozímicos realizados en diversas especies de angiospermas con reproducción clonal, muestran una menor diversidad genética y un menor grado de homocigosidad, que en poblaciones con reproducción sexual (Ellstrand y Roose, 1987; Les, 1988). Sin embargo, recientemente se ha encontrado altos niveles de diversidad genética en poblaciones de pastos marinos con reproducción clonal, utilizando marcadores moleculares (Waycott, 1995; Procaccini y Mazella, 1998; Reusch et al., 1998; Reusch et al., 1999; Reusch et al., 2000; Procaccini et al., ; Waycott y Barnes, 2001). No obstante que la tasa de reproducción sexual es mucho mayor en las poblaciones anuales de *Z. marina* del Golfo de California, se desconoce si la diversidad genética es diferente de aquellas de las poblaciones perennes de la costa del Pacífico de Baja California. En este estudio evaluamos las características genéticas de las poblaciones de *Z. marina* en la costa del Pacífico de Baja California y en el Golfo de California para: (i) determinar el grado de diferencia genética entre todas las poblaciones y (ii) determinar el nivel de diferenciación

entre las poblaciones perennes de la costa del Pacífico y las poblaciones anuales del Golfo de California.

OBJETIVOS

- a) Estimar la diversidad genética dentro de cada población de *Z. marina* de la costa del Pacífico y del Golfo de California
- b) Determinar el grado de diferenciación genética entre poblaciones *Z. marina* de la costa del Pacífico y del Golfo de California
- c) Determinar el nivel de diferenciación genética entre el grupo de las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico (perennes) y el grupo del Golfo de California (anuales).

MÉTODOS

Área de Estudio

Ejemplares de *Z. marina* se colectaron en cinco sitios de la costa del Pacífico de Baja California y en cuatro sitios en el Golfo de California (Fig. 22). Las poblaciones del Pacífico muestreadas fueron: Estero Punta Banda (EPB, 31° 47' N; 116° 39' O); Bahía San Quintín, (BSQ; 30°, 24' N; 115 ° 57'O); Laguna Ojo de Liebre (LOL, 27°, 35' N; 113° 50' O); Laguna San Ignacio (LSI, 26° 38' N; 113°06' O); Bahía Magdalena (BM; 24° 15' N; 111° 30' O). Las poblaciones del Golfo de California fueron: Bahía Concepción (BC; 26° 33' N; 111° 42' O), Canal del Infiernillo (CI, 29° 10' N; 112° 14' O); Laguna de Agiabambo (AG, 26° 05' N; 109° 05' O) y Bahía Santa María (BSM; 24° 50' N; 107° 55' O). Todas las poblaciones muestreadas habitan lagunas costeras geográficamente aisladas, con excepción de la del CI, en donde las plantas se encuentran en mar abierto. El área de estas lagunas costeras varía entre 16 km² (EPB) y 450 km² (BSM) y las distancias entre pares de poblaciones varía de 220 a 2300 km (Fig. 22). En cada laguna se colectaron de 21 a 46 individuos de *Z. marina*, separados entre sí de 20 a 100 m durante marea baja, o mediante buceo libre durante mareas altas. En cada laguna, todos los individuos se colectaron dentro de un área de menos de 750,000 m². No obstante que esta área de colecta es mucho mayor al área de un vecindario genético sugerido para *Z. marina* (500 – 1600 m²) por Ruckelhaus (1996; 1998) y por Reusch (2000), consideramos que es apropiado para examinar la estructura genética entre poblaciones a gran escala.

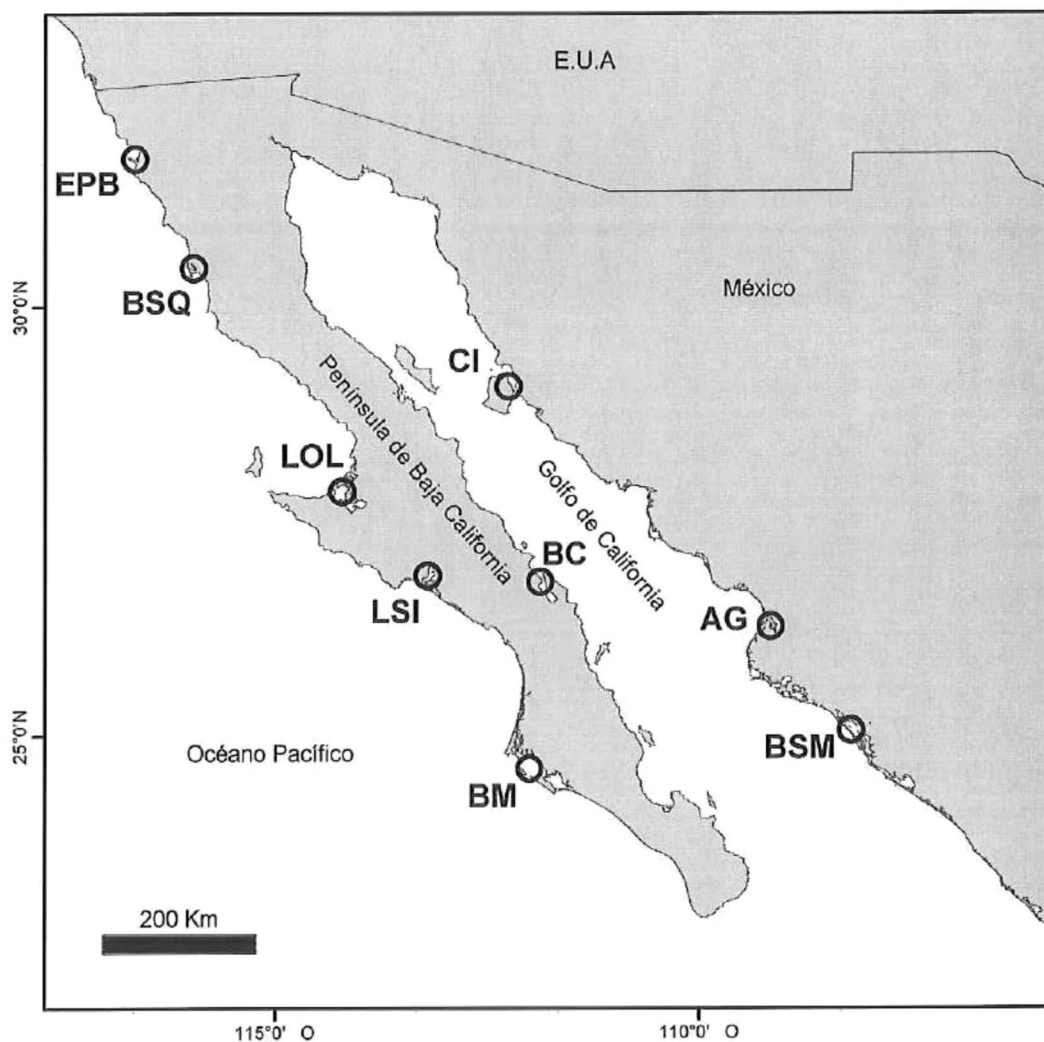


Figura 22. Localización de los sitios de colecta de *Zostera marina* para el análisis genético en la costa del Pacífico de Baja California y en el Golfo de California. Estero Punta Banda (EPB), Bahía San Quintín (BSQ), Laguna Ojo de Liebre (LOL), Laguna San Ignacio (LSI), Bahía Magdalena (BM), Bahía Concepción (BC), Canal del Infiernillo (CI), Bahía Agiabambo (AG) y Bahía Santa María (BSM).

Análisis Genético

Extracción de ADN

De cada muestra se tomó tejido de un solo haz, el cual representó a un individuo. El ADN genómico se extrajo de aproximadamente 0.02-0.04 g de peso seco, mediante una modificación al método de CTAB/PVP descrito por Stewart & Via (1993). El método consiste en moler el tejido con hielo seco en un mortero hasta obtener un polvo fino y posteriormente suspenderlo en 0.85 volúmenes de amortiguador CTAB/PVP e incubarlo a 37 °C por aproximadamente 12 h. El homogenizado se extrajo con aproximadamente 0.6 volúmenes de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1 v/v). Las muestras se centrifugaron a 6,000 X g durante 5 min para separar las fases. El DNA se precipitó con 0.7 volúmenes de isopropanol a -20 °C durante toda la noche. Posteriormente se centrifugó a 13,000 x g durante 20 min. El ADN se resuspendió en 60 µL de TE y se almacenó a -20 °C hasta su análisis.

Genotipificación

Las muestras se genotipificaron utilizando 9 loci de microsatélites polimórficos descritos por Reusch et al.(1999; 2000a). Aproximadamente 50 ng del extracto crudo de ADN se amplificó en una reacción de PCR (10 µL) utilizando un termociclador (MJ Thermal-Cycler). Se utilizaron cebadores universales (M13-29) marcados con un compuesto fluorescente que se activa con luz infrarroja. Las condiciones de temperatura del PCR fueron de: 2 min de desnaturalización a 94 °C, seguido por 30 ciclos de fusión durante 15 s a 50 – 55 °C (dependiendo de cada cebador) y 30 s a 72 °C de extensión.

Los productos del PCR fueron separados en un gel de poliacrilamida (6%, Instagel) y visualizados con un secuenciador automático (4200 LI-COR). En cada gel se corrieron 40 muestras, y de 6 a 8 muestras de un estándar de tamaño previamente conocido, con las cuales se determinó el tamaño de los alelos observados para cada muestra en cada una de las poblaciones estudiadas. Las dimensiones del gel fueron de 25 cm de longitud y 0.4 mm de espesor. El gel se corrió bajo las siguientes condiciones: amortiguador 1X TBE, 1500 V, 40 Ω , 50 °C. Las imágenes capturadas de cada gel se analizaron utilizando el programa GENE Image IRTM (Licor Inc).

Análisis de Datos

Diversidad Genética

El análisis descriptivo (frecuencias alélicas, heterocigosidades observadas y esperadas) para cada locus y para todas las poblaciones fue obtenido con el programa GDA 1.0 (Lewis y Zaykin, 2001). La riqueza alélica, la cual es una calibración del número de alelos con respecto al tamaño de muestra (Petit et al., 1998), fue calculada utilizando FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001). La diversidad de Simpson (Simpson, 1949) fue utilizada para estimar clonalidad en las poblaciones. La probabilidad de observar dos individuos con genotipos multilocus idénticos en una población (P_i) fue estimada utilizando GIMLET 1.3.2 (Valieré, 2002). La prueba global para determinar desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg para cada población, fue realizada con el programa GENEPOP 3.1d (Raymond y Rousset, 1995). La significancia para todas las pruebas múltiples se fijó en 0.05, con la corrección de Bonferroni (Rice, 1989).

Estructura Poblacional

La distribución de la variación genética fue estimado mediante un análisis de varianza molecular (AMOVA; Excoffier et al., 1992), bajo el modelo de alelos infinitos (IAM) empleando el programa Arlequin 1.1. (Schneider et al., 1997). Se llevaron a cabo tres análisis diferentes de AMOVA: 1) Región Pacífico vs. Región Golfo de California; 2) Costa del Pacífico: Región Templada (EPB, BSQ) vs. Región Subtropical (LOL, LSI, BM) y 3) Golfo de California: Región Norte (CI, BC) vs. Región Sur (AG vs. BSM). En los tres análisis, la variación genética fue cuantificada utilizando cuatro niveles jerárquicos: entre regiones, entre poblaciones dentro de regiones, entre individuos dentro de poblaciones y entre individuos. La significancia estadística de la varianza fue probada mediante permutaciones no-paramétricas (Schneider et al., 1997). La estructura genética poblacional se caracterizó mediante las frecuencias alélicas por medio de la estimación los estadísticos F (Weir y Cockerham, 1984) utilizando el programa Arlequin 1.1. (Schneider et al., 1997). Las estimaciones multilocus del número efectivos de migrantes (Nm) por generación para todas las poblaciones fueron calculadas a partir del estimador θ_{ST} (Wright, 1943; Weir y Cockerham, 1984). El Nm se define como el número de individuos que migran a una población diferente a su origen y dejan descendencia (Hartl y Clark, 1997). La significancia para todas las pruebas múltiples se fijó en 0.05, con la corrección de Bonferroni (Rice, 1989).

Para probar aislamiento-por-distancia (IBD) se aplicó la prueba de Mantel (Mantel, 1967) a los valores de las estimaciones pareadas de diferenciación genética [θ_{ST}

$/(1-\theta_{ST})]$ contra las distancias geográficas (km) entre pares de poblaciones. Las distancias geográficas entre pares de poblaciones se obtuvieron a partir de distancias a lo largo de la línea de costa. Las poblaciones del Pacífico se analizaron por separado de las del Golfo de California. La prueba de Mantel, se realizó mediante el programa IBD 1.4 (Bohonak, 2002) utilizando 3000 iteraciones para probar el nivel de significancia de las relaciones entre las distancias genéticas y las distancias geográficas. La regresión RMA (reduce-major-axis) implementada en el programa IBD fue usada para determinar la pendiente de la regresión en las gráficas de la Región del Pacífico y del Golfo de California

Relación Genética Entre Poblaciones

Las distancias genéticas entre poblaciones se evaluaron utilizando la distancia cordada (D_{CE}) de Cavalli-Sforza (1967). Se construyó un fenograma para visualizar la relación genética entre las poblaciones mediante el algoritmo del vecino más cercano (Neighbour-Joining, NJ; (Saitou y Nei, 1987) utilizando el programa J. Cornuet (INRA, Laboratoire de Neurobiologie comparee des invertebrés, Bures-surYvette, France). La robustez de la topología del árbol se basó en 3000 iteraciones. La población de Bahía Yaquina, Newport, Oregón (EUA) fue utilizada como grupo de referencia.

RESULTADOS

Análisis de Datos

Diversidad Genética

Los nueve loci de microsatélites analizados mostraron altos niveles de polimorfismo en todas las poblaciones de *Z. marina* estudiadas. El número total de alelos detectados por locus varió de 8 (CT-19) a 20 (CT-20) y el número promedio de alelos por locus por población (diversidad alélica observada) varió de 3.8 en BM a 8.4 en CI (Tabla V). La riqueza alélica, varió de 3.5 en BSM a 6.7 en AG. Se encontraron alelos privados en todas las poblaciones con excepción de BM. La población que mostró el mayor número de alelos privados fue CI (8) (Tabla IV). Todas las poblaciones mostraron una nula diversidad clonal ($P_d = 0$), con excepción de BSM ($P_d = 0.95$). Sólo dos individuos en BSM mostraron genotipos idénticos en los nueve loci; consecuentemente uno de estos individuos fue eliminado de los análisis posteriores. La probabilidad de observar genotipos idénticos multilocus entre dos individuos muestreados a partir de una población (P_i) varió entre $1/34,2000$ (BM) a $1/281,000,000$ (BC). Las comparaciones pareadas de las frecuencias alélicas para los nueve loci estudiados mostraron diferencias significantes entre todas las poblaciones de *Z. marina* excepto para BC-CI, ambas poblaciones del Golfo de California. La heterocigosidad esperada promedio (H_E) varió de 0.48 en BSM a 0.68 en AG, y la heterocigosidad observada promedio (H_O) varió de 0.44 en BSM a 0.62 en AG y BM (Tabla V). La prueba global para determinar deficiencia de heterocigotos mostró una significativa desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) solamente para BSM ($P = 0.0002$) debido a una deficiencia significativa de heterocigotos en 3 loci

(CT-20, GA-1 y GA-3). De los nueve loci analizado, solamente CT-12 estuvo fuera del equilibrio de HW ($P < 0.005$) sólo para la población de BSQ. La heterocigosidad esperada promedio fue mayor pero no significativa ($P > 0.05$) en las poblaciones anuales del Golfo de California (excluyendo BSM) con respecto las poblaciones perennes del Pacífico. La prueba exacta entre las 324 comparaciones pareadas posibles demostró que solamente tres casos (CT-3 – CT-20 en BM y CI y GA-2 –GA-3 en BM) estuvieron en desequilibrio ligado ($P < 0.005$). La prueba global para todas las poblaciones, para los 36 pares de loci, fue solamente significativa entre CT-3 y CT-20 ($P < 0.005$).

Estructura Poblacional

El análisis AMOVA jerárquico, mostró que el 15.9% ($\theta_{CT} = 0.16$; $P < 0.005$) de la variación genética se atribuye a las variaciones entre las regiones biogeográficas (costa del Pacífico vs. Golfo de California), mientras que el 13.0% ($\theta_{SC} = 0.15$; $P < 0.005$) de la varianza es explicada por las diferencias genéticas entre poblaciones (Tabla V). Por otro lado, la proporción de la variación genética entre la Región Templada y la Región Subtropical en la costa del Pacífico no fue significativa (3.1%, $\theta_{CT} = 0.03$; $P > 0.005$); (Tabla VI). Así también, la variación genética fue no significativa (3.2%, $\theta_{CT} = 0.03$; $P > 0.005$) entre las poblaciones anuales de la Región Norte y la Región Sur del Golfo de California (Tabla VI). En contraste, la variación entre poblaciones dentro de regiones fue significativa tanto para las poblaciones del Pacífico (18.3%, $\theta_{SC} = 0.19$; $P < 0.005$) como las del Golfo de California (7.7%, $\theta_{SC} = 0.08$; $P < 0.005$)

La diferenciación genética (θ_{ST}) entre pares de poblaciones estimada varió entre 0.03 a 0.37 (Tabla VII). Todas las comparaciones pareadas entre las poblaciones de la costa del Pacífico fueron significativamente diferentes de cero ($P < 0.005$). Los valores más grandes se registraron entre el par de poblaciones de BSM–LSI y BSM–BM ($\theta_{ST} = 0.37$). Aunque las poblaciones del Golfo de California fueron también significativamente diferentes de cero, ellas mostraron consistentemente valores menores con respecto a las poblaciones del Pacífico ($\theta_{ST} = 0.03$ a 0.17 ; Tabla VII). Las estimaciones del número de migrantes entre poblaciones de *Z. marina* del Golfo de California fue mayor ($Nm^{\theta} = 2.3$) que entre las poblaciones de la costa del Pacífico ($Nm^{\theta} = 0.98$). Los valores pareados de Nm^{θ} mostraron que el mayor número de migrantes fue entre las poblaciones del Golfo de California (CI – AG = 7.0). En contraste, el menor número de migrantes fue entre las poblaciones de la costa del Pacífico - Golfo de California (i.e. BSM –BM; $Nm^{\theta} = 0.4$).

La prueba de aislamiento-por-distancia (Mantel, 1967) no detectó una correlación significativa entre la distancia genética [$(\theta_{ST}/1-\theta_{ST})$] y la distancia geográfica (km) en las poblaciones de *Z. marina* a lo largo de la costa del Pacífico (θ_{ST} : $r^2 = 0.13$, $P > 0.05$) (Fig. 23). En contraste, la misma prueba mostró una correlación significativa entre θ_{ST} y la distancia geográfica (km) entre las poblaciones del Golfo de California (θ_{ST} : $r^2 = 0.33$, $P < 0.05$; Fig. 19). Aunque el valor de la pendiente de la grafica de aislamiento-por-distancia de las poblaciones del Pacífico ($m = 1.976 e^{-4}$) fue mayor que la pendiente para las poblaciones del Golfo de California ($m = 2.760 e^{-4}$), la diferencia no fue significativa (95% CI: $4.701 e^{-5} - 3.483 e^{-4}$ vs $-3.83 e^{-5} - 5.90 e^{-4}$, respectivamente).

Relación Genética entre Poblaciones

Las menores distancias genéticas pareadas (D_{CE}) se encontraron entre las poblaciones del Golfo de California (BC – CI: 2.6; datos no mostrados). La mayor distancia genética se encontró entre una población de la costa del Pacífico y del Golfo de California (LSI – BSM: 5.9; datos no mostrados). El fenograma obtenido a partir del algoritmo NJ y basado en la distancia de Cavalli-Sforza (D_{CE}) mostró dos agrupamientos principales (Fig. 24). Un agrupamiento se encuentra compuesto por las poblaciones del Pacífico (perennes), y otro formado por las poblaciones del Golfo de California (anuales). Esta relación está soportada por el 100% de las iteraciones.

Tabla IV. Valores de diversidad genética y estimaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) en *Zostera marina* de la costa del Pacífico (EPB, BSQ, LOL, LSI y BM) y el Golfo de California (BC, CI, AG y BSM).

Población	A	RA	AP	H _E	H _O	H-W (P)
Estero Punta Banda (EPB)	5.7	5.1	1	0.58	0.54	n.s.
Bahía San Quintín (BSQ)	5.3	4.6	1	0.52	0.48	n.s.
Laguna Ojo de Liebre (LOL)	6.2	6.1	3	0.64	0.60	n.s.
Laguna San Ignacio (LSI)	4.5	4.2	1	0.55	0.57	n.s.
Bahía Magdalena (BM)	3.8	3.7	0	0.55	0.62	n.s.
Bahía Concepción (BC)	4.9	4.3	3	0.50	0.48	n.s.
Canal del Infiernillo (CI)	8.4	6.3	8	0.61	0.61	n.s.
Bahía Agiabampo (AG)	7.2	6.7	4	0.68	0.62	n.s.
Bahía Santa María (BSM)	4.1	3.5	2	0.48	0.44	*
Promedio	5.6	7.6	2.6	0.57	0.55	n.s.

A, Número promedio de alelos; RA, Riqueza Alélica; AP, Alelos Privados; H_O, Heterocigosidad observada, H_E, Heterocigosidad esperada (Nei 1987). *, P < 0.005, Corrección de Bonferroni aplicada; n.s., no significante.

Tabla V. Análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico basado en nueve loci de microsatélites de *Zostera marina*, entre la Región de la costa del Pacífico (EPB, BSQ, LOL, LSI, BM) y la Región del Golfo de California (CI, BC, AG, BSM).

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Componente de la varianza	% Variación	Índices de Fijación	Significancia (P)
Entre regiones	1	0.55	15.9	$\theta_{CT} = 0.16$	*
Entre poblaciones dentro regiones	7	0.45	13.0	$\theta_{SC} = 0.15$	*
Entre individuos dentro de poblaciones	321	0.05	1.4	$\theta_{IS} = 0.02$	ns
Individuos	330	2.40	69.7	$\theta_{IT} = 0.30$	*

Calculado con la opción de número de alelos diferentes en Arlequin 1.1
n.s., no significante; *, $P < 0.005$

Tabla VI. Análisis de varianza molecular (AMOVA) jerárquico basado en loci de microsátelites de *Zostera marina*. (a) Entre la Región Templada (EPB, BSQ) y la Región Subtropical (LOL, LSI, BM) de la costa del Pacífico de Baja California; (b) Entre la Región Norte (CI, BC) y la Región Sur (AG, BSM) del Golfo de California

	Fuente de Variación	Grados de Libertad	Componente de la varianza	% Variación	Índices de Fijación	Significancia (P)
	Entre Regiones (Templada vs. Subtropical)	1	0.10	3.1	$\theta_{CT} = 0.03$	ns
(a) Costa del Pacífico	Entre poblaciones dentro de regiones	3	0.06	18.3	$\theta_{SC} = 0.19$	*
	Entre individuos dentro de poblaciones	153	0.01	0.3	$\theta_{IS} = 0.00$	ns
	Individuos	158	2.44	78.3	$\theta_{IT} = 0.22$	*
	Entre Regiones (Norte vs. Sur)	1	0.09	3.2	$\theta_{CT} = 0.03$	ns
(b) Golfo de California	Entre poblaciones dentro de regiones	2	0.21	7.7	$\theta_{SC} = 0.08$	*
	Entre individuos dentro de poblaciones	168	0.09	3.1	$\theta_{IS} = 0.04$	*
	Individuos	172	2.36	85.9	$\theta_{IT} = 0.14$	*

Calculado con la opción de número de alelos diferente en Arlequin 1.1
n.s.; no significativo; *, $P < 0.005$

Tabla VII. Matriz de comparaciones pareadas de los valores de θ_{ST} entre poblaciones perennes de *Zostera marina* de la costa del Pacífico (EPB, BSQ, LOL, LSI y BM) y el Golfo de California (BC, CI, AG y BSM)

	BSQ	LOL	LSI	BM	BC	CI	AG	BSM
EPB	0.16							
BSQ	0.12	0.22						
LOL	0.16	0.24	0.15					
LSI	0.21	0.28	0.21	0.24				
BM	0.28	0.34	0.30	0.32	0.32			
BC	0.24	0.28	0.22	0.25	0.28	0.04		
CI	0.20	0.26	0.19	0.23	0.27	0.09	0.03	
AG	0.33	0.35	0.33	0.37	0.37	0.17	0.14	0.13

Todos los valores son significativamente diferentes ($P < 0.005$; corrección de Bonferroni)

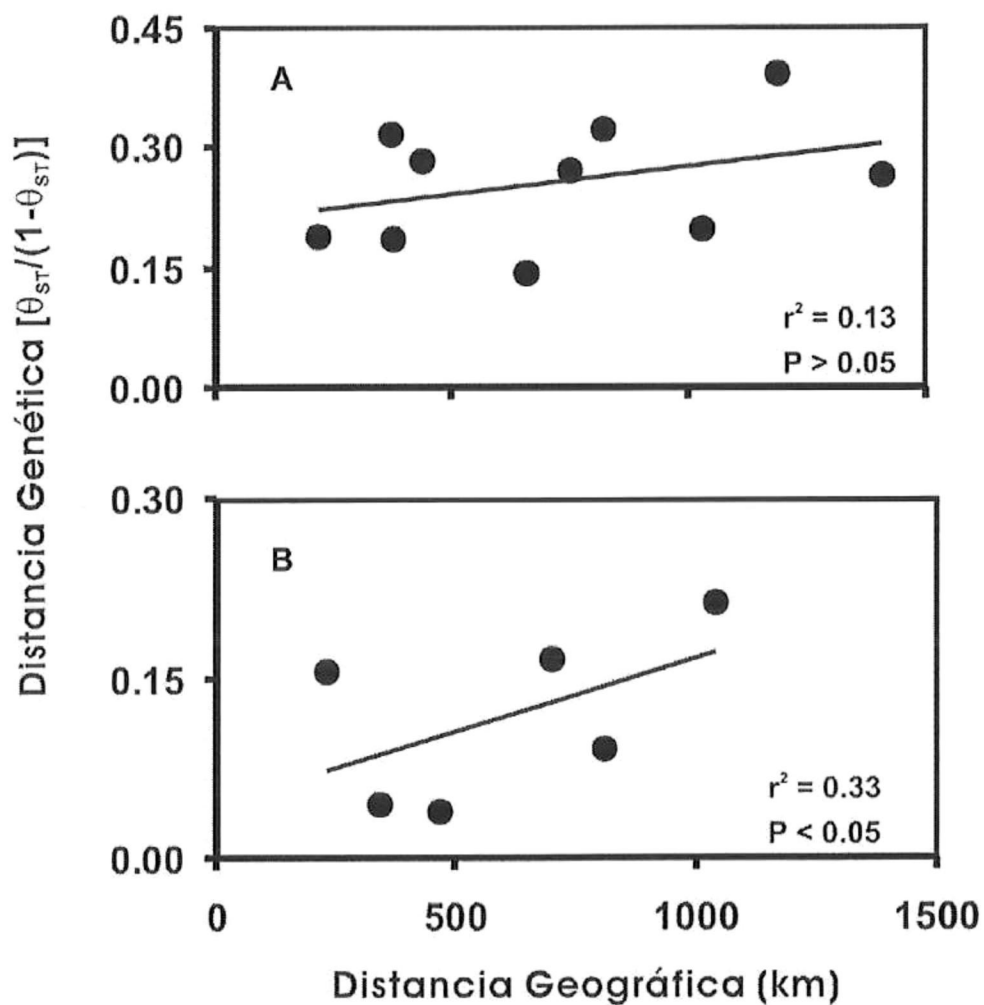


Figura 23. Relación entre la distancia genética (θ_{ST}) y la distancia geográfica entre poblaciones de *Zostera marina*, a lo largo de patrones de corrientes. (A) Poblaciones de la costa del Pacífico: $r^2 = 0.13$, $P > 0.05$. (B) Poblaciones del Golfo de California: $r^2 = 0.33$, $P < 0.05$.

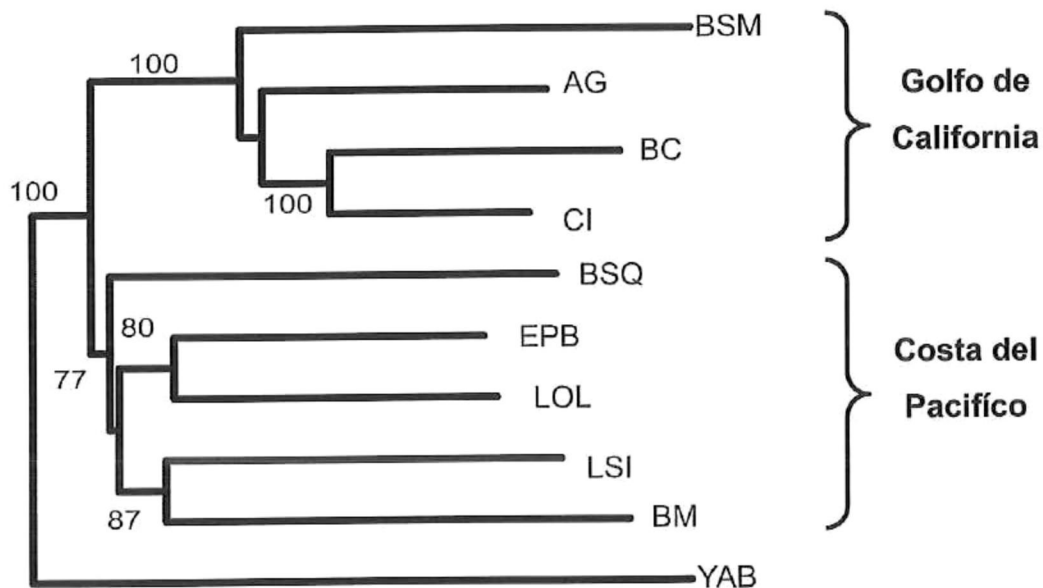


Figura 24. Relación genética entre loci de microsatélites de *Zostera marina* de las poblaciones de la costa del Pacífico y del Golfo de California. La construcción del fenograma se obtuvo a partir del algoritmo del vecino más cercano (Neighbour-Joining; NJ) y en base a la distancia genética de Cavalli-Sforza (D_{CE}). La longitud de las ramas refleja la distancia genética y los números en los nodos indica los valores del remuestreo $>50\%$ (3000 iteraciones). La población de Bahía Yaquina (YAB), Oregón, EUA, fue usada como grupo de referencia.

DISCUSIÓN

Las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico y del Golfo de California muestran diferencias biológicas significantes tales como historias de vida, fenología, y morfología (Meling-López y Ibarra-Obando, 1999; Poumian-Tapia y Ibarra-Obando, 1999; Cabello-Pasini et al., 2003a; Cabello-Pasini et al., 2004). Las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico son perennes con reproducción principalmente clonal, mientras que las poblaciones del Golfo de California son anuales con reproducción exclusivamente sexual (Phillips, 1983; Phillips y Backman, 1983; Meling-López y Ibarra-Obando, 1999). En este estudio, tanto el análisis de AMOVA como el de las relaciones genéticas entre loci de microsatélites, mostraron que las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico son genéticamente diferentes de las poblaciones del Golfo de California. El fenograma de relación genética entre poblaciones, muestra a las poblaciones del Pacífico y del Golfo de California en grupos diferentes. Estos resultados son consistentes con el aislamiento geográfico que existe entre estas poblaciones. Además, la reproducción sexual en las poblaciones de *Z. marina* del Golfo de California ocurre durante invierno-primavera (Meling-López y Ibarra-Obando, 1999; Santamaria-Gallegos et al., 2000), mientras que en las poblaciones de la costa del Pacífico sucede en primavera-verano (Meling-López y Ibarra-Obando, 1999; Varela-Valencia, 2001; Cabello-Pasini et al., 2003a). Este retraso en el tiempo del desarrollo de las flores indica que la fertilización entre-regiones no es posible. Los resultados de este estudio sugieren que la disimilitud en la historia de vida de *Z. marina* contribuye a la diferenciación genética entre regiones. En conjunto, esta información sugiere que es poco probable que se realice un efectivo flujo genético entre las poblaciones de la Región del Pacífico y las del Golfo de California,

debido a esto las poblaciones de *Z. marina* se consideran genética, fenológica y geográficamente aisladas.

Existe evidencia de que la historia de vida de los pastos marinos es un factor importante la cual dicta el nivel de diversidad genética entre poblaciones (Waycott, 1995; Procaccini y Mazella, 1998; Reusch, 2001, 2002). Reusch (2002) encontró que las poblaciones perennes (reproducción clonal) de *Z. marina* del Mar Báltico mostraron una menor diversidad genética con respecto a las poblaciones anuales (reproducción sexual) del Mar de Wadden. Análogamente, el tamaño efectivo poblacional (N_e) en las poblaciones perennes fue menor que en las poblaciones anuales. En las poblaciones perennes, se espera que la reproducción clonal genere un menor N_e , debido a que existe un menor número de genotipos localizados dentro de un vecindario genético que contribuyan la variación genética (Wright, 1943). Similar a lo reportado por Reusch (2002), nuestros resultados indican que las poblaciones perennes de la costa del Pacífico muestran una menor diversidad genética que las poblaciones del Golfo de California (excluyendo BSM). Aunque valores de N_e a partir de microsatélites solo son disponibles para poblaciones europeas de *Z. marina* (Reusch et al., 1999; Reusch, 2001), la mayor parte de los pastos marinos muestran estrategias reproductivas similares que las de *Z. marina* (clonal vs. sexual) (Hemminga y Duarte, 2001). Consecuentemente, se podría esperar que poblaciones anuales de pastos marinos con reproducción principalmente sexual muestren un N_e y una diversidad genética mucho mayor que poblaciones con reproducción clonal. Similar a las poblaciones de pastos marinos, poblaciones de algas

marinas en el Golfo de California muestran ciclos de vida anual (Pacheco-Ruiz et al., 1992; Pacheco-Ruiz y Zertuche-González, 1996; Cabello-Pasini et al., 2003b). Debido a lo anteriormente explicado, se puede esperar que poblaciones anuales de algas marinas muestren valores mayores de N_e y de diversidad genéticas que aquellas poblaciones perennes.

El Golfo de California es un mar marginal (≈ 1500 km de largo y ≈ 200 km de ancho) donde el intercambio de aguas superficiales entre el Golfo y el Pacífico solo se presenta en la boca del Golfo por medio de una circulación ciclónica (Castro et al., 2000). Además, la mayor parte del agua superficial que entra al Golfo de California, es Agua Superficial Tropical, que fluye hacia el norte proveniente del Ecuador a lo largo del continente y en menor proporción proviene de la Corriente de California (Collins et al., 1997). Por otro lado, el Golfo de California muestra un alto número de especies endémicas lo que indica que la región representa un espacio aislado (Briggs, 1974). Algunos estudios biogeográficos demuestran que existe un bajo porcentaje de especies compartidas entre la costa del Pacífico y la del Golfo de California (Lünning, 1990; Correa-Sandoval y Rodríguez-Cortés, 1998). Además, el análisis de AMOVA muestra que existe una significativa partición de la varianza en poblaciones de peces (Terry et al., 2000; Stepien et al., 2001) y mamíferos marinos (Schramm-Urrutia, 2002) entre la costa del Pacífico y el Golfo de California. Nuestros resultados son consistentes con estos estudios y apoyan la hipótesis de que las poblaciones de *Z. marina* del Golfo de California están geográfica y fenológicamente aisladas de las de la costa del Pacífico. En conjunto,

estos resultados confirman que grandes barreras como la península de Baja California, limitan el flujo genético entre especies de plantas y animales marinos entre regiones.

Las poblaciones perennes de *Z. marina* a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California están expuestas a un amplio intervalo de irradiancias y temperaturas lo cual promueven diferencias significativas en su morfología, composición bioquímica y distribución vertical (Cabello-Pasini et al., 2003a; Cabello-Pasini et al., 2004). El norte de la península de Baja California se caracteriza como una Región Templada, influenciada por eventos recurrentes de surgencia mientras que en el sur de la península llega Agua Superficial Ecuatorial, caracterizada por altas temperaturas (Castro et al., 2000). En este estudio se detectó que también existen niveles significativos de diferenciación genética (valores θ_{ST}) y un bajo número de migrantes (Nm^{θ}) entre poblaciones de *Z. marina* a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California. Estas poblaciones están discontinuamente distribuidas y la distancia entre poblaciones varía de aproximadamente 220 - 1100 km de línea de costa. La Corriente de California fluye en dirección neta hacia al sur a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California con una velocidad promedio de 12 cm s^{-1} (Lynn y Simpson, 1987), lo que indica que la polinización entre-lagunas y la dispersión de semillas puede seguir solo un patrón unidireccional (norte a sur). Sin embargo, Orth (1994) encontró que, aún en áreas con corrientes de mareas de 50 cm s^{-1} , la mayor parte de las semillas de *Z. marina* no son transportadas más de 2 metros del origen. Así también, la proporción de los granos de polen de *Z. marina* decae a menos del 10% dentro de los primeros 15 m de la fuente de expulsión (Ackerman, 1986; Ruckelshaus,

1996). Sin embargo, es importante considerar la posibilidad de flujo genético a lo largo de la costa del Pacífico por medio de la dispersión de haces reproductivos. Una prueba de asignación de paternidad aplicada a las poblaciones del Mar Báltico, sugirió que el material de deriva el cual transportaba 2500 semillas m^{-2} provenía de una población de 1 – 5 km de distancia. Aunque la dispersión de haces reproductivos con semillas es de dos a cuatro veces mayor que la dispersión del polen y de las semillas, la distancia mínima entre las poblaciones de *Z. marina* a lo largo del Pacífico es de por lo menos 220 km, lo cual es mucho mayor que la distancia de dispersión por haces encontrada por Reusch (2001). En conjunto, estos resultados indican que las poblaciones de *Z. marina* a lo largo de la costa del Pacífico están efectivamente aisladas de entre sí, con mínimo o nulo flujo genético entre ellas.

Algunos estudios sugieren que los límites genéticos dentro de las especies pueden coincidir con límites biogeográficos reconocidos (Avice, 1994; Dawson, 2001). Por ejemplo, las poblaciones del pez de arrecife *Girella nigricans*, mostró una partición significativa de la varianza entre la Región Templada y la subtropical a lo largo de la costa del Pacífico de Baja California (Terry et al., 2000). A pesar de que las poblaciones perennes de *Z. marina* mostraron una estructura genética significativa a lo largo de la costa de la costa del Pacífico de Baja California, estas no mostraron una diferenciación genética significativa entre la Región Templada y subtropical de la península. Por otro lado, la distancia genética entre las poblaciones a lo largo de la costa del Pacífico no estuvo correlacionada positivamente con la distancia geográfica. Estos resultados puede ser debido a dos causas: (1) Que existan diferentes patrones de conectividad a lo largo de la

costa del Pacífico dentro de cada región biogeográfica o (2) Que la diferenciación genética entre estas poblaciones suceda en una escala mucho más amplia. Palumbi (1997), encontró que los niveles altos de divergencia genética entre poblaciones de erizos del Pacífico solo se hallaron en escalas geográficas muy grandes (>5000 km). Si lo anterior es verdad, entonces el flujo genético en los pastos marinos podría ser mucho mayor de lo que se ha sugerido, o bien de que las poblaciones han divergido recientemente, sin tener suficiente tiempo para construir una estructura genética.

En contraste a las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico de Baja California, el alto número de migrantes estimados (Nm) en esta investigación, sugieren un efectivo flujo genético entre las poblaciones del Golfo de California. Este flujo genético efectivo puede ser generado por las fuertes corrientes de marea las cuales pueden superar los 100 cm s^{-1} (Badan-Dagon et al., 1991) lo cual puede dispersar rápidamente el polen, las semillas o los haces sueltos a áreas remotas del Golfo de California. Durante la época de germinación, millones de frutos (semillas y cotiledón) de *Z. marina* flotan en la superficie y son transportados sobre la superficie por las fuertes corrientes dentro del Golfo de California (ACP, observación personal). Por otro lado, Santamaría-Gallegos et al. (2000) reportaron que aproximadamente el 25% de las semillas de *Z. marina* en una población del Golfo de California, fueron dispersadas en el momento de su expulsión y que solo un bajo porcentaje permanecieron en la misma pradera. Santamaría-Gallegos et al. (2000) mencionan que las fuertes corrientes de marea reportadas en este sitio, son la causa principal de la dispersión de las semillas. Reush (Reusch, 2002) sugirió que la combinación de corrientes de mareas vigorosas y la alta producción de semillas en las

poblaciones de *Z. marina* del Mar Wadden propician un alto flujo genético entre ellas. Dichas poblaciones se encuentran separadas de 12 – 42 km entre sí. Sin embargo, nuestros resultados, sugieren que el flujo actual y la fuerte mezcla observada en el Golfo de California, pudieran dispersar el polen, las semillas y los haces reproductivos cientos de kilómetros, generando así un alto flujo genético. Otra posible fuente de dispersión de semillas dentro del Golfo de California puede ser por medio de aves marinas. Por ejemplo, las siguientes especies de aves, *Anas acuta*, *A. platyrhynchos* y *Aythya valisineria*, se alimentan de semillas de *Z. marina* (Figuerola y Green, 2002; Figuerola et al., 2003; Wyllie-Echeverria y Ward, observaciones no publicadas). Lo más importante es que, un gran número de estas aves llegan anualmente a las bahías del Golfo de California cuando las semillas apenas han sido producidas (Kramer y Migoya, 1989). Por lo tanto, la mezcla de las reservas genéticas puede ser incrementada por medio de la dispersión de semillas a través de las aves. El análisis de AMOVA en este estudio, indicó que la cantidad de varianza genética entre las poblaciones de *Z. marina* del norte del Golfo de California (BC, CI) y las del sur (AG, BSM) no es significativa. Lo anterior es interesante, ya que estudios genéticos recientes han revelado patrones geográficos similares. La diferenciación genética entre poblaciones continentales y peninsulares del pez *Lutjanus peru* dentro del Golfo de California es no significativa (Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003). De esta manera, se puede sugerir que el efectivo flujo genético encontrado entre las poblaciones de *Z. marina* en el Golfo de California es promovido por la migración de las aves, así como por la velocidad y los patrones de corrientes reportados a lo largo del Golfo de California.

Bajo el modelo de aislamiento-por distancia (IBD), las estimaciones del flujo genético son mayores para poblaciones cercanas, pero menores para poblaciones distantes. De esta manera, se espera que la pendiente en las graficas de IBD para las poblaciones del Golfo de California sea menor que para las poblaciones del Pacífico, a consecuencia de un mayor número de migrantes (Nm) sobre distancias similares. Sin embargo, los resultados de este estudio, muestran un patrón inverso, aunque la diferencia no fue significativa. La falta de diferenciación entre las pendientes de las graficas de IBD de las poblaciones del Pacífico y del Golfo puede ser resultado de dos procesos diferentes: (1) Diferencias en los patrones de dispersión entre las regiones. El modelo IBD asume que las especies se encuentran distribuidas continuamente y que la relación entre la dispersión genética y la distancia es constante en toda su distribución (Slatkin, 1993). Sin embargo, las poblaciones del Golfo de California están sujetas a una fuerte mezcla generada por giros hidrodinámicos con dimensiones horizontales y sentido de rotación variable a lo largo del año (Figueroa et al., 2003; Marinone, 2003; Gutiérrez et al., 2004) lo cual hace difícil la estimación del flujo neto de la dispersión de los propágulos. En contraste, la dispersión de los propágulos entre las poblaciones del Pacífico, está sujeta a una corriente (Corriente de California) con un flujo neto unidireccional (Lynn y Simpson, 1987). De esta manera, aunque la cantidad de propágulos es mayor en el Golfo que en el Pacífico, el patrón de dispersión es muy diferente entre regiones, por lo que no pueden ser comparadas. (2) Tasas de mutación. Aún cuando se desconoce la tasa de mutación de los microsatélites empleados en este estudio, en general los microsatélites presentan altas tasas de mutación (Weber y Wong, 1993). A altas tasas de mutación, las diferencias en los alelos empiezan a saturarse y se incrementa la sobreestimación de la cantidad de

diferencias mutacionales entre individuos en poblaciones diferentes comparadas con las diferencias entre individuos de la misma población. De esta manera, existe un sesgo que provoca que poblaciones diferentes se muestren con una mayor similitud de lo que realmente son.

Todas las poblaciones de *Z. marina* de este estudio estuvieron en equilibrio de HW, con excepción de la población de Bahía Santa María, la cual mostró una deficiencia de heterocigotos. Bahía Santa María (BSM) es una laguna costera de 50,000 Ha localizada en la costa sureste del Golfo de California. El cultivo de camarón, la agricultura y la extracción de sal son las principales actividades comerciales adyacentes a esta laguna. Sin embargo, la descarga de aguas residuales provenientes de actividades industriales y domésticas han provocado un decremento en la calidad del agua (aumento en la atenuación de luz y en la eutroficación) y un incremento en las tasas de sedimentación dentro de la Bahía (Galindo-Reyes et al., 1999). Los disturbios provocados por actividades humanas tales como la reducción en la claridad del agua, el daño mecánico directo a las praderas (p.e. tráfico marítimo, pesca y maricultura) y la descarga de compuestos tóxicos a las aguas costeras son las causas principales de la pérdida y la fragmentación de las praderas de pastos marinos a nivel mundial (Short y Wyllie-Echeverria, 1996). La fragmentación y la pérdida de hábitats provoca la pérdida de diversidad genética, ya que ciertos genotipos se van perdiendo debido a la falta de adaptación a las nuevas condiciones ambientales (Alberte et al., 1994). En el último siglo, los disturbios antropogénicos han provocado la disminución drástica de las praderas de *Z. marina* en el Mar Báltico (de Jonge et al., 2000). Reusch et al. (2000) analizaron la

población de *Z. marina* que quedaba en el Mar Báltico y encontró una deficiencia significativa de heterocigotos. Por otro lado, se encontró que la diversidad genética en una población intermareal de *Z. marina* dentro de un estuario con niveles altos de disturbio fue mucho menor en comparación con una población similar, pero en un ambiente prístino (Alberte et al., 1994). En un ambiente fragmentado con migración restringida, la deriva génica, la selección natural y la mutación ocasionarán una diferenciación genética en el área. Por lo anterior, se sugiere que la desviación del equilibrio de HW causado por una deficiencia de heterocigotos en BSM puede ser debido a la fragmentación que han sufrido las praderas de *Z. marina* en esta bahía (RMS, observaciones no publicadas).

Los resultados de este estudio indican que existe una estructura genética entre las poblaciones perennes de la costa del Pacífico de Baja California y las poblaciones anuales del Golfo de California, generadas por un flujo genético limitado entre ambas regiones. La península de Baja California representa una barrera geográfica, mientras que las diferencias en la época y forma de reproducción entre las poblaciones de *Z. marina* representan una barrera fenológica. Además las diferencias en los patrones de corrientes, en los niveles de temperatura y en los de irradiancia entre el Golfo de California y la costa del Pacífico, así como la barrera geográfica y fenológica pueden restringir el flujo genético entre otras especies de organismos marinos, para los cuales las corrientes desempeñan un papel importante en la dispersión de sus propágulos.

Capítulo V. Estructura genética de *Zostera marina* en Bahía San Quintín

RESUMEN

Bahía San Quintín (BSQ) es una laguna costera con un brazo al oeste, un brazo al este y una única boca. Cada uno de los brazos, así como el área de la boca presentan diferentes patrones de corrientes, tiempos de residencia, salinidad, temperatura y de concentración de nutrientes. Las praderas de *Z. marina* son el componente vegetal principal, con importancia económica y ecológica dentro del ecosistema de BSQ. Recientemente, un estudio mostró que la cobertura de las praderas de *Z. marina* disminuyó en un 14% en un periodo de 12 años (1987-1999). Sin embargo, se desconoce si la reducción en el tamaño de la población ha ocasionado una disminución en la diversidad genética. Así también, no se ha investigado si las características heterogéneas en los parámetros físicos de BSQ han propiciado un aislamiento genético entre las praderas de esta especie. Consecuentemente, los objetivos de este estudio fueron investigar si la población de *Z. marina* en BSQ ha sufrido recientemente un cuello de botella y determinar su estructura genética. Plantas colectadas de *Z. marina* en siete áreas a lo largo de BSQ fueron analizadas genéticamente utilizando ocho loci de microsatélites. El número total de alelos detectados por locus varió de 3 a 19 y la riqueza alélica, varió de 4.1 a 5.4. La heterocigosidad esperada y observada varió de 0.491 a 0.563 y de 0.473 a 0.547, respectivamente. Se encontró una desviación significativa del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) cuando las siete áreas se agruparon como una sola población ($P < 0.006$).

Sin embargo, cuando las áreas fueron analizadas por grupos de acuerdo a su distribución geográfica ninguna de ellas mostró estar fuera del equilibrio de HW ($P > 0.006$). Lo anterior indica que existe más de una subpoblación dentro de BSQ (Efecto Wahlund). El análisis de agrupamiento bayesiano ($K = 4$; $L_n = -2749.8$) y los valores de θ_{ST} (0.00 a 0.095) entre pares de poblaciones indican que la población de *Z. marina* en BSQ es heterogénea y puede contener por lo menos cuatro grupos diferentes. La prueba de exceso de heterocigosida, no mostro que la población de *Z. marina* en BSQ haya sufrido recientemente un cuello de botella ($P < 0.006$). Sin embargo, bajo el modelo de mutación por pasos (SMM), cinco áreas mostraron niveles de deficiencia de heterocigosidad significantes ($P < 0.006$), lo que sugiere que la población se encuentra en expansión o ha sufrido un ingreso reciente de alelos nuevos.

INTRODUCCIÓN

Un hábitat marino puede fragmentarse debido a la presencia de barreras oceanográficas (p.e. variaciones en la batimetría, canales, penínsulas, corrientes) o bien por barreras ecológicas (p.e. temperatura, salinidad, luz, nutrientes). La presencia de estas barreras disminuye la capacidad de dispersión, de migración y reproducción entre individuos de una especie (Slatkin, 1987). La limitación en el flujo genético entre poblaciones puede propiciar la formación de grupos genéticamente diferentes (estructura poblacional). En casos extremos, el aislamiento de estos organismos puede llevar a la especiación (Palumbi, 2002). El aislamiento geográfico y la diferenciación genética en especies con un amplio rango de distribución han sido demostrados. Poblaciones de mamíferos marinos, peces, corales y pastos marinos, separadas por cientos de kilómetros han demostrado que son genéticamente diferentes (Hellberg, 1994; Rocha-Olivares y Vetter, 1999; Schramm-Urrutia, 2002; Muñiz-Salazar et al., en revisión).

Así como el aislamiento genético ha sido demostrado en escalas regionales, también ha sido documentado el aislamiento a escalas locales (Burton y Feldman, 1981; Hellberg, 1994; Ruckelshaus, 1998; Bilton et al., 2002). Algunos estudios han revelado una diferenciación genética interpoblacional significativa en estuarios y lagunas costeras para diversas especies de plantas y animales (Fain et al., 1992; Williams y Orth, 1998; Bilton et al., 2002). Las lagunas costeras y estuarios representan hábitats heterogéneos, en cuya compleja dinámica intervienen factores físicos, químicos y biológicos. Bahía San Quintín (BSQ) es una laguna costera en forma de “Y”, con un brazo oeste, un brazo este y una única boca. Cada uno de los brazos, así como la área de la boca presentan diferentes

patrones de corrientes, de salinidad, de temperatura y de nutrientes (Camacho-Ibar et al., 2003). Además, el tiempo de residencia del agua en la boca es menor a 4 días, mientras que en la cabeza del brazo este, es superior a los 21 días (Camacho-Ibar et al., 1999; Hernández-Ayón et al., 2004). No obstante que presenta condiciones oceanográficas muy heterogéneas, se desconoce si estas diferencias han propiciado el aislamiento genético de las especies que habitan en este cuerpo de agua.

El componente principal en la comunidad biótica de BSQ es el pasto marino *Zostera marina*, cubriendo aproximadamente el 40% del área total de BSQ (Ward et al., 2004b). Las praderas de este pasto se distribuyen de manera discontinua a lo largo de toda la bahía y son de gran importancia ecológica y económica, ya que sirven como hábitat para una amplia variedad de especies de peces e invertebrados comercialmente importantes (Ibarra-Obando, 1989; Perez-Arteaga et al., 2002; Rosales-Casian, 2004). Asimismo, *Z. marina* es la fuente principal de alimento para decenas de miles de aves migratorias, especialmente para la Branta negra (*Branta bernicla*) que inverna en Bahía San Quintín todos los años (Reed et al., 1998). *Zostera marina* presenta polinización hidrofílica la cual se caracteriza por presentar una transportación estocástica y restringida, ya que la probabilidad de fertilización disminuye al incrementarse la distancia geográfica (De Cock, 1980; Ackerman, 1997b). Las diferencias en los tiempos de residencia del agua así como en el patrón de corrientes entre las diferentes áreas en donde habita *Z. marina* dentro de BSQ, pudieran estar actuando como barreras, generando un aislamiento genético entre las áreas y con ello la estructuración de la población.

En las última tres décadas se han registrado pérdidas significativas de las praderas de *Z. marina* a nivel mundial, como consecuencia de eventos naturales y antropogénicos (Cabello-Pasini, 1984; Fonseca et al., 1984; de Jonge y de Jong, 1992; Zimmerman et al., 1995; de Jonge et al., 1996; Moore et al., 1996; Hauxwell et al., 2003; Keser et al., 2003). La causa principal que genera la desaparición y/o la fragmentación de las praderas de *Z. marina* es la disminución de la irradiancia superficial que la planta necesita para mantener un balance de carbono positivo, provocada por la eutroficación, las actividades de dragado y la actividad pesquera en los estuarios o lagunas costeras en donde habita esta especie (de Jonge y de Jong, 1992; Zimmerman et al., 1995; Short y Wyllie-Echeverria, 1996; Griffin, 1997; Pregnall y Pregnall, 2000). En los últimos treinta años, la acuicultura del ostión *Crassostea gigas* y la pesca deportiva se han desarrollado rápidamente en BSQ, consolidándose como actividades de importancia económica para esta bahía (Aguirre-Muñoz et al., 2001). A pesar de que se menciona que el sistema de BSQ no presenta ningún desequilibrio y de que los cultivos comerciales del ostión no han causado eutroficación ni empobrecimiento de la misma (Osorno-Velázquez, 2000; Aguirre-Muñoz et al., 2001), es importante resaltar que las praderas de *Z. marina* han sufrido una disminución del 14% principalmente en las áreas submareales en un periodo de 12 años (1987-1999) (Ward et al., 2004a; Ward et al., 2004b). Sin embargo, no existen registros de la dinámica poblacional de esta especie para toda la Bahía San Quintín a lo largo del tiempo.

Cuando una especie sufre una disminución drástica de su tamaño poblacional, se genera un cuello de botella. El identificar poblaciones que han sufrido recientemente

cuellos de botella es crítico debido a que este proceso incrementa la tasa de endogamia, la pérdida de la diversidad genética y la fijación de alelos deletéreos y por lo tanto reduce el potencial adaptativo e incrementa la probabilidad de extinción de la población (Luikart y Cornuet, 1998; Young y Clarke, 2000; Goodman et al., 2001; Landergott et al., 2001). No obstante la disminución en la cobertura de las praderas de *Z. marina*, así como su importancia ecológica y económica en BSQ, aún no se han realizado estudios que estimen el nivel de diversidad genética y el grado de estructura genética que actualmente presenta *Z. marina* en este ecosistema y de esta manera contar con elementos adecuados para su conservación y manejo.

OBJETIVOS

- a) Determinar el grado de diferenciación genética dentro de la población de *Z. marina* en Bahía San Quintín
- b) Evaluar si la población de *Z. marina* en Bahía San Quintín ha sufrido un cuello de botella como consecuencia de la disminución en la cobertura de sus praderas.

MÉTODOS

Área de Estudio

Ejemplares de *Z. marina* se colectaron en siete áreas a lo largo de Bahía San Quintín (Fig. 25). Las áreas muestreadas fueron: Cabeza Oeste (A), Brazo Oeste (B), Monte Ceniza (C), Boca (D), Pedregal (E), Molino Viejo (F) y Cabeza Este (G). Las muestras de *Z. marina* fueron colectadas durante marea baja o por medio de buceo libre y la posición de cada una de las muestras fue registrada mediante un geoposicionador (GPS). En cada área de estudio se colectaron un mínimo de 16 a 26 muestras con una distancia de 100 m entre cada una ellas. Las muestras se trasladaron al laboratorio y se limpiaron de epífitas y epibiontes, se deshidrataron y se almacenaron con gel de sílice para su posterior análisis.

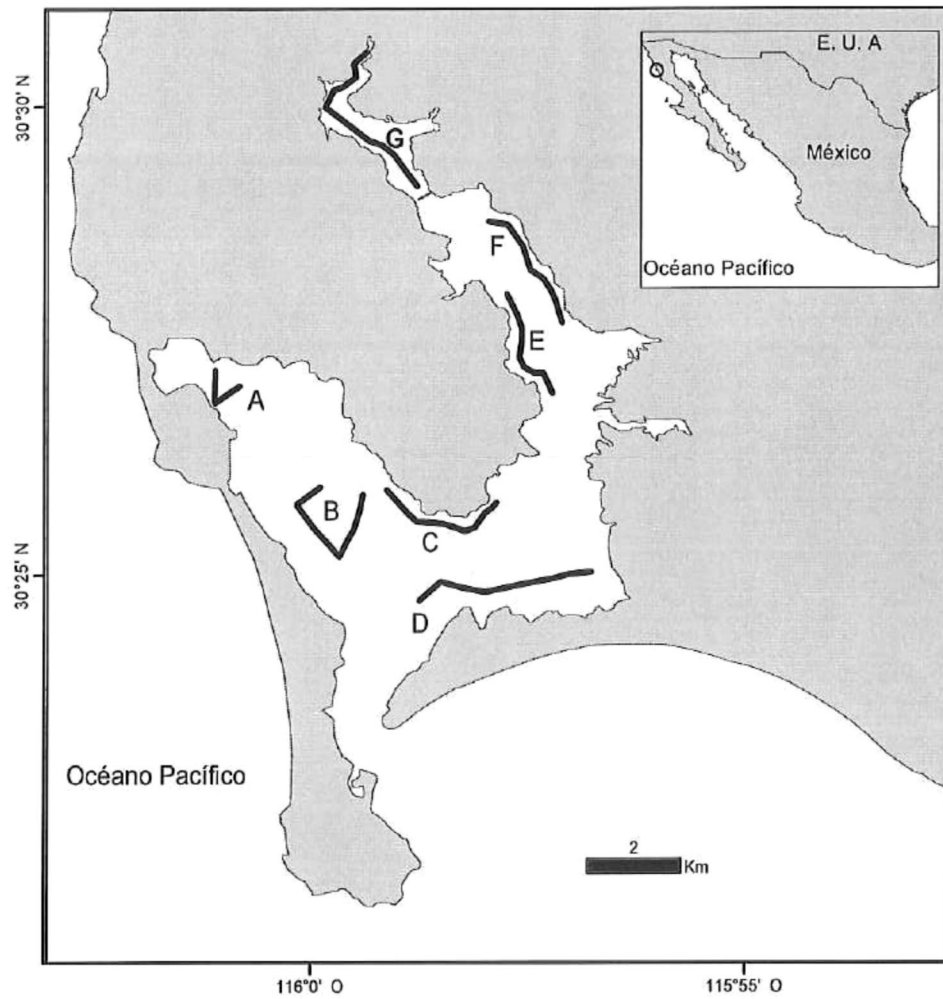


Figura 25. Localización de los sitios de colecta de *Zostera marina* para el análisis genético en Bahía San Quintín, en la costa del Pacífico de Baja California. Cabeza Oeste (A), Brazo Oeste (G), Monte Ceniza (C), Boca (D), Pedregal (E), Molino Viejo (F) y Cabeza Este (G).

Análisis Genético

Extracción de ADN

De cada muestra colectada se tomó tejido de un solo haz, el cual representó a un individuo. El ADN genómico se extrajo de aproximadamente 0.02-0.04 g de peso seco, mediante una modificación al método de CTAB/PVP descrito por Stewart & Via (1993). El tejido de hoja de *Zostera* fue triturado con hielo seco en un mortero hasta obtener un polvo fino y posteriormente se suspendió en 0.85 volúmenes de amortiguador CTAB/PVP y se incubó a 37 °C por aproximadamente 12 h. El homogenizado se extrajo con aproximadamente 0.6 volúmenes de cloroformo/alcohol isoamilico (24:1 v/v). Las muestras se centrifugaron a 6,000 X g durante 5 min para separar las fases. El DNA se precipitó con 0.7 volúmenes de isopropanol a -20 °C durante toda la noche. Posteriormente se centrifugó a 13,000 x g durante 20 min. El ADN se resuspendió en 60 µL de TE y se almacenó a -20 °C hasta su análisis.

Genotipificación

Las muestras se genotipificaron utilizando ocho loci de microsatélites polimórficos descritos por Reusch et al. (Reusch et al., 1999; Reusch, 2000a) (CT-3, CT-19, CT-20, GA-1, GA-2, GA-3, GA-4 y GA-5). Aproximadamente 50 ng del extracto crudo de ADN se amplificaron en una reacción de PCR (10 µL) utilizando un termociclador (MJ Thermal-Cycler). Se utilizaron cebadores universales (M13-29) marcados con un cromóforo fluorescente que se excita con luz infrarroja. Las condiciones de temperatura

del PCR fueron de: 2 min de desnaturalización a 94 °C, seguido por 30 ciclos de fusión durante 15 s a 50 - 55 °C (dependiendo de cada cebador) y 30 s a 72 °C de extensión.

Los productos del PCR fueron separados en un gel de poliacrilamida (6%, Instagel) y visualizados con un secuenciador automático (4200 LI-COR). En cada gel se corrieron 40 muestras, y de seis a ocho muestras de un estándar de tamaño previamente conocido, con las cuales se determinó el tamaño de los alelos observados para cada muestra en cada una de las poblaciones estudiadas. Las dimensiones del gel fueron de 25 cm de longitud y 0.4 mm de espesor. El gel se corrió bajo las siguientes condiciones: amortiguador 1X TBE, 1500 V, 40 Ω , 50 °C. Las imágenes capturadas de cada gel se analizaron utilizando el programa GENE Image IR™ (Licor Inc).

Análisis de Datos

Diversidad Genética

El análisis descriptivo (frecuencias alélicas, número de alelos privados, heterocigosidades observadas y esperadas) para cada locus fue obtenido con el programa GDA (Lewis y Zaykin, 2001). La riqueza alélica, la cual es una calibración del número de alelos con respecto al tamaño de muestra (Petit et al., 1998) fue determinada con el programa FSTAT 2.91. La prueba global para determinar desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) para cada área, fue realizada con el programa GENEPOP (Raymond y Rousset, 1995). El valor de significancia para todas las pruebas múltiples se fijó en 0.05, con la corrección de Bonferroni (Rice, 1989).

Estructura Poblacional

La estructura genética poblacional se caracterizó mediante las frecuencias alélicas por medio de la estimación de los índices de fijación de Wright (F_{ST}) utilizando el programa Arlequin 1.1. (Schneider et al., 1997). El valor de significancia para todas las pruebas múltiples se fijó en 0.05, con la corrección de Bonferroni (Rice, 1989).

Asignación Poblacional

Para deducir la estructura poblacional de *Z. marina* en BSQ y simultáneamente asignar individuos a las áreas geográficamente definidas, se utilizó el método de agrupación Bayesiano implementado en el programa STRUCTURE 1.0. Se utilizaron dos diferentes modelos, en el primer modelo se asume que todas las muestras pertenecen a una sola e hipotética “población” ($K = 1$). La probabilidad del número de poblaciones para los datos agrupados es estimado fijando valores *a priori* desde $K = 1$ hasta el máximo número de áreas geográficamente definidas ($K = 7$). Si la población hipotética se encuentra mezclada e incluye más de una subpoblación, la probabilidad de los datos agrupados se incrementará conforme aumente K (Pritchard et al., 2000). En el segundo modelo, las muestras son asignadas probabilísticamente a las poblaciones con las que comparten un mayor porcentaje de frecuencias alélicas en cada locus, o bien, son adicionadas a una o más poblaciones si los genotipos indican que dichas poblaciones se encuentran mezcladas. Se asume que las muestras pertenecen a una de las áreas geográficamente definidas. Ambos modelos asumen que los loci se encuentran en equilibrio HW y desequilibrio ligado entre los loci. Los resultados presentados en este estudio están basados en corridas de 30, 000 iteraciones.

Detección de Cuello de Botella

Se utilizó la prueba de exceso de heterocigosidad de Cornuet y Luikart (1996) para determinar si la disminución en la cobertura de las praderas de *Z. marina* en BSQ en los últimos 12 años ha generado una disminución en la diversidad genética poblacional. La heterocigosidad esperada en un locus de una población en equilibrio (*H_{eq}*) puede ser calculada a partir de la diversidad alélica y al tamaño de muestra, asumiendo neutralidad y equilibrio entre mutación-deriva. Las poblaciones que han sufrido recientemente un cuello de botella ($< 4.0 N_e$ generaciones anteriores) muestran un exceso de heterocigosidad, debido a que los alelos se pierden más rápido que la heterocigosidad durante un cuello de botella (Cornuet y Luikart, 1996; Luikart y Cornuet, 1998). Mediante el programa BOTTLENECK (Piry et al., 1997) se estimó el exceso y la deficiencia de heterocigosidad para cada locus y para todas las áreas (A-G) bajo los modelos de mutación de alelos infinitos (IAM) y el de mutación por pasos (SMM). La significancia fue estimada con la prueba estadística de Wilcoxon de una cola ($P < 0.006$).

Relación Genética entre Poblaciones

Las distancias genéticas entre las siete áreas en BSQ en donde se distribuye *Z. marina* se evaluaron utilizando la distancia cordada (*D_{CE}*) de Cavalli-Sforza (1967). Se construyó un fenograma para visualizar la relación genética entre las poblaciones mediante el algoritmo del vecino más cercano (Neighbour-Joining, NJ; (Saitou y Nei, 1987) utilizando el programa Genetix (Belkhir, 1998). El nivel de confianza de la topología del árbol se determinó con 3000 iteraciones.

RESULTADOS

Análisis de Datos

Diversidad Genética

Los ocho loci de microsatélites analizados mostraron altos niveles de polimorfismo en las siete áreas analizadas de Bahía San Quintín. El número total de alelos detectados por locus varió de 3 (CT-19) a 19 (CT-20) y el número promedio de alelos por locus por área varió de 4.5 en el área F a 6.4 en el área D (Tabla VIII). La riqueza alélica, varió de 4.1 en la área F a 5.4 en el área B. Los alelos privados estuvieron presentes en todas las poblaciones con excepción del área F, mientras que el área G mostró el mayor número de alelos privados (6) (Tabla VIII). Todas las poblaciones mostraron una nula diversidad clonal ($P_d = 0$).

La heterocigosidad esperada promedio (H_E) varió de 0.491 en el área F a 0.563 en el área B, y la heterocigosidad observada promedio (H_O) varió de 0.473 en el área F a 0.547 en el área D (Tabla VIII). La prueba global para determinar deficiencia de heterocigotos mostró una significativa desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) cuando todas las muestras se analizaron como una sola población ($P < 0.006$). Lo anterior indica que existe más de una población dentro de BSQ (Efecto Wahlund). Sin embargo, cuando las muestras fueron agrupadas en siete áreas diferentes, de acuerdo a su distribución geográfica (Fig.21), ninguna de ellas mostró estar fuera del equilibrio de HW ($P > 0.006$). Los ocho loci analizados para todas las áreas se encontraron en equilibrio de HW ($P < 0.006$). La prueba exacta entre las 196 comparaciones pareadas posibles no mostró ningún caso de loci que estuvieran en desequilibrio ligado ($P > 0.005$). La prueba

global para todas las poblaciones, para los 28 pares de loci, fue no significativa para ningún par de loci ($P > 0.005$).

Estructura Poblacional

La diferenciación genética (θ_{ST}) entre pares de poblaciones estimada varió entre 0.00 a 0.095 (Tabla IX). Los valores más altos se registraron entre las áreas más alejadas (A y G) ($\theta_{ST} = 0.095$, $P < 0.006$). Además, ambas áreas mostraron los valores más altos y significativos de θ_{ST} en relación con las áreas restantes (E-G = 0.057, A-F = 0.093; $P < 0.006$). Los valores más bajos y no significativos se encontraron entre las áreas B-C-D-E-F ($\theta_{ST} = 0.000-0.009$, $P > 0.006$; Tabla IX).

Asignación Poblacional

Los resultados del primer modelo del análisis de agrupamiento, muestra que el Ln de la probabilidad del dato fue mínimo $K = 4$ poblaciones ($Ln = -2749.8$; Tabla X). Este resultado indica que la población de *Z. marina* en BSQ es heterogénea y puede contener por lo menos 4 grupos diferentes. En el segundo modelo todas las muestras mostraron un alto valor de probabilidad de pertenecer al grupo de áreas al que fueron preasignados ($q > 0.95$; Tabla XI). Esto sugiere que es correcto el agrupamiento que se realizó con anterioridad, de acuerdo al número de grupos que se encontró con el primer modelo.

Detección de Cuello de Botella

Los resultados obtenidos a partir del programa BOTTLENECK, muestran a) Nula significancia en el exceso de heterocigosidad en los ocho loci de microsatélite, tanto en el modelo de mutación IAM como en el de SMM para las siete áreas estudiadas ($P > 0.006$); b) Bajo el modelo de SMM, cuatro áreas (A, B, C, D) mostraron una deficiencia significativa de heterocigosidad en los ocho loci de microsatélites ($P < 0.006$); c) Bajo el modelo IAM ninguna de las siete áreas mostró una deficiencia significativa de heterocigosidad ($P > 0.006$).

Relación Genética entre Poblaciones

Las menores distancias genéticas pareadas (D_{CE}) se encontraron entre las áreas E-F del brazo este de Bahía San Quintín, ($D_{CE} = 0.019$; datos no mostrados). La mayor distancia genética se encontró entre la cabeza este (A) y la cabeza oeste (G) ($D_{CE} = 0.072$; datos no mostrados). El fenograma usando el algoritmo NJ basado en la distancia D_{CE} mostró al área G como un grupo separado del resto de las otras áreas. Mientras que las áreas B, C, D, E y F, se encuentran juntas formando un grupo, el cual está soportado por el 81% de las réplicas (Fig. 26).

Tabla VIII. Valores de diversidad genética y estimaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W) en *Zostera marina* en 7 áreas diferentes de Bahía San Quintín: Cabeza Oeste (A), Brazo Oeste (B), Monte Ceniza (C), Boca (D), Pedregal (E) Molino Viejo (F) y Cabeza Este (G). BSQ, significa que todas las muestras se agruparon en una sola y única población.

Área	n	A	RA	AP	He	Ho	H-W eq.
BSQ	146	9.3	9.3	-	0.554	0.521	*
A	19	4.9	4.5	2	0.555	0.533	n.s.
B	16	5.5	5.4	4	0.563	0.526	n.s.
C	19	5.6	5.2	1	0.549	0.518	n.s.
D	26	6.4	5.3	3	0.548	0.547	n.s.
E	18	4.8	4.5	2	0.523	0.519	n.s.
F	20	4.5	4.1	0	0.491	0.473	n.s.
G	25	5.6	4.7	6	0.540	0.528	n.s.
Promedio	18	5.3	4.8	2.6	0.539	0.520	n.s.

n, Número de muestras, A, Número promedio de alelos; RA, Riqueza Alélica; AP, Alelos Privados; H_E, Heterocigosidad esperada H_O, Heterocigosidad observada (Nei, 1987). n.s.; no significativo; *, P < 0.006, corrección de Bonferroni.

Tabla IX. Matriz de comparaciones pareadas de los valores de θ_{ST} de *Zostera marina* entre siete áreas diferentes en Bahía San Quintín: Cabeza Oeste (A), Brazo Oeste (B), Monte Ceniza (C), Boca (D), Pedregal (E) Molino Viejo (F), Cabeza Este (G).

	A	B	C	D	E	F
B	0.055					
C	0.074	0.000				
D	0.069	0.000	0.000			
E	0.085	0.000	0.006	0.008		
F	0.093	0.009	0.000	0.000	0.005	
G	0.095	0.042	0.038	0.033	0.057	0.052

Valores en negrita son significativamente diferentes ($P < 0.006$; corrección de Bonferroni)

Tabla X. Probabilidad del número de poblaciones (K) para los datos agrupados de *Z. marina* en Bahía San Quintín. (Todas las muestras se mezclaron para formar una sola e hipotética población K=1).

K	Ln de la probabilidad de
1	-2760.2
2	-2766.9
3	-2829.9
4	-2749.8
5	-2755.7
6	-2769.6
7	-2763.7

Tabla XI. Proporción de la correcta asignación (q) de los individuos para los grupos propuestos a partir del método de agrupamiento Bayesiano: Grupo 1) área A; Grupo 2) área B,C,D; Grupo 3) área E,F; Grupo 4) área G

Grupo	1	2	3	4
1	0.95	0.01	0.02	0.02
2	0.01	0.95	0.02	0.02
3	0.02	0.01	0.95	0.02
4	0.00	0.01	0.01	0.98

Valores en negrita son mayores al 95% de una correcta asignación.

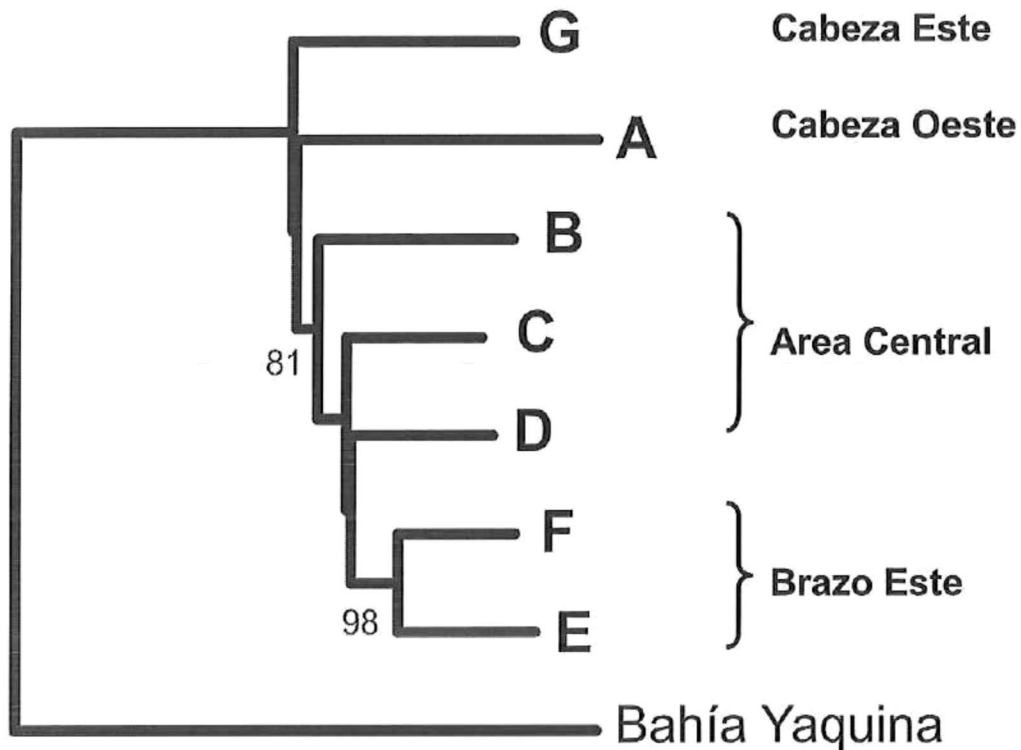


Figura 26. Relación genética entre loci de microsatélites de *Zostera marina* entre diferentes áreas en Bahía San Quintín. La distancia genética utilizada fue la de Cavalli-Sforza (D_{CE}) y el árbol fue construido mediante el algoritmo del vecino más cercano (Neighbour-Joining; NJ). La longitud de las ramas refleja la distancia genética y los números en los nodos indica los valores del remuestreo >50% (3000 iteraciones). La población de Bahía Yaquina (YAB), Oregón, EUA, fue usada como grupo de referencia.

DISCUSIÓN

La población de *Z. marina* en Bahía San Quintín (BSQ; agrupando las siete áreas) no se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg, debido a una deficiencia significativa de heterocigotos. Cuando una población muestra una deficiencia de heterocigotos observados (H_O), en relación con los esperados (H_E) bajo condiciones de equilibrio de HW, una de las razones puede ser que exista un Efecto Wahlund (Hartl y Clark, 1997). El Efecto Wahlund, se presenta cuando dos o más poblaciones divergentes se encuentran en simpatria y se muestran como si fueran una sola población. Lo anterior se confirmó mediante el análisis de agrupamiento, el cual mostró que la población de *Z. marina* de BSQ presenta una estructura genética, formada por lo menos de cuatro grupos genéticamente diferentes: Grupo 1) área A, Grupo 2) áreas B-C-D, Grupo 3) áreas E-F y Grupo 4) área G. Este agrupamiento es también consistente con los resultados encontrados mediante el análisis de diferenciación genética (θ_{ST}) y la relación filogenética poblacional. Un hábitat marino puede ser fragmentado debido a la presencia de barreras oceanográficas (p.e. variaciones en la batimetría, canales, penínsulas, corrientes) o bien por barreras ecológicas (p.e. temperatura, salinidad, luz, nutrientes) (Hedgecock, 1986). La presencia de barreras disminuye la capacidad de dispersión, de migración y reproducción entre individuos de una especie (Slatkin, 1987). Bahía San Quintín es una laguna costera con características físicas y químicas heterogéneas. La velocidad y la dirección de las corrientes, los niveles de salinidad y de temperatura presentan un gradiente horizontal, incrementándose desde el área de la boca hacia el área de la cabeza de ambos brazos (Camacho-Ibar et al., 1999, 2003). La estructura genética en la

población de *Z. marina* en BSQ puede estar relacionada con la presencia de barreras físicas y ecológicas entre las diferentes áreas en donde se distribuye esta especie.

En Bahía San Quintín, la mayor diferencia genética en *Z. marina* registrada fue entre el grupo 1 (área A) y el grupo 4 (área G). En contraste, las áreas que no mostraron una diferencia genética significativa fueron entre el grupo 2 (áreas B-C-D) y el grupo 3 (áreas E-F). La limitación en el flujo genético entre poblaciones propicia la formación de grupos genéticamente diferentes (estructura poblacional) (Wright, 1978; Weir y Cockerham, 1984; Rousset, 2000). Debido a la fisiografía y a la presencia de un espigón construido a principios del siglo pasado, el área G (cabeza del brazo este) es la más aislada geográficamente con respecto a la boca de la bahía. Este aislamiento, se ve reflejado en las menores velocidades de corrientes ($< 60 \text{ cm s}^{-1}$) y el mayor tiempo de residencia del agua ($\tau > 21$ días) que se registran en esta área (Camacho-Ibar et al., 2003). En contraste, en el área D, la cual se encuentra en la boca de la bahía, se registran las mayores velocidades de corrientes ($\approx 100 \text{ cm s}^{-1}$) y los menores tiempos de residencia del agua (1-2 días) (Camacho-Ibar et al., 2003; Mejía-Trejo, comunicación personal). La dirección y la velocidad de la corriente son críticos en la dispersión del polen y de semillas y son considerados como factores que contribuyen al aislamiento en poblaciones de pasto marinos del Pacífico y de Europa (Fain et al., 1992; Alberte et al., 1994; Procaccini y Mazella, 1998). *Zostera marina* se reproduce sexualmente mediante polinización hidrofílica. La dispersión de las semillas y el polen en *Z. marina* es promovida por la velocidad de las corrientes. Sin embargo, el polen y las semillas no se dispersan más de 15 m, aún con velocidades superiores a 100 cm s^{-1} (Ackerman, 1997b). En contraste, la dispersión de haces reproductivos fertilizados, es de dos a cuatro veces mayor que la del

polen y de las semillas (Reusch, 2000b). Considerando que la viabilidad del polen es de menos de 20 h (Ackerman, 1997b), que la distancia mínima entre las áreas en BSQ es de 5 km (F-G) y que el porcentaje de haces reproductivos de *Z. marina* en BSQ es baja (< 45%) (Meling-López, 2001; Cabello-Pasini et al., 2003a), se sugiere que el intercambio genético, ya sea por polen, semillas y haces reproductivos entre el área A (cabeza oeste) y el área G (cabeza este) se encuentra restringido y éste se realiza principalmente entre los individuos de las mismas áreas. De manera similar, esto sucede entre las áreas A y G con respecto a las áreas restantes (B a F). En cambio, el flujo genético entre las áreas B, C, D y E, F es promovido por las corrientes y las mareas en estas áreas, lo que se refleja en la ausencia de diferenciación genética entre ellas.

Los resultados de este estudio, son similares a otros estudios realizados en pastos marinos, en donde también se ha registrado estructura genética a escalas locales (Fain et al., 1992; Alberte et al., 1994; Procaccini y Mazella, 1998; Ruckelshaus, 1998; Procaccini et al., 1999). La fragmentación y la pérdida de hábitat provocada por disturbios naturales y/o antropogénicos en estuarios y lagunas costeras en donde habitan los pastos marinos han provocado la pérdida de diversidad genética, (Alberte et al., 1994; Ruckelshaus, 1998; Williams, 2001; Muñoz-Salazar et al., en revisión). No obstante que la población de *Z. marina* en BSQ reveló una estructura genética y que se ha detectado una disminución del 14% en la cobertura de las praderas de *Z. marina* en BSQ en los últimos 12 años (Ward et al., 2004b), los niveles de diversidad genética en todas las áreas ($H_E = 0.491 - 0.563$) son similares a aquellos que muestran otras poblaciones perennes de *Z. marina* del Pacífico ($H_E = 0.542 - 0.623$; (Muñoz-Salazar et al., en revisión) y de Europa ($H_E = 0.324 - 0.607$;

(Reusch et al., 2000). En este estudio, el valor más alto de diversidad genética (heterocigosidad esperada) se encontró en las plantas que habitan en la Cabeza Oeste (área A) y en la Cabeza Este (área G), mientras que el valor más bajo fue el área de Molino Viejo (área F). Estos resultados indican que la disminución en la cobertura de *Z. marina* en BSQ no ha tenido consecuencias en la diversidad genética en esta población. Sin embargo, esto no puede ser concluyente debido a que no existen registros de diversidad genética a partir de marcadores neutrales con los cuales pueda compararse los niveles actuales de diversidad genética. Por otro lado, debido a que la estructura genética en una población refleja eventos históricos (Grosberg y Cunningham, 2001), puede ser que la disminución actual en la cobertura de las praderas de *Z. marina* aún no se refleje en la diversidad genética contemporánea. La estimación de la diversidad genética y el grado de estructura en una población es de gran importancia para poder establecer criterios de conservación y de manejo de la especie (Williams y Davis, 1996; Waycott, 1998; Williams, 2001). Este es el primer estudio de caracterización genética utilizando marcadores neutrales para una macrofitas marina en BSQ.

Los resultados de este estudio no mostraron evidencia de que la población haya sufrido recientemente un cuello de botella. En ninguna de las siete áreas estudiadas no se encontró una reducción significativa en la diversidad alélica, ni tampoco un exceso de homocigosidad significativo. Por el contrario, cinco áreas (A, B, C, D, G) mostraron una deficiencia de heterocigosidad significativa bajo el modelo SMM. Sin embargo, bajo el modelo IAM ninguna de las áreas mostró una deficiencia de heterocigosidad significativa. En base al modelo SMM, estos resultados indican que las áreas (A, B, C, D, G) pueden

haber sufrido una reciente expansión en su tamaño poblacional o quizás un ingreso reciente de alelos genéticamente diferentes (Luikart y Cornuet, 1998). Es importante resaltar, que la relación entre la heterocigosidad y el número de alelos depende del proceso de mutación a la que están sujetos los marcadores de microsatélites (Luikart y Cornuet, 1998). Debido a que se desconoce a que modelo de mutación (SMM o IAM) es al que se ajustan exactamente los loci de microsatélites utilizados en este estudio, la ausencia de un cuello de botella en la población de *Z. marina* en BSQ, puede estar sesgado. Solo algunos de los loci utilizados en el presente estudio se ajustaron al modelo SMM (CT-3, CT-19, GA-2, GA-3 y GA-5; datos no mostrados), por lo que los resultados obtenidos bajo el modelo de SMM pudiera estar sesgado.

En base a las diferencias en las condiciones físicas del hábitat a lo largo de BSQ, la estructura genética y las variaciones en la diversidad genética de *Z. marina* se ve reflejada en las diferentes áreas de Bahía San Quintín. Estos resultados son importantes, ya que si existe estructura genética en *Z. marina*, la cual representa el principal componente vegetal en el ecosistema de Bahía San Quintín, entonces posiblemente también exista estructura en las poblaciones de otras especies (p.e. *Ruppia maritima*, *Ulva spp.*) que presenten una distribución geográfica o sistemas reproductivos similares a los de *Z. marina*.

Capítulo VI. Discusion General

Este estudio demuestra que las variaciones a lo largo del año en la morfología, la composición bioquímica y la fotosíntesis en plantas de *Z. marina* de la costa del Pacífico de Baja California varían de acuerdo a los cambios latitudinales y estacionales de irradiancia y temperatura durante el mismo periodo de tiempo. Las poblaciones perennes de la costa del Pacífico de Baja California mostraron un patrón estacional de biomasa similar, con un incremento en la primavera, valores máximos en el verano, una disminución en el otoño y valores mínimos en el invierno. Por otro lado, se encontró una tendencia de disminución en la morfología (longitud y ancho del haz) y en el contenido de pigmentos y de carbohidratos en las hojas de las poblaciones de *Z. marina* desde la Región Templada (BSQ) hacia la Región Subtropical (LOL, LSI).

Este estudio reveló que las poblaciones de *Z. marina* de la Región Templada (Bahía San Quintín; BSQ) y la Región Subtropical (Laguna Ojo de Liebre; LOL y Laguna San Ignacio; LSI) de la costa del Pacífico de Baja California presentan características fotosintéticas similares, pero muestran diferencias significativas en la morfología y en el contenido de pigmentos de las hojas.

Los resultados de este estudio sugieren que las plantas de *Z. marina* de BSQ al estar expuestas a un menor nivel de irradiancia incidente y un mayor nivel de turbidez del agua con respecto a las poblaciones de LOL y LSI, despliegan tres tipos de respuestas

fisiológicas para poder captar mayor cantidad de luz y así mantener tasas fotosintéticas similares a las poblaciones de LOL y LSI:

1. Colonización de áreas más someras
2. Incremento en el contenido de pigmentos de las hojas
3. Incremento del área foliar (longitud y ancho del haz)

El contenido de proteínas en las hojas de *Z. marina* tanto de la población de la Región Templada como de la Región Subtropical mostraron un incremento a lo largo del año. Algunos estudios revelan que la fisiología de algunas macrofitas marinas se ve afectada por anomalías térmicas (Gerard, 1984). El inicio de la serie de muestreo de estudio se distinguió por ser el final de un evento de El Niño caracterizado por anomalías de hasta 4 °C en la temperatura superficial. Por lo que se sugieren que los bajos niveles de proteínas en las hojas de *Z. marina* al inicio del estudio hayan sido el resultado del efecto de la anomalía térmica sobre la fisiología del pasto y/o de la disminución en la disponibilidad de nutrientes provocadas por El Niño.

Estudios previos sugieren que las plantas de *Z. marina* requieren arriba de 7 h de Hsat para mantener un balance positivo de carbono y lograr sobrevivir (Zimmerman et al., 1991; Zimmerman et al., 1995; Alcoverro et al., 1999). En este estudio se encontró que la fotosíntesis de *Z. marina* de las poblaciones de LOL y LSI reciben más de 8 h de Hsat por lo que se encuentran saturadas de luz todo el año y mantienen un balance positivo de carbono. En contraste, las plantas de BSQ, durante los meses de invierno muestran valores menores de 4 h de Hsat, lo cual indica que, durante el 15% del año las plantas de

Z. marina de BSQ se encuentran limitadas por luz por lo que su balance de carbono es negativo. Lo anterior, sugiere que un incremento de la turbidez de la columna de agua en BSQ podría disminuir la supervivencia de *Z. marina* y posiblemente la de algún otro tipo de vegetación submarina.

En las lagunas del Pacífico de Baja California, los haces reproductivos representaron un máximo del 45% del tejido vegetativo, lo cual es diferente a lo que se presenta en el Golfo de California, en donde el 100% de los haces son reproductivos (Meling-López y Ibarra-Obando, 1999; Santamaria-Gallegos et al., 2000). En el Golfo de California, la temperatura es lo que determina la presencia de haces reproductivos en la población de *Z. marina* (Meling-López y Ibarra-Obando, 1999). En contraste, este estudio demuestra que no obstante a que la variación anual de la temperatura del agua fue mayor en LOL y LSI que en BSQ, la producción de haces reproductivos, se incrementó durante el periodo de máxima irradiancia. Este resultado, apoya la hipótesis de que la densidad de haces reproductivos en la costa del Pacífico de Baja California, está regulada por la disponibilidad de luz y no por la temperatura como sucede en las poblaciones del Golfo de California. Esto indica que el esquema reproductivo perenne de las poblaciones de *Z. marina* en el límite sur de su distribución en la costa del Pacífico es similar a aquel de la Región central, y que la alta tasa de producción de haces reproductivos es característica exclusiva de las poblaciones anuales del Golfo de California.

Los resultados de este estudio muestran que las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico de Baja California, además de mostrar diferencias en su distribución

vertical, en sus características morfológicas y en su composición bioquímica, también muestran diferencias en sus características genéticas. Entre las poblaciones de *Z. marina* de la costa del Pacífico analizadas en este estudio (EPB, BSQ, LOL, LSI, BM) se encontraron niveles de diferenciación genética significativos (valores θ_{ST}) y un bajo número de migrantes (Nm^0), lo que indica que el flujo genético entre las poblaciones se encuentra restringido. En contraste, las poblaciones del Golfo de California (CI, BC, AG y BSM) mostraron un alto número de migrantes (Nm^0) lo que sugiere un flujo genético efectivo.

Las diferencias en el flujo genético entre las poblaciones de la costa del Pacífico y del Golfo de California se deben principalmente a las condiciones oceanográficas que influyen en la dispersión del polen, las semillas y los haces reproductivos. De esta manera se identifican dos tipos de flujo genético en las poblaciones mexicanas de *Z. marina* de acuerdo a la región en donde se distribuyen:

1. Costa del Pacífico de Baja California:

- a. Bajo flujo genético restringido

- i. Corriente de California con dirección neta hacia al sur y bajas velocidades de corriente
 - ii. Bajo porcentaje de haces reproductivos lo que implica que la reproducción sexual es limitada y la recombinación de las características genéticas entre poblaciones es restringida

2. Golfo de California

a. Alto flujo genético

- i. Fuertes corrientes de marea y procesos de mezcla generados por giros geostroficados
- ii. Exclusiva reproducción sexual, lo cual indica que hay una mayor cantidad de haces reproductivos, de semillas y de polen que pueden dispersarse rápidamente a áreas remotas del Golfo de California.

Este estudio muestra que el flujo actual y la fuerte mezcla observada en el Golfo de California, pueden dispersar las semillas y los haces reproductivos sobre cientos de kilómetros lo cual es tres veces mayor al flujo genético sugerido entre poblaciones europeas de *Z. marina* (Reusch, 2002).

Algunos estudios sugieren que los límites genéticos dentro de las especies pueden coincidir con límites biogeográficos reconocidos (Avice, 1994; Dawson, 2001). Sin embargo, los resultados de este estudio no mostraron una diferenciación genética significativa entre las poblaciones de la Región Templada (EPB, BSQ) y la Región Subtropical (LOL, LSI y BM) de la costa del Pacífico de Baja California, lo anterior puede ser debido a:

1. Diferentes patrones de conectividad a lo largo de la costa del Pacífico dentro de cada región climática

2. La diferenciación genética es menor que la distancia geográfica de muestreo
3. Las poblaciones han divergido recientemente, sin tener suficiente tiempo para construir una estructura genética.

Además, este estudio mostró que las poblaciones perennes de *Z. marina* de la costa del Pacífico son genéticamente diferentes a las poblaciones anuales del Golfo de California. Esta diferenciación genética entre las poblaciones de *Z. marina*, puede ser debida a un flujo genético restringido entre ambas regiones promovido por:

- 1) Diferencias en los patrones de corrientes entre la costa del Pacífico y el Golfo de California
- 2) Barrera geográfica creada por la península de Baja California
- 3) Diferencias en la época y forma de reproducción entre las poblaciones de *Z. marina*
 - a. Costa del Pacífico:
 - i. Historia de Vida: Perenne
 - ii. Época de Reproducción Sexual: Verano
 - b. Golfo de California
 - i. Historia de Vida: Anual
 - ii. Época de Reproducción Sexual: Invierno

Un aspecto relevante fue que todas las poblaciones de *Z. marina* de este estudio estuvieron en equilibrio de HW, con excepción de la población de BSM, la cual mostró una deficiencia de heterocigotos y una baja diversidad genética. De acuerdo a las características de desarrollo urbano, pesquero e industrial que presenta dicha población, se sugiere que la desviación del equilibrio de HW causado por una deficiencia de heterocigotos, puede deberse a la fragmentación y disminución que han sufrido las praderas de *Z. marina* en esta bahía. De esta manera, es importante continuar con los estudios de las características genéticas de poblaciones de pastos marinos, ya que las poblaciones fragmentadas y con niveles bajos de diversidad genética, son intrínsecamente más vulnerables a las perturbaciones ambientales, y a las oportunidades de sobrevivencia local (Wright, 1969; Harlt y Clark, 1997).

Por último, así como se encontró una estructura genética a una escala regional (Pacífico vs Golfo de California), es importante mencionar que también se encontró una estructura genética a una escala local. La población de *Z. marina* de Bahía San Quintín reveló que se encuentra formada por lo menos de 4 grupos genéticamente diferentes

1. Cabeza Oeste
2. Cabeza Este
3. Brazo Oeste-Monte Ceniza–Boca
4. Pedregal-Molino Viejo

La mayor diferencia genética entre las áreas de *Z. marina* en Bahía San Quintín fue entre el área de la Cabeza Oeste y la Cabeza Este. En contraste, las áreas que no

mostraron una diferencia genética significativa fueron entre el grupo del Brazo Oeste-Monte Ceniza–Boca y el grupo de Pedregal-Molino Viejo

La estructura genética en la población de *Z. marina* en BSQ puede estar relacionada con la presencia de barreras ecológicas y físicas entre las diferentes áreas en donde se distribuye esta especie. Debido a la fisiografía y a la presencia de un espigón, la Cabeza Este es el área más aislada, con las menores velocidades de corrientes y el mayor tiempo de residencia del agua, por lo que se sugiere que el flujo genético entre la Cabeza Este y el resto de las áreas se encuentra restringido y éste solo se realiza entre los individuos de la misma área. En contraste, en el área de la Boca se registran las mayores velocidades de corrientes y los menores tiempos de residencia del agua, por lo que el flujo genético entre esta área y las áreas vecinas, es promovido por las corrientes y las mareas, lo que se refleja en la ausencia de diferenciación genética entre estas áreas. Debido a que existe estructura genética en la población de *Z. marina* en Bahía San Quintín, se sugiere que otras poblaciones de especies marinas (p.e. *Ruppia maritima*, *Ulva* spp.) con la misma área de distribución y la misma forma de dispersión que *Z. marina* también mostrarán estructura genética.

A pesar de que se ha detectado una disminución del 14% en la cobertura de las praderas de *Z. marina* en BSQ en los últimos 12 años (Ward et al., 2004a; Ward et al., 2004b), en este estudio no se detectó evidencia de que la población haya sufrido recientemente un cuello de botella. Por el contrario se encontró evidencia de que 5 áreas pueden haber sufrido una reciente expansión en su tamaño poblacional o quizás un ingreso

reciente de alelos genéticamente diferentes. Sin embargo, es importante resaltar que debido a que se desconoce a que modelo de mutación (SMM o IAM) es al que se ajustan exactamente los loci de microsatélites utilizados en este estudio, la ausencia de un cuello de botella en la población de *Z. marina* en BSQ, puede estar sesgado. De esta manera, se sugiere utilizar loci de microsatélites que se ajusten a un modelo de mutación en particular (SMM o IAM).

Literatura citada

Ackerman JD (1986) Mechanistic implications for pollination in the marine angiosperm *Zostera marina*. *Aquatic Botany* **24**, 343-353.

Ackerman JD (1997a) Submarine pollination in the marine angiosperm *Zostera marina* (Zosteraceae). I. The influence of floral morphology on fluid flow. *American Journal of Botany* **84**, 1099-1109.

Ackerman JD (1997b) Submarine pollination in the marine angiosperm *Zostera marina* (Zosteraceae). II. Pollen transport in flow fields and capture by stigmas. *American Journal of Botany* **84**, 1110-1119.

Aguilar-Rosas R, López-Ruelas J (1985) *Halodule wrightii* Aschers (Potamogetonales: Cymodoceae) en la Bahía Topolobampo, Sinaloa, México. *Ciencias Marinas* **11**, 87-91.

Aguirre-Muñoz A, Buddemier RW, Camacho-Ibar VF, Carriquiry JD, Ibarra-Obando SE, Massey BW, Smith SV, Wulff F (2001) Sustainability of coastal resource use in San Quintin, México. *Ambio* **30**, 142 - 149.

Aguirre-VonWobeser E (2002) Regulación de la fotoinhibición de la fotosíntesis en el pasto marino *Zostera marina*. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, BC, 55 pp pp.

Alberte RS, Suba GK, Procaccini G, Zimmerman RC (1994) Assessment of genetic diversity of seagrass population using DNA fingerprinting: Implications for population stability and management. *Proceedings of the National Academic of Sciences of the USA* **91**, 1049-1053.

- Alcoverro T, Zimmerman RC, Kohrs RC, Alberte RS (1999) Resource allocation and sucrose mobilization in light-limited eelgrass *Zostera marina*. Marine Ecology Progress Series **187**, 121-131.
- Alvarado J, Galindo J, Iwadane M, Migoya R, Vázquez M (1986) Evaluación de los parámetros ambientales y su relación con la distribución y movimientos de la ballena gris *Eschrichtius robustus* Lacepede 1804 en la Laguna Ojo de Liebre, BCS, México. Ciencia Pesquera **5**, 33-49.
- Alvarez-Borrego J, Alvarez-Borrego S (1982) Temporal and spatial variability of temperature in two coastal lagoons. California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations Reports XXIII 188-197.
- Alvarez-Borrego S (1992) Temporal and spatial variation of temperature in a winter habitat of the gray whale: Ojo de Liebre Lagoon. Ciencias Marinas **18**, 151-165.
- Alvarez-Borrego S, Acosta-Ruiz MdJ, Lara-Lara JR (1977) Hidrología comparativa de las bocas de dos antiestuarios de Baja California. Ciencias Marinas **4**, 1-10.
- Awise JC (1994) Molecular Markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York. p.
- Backman TW, Barilotti DC (1976) Irradiance reduction: effects on standing crops of the eelgrass *Zostera marina* in a costal lagoon. Marine Biology **34**, 33-40.
- Backman TWH (1990) Genotypic and phenotypic variability of *Zostera marina* on the west coast of North America. Canadian Journal of Botany **69**, 1361-1371.
- Badan-Dagon A (1998) Coastal circulation from the Galapagos to the Gulf of California. In: *The Sea* 11 (ed Robinson AR, Brink KH), John Wiley and Sons, Inc, USA. 315-343 pp

- Badan-Dagon A, Hendershoot MC, Lavín MF (1991) Underway doppler current profiles in the Gulf of California. *EOS, Transactions, American Geophysical Union* **72**, 216-218.
- Barrett SCH, Eckert CG, Husband BC (1993) Evolutionary processes in aquatic plant populations. *Aquatic Botany* **44**, 105-145.
- Belkhir K (1998) *GENETIX (v 4.02)*: Laboratoire Génome et Populations, Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Bernardi G, Findley L, Rocha-Olivares A (2003) Vicariance and dispersal across Baja California in disjunct marine fish populations. *Evolution* **57**, 1599–1609.
- Bilton DT, Paula J, Bishop DD (2002) Dispersal, genetic differentiation and speciation in estuarine organisms. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* **55**, 937-952.
- Bohonak AJ (2002) IBD (Isolation by Distance): A program for population genetic analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity* **93**, 153-154.
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**, 248-254.
- Brand-Gardner SJ, Lanyon JM, Limpus CJ (1999) Diet selection by immature green turtles, *Chelonia mydas*, in subtropical Moreton Bay, south-east Queensland. *Australian Zoology* **47**, 181-191.
- Briggs JC (1974) *Marine Zoogeography*. McGraw-Hill, New York. 475 p.
- Brun FG, Hernández I, Vergara JJ, Pérez-Lloréns JL (2003) Growth, carbon allocation and proteolytic activity in the seagrass *Zostera noltii* shaded by *Ulva* canopies. *Functional Plant Biology* **30**, 551-560.

- Brusca RC (1980) Common Intertidal Invertebrates of the Gulf of California. 2nd Ed. University of Arizona Press, Tucson, AZ. 520 p.
- Bulthuis DA (1987) Effects of temperature on photosynthesis and growth of seagrasses. *Aquatic Botany* **27**, 27-40.
- Burke MK, Dennison WC, Moore KA (1996) Non-structural carbohydrate reserves of eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology* **137**, 195-201.
- Burton RS (1998) Intraspecific phylogeography across the Point Conception biogeographic boundary. *Evolution* **52**, 734-745.
- Burton RS, Feldman MW (1981) Population genetic of *Tigrippus californicus*. II. Differentiation among neighboring populations. *Evolution* **35**, 1192-1205.
- Cabello-Pasini A (1984) Transplantes de *Zostera marina* L. en el Estero de Punta Banda, Baja California, Mexico, durante el verano de 1983 y su comportamiento a través de otoño e invierno 1984. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California, Fac. Ciencias Marinas. Ensenada, 40 pp.
- Cabello-Pasini A (1996) Characterization and environmental regulation of light-independent carbon fixation in marina macrophytes. Tesis de Docotrado, State University of New York at Stony Brook, 322 pp.
- Cabello-Pasini A, Lara-Turrent C, Zimmerman RC (2002) Effect of storms on photosynthesis, carbohydrate content and survival of eelgrass populations from a coastal lagoon and the adjacent open ocean. *Aquat. Bot.* **74**, 149-164.
- Cabello-Pasini A, Muñiz-Salazar R, Ward DH (2003a) Annual variations of biomass and photosynthesis in *Zostera marina* L. along the Pacific Coast of Baja California, Mexico. *Aquatic Botany* **76**, 31-47.

- Cabello-Pasini A, Muñiz-Salazar R, Ward DH (2004) Biochemical characterization of the eelgrass (*Zostera marina*) at its southern distribution limit in the North Pacific. *Ciencias Marinas* **30**, 21-34.
- Cabello-Pasini A, Zertuche-González JA, Pacheco-Ruiz I (2003b) Photosynthesis, growth and nitrogen-uptake of competing marine macrophytes in the Gulf of California. *Botanica marina* **46**, 503-512.
- Camacho-Ibar VF, Carriquiry JD, Smith SV (1999) Bahía San Quintín, Baja California: N/P budgets within compartments in a coastal lagoon. In: *Mexican and Central American coastal lagoons systems: carbon, nitrogen and phosphorus fluxes (Regional Workshop II)* Reports and Studies No. 13 (ed Smith S, Crossland JIM, Crossland CJ), LOICZ IPO, Texel, The Netherlands. 115 pp
- Camacho-Ibar VF, Carriquiry JD, Smith SV (2003) Non-conservative P and N fluxes and net ecosystem production in San Quintin Bay, Mexico. *Estuaries* **26**, 1220–1237.
- Campbell SJ, Bité JS, Burrige TR (1999) Seasonal patterns in the photosynthetic capacity, tissue pigment and nutrient content of different developmental stages of *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta: Laminariales) in Port Phillip Bay, south-eastern Australia. *Botanica Marina*. **42**, 231–241.
- Castro R, Mascarenhas AS, Durazo-Arvizu R, Collins CA (2000) Variación estacional de la temperatura y salinidad en la entrada del Golfo de California, México. *Ciencias Marinas* **26**, 561-583.
- Cavalli-Sforza LL, Edwards AWF (1967) Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics* **19**, 233-257.

- Collins CA, Garfield N, Mascarenhas AS, Spearman MG, Rago TA (1997) Ocean currents across the entrance to the Gulf of California. *Geophysical Research* **102**, 20,927 - 920,936.
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* **144**, 2001-2014.
- Correa-Sandoval F, Rodriguez-Cortés DE (1998) Análisis de la distribución geográfica de los anomuros (Crustacea: Decapoda) del Golfo de California, México. *Journal of Biogeography* **25**, 1133-1144.
- Dawes CJ, Lawrence JM (1979) Effects of blade removal on the proximate composition of the rhizome of the seagrass *Thalassia testudinum* Banks ex König. *Aquatic Botany* **7**, 255-266.
- Dawson MN (2001) Phylogeography in coastal marine animals: A solution from California? *Journal of Biogeography* **28**, 723-736.
- De Cock A (1980) Flowering, pollination and fruiting in *Zostera marina* L. *Aquatic Botany* **9**, 201-220.
- de Jonge VN, de Jong DJ (1992) Role of tide, light and fisheries in the decline of *Zostera marina* L. in the Dutch Wadden Sea. *Netherlands Institute for Sea Research* **20**, 161-176.
- de Jonge VN, de Jong DJ, van den Bergs J (1996) Reintroduction of eelgrass (*Zostera marina*) in the Dutch Wadden Sea; review of research and suggestions for management measures. *Journal of Coastal Conservation* **2**, 149-158.

- de Jonge VN, de Jong DJ, van Katwijk MM (2000) Policy plans and management measures to restore eelgrass (*Zostera marina* L.) in the Dutch Wadden Sea. *Helgol Marine Research* **54**, 151-158.
- DenHartog C (1970) *The Seagrasses of the World*. North-Holland Publication Co., Amsterdam. 275 p.
- Dennison WC (1987) Effects of light on seagrass photosynthesis, growth and depth distribution. *Aquat. Bot.* **27**, 15-26.
- Dennison WC, Alberte RS (1985) Role of daily light period in the depth distribution of *Zostera marina* (eelgrass). *Marine Ecology* **25**, 51-61.
- Duarte C (1991) Seagrass depth limits. *Aquatic Botany* **40**, 363-378.
- Duarte C (1999) Seagrass ecology at the turn of the millenium: challenges for the new century. *Aquatic Botany* **65**, 7-20.
- Dudash MR, Fenster CB (2000) Inbreeding and outbreeding depression in fragmented populations. In: *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations* (ed Young AG, Clarke GM), Cambridge University Press, Cambridge. 36-53 pp
- Dunton KH (1994) Seasonal growth and biomass of the subtropical seagrass *Halodule wrightii* in relation to continuous measurements of underwater irradiance. *Marine Biology* **120**, 479-489.
- Durazo-Arvizu R, Baumgartner TR, Bograd S, Collins C, Campa de Guzman Sdl, García J, Gaxiola-Castro G, Huyer A, Hyrenchbach K, Loya D, Lynn RJ, Schwing FB, Smith R, Sydeman W, Wheeler PA (2001) The state of the California current, 2000-2001: A third straight La Niña year. *CalCOFI Reports* **42**, 29-60.

- Ellstrand NC, Roose ML (1987) Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *American Journal of Botany* **74**, 123-131.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**, 479 - 491.
- Fain SR, DeTomaso A, Alberte RS (1992) Characterization of disjunct populations of *Zostera marina* (eelgrass) from California: genetic differences resolved by restriction-fragment length polymorphisms. *Marine Biology* **112**, 683-689.
- Felger RS, Moser MB, Moser EW (1980) Seagrasses in Seri Indian Culture. In: *Handbook of Seagrasses Biology: An Ecosystem Perspective* (ed Phillips RC, McMillan C), Garland STPM Press, New York. 260-276 pp
- Figuerola JM, Marinone SG, Lavin MF (2003) A description of geostrophic gyres in the southern Gulf of California. In: *Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics* (ed Velasco Fuentes OU, Sheinbaum J, Ochoa J), Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 237-255. pp
- Figuerola J, Green AJ (2002) Dispersal of aquatic organisms by waterbirds: a review of past research and priorities for future studies. *Freshwater Biology* **47**, 483-494.
- Figuerola J, Green AJ, Santamaria L (2003) Passive internal transport of aquatic organisms by waterfowl in Doñana, south-west Spain. *Global Ecology and Biogeography* **12**, 427-436.
- Folk RL (1974) *Petrology of Sedimentary Rocks*. Hemphill Publishing Co., Austin, Texas. 52 p.

- Fonseca MS, Thayer GW, Chester AJ, Foltz C (1984) Impact of scallop harvesting on eelgrass (*Zostera marina*) meadows: Implications for management. *North American Journal of Fisheries Management* **4**, 286-293.
- Gagnon PS, Vadas RL, Burdick DB, May B (1980) Genetic identity of annual and perennial forms of *Zostera marina* L. *Aquatic Botany* **8**, 157-162.
- Galindo-Reyes G, Villagrana C, Lazcano-Alvarez G (1999) Environmental conditions and pesticide pollution of two coastal ecosystems in the Gulf of California, Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **44**, 280-286.
- Gerard VA (1984) Physiological effect of El Niño on giant kelp in Southern California. *Molecular Biology Letters* **5**, 317-322.
- Goodman SJ, Tamate HB, Wilson R, Nagata J, Tatsuzawa S (2001) Bottlenecks, drift and differentiation: the population structure and demographic history of sika deer (*Cervus nippon*) in the Japanese archipelago. *Molecular Ecology* **10**, 1357 - 1370.
- Gordon DM, Grey KA, Chase SC, Simpson CJ (1994) Changes to the structure and productivity of a *Posidonia sinuosa* meadow during and after imposed shading. *Aquatic Botany* **47**, 265-275.
- Goudet J (2001) *FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3)*: Institut d'Ecologie, Bâtiment de Biologie Université de Lausanne. Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>, Switzerland.
- Graiger E (1983) Calculation of energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. In: *Polarographic Oxygen Sensors* (ed Graiger E, Forstner H), Springer-Verlag, New York. 337-345 pp

- Griffin K (1997) Commercial Oyster Cultivation and Eelgrass Ecology in Tillamook Bay, Oregon. The Tillamook Bay National Estuary Project. 41 pp.
- Grosberg R, Cunningham CW (2001) Genetic structure in the sea. From populations to communities. En: *Marine Community Ecology* (ed Bertness M, Gaines SD, Hay ME), Sinauer Associates, Inc, Sunderland, Massachusetts. 61-84 pp
- Gutiérrez OQ, Marinone SG, A P-S (2004) Lagrangian surface circulation in the Gulf of California from a 3D numerical model. *Deep Sea Research Part II* **en imprenta**.
- Harlt DL, Clark AG (1997) Principles of Population Genetics. 3rd Ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA. 682 p.
- Hauxwell J, Cebrian J, Valiela I (2003) Eelgrass *Zostera marina* loss in temperate estuaries: relationships to land-derived nitrogen loads and effect of light limitation imposed by algae. *Marine Ecology Progress Series* **247**, 59-73.
- Hedgecock D (1986) Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? *Bulletin of Marine Sciences* **39**, 550-564.
- Hellberg ME (1994) Relationships between inferred levels of gene flow and geographic distance in a philopatric coral, *Balanophyllia elegans*. *Evolution* **48**, 1829-1854.
- Hemminga MA, Duarte CM (2001) *Seagrass Ecology*. Cambridge University Press, Great Britain. 299 p.
- Hernández-Ayón M, Galindo-Bect MS, Camacho-Ibar V, García-Esquivel Z, González-Gómez MA, Ley-Lou F (2004) Nutrient dynamics in the west arm of San Quintin Bay, Baja California, Mexico, during and after El Niño 1997/1998. *Ciencias Marinas* **30**, 129-142.

- Herzka SZ, Dunton KH (1998) Light and carbon balance in the seagrass *Thalassia testudinum*: evaluation of current production models. *Marine Biology* **132**, 711-721.
- Ibarra-Obando SE (1989) Las praderas de pastos marinos del Pacífico Mexicano con énfasis en *Zostera marina* Linneo. En: *Temas de Oceanografía Biológica en México* (ed de la Rosa-Vélez J, González Farias F), Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, B.C. 337 pp
- Ibarra-Obando SE, Boudouresque CF, Roux M (1997) Leaf dynamics and production of a *Zostera marina* bed near its southern distributional limit. *Aquatic Botany* **58**, 99-112.
- Ibarra-Obando SE, Camacho-Ibar VF, Carriquiry JD, Smith SV (2001) Upwelling and lagoonal ecosystems of the dry Pacific Coast of Baja California, México. In: *Coastal Marine Ecosystems of Latin America* vol. 144 (ed Seeliger U, Kjerfve B), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 315-330 pp
- Ibarra-Obando SE, Escofet A (1987) Industrial development effects on the ecology of a Pacific Mexican Estuary. *Environmental Conservation* **14**, 135-141.
- Ibarra-Obando SE, Huerta-Tamayo R (1987) Blade production of *Zostera marina* L. during the summer-autumn period on the Pacific coast of México. *Aquatic Botany* **28**, 301-315.
- Ibarra-Obando SE, Ríos R (1993) Ecosistemas de fanerógamas marinas. In: *Biodiversidad Marina y Costera de México* (ed Salazar-Vallejo SI, González NE), Com. Nal. Biodiversidad y CIQRO, México. 54-65 pp pp

- Invers O, Pérez M, Romero J (2002) Seasonal nitrogen speciation in temperate seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Journal Experimental Marine Biology Ecology* **273**, 219-240.
- Jeffrey SW, Humphrey GF (1975) New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemistry Physiology* **167**, 191-194.
- Jimenez C, Niell FX, Algarra P (1987) Photosynthetic adaptation of *Zostera noltii* Hornem. *Aquatic Botany* **29**, 217-2226.
- Johnston JA, Wesselingh RA, Bouck AC, Donovan LA, Arnold ML (2001) Intimately linked or hardly speaking? The relationship between genotype and environmental gradients in a Louisiana Iris hybrid population. *Molecular Ecology* **10**, 673-681.
- Keddy CJ, Patriquin DG (1978) An annual form of eelgrass in Nova Scotia. *Aquatic Botany* **5**, 163-170.
- Kerr EA, Strother S (1985) Effects of irradiance, temperature and salinity on photosynthesis of *Zostera muelleri*. *Aquatic Botany* **23**, 177-183.
- Keser M, Swenarton JT, Vozarik JM, Foertch JF (2003) Decline in eelgrass (*Zostera marina* L.) in Long Island Sound near Millstone Point, Connecticut (USA) unrelated to thermal input. *Journal of Sea Research* **49**, 11 – 26.
- Kirk JTO (1994) *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. 2nd Ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 509 p.
- Koch EW (2001) Beyond light: physical, geological, and geochemical parameters as possible submersed aquatic vegetation habitat requirements. *Estuaries* **24**, 1-17.

- Koch EW, Beer S (1996) Tides, light and the distribution of *Zostera marina* in Long Island Sound. *Aquatic Botany* **53**, 97-107.
- Kramer GW (1976) Winter ecology of black brant at San Quintin Bay, Baja California, Mexico. Humboldt State University, California, USA, 75 pp.
- Kramer GW, Migoya R (1989) The Pacific coast of Mexico. In: *Habitat Management for Migrating and Wintering Waterfowl in North America* (ed Smith L, Pederson R, Kaminski R), Texas Tech University Press, USA. 507-528 pp
- Ladah LB, Zertuche-González JA, Hernández-Carmona G (1999) Gigant kelp (*Macrocystis pyrifera*, Phaeophyceae) recruitment near its souther limit in Baja California after mass disappearance during ENSO 1997-1998. *Journal of Phycology* **35**, 1106-1112.
- Landergott U, Holderegger R, Kozłowski G, Schneller JJ (2001) Historical bottlenecks decrease genetic diversity in natural populations of *Dryopteris cristata*. *Heredity* **87**, 344-355.
- Lapointe BE (1981) The effects of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* v. *angustissima* (Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of Phycology* **17**, 90-95.
- Lee SY (1997) Annual cycle of biomass of a threatened population of the intertidal seagrass *Zostera japonica* in Hong Kong. *Marine Biology* **129**, 183-193.
- Les DH (1988) Breeding systems, population structure and evolution in hydrophilous angiosperms. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **75**, 819-835.
- Lewey SA, Gorham J (1984) Pigment composition and photosynthesis in *Sargassum muticum*. *Marine Biology* **80**, 109-115.

- Lewis PO, Zaykin D (2001) *Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data*. (v. 1.0): <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>.
- Lindqvist K, Lignell R (1997) Intracellular partitioning of $^{14}\text{CO}_2$ in phytoplankton during a growth season in the northern Baltic. *Marine Ecology Progress Series* **152**, 41-50.
- Lobban CS, Harrison PJ (2000) *Seaweed Ecology and Physiology*. 1st Ed. Cambridge University Press, USA. 366 p.
- Longstaff, B J, Dennison WC (1999) Seagrass survival during pulsed turbidity events: the effects of light deprivation on the seagrasses *Halodule pinifolia* and *Halophila ovalis*. *Aquatic Botany* **65**, 105-121.
- Lot-Helgueras A (1977) General status of research on seagrasses ecosystems in México. En: *Seagrass Ecosystems: A Scientific Perspective* (ed McRoy CP, Helfferich C), Marcel Dekker, New York. 233-245 pp
- Luikart G, Cornuet J (1998) Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation biology* **12**, 228-237.
- Lüning K (1990) *Seaweeds: Their Environment, Biogeography and Ecophysiology*. John Wiley & Sons, Inc., USA. 527 p.
- Lynn RJ, Simpson JJ (1987) The California Current System: The seasonal variability of its physical characteristics. *Journal of Geophysical Research* **92**, 12947-12966.
- Mantel N (1967) The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* **27**, 209-220.

- Marinone SG (2003) A three-dimensional model of the mean and seasonal circulation of the Gulf of California. *Journal of Geophysical Research* **108**, 3325.
- Marsh JA, Dennison WC, Alberte RS (1986) Effects of temperature on photosynthesis and respiration in eelgrass (*Zostera marina* L.). *Journal Experimental Marine Biology Ecology* **101**, 257-267.
- Mather R, Montgomery W, Portig A (1998) Exploitation of intertidal *Zostera* species by brent geese (*Branta bernicla* Hrota): Why dig for your dinner? In: *Proceedings-Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy* **98B**. Royal Irish Academy.
- Mazzella L, Alberte RS (1986) Light adaptation and the role of autotrophic epiphytes in primary production of the temperate seagrass, *Zostera marina* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **100**, 165-180.
- McMillan C (1978) Morphogeographic variation under controlled conditions in five seagrasses, *Thalassia testudinum*, *Halodule wrightii*, *Syringodium filiforme*, *Halophila engelmannii* and *Zostera marina*. *Aquatic Botany* **4**, 169-189.
- McMillan C (1980) Isozymes of tropical seagrasses from the Indo-Pacific and the Gulf of Mexico-Caribbean. *Aquatic Botany* **8**, 163-172.
- McMillan C (1981) Morphological variation and isozymes under laboratory conditions in *Cymodocea serrulata*. *Aquatic Botany* **10**, 365-370.
- McMillan C (1982) Isozymes in seagrasses. *Aquatic Botany* **14**, 231-243.
- Meling-López AE (2001) Estrategias adaptativas de *Zostera marina* L. en el noroeste de Mexico: Contraste entre ambientes. Tesis de Doctorado, CICESE, División de Oceanología, Departamento de Ecología. Ensenada, B.C., 125 pp.

- Meling-López AE, Ibarra-Obando SE (1999) Annual life cycles of two *Zostera marina* L. populations in the Gulf of California: contrasts in seasonality and reproductive effort. *Aquatic Botany* **65**, 59-69.
- Moore KA, Neckles HA, Orth RJ (1996) *Zostera marina* (eelgrass) growth and survival along a gradient of nutrients and turbidity in the lower Chesapeake Bay. *Marine Ecology Progress Series* **142**, 247-259.
- Muñiz-Salazar R, Talbot S, Sage KG, Ward DH, Cabello-Pasini A (en revisión) Population genetic structure of annual and perennial populations of *Zostera marina* L. along the Pacific coast of Baja California and the Gulf of California. *Molecular Ecology*.
- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. 1st Ed. Columbia University Press, New York, USA. 512 p.
- Oliveira F, Pirani JR, Giuliatti AM (1983) The brazilian seagrasses. *Aquatic Botany* **16**, 251-267.
- Orduña-Rojas J, Robledo D, Dawes CJ (2002) Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatán, Mexico. I. Seasonal physiological and biochemical responses. *Botanica Marina* **45**, 453-458.
- Ortega A, Castellanos A (1995) *Estrategia para el Manejo de la Reserva de la Biosfera El Vizcaino, B.C. S., México*. Centro de Investigaciones Biológicas de Noreste, México. 130 p.
- Orth RJ, Luckenbach M, Moore KA (1994) Seed dispersal in a marine macrophyte: Implications for colonization and restoration. *Ecology* **75**, 1927-1939.

- Osorno-Velázquez AI (2000) Impacto del cultivo de moluscos filtroalimentadores en el fitoplancton y calidad del agua de Bahía San Quintín. Tesis de Maestría, CICESE, Departamento de Ecología. Ensenada, B.C, 48 pp.
- Pacheco-Ruiz I, Zertuche-González JA (1996) Brown algae (Phaeophyta) from Bahía de los Angeles, Gulf of California, México. *Hydrobiologia* **326/327**, 169-172.
- Pacheco-Ruiz I, Zertuche-González JA, Cabello-Pasini A, Brinkhuys BH (1992) Growth responses and seasonal biomass variation of *Gigartina pectinata* Dawson (Rhodophyta) in the Gulf of California. *Journal Experimental Marine Biology Ecology* **157**, 263-274.
- Palumbi SR (2002) Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics* **25**, 547-572.
- Palumbi SR, Grabowsky G, Duda T, Geyer L, Tachino N (1997) Speciation and population genetic structure in tropical pacific sea urchins. *Evolution* **51**, 1506-1517.
- 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.
- Perez-Arteaga A, Gaston KJ, Kershaw M (2002) Undesignated sites in Mexico qualifying as wetlands of international importance. *Biological Conservation* **107**, 45-57.
- Persson HA, Gustavsson BA (2001) The extent of clonality and genetic diversity in lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) revealed by RAPDs and leaf-shape analysis. *Molecular Ecology* **10**, 1385-1397.

- Petit RJ, El Mousadik A, Pons O (1998) Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conservation Biology* **12**, 844-855.
- Phillips RC (1983) Reproductive strategies of eelgrass (*Zostera marina* L.). *Aquatic Botany* **16**, 1-20.
- Phillips RC, Backman TW (1983) Phenology and reproductive biology of eelgrass (*Zostera marina* L.) at Bahia Kino, Sea of Cortez, Mexico. *Aquat. Bot.* **17**, 85-90.
- Phillips RC, McMillan C, Bridges KW (1983) Phenology of eelgrass, *Zostera marina* L., along latitudinal gradients in Northamerica. *Aquatic Botany* **15**, 145-156.
- Piry S, Luikart G, Cornuet J-M (1997) BOTTLENECK: A program for detecting recent effective population size reductions from allele frequency data. *Journal of Heredity* **86**, 248-249.
- Podolsky RH, Holtsford TP (1995) Population structure of morphological traits in *Clarkia dudleyana* I. comparison of F_{ST} between allozymes and morphological traits. *Genetics* **140**, 733-744.
- Poumian-Tapia M, Ibarra-Obando SE (1999) Demography and biomass of the seagrass *Zostera marina* in a mexican coastal lagoon. *Estuaries* **22**, 879-889.
- Pregnall AM, Pregnall MM (2000) Long term recovery and fluctuation in an eelgrass (*Zostera marina*) population impacted by commercial oyster culture. In: *Proceedings-New England Estuarine Research Society. Block Island, Rhode Island; 2 - 4 November.*
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.

- Procaccini G, Acunto S, Fama P, Maltagliati F (1999) Structural, morphological and genetic variability in *Halophila stipulacea* (Hydrocharitaceae) populations in the western Mediterranean. *Marine Biology* **135**, 181 - 189.
- Procaccini G, Mazella L (1998) Population genetic structure and gene flow in the seagrass *Posidonia oceanica* assessed using microsatellite analysis. *Marine Ecology Progress Series* **169**, 133-141.
- Procaccini G, Ruggiero MV, Orsini L (2001) Genetic structure and distribution of microsatellite population genetic diversity in *Posidonia oceanica* in the entire Mediterranean basin. *Bulletin of Marine Sciences* **71**, 1291–1297.
- Procaccini G, Waycott M (1998) Microsatellite loci identified in the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *The Journal of Heredity* **86**, 562-568.
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP (v.1.2): Population genetics software for exact test and ecumenicism. *Journal of Heredity* **86**, 248-249.
- Reed A, Ward DH, Derksen DV, Sedinger JS (1998) Brant: *Branta bernicla*. *The Birds of North America* No. **337**, 1-32.
- Reusch T, Stam W, Olsen J (1998) Size and estimated age of genets in eelgrass, *Zostera marina*, assessed with microsatellites markers. *Marine Biology* **1998**, 519-525.
- Reusch TB, Stam W, Olsen J (2000) A microsatellite-based estimation of clonal diversity and population subdivision in *Zostera marina*, a marine flowering plant. *Molecular Ecology* **9**, 127-140.
- Reusch TB, Stam WT, Olsen JL (1999) Microsatellite loci in eelgrass *Zostera marina* reveal marked polymorphism within and among populations. *Molecular Ecology* **8**, 317-321.

- Reusch TBH (2000a) Five microsatellite loci in eelgrass *Zostera marina* and a test of cross-species amplification in *Z. noltii* and *Z. japonica*. *Molecular Ecology* **9**, 365 - 378.
- Reusch TBH (2000b) Pollination in the marine realm: microsatellites reveal high outcrossing rates and multiple paternity in eelgrass *Zostera marina*. *Heredity* **85**, 459-464.
- Reusch TBH (2001) New markers-old questions: population genetics of seagrasses. *Marine Ecology Progress Series* **211**, 261-274.
- Reusch TBH (2002) Microsatellite reveal high population connectivity in eelgrass (*Zostera marina*) in two contrasting coastal areas. *Limnology and Oceanography* **47**, 78 - 85.
- Rice WR (1989) Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* **43**, 223-225.
- Riosmena-Rodríguez R, Sánchez-Lizaso JL (1996) El límite sur de distribución de *Zostera marina* L. y *Phyllospadix torreyii* Watson para el noroeste mexicano. *Oceánides* **11**, 45-48.
- Rocha-Olivares A, Sandoval-Castillo JR (2003) Mitochondrial diversity and genetic structure in allopatric populations of the Pacific red snapper *Lutjanus peru*. *Ciencias Marinas* **29**, 197-209.
- Rocha-Olivares A, Vetter RD (1999) Effects of oceanographic circulation on the gene flow, genetic structure, and phylogeography of the rosethorn rockfish (*Sebastes helvomaculatus*). *Canadian Journal of Fish Aquatic Science* **56**, 803-813.

- Rodríguez-Montesinos YE, Hernández-Carmona G (1991) Seasonal and geographic variations of *Macrocystis pyrifera* chemical composition at the western coast of Baja California. *Ciencias Marinas* **17**, 91-107.
- Rosales-Casian JA (2004) Composition, importance and movement of fishes from San Quintin, Bay, Baja California, Mexico. *Ciencias Marinas* **30**, 119-127.
- Rousset F (2000) Genetic differentiation between individuals. *Journal of Evolutionary Biology* **13**, 58-62.
- Ruckelshaus MH (1996) Estimation of genetic neighborhood parameters from pollen and seed dispersal in the marine angiosperm *Zostera marina* L. *Evolution* **50**, 856-864.
- Ruckelshaus MH (1998) Spatial scale of genetic structure and an indirect estimate of gene flow in eelgrass, *Zostera marina*. *Evolution* **52**, 330-343.
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Molecular Biology Evolution* **4**, 406-425.
- Sand-Jensen K (1975) Biomass, net production and growth dynamics in an eelgrass (*Zostera marina* L.) populations in Vellerup Vig, Denmark. *Ophelia* **14**, 185-201.
- Santamaria-Gallegos NA, Sanchez-Lizaso JL, Felix-Pico EF (2000) Phenology and growth cycle of annual subtidal eelgrass in a subtropical locality. *Aquatic Botany* **66**, 329-339.
- Schneider S, Kueffer JM, Roessli D, Excoffier L (1997) *Arlequin: a software for population genetic data. (v. 1.1)*: Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland. <http://anthropologie.unige.ch/arlequin>.

- Schramm-Urrutia Y (2002) Estructura genética y filogeografía del lobo marino de California (*Zalophus californianus californianus*) en agua adyacentes a la Península de Baja California, México. Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada, BC, 146 pp.
- Short FT, Neckles HA (1999) The effects of global climate change on seagrasses. *Aquatic Botany* **63**, 169-196.
- Short FT, Wyllie-Echeverria S (1996) Natural and human-induced disturbance of seagrasses. *Environmental Conservation* **23**, 17-27.
- Simpson EH (1949) Measurement of diversity. *Nature* **163**, 688-692.
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* **236**, 787-792.
- Slatkin M (1993) Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations. *Evolution* **47**, 264-279.
- Sokal R, Rohlf F (1984) *Biometry*. WH Freeman and Co., New York. 859 p.
- Srikwan S, Woodruff DS (2000) Genetic erosion in isolated small-mammal populations following rainforest fragmentation. En: *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations* (ed Young AG, Clarke GM), Cambridge University Press, Cambridge. 150-172 pp
- Steinger T, Haldimann P, Leiss KA, Muller-Scharer H (2002) Does natural selection promote population divergence? A comparative analysis of population structure using amplified fragment length polymorphism markers and quantitative traits. *Molecular Ecology* **11**, 2583-2590.

- Mexico. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Marinas. Ensenada, B.C., 145 pp.
- Vermaat JE, Verhagen FCA (1996) Seasonal variation in the intertidal seagrass *Zostera noltii* Hornem: coupling demographic and physiological patterns. *Aquatic Botany* **52**, 259-281.
- Wain RP, Haller WT, Martin DF (1985) Isozymes in studies of aquatic plants. *Journal of Aquatic Plant for Management* **23**, 42-45.
- Ward DH (1983) The relationship of two seagrasses: *Zostera marina* and *Ruppia maritima* to black brant, *Branta bernicla nigricans*, at San Ignacio Lagoon, Baja California, Mexico., University of Oregon, Oregon, USA, 57 pp.
- Ward DH, Morton A, Tibbitts LT, Douglas DC, Carrera-González E (2004a) Long-term change in eelgrass distribution at Bahía San Quintín, Baja California, Mexico, using Satellite Imagery. *Estuaries* **1529**, 1529-1539.
- Ward DH, Tibbitts LT, Morton A, Carrera-González E, Kempka R (2004b) Use of digital multispectral videography to assess seagrass distribution in San Quintin Bay, Baja California, Mexico. *Ciencias Marinas* **30**, 57-70.
- Waycott M (1995) Assessment of genetic variation and clonality in the seagrass *Posidonia australis* using RAPD and allozyme analysis. *Marine Ecology Progress Series* **116**, 289-295.
- Waycott M (1998) Genetic variation, its assessment and implications to the conservation of seagrasses. *Molecular Ecology* **7**, 793 - 800.
- Waycott M, Barnes PAG (2001) AFLP diversity within and between populations of the Caribbean seagrass *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae). *Marine Biology*.

- Weber JL, Wong C (1993) Mutation of human short tandem repeats. *Human Molecular Genetics* **2**, 1123-1128.
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F -statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358-1370.
- Westermeier R, Gomez I (1996) Biomass, energy contents and major organic compounds in the brown alga *Lessonia nigrescens* (Laminariales, Phaeophyceae) from Mehuin, South Chile. *Botanica Marina* **39**, 553-559.
- Williams SL (2001) Reduced genetic diversity in eelgrass transplantations affects both population growth and individual fitness. *Ecological Applications* **11**, 1472-1488.
- Williams SL, Davis CA (1996) Population genetic analysis of transplanted eelgrass (*Zostera marina*) beds reveal reduced genetic diversity in southern California. *Restoration Ecology* **4**, 163-180.
- Williams SL, Orth RJ (1998) Genetic diversity and structure of natural and transplanted eelgrass populations in the Chesapeake and Chincoteague Bays. *Estuaries* **21**, 118-128.
- Wright S (1943) Isolation by distance. *Genetics* **28**, 114-138.
- Wright S (1969) The theory of gene frequencies. En: *Evolution and the Genetics of Populations* 2, University of Chicago Press, Chicago, IL. 511 pp
- Wright S (1978) *Evolution and the Genetics of Populations, Variability within and among natural populations*. University of Chicago Press, Chicago IL. 356 p.
- Yemm EW, Willis AJ (1954) The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. *Biochemistry Journal* **57**, 508-514.

- Young AG, Brown AHD, Murray BG, Thrall PH, Miller CH (2000) Genetic erosion, restricted mating and reduced viability in fragmented populations of the endangered grassland herb *Rutidosis leptorrhynchoides*. En: *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations* (ed Young AG, Clarke GM), Cambridge University Press, Cambridge. 335-359 pp
- Young AG, Clarke GM (2000) Conclusions and future directions: what do we know about the genetic and demographic effects of habitat fragmentation and where do we go from here? En: *Genetics, Demography and Viability of Fragmented Populations 4* (ed Young AG, Clarke GM), Cambridge University Press, Cambridge. 361-366 pp
- Zimmerman RC, Alberte RS (1996) Effect of light/dark transition on carbon translocation in eelgrass *Zostera marina* seedlings. *Marine Ecology Progress Series* **136**, 305-309.
- Zimmerman RC, Cabello-Pasini A, Alberte RS (1994) Modeling daily production of aquatic macrophytes from irradiance measurements: a comparative analysis. *Marine Ecology Progress Series* **114**, 185-196.
- Zimmerman RC, Kohrs DG, Alberte RS (2001) Top-down impact through a bottom-up mechanism: the effect of limpet grazing on growth, productivity and carbon allocation of *Zostera marina* L. (eelgrass). *Oecologia* **107**, 560-567.
- Zimmerman RC, Kremer JN (1984) Episodic nutrient supply to a kelp forest ecosystem in Southern California. *Journal of Marine Research* **42**, 591-604.
- Zimmerman RC, Reguzzoni JL, Alberte RS (1995) Eelgrass (*Zostera marina* L.) transplants in San Francisco Bay: Role of light availability on metabolism, growth and survival. *Aquatic Botany* **51**, 67-86.

Zimmerman RC, Reguzzoni JL, Wyllie-Echeverria S, Josselyn M, Alberte RS (1991)

Assessment of environmental suitability for growth of *Zostera marina* L.

(eelgrass) in San Francisco Bay. *Aquatic Botany* **39**, 353-366.

Zimmerman RC, Smith RD, Alberte RS (1989) Thermal acclimation and whole-plant

carbon balance in *Zostera marina* L. (eelgrass). *Experimental Marine Biology and*

Ecology **130**, 93-109.