



cim.UH
Centro de Investigaciones Marinas
Universidad de La Habana



Centro de Investigaciones Marinas
Universidad de la Habana

Evaluación de la cosecha de las hojas de *Thalassia testudinum* K. D. Koenig en el Rincón de Guanabo, Cuba

Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en Biología
Marina y Acuicultura con mención en Biología Marina



Autor: Lic. Emma Elena Gómez González

Tutor: Dra. Beatriz Martínez Daranas

La Habana, 2019



Centro de Investigaciones Marinas
Universidad de la Habana

**Evaluación de la cosecha de las hojas de *Thalassia testudinum* K.
D. Koenig en el Rincón de Guanabo, Cuba**

Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en Biología Marina y
Acuicultura con mención en Biología Marina

Autor: Lic. Emma Elena Gómez González

Tutor: Dra. Beatriz Martínez Daranas

La Habana, 2019

*A mi familia y
a mi esposo*

“Ver tu propia ignorancia y ceguera es el primer paso hacia tener el verdadero conocimiento.”

Jonathan Edwards

“Si puedes creer, al que cree todo le es posible.”

Jesús (Marcos 9:23)

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por esta etapa maravillosa de mi carrera que me ha permitido transitar.

Esta tesis no hubiera sido posible sin la contribución de mis colegas de trabajo que de una forma u otra aportaron su granito de arena. Quiero agradecer especialmente a mi tutora Beatriz por transmitirme su pasión por los pastos marinos, por su infinita paciencia, humildad, sinceridad y entrega al quehacer científico. A mi profesora Ana María por sus oportunos consejos, y por inspirarnos a trabajar pese a cualquier circunstancia. A mi directora Patricia por sus puertas abiertas para ayudar e impulsar nuestros sueños profesionales. Hago extensivo este agradecimiento a los demás profesores de la maestría. Quiero agradecer al profe Maickel por ayudarme con el diseño experimental, por alumbrarme para prevenir errores en los resultados. A mi amiga Amanda y a mi esposo, por su presencia activa en cada faena, por su empeño personal en la obtención de los resultados. También por hacer felices mis días de trabajo. A Iván, Pedro, Anthony, Víctor y Freddy por su ayuda en el trabajo de campo. Gracias al Instituto de Ciencias del Mar (ICIMAR) en especial en el departamento de Química a Kethia, Yasnay, Yulexy, David, Richard, Oralis y Liz les agradezco su profesionalidad y afecto, por abrirme las puertas de su laboratorio y hacerme sentir como uno más. A todos muchas gracias.

RESUMEN

Las hojas de *Thalassia testudinum* constituyen una rica fuente de antioxidantes naturales con aplicaciones potenciales en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética. La cosecha de sus hojas para estos fines debe ser sostenible para la preservación de los bienes y servicios ecológicos que provee. El objetivo de esta investigación fue evaluar los efectos de diferentes frecuencias de corte sobre la especie en el Rincón de Guanabo, Cuba. Se analizó la variabilidad temporal de la producción diaria, la tasa de reemplazo, la biomasa foliar, la biomasa de epífitas, la densidad de vástagos, el índice foliar, la herbivoría y la reproducción, cada tres meses desde abril de 2017 hasta abril de 2018. Se evaluó el efecto de la poda sucesiva de las hojas cada 60, 90 y 120 días en este año, sobre las estructuras vegetativas y reproductivas y el contenido de nutrientes en la planta. Las variaciones temporales en la dinámica de la especie no se correspondieron directamente con las fluctuaciones anuales de la temperatura, sino que deben ser moduladas por otros factores ambientales locales. El paso del huracán Irma en septiembre de 2017 parece haber influido en los valores de la producción foliar diaria y la tasa de reemplazo, que resultaron más bajos en abril de 2018 que en el mismo mes de 2017. Abril y julio fueron los meses de mayor productividad, tasa de reemplazo y menor biomasa de epífitas. La cosecha de hojas de *T. testudinum* en el área de estudio cada 120 días durante un año, con el uso de tijeras, a más de 5 cm sobre el sedimento y en áreas de 0,25 m², no ocasionaron daños en las estructuras vegetativas, reproductivas y en los componentes químicos de la planta. Por ello, se recomiendan estas condiciones para la cosecha de las hojas de *T. testudinum* hasta evaluar una escala mayor en tiempo y área.

Palabras claves: biomasa foliar, cosecha de las hojas, nutrientes, productividad, reproducción, variación temporal

ABSTRACT

The leaves of *Thalassia testudinum* are a rich source of natural antioxidants with potential applications in the pharmaceutical, food and cosmetic industries. Harvesting its leaves for these purposes must be done in a sustainable manner for the preservation of the ecological goods and services it provides. The objective of this research was to evaluate the effects that different cutting frequencies have on the species at Rincón de Guanabo, Cuba. The temporary variability of daily production, replacement rate, leaf biomass, epiphytic biomass, shoot density, leaf index, herbivory and reproduction were analyzed quarterly from April 2017 to April 2018. The effect of the continuous pruning of the leaves, every 60, 90 and 120 days, on the vegetative and reproductive structures and the nutrient content in the plant was analyzed in this year. Temporary variations in the dynamics of the species did not correspond directly with the annual fluctuations in temperature, they must be modulated by other local environmental factors. Hurricane Irma in September 2017 seems to have influenced the values of daily leaf production and the replacement rate, which were lower in April 2018 than in the same month of 2017. April and July were the months with the highest productivity, replacement rate and with the lowest biomass of epiphytes. The harvest of *T. testudinum* leaves every 120 days in the study area for a year, with the use of scissors, cutting 5 cm above the sediment and in areas of 0.25 m², did not cause damage to the vegetative and reproductive structures, and there were no changes in the chemical components of the plant. Therefore, such conditions for the harvest of *T. testudinum* leaves are recommended until the impact of a larger scale harvest regime (time and area) is evaluated.

Keywords: foliar biomass, leaf harvest, nutrients, productivity, reproduction, temporary variation

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 4 |
| Importancia de los pastos marinos..... | 4 |
| Importancia ecológica de las praderas..... | 4 |
| Importancia industrial de <i>Thalassia testudinum</i> | 5 |
| Vulnerabilidad actual de los pastos por causas antropogénicas..... | 5 |
| Estudios sobre la cosecha de las hojas de <i>T. testudinum</i> y su recuperación..... | 7 |
| Biología de <i>Thalassia testudinum</i> | 8 |
| Ciclo de vida y productividad..... | 8 |
| Requerimientos para su crecimiento y desarrollo..... | 9 |
| Estado nutricional..... | 10 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 12 |
| Área de estudio..... | 12 |
| Variaciones temporales en el crecimiento y la producción foliar..... | 14 |
| Efectos de la poda de las hojas..... | 16 |
| Análisis estadístico..... | 18 |
| RESULTADOS..... | 20 |
| Variaciones temporales en el crecimiento y la producción foliar..... | 20 |
| Efectos de la poda de las hojas..... | 27 |
| DISCUSIÓN..... | 32 |
| Variaciones temporales en el crecimiento y la producción foliar..... | 32 |
| Efectos de la poda de las hojas..... | 37 |
| CONCLUSIONES..... | 47 |
| RECOMENDACIONES..... | 47 |
| REFERENCIAS..... | 48 |

INTRODUCCIÓN

Los pastos marinos son ecosistemas altamente productivos que brindan numerosos bienes y servicios a la humanidad y a la biodiversidad marino costera (Nordlund *et al.*, 2017). Las hojas de estas angiospermas han sido recolectadas de forma manual o cortadas desde la superficie del sedimento con el fin de secarlas y emplearlas en beneficio de las comunidades costeras durante mucho tiempo; por ejemplo, como relleno de colchones y almohadas en el siglo XVI, para techar en el siglo XVIII, así como para crear lechos para animales, entre otros usos (Nordlund *et al.*, 2017).

La extracción de las hojas de estas plantas es menos perjudicial y presenta mayores probabilidades de recuperación que la extracción de los rizomas y raíces, que puede causar daños irreparables en las praderas de pastos marinos (Orth *et al.*, 2017). No obstante, para que los ecosistemas naturales puedan mantenerse saludables y resilientes en el tiempo, necesitan tasas de pérdida particulares (Wittmann y Ott, 1982). Estas pueden estar determinadas por la mortalidad natural, la herbivoría, la hidrodinámica, etc. La cosecha de las hojas de pastos marinos constituye un estrés adicional que puede o no estar en correspondencia con las tasas naturales de pérdida de tejido fotosintético que el sistema es capaz de soportar sin que se vea afectada su dinámica natural.

Por otra parte, aunque estas angiospermas han sido apreciadas debido a sus usos directos, sus valores más relevantes ciertamente consisten en los beneficios ecosistémicos que proveen (Martínez-Daranas, 2014). Dentro de estos ecosistemas, presentan una elevada productividad primaria (van Tussenbroek *et al.*, 2014), son promotores de la biodiversidad y de la productividad biológica (Nordlund *et al.*, 2017), proveen protección a la zona costera (Paul, 2017), participan en la regulación del clima (Romero *et al.*, 2006), entre otras funciones. Los pastos marinos se encuentran entre los ecosistemas más efectivos del planeta en el secuestro de carbono; junto a las marismas saladas y a los manglares son responsables de la captura de hasta el 70% del carbono orgánico en el medio

marino y por tanto, son importantes contribuyentes a la mitigación del cambio climático (Barry *et al.*, 2018).

Thalassia testudinum K. D. Koenig está ampliamente distribuida en el Golfo de México y el mar Caribe y aporta en gran medida a la producción primaria (van Tussenbroek *et al.*, 2014). Esta angiosperma marina es la especie dominante en las praderas de la plataforma de Cuba (Martínez-Daranas y Suárez, 2018).

Recientemente, esta especie fue sugerida como posible fuente de antioxidantes naturales y los análisis corroboraron que el extracto hidroalcohólico (BM-21), obtenido de las hojas, contiene polifenoles como mayor clase de compuestos, lo que le confiere propiedades analgésicas, antiinflamatorias, efectos regeneradores en la piel, actividad neuroprotectora y efectos citotóxicos (Llanio *et al.*, 2006; Regalado *et al.*, 2008, 2012; Menéndez *et al.*, 2014, García *et al.*, 2017; Rodeiro *et al.*, 2018). Las hojas de *T. testudinum* han sido cosechadas en una pradera al este de La Habana, en el Rincón de Guanabo, para comprobar sus potenciales aplicaciones para la salud humana. Se ha planeado la extracción a escala industrial, pero se debe tener en cuenta que la práctica de dicha extracción debe ser sostenible para la preservación de los bienes y servicios que provee esta pradera. La pérdida de los pastos marinos podría alterar el flujo de materia orgánica, el ciclo de nutrientes y la trama alimentaria dentro del ecosistema costero donde se encuentra la angiosperma y en los ecosistemas adyacentes (Kenworthy *et al.*, 2006; Kenworthy *et al.*, 2009). Además, varios estudios muestran la actual vulnerabilidad de estos hábitats en todo el mundo (Waycott *et al.*, 2009; Short *et al.*, 2011).

La literatura científica recoge algunos artículos en los que se ha determinado la frecuencia de cortes a los que pueden estar sujetas estas plantas que les permite mantener su estado natural (Taylor *et al.*, 1973, Buesa, 1974; Greenway, 1974; Dawes y Lawrence, 1979). Sin embargo, estos resultados pueden variar con el sitio de estudio y la latitud. Las investigaciones sobre la dinámica temporal de la especie se han realizado en escasas zonas de Cuba y nunca en el Rincón de Guanabo (Buesa 1974; Martínez-Daranas *et al.* 2005, 2009; van Tussenbroek *et*

al. 2014). Los estudios de la variabilidad intra-anual en la producción foliar ofrecen una medida de la dinámica y la tasa de crecimiento de las angiospermas marinas, permiten evaluar su respuesta ante causas naturales o efectos antropogénicos y determinar tendencias estacionales (CARICOM, 2001; Duarte *et al.*, 2006).

Para lograr una respuesta sobre el régimen adecuado de extracción de biomasa foliar se necesita dominar la ecología y la biología de la especie en su medio, como se ha mencionado anteriormente. Una valoración integral del tema deja al descubierto muchas interrogantes imposibles de responder en una sola investigación. Partiendo de esta realidad, en este proyecto de investigación se propusieron los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Determinar la frecuencia de cosecha de la biomasa foliar de *T. testudinum* que permita su uso sostenible para fines industriales en el Rincón de Guanabo.

Objetivos específicos:

1. Evaluar la variación temporal de producción foliar de *T. testudinum* en el Rincón de Guanabo.
2. Evaluar la recuperación de *T. testudinum* en función de tres estrategias diferentes de poda en el Rincón de Guanabo.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Importancia de los pastos marinos

Importancia ecológica de las praderas

Los recursos biológicos y los servicios ecológicos que brindan los pastos marinos están basados en la estructura de las plantas, en las praderas que forman y en la fauna y flora que sostienen (Liquete *et al.*, 2013). Los pastos marinos son claves en los ciclos de vidas de numerosos organismos de importancia conservacionista y comercial por su disponibilidad de comida y refugio (Nordlund *et al.*, 2017). Constituyen una fuente de sedimentos debido a los esqueletos carbonatados de los organismos que viven en ellas y directamente por la producción de cristales similares a la aragonita dentro las paredes celulares y como depósitos externos sobre sus hojas (Enríquez y Schubert, 2014).

La canopia de las hojas y el sistema radicular proporcionan amortiguación hidrodinámica. Como consecuencia, consolidan el sedimento, reducen su resuspensión y la erosión costera (Paul, 2017). Estos ecosistemas constituyen filtros naturales que mejoran la calidad del agua por la retención de las partículas suspendidas (Nordlund *et al.*, 2017). Se considera que pueden aminorar la acidificación del océano en los arrecifes de coral adyacentes a ellos (Unsworth *et al.*, 2012). Un estudio muy reciente reveló que pueden reducir la abundancia de patógenos bacterianos que dañan tanto a los organismos marinos como a los humanos, en los arrecifes cercanos a los humanos (Lamb *et al.*, 2017).

Los pastos marinos juegan un crítico rol en el secuestro global de carbono que pudiera de otra forma permanecer como CO₂ atmosférico y exacerbar el cambio climático. Estos ecosistemas secuestran el C dentro de las capas internas del sedimento, dentro de la biomasa fotosintética y la enterrada a corto plazo (decenios, en la biomasa) o a grandes escalas de tiempo (milenios, dentro del sedimento) (Mcleod *et al.*, 2011; Duarte *et al.*, 2013; Macreadie *et al.*, 2014; Duarte y Krause-Jensen, 2017; Barry *et al.*, 2018).

Importancia industrial de *T. testudinum*

Muchas especies marinas, y dentro de ellas los pastos marinos, son una rica fuente promisoras de metabolitos secundarios con actividad antioxidante (Menéndez *et al.*, 2014). El extracto hidro-alcohólico obtenido a partir de las hojas de *T. testudinum* (BM-21) presenta como compuestos principales los polifenoles, por lo que este producto dispone de antioxidantes naturales con aplicaciones potenciales en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética (Regalado *et al.*, 2012; Menéndez *et al.*, 2014).

Según Rowley *et al.* (2002), las thalassiolinas A-C, flavonoides contenidos en el extracto BM-21, podrían usarse como agentes antirretrovirales del VIH. Otra investigación revela las propiedades antiinflamatorias y el efecto analgésico de este extracto (Llanio *et al.*, 2006). La thalassiolina B presenta un efecto regenerativo notable al daño de la piel inducido por las radiaciones ultravioletas del Sol (Regalado *et al.*, 2008). Además, este extracto posee efectos neuroprotectores mediados al menos parcialmente por sus propiedades antioxidantes (Menéndez *et al.*, 2014). El BM-21 previene el daño neuronal inducido por la isquemia, efecto que involucra al menos parcialmente, el incremento de la resistencia frente al estrés oxidativo (García *et al.*, 2017).

Se están investigando novedosas propiedades *in vitro* como *in vivo* antitumorales y antimetastásicas del extracto. Las primeras evidencias experimentales sustentan un posible uso del producto en el manejo terapéutico del cáncer, enfermedad que constituye a la fecha una de las primeras causas de muerte en el mundo (Rodeiro *et al.*, 2018).

Vulnerabilidad de los pastos por causas antropogénicas

La ubicación submareal a intermareal somera de la mayoría de las praderas de pastos marinos permite el acceso relativamente fácil a ellas y sus múltiples usos, lo que las expone a amenazas terrestres y marinas (Nordlund *et al.*, 2017). Son numerosas las amenazas que hacen que estos ecosistemas desaparezcan rápidamente. El 29 % de estos hábitats han sido destruidos principalmente debido

a impactos antropogénicos (Short *et al.*, 2011), con una tasa de disminución anual estimada del 7 % a nivel mundial (Waycott *et al.*, 2009).

Una de las amenazas es la sobrepesca que tiene un efecto negativo sobre los organismos consumidores de algas. Esto influye de forma indirecta sobre las praderas marinas, debido a que cesa el control que ejercen sobre las macroalgas, fundamentalmente las epífitas (Valentine y Duffy, 2006). Por otra parte, las perturbaciones físicas por artes de pesca invasivos, anclas y la turbulencia generada por embarcaciones pequeñas de uso turístico, así como las acciones ingenieras en la zona costera, como construcciones, viaductos, dragados y diques han provocado la eliminación de pastos en áreas extensas (Kenworthy *et al.*, 2009).

Otra de las amenazas a la que mayor atención le ha prestado la comunidad científica es la eutrofización resultado de la actividad humana. Esta favorece el desarrollo del fitoplancton y de macroalgas oportunistas de crecimiento rápido que limitan la disponibilidad de la luz hacia las angiospermas (Kenworthy *et al.*, 2009; Martínez-Daranas *et al.*, 2009).

Por otra parte, algunas especies vegetales no nativas pueden llegar a los nuevos hábitats mediante embarcaciones comerciales y recreativas. Las especies nativas vegetales tienden a ser excluidas por la colonización de las invasoras, lo que perjudica al resto de los organismos que dependen de ellas (Willette *et al.*, 2014).

El cambio climático contribuye al actual declive de los pastos marinos (Martínez-Daranas, 2014; Short *et al.*, 2016). El aumento global de la temperatura superficial del mar puede afectar las tasas de crecimiento, los patrones de reproducción y otros procesos fisiológicos de los pastos marinos debido a la fuerte influencia de este factor abiótico en la biología de estas plantas (Short *et al.*, 2016). Aunque se conoce que las tormentas tropicales no siempre causan daños significativos en la biomasa de los pastizales (Pu *et al.*, 2014), las elevadas temperaturas incrementan la frecuencia e intensidad de estos eventos meteorológicos extremos,

los cuales pueden incluir más lluvias, más escorrentía y turbidez, y reducir la salinidad, así como proporcionar daños físicos directos a las plantas (Short *et al.*, 2016). El incremento de las radiaciones ultravioletas por el cambio climático conduce a la producción de metabolitos secundarios para la protección de los fotosistemas de estas angiospermas, a expensas de energía que de otra manera podría contribuir a la producción y el crecimiento vegetal (Novak y Short, 2010, 2011, 2012).

Los cambios en el aporte de agua dulce desde tierra provocados por el cambio climático pueden incrementar o decrecer los niveles de salinidad en aguas costeras donde crecen los pastos marinos, y esto limita su desarrollo, en dependencia del rango de tolerancia de las especies (Short *et al.*, 2016). El aumento del nivel del mar por el cambio climático podría traer inundaciones sustanciales en las áreas urbanas e industriales que desplazan la línea de costa con resultados crónicos en el incremento de la eutrofización en las aguas costeras (Hernández-Delgado, 2015).

Estudios sobre la cosecha de las hojas de *T. testudinum* y su recuperación

Los experimentos manipulativos de cosecha de las hojas de los pastos marinos se han llevado a cabo para responder a varias problemáticas. En algunas investigaciones se analiza la estrategia de extracción adecuada ante el posible uso de las hojas de estas plantas como suplemento alimenticio para la ganadería u otros fines en aras de aprovechar las altas biomásas que producen estas especies (Taylor *et al.*, 1973; Buesa, 1974; Greenway, 1974; Wittmann y Ott, 1982). En estos experimentos se ha intentado determinar el tiempo que emplea la pradera en recuperar su biomasa inicial y la frecuencia de cortes a la que puede ser sometida. Estos trabajos buscan la preservación de estas especies claves en la protección costera y en el intercambio de materia orgánica con ecosistemas adyacentes.

Además, se han estudiado las fluctuaciones en los componentes químicos de *T. testudinum* debido a la estacionalidad y posterior a la defoliación (Dawes *et al.*, 1979; Dawes y Lawrence, 1979). Los compuestos químicos en los rizomas funcionan como reserva energética de estas plantas y fluctúan de forma estacional en algunas regiones. Los niveles de concentración de estos compuestos pueden influir en la recuperación de la biomasa foliar ante la pérdida de tejido fotosintético. De igual forma la cosecha sucesiva puede provocar cambios en sus concentraciones.

Biología de *Thalassia testudinum*

Ciclo de vida y productividad

T. testudinum pertenece al phylum Tracheophyta, clase Magnoliopsida, orden Alismatales, familia Hydrocharitaceae (Guiry y Guiry, 2019). Su ciclo de vida presenta las características generales de las plantas con flores, pero, al igual que el resto de las angiospermas marinas, se desarrolla completamente sumergida, típicamente en la zona sublitoral, y con un exitoso sistema de polinización hidrófila (Larkum *et al.*, 2006). La formación de praderas está dada no solo por la reproducción sexual, sino también por la reproducción vegetativa que garantiza en mayor medida la dispersión (Ackerman, 2006).

Los esporófitos de esta especie presentan rizomas horizontales gruesos y leñosos con raíces sin ramificación, también gruesas en comparación a otras fanerógamas marinas (van Tussenbroek *et al.*, 2010). De estos tallos rastreros surgen rizomas verticales cubiertos por los restos de las hojas envainantes muertas (van Tussenbroek *et al.*, 2010). Los haces foliares nacen del extremo de los rizomas verticales y poseen de una a cinco hojas acintadas de color verde claro con un ancho entre 0,5 y 2 cm y un largo máximo entre los 10 y 80 cm, que pueden alcanzar 1 m (van Tussenbroek *et al.*, 2010).

Esta angiosperma es dioica, por lo que las inflorescencias masculinas y femeninas crecen en individuos distintos, en las axilas de las hojas (van Tussenbroek *et al.*, 2009). Las inflorescencias masculinas pueden presentar de una a cinco flores (usualmente tres), cada una con tres tépalos y de 8 a 13 estambres, sobre un pedúnculo con brácteas que protegen las yemas (van Tussenbroek *et al.*, 2009). Las flores femeninas se encuentran casi siempre solitarias o en pares, cada una con un largo pedúnculo, un ovario inferior situado bajo el sedimento y cubierto por brácteas, un corto estilo, tres tépalos y de 12 a 18 estigmas alargados y bifurcados (usualmente 14) (van Tussenbroek *et al.*, 2009).

Esta especie es la más robusta entre las angiospermas del Gran Caribe y la que más contribuye a la productividad primaria en sus ecosistemas (van Tussenbroek *et al.*, 2014). Las investigaciones sobre la variación temporal de la productividad en Cuba se han realizado en escasas zonas del país (Buesa 1974; Martínez-Daranas *et al.* 2005, 2009, 2014; Tussenbroek *et al.* 2014). Estos trabajos muestran que variables biológicas tales como la biomasa foliar y la densidad de vástagos que caracterizan la dinámica de esta especie, siguen una tendencia estacional clásica, a pesar de que en Cuba solo se reconocen las estaciones climáticas lluviosa (de mayo hasta octubre) y poco lluviosa (de noviembre hasta abril) (Martínez-Daranas y Suárez, 2018).

Requerimientos para su crecimiento y desarrollo

T. testudinum se encuentra ampliamente distribuida en las áreas sublitorales costeras, en las regiones subtropicales y tropicales del Atlántico Occidental (Short *et al.*, 2010). Generalmente se encuentra en aguas someras y resguardadas y en condiciones específicas de temperatura, salinidad, atenuación de la luz, profundidad y tipo de sedimento que les permite su crecimiento y desarrollo (van Tussenbroek *et al.*, 2006).

Como organismos fotosintetizadores, los pastos marinos necesitan absorber luz y llevar a cabo el intercambio de gases con su ambiente. En este sentido, la profundidad límite para el crecimiento dependerá de la radiación de

compensación. En Cuba (23°N), *T. testudinum* requiere como mínimo el 23,5% de la luz incidente en la superficie (Lee *et al.*, 2007). Además, la temperatura afecta significativamente los procesos bioquímicos involucrados con la fotosíntesis y la respiración. El rango óptimo de temperatura para la fotosíntesis está entre los 10-32°C, con un valor medio óptimo de $29.0 \pm 1.2^\circ\text{C}$; mientras que para el crecimiento, el rango óptimo está entre los 23-31°C con un valor medio óptimo de $29.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$ (Lee *et al.*, 2007).

T. testudinum presenta amplia tolerancia a la salinidad, con limitaciones al crecimiento solo por encima de los 40‰. Esto ha garantizado su mayor distribución en comparación con otras especies de rangos más estrechos como *Syringodium filiforme* Kützinger (Hogarth, 2007). Por otra parte, los pastos marinos requieren de carbono y nutrientes para mantener el crecimiento y la producción primaria. Estas plantas pueden utilizar tanto el CO₂ como el HCO₃⁻ para la reducción de carbono fotosintético (Larkum *et al.*, 2006). Los nutrientes inorgánicos disueltos necesarios para el desarrollo de *T. testudinum* están disponibles tanto en la columna de agua como en los espacios intersticiales entre las partículas del sedimento. Las plantas pueden adquirirlos a través de sus hojas y raíces (van Tussenbroek *et al.*, 2006). Los nutrientes que comúnmente limitan el crecimiento son el P y N o ambos (Romero *et al.*, 2006; Hogarth, 2007). La mayoría de las especies de angiospermas marinas están confinadas a sedimentos arenosos o fangosos. Éstos pueden ser hábitats hostiles para la vida de estas plantas donde la entrada de materia orgánica sea excesiva (Larkum *et al.*, 2006).

Estado nutricional

La evaluación química (compuestos inorgánicos, proteínas, lípidos, carbohidratos solubles e insolubles) en los órganos de *T. testudinum* en la Bahía Tampa revela la variación estacional que presentan los compuestos químicos en esta región (Dawes y Lawrence, 1979, 1980). Los niveles de carbohidratos solubles son más altos en los rizomas que en las hojas de estas plantas (Dawes y Lawrence, 1980).

Estos metabolitos constituyen la reserva de nutrientes utilizada en períodos de baja productividad. Durante el verano comienzan a incrementarse los niveles de carbohidratos solubles debido a la producción y almacenamiento de almidón en los rizomas hasta alcanzar las máximas concentraciones en el otoño. Desde el invierno hasta la primavera disminuyen como resultado de la utilización de estas reservas para el mantenimiento y crecimiento de las plantas en condiciones de bajo rendimiento fotosintético (Dawes y Lawrence, 1980). Los niveles de lípidos y proteínas son más elevados en las hojas y estos últimos se encuentran en mayor cuantía en el verano, lo que sugiere la elevada actividad celular durante esta estación (Dawes y Lawrence, 1980).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio se ubica en la laguna arrecifal del Rincón de Guanabo, localizada en la ensenada Sibarimar, costa noroeste de La Habana (23°10'30 "N; 82°05'48" W) (Fig. 1). El Rincón de Guanabo está categorizado como Paisaje Natural Protegido (PNP) y contiene una de las playas conocidas como Playas del Este, lo que lo convierte en uno de los polos de importancia recreativa y en el sustento de los residentes locales y externos en esta región. La laguna arrecifal está compuesta por praderas monoespecíficas de *T. testudinum*, o mixtas de *T. testudinum* y *S. filiforme*, y varios parches de arena. En esta área un 37 % del sustrato es arenoso, lo que permite que las especies de pasto puedan fijarse y alcanzar un desarrollo adecuado. La profundidad varía entre 0,5 m y 2,5 m (Aguilera, 2017).

Una cresta arrecifal, a una distancia aproximada de 800 m de la costa, delimita la laguna arrecifal en la región hacia mar. La cresta arrecifal es discontinua, lo que permite el intercambio con mar abierto. La presencia de esta cresta arrecifal, brinda protección de la erosión ocasionada por las corrientes y el oleaje (Aguilera, 2017).

La línea costera está bordeada por una franja de arena de más de 2 km de extensión. Por detrás de la franja de arena y la duna, hay una laguna costera cerrada. En ella se desarrolla un manglar compuesto fundamentalmente por *Laguncularia racemosa* Gaertn y escasas ejemplares de *Avicennia germinans* L. y *Rhizophora mangle* L. (Aguilera, 2017).

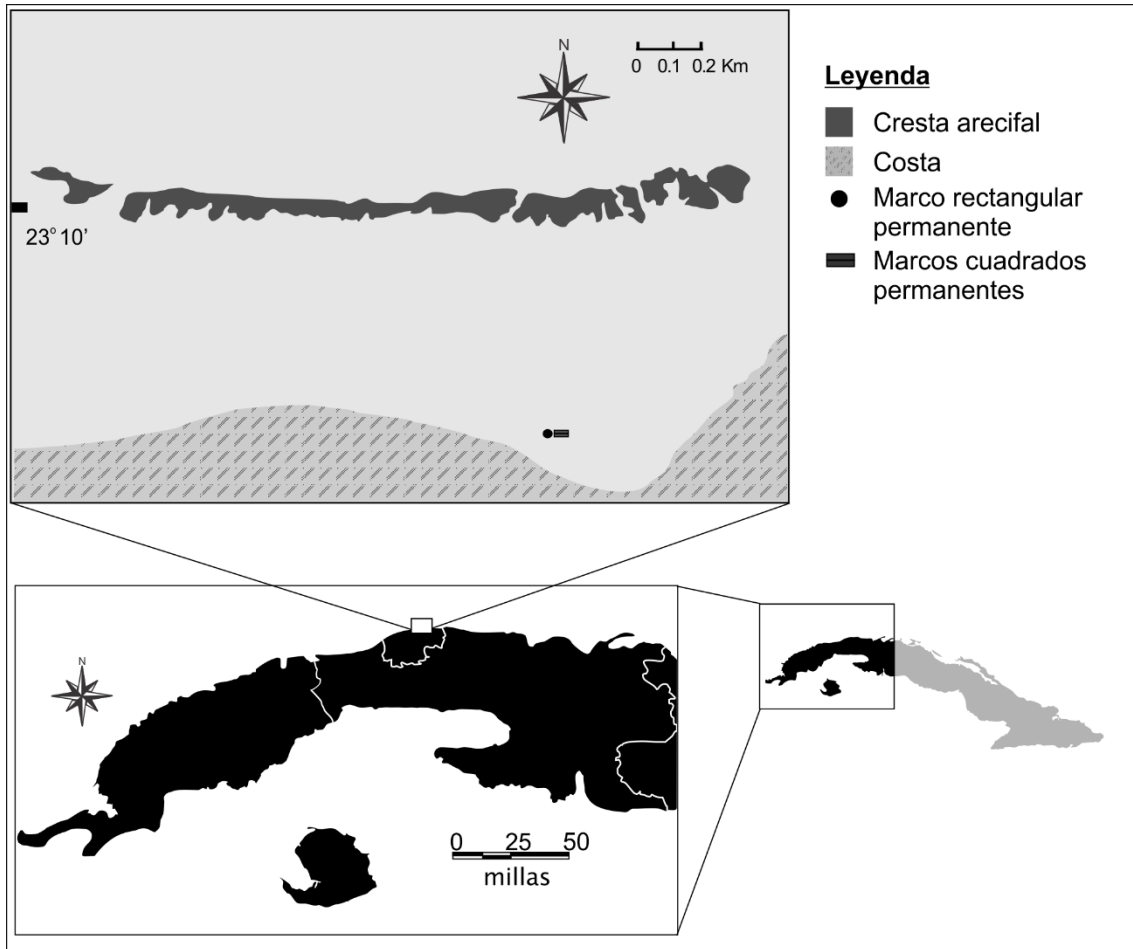


Figura 1. Localización geográfica del Rincón de Guanabo. Ubicación del marco rectangular permanente para evaluar la variación temporal de la producción foliar y de los marcos cuadrados permanentes para la experimentación en la pradera monoespecífica de *T. testudinum* seleccionada dentro de la laguna arrecifal.

La pradera seleccionada para el estudio se ubica en la zona más cercana a la costa, donde se encuentran los mayores valores de altura del follaje (Aguilera, 2017). Esta zona posiblemente esté bajo la influencia de un aporte de nutrientes procedentes de la zona antropizada y del manglar. Esto puede atentar contra su estado de conservación, constatado por la presencia de algas epífitas y filamentosas y la aparición de *S. filiforme*, que suele aparecer ante la presencia de nutrientes (Aguilera, 2017).

Al oeste de la playa se encuentra la desembocadura del río Guanabo que también vierte aguas residuales. El área está influenciada por los vientos alisios del noroeste durante casi todo el año y por los vientos del norte durante la temporada de invierno. Las corrientes marinas presentan en su mayoría dirección este-oeste y la marea es semidiurna mixta con poca profundidad (Aguilera, 2017).

Variaciones temporales en el crecimiento y la producción foliar

La variabilidad temporal en el crecimiento foliar y la producción foliar de *T. testudinum* en el Rincón de Guanabo se evaluó siguiendo la metodología de Zieman (1974) y CARICOMP (2001) con modificaciones. Los muestreos se realizaron a intervalos de tres meses desde abril de 2017 hasta abril de 2018 (abril-17, julio-17, noviembre-17, enero-18 y abril-18) en un pradera monoespecífica de *T. testudinum* de la laguna arrecifal. Para ello se colocó de forma permanente un marco rectangular de 0,99 m² (110 x 90 cm) en el sitio de estudio. El marco se dividió en 30 unidades de 0,01 m² (10 x 10 cm) espaciadas 10 cm la una de la otra para lograr independencia. Cada muestreo se realizó sobre seis unidades de muestreo seleccionadas al azar.

Al comienzo de cada muestreo, se contó el número de vástagos en las seis unidades. Luego los vástagos se marcaron con una aguja hipodérmica, de modo que quedara un pequeño orificio justo encima de las vainas de las hojas. Pocos días después (7-22 días) se extrajeron los vástagos enteros, se colocaron en bolsas etiquetadas y se llevaron al laboratorio.

En el laboratorio, cada muestra se procesó por separado. Los vástagos se lavaron con agua corriente para eliminar el sedimento e invertebrados asociados. Se cuantificó el número final de vástagos para estimar la densidad de vástagos por unidad de área (m²) y el número de hojas por vástago. A cada hoja se le midió el largo y el ancho para calcular el área foliar promedio en m².

Las hojas que permanecían con agujeros se cortaron con una tijera en el punto de la cicatriz para formar tres grupos. El primer grupo (G1) contenía las hojas nuevas, las cuales se distinguían por no presentar marcas; el segundo grupo (G2) contenía las secciones de hojas producidas después del marcaje, lo que representa el crecimiento de las hojas marcadas; y el tercer grupo (G3), las secciones de hojas iniciales en el momento del marcaje, que se encontraban por encima de las marcas. Se retiraron las macroalgas epífitas de las hojas de forma manual, raspando suavemente la superficie foliar con un portaobjetos. Cada grupo de secciones de hojas por muestra, así como las epífitas, se secaron de forma independiente en una estufa a 70 °C y se pesaron con una balanza técnica (Denver Instruments, 0,01 °C de precisión) para hallar la biomasa seca. Esta metodología nos permitió estimar las variaciones en la densidad de vástagos, la producción diaria y anual, la tasa de reemplazo, el índice de área foliar, la biomasa foliar seca en pie (CARICOMP, 2001) y la biomasa seca de las algas epífitas en esta pradera. La producción diaria y anual, la tasa de reemplazo, el índice de área foliar y la biomasa foliar seca en pie se determinaron mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{Producción diaria} = \frac{(G1 + G2) \times 100}{\text{No. días}}$$

$$\text{Tasa de reemplazo} = \frac{(G1 + G2) \times 100}{(G1 + G2 + G3) \times \text{No. días}}$$

$$\text{Biomasa seca} = (G1 + G2 + G3) \times 100$$

$$\text{IAF} = \text{Densidad de vástagos} \times \text{No. hojas/vástago} \times \text{Área foliar}$$

Se evaluó la presión de herbivoría mediante la cuantificación de hojas con mordidas por herbívoros y el número de ápices rotos por el hidrodinamismo u otras causas. En cada unidad de muestreo se cuantificó el número de flores y frutos.

En la cresta arrecifal se colocó un sensor de temperatura (HOBO, mediciones cada 30min, resolución: 0,01 °C) que tomó valores durante el año de muestreo. Estos datos no se tomaron exactamente en el sitio de estudio, pero permitieron evaluar la influencia de las variaciones temporales de la temperatura sobre el crecimiento y la productividad foliar.

Efectos de la poda de las hojas

Para evaluar el efecto de la poda sucesiva de las hojas de *T. testudinum*, se realizó un experimento con una duración de un año, desde abril de 2017 hasta abril de 2018. Para el diseño experimental se tuvo en cuenta la metodología de Buesa (1974). El área experimental se ubicó adyacente al marco permanente donde se evaluó la variabilidad temporal en la productividad (Fig. 1). En dicha evaluación, se aplicaron tres tratamientos y un control en unidades experimentales (marcos cuadrados permanentes de 0.25 m²). Dichos tratamientos consistieron en: T1: se aplicaron cortes sucesivos a las hojas de *T. testudinum* a intervalos de 60 días, T2: a intervalos de 90 días, y T3: a intervalos de 120 días durante el año, y el control consistió en la ausencia de cortes. Cada tratamiento tuvo cuatro réplicas, para un total de 16 unidades experimentales. Las unidades se delimitaron con marcos cuadrados de aluminio y se ubicaron de forma permanente en el fondo marino utilizando clavijas. Se dispusieron al azar en dos hileras de ocho unidades y se separaron 5 m entre sí. Los cortes se realizaron con tijeras a aproximadamente 2 cm por encima del sedimento, sobre el meristemo basal de las hojas.

Una vez culminado el año de experimentación, se colocó dentro de cada unidad de muestreo un marco cuadrado de 0.0625 m² (25 x 25 cm) y se contó en su interior el número de vástagos. Dentro de estos marcos se extrajeron al azar 10 de estos vástagos y se colocaron en bolsas de nylon rotuladas para llevarlas al laboratorio. En el laboratorio se contó el número de hojas por vástago y se midió el largo y ancho de las mismas.

De forma independiente a lo anterior, se extrajo la biomasa de *T. testudinum* en cada unidad con un tubo nucleador de 30 cm de diámetro que se ubicó dentro de cada unidad de muestreo. El nucleador se introdujo a una profundidad de 15 cm en el sustrato para extraer la mayor parte de la biomasa enterrada y la biomasa foliar. El contenido de cada nucleador se llevó en bolsas nylon rotuladas hacia el laboratorio. En el laboratorio la biomasa de *T. testudinum* contenida en cada bolsa se separó de otros organismos, se lavó con agua corriente para eliminar la sal, el sedimento, así como el material muerto. La biomasa foliar fue separada en cada muestra de la biomasa enterrada. Se eliminaron las epífitas de las hojas de forma manual. Posteriormente ambas biomásas fueron secadas en una estufa a 70 °C para estimar el peso seco constante para cada tratamiento y el control en una balanza técnica (Denver Instruments, 0,01 °C de precisión).

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre el estado nutricional de *T. testudinum* se prepararon extractos con cada una de las muestras secas. De cada muestra se tomaron 200 g de material de hojas o de rizomas, según correspondía, y se maceraron de forma continua con 2000 ml de etanol: H₂O (1:1 vol/vol) por un período de siete días en un estante cerrado a la temperatura que se encontraba la habitación. Cada extracto fue filtrado con un papel de filtro Whatman No. 1 (180 mm de diámetro) y concentrado usando un rotavaporador BUCHI para secar más bajo presión reducida y a 45 °C de temperatura.

Luego de la preparación de los extractos para cada una de las muestras se procedió a la determinación de los sólidos totales. Se tomaron tres cápsulas vacías, y se desecaron a 105 °C durante 1 h, luego se colocaron en desecadora hasta su enfriamiento a temperatura ambiente. Seguidamente se pesaron y se les añadió a cada 1 mL de un extracto diferente. Posteriormente se pesaron las cápsulas llenas y luego se colocaron en estufa a 105 °C durante 1 h. Pasado este tiempo, se colocaron en desecadora hasta enfriamiento y se pesaron. Cada determinación se realizó por triplicado. El porcentaje de sólidos totales se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Porcentaje de Sólidos Totales} = \frac{S - V}{LL - V} \times 100$$

Donde:

S: Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

V: Masa de la cápsula vacía

LL: Masa de la cápsula con la muestra líquida.

La determinación de proteínas solubles fue conducida usando el método descrito por Bradford (1976), con albúmina de suero bovino (ASB) como estándar de referencia (1 mg/mL). El ensayo consistió en añadir 1 ml de reactivo Bradford a 100 μ l de extracto. La mezcla se incubó a 30°C en la oscuridad y se midió la absorbancia a 595 nm en espectrofotómetro Shimadzu UV 1201. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de albúmina de suero bovino (ASB) por gramos de extracto seco y en porcentaje.

La determinación de carbohidratos solubles totales se llevó a cabo mediante el método del fenol-sulfúrico descrito por Dubois *et al.* (1956). Como estándar de referencia se utilizó glucosa y como blanco agua destilada. Para la determinación se tomaron 200 μ l de extracto y se mezclaron con 200 μ l de una disolución de fenol al 5% y 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se agitó vigorosamente con ayuda de un Vortex y luego las muestras se colocaron en un baño de calentamiento a 100°C por 5 minutos. Finalmente las muestras se incubaron a 30°C en la oscuridad y se midió la absorbancia a 487 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV 1201. El procedimiento se realizó por triplicado. El contenido de carbohidratos solubles totales se expresó como equivalentes de glucosa en miligramos por gramo de peso seco y en porcentaje.

Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos fueron llevados a cabo con el programa STATISTICA v. 7.0 (StatSoft Inc., 1996). Para cada mes y a cada variable se determinó la media y el error estándar. Se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov–Smirnov y la prueba Levene de homogeneidad de varianza, para determinar el cumplimiento de las premisas necesarias para la selección de las pruebas adecuadas. Para determinar las diferencias entre las medias mensuales y los tratamientos se emplearon análisis de varianza y se aplicó la prueba paramétrica Newman–Keuls (SNK) de comparación de medias, a las variables que cumplieron las premisas. Las variables que no cumplieron con las premisas se compararon utilizando la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis con su correspondiente prueba de comparación múltiple por rangos. Se empleó el criterio de un nivel de significación estadístico de $p < 0,05$ para todas las pruebas realizadas.

RESULTADOS

Variaciones temporales en el crecimiento y la producción foliar

Se obtuvieron las medias mensuales y anuales y los errores estándar de nueve variables para el análisis de la variabilidad temporal de la productividad en el área de estudio (Tabla 1). Las variables evaluadas presentaron fluctuaciones en el período muestreado excepto la biomasa foliar y el ancho medio de las hojas (Figs. 2 y 3).

La biomasa foliar seca por unidad de área no presentó diferencias significativas entre los meses (Fig. 2A). El valor mínimo absoluto fue de $90,0 \text{ g m}^{-2}$ en enero y el máximo de $294,0 \text{ g m}^{-2}$ en julio. La producción diaria foliar presentó diferencias significativas entre los meses con la media más alta en abril de 2017 y las más bajas en noviembre de 2017 y enero de 2018. (Fig. 2B). Los valores oscilaron entre $1,68 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en noviembre y $8,13 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en abril de 2017. La tasa de reemplazo varió entre $1,6 \% \text{ d}^{-1}$ y $4,9 \% \text{ d}^{-1}$ en enero y abril de 2017, respectivamente. La mediana de esta variable resultó significativamente más alta en abril de ambos años y en julio, y menor en los meses restantes (Fig. 2C). La densidad de vástagos presentó valores entre 1000 y 3000 vástagos m^{-2} en abril de 2017 y julio, respectivamente. Se hallaron diferencias significativas entre las medias mensuales para esta variable, donde la más alta resultó para julio (Fig. 2D). En todos los meses el número de vástagos inicial fue igual al final, excepto en abril de 2018 que se hallaron dos vástagos nuevos en una de las muestras. En el mes de abril de ambos años se hallaron, además, flores y frutos.

Tabla 2. Media, error estándar de la media y resultado del análisis de varianza para cada una de las variables biológicas obtenidas en el estudio de producción foliar para cada mes y anual. F: estadígrafo del análisis de varianza; H: estadígrafo de la prueba de Kruskal-Wallis.

| Mes | Biomasa Foliar seca (g m ⁻²) | Producción Diaria (g m ⁻² d ⁻¹) | Tasa de Reemplazo (% d ⁻¹) | Densidad de Vástagos (m ⁻²) | No. de Hojas por vástago | Largo de las Hojas (cm) | Ancho de las Hojas (mm) | IAF |
|--------------|---|---|---|--|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Estadígrafo | F = 2,0849 p = 0,1129 | F = 10,9077 p = 0,0000 | H = 18,9677 p = 0,0008 | F = 3,2387 p = 0,0285 | F = 24,9883 p = 0,0000 | F = 5,1674 p = 0,0036 | F = 0,7798 p = 0,5489 | F = 4,5438 p = 0,0068 |
| Abril-17 | 164,8 ± 16,7 | 6,46 ± 0,61 | 3,96 ± 0,24 | 1616,7 ± 147,0 | 2,52 ± 0,05 | 9,26 ± 0,63 | 8,03 ± 0,26 | 3,00 ± 0,33 |
| Julio-17 | 220,2 ± 22,1 | 4,89 ± 0,48 | 2,22 ± 0,07 | 2350,0 ± 185,7 | 2,14 ± 0,04 | 11,89 ± 0,49 | 8,54 ± 0,11 | 5,15 ± 0,54 |
| Noviembre-17 | 153,7 ± 24,6 | 2,97 ± 0,44 | 1,95 ± 0,08 | 1800,0 ± 126,5 | 1,99 ± 0,03 | 9,79 ± 0,71 | 8,63 ± 0,45 | 3,08 ± 0,45 |
| Enero-18 | 149,9 ± 20,8 | 2,67 ± 0,29 | 1,83 ± 0,10 | 1733,3 ± 229,0 | 2,37 ± 0,07 | 8,65 ± 0,35 | 8,04 ± 0,36 | 2,89 ± 0,48 |
| Abril-18 | 199,8 ± 21,9 | 4,26 ± 0,45 | 2,17 ± 0,19 | 1650,0 ± 117,6 | 2,79 ± 0,10 | 9,36 ± 0,50 | 8,27 ± 0,29 | 3,57 ± 0,37 |
| Media anual | 177,7 ± 10,3 | 4,25 ± 0,32 | 2,43 ± 0,16 | 1830,0 ± 85,1 | 2,36 ± 0,06 | 9,79 ± 0,31 | 8,30 ± 0,14 | 3,54 ± 0,24 |

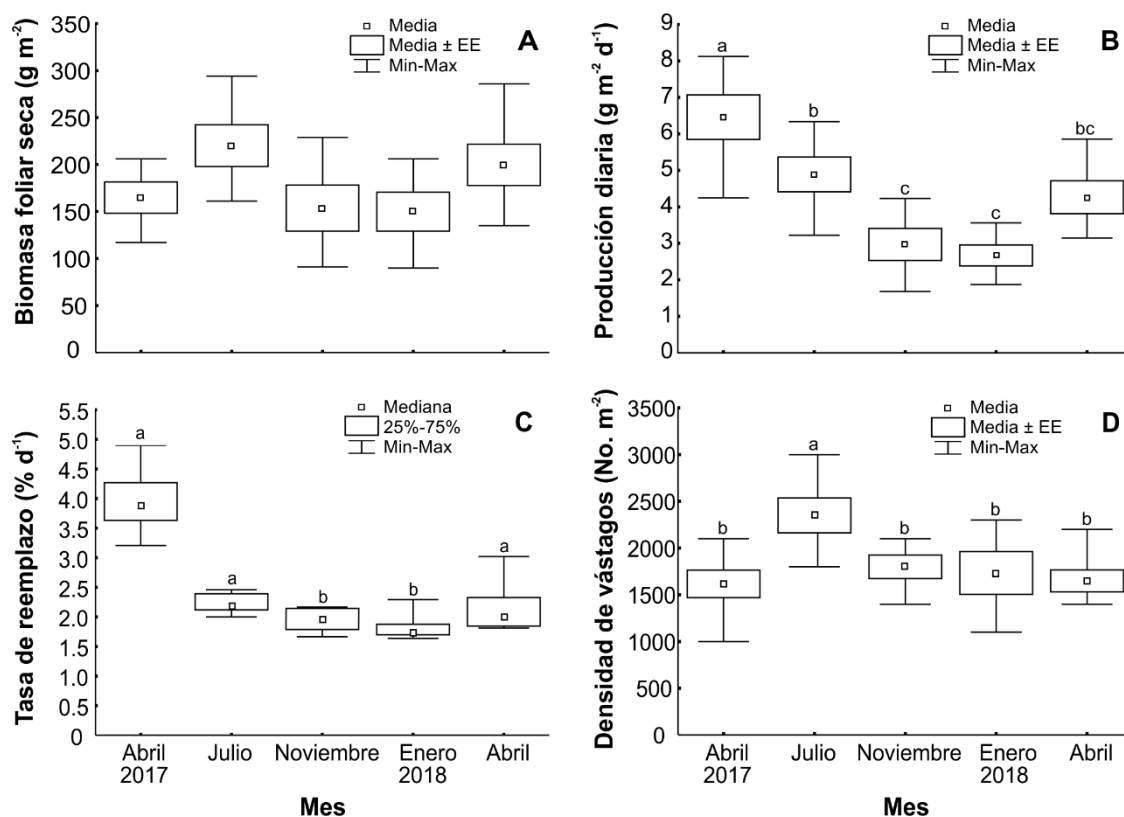


Figura 2. Variaciones temporales en la biomasa seca foliar (A), producción diaria foliar (B), tasa de reemplazo (C) y densidad de vástagos (D) de *T. testudinum* en la pradera estudiada cada tres meses desde abril de 2017 hasta abril de 2018.

El número de hojas por vástago presentó un valor mínimo de 1,9 en noviembre y un máximo de 3,2 en abril de 2018. Se hallaron diferencias entre las medias mensuales con los valores mayores en abril de 2018 y los menores en julio y noviembre (Fig. 3A). El largo de las hojas tuvo un valor mínimo de 7,2 cm en abril de 2017 y un máximo de 13,5 cm para julio. Se encontraron diferencias significativas entre las medias mensuales, con el valor más alto en julio (Fig. 3B). Respecto al ancho de las hojas no se hallaron diferencias significativas entre las medias mensuales y se encontraron valores entre 6,8 y 10,0 mm, en enero y noviembre, respectivamente (Fig. 3C). El índice de área foliar, calculado a partir del largo y ancho de las hojas, el número de hojas por vástago y la densidad de vástagos por unidad de área, estuvo determinado por el primer, tercer y cuarto parámetros pues el ancho de las hojas no varió de

forma significativa (Fig. 3). Este índice presentó el valor mínimo (1,72) en enero y el máximo (7,05) en julio, con diferencias significativas entre los meses. Esta variable fue más alta en julio que en los meses restantes.

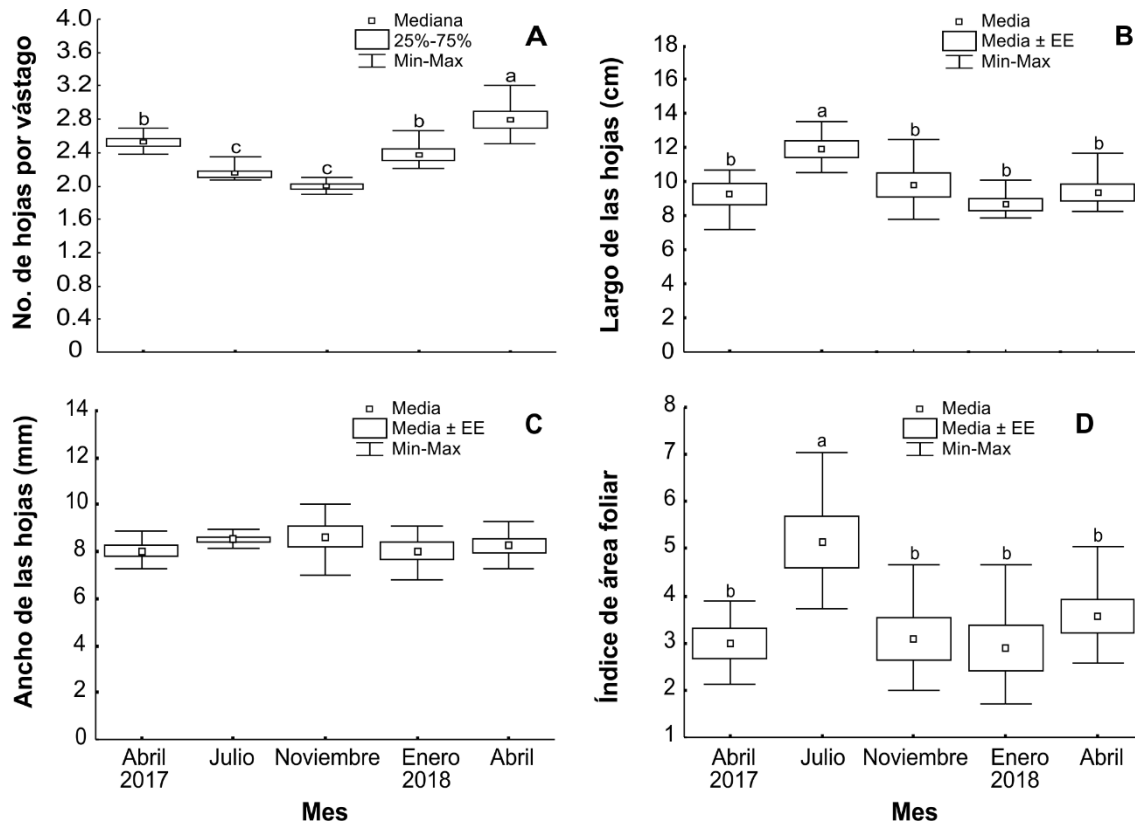


Figura 3. Variaciones temporales en el número de hojas por vástago (A), largo de las hojas (B), ancho de las hojas (C) e índice de área foliar (D) de *T. testudinum* en la pradera estudiada cada tres meses desde abril de 2017 hasta abril de 2018.

Las macroalgas epífitas encontradas pertenecieron al grupo de las coralinas costrosas y las filamentosas, con predominio del primero. La biomasa seca de las macroalgas epífitas tuvo un valor mínimo de 1 g m^{-2} en julio y un máximo de $132,1 \text{ g m}^{-2}$ en enero de 2018 (Fig. 4). En julio disminuyó de forma significativa, mientras que el resto de los meses no presentaron diferencias entre ellos.

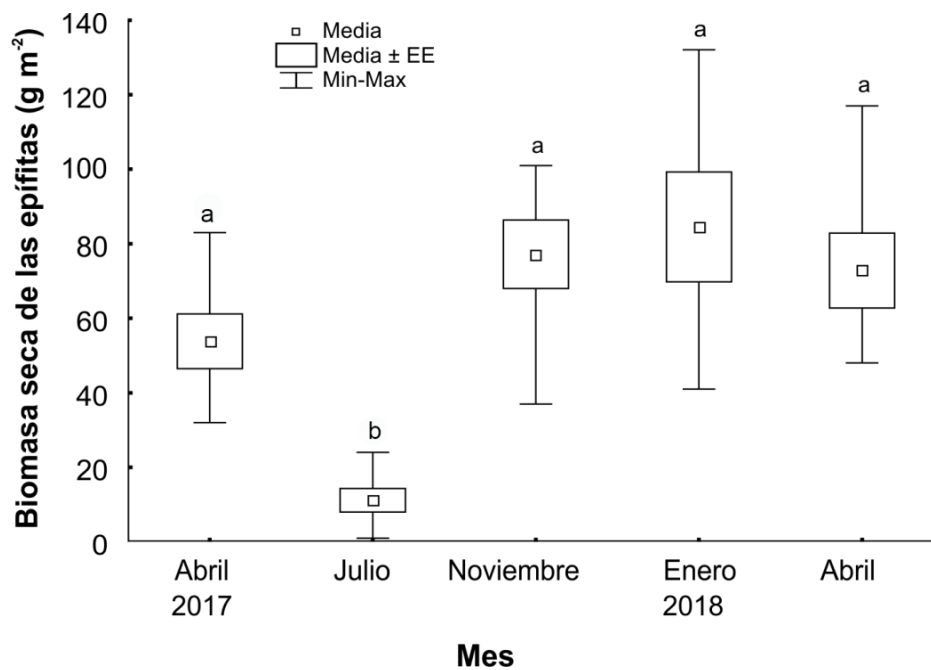


Figura 4. Variación temporal de la biomasa seca de las macroalgas epífitas sobre las hojas de *T. testudinum* en la pradera estudiada desde abril de 2017 hasta abril de 2018.

Se registraron los valores de temperatura durante todos los meses que se realizaron los muestreos, a excepción de noviembre de 2017 y abril de 2018 (Fig. 5). Durante este período se encontró el valor mínimo en enero de 2018 (23,97°C) y el máximo en julio (31,68°C). La curva de valores representada en la figura 5 muestra la variación temporal de esta variable. La temperatura tendió al aumento desde abril hasta julio, luego alcanzó valores máximos entre julio y septiembre y tendió a la disminución desde septiembre con valores mínimos en enero y febrero de 2018.

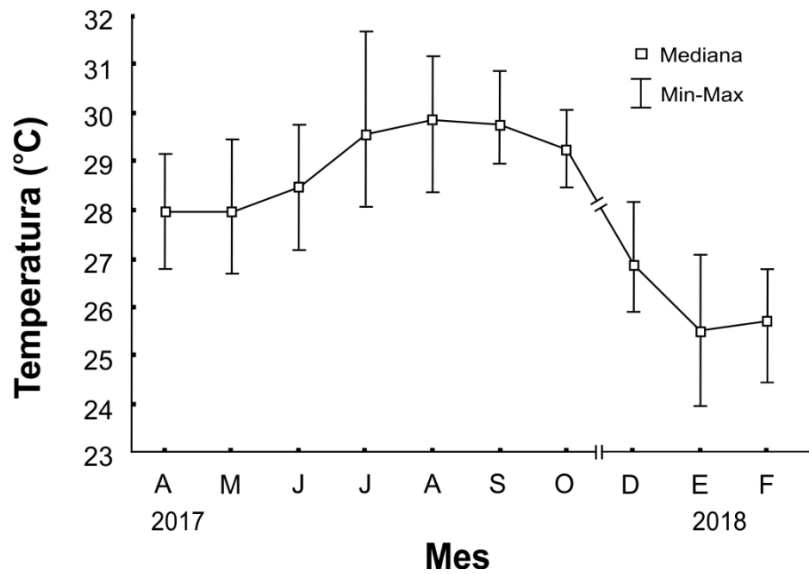


Figura 5. Variación temporal de la temperatura del mar desde abril de 2017 hasta febrero de 2018, aproximadamente a 800 m de la pradera estudiada.

Las variables en general mostraron fluctuaciones temporales variables que no concuerdan de forma total con el comportamiento anual de la temperatura. La producción foliar diaria presentó el valor máximo en abril, lo que no coincide con los máximos de temperatura en julio, mientras que los valores mínimos de ambas variables se registraron en enero (Fig. 6).

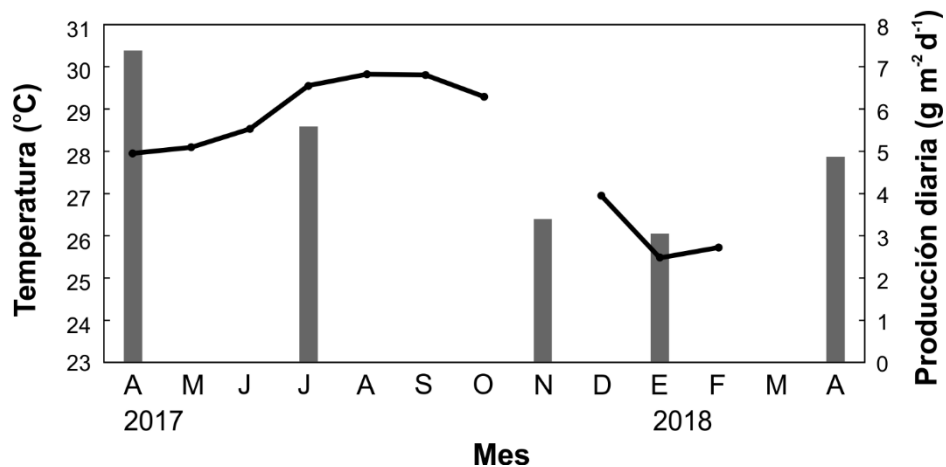


Figura 6. Variación temporal de la temperatura del mar (línea) y la producción foliar diaria (barras) desde abril de 2017 hasta abril de 2018, no se encuentran los valores de temperatura de noviembre, marzo de 2018 y abril de 2018.

Aunque no se detectaron diferencias significativas en la biomasa foliar seca en el periodo estudiado, presentó sus valores máximos en julio y los menores en enero, coincidiendo con los máximos y mínimos de la temperatura. El largo de las hojas, la densidad de vástagos y el IAF presentaron tendencias poco variables, pero que se correspondieron con las fluctuaciones de la temperatura con valores máximos significativos en julio. Por otra parte, la biomasa seca de las epífitas presentó poca variabilidad y fluctuó de manera contraria a la temperatura. En julio se encontró el valor mínimo de la biomasa seca de las epífitas y el máximo de esta variable abiótica (Fig. 7).

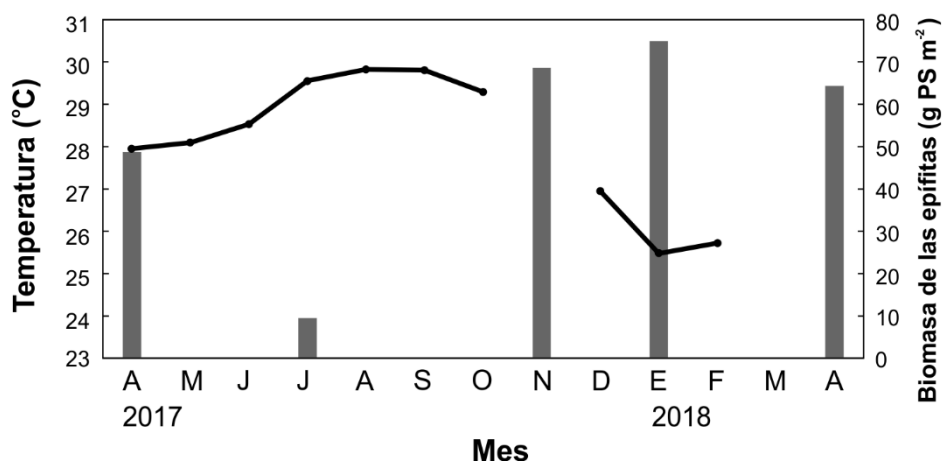


Figura 7. Variación temporal de la temperatura del mar (línea) y la biomasa seca de las epífitas (barras) desde abril de 2017 hasta abril de 2018, no se encuentra los valores de temperatura de noviembre, marzo de 2018 y abril de 2018.

El porcentaje de hojas enteras, sin ápice (no por causa de la herbivoría) y con huellas por herbivoría varió significativamente durante el año de muestreo (Tabla 2). En julio se encontraron las mayores medianas de hojas con huellas por herbivoría y de hojas sin ápice, y por tanto, la menor mediana de hojas enteras. La menor mediana de hojas con huellas de herbivoría se encontró en abril de 2018, mientras que la menor mediana de hojas sin ápices se halló en

abril de ambos años. Las mayores medianas de hojas enteras correspondieron a abril de 2017 y a enero de 2018 (Fig. 8).

Tabla 2. Resultado de la prueba Kruskal-Wallis para el análisis de las diferencias entre las medianas mensuales del porcentaje de hojas enteras, sin ápice (no por herbivoría) y con huellas de herbivoría (significativo para $p < 0,05$).

| Variabes | H | P |
|--------------------------|---------|--------|
| Hojas enteras (%) | 13,6460 | 0,0085 |
| Hojas sin ápice (%) | 12,1507 | 0,0163 |
| Hojas con herbivoría (%) | 16,0812 | 0,0029 |

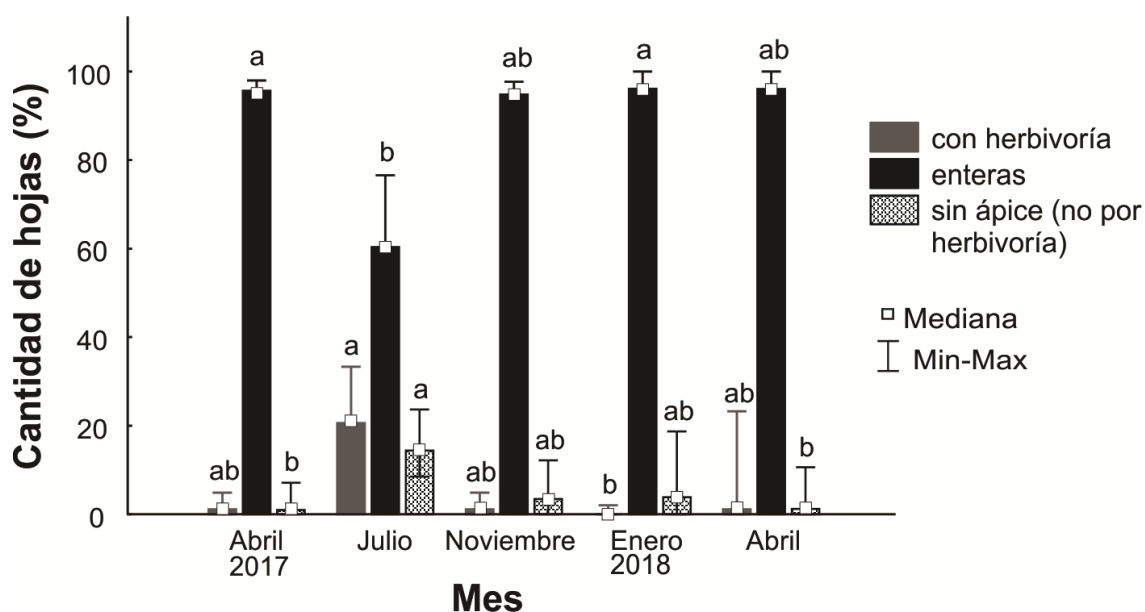


Figura 8. Variación temporal del porcentaje de herbivoría, hojas sin ápice y enteras de *T. testudinum* en la pradera estudiada cada tres meses desde abril de 2017 hasta abril de 2018.

Efectos de la poda de las hojas

Los resultados obtenidos del análisis de varianza de las variables medidas entre los tratamientos de corte y el control, al finalizar el año de

experimentación, se muestran en la Tabla 3. No se encontraron diferencias significativas en la biomasa foliar (Fig. 9A), en la biomasa de rizomas (Fig. 9B), en la densidad de vástagos (Fig. 9C) y en la cantidad de frutos por tratamiento (Fig. 9D) entre los tratamientos y el control. Las diferencias significativas resultaron en las dimensiones de las hojas, en el IAF y en la cantidad de flores por tratamiento (Fig. 9D-G). El tratamiento T3 (cortes cada 120 días), con el mayor valor promedio de ancho de las hojas, presentó diferencias significativas respecto a los demás tratamientos y el control (Fig. 9F). Para el largo de las hojas y el IAF, tanto el control, como los cortes a intervalos de 120 días (T3) presentaron valores medios significativamente mayores respecto a los tratamientos sometidos a cortes más frecuentes (Fig. 9D, E). La menor cantidad de flores correspondió al tratamiento de aplicar cortes a intervalos de 90 días. Se encontraron flores y frutos en diferentes estadios de desarrollo.

La tabla 4 muestra los resultados del análisis del contenido de carbohidratos y proteínas solubles para los tratamientos y el control. Los carbohidratos solubles fueron superiores en los rizomas (267.54 mg g^{-1}) respecto a las hojas (117.07 mg g^{-1}) ($F = 21,881$, $p = 0,0009$), pero no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y el control en ninguna de las dos partes de la planta ($F = 0,527$, $p = 0,668$), ni en la interacción entre ambos factores ($F = 1,187$, $p = 0,3355$) (Fig. 10A). En cuanto al contenido de proteínas no se hallaron diferencias en ninguno de estos casos ($F = 3,010$, $p = 0,0955$; $F = 2,5774$, $p = 0,0773$; $F = 0,6361$, $p = 0,5991$, respectivamente) (Fig. 10B).

Tabla 3. Media, error estándar de la media y resultado del análisis de varianza para cada una de las variables biológicas obtenidas en el experimento de corte de hojas (n = 32).

| Tratamiento | Biomasa Foliar Seca (g m ⁻²) | Biomasa de Rizomas (g m ⁻²) | Densidad de Vástagos (m ⁻²) | Ancho de las hojas (cm) | Largo de las hojas (cm) | IAF | No. de Flores (m ⁻²) | No. de Frutos (m ⁻²) |
|-------------|--|---|---|--------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Estadígrafo | F = 0,96367 p = 0,44148 | F = 0,78209 P = 0,52645 | F = 0,86478 P = 0,48591 | F = 5,0788 P = 0,0169 | F = 5,7461 P = 0,0113 | F = 95,024 p = 0,000 | H = 9,2977 P = 0,0256 | H = 6,7303 P = 0,08017 |
| 60 días | 2,0 ± 0,6 | 77,5 ± 14,5 | 32,5 ± 3,5 | 8,1 ± 0,3 | 6,8 ± 0,2 | 0,9 ± 0,5 | 3,0 ± 0,8 | 2,0 ± 2,8 |
| 90 días | 3,1 ± 1,1 | 70,7 ± 24,3 | 36,3 ± 10,8 | 7,7 ± 0,2 | 7,6 ± 0,7 | 1,0 ± 0,7 | 1,3 ± 1,3 | 0,3 ± 0,5 |
| 120 días | 2,9 ± 1,1 | 62,8 ± 10,4 | 39,0 ± 5,7 | 9,5 ± 0,5 | 11,8 ± 1,5 | 2,0 ± 1,2 | 5,0 ± 1,8 | 1,5 ± 1,0 |
| Control | 2,6 ± 0,8 | 80,3 ± 18,5 | 40,3 ± 7,5 | 8,4 ± 0,3 | 11,3 ± 1,3 | 1,7 ± 0,9 | 7,3 ± 4,4 | 3,5 ± 1,9 |

Tabla 4. Contenido de carbohidratos solubles y proteínas en hojas y rizomas en los diferentes tratamientos (n = 32).

| Tratamiento | Carbohidratos en hojas (mg g ⁻¹) | Carbohidratos en rizomas (mg g ⁻¹) | Proteínas en hojas (mg g ⁻¹) | Proteínas en rizomas (mg g ⁻¹) |
|-------------|--|--|--|--|
| 60 días | 106,1 ± 16,9 | 180,2 ± 28,1 | 15,8 ± 4,2 | 13,1 ± 2,1 |
| 90 días | 103,1 ± 17,1 | 345,1 ± 100,9 | 13,2 ± 3,6 | 5,5 ± 0,9 |
| 120 días | 151,7 ± 37,4 | 211,9 ± 28,7 | 27,9 ± 10,6 | 13,5 ± 3,7 |
| Control | 107,4 ± 28,5 | 332,9 ± 90,7 | 10,6 ± 2,7 | 9,3 ± 2,2 |

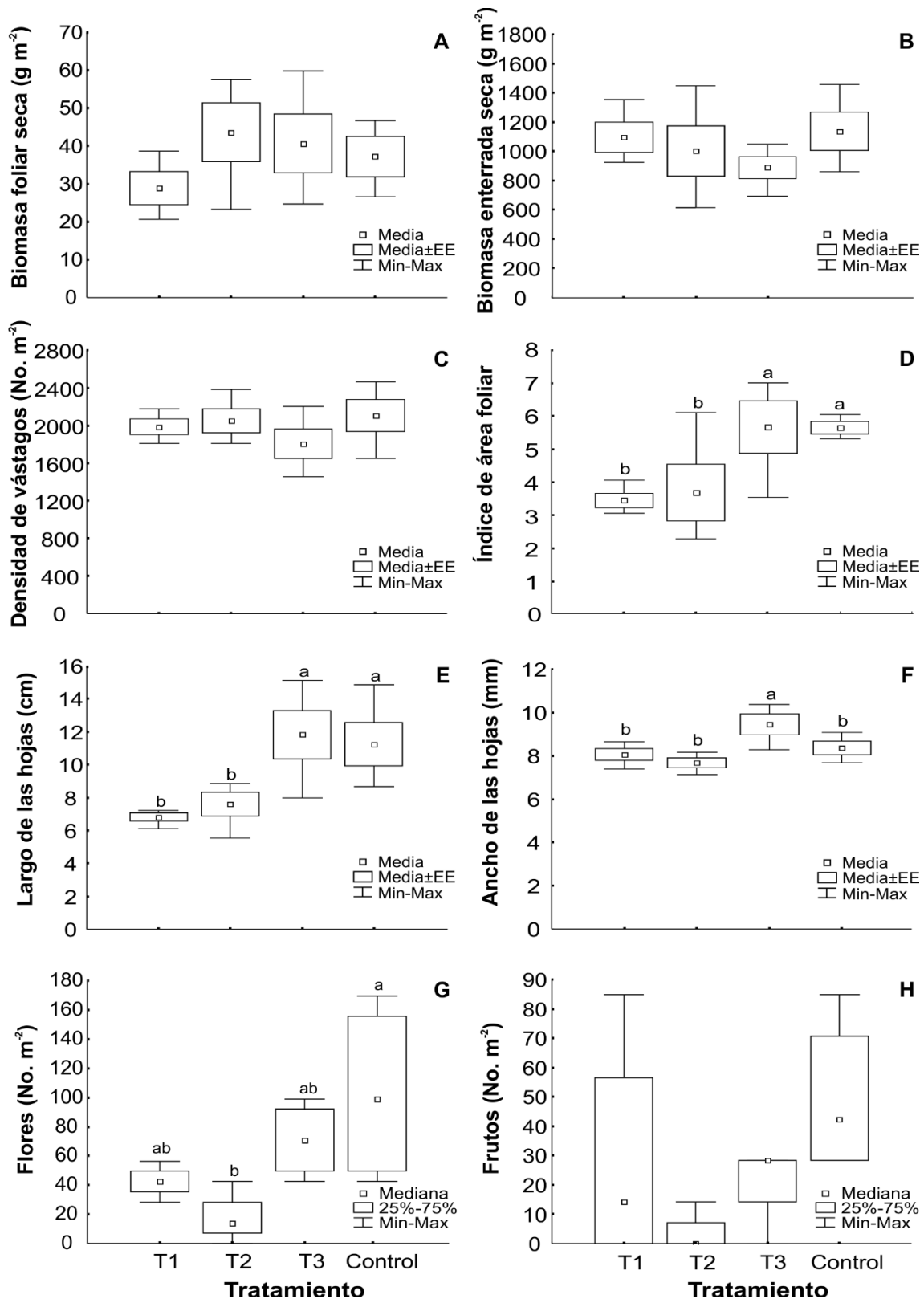


Figura 9. Resultados de los tratamientos aplicados sobre la biomasa foliar (A), la biomasa enterrada (B), el largo de las hojas (C), el ancho de las hojas (D), la densidad de vástagos (E), el número de frutos (F), el número de flores (G) y el índice de área foliar (H).

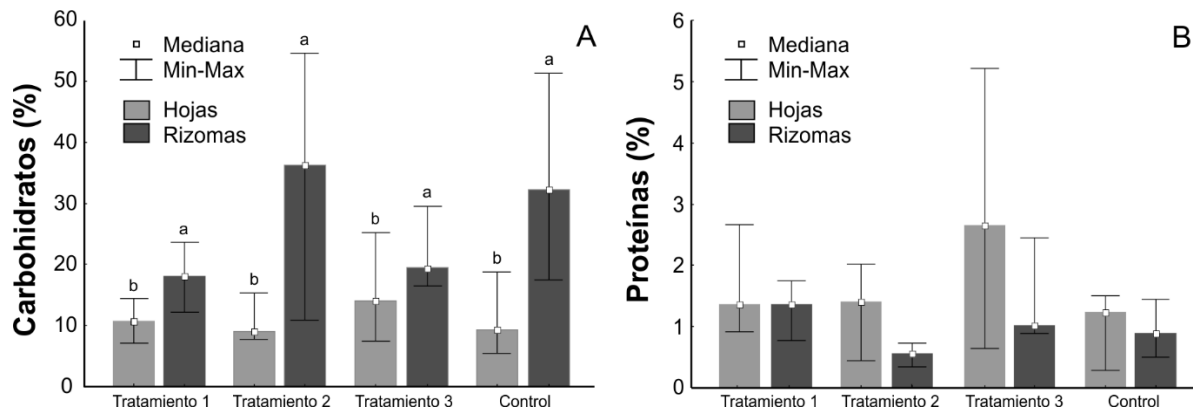


Figura 10. Contenido de carbohidratos (A) y proteínas (B) solubles en las hojas y rizomas en los diferentes tratamientos.

DISCUSIÓN

Variaciones temporales en el crecimiento y la producción foliar

El patrón estacional típico de la biomasa y la tasa de crecimiento en las praderas templadas sigue los cambios de la energía solar y la temperatura, con un aumento en primavera, valores más altos durante los meses de verano y un subsecuente declive en otoño y valores mínimos en invierno (Lee *et al.*, 2007). En las regiones subtropicales y tropicales la tendencia estacional es más débil y depende de otros factores ambientales locales tales como las precipitaciones y la hidrodinámica (Martínez-Daranas *et al.* 2005; van Tussenbroek *et al.* 2014).

Para analizar la estacionalidad en la dinámica de los pastos marinos se deben tener en cuenta la temperatura y la radiación solar, pues constituyen factores abióticos muy relacionados con las variaciones temporales en los productores primarios. El sensor de temperatura empleado en esta investigación registró los valores máximos para el mes de julio, mientras que los mínimos para el mes de enero. Aunque no se contó con mediciones de radiación solar en la zona de estudio, se ha observado que Cuba recibe altos valores de radiación solar durante todo el año, con los valores más altos de la media mensual en los períodos abril-mayo y julio-agosto y los menores entre noviembre-enero, en la estación meteorológica Casablanca (a 30 km aproximadamente del área de estudio) (Campos y Vigón, 1989). Una tendencia semejante fue observada por Martínez-Daranas *et al.* (2005) y González (2016) en otras zonas de la costa norte de La Habana. Estas variaciones en la radiación solar dependen de la nubosidad, la cual aumenta con el paso de diversos fenómenos meteorológicos, como tormentas tropicales (período lluvioso) o sistemas frontales (período poco lluvioso), donde enero presenta el mayor número de estos sistemas frontales (Bárcenas y Borrajero, 2012).

No solo estos factores abióticos condicionan las respuestas temporales de los pastos marinos, sino que también pueden influir los procesos locales de origen natural o antrópico. Tanto los fenómenos meteorológicos naturales como la

eutrofización pueden aumentar el contenido de nutrientes y generar turbidez en la columna de agua. Los pastos marinos muestran sensibilidad al estrés ambiental, lo que se evidencia en su plasticidad fenotípica (Gladstone-Gallagher *et al.*, 2018). El N por lo general, es limitante en estos ecosistemas pero cuando se encuentra en exceso provoca cambios en la estructura y abundancia de las angiospermas marinas (Woodland *et al.*, 2015). La eutrofización por causas antropogénicas locales conduce al declive de los pastos marinos debido a que estimula el crecimiento explosivo de fitoplancton, macroalgas bentónicas y macroalgas epífitas filamentosas que limitan el paso de la luz a las macrófitas sumergidas (Yang *et al.*, 2018). El manglar adyacente al área de estudio, así como los asentamientos urbanos en la línea de costa pueden estar contribuyendo a la entrada de nutrientes en la pradera. La presencia de *S. filiforme*, de algas filamentosas y de epífitas sobre las hojas de *T. testudinum* evidencian la existencia de un aporte de nutrientes (Aguilera, 2017). No obstante, no se evidencian considerables cambios en la composición de la pradera que indiquen alto grado de eutrofización.

Los valores de biomasa foliar y densidad de vástagos de *T. testudinum* en la pradera estudiada se hallan entre los más altos del Caribe (van Tussenbroek *et al.* 2014). La media anual de la biomasa foliar se encuentra en el rango reportado para el norte de La Habana por Martínez-Daranas *et al.* (2005) y es comparable con la media hallada por Buesa (1974) en la región noroccidental de la plataforma marina cubana. La densidad media de vástagos fue superior a las reportadas para otras áreas de Cuba (Martínez-Daranas *et al.* 2005, 2009, 2014; van Tussenbroek *et al.* 2014). No obstante, el tamaño de la unidad de muestreo en este estudio para la estimación de estas dos variables difiere de la empleada en los otros trabajos citados.

No se observaron diferencias entre las medias mensuales de la biomasa foliar, aunque el valor máximo se encontró en julio. Por otra parte, la densidad de vástagos presentó un incremento significativo en julio respecto a los otros meses. Esto difiere de los resultados de otras investigaciones realizadas en Cuba que

hallaron aumentos en estos dos parámetros entre marzo y abril y una disminución entre enero y febrero (Buesa, 1974; Jiménez y Alcolado, 1989; Martínez-Daranas *et al.* 2005, 2009). Sin embargo, la época de mayor crecimiento de esta especie para la región del Caribe se encuentra entre marzo y agosto y la de bajo crecimiento entre septiembre y febrero (van Tussenbroek *et al.* 2014), lo cual coincide con los resultados del presente trabajo.

Las diferencias entre las medias mensuales en la densidad de vástagos, el largo de las hojas y el índice de área foliar solo se presentaron entre la media mensual de julio con el resto de los meses. En julio se halló el valor máximo de temperatura lo que puede explicar las medias mayores en este mes para estas variables biológicas. En enero no se encontraron valores mínimos significativos para estas variables a pesar de ser uno de los meses con más baja radiación solar y el mes con valores de temperatura más bajos en el año de muestreo.

Para el resto de las variables biológicas también se observa una tendencia que no es posible explicar de forma completa por los cambios en la temperatura y la radiación solar. La media anual de la producción foliar diaria se encuentra en el rango reportado para otra zona al norte de La Habana por Martínez-Daranas *et al.* (2005). La producción foliar diaria media y la tasa de reemplazo media presentaron máximos en abril de 2017 y mínimos en enero de 2018, lo cual concuerda con otros estudios cubanos que reportan los valores más altos y más bajos para abril-mayo y enero-febrero, respectivamente (Buesa, 1974; Jiménez y Alcolado, 1989; Martínez-Daranas *et al.* 2005, 2009). Las medias más altas de ambos parámetros coinciden con el momento que comienzan a aumentar la temperatura y la radiación solar, después del período de menor radiación, según lo reportado en la estación de Casablanca, y de menor temperatura promedio. La productividad de *T. testudinum* se ha visto en otros estudios que aumenta durante los meses primaverales, sin embargo, puede reducirse con las elevadas temperaturas en los meses correspondientes al verano (Martínez-Daranas *et al.* 2005, 2009). Las correlaciones negativas entre la productividad y la temperatura

del agua pueden desarrollarse para esta especie debido a que las altas temperaturas inhiben el crecimiento (Lee *et al.*, 2007).

Por lo antes explicado, no se observó una tendencia estacional marcada en todas las variables analizadas, sino que es de suponer que otros factores ambientales determinaron en los resultados, o que las variaciones en estos factores abióticos no fueron lo suficientemente drásticas como para provocar fluctuaciones en estas variables biológicas. Entre los factores no estudiados que pudieran incidir en la variabilidad estacional de la producción foliar pudieran estar, la disponibilidad de nutrientes (Lee *et al.*, 2007), la incidencia de parámetros físicos como el oleaje (Martínez-Daranas *et al.* 2005), o la reproducción sexual que demanda recursos a la planta (Kaldy y Dunton, 2000). Los valores bajos de la producción foliar diaria y la tasa de reemplazo encontrados para abril de 2018 respecto a los de abril de 2017, pueden ser explicados por el efecto del paso del huracán Irma a principios de septiembre de 2017. Este huracán, si bien su trayectoria no pasó por el área de estudio, provocó un fuerte oleaje en toda la costa norte de La Habana, lo que puede conducir a la rotura de las hojas. Este factor ambiental también pudo haber incidido en la respuesta temporal de las variables analizadas anteriormente.

El epifitismo puede influir de forma negativa sobre las variaciones temporales en la producción foliar de los pastos marinos. La comunidad de epífitas puede llegar a representar el 50% de la biomasa en pie en una pradera marina y contribuir entre el 40 y el 60% a la producción primaria en estos ecosistemas (Borowitzka *et al.*, 2006). En una pradera de *Thalassia*, pueden llegar a contribuir hasta el 24% de la biomasa foliar total (van Tussenbroek *et al.*, 2006). En la pradera estudiada, la media anual de la biomasa seca de las epífitas representó aproximadamente el 25,2% de la biomasa total media anual. No obstante, se debe tener en cuenta que no se realizó descalcificación, lo que podría sobreestimar este valor en comparación a los hallados en otros estudios. En este estudio, la biomasa seca de las epífitas fue menor en julio y el valor máximo se encontró en enero. Para otras regiones tropicales y subtropicales se ha observado que la biomasa de las epífitas sobre *T. testudinum* aumenta durante los meses de invierno, mientras que

disminuye con las altas temperaturas (Frankovich y Zieman, 2005), similar a lo hallado en esta investigación. La tasa de producción diaria, la tasa de reemplazo y el índice de área foliar presentaron una variación temporal contraria a la biomasa seca de las epífitas. Estos parámetros ejercen control sobre la carga de epífitas (Peterson *et al.*, 2007; Prado, 2018). A pesar de que en julio se encontró la mayor media del IAF, y con ello, mayor superficie para el asentamiento de las epífitas respecto a los otros meses, en este mes se halla también la mayor tasa de producción diaria y de reemplazo, lo que implica mayor recambio del tejido foliar. Otros factores que no fueron analizados en este trabajo y que pueden explicar estas diferencias son la disponibilidad de nutrientes y los herbívoros que se alimentan de las epífitas (Peterson *et al.*, 2007; Prado, 2018) como controles de abajo hacia arriba y de arriba hacia abajo, respectivamente.

Por la forma en media luna de las cicatrices observadas en las hojas de *T. testudinum* se infiere que fueron dejadas por peces herbívoros en el transcurso del tiempo de muestreo (Molina-Hernández y van Tussenbroek, 2014). No se tiene información sobre las especies de peces herbívoros asociados al pastizal. En julio se encontró el mayor porcentaje de herbivoría, lo que coincide con lo reportado para *Posidonia oceanica* (Linnaeus) Delile en aguas templadas, cuyo valor máximo en este mes se corresponde con el pico máximo en la población de peces herbívoros (Tomas *et al.*, 2005). No se encontraron marcas en las hojas, pero se observaron erizos fuera del área de experimentación. La diversidad y densidad de erizos no se tuvo en cuenta en este estudio.

En la presente investigación se hallaron flores y frutos en abril de 2017 y de 2018. Estos frutos se han encontrado en un estadio primario (< 20-25 mm; van Tussenbroek *et al.*, 2006), o sea, no se encontraron en este mes en su tamaño potencial. En la mayoría de las localidades donde se ha estudiado la floración de *T. testudinum* se ha encontrado que es claramente estacional (van Tussenbroek *et al.*, 2006). La estación reproductiva varía para cada área, pero en general se encuentra entre marzo y septiembre (van Tussenbroek *et al.*, 2006). En el caso del Golfo de México, la estación reproductiva va de marzo a octubre, con máximos

para la producción de flores y frutos en abril y julio, respectivamente (van Tussenbroek *et al.*, 2010). Los meses en los que se han encontrado flores en la plataforma noroccidental de Cuba son abril y mayo y los frutos en julio (Buesa 1974).

La reproducción sexual permite la variación genética y posibilita la estabilidad a largo plazo de las poblaciones de pastos marinos (van Tussenbroek *et al.*, 2010). Determinar la estación reproductiva en el área de estudio permite tomar medidas para reforzar la conservación de las estructuras reproductivas y vegetativas durante dicho período. Se debe profundizar en el estudio de la reproducción en futuras investigaciones.

Efectos de la poda de las hojas

Los tratamientos de corte aplicados durante el año de experimentación no afectaron de forma significativa la biomasa foliar, la biomasa enterrada, ni la densidad de vástagos de *T. testudinum* en el área de estudio. Los efectos significativos se observaron en el largo y ancho de las hojas, y por tanto, en el IAF.

Las frecuencias de cortes empleadas en cada tratamiento fueron igual o mayor que 60 días. Los cortes aplicados a estos intervalos no afectaron la biomasa foliar seca transcurrido un año de experimentación. Otros trabajos en distintas zonas del Caribe muestran que el restablecimiento de la biomasa foliar tras la poda ocurre en dos o tres meses (Taylor, 1973, Florida; Buesa, 1974, La Habana; Greenway, 1974, Jamaica). El análisis de la recuperación de la biomasa foliar realizado por Buesa (1974) mostró que el crecimiento de las hojas es mayor durante los primeros 15 días debido quizás al uso de la energía almacenada, o por un factor ambiental, o porque las hojas no están bajo el efecto del epifitismo ni del sombreado. Estas circunstancias favorecen una fotosíntesis más efectiva. A partir de los 16-35 días la productividad disminuye y los incrementos en el peso seco se hacen cada vez menores hasta que se logra un pico máximo alrededor de los 70 días (Buesa, 1974, Greenway, 1974). Buesa (1974) encontró en Playa Habana, significativas afectaciones sobre la producción de biomasa foliar cuando realizó

cortes a intervalos menores que 50 días. Daños mayores sobre las estructuras vegetativas, especialmente sobre la biomasa foliar, la biomasa enterrada y el ancho de las hojas se observaron a intervalos de corte entre 12-38 días (Moran y Bjordnal, 2005, 2007; van Tussenbroek y González, 2017).

Greenway (1974) encontró en su investigación que aunque las hojas se recuperaron sobre los 70 días, la biomasa foliar disminuyó de forma ligera en un año de cosecha tras realizar cortes a este intervalo de tiempo. Sin embargo, este autor no estableció un control (sin manipulación) para comparar con sus resultados, por lo que no está claro si la disminución en esta variable fue consecuencia de un año de poda continua o debido a variaciones temporales.

En el presente trabajo, la biomasa foliar no sufrió cambios considerables durante el año de experimentación respecto al control, no obstante, los cortes a intervalos menores de 120 días provocaron que las hojas fueran más pequeñas (más cortas y estrechas). La biomasa foliar no se afectó a pesar de la disminución en el IAF debido quizás a que otras variables como el número de hojas por vástagos y la densidad de vástagos aumentaron de forma no significativa en los marcos sometidos a cortes más frecuentes.

En estudios sobre la interacción planta-animal con tortugas verdes se ha reportado que el forrajeo continuo (< 32 días) en un mismo parche de *T. testudinum* disminuye la complejidad estructural de la pradera (hojas más cortas y estrechas) (Moran y Bjordnal, 2005, 2007; Lal *et al.*, 2010; Lacey *et al.*, 2014; van Tussenbroek y González, 2017). Las tortugas suelen retomar el forrajeo en el mismo parche debido a que posterior al primer corte, las hojas crecen con un mayor contenido de N, menor contenido de lignina y sin epífitas (Molina-Hernández y van Tussenbroek, 2014). Sin embargo, eventualmente las hojas son más pequeñas y el esfuerzo para consumirlas es mayor en comparación a las necesidades nutricionales, por lo que los quelonios abandonan el parche (Lacey *et al.*, 2014).

El continuo forrajeo en Bermuda en la década de 1990 trajo consigo en un principio la disminución de la complejidad estructural de la canopia y posteriormente el colapso de la pradera, debido al aumento del tamaño de las poblaciones de tortugas que competían por el alimento (Fourqurean *et al.*, 2010). La cosecha cada 120 días en este estudio es la más idónea en este sentido, ya que no afectó las dimensiones de las hojas durante un año de poda sucesiva.

Las concentraciones de carbohidratos y proteínas solubles en las hojas estimadas en este trabajo estuvieron en el rango reportado por Hernández *et al.* (2016) para el Rincón de Guanabo (Tabla 5). El contenido de proteínas en las hojas fue bajo en comparación a los resultados de otras investigaciones, pero los valores son similares a lo reportado anteriormente para el área de estudio (Tabla 5). Los valores de carbohidratos en los rizomas fueron superiores a los hallados por Fourqurean *et al.* (2010) y Lacey *et al.* (2014) en condiciones de alta herbivoría, y están dentro del rango de los reportados por otros autores en condiciones de ausencia a poda moderada (Dawes y Lawrence, 1979; Durako y Moffler, 1985; Coria-Monter y Duran-Campos, 2015; Tabla 5). Sin embargo, el contenido de estos metabolitos no varió de forma significativa con los tratamientos de corte respecto al control. A pesar de que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, la menor concentración promedio de carbohidratos en los rizomas correspondió a los marcos cuadrados sometidos a cortes más frecuentes (cada 60 días). Como era de esperar, las diferencias se encontraron en el contenido de carbohidratos entre los rizomas y hojas de la planta. Aunque este metabolito se puede encontrar en todas las partes de la planta formando granos de almidón, está en mayor concentración en los rizomas que constituyen los órganos de reserva energética (Peek y Clementz, 2012).

La recuperación de la biomasa foliar de los pastos marinos puede ser mayor en dependencia de la estación del año, debido a la variabilidad anual en las concentraciones de nutrientes en los rizomas. Por ejemplo, *P. oceanica* posee estacionalidad en sus reservas de energía (Wittmann y Ott, 1982). Estas reservas

garantizan la primera tasa de crecimiento en ausencia o con carencia de hojas, mientras que el resto del crecimiento de la planta depende de la fotosíntesis (Wittmann y Ott, 1982). El efecto de la defoliación le resulta menor solo en otoño cuando utiliza como principal depósito de energía carbohidratos solubles (almidón) (Wittmann y Ott, 1982). En el resto del año la subsistencia de esta especie depende de su tejido fotosintético. Por tanto, no está adaptada a soportar considerables extracciones del área foliar (Wittmann y Ott, 1982).

Tabla 5. Rangos del contenido de carbohidratos solubles y proteínas en hojas y rizomas registrados para *T. testudinum* (%).

| Carbohidratos en hojas | Carbohidratos en rizomas | Proteínas en hojas | Proteínas en rizomas | Fuente |
|------------------------|--------------------------|--------------------|----------------------|------------------------------------|
| 5,5-11 | 21-51 | 5,1-17,3 | 4,8-13,6 | Dawes y Lawrence (1979) |
| 9,9-16,1 | 19,4-31,8 | 2,4-5,1 | 1-2,8 | Durako y Moffler (1985) |
| 9-17 | | 8-12 | | Dawes (1986) |
| | 8,7-13,0 | | | Fourqurean <i>et al.</i> (2010) |
| 6,8-26,7 | | 0,3-4,1 | | Hernández <i>et al.</i> (2012) |
| | 5,1-15,3 | | | Lacey <i>et al.</i> (2014) |
| | 37,3 | | 8,5 | Coria-Monter y Duran-Campos (2015) |
| 10,6-15,2 | 18-34,5 | 1,1- 2,8 | 0,5-1,4 | Estudio actual |

Las reservas almacenadas en los rizomas de *T. testudinum*, también son críticas para su supervivencia y regeneración durante extensos períodos de reducción de la luz o en respuesta a la defoliación (Dawes y Lawrence, 1979). Bajo estas condiciones de estrés, los carbohidratos solubles son la primera reserva movilizada en los rizomas (Dawes y Lawrence, 1979). En la zona subtropical, en bahía Tampa, Florida, los mayores niveles de carbohidratos solubles aumentan desde el verano hasta el otoño (Dawes y Lawrence, 1980). Los niveles de lípidos y proteínas son más elevados en las hojas y estos últimos se encuentran en mayor cuantía en el verano sugiriendo la elevada actividad celular durante esta estación

(Dawes y Lawrence, 1980). El contenido de lípidos es bajo en todos los órganos y no presenta un patrón estacional ni varía con el efecto de la defoliación. Por otra parte el nivel calórico disminuye en los vástagos y rizomas de las hojas cortadas debido a los bajos niveles de constituyentes orgánicos (Dawes y Lawrence, 1979). Estos autores no hallaron diferencias en el contenido de proteínas entre los rizomas de las plantas cosechadas y no cosechadas. Sin embargo, obtuvieron los niveles superiores de proteínas en las hojas regeneradas de las plantas cortadas.

El análisis temporal de las reservas de carbohidratos y proteínas solubles en las hojas de *T. testudinum* en el Rincón de Guanabo mostró que existe variabilidad anual en estos metabolitos con valores superiores en octubre y noviembre (período lluvioso) (Hernández *et al.*, 2016). Estudios sobre la variabilidad temporal de estos compuestos en rizomas no se han llevado a cabo. Se requiere por tanto, la realización de los mismos en esta zona y de otros que comparen la recuperación de la biomasa foliar tras la poda entre los períodos de lluvia y seca.

La biomasa enterrada seca (raíces y rizomas) no disminuyó de forma significativa con la aplicación de los tratamientos, ni el contenido de nutrientes posterior a continuos cortes, lo que difiere de otros estudios (Dawes *et al.*, 1979; Moran y Bjordnal, 2005, 2007; Fourqurean *et al.*, 2010; van Tussenbroek y González, 2017). Estos autores plantearon que la disminución de la biomasa enterrada se debe al agotamiento de las reservas por el empleo de las mismas en la recuperación de la biomasa foliar, y por la carencia de tejido fotosintético que limita el metabolismo del carbono, la formación de almidón en estos órganos de la planta, así como la formación de estructuras constituyentes. Las diferencias entre sus resultados y los de esta investigación pueden estar dadas por los menores intervalos de forrajeo en comparación con los intervalos de corte empleados en el actual experimento, o porque en la presente investigación no se emplearon cortes en los rizomas en el perímetro de los marcos cuadrados. Respecto a este último argumento, estas plantas tienen la capacidad de transportar nutrientes desde los

rizomas de los vástagos no dañados hasta los dañados para sustentar el crecimiento luego del forrajeo, lo que les confiere cierta resistencia ante la defoliación (Moran y Bjordnal, 2005, 2007). Como en este experimento no se realizaron cortes en los rizomas en los límites de los marcos cuadrados, los vástagos adyacentes puede que suplieran el déficit de nutrientes debido al estrés a causa de la defoliación; lo que pudo disminuir las posibilidades de variaciones significativas en la biomasa enterrada y el contenido de nutrientes entre los tratamientos y el control. La integración clonal es un componente clave para la resiliencia de los pastos marinos al forrajeo (Holzer *et al.*, 2016). Estos cortes no se realizaron porque era necesario imitar la forma exacta en la que se va a cosechar la especie en un futuro, y por tano, era importante conocer el efecto de la poda en presencia de la conexión con los rizomas adyacentes de los vástagos no sometidos a la poda.

Otro aspecto que pudo influir en que no hubiera cambios en la biomasa enterrada o en el contenido de carbohidratos en los rizomas, y que no se tuvo en cuenta en esta investigación, es el contenido de nutrientes en el medio circundante (sedimento y columna de agua). En nuestra área de estudio existen algunas fuentes de nutrientes tales como el manglar aledaño, el río Guanabo y los asentamientos urbanos a la orilla de la playa. Evaluaciones hidroquímicas en el Rincón de Guanabo realizadas en el año 2016 y en mayo y julio de 2017 muestran que la zona presenta características eutróficas al menos en junio y julio por las elevadas concentraciones de amonio y nitrato en la columna de agua. Esto corrobora que existe un aporte efectivo de nutrientes en el período lluvioso.

En general, se plantea que las plantas marinas o terrestres incrementan su crecimiento en respuesta a la pérdida de biomasa foliar debido a la herbivoría. Para lograr esto, las plantas afectadas aumentan la absorción de nutrientes desde el medio circundante o los obtienen de los ramets integrados fisiológicamente (Valentine *et al.*, 2004; Valentine y Duffy, 2006). *T. testudinum* responde a la

defoliación aumentando su producción con diferentes estrategias de crecimiento (aumento de la longitud de las hojas, el ancho de las hojas, la densidad de hojas o la densidad de vástagos) si presenta una entrada efectiva de nutrientes (Holzer *et al.*, 2016). Estas respuestas en las formas de crecimiento mediadas por los nutrientes generan consecuencias variables para la función del ecosistema, como la calidad del hábitat para peces o las tasas de producción de sedimentos (Holzer *et al.*, 2016).

Las respuestas pueden variar con la cantidad y la duración del aporte de nutrientes y con el tiempo que esté la pradera sometida a la defoliación (Holzer *et al.*, 2016). Por ejemplo, Holzer *et al.* (2016) encontró que en ausencia de una fuente de nutrientes la pradera sometida a cortes aumentó en un inicio el reclutamiento, pero a largo plazo (dos años) disminuyó de forma significativa la densidad de vástagos. Además, encontró que en presencia de una fuente de nutrientes, la respuesta en un año fue al aumento de la densidad de hojas y en dos años al aumento de la densidad de vástagos. Es probable que en nuestra área de estudio las praderas respondan de forma diferente si se extiende por más tiempo la defoliación al menos para los tratamientos de cortes más frecuentes. Sin embargo, habría que analizar cuán considerable es el aporte de nutrientes y si perdura a lo largo de todo el año.

Se ha observado que la actividad de las enzimas responsables de la asimilación del nitrógeno (glutamina sintetasa/transferasa y nitrato reductasa) puede aumentar después de 24 h en las plantas cuyas hojas más viejas han sido removidas parcial o completamente al finalizar la estación de crecimiento (Valentine *et al.*, 2004). Hay poco conocimiento en cuanto a la respuesta fisiológica de las plantas afectadas por la herbivoría (Valentine *et al.*, 2004; Valentine y Duffy, 2006), y se cree que la absorción de nitrógeno desde la columna de agua y desde los intersticios del sedimento puede ser crucial (Christianen *et al.*, 2012; Mutchler y Hoffman, 2017).

Para proponer una estrategia adecuada sobre los intervalos de tiempo entre cortes y el tiempo de duración de la extracción de biomasa foliar se requiere de un análisis de la dinámica temporal de la especie en su medio (Taylor, 1973). La estacionalidad ha sido considerada como un factor determinante en la recuperación. Como se analizó anteriormente, en algunas regiones tropicales y subtropicales como el sur de la Florida se han encontrado fluctuaciones en la biomasa, productividad y las reservas de energía que se corresponden con los cambios de la temperatura y la radiación solar (Taylor *et al.*, 1973; Duarte *et al.*, 2006). En correspondencia al ciclo estacional de la especie en estas regiones hay un período de varios meses en el año donde se presentan las mayores tasas de crecimiento y se considera la estación de crecimiento. Según Taylor *et al.* (1973), las hojas cortadas en la bahía de Tampa durante la estación de crecimiento (abril a julio) presentan tasas de crecimiento equivalentes o superiores que les permiten alcanzar en dos meses la altura de las plantas no manipuladas. Por otro lado, el número de vástagos nuevos, como medida del efecto de la poda sobre el vigor de la planta, no sufre cambios en dicha estación (Taylor *et al.*, 1973).

Las evaluaciones de la variabilidad temporal en la actual investigación arrojaron que además de la temperatura y la radiación solar, existen otros factores locales que influyen en las fluctuaciones anuales de las variables biológicas analizadas. La producción diaria y la tasa de reemplazo fueron superiores en abril y julio. En estos meses podrían hallarse las mayores tasas de recuperación de biomasa foliar luego de la pérdida del tejido fotosintético.

Los picos máximos en abril y julio en la producción diaria y la tasa de reemplazo coinciden con los mínimos de biomasa seca de las epífitas. El epifitismo podría afectar la calidad del extracto BM-21 que se quiere obtener solo a partir de las hojas de *T. testudinum*. Por esta razón estos meses también podrían ser favorables para la extracción de biomasa foliar. Sin embargo, el estudio temporal arrojó que la mayor presión de herbivoría se encuentra en el mes de julio. Este factor debe tenerse en cuenta debido a que la cosecha en este mes ocasiona presión adicional. No obstante, las marcas en las hojas revelaron que los

principales herbívoros en el área de estudio son peces, los cuales remueven de forma discreta solo pequeñas porciones de las láminas (Moran y Bjorndal, 2005). En este trabajo no se analizó la fauna acompañante ni el efecto de la cosecha sobre ella.

El nivel del corte también se ha considerado como un elemento importante. Greenway (1974) notó una pobre recuperación que resulta en una baja productividad cuando la defoliación de *T. testudinum* se realizó en la unión de las hojas con la vaina o por debajo, debido a la pérdida del tejido meristemático. Cuando las hojas son cortadas por encima de las vainas, los carbohidratos solubles y las proteínas del área meristemática de los vástagos son movilizados para el nuevo crecimiento del tejido fotosintético (Dawes y Lawrence, 1979). En este estudio, las hojas fueron cortadas por encima de las vainas a aproximadamente 2 cm por encima del sedimento. Las tortugas verdes realizan los cortes a este nivel y permiten la recuperación de la biomasa foliar (Greenway, 1974; Dawes y Lawrence, 1979; Molina-Hernández y van Tussenbroek, 2014; van Tussenbroek y González, 2017). Este nivel de corte fue adecuado para la reposición de la biomasa foliar en 60-120 días. Sin embargo, se observó afectaciones significativas en el número de flores respecto al control, lo que pudo estar dado porque la altura del pedicelo de las flores superó el nivel del corte. van Tussenbroek y González (2017) plantean que las flores y los frutos de *T. testudinum* presentan una longitud entre 1-3 cm por encima del fondo. Estos autores encontraron que los cortes en las hojas a 3 cm por encima del fondo, realizados por las tortugas, no ocasionan daños en el esfuerzo (número de flores) ni el éxito reproductivo de las plantas (número de semillas y frutos). Como el nivel de corte empleado durante el experimento fue menor, es probable que se hayan dañado algunas estructuras reproductivas. Por ello, deben realizarse cortes por encima de los 5 cm del fondo en la futura cosecha para fines industriales.

Aunque las praderas de *T. testudinum* son altamente productivas, no se recuperan rápidamente después de la perturbación física del sistema de rizomas (Martin *et al.*, 2008; Orth *et al.*, 2017). En aguas poco profundas, la forma más común en que

son causados estos daños es a través de las hélices de los motores y propelas de los barcos. Esto ocurre fundamentalmente en las trayectorias entre islas y cayos, y la lenta recuperación se debe a la acción de las corrientes y mareas en aguas tan bajas (Martin *et al.*, 2008; Orth *et al.*, 2017). Estos argumentos evidencian la importancia del rizoma como órgano de reserva y del tejido meristemático en la recuperación de la biomasa foliar.

Muchas son las afectaciones que pueden ocasionar la cosecha de las hojas sobre el funcionamiento de los ecosistemas de pastos marinos. La defoliación de los pastos marinos no solo ocasiona daños físicos a las plantas, sino que también implica la pérdida del tejido fotosintético, la privación de la entrada de nutrientes desde la columna de agua y de la distribución de oxígeno y de estos nutrientes hacia los rizomas y raíces (Ralph *et al.*, 2007). Afectaciones en la actividad fotosintética pueden reducir la capacidad de secuestro de carbono, lo que cobra mayor importancia en el contexto actual del cambio climático (Trevathan-Tackett *et al.*, 2017). Las áreas desprovistas de vegetación por la poda pueden erosionarse en el tiempo y conducir a la disminución de carbono orgánico en la capa más superficial del sedimento; lo que puede escalar en la reducción del contenido de este compuesto en las capas más profundas del sedimento (Dahl *et al.*, 2016). La carencia de dosel también limita los bienes y servicios que brinda a los organismos asociados y ecosistemas adyacentes. La poda, además, puede favorecer positivamente en la competencia por el espacio a otras angiospermas que se encuentren en el ecosistema y que no están siendo manipuladas (Molina-Hernández y van Tussenbroek, 2014).

Esta investigación propone la estrategia más adecuada para la cosecha de las hojas de *T. testudinum* en esta zona del litoral habanero. A partir del análisis de los efectos de la poda y de la variación temporal se puede plantear que la cosecha cada 120 días resultó la estrategia más sostenible. Este trabajo resulta de gran importancia porque permitió encontrar un equilibrio entre la conservación de esta especie y el aprovechamiento de sus servicios para fines industriales.

CONCLUSIONES

1. Las variaciones temporales en la dinámica de la producción foliar de *T. testudinum* en el Rincón de Guanabo no se corresponden directamente con las fluctuaciones anuales de la temperatura; no obstante, aumenta a partir de abril hasta septiembre y disminuye entre noviembre y enero.
2. *T. testudinum* puede recibir cortes sucesivos de sus hojas cada cuatro meses (120 días), con el método empleado en el presente trabajo, sin que ocurran daños en las estructuras vegetativas, reproductivas y en los componentes químicos de la planta.

RECOMENDACIONES

1. Evaluar el efecto de la cosecha de las hojas *T. testudinum* sobre la fauna asociada al ecosistema en el Rincón de Guanabo.
2. Determinar el efecto de la poda en áreas mayores de 0,25 m².
3. Determinar los meses de reproducción de la especie en dicha área.
4. Evaluar el contenido de nutrientes en los sedimentos y la columna de agua y su implicación en cosecha en este sitio de estudio.

REFERENCIAS

- Ackerman, J. D. (2006). Sexual reproduction of seagrasses: pollination in the marine context. En A. W. D. Larkum, R. J. Orth, C. M. Duarte (Eds.), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (pp. 89–109). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Aguilera, L. (2017). *Cartografía de la distribución espacial del pasto marino en el PNP “Rincón de Guanabo”, La Habana*. Tesis presentada en opción al grado académico de Licenciado en Biología, Facultad de Geografía, Universidad de La Habana, Cuba.
- Bárcenas, M., Borrajero, I. (2012). Análisis del comportamiento del gradiente de radiación en Cuba. *Rev. Cubana Meteorología*, 18(2), 125 –137.
- Barry, S. C., Bianchi, T. S. Shields, M. R., Hutchings, J. A., Jacoby, C. A. Frazer, T. K. (2018). Characterizing blue carbon stocks in *Thalassia testudinum* meadows subjected to different phosphorus supplies: A lignin biomarker approach. *Limnol. Oceanogr.*, 1–17. doi: 10.1002/lno.10965
- Borowitzka, M. A., Lavery P., van Keulen, M. (2006). Epiphytes of seagrasses. En A. W. D. Larkum, R. J. Orth, C. M. Duarte (Eds.), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (pp. 441-461). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72. 248-54.
- Buesa, R. J. (1974). Population and biological data on turtle grass (*Thalassia testudinum* König, 1805) on the northwestern Cuban shelf. *Aquaculture*, 4, 207-226.
- Campos, A. A., Vigón, F. A. (1989). Mapas de la media de la suma diaria de la radiación global y de la suma anual de la insolación para la República de Cuba. Atlas Nacional de Cuba. Instituto de Geografía de Cuba, Instituto

cubano de Geodesia y Cartografía. Academia de Ciencias de Cuba. La Habana: Sección Clima.

CARICOMP (2001). *CARICOMP Methods Manual - Level I: Manual of methods for mapping and monitoring of physical and biological parameters in the coastal zone of the Caribbean*. CARICOMP Management Center, University of the West Indies, Mona, Kingston, Jamaica y Florida Institute of Oceanography, University of South Florida, St. Petersburg Florida, U.S.A.

Coria-Monter E., Durán-Campos, E. (2015). Proximal analysis of seagrass species from Laguna de Términos, Mexico. *Hidrobiológica*, 25(2), 249-255.

Christianen, M. J., Govers, L. L., Bouma, T. J., Kiswara, W., Roelofs, J. G., Lamers, L. P., van Katwijk, M. M. (2012). Marine megaherbivore grazing may increase seagrass tolerance to high nutrient loads. *J. Ecol.*, 100(2), 546–560.

Dahl, M., Deyanova, D., Lyimo, L. D., Näslund, J., Samuelsson, G. S., Mtolera, M. S. P., Björk, M., Gullström, M. (2016). Effects of shading and simulated grazing on carbon sequestration in a tropical seagrass meadow. *J. Ecol.*, 1-11. doi: 10.1111/1365-2745.12564

Dawes, C. J., Lawrence, J. M. (1979). Effects of blade removal on the proximate composition of the rhizome of the seagrass *Thalassia testudinum* Banks ex König. *Aquat. Bot.*, 7, 255-266.

Dawes C. J., Bird, K., Durako, M., Goddard, R., Hoffman, W., McIntosh, R. (1979). Chemical fluctuations due to seasonal and cropping effects on an algal-seagrass community. *Aquat. Bot.*, 6, 79-86.

Dawes, C. J., Lawrence, J. M. (1980). Seasonal changes in the proximate constituents of the seagrasses *Thalassia testudinum*, *Halodule wrightii* and *Syringodium filiforme*. *Aquat. Bot.*, 8, 371-380.

Duarte, C. M., Fourqurean, J. W., Krause-Jensen, D., Olesen, B. (2006). Dynamics of Seagrass Stability and Change. En A. W. D. Larkum, R. J. Orth, C. M.

- Duarte (Eds.), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (pp. 271–294). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Duarte, C. M., Losada, I. J., Hendriks, I. E., Mazarrasa, I., Marbà, N. (2013). The role of coastal plant communities for climate change mitigation and adaptation. *N. Climate.*, 3, 961-968. doi: 10.1038/NCLIMATE1970
- Duarte, C. M., Krause-Jensen, D. (2017). Export from Seagrass Meadows Contributes to Marine Carbon Sequestration. *Front. Mar. Sci.* 4(13), 1-7. doi: 10.3389/fmars.2017.00013
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.*, 28, 350-356.
- Durako, M. J., Moffler, M. D. (1985). Observations on the reproductive ecology of *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae). III. Spatial and temporal variations in reproductive patterns within a seagrass bed. *Aquat. Bot.*, 22, 265–276.
- Enríquez, S., Schubert, N. (2014). Direct contribution of the seagrass *Thalassia testudinum* to lime mud production. *N. Comms.*, 5, 3835. doi: 10.1038/ncomms4835
- Fourqurean, J. W., Manuel, S., Coates, K. A., Kenworthy, W. J., Smith, S. R. (2010). Effects of excluding sea turtle herbivores from a seagrass bed: Overgrazing may have led to loss of seagrass meadows in Bermuda. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 419, 223-232.
- Frankovich, T. A., Zieman, J. C. (2005). A Temporal Investigation of Grazer Dynamics, Nutrients, Seagrass Leaf Productivity, and Epiphyte standing stock. *Estuaries*, 28(1), 41-52.
- García, T. E., Menéndez, R., Rivera, F., Garateix, A., Morales, R. A., Regalado, E., Rodríguez, J. C., Dajas, F. (2017). Neuroprotective effects of *Thalassia testudinum* leaf extract BM-21 on focal ischemia in rats. *J. Pharm. Pharmacogn. Res.* 5(3), 174-186.

- Gladstone-Gallagher, R. V., Hughes, R. W., Douglas, E. J., Pilditch, C. A. (2018). Biomass-dependent seagrass resilience to sediment eutrophication. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 501, 54–64.
- González Sánchez, P. M. (2016). Variaciones temporales de las comunidades de macroalgas en el sublitoral rocoso somero del municipio Playa, Cuba. Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en Biología Marina y Acuicultura con Mención en Ecología Marina. Centro de Investigaciones Marinas. La Habana, Universidad de La Habana.
- Greenway, M. (1974). The effects of cropping on the growth of *Thalassia testudinum* (König) in Jamaica. *Aquaculture*, 4, 199-206.
- Guiry, M. D., Guiry, G. M. (2019). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway (taxonomic information republished from AlgaeBase with permission of M. D. Guiry). *Thalassia testudinum* K.D.Koenig, 1805. Accedido en: World Register of Marine Species: <http://www.marinespecies.org/> el 2019-01-31.
- Hernández, Y., González, K., Valdés-Iglesias, O., Zarabozo, A., Portal, Y., Laguna, A., Martínez-Daranas, B., Rodríguez, M., Gutiérrez, R. (2016). Seasonal behavior of *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae) metabolites. *Rev. Biol. Trop.* 64(4), 1527-1535.
- Hernández-Delgado, E. A. (2015). The emerging threats of climate change on tropical coastal ecosystem services, public health, local economies and livelihood sustainability of small islands: Cumulative impacts and synergies. *Mar. Pol. Bul.* 101, 5–28.
- Hogarth, P. F. (2007). *The Biology of Mangroves and Seagrasses*. Oxford, University Press.
- Holzer, K. K., McGlathery, K. J. (2016). Cultivation grazing response in seagrass may depend on phosphorus availability. *Mar. Biol.* 163(88): 1-11. doi: 10.1007/s00227-016-2855-5.

- Jiménez, C., Alcolado, P. M. (1989). Comportamiento estacional de la biomasa vegetal en un seibadal en Cuba. *Bot. Cubana*, 71, 1-10.
- Kaldy, J. E., Dunton, K. H. (2000). Above and belowground production, biomass and reproductive ecology of *Thalassia testudinum* (turtle grass) in a subtropical coastal lagoon. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 193, 271–283.
- Kenworthy, W. J., Wyllie-Echeverria, S., Coles, R. G., Pergent, G., Pergent-Martini, C. (2006). Seagrass Conservation Biology: An Interdisciplinary Science for Protection of the Seagrass Biome. En A. W. D. Larkum, R. J. Orth, C. M. Duarte (Eds.), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (pp. 595–623). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Kenworthy, F., Short, T., Williams, S. L. (2009). Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Ecology*. 106(30), 12377–12381.
- Lacey, E. A., Collado-Vides L., Fourqurean, J. W. (2014). Morphological and physiological responses of seagrasses (Alismatales) to grazers (Testudines: Cheloniidae) and the role of these responses as grazing patch abandonment cues. *Rev. Biol. Trop.* 62(4), 1535-1548.
- Lal, A., Arthur, R., Marba, N., Lill, A. W. T., Alcoverro, T. (2010). Implications of conserving an ecosystem modifier: increasing green turtle (*Chelonia mydas*) densities substantially alters seagrass meadows. *Biol. Conserv.*, 143, 2730–2738.
- Lamb, J. B., van de Water, J. A. J. M., Bourne, D. G., Altier, C., Hein, M. Y., Fiorenza, E. A., Abu, N., Jompa, J., Harvell, C. D. (2017). Seagrass ecosystems reduce exposure to bacterial pathogens of humans, fishes, and invertebrates. *Science*, 355, 731–733. doi.org/10.1126/science.aal1956
- Larkum, A. W. D., Drew, E. A., Ralph, P. J. (2006). Photosynthesis and Metabolism in Seagrass at the Cellular Level. En A. W. D. Larkum, R. J. Orth, C. M. Duarte (Eds.), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (pp. 323–345). Dordrecht, The Netherlands: Springer.

- Lee, K.-S., Park, S. R., Kim, Y. K. (2007). Effects of irradiance, temperature, and nutrients on growth dynamics of seagrasses: A review. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 350, 144–175.
- Liquete, C., Piroddi, C., Drakou, E. G., Gurney, L., Katsanevakis, S., Charef, A., Egoh, B. (2013). Current Status and Future Prospects for the Assessment of Marine and Coastal Ecosystem Services: A Systematic Review. *PLoS ONE* 8(7), e67737. doi: 10.1371/journal.pone.0067737
- Llanio, M., Fernández, M. D., Cabrera, B., Bermejo, P., Abad, M. J., Payá, M., Alcaraz, M. J. (2006). The marine plant *Thalassia testudinum* possesses anti-inflammatory and analgesic properties. *Pharmacology*, 3, 594-600.
- Macreadie, P. I., Baird, M. E., Trevathan-Tackett, S. M., Larkum, A. W. D., Ralph P. J. (2014). Quantifying and modelling the carbon sequestration capacity of seagrass meadows: A critical assessment. *Mar. Pollut. Bull.*, 83, 430–439. doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.07.038
- Martin, S. R., Onuf, C. P., Dunton, K. H. (2008). Assessment of propeller and off-road vehicle scarring in seagrass beds and wind-tidal flats of the southwestern Gulf of Mexico. *Bot. Mar.*, 51, 79–91.
- Martínez-Daranas B., Alcolado, P. M., Duarte, C. M. (2005). Leaf production and shoot dynamics of *Thalassia testudinum* by a direct census method. *Aquat. Bot.* 81, 213–224. doi: org/10.1016/j.aquabot.2004.12.003
- Martínez-Daranas, B., Cabrera, R., Pina-Amargós, F. (2009). Spatial and seasonal variability of *Thalassia testudinum* in Nuevitas Bay, Cuba. *Rev. Mar. Cos.*, 1, 9–27.
- Martínez-Daranas, B., Hernández, A., Valdés, J. A. (2014). Resultados del programa de pastos marinos. En A. Hernández (Ed.), *Estado actual de la biodiversidad marino-costera en la región de los Archipiélagos del Sur de Cuba* (pp: 51–58). Centro Nacional de Áreas Protegidas, La Habana: Impresos Dominicanos s.r.l.

- Martínez-Daranas, B., Suárez, A. M. (2018). An overview of Cuban seagrasses. *Bull. Mar. Sci.*, 94(2). doi: org/10.5343/bms.2017.1014
- Mcleod, E., Chmura, G. L., Bouillon, S., Salm, R., Björk, M., Duarte, C. M., Lovelock, C. E., Schlesinger, W. H., Silliman, B. R. (2011). A blueprint for blue carbon: toward an improved understanding of the role of vegetated coastal habitats in sequestering CO₂. *Front. Ecol. Environ.*, 9(10), 552-560.
- Menéndez, R., García, T., Garateix, A., Morales, R. A., Regalado, E. L., Laguna, A., Valdés, O., Fernández, M. D. (2014). Neuroprotective and antioxidant effects of *Thalassia testudinum* extract BM-21, against acrylamide-induced neurotoxicity in mice. *J. Pharm. Pharmacogn. Res.*, 2(3), 53-62.
- Molina-Hernández, A. L., van Tussenbroek, B. I. (2014). Patch dynamics and species shifts in seagrass communities under moderate and high grazing pressure by green sea turtles. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 517, 143-157.
- Moran, K. L., Bjorndal, K. A. (2005). Simulated green turtle grazing affects structure and productivity of seagrass pastures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 305, 235-247.
- Moran, K. L., Bjorndal, K. A. (2007). Simulated green turtle grazing affects nutrient composition of the seagrass *Thalassia testudinum*. *Mar. Biol.*, 150, 1083–1092.
- Mutchler, T., Hoffman, D. K. (2017). Response of seagrass (*Thalassia testudinum*) metrics to short-term nutrient enrichment and grazing manipulations. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 486, 105–113.
- Nordlund, L. M., Jackson, E. L., Nakaoka, M., Samper-Villarreal, J., Becar-Carretero, P., Creed, J. C. (2017). Seagrass ecosystem services – What’s next? *Mar. Pollut. Bull.* doi:10.1016/j.marpolbul.2017.09.014
- Novak, A. B., Short, F. T. (2010). Leaf reddening in seagrasses. *Bot. Mar.*, 53, 93–97.

- Novak, A. B., Short, F. T. (2011). Leaf reddening in the seagrass *Thalassia testudinum* in relation to anthocyanins, seagrass physiology and morphology and plant protection. *Mar. Biol.* 155, 1403–1416.
- Novak, A. B., Short, F. T. (2012). Transient and permanent leaf reddening in the seagrass *Thalassia testudinum*. *Bull. Mar. Sci.*, 88, 305–315.
- Orth, R. J., Lefcheck, J. S., Wilcox, D. J. (2017). Boat Propeller Scarring of Seagrass Beds in Lower Chesapeake Bay, USA: Patterns, Causes, Recovery, and Management. *Estuar. Coasts.*, 40(6), 1666–1676. doi: 10.1007/s12237-017-0239-9
- Paul, M. (2017). The protection of sandy shores - can we afford to ignore the contribution of seagrass? *Mar. Pollut. Bull.* doi: org/10.1016/j.marpolbul.2017.08.012.
- Peek, S., Clementz, M. T. (2012). Starch grain morphology of the seagrasses *Halodule wrightii*, *Ruppia maritima*, *Syringodium filiforme*, and *Thalassia testudinum*. *Aqua. Bot.*, 96, 63–66.
- Peterson, B. J., Frankovich, T. A., Zieman, J. C. (2007). Response of seagrass epiphyte loading to field manipulations of fertilization, gastropod grazing and leaf turnover rates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 349, 61–72.
- Prado, P. (2018). Seagrass epiphytic assemblages are strong indicators of agricultural discharge but weak indicators of host features. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, 204, 140–148. doi: org/10.1016/j.ecss.2018.02.026
- Pu, R., Bell, S., Meyer, C. (2014). Mapping and assessing seagrass bed changes in Central Florida's west coast using multitemporal LandsatTM imagery. *Estuar. Coast. Shelf. Sci.*, 149, 68–79.
- Ralph, P. J., Durako, M. J., Enríquez, S., Collier, C. J., Doblin, M. A. (2007). Impact of light limitation on seagrasses. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 350, 176–193.
- Regalado, E. L., Rodríguez, M., Menéndez, R., Concepción, A. A., Nogueiras, C., Laguna, A., Rodríguez, A. A., Williams, D. E., Lorenzo-Luaces, P., Valdés, O.,

- Hernández, Y. (2008). Repair of UVB-Damaged Skin by the Antioxidant Sulphated Flavone Glycoside Thalassiolin B Isolated from the Marine Plant *Thalassia testudinum* Banks ex König. *Mar. Biotechnol.* doi: 10.1007/s10126-008-9123-8.
- Regalado, E. L., Menéndez, R., Valdés, O., Morales, R. A., Laguna, A., Thomas, O. P., Hernández, Y., Nogueirasand, C., Kijjoa, A. (2012). Phytochemical Analysis and Antioxidant Capacity of BM-21, a Bioactive Extract Rich in Polyphenolic Metabolites from the Sea Grass *Thalassia testudinum*. *NPC*, 7(1), 47-50.
- Rodeiro, I., Hernández, I., Herrera, J. A., Riera, M., Donato, M. T., Tolosa, L., González, K., Ansoara, Y., Gómez-Lechón, M. J., Vanden Berghe, W., Lopes, M. (2018). Assessment of the cytotoxic potential of an aqueous-ethanolic extract from *Thalassia testudinum* angiosperm marine grown in the Caribbean Sea. *J. Pharm. Pharmacol.*, doi: 10.1111/jphp.13001
- Romero, J., Lee, K-S., Pérez, M., Mateo, M. A., Alcoverro, T. (2006): Nutrient dynamics in seagrass ecosystems. En A. W. D. Larkum, R. J. Orth, C. M. Duarte (Eds.), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (pp. 227-254). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- Rowley, D. C., Hansen, M. S. T., Rhodes, D., Sotriffer, C. A., Ni, H., McCammon, J. A., Bushman, F. D., Fenical, W. (2002). Thalassiolins A-C: New Marine-Derived Inhibitors of HIV cDNA Integrase. *Bioorg. Med. Chem*, 10, 3619-3625.
- Short, F. T., Carruthers, T. J. R., van Tussenbroek, B., Zieman, J. (2010). *Thalassia testudinum*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010: e.T173346A6995927. doi: org/10.2305/IUCN.UK.2010-3.RLTS.T173346A6995927.en
- Short, F. T., Polidoro, B., Livingstone, S. R., Carpenter, K. E., Bandeira, S., Bujang, J. S., Calumpong, H. P., Carruthers, T. J. B., Coles, R. G., Dennison, W. C., Erftemeijer, P. L. A., Fortes, M. D., Freeman, A. S., Jagtap, T. G., Kamal, A. H. M., Kendrick, G. A., Kenworthy, W. J., La Nafie, Y. A., Nasution, I.

- M., Orth, R. J., Prathep, A., Sanciangco, J. C., van Tussenbroek, B., Vergara, S. G., Waycott, M., Zieman, J. C. (2011). Extinction risk assessment of the world's seagrass species. *Biol. Conserv.*, 144(7), 1961-1971.
- Short, F. T., Kosten, S., Morgan, P. A., Malone, S., Moore, G. E. (2016). Impacts of climate change on submerged and emergent wetland plants. *Aquat. Bot.* doi: org/10.1016/j.aquabot.2016.06.006
- StatSoft Inc. (1996). STATISTICA for Windows. Tulsa, OK, USA.
- Taylor, J. L., Saloman, C. H., Prest, K. W. (1973). Harvest and regrowth of turtle grass (*Thalassia testudinum*) in Tampa bay, Florida. *Fish. Bull.* 71(1), 145-148.
- Tomas, F., Turon, X., Romero, J. (2005). Seasonal and small-scale spatial variability of herbivory pressure on the temperate seagrass *Posidonia oceanica*. *Mar. Eco. L. Prog. Ser.*, 301, 95-107.
- Trevathan-Tackett, S. M., Wessel, C., Cebrián, J., Ralph, P. J., Masqué, P., Macreadie, P. I. (2017). Effects of small-scale, shading-induced seagrass loss on blue carbon storage: Implications for management of degraded seagrass ecosystems. doi: 10.1111/1365-2664.13081
- Unsworth, R. K. F., Collier, C. J., Henderson, G. M., McKenzie, L. J. (2012). Tropical seagrass meadows modify seawater carbon chemistry: implications for coral reefs impacted by ocean acidification. *Environ. Res. Lett.*, 7, 024026. doi: org/10.1088/1748- 9326/7/2/024026.
- Valentine, J. F., Blythe, E. F., Madhavan, S., Sherman, T. D. (2004). Effects of simulated herbivory on nitrogen enzyme levels, assimilation and allocation in *Thalassia testudinum*. *Aqua. Bot.* doi:10.1016/j.aquabot.2004.04.001
- Valentine, J. F., Duffy, J. E. (2006): The Central Role of Grazing in Seagrass Ecology. En A. W. D. Larkum, R. J. Orth, C. M. Duarte (Eds.), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (pp. 463–501). Dordrecht, The Netherlands: Springer.

- van Tussenbroek, B. I., Vonk, J. A., Stapel, J., Erftemeijer, P. L. A., Middelburg, J. J., Zieman, J. C. (2006). The Biology of *Thalassia*: Paradigms and Recent Advances in Research. En A. W. D. Larkum, R. J. Orth, C. M. Duarte (Eds.), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (pp. 409-439). Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- van Tussenbroek, B. I., Guzmán, J. M., Wong, J. G. R. (2009). Phenology of marine angiosperms (seagrasses): Reproductive synchrony in the sea. En A. Gamboa-deBuen, A. Orozco-Segovia, F. Cruz-García (Eds.), *Functional diversity of plant reproduction* (pp. 17-46). Kerala, India: Research Signpost.
- van Tussenbroek, B. I., Barba Santos, M. G., Wong, J. G. R., van Dijk, J. K., Waycott, M. (2010). *Guía de los pastos marinos tropicales del Atlántico oeste*. Universidad Nacional Autónoma de México, Coyoacán, México, D. F.
- van Tussenbroek, B. I., Cortés, J., Collin, R., Fonseca, A. C., Gayle, P. M. H., Guzmán, H. M., Jácome, G. E., Juman, R., Koltes, K. H., Oxenford, H. A., Rodríguez-Ramírez, A., Samper-Villarreal, J., Smith, S. R., Tschirky, J. J., Weil, E. (2014). Caribbean-Wide, Long-Term Study of Seagrass Beds Reveals Local Variations, Shifts in Community Structure and Occasional Collapse. *PLoS ONE*, 9(3), e90600. doi: 10.1371/journal.pone.0090600
- van Tussenbroek, B. I., González, L. F. (2017). Grazing by green sea-turtles does not affect reproductive fitness in *Thalassia testudinum*. *Aquat. Bot.* doi: 10.1016/j.aquabot.2017.05.003
- Waycott, M., Duarte, C. M., Carruthers, T. J. B., Orth, R. J., Dennison, W. C., Olyarnik, S., Calladine, A., Fourqurean, J. W., Heck Jr., K. L., Hughes, A. R., Kendrick, G. A., Kenworthy, W. J., Short, F. T., Williams, S. L. (2009). Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 106, 12377-12381.
- Willette, D. A., Chalifour, J., Debrot, A. O. D., Engel, M. S., Miller, J., Oxenford, H. A., Short, F. T., Steiner S. C. C., Védie, F. (2014). Continued expansion of the

- trans-Atlantic invasive marine angiosperm *Halophila stipulacea* in the Eastern Caribbean. *Aquat. Bot.*, 112, 98–102.
- Wittmann, K. J., Ott, J. A. (1982). Effects of cropping on growth in the mediterranean seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Mar. Ecol.*, 3(2), 151-159. doi: 10.1111/j.1439-0485.1982.tb00380.x
- Woodland, R. J., Thomson, J. R., Mac Nally, R., Reich, P., Evrard, V., Wary, F. Y., Walker, J. P., Cook, P. L. M. (2015). Nitrogen loads explain primary productivity in estuaries at the ecosystem scale. *Limnol. Oceanogr.*, 60, 1751-1762.
- Yang, X., Zhang, P., Hua, W. Li, C., Zhang, X., He, P. (2018). Evaluation of four seagrass species as early warning indicators for nitrogen overloading: Implications for eutrophic evaluation and ecosystem management. *Sci. Tot. Env.*, 635, 1132-1143.
- Zieman, J. C. (1974). Methods for the study of the growth and production of turtle grass, *Thalassia testudinum* König. *Aquaculture.*, 4, 139-143.