



Universitat
de les Illes Balears

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

BALANCES DE CARBONO Y NUTRIENTES EN FRAGMENTOS TRASPLANTADOS DE *POSIDONIA OCEANICA* (L.) DELILE 1813

Ángela Rodríguez Ruiz

Máster Universitario en Ecología Marina

Centro de Estudios de Postgrado

Año Académico 2019-20

BALANCES DE CARBONO Y NUTRIENTES EN FRAGMENTOS TRASPLANTADOS DE POSIDONIA OCEANICA (L.) DELILE 1813.

Ángela Rodríguez Ruiz

Trabajo de Fin de Máster

Centro de Estudios de Postgrado

Universidad de las Illes Balears

Año Académico 2019-20

Palabras clave del trabajo:

restauración, pradera, *Posidonia oceanica*, conservación

Nombre Tutor del Trabajo: Jorge Terrados Muñoz

Nombre Tutora: Inés Castejón Silvo

Agradezco a mis tutores Jorge e Inés su gran dedicación en el proyecto, contagiándome su pasión por conservar un ecosistema tan bello como importante, la pradera de Posidonia oceanica. También a mi familia y amigos por apoyarme en todos los momentos (altos y bajos) del proceso; en especial a mi madre, que siempre me ha ayudado a crecer en todos los aspectos de la vida.



Ilustración realizada por Ángela Rodríguez Ruiz

ÍNDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Material y método	7
I. Área de estudio y colección de fragmentos de sacrificio	7
II. Análisis estadístico	8
4. Resultados	10
I. Comparación del estado de los fragmentos iniciales frente a los de sacrificio de PL1 y PL2	10
II. Comparación del estado de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 frente a los de pradera.....	12
III. Comparación del contenido de nutrientes de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 frente a los de pradera.	15
5. Discusión	19
I. Comparación del estado de los fragmentos iniciales frente a los de sacrificio de PL1 y PL2	19
II. Comparación del estado de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 frente a los de pradera.	20
III. Comparación del contenido de nutrientes de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 frente a los de pradera.	21
6. Conclusiones	25
7. Bibliografía	27
8. Anexo	33

RESUMEN

La restauración ecológica de ecosistemas degradados es una estrategia esencial para la conservación de los mismos, especialmente cuando los procesos naturales de recuperación de dichos ecosistemas han sido afectados o son muy lentos. En el caso de praderas restauradas de *Posidonia oceanica*, el objetivo inmediato es acelerar el proceso natural de recolonización de la zona perturbada mediante el plantado, confiando en que la recuperación de funciones ecosistémicas similares a las de las praderas no perturbadas ocurra en la medida en que se vaya recuperando la cobertura y densidad de *P. oceanica* en la zona en restauración. En este trabajo, se evaluó la morfometría, la biomasa y las concentraciones de carbono y nutrientes (nitrógeno, fósforo y carbohidratos) de hojas, rizomas y raíces de fragmentos de *P. oceanica* trasplantados en una pradera en restauración y se compararon con fragmentos de morfología similar no trasplantados (del borde de una pradera natural). Esto se hizo con el objetivo de determinar si estos fragmentos trasplantados poseen la capacidad de adquirir nutrientes del medio externo o si, por el contrario, dependen de los recursos almacenados en ellos en el momento del trasplante. Los resultados indicaron que tanto la capacidad de absorber nutrientes como de usar las reservas internas, influyen en la supervivencia y desarrollo vegetativo de los trasplantes; aunque, para ver cambios significativos y poder predecir el destino de los fragmentos (en lo que se refiere a diferencias de tamaño, reparto de biomasa entre los distintos órganos...), se requiere un monitoreo más a largo plazo (de más de 10 años).

INTRODUCCIÓN

Posidonia oceanica es la especie de fanerógama marina dominante en las aguas costeras poco profundas del mar Mediterráneo, donde cubre unos 50.000 km² (Telesca *et al.*, 2015). Constituye un ecosistema específico clave, denominado pradera, que influye en la producción biológica y los procesos biogeoquímicos del litoral (Bethoux y Copin-Montégut 1986). Las praderas tienen gran importancia en la producción y exportación de materia orgánica y oxígeno; la producción primaria (hasta 8 gC/m²/día); la estabilización de los fondos blandos (ya que las hojas reducen la agitación debida al oleaje y las corrientes y favorecen la deposición de sedimentos finos); y la formación de ecosistemas complejos que sirven de refugio a numerosas especies, apoyando a un alto nivel de biodiversidad e interacciones tróficas (Buia *et al.*, 2004; Boudouresque *et al.*, 2006; Duarte *et al.*, 2008; Short *et al.*, 2016). Estos procesos, entre otros, determinan el funcionamiento de las praderas como ecosistema.

Sin embargo, en las últimas dos décadas, las praderas de fanerógamas marinas y sus comunidades asociadas están en regresión en muchos lugares del mundo. Se ha perdido hasta el 18% del área de praderas marinas documentada (Green y Short, 2003), y las tasas de disminución se han acelerado en los últimos años (Waycott *et al.*, 2009). En concreto, *P. oceanica* experimenta una pérdida generalizada en el Mediterráneo (Marbà *et al.*, 1996), derivada de numerosos impactos antropogénicos: operaciones de dragado, contaminación, sedimentación excesiva, eutrofización, aumento de la turbidez del agua, fondeo de barcos, aportes de agua dulce y efectos derivados del cambio climático (Short y Neckles, 1999; Cancemi *et al.*, 2000; Boudouresque *et al.*, 2006; Bourdouresque *et al.*, 2009; Marbà *et al.*, 2014; Van Katwijk *et al.*, 2016). Estas pérdidas no son reversibles a corto plazo, ya que la colonización de las praderas de *P. oceanica* es un proceso de siglos (Duarte, 1995; Kendrick *et al.*, 2005) debido a la lentitud del crecimiento vegetativo de los rizomas (2 cm/año los verticales y 4-6 cm/año los horizontales, como valores máximos; Marbà y Duarte, 1998) y la baja ocurrencia de la floración y el éxito de la reproducción sexual de esta especie (Buia y Mazzella, 1991; Balestri y Cinelli, 2002; Balestri, 2004; Díaz Almela *et al.*, 2006). Por otro lado, la propagación de *P. oceanica* mediante fragmentos naturales presume ser baja por la dificultad de estos fragmentos para

enraizar, aunque no se excluye que pueda tener lugar (Pergent-Martini y Pasqualini, 2000; Di Carlo *et al.*, 2005; Díaz Almela *et al.*, 2008). Estas características determinan que *P. oceanica* sea considerada como una especie con una baja capacidad de recuperación frente a las perturbaciones.

El valor de estas praderas es reconocido por el Convenio sobre la Diversidad Biológica (1992), estando protegidas por la Directiva Hábitat 92/43/UE (Anexo I, *Posidonium oceanicae*, código 1120) e incluidas en la lista de hábitats prioritarios del Protocolo SPA/BIO del Convenio de Barcelona (Asociación con *Posidonia oceanica*, código III.5.1) (Relini y Giaccone, 2009). Además, de acuerdo con la Directiva Marco del Agua (2000/60/CE), esta angiosperma se ha incluido como uno de los cinco elementos de calidad biológica que se incluirán en la evaluación de la calidad de aguas costeras (Lopez y Royo *et al.*, 2010; Marbà *et al.*, 2013). Este marco legislativo favorece la conservación de las praderas de *P. oceanica* (Green y Short, 2003). De hecho, el Gobierno de las Islas Baleares promulgó el Decreto 25/2018, de 27 de julio, sobre la conservación de la *Posidonia oceanica* en las Illes Balears (BOIB nº. 93 de 28 de julio de 2018).

Con el objetivo de evaluar la viabilidad de la recuperación de praderas degradadas, se han llevado a cabo experimentos de restauración o rehabilitación de praderas de *P. oceanica* para revertir su pérdida (Molenaar *et al.*, 1993; Balestri *et al.*, 1998; Piazzzi *et al.*, 1998). El trasplante de fragmentos naturales en áreas cercanas degradadas, aprovechando la forma de recolonización de esta especie por reproducción vegetativa, arroja buenos resultados de supervivencia (Molenaar *et al.*, 1993; Piazzzi *et al.*, 1998; Balestri *et al.*, 2011). En estos trabajos, el anclaje de los fragmentos se asegura con armazones de hierro para cada grupo de fragmentos (Molenaar *et al.* 1993) o bien con anclajes individuales que permitan que las raíces desnudas se introduzcan en el sustrato (**Figura 1A**). Es el caso de lo que se hizo en el presente estudio, integrado en el “Proyecto Bosque Marino” de Red Eléctrica de España: se plantaron dos hectáreas degradadas, divididas en unidades de plantación de 50m x 50m, con fragmentos de *P. oceanica* naturales que fueron arrancados y desplazados por el temporal y colectados manualmente por buceadores (**Figura 1B, 1C**). Dicha área se monitorea anualmente para hacer un seguimiento del desarrollo de los

fragmentos trasplantados y la recuperación de las comunidades asociadas (como la epifauna).

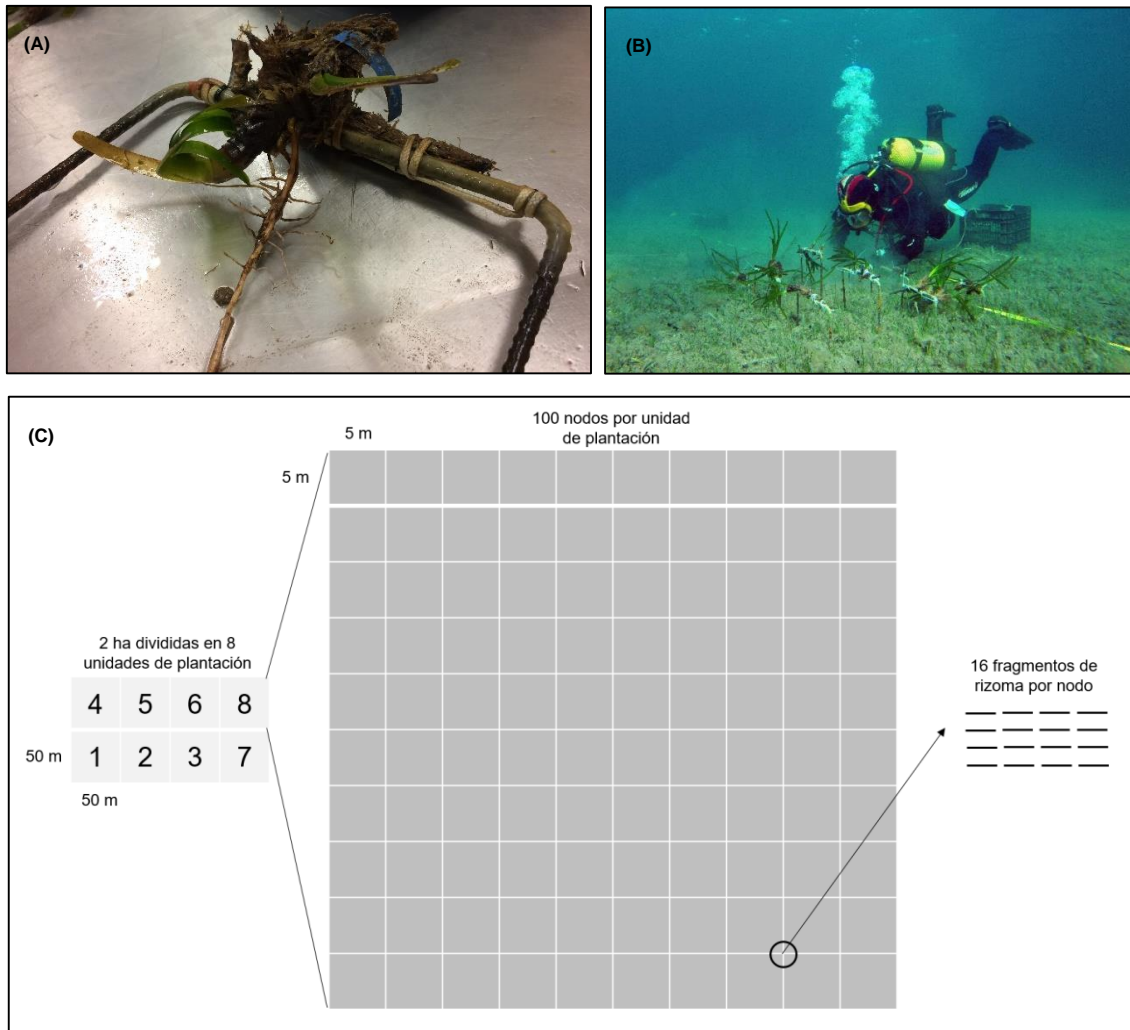


Figura 1. **A)** Anclaje de hierro en forma de U al que se sujeta con cuerdas el rizoma del fragmento debidamente etiquetado; **B)** Plantación manual de un nodo por buzos profesionales; **C)** Representación esquemática de las 2 hectáreas de pradera en restauración en las que se señalan las unidades de plantación de 50 m x 50 m, cada una compuesta por 100 nodos de 5 m x 5 m con 16 fragmentos de rizoma cada uno. Esto supone un total de 12.800 fragmentos trasplantados.

Sin embargo, en los trabajos realizados hasta ahora, la supervivencia de los trasplantes de *P. oceanica* solo se ha monitorizado durante un máximo de 3 años (Meineszn, 1995; Piazzzi, 1998) y la supervivencia a medio plazo (i.e. 10 años) no ha sido cuantificada aunque es posible (Augier et al., 1996). Los resultados sobre la efectividad de este método de restauración fueron un éxito y es lo que se espera que ocurra a largo plazo en el “Proyecto Bosque Marino”. En este contexto, las reservas de nutrientes en el momento del trasplante juegan un papel clave en el crecimiento de los fragmentos, siendo la capacidad de

adquisición de nutrientes un factor crítico en su supervivencia (Genot *et al.*, 1994). Esto es así porque los nutrientes controlan estacionalmente la producción primaria de *P. oceanica*, al igual que otros factores como la luz y la temperatura (a largo plazo) (Alcoverro *et al.*, 1997). Así, para mantener una productividad alta, se requiere una tasa alta de incorporación de nutrientes, especialmente a finales de primavera o principios de verano, cuando las praderas crecen rápidamente y la disponibilidad de nutrientes es baja (Buia *et al.*, 1992; Alcoverro *et al.*, 1995). Este desequilibrio estacional de nutrientes se puede amortiguar mediante la utilización de las reservas internas (retraslocación) (Alcoverro *et al.*, 2000); de hecho, se ha demostrado una fuerte integración fisiológica entre los haces de *P. oceanica*, ya que puede transferir nutrientes desde los haces viejos a los nuevos (Marbà *et al.*, 2002). *P. oceanica* almacena nutrientes en sus rizomas, principalmente en invierno cuando el aporte de nutrientes excede la demanda (Pedersen y Borum, 1993). Esto es especialmente importante considerando que esta fanerógama se distribuye en áreas costeras donde la disponibilidad de nutrientes es un factor limitante para su crecimiento, como es el caso del Mar Mediterráneo, caracterizado por su oligotrofia (Alcoverro *et al.*, 1995).

En resumen, la retraslocación de nutrientes desde las reservas internas a los tejidos nuevos y la capacidad de adquirir nuevos nutrientes pueden jugar un papel esencial en el balance total de nutrientes de los fragmentos trasplantados de *P. oceanica* y, por tanto, en su supervivencia y desarrollo vegetativo.

De este modo, en el presente estudio, se determinará el contenido en carbono, fósforo, nitrógeno y carbohidratos en hojas, rizomas y raíces de 5 fragmentos sacrificados para este fin de cada uno de los 3 hábitats considerados (unidad de plantación 1, unidad de plantación 2/3 y borde pradera). Estas variables nos permitirán establecer las concentraciones internas de carbono y nutrientes y evaluar si los fragmentos trasplantados son capaces de adquirir nutrientes del medio e interpretar las respuestas de supervivencia y desarrollo vegetativo en comparación con fragmentos de morfología similar situados en el borde de una pradera y que mantienen su integración clonal.

Se pretende testar la hipótesis de que los fragmentos del borde de pradera tendrán un contenido mayor de nutrientes en comparación con los fragmentos trasplantados; pero, dentro de estos últimos, los de la PL1 tendrán más que los

de la PL2 por su antigüedad (asumiendo que un mayor tiempo transcurrido desde el trasplante permite un mayor desarrollo de raíces y una mayor capacidad de adquisición de nutrientes del medio externo).

MATERIAL Y MÉTODO

Área de estudio y colecta de fragmentos de sacrificio

El área de estudio del presente trabajo considera 3 hábitats para su comparación: A) borde de pradera (PR), perteneciente al borde de la pradera natural de *P. oceanica* no perturbada; B) la unidad de plantación 1 (PL1), con fragmentos de *P. oceanica* que fueron plantados en marzo de 2018 (por lo que tienen 20 meses de antigüedad); y C) las unidades de plantación 2 y 3 (PL2), con fragmentos de *P. oceanica* que fueron plantados en noviembre de 2018 (por lo que tienen 12 meses de antigüedad).

Durante los días 21 y 22 de noviembre de 2019 se recolectaron 15 fragmentos en total: 10 fragmentos de sacrificio (estos son parte de los fragmentos trasplantados que se caracterizaron previamente al plantado para su posterior sacrificio y análisis químico), concretamente 5 fragmentos de PL1 y 5 fragmentos de PL2 y PL3; además de los 5 fragmentos de la zona de pradera (PR). Se hizo mediante buceo científico utilizando equipos de inmersión autónoma en la bahía de Pollença, al noreste de Mallorca en el Mediterráneo Occidental (Islas Baleares, España) (**Figura 2**).



Figura 2. Ubicación geográfica del área de estudio, el Puerto de Pollença, donde se encuentra la pradera en restauración delimitada por 4 puntos con las siguientes coordenadas: 39°54'07.2"N 3°05'55.3"E; 39°54'07.2"N 3°06'03.7"E; 39°54'04.0"N 3°05'55.3"E; y 39°54'04.0"N 3°06'03.7"E. La línea verde indica la localización del borde de pradera.

Los fragmentos se transportaron en bolsas de plástico al laboratorio del departamento de Ecología Marina del Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA), donde fueron debidamente etiquetadas y congeladas a -20°C.

Posteriormente, se siguió un protocolo de preparación de las muestras (fragmentos) para su análisis químico. Tras sacarlas del congelador y atemperarlas, se rasparon los epífitos con cuchillas de plástico para su caracterización morfológica. Con este fin, se contaron el número de haces, el número de hojas por haz, la longitud de todas las hojas, la anchura de la segunda hoja más joven de cada haz, la distancia entre haces, la longitud total del fragmento y la longitud total de cada grupo de raíces (todo en centímetros).

A continuación, se secaron los fragmentos durante 48 horas en una estufa a 60°C. Seguidamente, para el procesamiento de las muestras, se pesaron las hojas de cada haz conjuntamente, las segundas hojas, las raíces nuevas asignadas a cada haz, el rizoma entero, el rizoma desnudo (sin escamas ni raíces) y los trozos de rizoma contiguos a la inserción de cada haz. Estas medidas se obtuvieron con una balanza de precisión ($\pm 0,0001$ g).

Finalmente, se procedió a molturar cada una de estas partes del fragmento con una molturadora programada a una frecuencia de 24,5 durante 8 minutos. Las muestras molturadas se introdujeron en tubos *ependorf* de 2 ml debidamente etiquetados y se almacenaron en una desecadora. Con las segundas hojas se hicieron grupos o *pools* previamente, agrupando aquellas situadas en la misma posición en fragmentos diferentes (hasta alcanzar el peso mínimo de 70 mg para el análisis).

Para el análisis químico, el contenido de fósforo se determinó siguiendo el protocolo de [Fourqurean et al. 1992](#) y, para el contenido de carbohidratos (sacarosa y almidón) de la estructura de almacenamiento (rizoma), se siguió el protocolo de [Invers et al. 2004](#). Para el análisis del contenido de carbono y nitrógeno mediante analizador elemental CHN, se enviaron viales de todas las muestras al Servicio de Apoyo a Investigación (SAI) de la Universidad de A Coruña.

Análisis estadístico

Con el objetivo de comparar las variables morfométricas de los fragmentos iniciales y los de sacrificio de *P. oceanica* se realizaron una serie de análisis descriptivos (media y error estándar como medida de dispersión) y análisis estadísticos univariantes de comparación de medias. Para las pruebas de

normalidad y homocedasticidad (o igualdad de varianzas) de los datos, se hicieron los test de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. En los casos en los que los datos no asumían una de estas condiciones de normalidad y/u homocedasticidad, se realizó un test no paramétrico (Kruskal-Wallis); mientras que en el caso contrario se realizó un test paramétrico (ANOVA). En aquellos casos en los que se encontraron diferencias significativas, se realizaron tests *post-hoc* de comparación de medias por pares (Wilcoxon-Mann-Whitney para los análisis no paramétricos y Tukey para los análisis paramétricos).

Se siguió el mismo procedimiento para la comparación de los fragmentos de sacrificio entre los tres hábitats estudiados (PL1, PL2 y PR) en lo que respecta al contenido de carbono y nutrientes, la morfometría y la biomasa.

Los análisis descriptivos se realizaron con Excel, mientras que los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa IBM SPSS Statistics (versión 25.0).

RESULTADOS

Comparación del estado de los fragmentos iniciales frente a los de sacrificio de PL1 y PL2

Se comparó el estado de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 en el momento de su recolección (noviembre de 2019) con su estado inicial (cuando fueron plantados en marzo y noviembre de 2018, respectivamente). Se hizo a través de variables morfométricas independientes del tamaño de los fragmentos, ya que este puede ser muy variable (depende de la fenología de las hojas, los daños por herbivoría...). Por este motivo, se determinó el número medio de hojas por haz apical, el número medio de hojas por haz vertical, la anchura de la segunda hoja más joven, el número de haces vivos totales, el número de haces vivos horizontales, el número de haces vivos verticales y la superficie foliar.

En primer lugar, se hicieron análisis descriptivos de los datos calculando la media y el error estándar de las variables mencionadas por hábitat y por antigüedad de los fragmentos (**Figuras 3 y 4**). Seguidamente, se realizaron los análisis estadísticos correspondiente para testar las diferencias entre dichos factores y así poder compararlos (**Tabla 1, ANEXO**).

Respecto a PL1, solo se dieron diferencias significativas en cuanto al número medio de hojas por haz apical, encontrando un mayor valor en los fragmentos iniciales frente a los de sacrificio. Se concluyó a raíz de un p valor de 0,042 en el test no paramétrico de comparación de medias de Kruskal-Wallis (tras haber comprobado que los datos no cumplían las asunciones de normalidad y homocedasticidad mediante los tests de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente).

Sin embargo, aunque no se encuentren diferencias significativas, podemos ver a partir de la **Tabla 2** de datos brutos y la **Figura 3** que los fragmentos de sacrificio tienen generalmente menor número de hojas por haz vertical y menor número de haces vivos que los fragmentos iniciales. Por el contrario, la anchura de la segunda hoja más joven es generalmente mayor en los fragmentos de sacrificio.

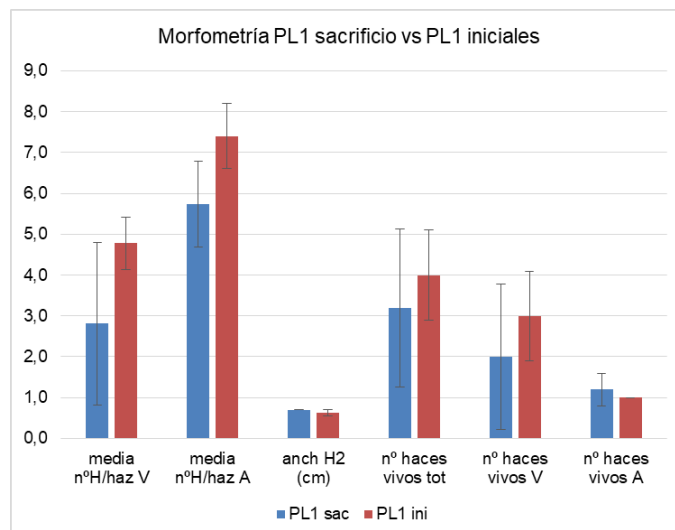


Figura 3. Representación gráfica de la media y el error estándar de las variables morfológicas estudiadas para los fragmentos de sacrificio y los fragmentos iniciales de PL1.

Tabla 2. Datos brutos de las variables morfológicas estudiadas para los fragmentos de sacrificio y los fragmentos iniciales de PL1.

ID hábitat	ID frag	media n°H/haz V	media n°H/haz A	anch H2 (cm)	n° haces vivos tot	n° haces vivos V	n° haces vivos A
UP1 sac	1	6,0	7,0	0,7	2	1	1
UP1 sac	2	3,4	4,5	0,7	6	5	1
UP1 sac	3	0,0	7,0	0,7	1	0	1
UP1 sac	4	3,0	5,0	0,7	2	1	1
UP1 sac	5	1,7	5,2	0,7	5	3	2
UP1 ini	1	4,3	8,0	0,6	4	3	1
UP1 ini	2	5,7	8,0	0,6	4	3	1
UP1 ini	3	4,0	7,0	0,7	3	2	1
UP1 ini	4	4,5	6,0	0,5	3	2	1
UP1 ini	5	5,4	8,0	0,7	6	5	1

En PL2, solo se dieron diferencias significativas en cuanto a la anchura media de la segunda hoja más joven de cada haz (encontrando un mayor valor en los fragmentos iniciales frente a los de sacrificio). Esta diferencia fue dada por un p valor de 0,034 en el test no paramétrico de comparación de medias de Kruskal-Wallis (tras haber comprobado que los datos no cumplían las asunciones de normalidad y homocedasticidad mediante los tests de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente).

A pesar de estos resultados, podemos ver tanto en la **Tabla 3** de datos brutos como en la **Figura 4**, que generalmente los fragmentos iniciales tienen un mayor número medio de hojas por haz vertical y de número de haces vivos respecto a los fragmentos de sacrificio. Sin embargo, estos últimos muestran el mayor número medio de hojas por haz apical.

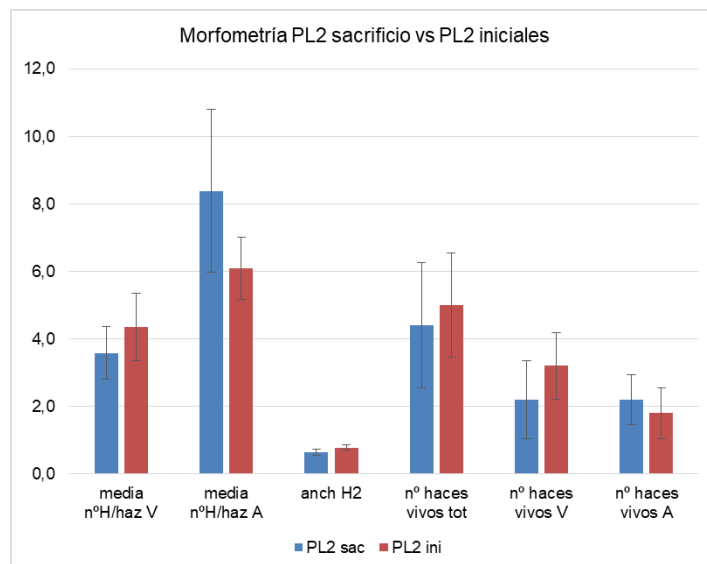


Figura 4. Representación gráfica de la media y el error estándar de las variables morfométricas estudiadas para los fragmentos de sacrificio y los fragmentos iniciales de PL2.

Tabla 3. Datos brutos de las variables morfométricas estudiadas para los fragmentos de sacrificio y los fragmentos iniciales de PL2.

ID hábitat	ID frag	media n°H/haz V	media n°H/haz A	anch H2	n° haces vivos tot	n° haces vivos V	n° haces vivos A
UP2 sac	1	2,5	6,5	0,5	4	2	2
UP2 sac	2	3,7	6,6	0,7	6	3	3
UP2 sac	3	4,8	7,3	0,6	7	4	3
UP2 sac	4	3,0	13,0	0,7	2	1	1
UP2 sac	5	4,0	8,5	0,7	3	1	2
UP2 ini	1	3,7	5,0	0,8	5	3	2
UP2 ini	2	6,0	7,0	0,9	4	3	1
UP2 ini	3	3,8	5,0	0,7	8	5	3
UP2 ini	4	3,3	7,0	0,8	4	3	1
UP2 ini	5	5,0	6,5	0,7	4	2	2

Comparación del estado de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 frente a los de pradera

Se comparó la morfometría de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 con los de una pradera establecida, también a través de variables independientes del tamaño. De este modo, se determinó la media del número de hojas por haz, la media de la anchura de la segunda hoja más joven por fragmento, la superficie foliar total (calculada como la suma de las longitudes de las hojas de un haz multiplicada por la anchura de la segunda hoja más joven), la media de la longitud de la raíz principal por haz y la media de las distancias entre haces vivos.

En la **Figura 5** observamos que los fragmentos del borde de pradera son los que poseen un mayor número de hojas medio por haz, seguido por los fragmentos

de PL2 y PL1. Sin embargo, las diferencias entre dichas medias no son significativas, lo que se ha visto reflejado en un p valor de 0,645 obtenido mediante un test ANOVA, tras comprobar que los datos de los tres hábitats cumplían las condiciones de normalidad y homocedasticidad (mediante el test de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente) (**Tabla 4, ANEXO**).

En cuanto a la media de la anchura de la segunda hoja más joven de cada haz observamos que el mayor valor también corresponde a los fragmentos de pradera, seguidos por los de PL1 y PL2 (**Figura 5**). Hay diferencias significativas en cuanto a esta variable entre los tres hábitats, dadas por un p valor de 0,009 en el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (tras comprobar que los datos no cumplían las condiciones de normalidad y homogeneidad de varianzas). Al hacer el test *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Whitney vemos que dichas diferencias se dan entre los hábitats PR y PL2 y entre PR y PL1, pero no entre PL1 y PL2 (**Tabla 4, ANEXO**).

En lo que respecta a la media de la superficie foliar, a pesar de que en la **Figura 5** vemos que el valor correspondiente a los fragmentos de pradera es mucho mayor que el resto, estas diferencias resultan no ser significativas. Esta conclusión resulta de un p valor de 0,659 en el test ANOVA, tras comprobar que los datos cumplen las asunciones de normalidad y homocedasticidad (**Tabla 4, ANEXO**).

Por otro lado, parece que los haces de los fragmentos de PL1 tienen una longitud de raíz principal media mayor que los de PR y PL2, según la **Figura 5**. Sin embargo, tras comprobar que los datos de los tres hábitats cumplían las asunciones de normalidad y homocedasticidad, se vio que no existen diferencias significativas entre ellos (p valor de 0,608 en el test ANOVA) (**Tabla 4, ANEXO**).

Por último, tampoco se vieron diferencias significativas en cuanto a la distancia media entre haces vivos por fragmento entre los tres hábitats (reflejado en un p valor de 0,747 en el test ANOVA tras comprobar la normalidad y homocedasticidad de los datos), a pesar de que en la **Figura 5** veamos que la media de PL2 supera a la de PL1 y PR (**Tabla 4, ANEXO**).

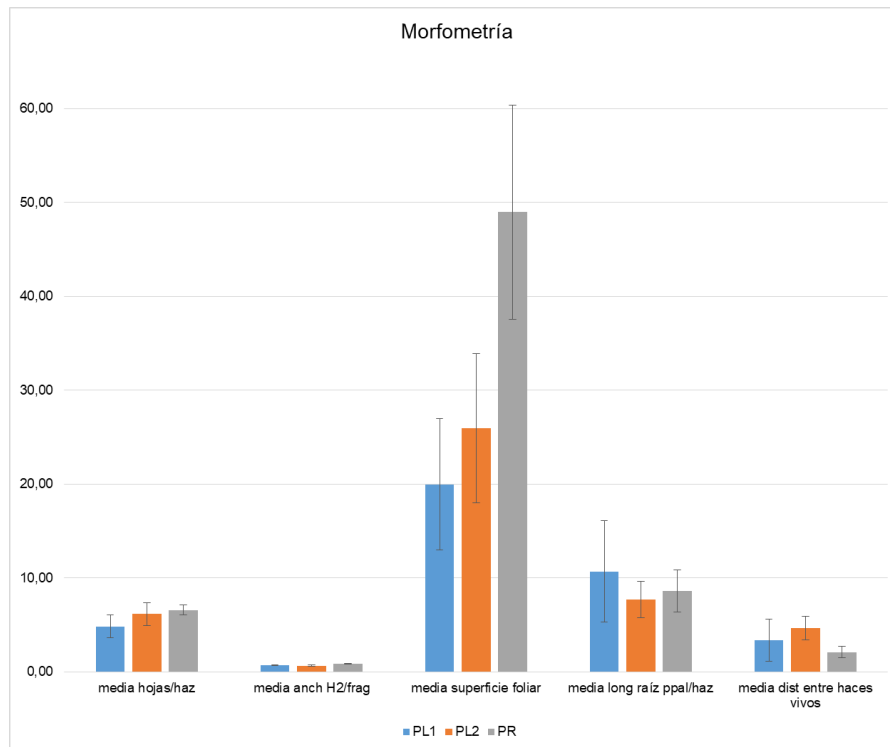


Figura 5. Representación gráfica de la media y el error estándar de las variables morfométricas estudiadas para los fragmentos de sacrificio de PL1, PL2 y PR.

Además de la morfometría, también se comparó la biomasa de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 con los fragmentos del borde de pradera mediante proporciones, estandarizando así los datos de forma independiente del tamaño. De esta forma, se han calculado: H/RI (calculado como la suma de la biomasa de hojas y segundas hojas más jóvenes dividido entre la biomasa del rizoma total); H/RA; H/RI+RA; y RI/RA.

Fijándonos en la **Figura 6** encontramos el mayor valor medio del ratio H/RI en PR (seguidos de los de PL1 y PL2), lo que quiere decir que los fragmentos del borde de pradera han destinado más recursos al incremento de la biomasa de hojas que al de los rizomas. De hecho, existen diferencias significativas entre estos hábitats, dadas por un p valor de 0,049 en el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (tras comprobar que los datos no se distribuían normalmente mediante el test de Shapiro-Wilk). Concretamente, dichas diferencias se dan entre PL2 y PR (al realizar el test *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Whitney) (**Tabla 5, ANEXO**).

En lo que respecta al ratio H/RA, vemos que también alcanza su valor máximo en los fragmentos del borde de pradera, seguidos de los fragmentos de PL2 y

PL1 (**Figura 6**). De nuevo se observaron diferencias significativas entre hábitats, dadas por un p valor de 0,024 en el test de Kruskal-Wallis (tras comprobar que los datos se distribuían normalmente pero no había homocedasticidad). Dichas diferencias se dan únicamente entre PL2 y PR (comprobado mediante el test *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Whitney) (**Tabla 5, ANEXO**).

Por último, aunque en la **Figura 6** se observa *a priori* que el ratio H/RI+RA es mayor en PL1 y el ratio RI/RA es mayor en PL2, se confirma para ambos casos que no existen diferencias significativas entre hábitats (reflejado en p valores de 0,069 y 0,062, respectivamente, dados por el test de Kruskal-Wallis tras comprobar que no cumplían una de las dos asunciones de normalidad y/u homocedasticidad) (**Tabla 5, ANEXO**).

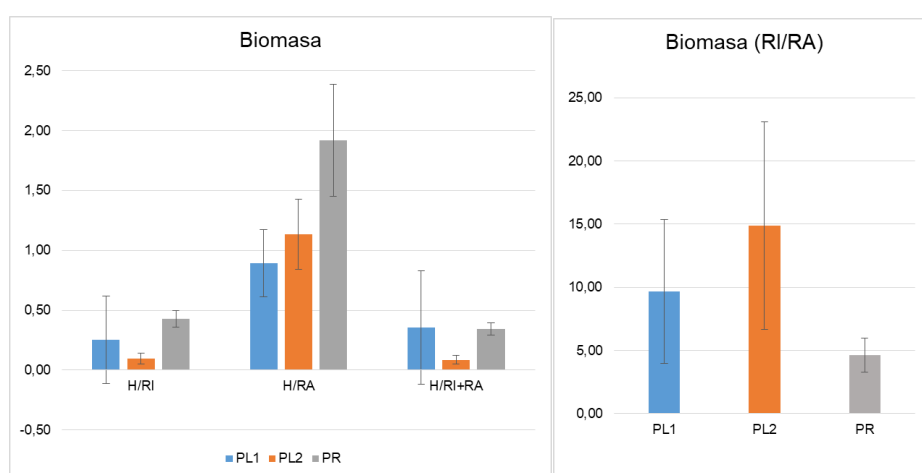


Figura 6. Representación gráfica de la media y el error estándar de los porcentajes de biomasa medidos en los fragmentos de sacrificio de PL1, PL2 y PR. El ratio RI/RA se representa en un gráfico aparte por tener un rango de datos mayor.

Comparación del contenido de nutrientes entre los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 y los del borde de pradera

Se compara la concentración de carbono y nutrientes (nitrógeno y fósforo) en los diferentes tejidos de los fragmentos de *P. oceanica* (hojas, segunda hoja más joven, rizoma y raíz) entre los tres hábitats considerados (PL1, PL2/3 y PR). En primer lugar, a modo de descripción general, se hicieron análisis descriptivos de los datos midiendo la media y el error estándar del porcentaje de nitrógeno y fósforo por hábitat (**Figura 7**). Posteriormente, se realizaron los análisis

estadísticos correspondientes para comprobar la significancia de las diferencias entre hábitats y poder compararlos (**Tabla 6, ANEXO**).

En lo que respecta al contenido en fósforo, el mayor porcentaje lo encontramos en la segunda hoja más joven de los haces, seguido por el conjunto de hojas de cada haz, el rizoma y las raíces. Comparando los tres hábitats, se observa que los fragmentos de pradera poseen una mayor concentración de fósforo en todos los tejidos, seguidos por los fragmentos de PL2 y PL1 (**Figura 7A**). Tras realizar la comprobación estadística de estas observaciones, se dieron diferencias significativas entre hábitats en cuanto al contenido en fósforo en hojas (p valor de 0,008 en el test de Kruskal-Wallis), en segundas hojas (p valor de 0,003 en el test ANOVA) y en rizomas (p valor de 0,000 en el test de Kruskal-Wallis). Dichas diferencias se dieron entre PR y PL1 para el contenido de fósforo en hojas (p valor de 0,02 en el test *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Whitney); entre PR y PL1 para el contenido de fósforo en segundas hojas (p valor de 0,000 en el test *post-hoc* de Tukey); y entre PR y PL1 y PR y PL2 para el contenido de fósforo en rizomas (p valores de 0,003 y 0,002 en el test *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Whitney, respectivamente).

En cuanto al contenido en nitrógeno, también encontramos generalmente el mayor porcentaje en las segundas hojas más jóvenes, seguidas del conjunto de hojas de cada haz, los rizomas y las raíces. Si comparamos entre hábitats, la mayor concentración de nitrógeno la encontramos en los fragmentos del borde de pradera para todos los tejidos (**Figura 7B**). Al hacer el análisis estadístico, se vio que las diferencias entre zonas eran significativas para todos los tejidos: en hojas entre PR y PL1 (p valor de 0,000 en el test *post-hoc* de Tukey, previo test ANOVA con p valor de 0,048); en segundas hojas entre PR y PL2 (p valor de 0,000 en el test *post-hoc* de Tukey, previo test ANOVA con p valor de 0,004); en rizomas entre PR y PL1 y entre PR y PL2 (p valor de 0,000 en el test *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Whitney en ambos casos, previo test de Kruskal-Wallis con p valores muy bajos); y en raíces entre PR y PL1 (p valor de 0,025 en el test *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Whitney).

Respecto al contenido en carbono, observamos un patrón similar en la medida en que el tejido que posee mayor concentración es el rizoma, seguido de las

raíces, las segundas hojas y el conjunto de hojas (aunque los valores medios de cada tejido no difieran mucho entre sí). Por otro lado, al contrario de lo que ocurría para el fósforo y el nitrógeno, no se observa una tendencia generalizada en cuanto al contenido de carbono en la comparación entre hábitats (**Figura 7C**). De hecho, tras el análisis estadístico, solo encontramos diferencias significativas entre hábitats en hojas (p valor de 0,000 en el test de Kruskal-Wallis) y en raíces (p valor de 0,012 en el test de Kruskal-Wallis). Para ambos tejidos, PL1 presenta el mayor porcentaje de carbono, seguido por PL2 y PR (en hojas PL1 difiere significativamente de PR y PL2 dado por un p valor de 0,000 y 0,014, respectivamente; y en raíces PL1 difiere significativamente de PR dado por un p valor de 0,011). Por último, aunque no existan diferencias significativas entre hábitats en cuanto al contenido de carbono en segundas hojas y rizomas, se observa en la **Figura 7C** que PL1 tiene un valor medio en segundas hojas mayor que PR y PL2; y PR tiene un valor medio en rizomas mayor que PL1 y PL2.

Para el contenido de carbohidratos en los rizomas (**Figura 7D**) se observa que el contenido en sacarosa es mayor en los fragmentos del borde de pradera, seguido de los de PL1 y PL2; mientras que la concentración de almidón es mayor en los fragmentos de PL2, seguido de los fragmentos de PR y PL1. En cuanto al contenido en sacarosa, dichas diferencias resultaron ser significativas, concretamente entre PL2 y PR y entre PL1 y PL2 (p valores de 0,007 y 0,029, respectivamente, mediante el test *post-hoc* de Wilcoxon-Mann-Whitney). En cuanto al almidón, las diferencias entre hábitats también resultaron significativas, concretamente entre PL1 y PL2 (p valor de 0,000 en el test *post-hoc* de Tukey).

El mayor ratio N:P lo observamos en rizomas, seguido de las hojas, raíces y segundas hojas (**Figura 7E**). Al comparar entre hábitats, encontramos que PR tiene un ratio N:P significativamente mayor que PL2 en hojas y rizomas; y que PL1 en rizomas y raíces. Por otro lado, el ratio N:P en segundas hojas es significativamente mayor en PL1 en comparación con PL2.

Respecto al ratio C:N, encontramos los mayores valores en rizomas, seguido de las raíces, el conjunto de hojas y las segundas hojas (**Figura 7F**). Comparando entre hábitats, observamos que existen diferencias significativas entre PL2 y PR

en hojas, segundas hojas y rizomas (encontrando los mayores valores de C:N en PL2); y entre PL1 y PR en todos los tejidos (siendo mayor en PL1).

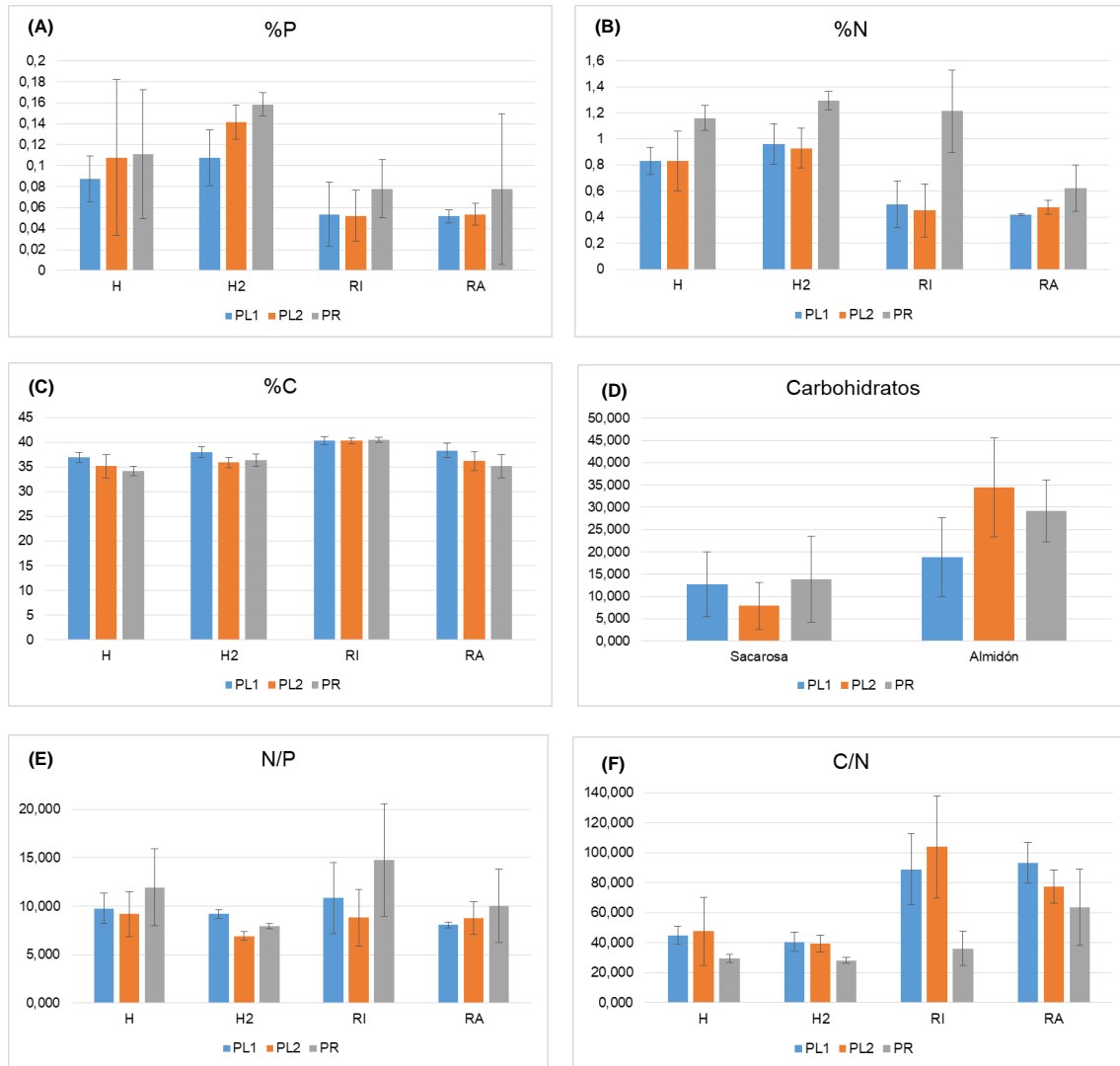


Figura 7. Representación gráfica del contenido medio de carbono y nutrientes en los diferentes tejidos por hábitat: hojas (H), segunda hoja más joven (H2), rizoma (RI) y raíz (RA). El error estándar de la media se representa mediante líneas verticales sobre las barras. **A)** Contenido en fósforo (%P); **B)** Contenido en nitrógeno (%N); **C)** Contenido en carbono (%C); **D)** Contenido en carbohidratos: sacarosa y almidón; **E)** Ratio N:P; **F)** Ratio C:N.

DISCUSIÓN

Comparación del estado de los fragmentos iniciales frente a los de sacrificio de PL1 y PL2

Encontramos en PL1 diferencias significativas únicamente en lo que respecta al número de hojas por haz apical, en la medida en que los fragmentos de sacrificio muestran un valor más bajo respecto a su estado inicial. Puede deberse a la fuerte estacionalidad del crecimiento foliar intrínseca de la especie, con altas tasas a finales de primavera y bajas a finales de verano (Alcovero *et al.* 1995), ya que los fragmentos de PL1 se plantaron en primavera (marzo de 2018) y se recolectaron a finales de noviembre de 2019. Esta pérdida de hojas también podría deberse a su estado inicial, teniendo en cuenta que son fragmentos que fueron arrancados de forma natural que derivaban por el fondo y se acumulaban en claros de arena de la pradera, no siendo estas las condiciones idóneas para su crecimiento.

Sin embargo, aunque observemos una disminución general en el número de hojas por haz y el número de haces vivos totales en los fragmentos de sacrificio de PL1, el número de haces vivos apicales y la anchura de las segundas hojas experimentaron un aumento con respecto a la situación inicial. Esto puede indicar que dichos fragmentos están adaptando su crecimiento para hacer frente a la situación de estrés que implica el trasplante con la disponibilidad de recursos que contienen individualmente, ya que al no estar integrados no pueden disponer de recursos almacenados en fragmentos vecinos.

Por otro lado, en PL2 solo encontramos diferencias significativas con respecto a la anchura de las segundas hojas, siendo mayor en la situación inicial. Sin embargo, los fragmentos de sacrificio de PL2 muestran los primeros signos de que puede estar ocurriendo la adaptación a la situación de estrés por el aumento del número de haces vivos apicales.

En general, vemos que los indicadores de desarrollo vegetativo de los fragmentos de ambas plantaciones reflejan que la morfología de los de sacrificio es menor que la de su estado inicial, como consecuencia del estrés que supone el trasplante. Sin embargo, aún no podemos predecir el futuro de los fragmentos

ya que no se observa un patrón de desarrollo claro (**Figura 8**) en tan corto plazo de tiempo desde el momento de trasplante.

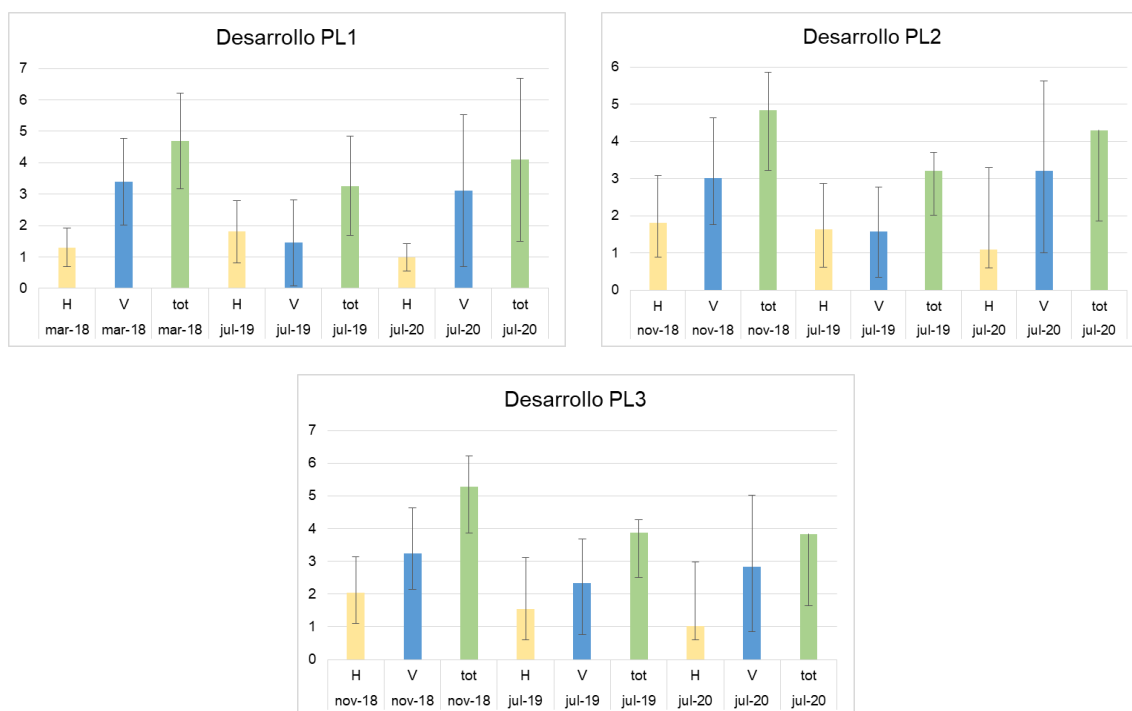


Figura 8. Representación gráfica del desarrollo vegetativo de los fragmentos plantados en: **A)** PL1; **B)** PL2; y **C)** PL3. Estos datos se basaron en las medidas de los 16 fragmentos de un nodo en: 10 nodos PL1; 5 nodos de PL2; y 5 nodos de PL3. Se calculó el número medio de haces horizontales (H), verticales (V) y totales (calculado como la suma de los anteriores) y se representó la media con su error estándar.

Comparación del estado de los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 frente a los de pradera

De la comparación entre los 3 hábitats resulta que solo existen diferencias significativas en cuanto a la anchura de la segunda hoja entre los fragmentos de pradera y los de sacrificio, tanto de PL1 como de PL2, siendo mayor en los primeros. Esto sugiere un mayor crecimiento vegetativo de los fragmentos de la pradera natural ya que, al estar completamente integrados, son capaces de traslocar los nutrientes más eficientemente optimizando su crecimiento foliar (lo que también se refleja en el mayor número de hojas por haz y la mayor superficie foliar de dichos fragmentos) y el crecimiento del rizoma (lo que se refleja en la menor distancia entre haces vivos, traducido en una mayor tasa de producción

de haces, que indirectamente sugiere una mayor velocidad de crecimiento). De hecho, se cumple lo esperado respecto a la biomasa de los fragmentos del borde de pradera: más hojas por gramo de rizoma y de raíces; y más raíces por gramo de rizoma. Es decir, tienen más órganos de asimilación (hojas y raíces) por unidad de rizoma que los fragmentos trasplantados.

Por otro lado, PL1 presenta los menores valores del número de hojas por haz y de superficie foliar, pero los mayores valores de longitud de la raíz principal. Esto se ve reflejado en el ratio de biomasa H/RA, que presenta el menor valor en PL1 en comparación con PL2 y PR, indicando que los fragmentos de PL1 tienen más raíces por gramo de hojas; es decir, destinan más nutrientes a incrementar la biomasa de las raíces frente a la de las hojas. Esto puede deberse a que en sus 20 meses de antigüedad los fragmentos han empezado a adaptar su crecimiento frente al estrés priorizando el enraizamiento en el sedimento (para establecerse en la pradera) frente al crecimiento foliar.

En contraposición, PL2 presenta más hojas por haz y mayor superficie foliar que PL1, pero menor longitud de raíces, habiendo priorizado el crecimiento foliar y de los rizomas frente al de las raíces (tal como se refleja en los datos de biomasa). Esto es indicativo de que en sus 12 meses de antigüedad aún no ha comenzado a establecerse y su supervivencia parece depender de las reservas internas (almacenadas en el momento del trasplante).

Comparación del contenido de nutrientes entre los fragmentos de sacrificio de PL1 y PL2 y los del borde de pradera

Conocer el balance de carbono y nutrientes en los diferentes tejidos de los fragmentos de *P. oceanica* nos da información sobre su estado fisiológico.

En lo que respecta al nitrógeno, la demanda de este nutriente para cumplir con los requerimientos de la planta es muy alta (Lepoint *et al.*, 2002b). Esta demanda incluye la absorción de nitrógeno por hojas y raíces, las estrategias de almacenamiento de nitrógeno en las raíces y el reciclaje de nitrógeno (Alcoverro *et al.*, 2000; Invers *et al.*, 2002; Lepoint *et al.*, 2002a). Estos requerimientos son especialmente altos en los haces nuevos por el desarrollo de nuevos tejidos; sin embargo, la capacidad de absorción de nitrógeno es baja porque el desarrollo

de raíces se retrasa en relación con el desarrollo de los rizomas y las hojas (Molenaar *et al.*, 1993). Es por ello que las diferencias entre la demanda y la adquisición de nitrógeno podrían suponer un motivo de fracaso en los experimentos de trasplante, el anclaje de los fragmentos y los procesos naturales de colonización, tal como se vio en el estudio de Lepoint *et al.* (2004). Esto explicaría que los fragmentos trasplantados de PL1 y PL2 tengan un contenido en nitrógeno significativamente menor que los del control (borde de pradera de natural), a pesar de las altas tasas de supervivencia (**Figura 9**). Esto es así porque, con pocas raíces (en relación a la biomasa de rizoma y hojas) o con ausencia de las mismas, los trasplantes son incapaces de suplir sus requerimientos de nitrógeno debido a que la absorción por parte de las hojas es insuficiente para restituir la pérdida de nitrógeno durante la caída natural de las hojas. Además, el aumento de nitrógeno en raíces indica que el fragmento recoloca dicho nutriente desde un tejido a otro para asegurar su crecimiento (por ejemplo desde hojas y/o rizomas a raíces) (Lepoint *et al.*, 2004). Esto explicaría también por qué el contenido de nitrógeno en las hojas y rizomas es mayor y el de raíces menor en PL1 con respecto a PL2, ya que los fragmentos de PL1 son más antiguos que los de PL2 y, por tanto, estarían mejor establecidos. De este modo, dichos fragmentos pueden destinar más nitrógeno a favor de las hojas y rizomas en lugar de las raíces.

En lo que respecta al fósforo, es interesante conocer su contenido ya que la disponibilidad de este nutriente limita más el crecimiento de *P. oceanica* que el nitrógeno (Gerloff y Krombholz, 1966). El fósforo, al igual que el carbono, es absorbido por las hojas y raíces de la planta; mientras que el nitrógeno se absorbe directamente de la columna de agua, del agua intersticial del sedimento por las raíces y/o mediante epífitos fijadores como las cianobacterias (Fresi y Saggiomo, 1981). Para este nutriente también observamos que los mayores valores se encuentran en los fragmentos del borde de pradera natural, debido al buen estado de la misma; sin embargo, el contenido en fósforo del conjunto de hojas y segundas hojas es significativamente menor en PL1, lo que puede deberse a que estén mejor establecidas que los fragmentos de PL2 y destinen dicho nutriente al rizoma para el crecimiento vegetativo.

Por otro lado, el balance de carbono está relacionado con la producción primaria de la planta y es resultado de las tasas de ganancias por fotosíntesis y las pérdidas por respiración y crecimiento. Dicho balance es positivo en los meses de verano (julio y agosto) y negativo en el resto de meses, lo que depende de diversos factores que fluctúan estacionalmente como la irradiación, la turbidez del agua, el crecimiento del fragmento, la diferencia de edad entre los tejidos dentro de un mismo fragmento... (Alcoverro *et al.*, 2001). En este contexto, las praderas de fanerógamas son los ecosistemas marinos con la mayor tasa de producción primaria en el litoral y son las principales contribuidoras de la producción de carbono almacenado y, por tanto, enterrado en el sedimento (Duarte y Cebrián, 1996). Cabe destacar que *P. oceanica* posee una gran capacidad para el almacenamiento estacional de carbohidratos, lo que parece influir en la supervivencia (Pirc, 1989; Genot *et al.*, 1994). El rizoma es el órgano que sirve tanto de almacén como de distribuidor de los productos fotosintéticos (sacarosa y almidón) (Libes y Boudouresque, 1987), lo que explica que sea el tejido con mayor contenido en carbono. Dicha distribución se da hacia órganos con altas tasas metabólicas, como hojas en fase de crecimiento rápido o brotes apicales en división. En este sentido, que PL1 tenga significativamente más contenido de C en hojas que PR y PL2 y mayor contenido de C en raíces que PR, apoya la hipótesis de que los fragmentos de PL1 están mejor establecidos que los de PL2, ya que indica que son capaces tanto de fabricar productos fotosintéticos como de utilizar las reservas y destinarlos al crecimiento de hojas y raíces. Esto también se refleja en los valores de sacarosa, significativamente menores en PL2, y los valores de almidón, significativamente mayores en PL2. Esto indica que los fragmentos de menor antigüedad se están enfrentando a la situación de estrés por trasplante con los recursos disponibles del momento en el que fueron plantados.

Evaluar el ratio C:N:P (conocido como "Redfield ratio") es importante en la medida en que nos da una información relevante sobre los flujos de materia orgánica disuelta (DOM) en una pradera, relativos a la liberación neta de carbono orgánico, nitrógeno y fósforo disueltos (DOC, DON y DOP) (Barrón y Duarte, 2009). La media del ratio C:N:P de fanerógamas marinas es de 550:30:1, lo que indica que estas plantas están mucho más empobrecidas que el fitoplancton en

P y menos en N, en relación con el C. Las diferencias de este ratio entre zonas nos permiten inferir la limitación del crecimiento de *P. oceanica* por nutrientes y su contenido en carbono estructural (Atkinson y Smith, 1983). De hecho, el estudio realizado en la bahía de Magalluf en Mallorca sobre la liberación de materia orgánica disuelta por praderas de *P. oceanica*, obtuvo un valor promedio del ratio C:N:P de 1450:69:1, superior al de las comunidades de sedimentos sin vegetación adyacentes (1024:66:1) (Barrón y Duarte, 2009). Esto refleja las condiciones oligotróficas del agua de estas costas y cómo limita la tasa de crecimiento. En el presente estudio se cumple que el ratio N:P en hojas es similar entre PL1 y PR, siendo en ambos casos mayor que el de PL2; esto refleja la mejor eficiencia de absorción de nitrógeno por parte de las hojas tanto de los fragmentos bien establecidos (de pradera natural) como de los fragmentos trasplantados de mayor antigüedad. Sin embargo, en lo que respecta al ratio C:N, es significativamente menor en los fragmentos de PR para todos los tejidos, lo que indica que son más ricos en N por unidad de C; es decir, que la planta es capaz de obtener del medio más N en relación al carbono que produce. Esto se debe a que los fragmentos de pradera tienen mayor disponibilidad de N que los de plantación y, al tener un mejor el balance entre sus requerimientos para el crecimiento y su capacidad de adquisición del medio, hace que su C:N baje. De hecho, esto se ha observado en estudios de aumento en la disponibilidad ambiental de nutrientes (añadiendo P o N, por ejemplo), lo que resulta en un aumento de su concentración en plantas, haciendo su C:N más pequeño (Short, 1987; Romero *et al.*, 2006).

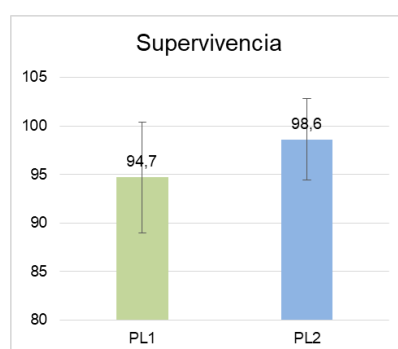


Figura 9. Valores de supervivencia de los fragmentos plantados en PL1 y PL2/3 estimados en julio de 2019, calculados como porcentaje con respecto al número de fragmentos inicialmente plantados en cada nodo. Para ello se cuantificó el número de fragmentos plantados que estaban vivos (es decir, que tenían al menos un haz con una hoja verde viva) en 20 nodos de PL1 y 20 nodos de PL2/3 (10 nodos en cada una de las unidades de plantación).

CONCLUSIONES

La evolución del estado de los fragmentos de sacrificio inferida mediante datos morfológicos, de biomasa y nutricionales comparada con la de una pradera natural nos da una información muy valiosa sobre el tiempo de adaptación de los trasplantes a la pradera en restauración.

El mayor contenido general en carbono y nutrientes de PL1 con respecto a PL2 refleja la capacidad de los fragmentos trasplantados para adquirir los nutrientes que requieren para su crecimiento, lo que se refleja en los datos de variables morfométricas y de biomasa (mayor número de haces vivos apicales, mayor anchura de la segunda hoja más joven, mayor biomasa de hojas por gramo de rizoma...). Sin embargo, aunque no existan tantas similitudes entre los fragmentos de PL2 y los de la pradera natural, los cambios con respecto al estado inicial de los trasplantes indican que estos fragmentos están adaptando su crecimiento para enfrentarse a la situación de estrés con los recursos que contienen individualmente (y por esos sus indicadores en general muestran una tendencia a ser menores que los iniciales). Estos datos son novedosos y relevantes para el diseño de experimentos sobre el seguimiento de praderas en restauración y aportan información sobre el tiempo de reacción de los fragmentos de *P. oceanica* tras el trasplante.

Por otro lado, que haya más diferencias con PR que entre PL1 y PL2 y la falta de un patrón temporal claro en el desarrollo vegetativo de los fragmentos en estas dos unidades de plantación, sugiere que no ha pasado tiempo suficiente para que se detecten cambios significativos en el balance neto de haces por fragmento (referido la diferencia entre la pérdida de haces y la producción de nuevos); o bien, que se requiere un número muestral mayor para que la media de las variables por fragmento sea más representativa de la unidad de plantación (por ejemplo, recolectar 10 fragmentos de sacrificio en lugar de 5).

Es por ello que se requiere un monitoreo más a largo plazo (más de 10 años) para evaluar el progreso de los fragmentos trasplantados en un ambiente intrínsecamente dinámico y estresante. En este contexto, la aprobación e implementación de medidas y herramientas para conservar y restaurar los ecosistemas submarinos es un objetivo esencial y urgente, teniendo en cuenta

la pérdida acelerada de la biodiversidad marina debido a la degradación de la calidad del agua. La conservación de las praderas de pastos marinos se puede lograr combinando medidas para proteger las praderas existentes (designando áreas marinas protegidas, regulaciones enfocadas a prevenir la contaminación y eliminando prácticas pesqueras destructivas como la pesca de arrastre, aplicando sanciones, etc.) y medidas que permiten recuperar las áreas degradadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcoverro, T., Duarte, C.M., Romero, J., (1995). **Annual growth dynamics of *Posidonia oceanica*: contribution of large-scale versus local factors to seasonality.** Marine Ecology Progress Series 120, 203–210
- Alcoverro T., Manzanera, M. Romero., J. (2001) **Annual metabolic carbon balance of the seagrass *Posidonia oceanica*: the importance of carbohydrate reserves.** Marine Ecology Progress Series, 211:105-116.
- Alcoverro T., Manzanera, M. Romero., J. (2000) **Nutrient mass balance of the seagrass *Posidonia oceanica*: the importance of nutrient retranslocation.** Marine Ecology Progress Series, 194:13-21.
- Alcoverro, T., Romero, J., Duarte, C.M. *et al.* (1997) **Spatial and temporal variations in nutrient limitation of seagrass *Posidonia oceanica* growth in the NW Mediterranean.** Marine Ecology Progress Series, 146:155-161.
- Atkinson, M.J. y Smith S.V. (1983) **C:N:P Ratios of Benthic Marine Plants.** Limnology and Oceanography, 28(3):568-574.
- Augier, H., Eugene, C., Harmand-Desforages, J.M. *et al.* (1996) ***Posidonia oceanica* re-implantation technology of the marine gardeners is now operational on a large scale.** Ocean & Coastal Management, 30(2-3):297-307.
- Balestri, E. (2004) **Flowering of the seagrass *Posidonia oceanica* in a north-western Mediterranean coastal area: Temporal and spatial variations.** Marine Biology, 145(1):61-68.
- Balestri, E., Cinelli, F., (2002). **Sexual reproductive success in *Posidonia oceanica*.** Aquatic Botany 75, 21–32
- Balestri, E., Piazzì, L., & Cinelli, F. (1998). **Survival and growth of transplanted and natural seedlings of *Posidonia oceanica* (L.) Delile in a damaged coastal area.** Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 228:209-225.

- Balestri, E., Vallerini, F. y Lardicci, C. (2011) **Storm-generated fragments of the seagrass *Posidonia oceanica* from beach wrack - A potential source of transplants for restoration**. *Biological Conservation*, 144(5):1644-1654.
- Barrón, C. y Duarte, C.M. (2009) **Dissolved organic matter release in a *Posidonia oceanica* meadow**. *Marine Ecology Progress Series*, 374:75-84.
- Bethoux, J.P. y Copin-Montégut, G., (1986). **Biological fixation of atmospheric nitrogen in the Mediterranean Sea**. *Limnology and Oceanography*, 31: 1353–1358.
- Boudouresque C.F., Bernard G., Bonhomme P. *et al.* (2006). **Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica***. RAMOGE publisher, 1-202.
- Boudouresque, C. F., Bernard, G., Pergent, G. *et al.* (2009). **Regression of Mediterranean seagrasses caused by natural processes and anthropogenic disturbances and stress: a critical review**. *Botanica Marina*, 52(5):395-418.
- Buia M.C., Gambi M.C. y Dappiano M. (2004). **Seagrass systems**. *Biología Marina Mediterránea* 11: 133-183.
- Buia, M.C. y Mazzella, L. (1991). **Reproductive phenology of the Mediterranean seagrasses *Posidonia oceanica* (L.) Delile, *Cymodocea nodosa* (Ucria) Aschers., and *Zostera noltii* Hornem**. *Aquatic Botany*, 40:343–362.
- Buia MC, Zupo V, Mazzella L (1992) **Primary production and growth dynamics of *Posidonia oceanica***. *Marine Ecology*, 13(1):1-15
- Cancemi, G., De Falco, G. y Pergent, G. (2000). **Impact of a fish farming facility on a *Posidonia oceanica* meadow**. *Biologia Marina Mediterranea* 7: 341–344.
- Duarte, C.M. (1995). **Submerged aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes**. *Ophelia* 41: 87–112

- Díaz-Almela, E., Marbà, N., Álvarez, E. *et al.* (2006) **Patterns of seagrass (*Posidonia oceanica*) flowering in the Western Mediterranean.** Marine Biology 148(4): 723-742
- Díaz-Almela, E., Marbà, N., Álvarez, E. *et al.* (2008) **Patch dynamics of the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*: Implications for recolonisation process.** Aquatic Botany, 89(4):397-403.
- Di Carlo, G., Badalamenti, F, Jensen, A.C. *et al.* (2005) **Colonisation process of vegetative fragments of *Posidonia oceanica* (L.) Delile on rubble mounds.** Marine Biology, 147: 1261–1270
- Duarte, C.M. y Cebrián, J. (1996) **The fate of marine autotrophic production.** Limnology and Oceanography, 507:1758–1766.
- Duarte, C.M., Dennison, W.C., Orth, R.J.W. *et al.* (2008). **The Charisma of Coastal Ecosystems: Addressing the Imbalance.** Estuaries and Coasts, 31:233-238
- Fourqurean, J.W., Zieman, J.C., Powell, G.V.N. (1992). **Relationships between pore- water nutrients and seagrasses in a subtropical carbonate environment.** Marine Biology 114, 57-65.
- Fresi, E. y Saggiomo, V. (1981). **Phosphorus uptake and transfer in *Posidonia oceanica* (L.) Delile.** Rapp. Comm. int. Mer Medit., 27(2): 187-188.
- Genot, I, Caye, G, Meinesz, A, *et al.* (1994) **Role of chlorophyll and carbohydrate contents in survival of *Posidonia oceanica* cuttings transplanted to different depths.** Marine Biology, 119:23–29
- Gerloff, G.C. y Krombholz, P.H. (1966). **Tissue analysis as a measure of nutrient availability for the growth of angiosperm aquatic plants.** Limnology and Oceanography, 11(4):529-537
- Green, E.P. y Short, F.T. (2003) **World atlas of seagrasses.** Berkeley: University of California Press, 1-324.
- Invers, O., Kraemer, G.P., Pérez, M. *et al.* (2004). **Effects of nitrogen addition on nitrogen metabolism and carbon reserves in the temperate seagrass *Posidonia oceanica*.** Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 303(1):97-114.

- Invers, O., Perez, M., Romero, R., (2002). **Seasonal speciation in temperate seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile**. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 273:219–240
- Kendrick, G.A., Marbà, N. y Duarte C.M. (2005) **Modelling formation of complex topography by the seagrass *Posidonia oceanica***. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 65(4):717-725.
- Lepoint, G., Defawe, O., Gobert, S. *et al.* (2002). **Experimental evidence for N recycling in the leaves of the seagrass *Posidonia oceanica***. Journal of Sea Research 48:173–179
- Lepoint, G., Millet, S., Dauby, P. *et al.* (2002b). **An annual nitrogen budget of the seagrass *Posidonia oceanica* as determined by in situ uptake experiments**. Marine Ecology Progress Series 237:87–96
- Lepoint G., Vangeluwe D, Eisinger M. *et al.* (2004) **Nitrogen dynamics in *Posidonia oceanica* cuttings: implications for transplantation experiments**. Marine Pollution Bulletin 48:465-470.
- Libes, M. y Boudouresque C.F. (1987) **Uptake and long-distance transport of carbon in the marine phanerogam *Posidonia oceanica***. Marine Ecology Progress Series, 38(2):177-186.
- Lopez y Royo C., Casazza G., Pergent-Martini C. *et al.* (2010). **A biotic index using the seagrass *Posidonia oceanica* (BiPo), to evaluate ecological status of coastal waters**. Ecological Indicators, 10(2): 380-389.
- Marbà, N., Díaz-Almela, E., Duarte, C. M. (2014). **Mediterranean seagrass (*Posidonia oceanica*) loss between 1842 and 2009**. Biological Conservation, 176:183-190.
- Marbà, N. y Duarte, C.M. (1998). **Rhizome elongation and seagrass clonal growth**. Marine Ecology Progress Series 174:269–280.
- Marbà, N., Duarte, C.M., Cebrián, J. *et al.* (1996). **Growth and population dynamics of *Posidonia oceanica* in the Spanish Mediterranean coast: elucidating seagrass decline**. Marine Ecology Progress Series 137: 203–213

- Marbà, N., Hemminga, M.A., Mateo, M.A. *et al.* (2002). **Carbon and nitrogen translocation between seagrass ramets.** Marine Ecology Progress Series 226:287–300
- Marbà N., Krause-Jensen D., Alcoverro T. *et al.* (2013) **Diversity of European seagrass indicators: Patterns within and across regions.** Hydrobiologia 704(1):265-278
- Molenaar, H., Meinesz, A., Caye, G., (1993). **Vegetative reproduction in *Posidonia oceanica*. Survival and development in different morphological types of transplanted cuttings.** Botanica Marina 36:481–488.
- Pedersen, M.F. y Borum, J. (1993) **An annual nitrogen budget for a seagrass *Zostera marina* population.** Marine Ecology Progress Series 101:169-177
- Pergent-Martini, C. y Pasqualini, V., (2000). **Seagrass population dynamics before and after the setting up of a wastewater treatment plan.** Biologica Marina Mediterranea 7:405–408
- Piazzzi, L., Balestri, E., Magri, M., *et al.* (1998). **Experimental transplanting of *Posidonia oceanica* (L.) Delile into a disturbed habitat in the Mediterranean Sea.** Botanica marina, 41(1-6):593-602.
- Pirc, H. (1989) **Seasonal changes in soluble carbohydrates starch and energy content in Mediterranean seagrasses.** Marine Ecology 10:97–105
- Relini, G. y Giaccone, G. (2009). **Priorità habitats according to the SPA/BIO Protocol (Barcelona Convention) present in Italy. Identification sheets.** Biologia Marina Mediterranea: 16(1):1-372.
- Romero, J., Kun-Seop, L., Pérez, M. *et al.* (2006) **Nutrient Dynamics in Seagrass Ecosystems.** Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation, 227-254.
- Short, F.T. (1986) **Effects of sediment nutrients on seagrasses: literatura review and mesocosm experiment.** Aquatic Botany, 27:41-57.

- Short, F.T., Kosten, P., Morgan, P.A. *et al.* (2016) **Impacts of climate change on submerged and emergent wetland plants.** Aquatic botany 16:30066-3
- Short, F.T. y Neckles, A.H. (1999). **The effects of global climate change on seagrasses.** Aquatic Botany, 63:169-196.
- Telesca, L., Belluscio, A., Criscoli, A. *et al.* (2015) **Seagrass meadows (*Posidonia oceanica*) distribution and trajectories of change.** Scientific Reports 5:12505.
- Van Katwijk, M. M., Thorhaug, A., Marbà, N., *et al.* (2016). **Global analysis of seagrass restoration : the importance of large-scale planting.** Journal of Applied Ecology, 53:567–578.
- Waycott, M., Duarte, C.M., Carruthers, T.J.B. *et al.* (2009) **Accelerating loss of seagrass across the globe threatens coastal ecosystems.** Proceedings of the National Academy of Sciences 106(30):12377-81.

ANEXO

Tabla 1. p valores de los test de comparación de variables morfológicas entre los fragmentos de sacrificio y los iniciales de: **(A)** PL1; y **(B)** PL2.

	PL1 sac vs PL1 ini			PL1 sac vs PL1 ini	
	ANOVA	Kruskal- Wallis		ANOVA	Kruskal- Wallis
nº hojas/haz vertical	-	0,117	nº hojas/haz vertical	-	0,297
nº hojas/haz apical	-	0,042	nº hojas/haz apical	-	0,092
anchura segunda hoja	-	0,622	anchura segunda hoja	-	0,034
nº haces vivos totales	0,103	-	nº haces vivos totales	-	0,518
nº haces vivos verticales	0,187	-	nº haces vivos verticales	0,088	-
nº haces vivos apicales	-	0,317	nº haces vivos apicales	0,171	-

Tabla 4. A) p valores de los test de comparación de variables morfológicas entre los fragmentos de los tres hábitats; y **B)** p valores de los tests *post-hoc* de comparación por pares de grupos.

	MORFOMETRÍA PL1, PL2, PR	
	ANOVA	Kruskal- Wallis
nº hojas/haz	0,645	-
anchura segunda hoja/ haz apical	-	0,009
superficie foliar	0,659	-
longitud raíz principal	0,608	-
distancia entre haces vivos	0,747	-

Variable	p valores de la comparación por pares				Test
		PL1	PL2	PR	
anchura segunda hoja/ haz apical	PL1	-	-	-	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL2	1	-	-	
	PR	0,028	0,018	-	

Tabla 5. A) p valores de los test de comparación de biomasa entre los fragmentos de los tres hábitats; y **B)** p valores de los tests *post-hoc* de comparación por pares de grupos.

	BIOMASA PL1, PL2, PR	
	ANOVA	Kruskal- Wallis
H/RI	-	0,049
H/RA	-	0,024
H/RI+RA	-	0,069
RI/RA	-	0,062

Variable	p valores de la comparación por pares				Test
		PL1	PL2	PR	
H/RI	PL1	-	-	-	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL2	1	-	-	
	PR	0,121	0,085	-	
H/RA		PL1	PL2	PR	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL1	-	-	-	
	PL2	1	-	-	
	PR	0,025	0,176	-	

Tabla 6. A) p valores de los test de comparación de carbono y nutrientes entre los fragmentos de los tres hábitats; y **B)** p valores de los tests *post-hoc* de comparación por pares de grupos.

	C Y NUTRIENTES PL1, PL2, PR	
	ANOVA	Kruskal- Wallis
%P hojas	-	0,008
%P segunda hoja	0,003	-
%P rizoma	-	<0,001
%P raíz	-	0,285
%N hojas	0,048	-
%N segunda hoja	0,004	-
%N rizoma	-	<0,001
%N raíz	-	0,011
%C hojas	-	<0,001
%C segunda hoja	-	0,056
%C rizoma	0,214	-
%C raíz	-	0,012
sacarosa	-	0,004
almidón	0,025	-

Variable	p valores de la comparación por pares				Test
		PL1	PL2	PR	
%P hojas		PL1	PL2	PR	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL1	-	-	-	
	PL2	1	-	-	
	PR	0,02	0,075	-	
%P segunda hoja		PL1	PL2	PR	Tukey
	PL1	-	-	-	
	PL2	1	-	-	
	PR	<0,001	1	-	
%P rizoma		PL1	PL2	PR	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL1	-	-	-	
	PL2	1	-	-	
	PR	0,003	0,002	-	
%N hojas		PL1	PL2	PR	Tukey
	PL1	-	-	-	
	PL2	1	-	-	
	PR	<0,001	1	-	
%N segunda hoja		PL1	PL2	PR	Tukey
	PL1	-	-	-	
	PL2	1	-	-	
	PR	<0,001	1	-	
%N rizoma		PL1	PL2	PR	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL1	-	-	-	
	PL2	1	-	-	
	PR	<0,001	<0,001	-	
%N raíz		PL1	PL2	PR	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL1	-	-	-	
	PL2	0,812	-	-	
	PR	0,025	0,108	-	
%C hojas		PL1	PL2	PR	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL1	-	-	-	
	PL2	0,014	-	-	
	PR	<0,001	0,702	-	
%C raíz		PL1	PL2	PR	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL1	-	-	-	
	PL2	0,203	-	-	
	PR	0,011	0,484	-	
sacarosa		PL1	PL2	PR	Wilcoxon-Mann-Whitney
	PL1	-	-	-	
	PL2	0,029	-	-	
	PR	1	0,007	-	
almidón		PL1	PL2	PR	Tukey
	PL1	-	-	-	
	PL2	<0,001	-	-	
	PR	1	1	-	