



## Diferencias eco-fisiológicas entre *Avicennia germinans* y *Rhizophora harrisonii* Leechm, afectadas por la presión antrópica, Guayaquil – Ecuador

### Ecophysiological differences between *Avicennia germinans* and *Rhizophora harrisonii* Leechm, affected by anthropic pressure, Guayaquil – Ecuador

Olga Quevedo Pinos<sup>1\*</sup>, Wilfrido Terán Verzola<sup>1</sup>, Fernanda Calderón Vega<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil, Av. Kennedy y Av. Delta, Guayaquil, Ecuador

<sup>2</sup> Escuela Superior Politécnica del Litoral, ESPOL, Facultad de Ciencias de la Vida, Campus Gustavo Galindo Km 30.5 Via Perimetral, P.O. Box 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador

\*Correspondencia: [olga.quevedop@ug.edu.ec](mailto:olga.quevedop@ug.edu.ec)

Rec.: 15.02.2022 Acept.: 10.05.2022

Publicado el 30 de junio de 2022

#### Resumen

Las concentraciones de proteínas y de pigmentos fotosintéticos son considerados bio-indicadores de la calidad de los árboles de manglar. Estos están presionados por el desarrollo urbanísticos, vertimientos de cuerpos de agua clandestinos, y la polución atmosférica. El objetivo principal fue determinar las concentraciones de clorofilas y proteínas como bioindicadores de la calidad de dos especies de manglar *Rhizophora harrisonii* Leechm. (Leechm, 1918) y *Avicennia germinans* (L) (Linneo 1764), que crecen en el Golfo de Guayaquil – Ecuador, influenciados por el Estero Salado y el río Guayas. Desde abril 2018 – mayo 2019, se colectaron 2300 hojas de manera aleatoria, de la Isla Santay y el Estero Salado, áreas naturales protegidas de la ciudad. La extracción de los pigmentos fotosintéticos se realizó macerando las hojas con acetona al 80% y las proteínas con el método de Bradfor, para luego ser leídos por espectrofotometría, a diferentes absorbancias entre 470 a 664 y 595 nm, respectivamente. Se empleó Anova simple de una vía con un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ). Las concentraciones de clorofila *a* y *b* en *R. harrisonii* fueron inferiores a 1.0 – 1.2 ug/ml, mientras que para *A. germinans* son superiores. En las dos especies la mediana se sitúa en valores de 40 – 42 ug/ml de proteínas y los rangos de concentración son superiores en relación a *A. germinans* cuya mediana está entre rangos de 40 – 60 ug/ml, valores atípicos son predominantes en ésta última especie.

**Palabras claves:** manglar, clorofila, absorbancia, pigmento, espectrofotómetro

#### Abstract

The concentrations of proteins and photosynthetic pigments are considered bio-indicators of the quality of mangrove trees. These are pressured by urban development, discharges from clandestine bodies of water, and atmospheric pollution. The main objective was to determine the concentrations of chlorophylls and proteins as bioindicators of the quality of two species of mangrove *Rhizophora harrisonii* Leechm. (Leechm, 1918) and *Avicennia germinans* (L) (Linnaeus 1764), which grow in the Gulf of Guayaquil - Ecuador, influenced by the Estero Salado and the Guayas River. From April 2018 – May 2019, 2,300 leaves were randomly collected from Isla Santay and Estero Salado, protected natural areas of the city. The extraction of the photosynthetic pigments was carried out by macerating the leaves with 80% acetone and proteins the Bradfor method, to later be read by spectrophotometry, at different absorbances between 470 to 664 and 595 nm, respectively. Simple one-way Anova was performed with a confidence level of 95% ( $p < 0.05$ ). Chlorophyll *a* and *b* concentrations in *R. harrisonii* were lower than 1.0 – 1.2 ug/ml, while for *A. germinans* they were higher. In both species, the median is between 40-42 ug/ml of protein and the concentration ranges are higher than in *A. germinans*, whose median is between 40-60 ug/ml, atypical values are predominant in this last species.

**Keywords:** mangrove, chlorophyll, absorbance, pigment, spectrophotometer

## Introducción

El uso del espacio urbano para recreación en las inmediaciones del Estero Salado de Guayaquil ha influido en la distribución ecológica de *R. harrisonii* Lechm, y *A. germinans*, impidiendo que estos ocupen los sustratos blandos consolidados, y reciban las diversas concentraciones de salinidad (Schaeffer-novelli *et al.*, 1990), en sitios donde el cemento y la compactación del suelo están presentes estos comienzan a presentar deterioro en sus fustes, ya sea por invasión de hongos o termitas, hojas parasitadas, presencia de nódulos, necrosis, clorosis o sucias de hollín (Astudillo & Proaño, 2014).

Las formaciones vegetales son afectadas (FAO, 2015) at the request of its member countries, regularly monitors the world's forests and their management and uses through the Global Forest resources assessment (Fra, no solo por el avance de la frontera agrícola y urbana, sino porque en las zonas limítrofes entre los ecosistemas urbanos, agropecuarios o industriales, aportan con contaminación atmosférica (Lloyds Register, 2010) que los afectan directamente (Reese, 2010), una evidencia de ello es el color de la vegetación que de la diversidad de tonalidades del verde se convierte en amarillos por la clorosis, además del color negro por la acumulación del hollín, influyendo directamente en la calidad de vida de estas formaciones vegetales (Pardos, 2006).

Los manglares en el Ecuador son elementos naturales que cumplen funciones básicas relacionadas directamente con el equilibrio de la naturaleza y para quienes han desarrollado dependencia para su subsistencia (Coello *et al.*, 2008), económicamente los manglares ligan al Ecuador con su desarrollo económico por las pesquerías, la producción acuícola, el tránsito naviero nacional e internacional; la distracción y la conservación a través de las áreas naturales protegidas, como elementos de salvaguardia (Kuenzer *et al.*, 2011) para las futuras generaciones.

Diversidad de estudios sobre las concentraciones de los pigmentos fotosintéticos y proteínas, han sido reportados por Basak & Das (1996), Das *et al.* (2002), Peng *et al.* (2015), y Quevedo *et al.* (2018), quienes han demostrado como estos fluctúan ya sea por parámetros climáticos, o estrés provocado por factores antrópicos, además del análisis de metales pesados en *A. germinans*, el cual se manifiesta como una expresión génica a la mayor exposición a los metales pesados, según Gonzalez-Mendoza *et al.* (2007) 3-month-old seedlings were exposed to cadmium or copper for 30 h, under hydroponic conditions. Degenerate Mt2 and PCS primers were synthesized based on amino acid and nucleotide alignment sequences reported for Mt2 and

PCS in other plant species found in GenBank. Total RNA was isolated from *A. germinans* leaves and two partial fragments of metallothionein and phytochelatin synthase genes were isolated. Gene expression was evaluated with reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR esto es un mecanismo de tolerancia a procesos de toxicidad).

El stress por factores bióticos o abióticos, pueden dar como resultado disminución en la tasa fotosintética, aumento de la respiración, caída en la síntesis de metabolitos, un incremento en la degradación de proteínas y ser más susceptibles a enfermedades (Machín-Suárez, 2017). La más abundante forma de clorofila en plantas es la clorofila *a*, que está presente en ambos, los centros de reacción y en los cuerpos de cosecha de luz de todos los organismos capaces de realizar la fotosíntesis con oxígeno (Chen, 2014).

Los problemas de basura y descargas clandestinas afectan al Estero Salado (Pernia *et al.*, 2019), la presencia de metales pesados como el mercurio total (T Hg) (1.20 -2.76 mg kg<sup>-1</sup> MS, superiores a la norma ecuatoriana (0.1 mg kg<sup>-1</sup> MS) (Calle *et al.*, 2018), sin embargo las políticas relativas a la tala para comercio disminuyeron y son manejadas a través de la figura de concesión de manglar (Coello *et al.*, 2008).

González *et al.* (2014) demostró que un mayor contenido de carotenoides se observó en *L. racemosa* en ambas estaciones. Los carotenoides juegan un papel importante en las plantas, ya que actúan como pigmento antena, mejorando la recepción de energía luminosa para los centros de reacción y proteger la clorofila contra daños fotooxidativos.

Respecto al uso del suelo, las zonas de estudio se encuentran rodeadas por alta actividad vehicular, Cabañas (2014) reportó que *A. germinans* acumuló en las raíces rangos de Pb entre 2.2 a 43 ug/g hasta 6.8 a 152.3 ug/g, así como *R. mangle* entre 4.5 a 42 ug/g hasta 3.7 a 117.1 ug/g, en treinta días de experimentación, lo que en condiciones naturales varía por las corrientes y las mareas, demostrando que el plomo no influye de manera negativa en *A. germinans*, más bien hubo una correlación positiva, indicando que a mayor concentración de plomo en la hoja mayor producción de Clo *a*, debido al mecanismo de tolerancia de estas plantas, en cambio en *R. mangle* hubo una disminución de Clo *a* a mayor concentración de Pb en las hojas.

Se determinaron las concentraciones de los pigmentos fotosintéticos y proteínas como bio-indicadores de estrés de la calidad de las dos especies de manglar, por primera vez se reportan las condiciones eco-fisiológicas en las zonas de ecosistemas de manglar urbanizadas en la ciudad de Guayaquil donde predominan, y se relacionaron con el uso del suelo, la temporalidad, y el área natural Isla Santay como el

control, datos que se analizaron utilizando ANOVA simple de una vía.

El presente estudio se concentra en dos especies de manglar *R. harrisonii* Leechm, (Leechm 1918) y *A. germinans* (L) (Linneo 1764), consideradas emblemáticas para la ciudad, ya que su presencia está estrechamente vinculada con la cultura alimenticia, la producción acuícola, con los asentamientos poblacionales, el desarrollo de áreas recreacionales, tres áreas naturales protegidas y la protección de las cinco especies de manglar existentes en el Golfo de Guayaquil (Jimenez, 2014).

### Materiales y métodos

#### Materiales y tratamientos

Las hojas de *A. germinans* y *R. harrisonii* Leechm, fueron colectadas aleatoriamente de acuerdo a su presencia en varios sitios de la ciudad de Guayaquil (Figura 1), como el Estero Salado (Acuerdo Ministerial 2010) y la Isla Santay (Ministerio del Ambiente de Ecuador, 2011) que son áreas naturales protegidas lo cual motivó la segmentación del área de estudio entre siete y 11 sitios, por la presencia y ausencia de las dos especies de manglar (Cuadro 1), los mismos que están rodeados de: avenidas, industrias, termoelectricas, puertos navieros, envasadoras de gas, transporte de oleoductos, y población urbana y rural.

La Isla Santay fue considerada como control o testigo, por estar menos expuesta a las actividades antrópicas, es considerada uno de los sitios mejor conservados con cinco especies de manglar como *Rhizophora harrisonii*, *Rhizophora mangle*, *Avicennia*

*germinans*, *Laguncularia racemosa*, *Conocarpus erectus* del Golfo de Guayaquil en el delta del río Guayas (Figura 1).

Cuadro 1. Hemisferio Sur - Zona 17

Lugar	Este (X)	Norte(Y)
1. Parque zigzag	6220198	97592057
2. Parque Lineal	622010	97589557
3. Club Náutico	6210907	97580214
4. Centro Cívico	6230208	97555852
5. Isla Santay	6270231	9754272
6. Eco Aldea	6256814	97537097
7. Puerto Hondo	6084713	97576688
8. Tres Bocas	6157558	97535508
9. Aguas calientes	6152082	97577231
10. Isla Trinitaria	6210466	97505423
11. Trinitaria estero	6208584	97500126

Se colectaron un total de 2300 hojas de *R. harrisonii* y *A. germinans*, desde abril de 2018 - mayo de 2019, en la época seca y lluviosa, a lo largo de transectos de 100 x 0.50 m en cada uno de los sitios identificados en el estudio, colectándose 10 hojas en marea alta con una embarcación, y a pie en las zonas más intervenidas, se las llamó “hojas de sol” por ser las más expuestas en las copas de los árboles.

Las hojas fueron colocadas en fundas plásticas, selladas y rotuladas con el número del sitio, fecha de recolección y especie de mangle del cual se toma la muestra, se preservan en refrigeración a 18°C en un contenedor térmico hasta su arribo al laboratorio.

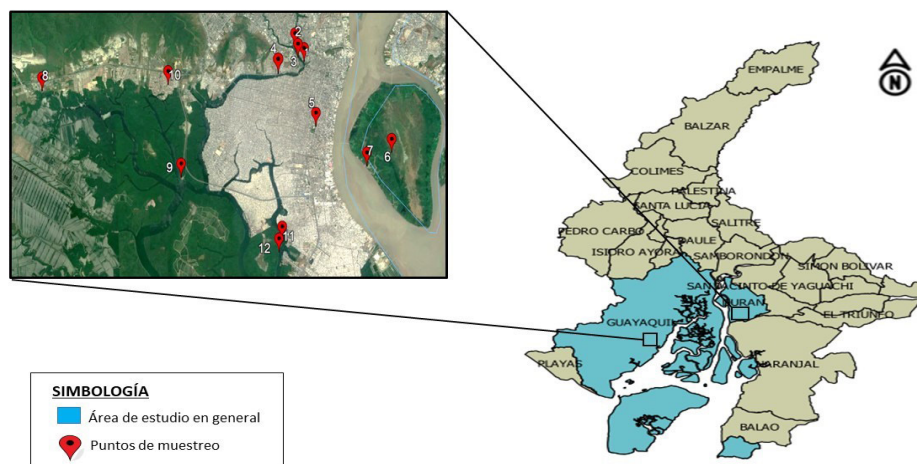


Figura 1. Área de estudio en la ciudad de Guayaquil.

Las hojas fueron lavadas con agua destilada, para la obtención de datos ésta se divide en dos secciones "A" (parte superior-ápice) para la determinación de proteínas solubles y la parte inferior "B" para la clorofila, (Figura 2.)

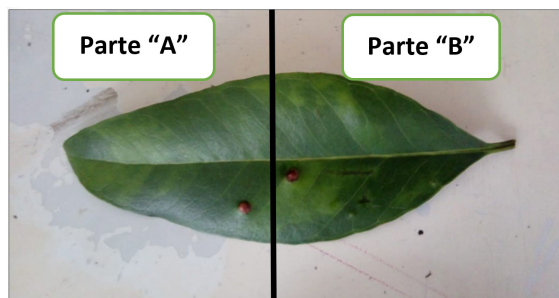


Figura 2. División en partes para estudio de la muestra

### Determinación de Clorofila

Para la cuantificación de clorofila se utilizó el método de acetona al 80% para la extracción de los pigmentos fotosintéticos (Lichtenthaler, 1987) se pesó 0.1 g de la hoja, que previamente se ha cortado en pequeños pedazos, se tritura con 10 ml de acetona usando un mortero y pistilo para la extracción de la clorofila, una vez triturada se vierte en tubos de ensayos de vidrio con capacidad de 10 ml y se los deja reaccionar por dos minutos a oscuras. Pasado el tiempo de reposo, la muestra triturada se centrifuga a 3000 rpm por 15 minutos. Para la lectura en el espectrofotómetro en un tubo de ensayo se agregan 4 ml de acetona al 80% y se mezcla con 0.4 ml de la muestra ya centrifugada, se agita sin dejar burbujas y se procede a la lectura con las absorbancias a 470, 646 y 663 nm, utilizando la misma acetona al 80% como el blanco en las lecturas y se aplica las fórmulas de Lichtenthaler a partir de los datos obtenidos:

Clorofila a

$$Ch_a = (12.25 * A_{663}) - (2.79 * A_{646})$$

Clorofila b

$$Ch_b = (21.50 * A_{646}) - (5.10 * A_{663})$$

Clorofila a+b

$$Ch_{a+b} = (7.15 * A_{663}) + (18.71 * A_{664})$$

Carotenoides

$$C_{x+c} = \frac{(1000 * A_{470}) - (1.82 * Ch_a) - (85.02 * Ch_b)}{198}$$

### Curva de Calibración para proteínas

La curva de calibración se calculó a partir de una solución estándar de suero bovino con una concentración de 1 mg/ml; en 10 ml de agua destilada se disolvió 10

mg de suero bovino. Una vez preparada la solución patrón de suero bovino se prepara las soluciones para la lectura con las siguientes concentraciones en parte por millón (ppm), se toman las disoluciones de suero bovino para la obtención de seis datos estándares, las cuales se leen por espectrofotometría de luz a 595 nm donde se obtiene los datos para la curva de calibración (Cuadro 2):

Cuadro 2. Patrón para Curva de Calibración

Agua destilada (ml)	Solución patrón ASB (ml)
9.9	0.1
9.8	0.2
9.6	0.4
9.4	0.6
9.2	0.8
9	1

### Extracción de proteínas solubles

Para la cuantificación de proteínas solubles se utilizó el método de Bradford (1976), se pesan 0.1 g se tritura con 3 ml de solución buffer fosfato de potasio en un mortero de pistilo, la muestra triturada se vierte en tubos de ensayos de vidrio con capacidad de 10 ml, se agregó 1 ml de solución de ácido tricloroacético al 10% de concentración para precipitar la proteína y se lo guarda en reposo durante la noche en refrigeración.

Pasado el tiempo de reposo se centrifuga las muestras a 4000 rpm durante 15 minutos, se agrega 1 ml de disolución de hidróxido de sodio 1N a las muestras centrifugadas y se deja en reposo durante 2 horas. Durante las dos horas de espera, se prepara la solución Bradford que consiste en 67 ml de agua destilada con 15 ml de Bradford, de ésta se agrega 2 ml en las cubetas para la lectura en el espectrofotómetro. Pasadas las dos horas de reposo de las muestras, con el hidróxido de sodio 1N se agrega 0.1 ml del sobrenadante en las cubetas con la solución de Bradford, se deja en reposo por 2 minutos y se procede con la lectura en el espectrofotómetro 4802 UV/VIS DOBLE BEAM a 595 nm utilizando agua destilada como blanco.

Los datos obtenidos en la lectura de espectrofotometría son aplicados en la ecuación de la recta del suero bovino para obtener la concentración de proteínas solubles:

Ecuación de la Recta de Suero Bovino

Curva	Fórmula	A	B	R <sup>2</sup>
Concentración	Y=A*X+B	0.0054	0.0007	0.9237

### Análisis estadístico

Cada dato colectado consistió en diez repeticiones, en un diseño de bloque aleatorizado para Clo *a*, Clo *b*, Carotenoides y Proteínas, las comparaciones estadísticas fueron hechas para las épocas seca, y lluviosa, y entre sitios de colecta por uso de suelo. Los datos fueron examinados por el análisis de la varianza de una vía (ANOVA), y las diferencias significativas entre sitios de muestreo, la estacionalidad y por uso de suelo, para un total de ocho columnas con 8320 datos, validados con el test de Kruskal, & Wallis (1987), con un nivel de confianza del 95% ( $p \leq 0.05$ ) mediante el software Statgraphic CENTURION XVI. El análisis de conglomerados se utilizó para validar que semejanzas existen entre los grupos de muestreos categorizados por uso de suelo, bajo el planteamiento hipotético de que tan cercanas son las concentraciones medias agrupadas por especie estudiada.

### Resultados

Los 11 sitios muestreados se categorizaron de acuerdo con las actividades antrópicas como: tránsito vehicular, tránsito naviero, termoelectricas, población urbana y área natural protegida, ésta última comprende dos sitios La Isla Santay y el Estero Salado de Guayaquil (Cuadro 3).

El Estero Salado mantiene ramales que se adentran

en la ciudad de Guayaquil, los que se transformaron en zonas de esparcimiento como los parques lineales, porque al pie de los manglares se construyeron caminerías con diversas dimensiones que son el límite entre el espejo de agua del estero y el salitre o zona de amortiguamiento que ahora está rellena como tierra firme, es en estos sitios donde el manglar parecería querer recuperar el espacio natural perdido, o con sus raíces regresar al fango del estero lugar donde no hay espacio.

### Temporalidad

Durante la época seca, en ocho sitios de estudio *R. harrisonii* Leechmn, la Clo *a* disminuye sus concentraciones y en la época lluviosa estas aumentan y Clo *b* disminuye. Respecto al sitio Estero Salado (Sitios: 1, 2, y 3) el comportamiento de la Clo *a* y Clo *b* es el mismo. En siete sitios la Clo *b* se presenta más alta las concentraciones porcentuales durante la época lluviosa con relación a la Clo *a*, (Cuadro 4).

Las concentraciones anuales de los pigmentos fotosintéticos y de las proteínas varían significativamente sus medianas en la comparación de los doce meses de estudio, y el *p value* en las dos especies es significativamente inferior a 0.05, es decir son heterogeneas entre sitios, así como diferentes entre especies (Figura 3.).

Las concentraciones medias para *R. harrisonii*

Cuadro 3. Distribución de *R. harrisonii* Leechm y *A. germinans* en el área de estudio, agrupados por influencia de factores antrópicos.

	Segmentación	Categorías Área Natural Protegida	Limita con	<i>Rhizophora harrisonii Lechman</i>	<i>Avicennia germinans</i>
Sitio 1	Parque lineal		Principales vías vehiculares y urbe, y tránsito naviero menor.	x	x
	Puente Zig- Zag			x	x
	Club náutico			x	x
Sitio 2	Isla Santay	Isla estuarina	Tránsito naviero mayor.	x	x
	Eco Aldea			x	x
Sitio 3	Pto. Hondo	Estero Salado de Guayaquil	Principal tránsito naviero del país, principal circuito vehicular, termoelectricas y urbe.	x	x
	Tres Bocas, Empresa Pública tres bocas			x	
	Aguas calientes			x	x
Sitio 4	Isla Trinitaria (estero)	Estero Salado de Guayaquil	Principal tránsito naviero del país, principal circuito vehicular, termoelectricas y urbe.	x	
	Isla Triniaria (afuera)			x	
	Centro cívico	Área recreacional	Principales vías vehiculares y urbe.	x	

Cuadro 4 Media anual porcentual de las concentraciones de pigmentos fotosintéticos de *R. harrisonii* Lechmn y *A. Germinans* durante las épocas seca y lluviosa.

Sitios	<i>Rhizophora harrisonii</i> Lechman				<i>Avicennia germinans</i>			
	Clo a	Clo b	Carot	Prote	Clo a	Clo b	Carot	Prote
	Seco/lluvia				Seco/lluvia			
1	9.8	18.9	7.64	10.23	15.15	16.86	16.09	15.96
	11.4	6.3	12.00	9.63	11.16	9.81	13.37	13.95
2	13.0	10.8	34.12	10.31	15.66	20.34	16.05	16.4
	3.4	9.2	8.03	10.02	13.51	12.93	13.23	16.19
3	9.3	10.0	7.22	10.20	15.07	14.47	15.75	18.72
	10.5	10.9	9.53	10.17	15.85	13.26	17.53	18.38
4	7.1	13.0	4.12	11.31		-----		
	9.1	9.8	9.33	11.18				
5	7.1	4.8	5.86	7.01	12.37	9.76	12.05	11.27
	10.6	12.7	12.02	9.08	15.78	11.38	15.34	12.65
6	6.9	4.4	5.44	6.00	13.22	10.57	11.46	9.71
	9.2	12.6	5.70	8.52	16.87	18.56	17.19	12.98
7	11.2	11.0	8.35	9.19	14.28	13.12	13.78	13.27
	12.4	6.8	10.75	7.89	13.3	15.97	11.59	13.63
8	7.9	6.2	7.16	10.40		-----		
	8.5	9.7	8.05	9.82				
9	8.7	7.9	6.70	9.82	14.25	14.90	14.82	14.68
	7.9	8.5	5.70	9.17	13.53	18.09	11.75	12.22
10	10.5	6.2	6.67	7.45		-----		
	5.4	4.2	6.26	6.22				
11	8.3	6.9	6.72	8.09		-----		
	11.5	9.3	12.62	8.29				

1. Parque Zigzag, 2. Parque Lineal, 3. Club Náutico, 4. Centro Cívico, 5. Isla Santay, 6. Ecoaldea, 7. Puerto Hondo, 8. Tres Bocas, 9. Aguas Calientes, 10. Isla Trinitaria, y 11. Trinitaria Estero.

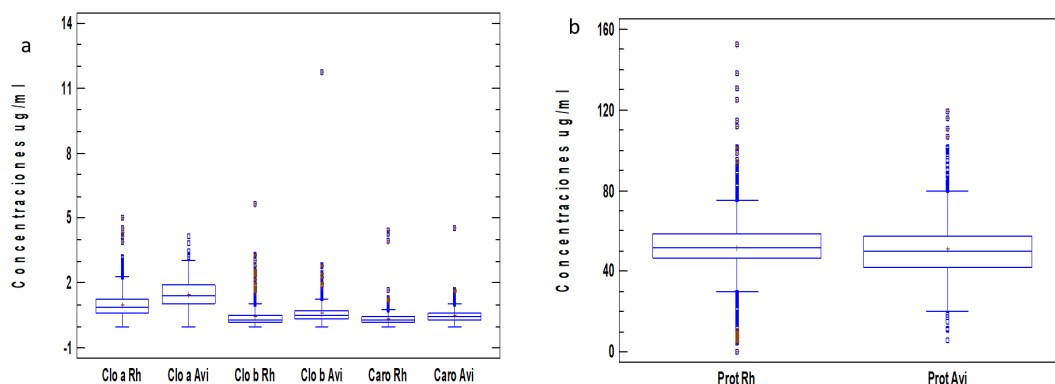


Figura 3. Comparación de las concentraciones totales (a) de pigmentos fotosintéticos y de (b) proteínas en *R. harrisonii* Leechm y *A. germinans*.

Leechm, la clorofila *a*, *b*, y carotenoides sus concentraciones son inferiores a 1.0 – 1.2 ug/ml respectivamente, mientras que para *A. germinans* son superiores.

En las dos especies *R. harrisonii* Leechm y *A. germinans*, las proteínas anualmente tienen una diferencia estadísticamente significativa inferior al *p* value 0.05, la mediana se sitúa en valores de 40 – 42 ug/ml de proteínas y los rangos de concentración son superiores en relación a *A. germinans* cuya mediana está entre rangos de 40 – 60 ug/ml, valores atípicos son predominantes en esta última especie (Figura 3).

#### Uso de suelo

El análisis de conglomerado por “uso de suelo”, agrupa a los Carotenoides y la Clorofila “a”, son las más cercanas en el sitio 1 y 4 para *R. harrisonii*, y *A. germinans*, la Clorofila “b” y las proteínas se presentan como semejantes entre las dos especies en estudio en el sitio 2 y 3 (Figura 4).

Las concentraciones de proteínas se presentan más altas en las dos especies de manglar en los sitios agrupados por uso de suelo como “1”, esto corresponde al parque lineal del Estero Salado de Guayaquil, al ser relacionadas con el control “2” su mediana es más baja para *A. germinans*, sitio que está influido por su alta incidencia vehicular, compactación del suelo y afectación de parásitos y hongos en las hojas, observados en campo (Figura 5).

En *R. harrisonii* hay diferencias de Clo *a* entre sitios categorizados por uso de suelo, correspondiendo

al sitio tres las mayores concentraciones. En el caso de *A. germinans* la Clo *a* se expresa con concentraciones similares. Las concentraciones de Clo *b* y carotenoides sus concentraciones son similares entre los sitios categorizados por uso de suelo. Los rangos de las concentraciones de proteínas de *A. germinans* fluctúan entre 58 - 60 ug/ml, son similares por sitios categorizados por uso de suelo, a diferencia de *R. harrisonii* que presenta una homogeneidad entre estos, presentándose la mayor concentración en el sitio 1, denominado Parque lineal del Estero Salado de Guayaquil.

La clorofila *a* y *b* en *R. harrisonii* Leechm durante la época lluviosa: abril (1); mayo (2); y junio (3), sus concentraciones están elevadas y en la medida que la época seca avanza estas comienzan a descender al inicio de la época lluviosa, en enero (10); febrero (11); y marzo (11), comienza el ascenso de sus concentraciones. En *A. germinans* no se puede visualizar un patrón que demuestre una marcada disminución de la clorofila *a* en la época seca. La tendencia de las proteínas es de incremento de sus concentraciones desde la época lluviosa hasta la época seca (Figura 6).

En el caso de los pigmentos fotosintéticos de *R. harrisonii* Leechm y *A. germinans*, las concentraciones anuales varían entre las dos especies, presentan diferencias estadísticamente significativas respecto a las concentraciones de Clorofila *a*, *b* y carotenoides. La Clo *a* se presentan siempre más alta en las dos especies en relación a la Clo *b* y carotenoides (Figura 6).

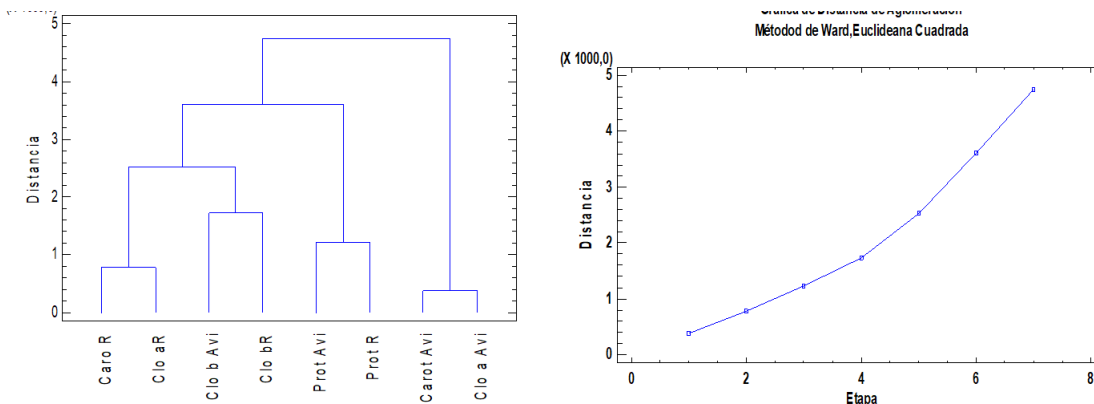


Figura 4. Análisis de conglomerados para los pigmentos fotosintéticos y proteínas por uso de suelo.

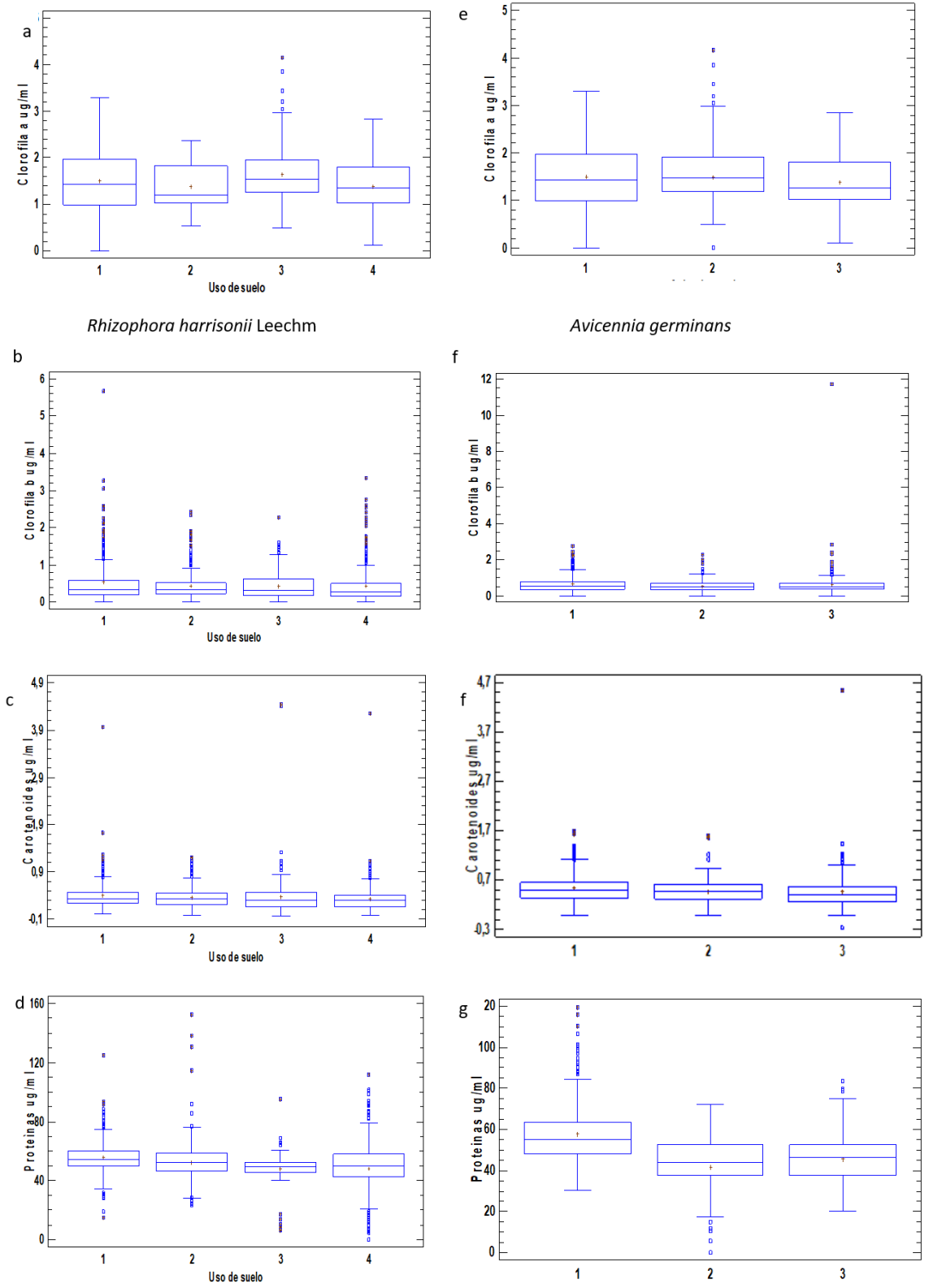


Figura 5. Concentraciones de clorofila a, b, y carotenoides por uso de suelo (1: Parque Lineal, Puente Zig – Zag y Club Náutico; 2: control (Isla Santay - Ecoaldea), 3: Pto. Hondo, 3 Bocas, Aguas Calientes; 4: Isla Trinitaria Centro Cívico, en *R. harrisonii* Leechm (a,b,c,d) y *A. germinans* (e,f,g,h).



Diferencias eco-fisiológicas entre *Avicennia germinans* y *Rhizophora harrisonii* Leechm, afectadas por la presión antrópica, Guayaquil – Ecuador

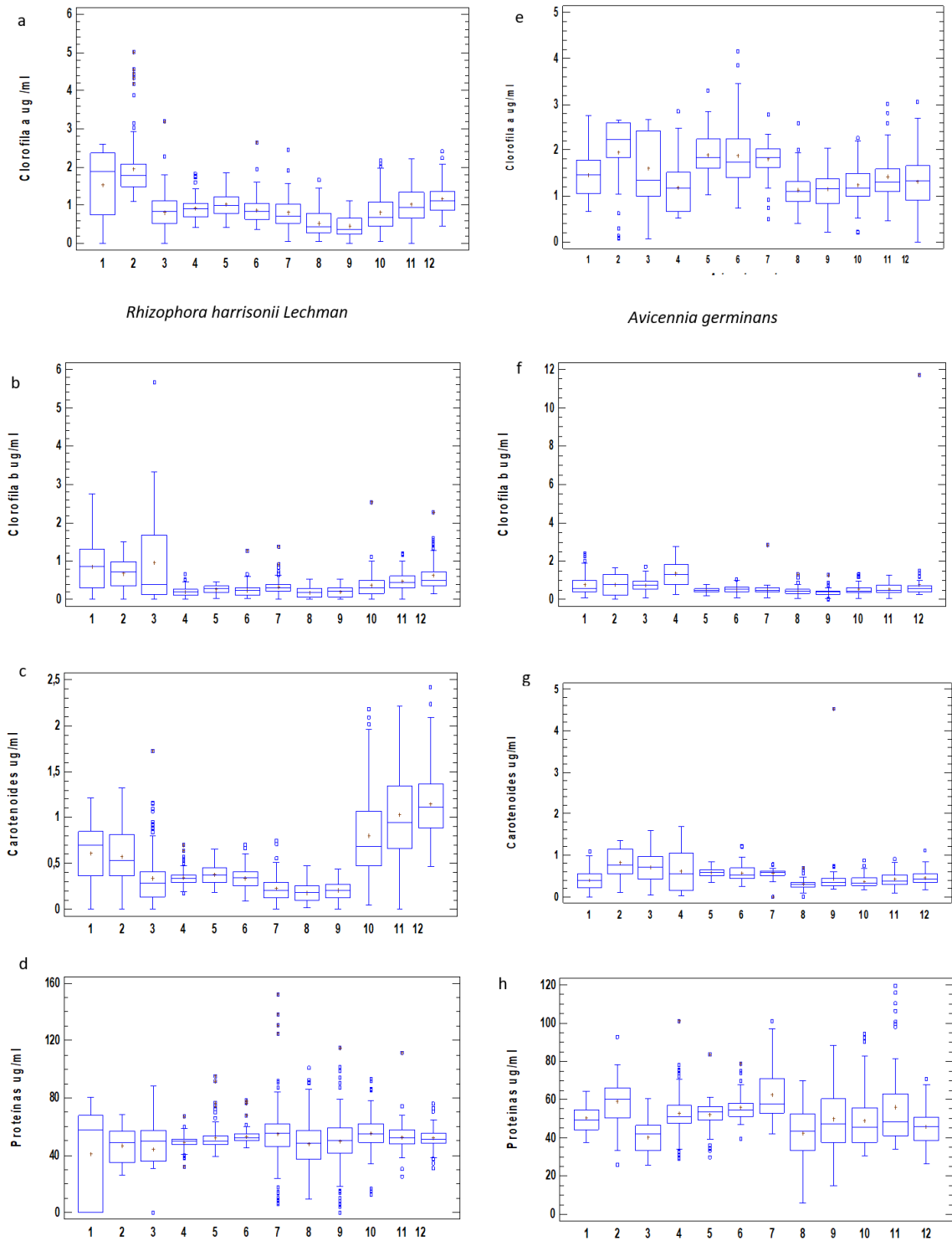


Figura 6. Concentraciones anuales de los pigmentos fotosintéticos y proteínas en *R. harrisonii* Leechm (a,b,c,d) y *A. germinans* (e,f,g,h), (1,2,3,10, 11, 12 época lluviosa, 4,5,6,7,8,9, época seca).

## Discusión

Peng *et al.* (2015) describe que las reducciones de clorofila fueron observadas en las tres especies de manglar estudiadas en Asia, como respuesta al stress por enfriamiento y a la eficiencia de los antioxidantes y mecanismos de resistencia al frío; en relación con *A. germinans* y *R. harrisonii* Leechm, las clorofilas se presentaron bajas durante la época lluviosa, pero la que presentó concentraciones más altas de las dos especies fue *A. germinans* en los pigmentos fotosintéticos incluidos las proteínas.

La Clorofila *a* en *R. harrisonii* en la época lluviosa aumenta porque la salinidad del Estero Salado disminuye, lo que coincide con Oswin & Kathiresan (1994) y González *et al.* (2014) reportaron la desviación estándar de la salinidad del Estero Salado en la época lluviosa, con valores de  $3.03 \pm 1.86$ , para el sitio 1 y  $10.37 \pm 1.27$  para el sitio 3 y 4, las concentraciones de clorofila *a* se mantienen altas en relación al sitio 2, en la época seca la salinidad es alta y las concentraciones de clorofila *a* y *b* bajan.

*A. germinans* no logra demostrar patrones durante la estacionalidad con respecto a clorofila *a*, pero para clorofila *b* y carotenoides sus concentraciones se presentan homogéneas durante toda la época seca con tendencia a incrementarse en la época lluviosa. Oswin & Kathiresan (1994), han encontrado que los niveles de clorofila en los manglares y de carotenoides en general, son altos durante el verano, mientras que en el invierno son bajos en la India.

Falqueto *et al.* (2008), señalan que no hay diferencias significativas para los contenidos de Clorofila entre especies y entre las estaciones. De acuerdo con el uso del suelo, las zonas más afectadas en el estudio por la compactación de este, son el sitio 1, los sitios 3 y 4 por calidad del aire ambiente, pero el sitio 2 el control, los valores de las clorofilas son más bajos en relación a los tres sitios. La Clorofila *a* es abundante en todas las plantas, está presente en los centros de reacción y en los cuerpos de cosecha de luz de todos los organismos que fotoxidan (Croce & van Amerongen, 2014).

Cabañas (2014) señala que la clo *b* disminuyó en *A. germinans* a mayor concentración de Pb, siendo *R. mangle* la más afectada, presentando amarillamiento en las hojas como resultado del stress causado, en el presente estudio la disminución de Clo *b* en *A. germinans* puede estar relacionado con las condiciones del sustrato en el Estero Salado de Guayaquil.

Cabañas (2014) indica que la producción se incrementa en presencia de metales como Pb, Cu y Hg, pero en la medida que estos aumentan, los carotenoides disminuyen en las tres especies de manglar

estudiadas; las concentraciones de carotenoides difieren significativamente en *R. harrisonii* Leechm y *A. germinans*, pueden ser un reflejo de la calidad del sustrato en el Estero, en comparación a la marcada diferencia con la zona de control sitio 2; estudios realizados por Quevedo *et al.* (2018), en el estuario interior del Golfo de Guayaquil encontraron diferencias significativas de los carotenoides entre la zona de control en el estuario interior del Golfo de Guayaquil y la Isla Trinitaria con valores de 2.78 ug/ml y 5.96 ug/ml respectivamente.

Fernández-Cadena *et al.* (2014) reportaron 17 elementos tóxicos como metales pesados en el sedimento del manglar del estero Salado en Guayaquil, Calle *et al.* (2018), destacan que las diferencias significativas temporales y entre sitios en el Estero Salado de Guayaquil reflejaron altas concentraciones de mercurio total en el sedimento. Las bajas concentraciones de carotenoides para las especies de *R. harrisonii* Leechm *A. germinans* están relacionados con las condiciones del sustrato, hay diferencias entre épocas seca y lluviosa, sus concentraciones son más altas en *A. germinans*, pero las dos especies no difieren respecto al uso del suelo.

Las concentraciones de proteínas 58.0 -60.0 ug/ml encontradas en *R. harrisonii*, son similares a lo reportado por Quevedo *et al.* (2018), quienes demostraron estos niveles para la Isla Trinitaria considerada como uno de los sitios más afectados, la cual en este estudio presenta concentraciones más conservadoras para la época seca, 42.5 – 60.0 ug/ml y lluviosa 53.0 ug/l y 89.0 ug/ml tanto para el control e Isla Trinitaria respectivamente, valores últimos que ahora pueden ser usados como referencia.

Se debe tener en consideración que los factores físicos como la lluvia no se registraron en el 2016, y el 2017 llegó a un promedio de 800mm, lo cual refleja los altos valores reportados, por Quevedo *et al.* (2018) para la época de este estudio 2018 – 2019 se alcanzaron medias pluviométricas de 338 mm.

## Conclusiones

La categorización de los sitios de estudio para el análisis de las concentraciones de los pigmentos de acuerdo al “uso de suelo” demostró que los manglares de la Isla Santay sus pigmentos fotosintéticos se presentan en concentraciones más bajas Clo *a* 1.5 ug/ml; Clo *b* 0.50 ug/ml; Carotenoides 0.50 ug/ml; y proteínas 55 ug/ml en relación al Estero Salado de Guayaquil, lo que equivale a un indicador de la calidad en que se encuentran los manglares, esto coincide con los niveles de conservación que varían entre las dos áreas naturales protegidas.

El análisis de conglomerado demostró que los pigmentos fotosintéticos están agrupados por semejanzas de sus concentraciones de Carotenoides y Clorofila “a” presentes en las especies en estudio, y la similitud entre la clorofila “b” y las proteínas entre las especies.

La temporalidad en las concentraciones de los pigmentos fotosintéticos y las proteínas son diferentes en las épocas seca y lluviosa en *R. harrisonii* Leechm responde a patrones, pero en *A. germinans* las proteínas y la Clo a suben y bajan indistintamente, lo que no ocurre con la Clo b y carotenoides ya que las medianas presentan valores inferiores a 1.0 ug/ml.

Las altas concentraciones de los pigmentos fotosintéticos y las proteínas en *A. germinans* siempre se atribuyen a los sitios donde se encuentra mayor actividad antropogénica y la afectación a que están expuestas atmosféricamente, esto se visualiza como una gruesa capa de hollín sobre las hojas, las descargas de aguas contaminadas, y la compactación del suelo, además de que se visibiliza en las dos especies afectaciones a los fustes por termitas y hongos, y en las hojas nódulos parasitarios.

El estadístico para el análisis de “uso de suelo” demuestra que el valor-P es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas con un nivel del 95.0% de confianza.

#### Literatura citada

- Astudillo, F., Proaño, F., Y, P. J., & Segundo, C. (2014). Primer producto. In Ecobiotec (Ed.), *Determinación de suelos con potencial de reforestación de manglar por debajo de la línea de influencia de costa escala 1:50.000* (p. 48).
- Basak, U., & Das, A. B. (1996). *Chlorophylls , Carotenoids , Proteins and Secondary Metabolites in Leaves of 14 Species of Mangrove. January 2015*.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248–254. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Cabañas Mendoza M. (2014). Efectos fisiológicos, morfológicos y bioquímicos de la exposición al Plomo en las especies *Avicennia germinans*, *Laguncularia racemosa* y *Rhizophora mangle*. In *Tesis de maestro en ciencias*. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Calle, P., Monserrate, L., Medina, F., Calle Delgado, M., Tirapé, A., Montiel, M., Ruiz Barzola, O., Cadena, O. A., Dominguez, G. A., & Alava, J. (2018b). Mercury assessment, macrobenthos diversity and environmental quality conditions in the Salado Estuary (Gulf of Guayaquil, Ecuador) impacted by anthropogenic influences. *Marine Pollution Bulletin*, 136(March), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.018>
- Chen, M. (2014). Chlorophyll modifications and their spectral extension in oxygenic photosynthesis. *Annual Review of Biochemistry*, 83, 317–340. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-072711-162943>
- Coello, S. D. Vinuesa & R. Aleman. (2008). *Evaluación del desempeño de los acuerdos de uso sustentable y custodia de manglar de la zona costera del Ecuador* (PRODERENA Y CONSERVACION INTERNACIONAL (ed.); p. 52pp. +4 Fig +17 Tablas + 5 Apéndice + 29 mapas.). Unión Mundial para la Conservación de la Naturaleza.
- Croce, R., & van Amerongen, H. (2014). Natural strategies for photosynthetic light harvesting. *Nature Chemical Biology*, 10(7), 492–501. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1555>
- Das, B., Parida, A., Basak, C., & Das, P. (2002). *Studies on pigments , proteins and photosynthetic rates in some mangroves and mangrove associates from Bhitarkanika , Orissa*. 415–422. <https://doi.org/10.1007/s00227-002-0847-0>
- Falqueto, A. R., Silva, D. M., & Fontes, R. V. (2008). Photosynthetic performance of mangroves *Rhizophora mangle* and *Laguncularia racemosa* under field conditions. *Revista Arvore*, 32(3), 577–582. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622008000300018>
- FAO. (2015). Global Forest Resources Assessment 2015. In *FAO Forestry*. <https://doi.org/10.1002/2014GB005021>
- Fernández-Cadena, J. C., Andrade, S., Silva-Coello, C. L., & De la Iglesia, R. (2014). Heavy metal concentration in mangrove surface sediments from the north-west coast of South America. *Marine Pollution Bulletin*, 82(1–2), 221–226. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.03.016>
- Gonzalez-Mendoza, D., Moreno, A. Q., & Zapata-Perez, O. (2007). Coordinated responses of phytochelatin synthase and metallothionein genes in black mangrove, *Avicennia germinans*, exposed to cadmium and copper. *Aquatic Toxicology*, 83(4), 306–314. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.05.005>
- González, A. Henry Briceño, José Chirinos, R. B., & Villarreal, Á. (2014). Variación de la concentración de clorofila a, b, clorofila total y tasa de fotosíntesis en *Avicennia germinans* en el manglar de Punta de Palmas, municipio Miranda,

- estado Zlia, Venezuela. *Revista de Investigaciones Científicas*, 5, 67–82.
- Jimenez Roberto. (2014). Acta Oceanográfica del Pacífico. INOCAR, Ecuador, 19(1), 2014 1. *Acta Oceanografica Instituto Oceanografico de La Armada Del Ecuador*, 19(1), 1–89. file:///C:/Users/User/Downloads/Diatomeas y silicoflagelados del fitoplancton del Golfo de Guayaquil.pdf
- Kiang, N., Janet, S., Govindjee, Robert, E., Blankenship, & Victoria, M. (2006). Spectral Signatures of Photosynthesis. *Astrobiology*, 1–69. <https://europepmc.org/article/med/17407409> Review of earth organism Astrobiology
- Kruskal, W. & A. W. (1987). This Week's Citation Classic®. *American Statistical*, 5, 583–621. <http://garfield.library.upenn.edu/classics1987/A1987K083100001.pdf>
- Kuenzer, C., Bluemel, A., Gebhardt, S., Quoc, T. V., & Dech, S. (2011). Remote Sensing of Mangrove Ecosystems: A Review. *Remote Sensing*, 3(5), 878–928. <https://doi.org/10.3390/rs3050878>
- Lichtenthaler, H. K. B. T.-M. in E. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. In *Plant Cell Membranes* (Vol. 148, pp. 350–382). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Lloyds Register. (2010). Revised MARPOL Annex VI. *Marpol*, June, 1–25. [https://doi.org/10.1016/0308-597X\(89\)90060-2](https://doi.org/10.1016/0308-597X(89)90060-2)
- Acuerdo Ministerial 158, 2 (2010). <http://suia.ambiente.gob.ec/s/10179/241417/17+RESERVA+DE+PRODUCCION+DE+FUANA+MANGLA RES+EL+SALADO+2.pdf/d19badb6-bb4c-43b1-86ad-e01038bab639>
- Machín-Suaréz, A; Chávez-Sánchez, E; Héctor-Ardisana, Ef; Santos-Cervantes, Me; Pérez Álvarez, S. (2017). Actividad de enzimas del estrés oxidativo en plantas de tomate cv. Amalia en respuesta al plomo. *Horticultura Brasileira* 35: 216-223. DOI - <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620170210>
- Ministerio del Ambiente de Ecuador. (2011). Área Nacional de Recreación Isla Santay y Gallo Plan de Manejo. *Área Nacional de Recreación Isla Santay y Gallo. Plan de Manejo.*, 292. [http://simce.ambiente.gob.ec/sites/default/files/documentos/anny/Producto 3, PLAN DE MANEJO \(corregido abr 2011\).pdf](http://simce.ambiente.gob.ec/sites/default/files/documentos/anny/Producto 3, PLAN DE MANEJO (corregido abr 2011).pdf)
- Oswin, D. & Kathiresan, K. (n.d.). Oswin y Kathirisan 1994.pdf.pdf. *Indina Journal of Marine Sciences*, 23, 64–66.
- Pardos, J. a. (2006). *La contaminación atmosférica y los ecosistemas forestales*. 55–70.
- Peng, Y.-L., Wang, Y., Fei, J., Sun, C.-C., & Cheng, H. (2015). Ecophysiological differences between three mangrove seedlings ( *Kandelia obovata* , *Aegiceras corniculatum* , and *Avicennia marina* ) exposed to chilling stress. *Ecotoxicology*. <https://doi.org/10.1007/s10646-015-1488-7>
- Pernia Beatriz, Mero Mariuxi, Xavier Cornejo, J. Z. (2019). Impactos de la contaminación sobre los manglares de Ecuador. In *Libro Manglares del Ecuador* (Issue November).
- Quevedo, O., Cerón, J., Cerón, R., Calderón, M., Jaramillo, B., Inzhivotkina, Y., & Revelo, W. (2018). Referential seasonality of critical loads of sulfur on *Rhizophora harrisonii* in the port of Guayaquil. *WSEAS Transactions on Environment and Development*, 15, 24–34.
- Reese, R. D. (2010). *Restauración Ecológica de los manglares en la costa del Ecuador*.
- Schaeffer-novelli, Y., Cintrón-molero, G., Adaime, R. R., & De, T. M. (1990). *Variability of Mangrove Ecosystems along the Brazilian Coast Variability of Mangrove Ecosystems Along the Brazilian Coast*. 13(2), 204–218.