

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California.**



Maestría en Ciencias
en Ciencias de la Vida
con orientación en Microbiología

**Comparación de la hidrofobicidad de la cutícula foliar en
plantas de tres humedales costeros de Baja California, México**

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el título de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Luis Eduardo Tellechea Robles

Ensenada, Baja California, México
2017

Tesis defendida por

Luis Eduardo Tellechea Robles

y aprobada por el siguiente comité

Dr. Rodrigo Méndez Alonzo

Director de tesis

Dr. Rubén Darío Cadena Nava

Dr. Stephen Holmes Bullock Runquist

Dr. Israel Marck Martínez Pérez



Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez

Coordinadora del Posgrado en Ciencias de la Vida

Dra. Rufina Hernández Martínez

Directora de Estudios de Posgrado

Luis Eduardo Tellechea Robles © 2017

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis

Resumen de la tesis que presenta **Luis Eduardo Tellechea Robles** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ciencias de la Vida con orientación en Microbiología.

Comparación de la hidrofobicidad de la cutícula foliar en plantas de tres humedales costeros de Baja California, México

Resumen aprobado por:

Dr. Rodrigo Méndez Alonzo
Director de tesis

Las plantas dominaron el medio terrestre mediante el desarrollo de la cutícula, que es una capa impermeable alrededor de los tejidos externos que permite la liberación controlada de agua a través de espacios selectivos. La caracterización de la repelencia al agua (hidrofobicidad), es un tema de interés debido a las implicaciones ecológicas y evolutivas del desarrollo de estas estructuras y por su posible utilidad como inspiración de materiales sintéticos. Se ha observado en estudios previos que las especies de humedales tienen características contrastantes de hidrofobicidad, abarcando desde especies hidrofílicas hasta especies altamente hidrofóbicas; sin embargo, no se han realizado estudios que cuantifiquen esta propiedad entre especies y comunidades en diferentes humedales. En esta tesis cuantifiqué la hidrofobicidad de las cutículas foliares de especies de plantas de humedales costeros de Baja California, bajo diferentes condiciones de inundación por medio del método de ángulo de contacto estático, microscopía electrónica de barrido (SEM) y estadísticos que sintetizan la información de caracteres a nivel comunidad. Se determinó que la hidrofobicidad, cuantificada por ángulo de contacto, tuvo un promedio ponderado por cobertura de las especies, de 77°, 93° y 100° por laguna. Tomando en consideración un umbral de $90^\circ \pm 10^\circ$, se encontraron 22 especies hidrofóbicas y 15 especies hidrofílicas. Además, se caracterizaron las estructuras cuticulares de las especies con comportamientos superhidrofílico y superhidrofóbico, donde estas últimas poseían diversas formas de indumentos epicuticulares tales como rodeles, tricomas y capas sobrepuestas. Estas estructuras posiblemente juegan un papel importante en la permeabilidad de las hojas, en el redireccionamiento de humedad hacia las raíces y otras funciones. En conjunto, los resultados de esta tesis permitieron hacer una comparación en la hidrofobicidad foliar de distintas comunidades vegetales, tomando en cuenta la abundancia relativa de cada una de las especies en los diversos sitios. En comparación con plantas de ambientes ajenos a humedales, los humedales costeros poseen un valor de ángulo de contacto más elevado ($88^\circ \pm 14$) que otras comunidades vegetales ($74^\circ \pm 21$), lo cual sugiere que las comunidades de humedales, aún sin ser estrictamente hidrofóbicas, poseen una alta variabilidad entre las diferentes especies y formas de vida.

Palabras clave: Ángulo de contacto, cutículas foliares, hidrofobicidad, humedales costeros, materiales bioinspirados, microscopía electrónica de barrido.

Abstract of the thesis presented by **Luis Eduardo Tellechea Robles** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Life Sciences with orientation in Microbiology

Comparison of the foliar cuticular hydrophobicity in plants of three coastal wetlands in Baja California, Mexico.

Abstract approved by:

Dr. Rodrigo Méndez Alonzo
Thesis director

Plants were able to dominate terrestrial environments because of the development of a non-wetting waxy outer layer around their body, which limits water outflow to selective spaces. Particularly, the most important tissue determining plant wettability is the cuticle. The hydrophobicity of the cuticles (the capacity of repel or attract water droplets), and the physical and structural characterization of cuticle components, is a very interesting topic due to ecological and evolutionary implications, and due to their potential use as an inspiration for synthetic materials. In previous studies, it has been observed that wetland species have different water-repellency behavior, from highly hydrophobic species to highly hydrophilic species. Nevertheless, the ecological advantage of these traits and how they vary across different types of wetlands it is not known. In my thesis, I quantified the hydrophobicity of plant cuticles in three coastal wetlands of Baja California, under different conditions of inundation, using the contact angle method, scanning electron microscopy (SEM), and different statistical methods which summarizes information of community data. I found that the average hydrophobicity, using the contact angle values of the three wetlands, Estero de Punta Banda, La Lagunita El Ciprés and La Misión, were of 93°, 77° and 100° respectively. I also found 22 hydrophobic species and 15 hydrophilic species, using a threshold value of $90^\circ \pm 10^\circ$. In addition, the cuticular structures from superhydrophobic and superhydrophilic species were analyzed, and I found several forms of epicuticular induments, such as trichomes, rodlets and palets in superhydrophobic species. This type of structure might play an important role in leaf permeability, water redirection to the roots and other functions. All together, the results from this thesis allow a comparison between plant communities through the community weighted mean for hydrophobicity, using the relative abundance of each species in all the sites. In comparison with other plant communities from around the world ($74^\circ \pm 21$), wetlands had higher values of contact angle values ($88^\circ \pm 14$), thus suggesting that coastal wetlands have a higher average hydrophobicity value than other vegetal communities, due to a high variability in species and life forms, in spite of not all species being strictly hydrophobic.

Key words: Bioinspired materials, coastal wetlands, contact angle, foliar cuticle, hydrophobicity, scanning electron microscopy.

Dedicatoria

A mis padres, Eduardo Tellechea Armenta y Martha Gabriela Robles Arredondo, y a mi hermana Ana Gabriela Tellechea Robles, por el apoyo y amor incondicional que me brindaron durante estos dos años.

Agradecimientos

Agradezco al posgrado en Ciencias de la Vida del CICESE (15293925).

Agradezco el apoyo por la beca de maestría 337941 a CONACYT .

Al Proyecto Ecofisiología y ecología funcional de plantas de ambientes estresados, número de clave, B0F084-681-117. Proyecto CONACYT, PN-2015-1-251.

Al Dr. Rodrigo Méndez Alonzo, por su gran entrega y dedicación al desarrollo de esta tesis y por siempre haber estado para mí cuando lo necesité.

Al Dr. Stephen Bullock, Dr. Israel Martínez y al Dr. Rubén Cadena, por siempre haber estado al pendiente de mis avances, su asesoría y sus constructivos comentarios y sugerencias para mi trabajo.

Un especial agradecimiento a Mario Salazar, Eulogio López y Fabián Alonso, quienes me apoyaron técnicamente en diferentes aspectos de la investigación.

A Iván Manriquez, de grupo ProEsteros, y al Dr. Diego Delgado.

A mis padres, Eduardo Tellechea y Gabriela Robles, mi hermana Ana Gabriela Tellechea, las personas que más amo; porque aún estando a distancia, sentí su incondicional apoyo y amor cada día.

A mis tíos, Marcela, Marcos, Yael, Arturo y Alma Delia, por haber siempre estado al pendiente de mis avances durante estos dos años.

A mis amigos, Tania Burgos, Tadeo De La Cruz, Ángel Ortega, Renee Mange, Jorge Jiménez, Heriberto Encinas, Sergio Garza, Julio Padilla, Rafael Martínez, Nadir Carreón, Nadia Contreras y Oscar Morales; por siempre preocuparse y por querer siempre saber cómo iba mi tesis, y por acompañarme a distancia con sus ánimos y por siempre recibirme con gusto cuando coincidíamos en Hermosillo.

A mis amigos, compañeros de la generación 2015-2017 del Posgrado en Ciencias de la Vida; Víctor Vargas, Eduardo Álvarez, Arlette Pacheco, Iván González, Joel Ricci, Vanessa Vázquez, Duahmet Ruíz y Fernanda Ariza; por lograr influir, cada quien a su manera, en mi crecimiento, tanto profesional como personal.

Lista de figuras

	Página
1 Capas que conforman la cutícula foliar en una célula vegetal (Koch y Barthlott, 2009).	2
2 Superhidrofobicidad foliar de la hoja de Loto (<i>Nelumbo nucifera</i>).	4
3 Corte transversal de un fragmento foliar, donde se distinguen los diversos indumentos (pliegues y tricomas) en la superficie de la cutícula, así como la composición interna de la hoja.	5
4 Colección de imágenes de ceras epicuticulares, obtenidas de microscopio SEM. Es posible apreciar las diferentes morfologías estructurales que presenta cada una de las especies y, dependiendo de éstas, será el comportamiento menor o mayormente hidrofóbico (Barthlott et al., 1998).	7
5 Humedal de La Lagunita, El Ciprés, Ensenada, B.C.	8
6 Diagrama que representa los efectos del gradiente de inundación y la periodicidad de ésta en la fisiología de las plantas de los humedales.	10
7 Diagrama que muestra el comportamiento de una gota de agua en relación a diversos tipos de superficie, donde varía el grado de interacción de ésta con el substrato correspondiente (Krasowska et al., 2009).	11
8 Recopilación por Goldsmith et al. (2016) de los ángulos de contacto promedio entre especies en diversos sitios y habitats del mundo.	12
9 Alfa, Beta y Gamma diversidad. La partición de la variación en diversidad conforme diferentes paisajes o regiones se puede entender de la siguiente manera:	
Alfa-diversidad es medida localmente en un sitio único, por ejemplo el sitio 1 y el sitio 2, donde el sitio 1 posee mayor Alfa-diversidad que el sitio 2.	
Beta-diversidad se mide tomando en cuenta el cambio en la composición de especies o a través de un gradiente, tales como las regiones X y Y, donde la región Y posee una mayor Beta-diversidad que la región X, así como un mayor intercambio de especies entre los sitios de la región Y.	
Gamma-diversidad es similar a la Alfa-diversidad, solo que a una escala mucho mayor, Alfa y Beta diversidad contribuyen a la Gamma-diversidad. La región X posee una Alfa-diversidad mayor en sus sitios, pero son muy similares entre ellos; sin embargo, la misma región posee una baja Beta-diversidad y una moderada Gamma-diversidad. De la misma manera, la Región Y posee una baja Alfa-diversidad en sus sitios, pero estos difieren mucho entre ellos; por lo tanto, la región	14

	posee una alta Beta-diversidad y una mayor Gamma-diversidad que la región X (modificado de Perlmany Adelson, 1997).	
10	Mapa satelital del sitio de muestreo en el Estero de Punta Banda, donde cada vértice de la cuadrícula indica las coordenadas del trazo de los transectos para la medición de biodiversidad (16).	18
11	Imagen panorámica del sitio de muestreo en el Estero de Punta Banda.	19
12	Imagen representativa de la cobertura de las plantas encontradas en un fragmento del transecto, cuya área es de 1 metro cuadrado, limitada por los postes de color naranja.	19
13	Transecto de 10 x 1m para identificación de las especies, trazado en el Estero de Punta Banda así como su cobertura a lo largo de éste.	20
14	Bandera colocada en el punto de muestreo #10.	20
15	Mapa satelital del sitio de muestreo en La Lagunita (El Ciprés), donde cada vértice de la cuadrícula indica las coordenadas del trazo de los transectos para la medición de biodiversidad (20).	21
16	Panorámica del sitio de muestreo de La Lagunita (El Ciprés).	22
17	Mapa satelital del sitio de muestreo en La Misión, donde cada vértice de la ruta indica las coordenadas del trazo de los transectos para la medición de biodiversidad (10, zona norte).	23
18	Mapa satelital del sitio de muestreo en La Misión, donde cada vértice de la ruta indica las coordenadas del trazo de los transectos para la medición de biodiversidad (10, zona sur).	24
19	Panorámica del arroyo del humedal de La Misión.	24
20	Esquema del aparato utilizado para medir el ángulo de contacto para cada una de las hojas seleccionadas para cada especie.	25
21	Teléfono celular (Motorola Moto X XT-1096, segunda generación) utilizado para la captura de imágenes de ángulos de contacto.	26
22	Lente macro ajustable utilizado para el enfoque cercano de las gotas en la superficie foliar.	27
23	Medición de ángulo de contacto entre la gota de agua y la superficie foliar de la planta <i>Dudleya brittoni</i> , cuyo valor corresponde a 107.59°.	28

24	Montaje de los fragmentos de cada una de las especies visualizadas bajo el microscopio, aproximadamente 3 mm ² de área para cada una.	29
25	Microscopio SEM Hitachi SU3500, utilizado para observar la microestructura foliar de las especies de interés.	30
26	Curva de acumulación de especies para el humedal de Punta Banda, Baja California, México. El muestreo se realizó el 25 de noviembre de 2016. La curva de acumulación de la riqueza de especies encontradas se compara con tres estimadores de riqueza total de especies. ICE es el Incidence-Based Coverage Estimator, Jackknife 1 es un modelo de ajuste no paramétrico basado en Jackknife de primer orden y Chao1 es el modelo de ajuste asintótico de Chao (Coldwell y Coddington 1992). La riqueza encontrada se ajustó a un modelo asintótico $S = a \times (1 - e^{-b \times \text{No. de sitios}})$, donde a y b son parámetros de la regresión.	35
27	Curva de acumulación de especies para el humedal de La Lagunita El Ciprés, Baja California, México. El muestreo se realizó el 9 de febrero de 2017. La curva de acumulación de la riqueza de especies encontradas se compara con tres estimadores de riqueza total de especies. ICE es el Incidence-Based Coverage Estimator, Jackknife 1 es un modelo de ajuste no paramétrico basado en Jackknife de primer orden y Chao1 es el modelo de ajuste asintótico de Chao (Coldwell y Coddington 1992). La riqueza encontrada se ajustó a un modelo asintótico $S = a \times (1 - e^{-b \times \text{No. de sitios}})$, donde a y b son parámetros de la regresión.	36
28	Curva de acumulación de especies para el humedal de La Misión, Baja California, México. El muestreo se realizó el 24 de marzo de 2017. La curva de acumulación de la riqueza de especies encontradas se compara con tres estimadores de riqueza total de especies. ICE es el Incidence-Based Coverage Estimator, Jackknife 1 es un modelo de ajuste no paramétrico basado en Jackknife de primer orden y Chao1 es el modelo de ajuste asintótico de Chao (Coldwell y Coddington 1992). La riqueza encontrada se ajustó a un modelo asintótico $S = a \times (1 - e^{-b \times \text{No. de sitios}})$, donde a y b son parámetros de la regresión.	37
29	Histograma de frecuencias entre los tres sitios de muestreo, tomando en cuenta la variable de ángulo de contacto contra la frecuencia de especies por intervalo.	39
30	Variación en el ángulo de contacto estático en tres humedales costeros de Baja California, México. Estero de Punta Banda (EPB), La Lagunita El Ciprés (LC) y La Misión (LM). $F = 24.43$, $BF > 10^7$. Los puntos corresponden al valor de la media del ángulo de contacto y los bigotes corresponden a la desviación estándar de los valores.	39
31	Variación en el ángulo de contacto estático de especies provenientes de tres humedales costeros de Baja California, México entre zonas de inundación. Acuáticas (AC), Inundadas (I), No inundadas (NI), semiinundadas (SI). $F = 24.43$, $BF > 10^7$. Los puntos corresponden al valor de la media del ángulo de contacto y los bigotes corresponden a la desviación estándar de los valores.	40

32	Variación en el ángulo de contacto estático promedio, por humedal, tomando en cuenta la media ponderada del ángulo de contacto estático de las hojas por comunidad (CWM, <i>community weighted mean</i>). Los puntos corresponden al CWM del ángulo de contacto y las barras de error corresponden a la amplitud funcional, que es el valor máximo y el mínimo encontrados por todos los individuos de cada laguna.	40
33	Histograma de frecuencias entre las especies del Estero de Punta Banda, tomando en cuenta la variable de ángulo de contacto contra la frecuencia de especies por intervalo.	41
34	Histograma de frecuencias entre las especies de La Lagunita El Ciprés, tomando en cuenta la variable de ángulo de contacto contra la frecuencia de especies por intervalo.	42
35	Histograma de frecuencias entre las especies de La Misión, tomando en cuenta la variable de ángulo de contacto contra la densidad de individuos por intervalo.	42
36	Imágenes de las especies más hidrofóbicas, ordenadas de mayor (1) a menor (9) ángulo de contacto. (1) <i>Anemopsis californica</i> , (2) <i>Polypogon montspeliensis</i> , (3) <i>Scirpus sculentus</i> , (4) <i>Typha domingensis</i> , (5) <i>Distichlis spicata</i> , (6) <i>Ambrosia psilostachya</i> , (7) <i>Salsola tragus</i> , (8) <i>Camisoniopsis cheirantipholia</i> , (9) <i>Malva parviflora</i>	44
37	Imágenes de las especies más hidrofílicas, ordenadas de mayor (1) a menor (7) ángulo de contacto. (1) <i>Juncus acutus</i> , (2) <i>Isocoma menziessi</i> , (3) <i>Salicornia bigelovii</i> , (4) <i>Dudleya sp.</i> , (5) <i>Scoenoplectus californicus</i> , (6) <i>Rumex fueginus</i> , (7) <i>Sonchus asper</i>	45
38	(1) Imágenes contrastantes de las dos variantes de la especie <i>Dudleya brittoni</i> . (1) <i>Dudleya brittoni</i> (Morfo blanco), (2) <i>Dudleya brittoni</i> (Morfo verde/glabro).	46

Lista de tablas

	Página
1 Resumen de información de la delimitación de la zona de estudio en el Estero Punta Banda, Ensenada, B.C., México.	18
2 Resumen de información de la delimitación de la zona de estudio en La Lagunita El Ciprés, Ensenada, B.C., México.	21
3 Resumen de información de la delimitación de la zona de estudio en el arroyo de La Misión, Ensenada, B.C., México.	22
4 Valores de disimilitud obtenidos del índice de Bray-Curtis (parte superior del cuadro), y cantidad de especies compartidas (parte inferior del cuadro) en tres humedales costeros de Baja California, México. Los valores de Bray-Curtis van de 0 a 1, donde 0 implica composiciones iguales y 1 composiciones totalmente diferentes.	38
5 Relación entre tipos de estructuras cuticulares y el ángulo de contacto de las especies hidrofóbicas.	46
6 Relación entre tipos de estructuras cuticulares y el ángulo de contacto de las especies hidrofílicas.	47
7 Relación entre tipos de estructuras cuticulares y el ángulo de contacto de las especies con comportamiento neutro.	47
8 Relación entre tipos de estructuras cuticulares y el ángulo de contacto de las especies de tipo juncal.	48
9 Ángulos de contacto de la cutícula de cada especie muestreada en Punta Banda.	55
10 Ángulos de contacto de la cutícula de cada especie muestreada en La Lagunita El Ciprés.	55
11 Ángulos de contacto de la cutícula de cada especie muestreada en La Misión.	56

Tabla de contenido

	Página
Resumen español	ii
Resumen inglés	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Lista de figuras	vi
Lista de tablas	x
Capítulo 1 Introducción	1
Capítulo 2 Marco teórico	2
2.1 Estructura y función de la cutícula	2
2.2 Hidrofobicidad foliar en plantas	3
2.3 Microestructura foliar mediante microscopía electrónica de barrido (SEM)	6
2.4 Humedales costeros	7
2.5 Patrones de variación ecológica en el carácter de hidrofobicidad foliar	9
2.6 Método de clasificación de superficies (ángulo de contacto)	10
2.7 Biodiversidad alfa, beta y gamma y diversidad de caracteres funcionales	13
2.8 Justificación	15
2.9 Hipótesis	15
2.10 Objetivos	16
2.10.1 Objetivo general	16
2.10.2 Objetivos específicos	16
Capítulo 3 Materiales y métodos	17
3.1 Sitios de estudio	17

3.1.1 Estero de Punta Banda	18
3.1.2 La Lagunita (El Ciprés)	21
3.1.3 La Misión	22
3.2 Experimentos de comparación de la hidrofobicidad foliar	25
3.3 Procesamiento digital de imágenes	26
3.4 Preparación de muestras para visualización por microscopía electrónica de barrido (SEM)	27
3.5 Análisis de datos	30
3.5.1 Comparación de ángulos de contacto estático entre humedales	32
3.5.1.1 Histogramas de frecuencia	32
3.5.1.2 Medias ponderadas por comunidad y rangos funcionales de los ángulos de contacto por humedal	33
Capítulo 4 Resultados	34
4.1 Diversidad de las tres lagunas	34
4.1.1 Curvas de acumulación de especies	34
4.1.1.1 Estero de Punta Banda	34
4.1.1.2 La Lagunita (El Ciprés)	35
4.1.1.3 La Misión	37
4.2 Comparación de la diversidad entre sitios	38
4.2.1 Ángulo de contacto e hidrofobicidad foliar	38
4.3 Caracterización de la microestructura foliar por imágenes de SEM	43
4.3.1 Características cuticulares de especies hidrofóbicas	46

4.3.2 Características cuticulares de especies hidrofílicas	47
4.3.3 Características cuticulares de especies neutras	47
4.3.4 Características cuticulares de especies de la familia Juncaceae	48
Capítulo 5 Discusión	49
5.1 Relación entre diversidad biológica, factores abióticos y repelencia al agua en tres humedales costeros de Baja California, México	49
5.1.1 Diversidad biológica	51
5.2 Relación entre microestructura foliar y repelencia al agua	52
Capítulo 6 Conclusiones y perspectivas	54
Anexos	55
Literatura citada	57

Capítulo 1. Introducción

Los humedales costeros son ecosistemas en los cuales las aguas continentales, tales como lagunas cercanas al litoral, tienen contacto periódico con las aguas del océano. Estos ecosistemas se consideran los más valiosos del mundo en términos económicos, por los servicios y bienes ambientales que prestan a la humanidad (Costanza et al., 1997). Las plantas de los humedales se caracterizan por poseer una flora adaptada a condiciones de inundación frecuente y alta salinidad, por contacto con las aguas marinas (Moreno-Casasola, P. 2006). Las plantas nativas de estos ecosistemas, en respuesta a la salinidad y a la periodicidad de inundación, están sujetas a una gran variación fisiológica en relación con el intercambio de agua y solutos, exposición a la luz solar y tasas fotosintéticas, por mencionar algunos ejemplos. Debido a estas presiones selectivas, las plantas nativas a estos ecosistemas han evolucionado para presentar diversas morfologías a nivel foliar, que les pudieron permitir incrementar su adecuación a ese ambiente. Una de las posibles adaptaciones para poder lidiar con inundaciones frecuentes es la alta repelencia foliar al agua, que podría permitir una recuperación rápida del intercambio de gases posterior a la inundación. Dado que se espera que las plantas de humedal presenten frecuencias de inundación estacionales y circamareales, es posible esperar que gran parte de las especies de humedales hayan sido seleccionadas para desarrollar este comportamiento. Sin embargo, no han sido realizados estudios en este sentido, comparando diferentes especies en distintos humedales.

Con el presente trabajo de tesis se pretende obtener datos de biodiversidad de las especies distribuidas en tres sistemas de humedales, así como datos de diversidad funcional de las propiedades hidrofóbicas de la cutícula foliar. El estudio de la estructura y función de las cutículas vegetales se considera de gran importancia para el desarrollo de aplicaciones tecnológicas orientadas hacia la generación de nuevos materiales bioinspirados en la morfología y composición de estas estructuras.

Capítulo 2. Marco Teórico

2.1 Estructura y función de la cutícula

La diversidad estructural de las superficies biológicas es el resultado de una sucesión de adaptaciones evolutivas a lo largo del tiempo, que permitieron la colonización del medio terrestre y que provocó una serie de modificaciones estructurales en la capa más externa de sus células, la cual le brinda protección contra factores externos (Koch y Barthlott, 2009, Figura 1).

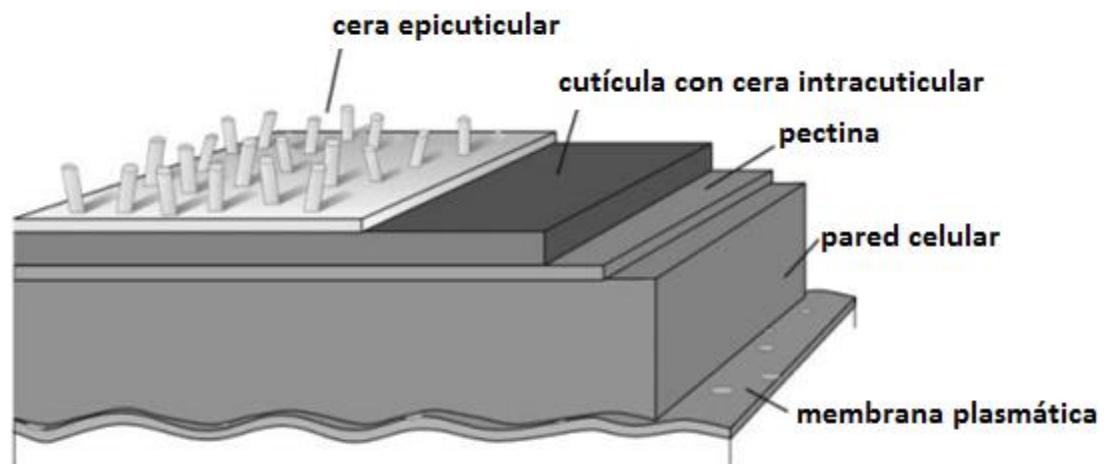


Figura 1: Capas que conforman la cutícula foliar en una célula vegetal (Koch y Barthlott, 2009).

La diversidad de características estructurales de las superficies de las plantas se debe a la variabilidad de las formas celulares, micro y nanoestructuras en las cutículas. La combinación de texturas y rugosidades, así como de diferencias en la composición química genera una gran variedad de combinaciones estructurales distintas que proporcionan ciertos beneficios como la regulación de la permeabilidad ante el ingreso y transpiración de agua y gases (Bargel et al., 2006). Recientemente se ha encontrado que ciertas propiedades de las cutículas, como el comportamiento superhidrofóbico, se han ligado a las propiedades de autolimpieza que poseen ciertas plantas (Koch y Barthlott, 2009). Este comportamiento superhidrofóbico fue primeramente caracterizado en la cutícula de las hojas de las plantas conocidas como "Lotos sagrados" (*Nelumbo nucifera*, Nelumbonaceae, Gaertn.). Las propiedades de autolimpieza se deben a una combinación entre el microrelieve y la composición de las estructuras epicuticulares, generando una superficie con muy poca interacción con el agua (Barthlott y Neinhuis 1997; Neinhuis y Barthlott 1998, Shirtcliffe et al., 2009). Sin embargo, aún cuando este tema podría permitir la

generación de materiales con propiedades novedosas, no se conoce aún cual es la prevalencia de este tipo de comportamiento en diferentes ambientes.

2.2 Hidrofobicidad foliar en plantas

El grado de repelencia al agua en las hojas es una característica altamente variable en las plantas, dependiendo del tipo de comunidad vegetal y del medio abiótico (Aryal y Neuner 2010; Goldsmith et al. 2012). Como ya se mencionó previamente, un ejemplo representativo de superhidrofobicidad es *Nelumbo nucifera* (Figura 5), una planta herbácea de hábitos acuáticos que posee hojas flotantes con alta impermeabilidad. En esta planta puede apreciarse el comportamiento hidrofóbico de la cutícula al poner en contacto gotas de agua con la superficie foliar. En ese caso, las gotas conservan su forma casi esférica y proporcionan así la capacidad de autolimpieza de la planta (Shirtcliffe et al., 2006, Figura 2). Se ha propuesto que esta cualidad tiene la función de proteger a la planta contra la acumulación de impurezas del medio ambiente; estudios anteriores han determinado que las plantas que tienen este tipo de características se encuentran ubicadas frecuentemente en humedales (Neinhius y Barthlott, 1997) y estas propiedades naturales son fuente de inspiración para la fabricación de nuevos materiales. Previamente, se han fabricado superficies sintéticas autolimpiables, inspiradas en las propiedades superhidrofóbicas de las hojas de *N. nucifera* (Figura 2), simulando la morfología y rugosidad que presenta su microestructura (Roach et al., 2008).



Figura 2: Superhidrofobicidad foliar de la hoja de Loto (*Nelumbo nucifera*).
Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Nelumbo_nucifera

Las propiedades de repelencia foliar, tanto de *N. nucifera* como de otras plantas, son de gran importancia para sus funciones fisiológicas, ya sea para un mejor redireccionamiento del agua de lluvia hacia las raíces en las especies de climas secos, para promover la eficiencia de la fotosíntesis en ambientes de precipitación prolongada a través de su alta repelencia o amortiguar temporalmente el estrés hídrico, como en el caso de las secuoyas (Dawson et al. 1993, Oliveira et al., 2005a). En otros ambientes, se ha encontrado que las hojas son hidrofílicas, esto es, tienen poca repelencia al agua, que se considera un carácter importante para la adquisición de agua a través de las hojas, sobre todo en ambientes con alta nubosidad de baja altitud o en bosques de niebla (Goldsmith et al. 2012, Eller et al. 2013). Estas propiedades de las plantas son atribuidas a la cubierta cerosa e impermeable que cubre toda la superficie vegetal, a excepción de sus raíces. Esta estructura, conocida como cutícula, funge como la interfase entre la planta y su medio (Figura 3) y está compuesta generalmente por lípidos solubles embebidos en una matriz de polisacáridos y cutina, un poliéster (Holloway, 1994, Fernández et al., 2016).

Estudios previos de microscopía electrónica han revelado características de la microestructura cuticular y su gran variabilidad entre diferentes especies.

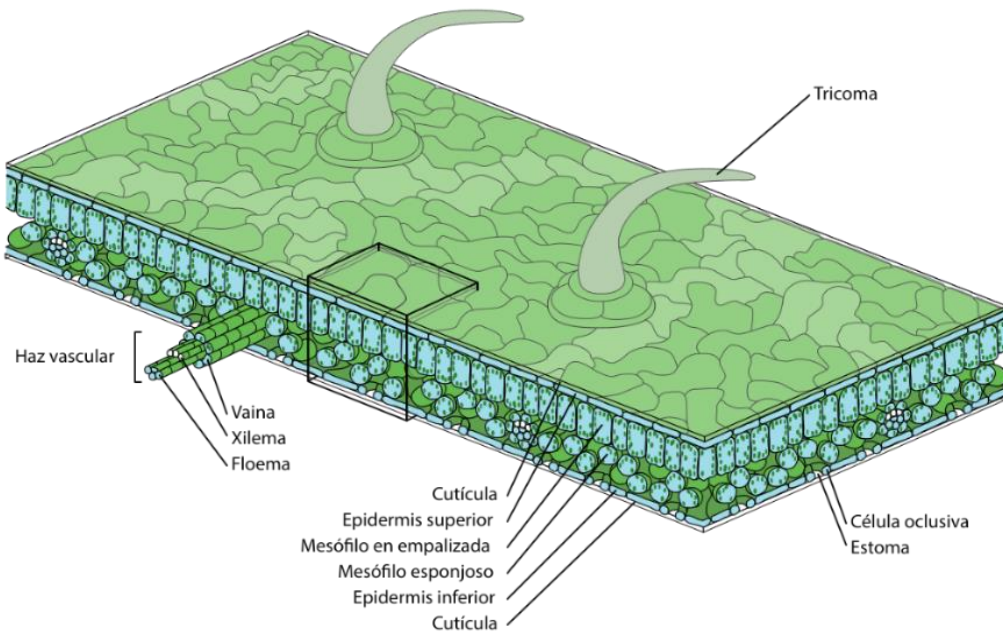


Figura 3: Corte transversal de un fragmento foliar, donde se distinguen los diversos indumentos (pliegues y tricomas) en la superficie de la cutícula, así como la composición interna de la hoja (Raven et al., 1981).

La estructura superficial es determinada comúnmente por dos rasgos esenciales: las estructuras epicuticulares y los patrones de la cutícula, que pueden ser diversos tipos de estructura que se presentan en ésta. Las ceras de las plantas son compuestos formados por hidrocarburos cíclicos y alifáticos, aunque su composición química puede ser muy variable entre distintas especies e incluso entre los órganos de un mismo espécimen (Jetter et al., 2006).

2.3 Microestructura foliar mediante microscopía electrónica de barrido (SEM)

El estudio de las cutículas foliares ha sido de gran interés para los botánicos por más de un siglo. El primero de estos estudios para comprender la estructura de las cutículas fue realizado por de Bary en 1871 (Barthlott et al. 1998); en él se analizaron las hojas de 60 especies de plantas por medio de microscopio óptico y, según su morfología cuticular, fueron clasificadas en cuatro grandes grupos:

- Capas o cortezas
- Rodeles
- Gránulos
- Cubiertas amontonadas

Esta primera publicación fungió como base para estudios posteriores, de donde se derivó la técnica de carbón-replica para estudiar la microestructura por medio de microscopía electrónica de transmisión (TEM) (Juniper y Bradley, 1958), aunque pocas especies pudieron ser caracterizadas por esta técnica.

Con la introducción del microscopio electrónico de barrido (SEM) en el área de la botánica, pudo caracterizarse un mayor número de especies, debido a su mayor rapidez y facilidad de uso (Barthlott et al. 1998).

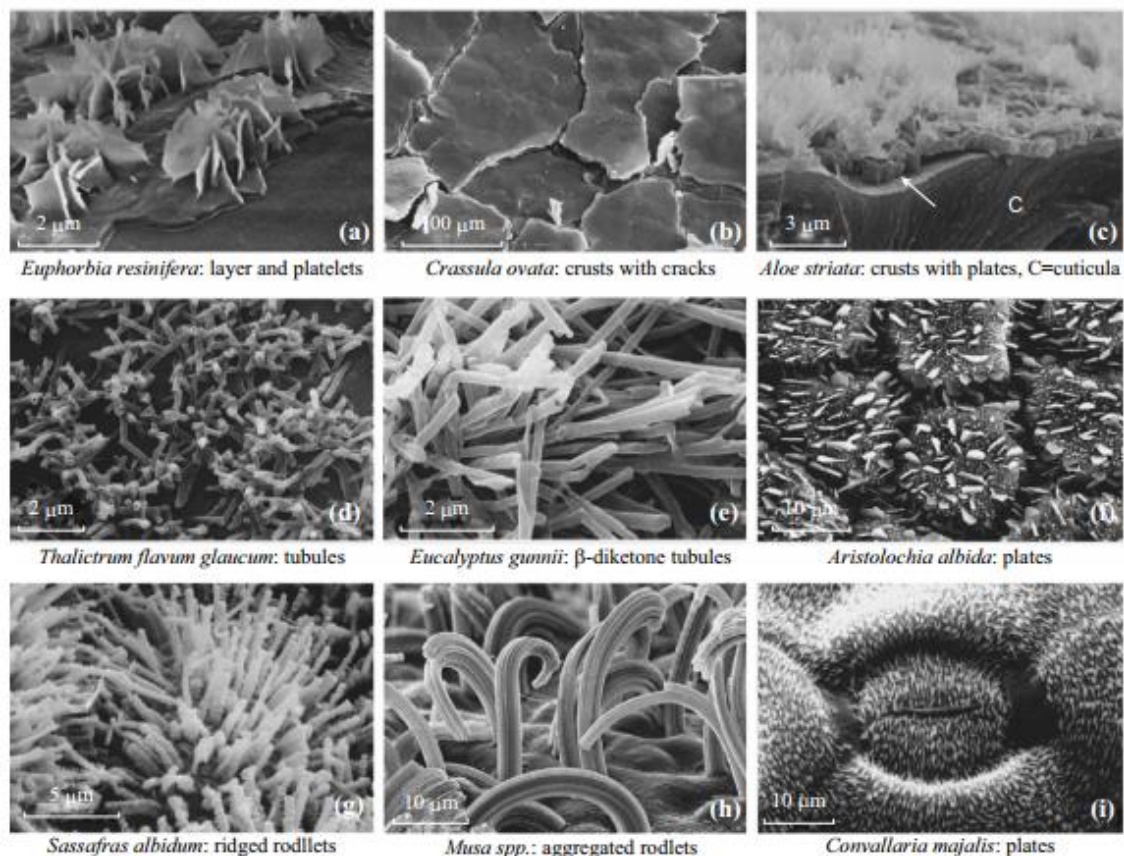


Figura 4: Colección de imágenes de ceras epicuticulares, obtenidas de microscopio SEM. Es posible apreciar las diferentes morfologías estructurales que presenta cada una de las especies y, dependiendo de éstas, será el comportamiento menor o mayormente hidrofóbico (Barthlott et al., 1998).

2.4 Humedales costeros

Los humedales son ecosistemas que generan gran interés en cuanto a sus especies de flora y fauna, caracterizados por ser cuerpos de agua cercanos al litoral, los cuales tienen cierta influencia e intercambios con las aguas oceánicas (Moreno Cassasola 2006). Son tierras de transición entre los sistemas acuáticos y terrestres donde la capa freática se encuentra cerca de la superficie, o se encuentra sumergida en aguas poco profundas, los cuales deben poseer los siguientes atributos (Mitsch y Gosselink, 2000):

- a) Los humedales son sistemas con dominancia de vegetación acuática en su mayoría.
- b) El sustrato debe corresponder a suelo hidromórfico no drenado.
- c) Debe presentar una capa de agua poco profunda o bien un cuerpo de agua subterráneo cerca de la superficie del humedal.



Figura 5: Humedal de La Lagunita, El Ciprés, Ensenada, B.C.

Estos ecosistemas pueden ser clasificados en tres grandes grupos, dependiendo de su ubicación (Olmsted, 1993):

1. Marinos y estuarinos: Ubicados en la plataforma continental, pueden incluir una capa de agua poco profunda o somera con acceso al mar de manera típicamente periódica, con frecuencia subdiurna.
2. Lacustres: Situados en depresiones topográficas, canales o depresiones represadas.
3. Palustres: Humedales que no están expuestos a la influencia de las mareas.

Los límites de los humedales generalmente no se encuentran bien definidos y son de naturaleza muy cambiante, por lo que las plantas nativas de estos ecosistemas generalmente presentan adaptaciones a ambientes salinos, salobres o de agua dulce, capaces de tolerar desecación, diversos grados de inundación, por lo que sus características son muy diversas (Moreno-Casasola, P. 2006). Los humedales son considerados los ecosistemas más diversos y productivos en la Tierra, además se de ser los ecosistemas más valiosos en términos de servicios y bienes ambientales (Costanza et al. 1997). Sin embargo, estos ecosistemas están generalmente amenazados por las actividades humanas, que amenazan globalmente su preservación. Por este motivo, a escala global ha surgido la convención RAMSAR. Esta convención es un tratado intergubernamental que sirve de marco para la acción nacional y la cooperación internacional en pro de la conservación y uso racional de los humedales, a nivel internacional, con el fin de generar un desarrollo sostenible para estos (www.ramsar.org).

2.5 Patrones de variación ecológica en el carácter de hidrofobicidad foliar

Se ha encontrado que hay ciertas características ambientales que favorecen el desarrollo de cutículas con grados diferentes de hidrofobicidad. Por ejemplo, las hojas de especies de árboles que habitan sitios con alta incidencia de neblina son hidrofílicas y pueden absorber activamente el agua de la niebla para amortiguar los efectos del estrés hídrico (Dawson 1997, Silva Oliveira, Eller et al., 2013, Goldsmith et al. 2014). Por otro lado, se ha encontrado que algunas especies de humedales tienen propiedades altamente hidrofóbicas, que han sido estudiadas para generar nuevos materiales bioinspirados (Barthlott y Neinhuis 1997, Koch et al., 2009). Así también, las especies de los desiertos tienen mayor concentración de ceras en la cutícula foliar, lo cual puede ser importante para controlar la transpiración (Ehleringer et al., 1976; Ehleringer y Björkman 1978a, 1978b; Mulroy 1979).

Respecto a la producción de estructuras cuticulares tridimensionales en respuesta a la inundación, no se ha explorado cómo la frecuencia y severidad de la inundación puede modificar este rasgo, aunque sería posible esperar que mientras la intensidad y duración de la inundación incrementen, la repelencia foliar debe aumentar, así como ocurre con otros procesos fisiológicos (Figura 6).

de luz. El equipo permite tomar imágenes o video de la interacción de las gotas en la interfase sólido-líquido-gas. Por medio de la medición de los ángulos internos en la interfase sólido-líquido se puede medir el ángulo de contacto (Kock Yee y Hong, 2016).

En caso de que la superficie sea altamente hidrofóbica y posea un alto grado de histéresis (diferencia entre los ángulos recedente y precedente en un plano inclinado), se dice que posee propiedades de autolimpieza (Bhushan y Jung, 2007), fenómeno conocido como “Efecto Loto”, lo cual ha generado gran interés de investigación para nuevos aportes tecnológicos.

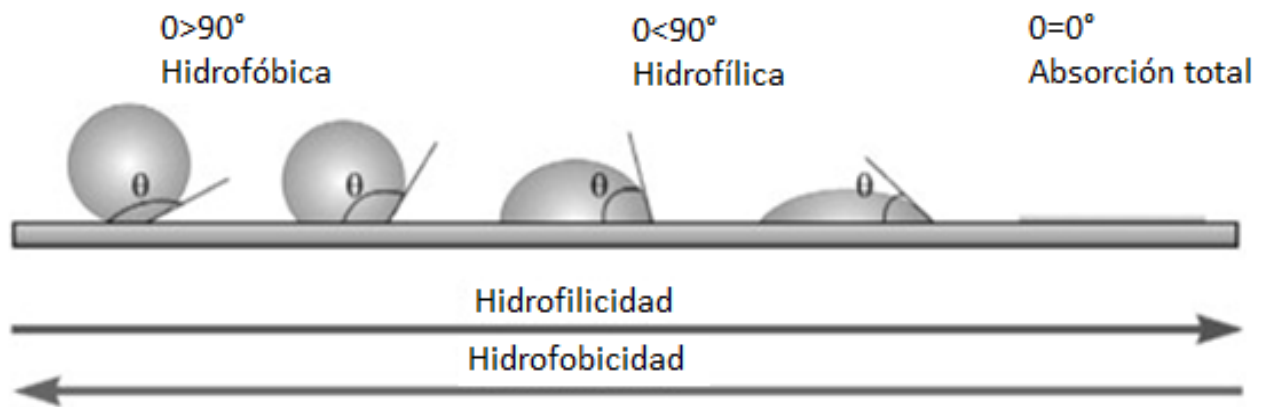


Figura 7: Diagrama que muestra el comportamiento de una gota de agua en relación a diversos tipos de superficie, donde varía el grado de interacción de ésta con el substrato correspondiente (Krasowska et al., 2009).

Goldsmith et al., 2016, realizaron una recopilación de estudios previos en diversos ambientes, tales como bosque tropical templado, bosque de niebla, estepa y praderas, para tratar de entender si diferentes comunidades vegetales diferían en la cuantificación de la hidrofobicidad foliar de las plantas nativas por medio del ángulo de contacto, tal como se muestra en la Figura 8.

Table 2 Summary data from a global analysis of published leaf water repellency values; mean contact angle \pm 1 SD

Adaxial contact angle (°)	Abaxial contact angle (°)	MAT (°C)	MAP (mm)	Habitat	Latitude	Longitude	Location (no. of species)	Study
86.6 \pm 46.5	105.5 \pm 48.4	3.9	384	Temperate forest/ meadow	41.25	-105.50	USA (34)	Brewer & Smith (1997)
70.5 \pm 13.8	83.1 \pm 27.5	8.3	442	Temperate forest/ grassland	38.89	-104.80	USA (11)	Holder (2012a)
136.6 \pm 36.1	153.3 \pm 36.7	8.1	750	Steppe	-41.27	-71.33	Argentina (6)	Brewer & Nunez (2007)
78.8 \pm 36.7	84.9 \pm 32.6	8.1	1550	Temperate forest/steppe	-41.27	-71.33	Argentina (11)	Brewer & Nunez (2007)
48.5 \pm 19.5	69.3 \pm 32.1	8.1	3000	Temperate rain forest	-41.27	-71.33	Argentina (19)	Brewer & Nunez (2007)
59 \pm 9.5	58.3 \pm 14.2	na	2200	Tropical lowland forest	-23.52	-45.03	Brazil (5)	Rosado <i>et al.</i> (2010)
65 \pm 6.1	63.2 \pm 7.8	16.1	2000	Tropical montane forest	-23.28	-45.05	Brazil (5)	Rosado <i>et al.</i> (2010)
50.6 \pm 5.9	84.4 \pm 27.7	16.9	1893	Tropical montane cloud forest	15.20	-90.20	Guatemala (12)	Holder (2007a)
74.0 \pm 22.8	86.3 \pm 34.6	24.4	1002	Tropical dry forest	14.75	-89.50	Guatemala (12)	Holder (2007a)
71.4 \pm 5.6	87.0 \pm 32.3	10.3	757	Temperate urban forest/meadow	51.00	3.83	Belgium (5)	Kardel <i>et al.</i> (2012)
77.5 \pm 36.3	105.6 \pm 34.4	23.0	1834	Tropical forest	27.57	84.45	Nepal (54)	Aryal & Neuner (2010)
78.6 \pm 35.4	97.0 \pm 34.2	16.5	1864	Subtropical forest	27.63	85.32	Nepal (60)	Aryal & Neuner (2010)
102.9 \pm 31.9	118.8 \pm 30.0	8.5	492	Temperate forest	28.77	83.72	Nepal (40)	Aryal & Neuner (2010)
111.1 \pm 29.0	121.8 \pm 26.5	2.2	418	Subalpine forest/shrub	28.20	85.50	Nepal (42)	Aryal & Neuner (2010)
115.9 \pm 31.5	121.8 \pm 28.1	2.3	465	Alpine shrub and grassland	28.22	85.57	Nepal (31)	Aryal & Neuner (2010)
49.1 \pm 6.0	54.7 \pm 13.2	21.0	2500	Tropical lowland forest	-22.95	-43.40	Brazil (7)	Matos & Rosado (2016)
64.9 \pm 25.6	72.5 \pm 22.4	18.0	2400	Tropical grassland	-22.35	-44.66	Brazil (7)	Matos & Rosado (2016)
75.2 \pm 5.5	na	9.0	1980	Tropical montane forest	-13.14	-71.63	Peru (9)	(This work; ACJ-01)
69.3 \pm 8	na	13.1	1560	Tropical montane cloud forest	-13.18	-71.59	Peru (10)	(This work; ESP-01)
66.3 \pm 4.9	na	23.5	2366	Tropical lowland forest	-12.65	-71.26	Peru (13)	(This work; PAN-02)
69.9 \pm 7.5	na	21.9	2385	Tropical lowland forest	-12.64	-71.27	Peru (13)	(This work; PAN-03)
68.3 \pm 6.8	na	17.4	5302	Tropical montane cloud forest	-13.05	-71.54	Peru (29)	(This work; SPD-01)
62.7 \pm 5.3	na	18.8	5302	Tropical montane forest	-13.05	-71.54	Peru (26)	(This work; SPD-02)
62.5 \pm 4.5	na	24.4	1900	Tropical lowland forest	-12.83	-69.27	Peru (27)	(This work; TAM-05)
61.2 \pm 5.4	na	24.4	1900	Tropical lowland forest	-12.84	-69.30	Peru (22)	(This work; TAM-06)
56.1 \pm 4.9	na	13.5	2318	Tropical montane cloud forest	-13.11	-71.59	Peru (17)	(This work; TRU-04)

Figura 8: Recopilación por Goldsmith et al. (2016) de los ángulos de contacto promedio entre especies en diversos sitios y habitats del mundo.

Dos aspectos importantes a mencionar en la recopilación de datos globales de Goldsmith et al. (2016) son que 1. No se incluye en este listado ninguna comunidad de humedales, incluso cuando las plantas más estudiadas para biomimética provienen de estos ambientes. 2. Ninguno de los estudios antes mencionados hacen una evaluación de la hidrofobicidad de toda la comunidad, ponderada por el total estimado de diversidad y la abundancia relativa de cada especie. Para poder establecer hipótesis sobre el efecto del ambiente sobre la hidrofobicidad foliar, es necesaria la caracterización de la flora de varios micrositos dentro de cada ambiente, lo cual permitiría comparar si la hidrofobicidad responde a la variación entre entre sitios comparables o a gradientes físicos locales.

Este estudio contribuirá a comparar los resultados obtenidos en este trabajo, de tal forma que pueda vislumbrarse un patrón en la cuantificación de la hidrofobicidad foliar, en comparación con los humedales

costeros. Para esto, se realizará una revisión de las medidas más usuales en comparación de diversidad específica y funcional,

2.7 Biodiversidad alfa, beta y gamma y diversidad de caracteres funcionales

Para poder realizar comparaciones de la diversidad de especies entre diferentes sitios se pueden estudiar los componentes de la diversidad, definidos por Whittaker en 1972, referentes a diferentes escalas espaciales, denominados, diversidades α , β y γ , que son útiles para la medición de la variación de ésta en relación a la estructura del paisaje (Moreno, 2001; Figura 9):

Diversidad alfa (α): Parámetro correspondiente a la riqueza de especies por unidad territorial (Whittaker, 1972).

Diversidad beta (β): Variación en la composición de especies entre diferentes comunidades de un paisaje (Whittaker, 1977).

Diversidad gamma (γ): Riqueza específica de un conjunto de comunidades que componen un paisaje, como producto de la diversidad alfa y diversidad beta.

La diversidad en cuanto a caracteres funcionales hace referencia al grado de variación interespecífico, tomando en cuenta uno o varios atributos morfológicos o fisiológicos.

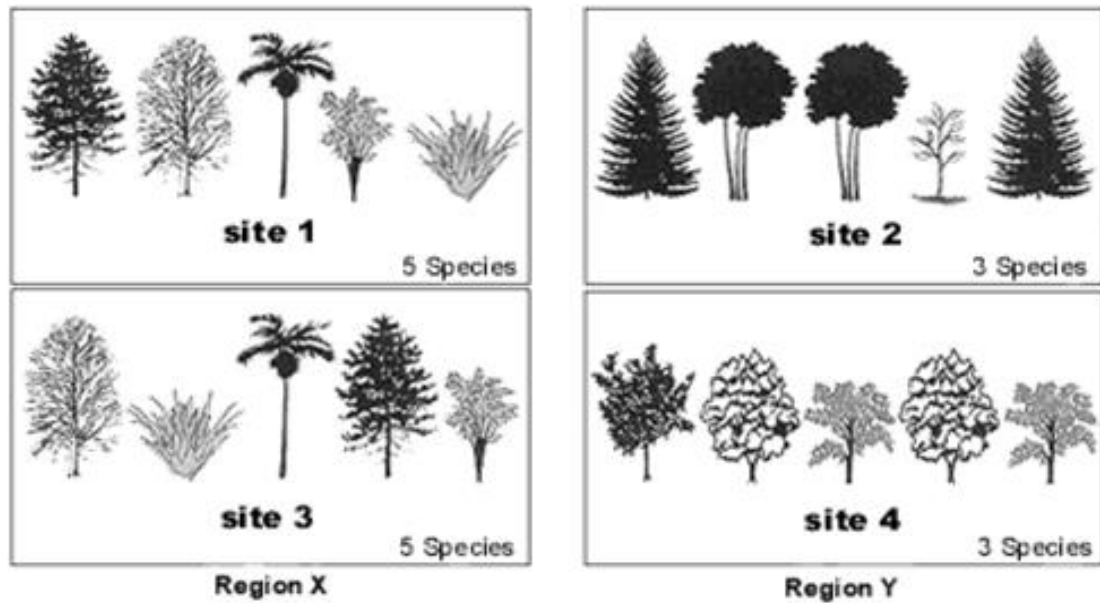


Figura 9: Alfa, Beta y Gamma diversidad. La partición de la variación en diversidad conforme diferentes paisajes o regiones se puede entender de la siguiente manera:

Alfa-diversidad es medida localmente en un sitio único, por ejemplo el sitio 1 y el sitio 2, donde el sitio 1 posee mayor Alfa-diversidad que el sitio 2.

Beta-diversidad se mide tomando en cuenta el cambio en la composición de especies o a través de un gradiente, tales como las regiones X y Y, donde la región Y posee una mayor Beta-diversidad que la región X, así como un mayor intercambio de especies entre los sitios de la región Y.

Gamma-diversidad es similar a la Alfa-diversidad, solo que a una escala mucho mayor, Alfa y Beta diversidad contribuyen a la Gamma-diversidad.

La región X posee una Alfa-diversidad mayor en sus sitios, pero son muy similares entre ellos; sin embargo, la misma región posee una baja Beta-diversidad y una moderada Gamma-diversidad. De la misma manera, la región Y posee una baja Alfa-diversidad en sus sitios, pero estos difieren mucho entre ellos; por lo tanto, la región posee una alta Beta-diversidad y una mayor Gamma-diversidad que la región X (modificado de Perlman y Adelson, 1997).

Es importante poder cuantificar la diversidad de flora por humedal, así como para poder compararlos entre ellos y determinar de qué manera están distribuidas las especies para poder relacionarlo con el carácter de hidrofobicidad foliar.

2.8 Justificación

Estudiar la variación interespecífica en abundancia relativa y en repelencia al agua en hojas de especies de humedales, permitirá conocer si la inundación es una presión selectiva capaz de modificar la evolución y fisiología de las especies de humedal. Además, este estudio permitirá dirigir la búsqueda de nuevos materiales basados en diferentes tipos de estructuras cuticulares provenientes de diferentes especies y con diferentes propósitos.

2.9 Hipótesis

Dado que los ambientes de humedales están frecuentemente expuestos a inundación, se espera que las plantas de estas zonas hayan sido seleccionadas para repeler el agua en las hojas. Esto serviría para poder recuperar el intercambio de gases posterior a la inundación. Si esta predicción se cumple, se esperaría que las plantas que tuvieran mayor dominancia en las comunidades de humedal fueran hidrofóbicas. Esto se reflejaría en un valor alto de ángulo de contacto (mayor a 90°) para las tres comunidades. También se esperaría que al interior de cada comunidad, las especies cuyo hábitat corresponda a zonas de inundación periódica tuvieran mayor hidrofobicidad foliar que aquellas especies de hábitats no sujetos a inundación periódica.

A priori, es posible afirmar que existen diferencias entre los tres humedales que se estudiaron en este trabajo, debido a la variación en la interacción que tiene cada uno con el océano, como en otros factores abióticos y antropogénicos, lo cuál puede verse reflejado en la composición de especies de plantas en cada uno de ellos.

2.10 Objetivos

2.10.1 Objetivo General

Determinar los factores ecológicos asociados con la variación en el nivel de repelencia foliar en plantas pertenecientes a tres sistemas de humedales con características hídricas distintas.

2.10.2 Objetivos específicos

- Evaluar la variación de la hidrofobicidad foliar de especies de los sistemas de humedales de Punta Banda, La Lagunita El Ciprés y La Misión.
- Evaluar la variación de la hidrofobicidad foliar de especies de ambientes con diferente grado de inundación en los sistemas de humedales de Punta Banda, La Lagunita El Ciprés y La Misión.
- Comparar la microestructura cuticular de las plantas por medio de SEM (Microscopía Electrónica de Barrido) para ejemplares con propiedades superhidrofóbicas y superhidrofílicas.

Capítulo 3. Materiales y Métodos

3.1 Sitios de Estudio

Se seleccionaron tres humedales costeros cercanos a la ciudad de Ensenada. B.C.: Estero Punta Banda, Lagunita El Ciprés y La Misión. Los muestreos se realizaron entre el 4 de noviembre de 2016 al 24 de marzo de 2017. En todos los sitios se siguió la misma metodología para describir la abundancia relativa de cada especie y la diversidad local y global conforme los estadísticos de Whittaker.

En cada sitio se colectaron un mínimo de tres individuos por especie para medición en el tensiómetro-goniómetro. Asimismo, se colectaron individuos para su posterior identificación por parte del taxónomo Biol. Mario Salazar Ceseña.

Para estudiar la variación en diversidad de cada humedal se generó un diseño de cuadrícula. En cada sitio se generó una cuadrícula dividida en cuadros de 100 x 100 m, la cual fue sobrepuesta de forma virtual en la imagen aérea de cada humedal, utilizando el programa Google Earth. De esta manera, los vértices permitieron determinar las coordenadas respectivas de puntos de muestreo individuales. Cada uno de estos puntos fue ubicado mediante un GPS de un teléfono celular mediante la aplicación GPS status (Android, MobiWIA, 2016), en un teléfono Motorola Moto XT-1096 2ª generación (Motorola Inc. Libertyville, IL, USA). Se registró la altura utilizando un altímetro (EXA Tools, 2016), así como la hora a la que se trazó cada transecto. En cada uno de los transectos (Figura 13), se realizó una división por metro cuadrado, calculando a simple vista el porcentaje de la cobertura de cada especie encontrada. Una vez identificadas las especies del transecto, así como su respectivo porcentaje de cobertura, los datos fueron registrados en la bitácora de trabajo. Cada uno de los puntos de muestreo analizados fue representado visualmente mediante una bandera, ante la posibilidad de que fuera necesaria una posterior visita al mismo, como se observa en la Figura 14.

3.1.1 Estero de Punta Banda

Perfil del Estero de Punta Banda
Imágenes (Google Earth): 2016
Altura de imagen: 900 m aproximadamente.
Vértices: 16
Distancia entre vértices: 100m

Tabla 1. Resumen de información de la delimitación de la zona de estudio en el Estero Punta Banda, Ensenada, B.C., México.

El primer sitio de muestreo fue el Estero de Punta banda ($31^{\circ}45'11.91''$ N, $116^{\circ}37'42.84''$ W), ubicado a aproximadamente 14 km de la zona urbana de Ensenada, posee una precipitación anual de 256 mm y una temperatura promedio anual de 16.5°C . La flora hace aproximadamente 40 años era mayormente nativa, con algunas especies invasoras (Mulroy et al. 1979). Como se muestra en la Figura 10, un total de 16 vértices fueron definidos como los sitios cuyas coordenadas servirían para el trazo de los transectos respectivos (10 x 1 m), en dirección norte para todos los casos. El sitio de muestreo tiene un área total de aproximadamente 135,565 metros cuadrados.



Figura 10: Mapa satelital del sitio de muestreo en el Estero de Punta Banda, donde cada vértice de la cuadrícula indica las coordenadas del trazo de los transectos para la medición de biodiversidad (16).

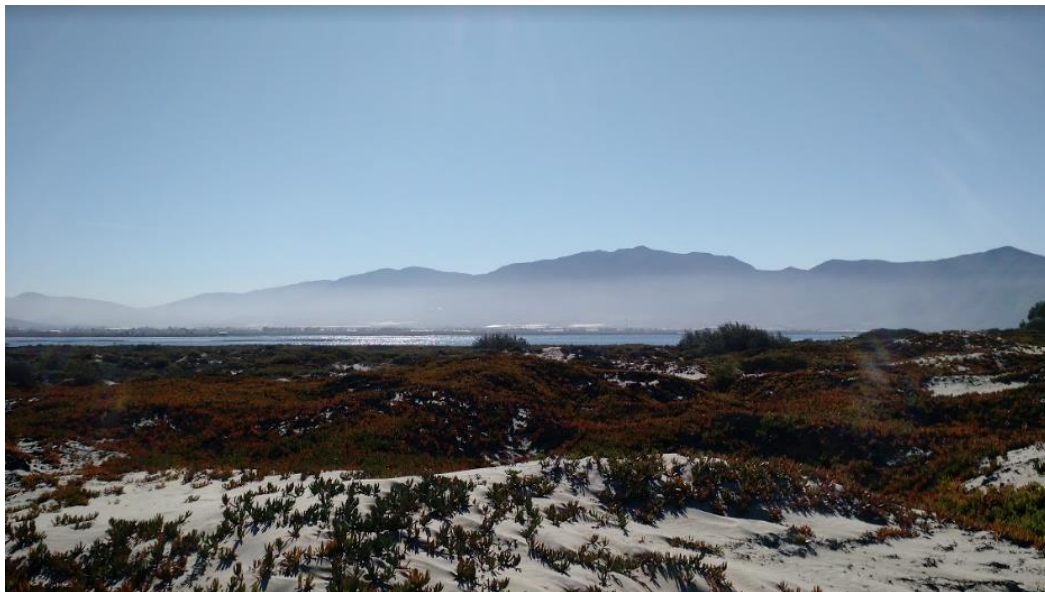


Figura 11: Imagen panorámica del sitio de muestreo en el Estero de Punta Banda.



Figura 12: Imagen representativa de la cobertura de las plantas encontradas en un fragmento del transecto, cuya área es de 1 metro cuadrado, limitada por los postes de color naranja.



Figura 13: Transecto de 10 x 1m para identificación de las especies, trazado en el Estero de Punta Banda, así como su cobertura a lo largo de éste.



Figura 14: Bandera colocada en el punto de muestreo #10.

3.1.2 La Lagunita (El Ciprés)

Perfil de La Lagunita (El Ciprés)
Imágenes (Google Earth): 2016
Altura de imagen: 900 m aproximadamente.
Vértices: 20
Distancia entre vértices: 100m

Tabla 2: Resumen de información de la delimitación de la zona de estudio en La Lagunita El Ciprés, Ensenada, B.C., México.

El segundo sitio de muestreo fue La Lagunita El Ciprés ($31^{\circ}48'57.06''$ N, $116^{\circ}36'18.15''$ W), ubicado a línea de costa, en el sur de la zona urbana de Ensenada, es un humedal de agua salobre. Esta zona de la ciudad de Ensenada posee una precipitación anual de 266.5 mm y, como en el caso del Estero Punta Banda, una temperatura promedio anual de 16.5°C . El sitio de muestreo posee un área total de aproximadamente 280,302 metros cuadrados, con un total de 20 vértices (Figura 15), de los cuales, solamente se tomaron en cuenta 7 de ellos, debido a la inaccesibilidad del resto de los puntos por estar inundados.

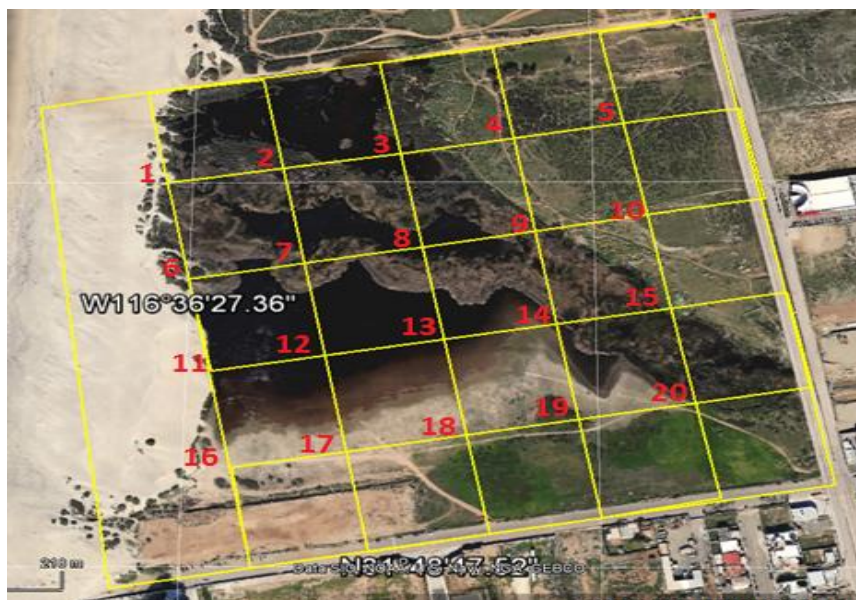


Figura 15: Mapa satelital del sitio de muestreo en La Lagunita (El Ciprés), donde cada vértice de la cuadrícula indica las coordenadas del trazo de los transectos para la medición de biodiversidad (20).



Figura 16: Panorámica del sitio de muestreo de La Lagunita (El Ciprés).

3.1.3 La Misión

Perfil de La Misión
Imágenes (Google Earth): 2016
Altura de imagen: 900 m aproximadamente.
Vértices: 10 en zona norte y 10 en zona sur del arroyo
Distancia entre vértices: 200m

Tabla 3: Resumen de información de la delimitación de la zona de estudio en el arroyo de La Misión, Ensenada, B.C., México.

El tercer sitio de muestreo corresponde al arroyo de La Misión ($32^{\circ}05'40.58''$ N, $116^{\circ}52'37.72''$ W), ubicado de forma perpendicular a la línea de costa. Este arroyo tiene su desembocadura a aproximadamente 37 km al norte de la zona urbana de Ensenada, a orillas de la carretera Ensenada-Tijuana. Este es un humedal que posee una precipitación anual de 266.5 mm y una temperatura promedio

anual de 15.2°C. El sitio de muestreo posee un área total de aproximadamente 199,028 metros cuadrados, correspondiente al arroyo mostrado en las Figuras 17 y 18, a lo largo del cual se situaron 20 vértices, 10 de los cuales corresponden a la zona norte del cauce y los otros 10 a la zona sur. Fueron anotadas las coordenadas de cada uno de estos vértices y, procediendo de la forma descrita respecto a los dos sitios de muestreo anteriores, se realizaron cada uno de los transectos correspondientes.



Figura 17: Mapa satelital del sitio de muestreo en La Misión, donde cada vértice de la ruta indica las coordenadas del trazo de los transectos para la medición de biodiversidad (10, zona norte).



Figura 18: Mapa satelital del sitio de muestreo en La Misión, donde cada vértice de la ruta indica las coordenadas del trazo de los transectos para la medición de biodiversidad (10, zona sur).

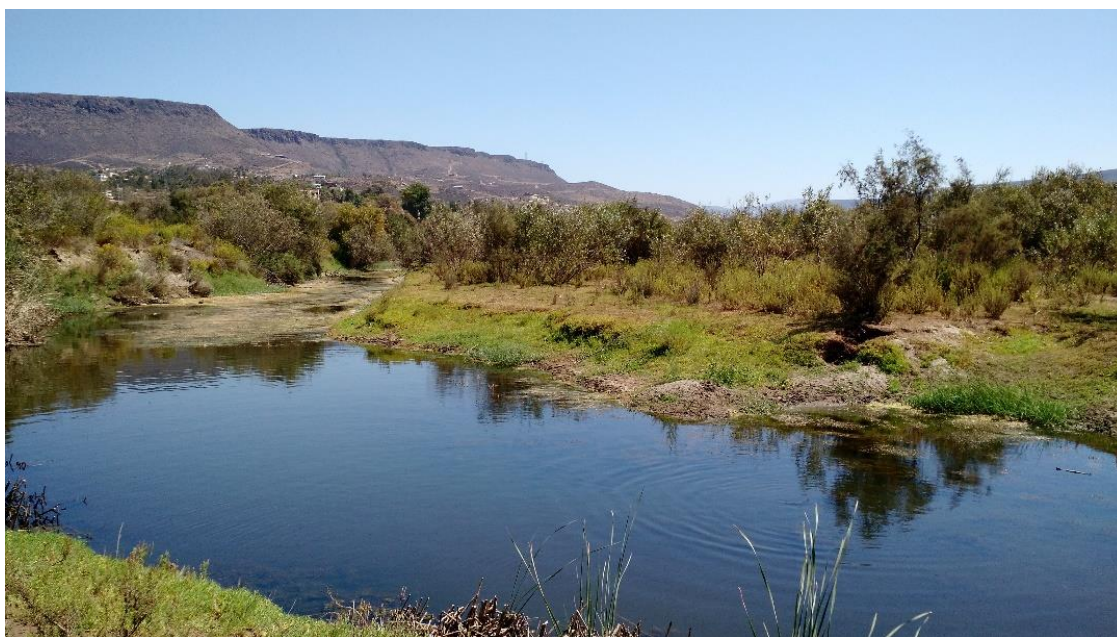


Figura 19: Panorámica del arroyo del humedal de La Misión.

3.2 Experimentos de comparación de la hidrofobicidad foliar

Se cuantificó la hidrofobicidad de las cutículas foliares por medio de una modificación del método de ángulo de contacto estático (Kock Yee et al. 2013). En esta modificación se depositó una gota de 10 μl de agua desionizada, por medio de una pipeta graduada a segmentos cuadrados de hojas. Estas hojas fueron adheridas con cinta adhesiva a una superficie acoplada a un tripode de fotógrafo, que actuó como goniómetro. En esta superficie se cuantificó el ángulo horizontal con un nivel para celular, utilizando la aplicación Clinometer+bubble level para Android. Posteriormente, la superficie acoplada fue cubierta con una cartulina negra, a la cual se le perforó un orificio en un costado para permitir el ingreso de un iluminador (Intralux 5000-1, Volpi Illumination Co. Auburn, NY, USA). En la parte frontal de este dispositivo se adhirió una reglilla de 10 cm con divisiones cada 0.5 mm, tal como se observa en la Figura 20.

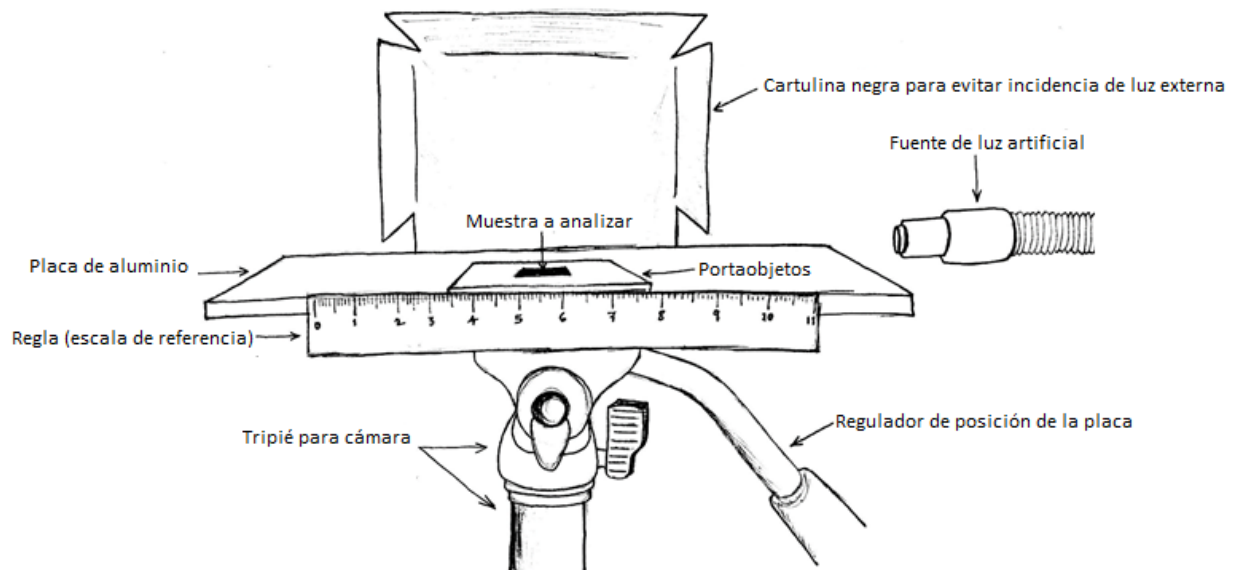


Figura 20: Esquema del aparato utilizado para medir el ángulo de contacto para cada una de las hojas seleccionadas para cada especie.

Para realizar las mediciones correspondientes a cada especie, se seleccionaron tres individuos y a cada uno de éstos se le tomaron dos hojas. Una vez depositada cada gota en cada hoja se tomaron dos fotografías para, finalmente, calcular el promedio de las 6 lecturas obtenidas.

3.3 Procesamiento digital de imágenes

Las imágenes fueron capturadas mediante un teléfono celular Motorola Moto X (2da. Generación), modelo XT-1096 (Figura 21), utilizando un lente macro ajustable (Figura 22), para obtener un mejor detalle visual de las gotas. Para cada especie, se escogieron tres individuos, dos hojas de cada uno de éstos, y se tomaron dos fotografías para cada una de las hojas para seleccionar la que permitiera una mejor lectura del ángulo de contacto.



Figura 21: Teléfono celular (Motorola Moto X XT-1096, segunda generación) utilizado para la captura de imágenes de ángulos de contacto.



Figura 22: Lente macro ajustable utilizado para el enfoque cercano de las gotas en la superficie foliar.

Para visualizar detalladamente el comportamiento de las gotas en las imágenes, éstas fueron sometidas a edición por medio del programa de software libre “Image J”, el cual posee, a diferencia de muchos otros métodos de edición, la herramienta de medición de ángulos, que fue de gran utilidad para aproximar con precisión la medida exacta del ángulo de contacto entre la gota y la superficie foliar, tal y como se observa en la Figura 23.

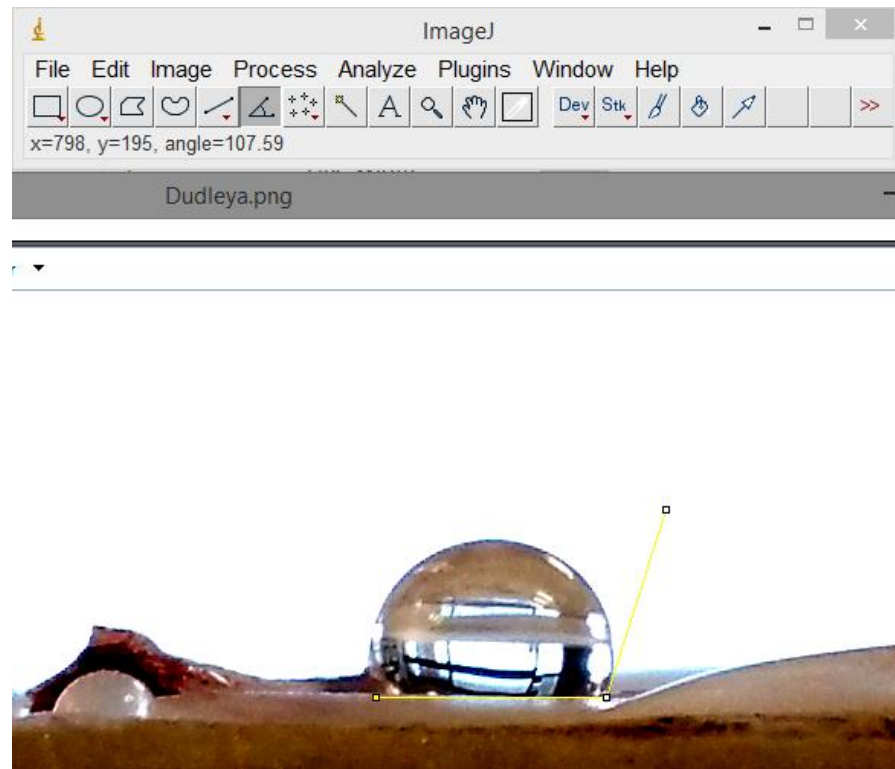


Figura 23: Medición de ángulo de contacto entre la gota de agua y la superficie foliar de la planta *Dudleya brittoni*, cuyo valor corresponde a 107.59°

3.4 Preparación de muestras para visualización por microscopía electrónica de barrido (SEM)

Para la visualización de imágenes de microscopía, se tomaron en cuenta tanto las especies que mostraron comportamiento altamente hidrofóbico como las que se comportaron hidrofílicamente, de manera que hubiera punto de comparación entre ellas, a partir de sus características microestructurales, enfocándonos en rugosidades y estructuras epicuticulares.

Cada una de las especies fue recolectada de su sitio correspondiente y, posteriormente, diseccionada en el laboratorio con ayuda de bisturí y navajas de afeitar de doble filo. El procedimiento de montaje de las muestras, fue por medio de fijación con cinta adhesiva de carbono en una platina circular de aluminio, como se muestra en la Figura 24.

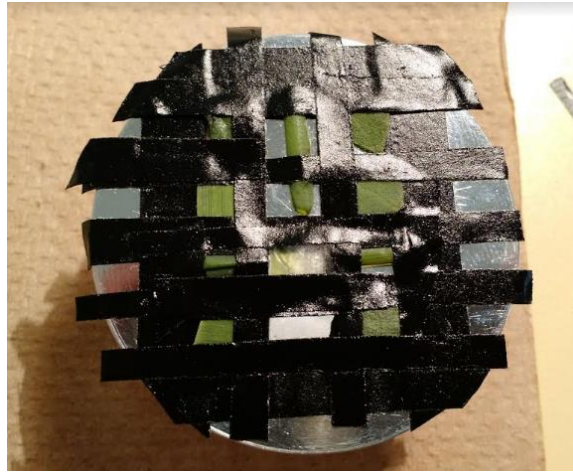


Figura 24: Montaje de los fragmentos de cada una de las especies visualizadas bajo el microscopio, aproximadamente 3 mm² de área para cada una.

Una vez que las muestras estuvieron fijadas en la platina, se procedió a someterlas a un baño de oro, el cual fue necesario para tener una mejor resolución a la hora de procesar las imágenes. El equipo utilizado fue un microscopio electrónico de barrido perteneciente al laboratorio de esparcimiento del departamento de Óptica de CICESE (Hitachi SU3500, Hitachi Ltd. Tokyo, Japón) (Figura 25). Para caracterizar el tipo de cera presente en cada muestra se realizaron dos tomas a una resolución de 30 o 40 μm y otra a aproximadamente 100 μm . Los parámetros de control del SEM corresponden a la cantidad de voltaje y de vacío que se aplican a las muestras, dependiendo de las condiciones en que se encuentra; el voltaje se aplica a través de un filamento de tungsteno, para la emisión de electrones; el vacío puede ser variable o fijo, dependiendo del caso. Cada una de las condiciones de los parámetros se encuentran señalados en las imágenes obtenidas.



Figura 25: Microscopio SEM Hitachi SU3500, utilizado para observar la microestructura foliar de las especies de interés.

3.5 Análisis de datos

Para realizar el estudio de estructura espacial de diversidad se utilizaron análisis de gradientes de Whittaker (1958). Se evaluó la diversidad alfa de cada humedal por medio de la riqueza absoluta de especies y se generaron curvas de acumulación de especies considerando número de transectos por laguna. Una vez realizadas las curvas de acumulación de especies se calcularon tres estimadores asintóticos de la riqueza de especies:

Chao1 es un estadístico que busca calcular el número real de especies mediante la ponderación del número observado de especies entre las especies raras, incluyendo aquellas de las que se encontró un solo individuo (singletons, a) y solamente dos individuos por especie (doubletons, b) (Colwell, 2016), de modo que:

$$\text{Chao1} = S_{\text{obs}} + (a^2/2b).$$

Donde S_{obs} = Riqueza específica observada.

El segundo estimador de la diversidad total calculado fue el Jackknife de primer orden (Jack 1), el cual se basa en la suma del total de especies encontradas más el producto del número de especies que ocurre en cada muestra (L) por una poderación del número total de muestras (Palmer, 1990; Krebs, 1989):

$$\text{Jack 1} = S + L(m-1/m).$$

Donde S= Riqueza específica.

m= número de muestras.

El tercer estimador asintótico calculado para cada humedal fue el Incidence-based Coverage Estimator (ICE). ICE determina la estimación del total de especies a partir de la suma de especies consideradas frecuentes y de especies infrecuentes. La frecuencia de ocurrencia de cada especie se calcula a partir de la ocurrencia de cada especie i en cada muestra L, como:

$$C_{ice} = 1 - \frac{L}{N_{infr}}$$

Donde N_{infr} , el número de especies infrecuentes, se obtiene de la sumatoria de aparición de cada especie por muestra, como $N_{infr} = \sum_j^S L_j$.

Finalmente, la estimación del total de especies por comunidad se obtiene a partir de

$$\text{ICE} = S_{frec} + N_{infr} / C_{ice} + L / C_{ice} \times \bar{v}_{ice}^2$$

Donde \bar{v}_{ice}^2 es un coeficiente de variación de la frecuencia de cada especie en cada muestra (para la fórmula original:

<http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates/EstimateSPages/EstSUsersGuide/EstimateSUsersGuide.htm#AppendixC>).

La diversidad beta se calculó por medio del índice de disimilitud de Bray-Curtis, que cuantifica las diferencias en composición de las comunidades por medio de la sumatoria de las diferencias entre las abundancias relativas de cada una de las especies presentes en cada comunidad (Brower y Zar, 1984):

$$I_{BC} = 1 - \frac{\sum(x_i - y_i)}{\sum(x_i + y_i)}$$

Donde x_i = abundancia o densidad de especies i en un conjunto X .

y_i = abundancia o densidad de especies i en un conjunto Y .

Estos estadísticos se compararon entre los tres sistemas lagunares y fueron calculados en el programa EstimateS (Colwell 2016, <http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates/>).

3.5.1 Comparación de ángulos de contacto estático entre humedales

3.5.1.1 Histogramas de frecuencia

Para determinar si la distribución de los ángulos de contacto entre especies se podrían ajustar a una curva normal, se generaron histograma de frecuencias utilizando la regla de Rice, la cuál separa los valores de ángulo de contacto en categorías o grupos como:

$$k = 2(n^{1/3})$$

Donde k = Intervalo de valores que posee cada categoría o grupo

n = Número de muestras.

Se comparó entre comunidades y localidades al interior de cada comunidad. Los ambientes en los que se dividieron cada uno de lo sitios de muestreo fueron definidos en términos del gradiente de inundación que poseían, es decir, acuático (plantas permanentemente sumergidas), inundado (suelo inundado), semi-inundado (en la transición entre suelo inundado y no inundado) y no inundado (fuera del nivel de inundación), abreviados AC, I, SI, NI, respectivamente.

3.5.1.2 Medias ponderadas por comunidad y rangos funcionales de los ángulos de contacto por humedal

Para determinar el valor de ángulo de contacto para todas las especies presentes en cada humedal se utilizó una modificación de la fórmula para estimar medias ponderadas por comunidad original de Garnier et al. (2004):

$$CWM = \sum_{i=1}^S w_i \times x_i$$

Donde S es el total de las especies por humedal, w_i es la abundancia relativa de la especie i, y x_i es el valor de ángulo de contacto para la especie i.

Posteriormente, se calculó la amplitud funcional del ángulo de contacto por cada humedal como la diferencia entre el valor máximo y mínimo de ángulo de contacto para todos los individuos de todas las especies presentes en cada humedal (Mouchet et al. 2010). Para poder presentar y comparar los tres humedales, se incluyó esta información en gráficas de puntos con barras de error, donde el punto representa el CWM y las barras de error representan el rango funcional.

Capítulo 4. Resultados

4.1 Diversidad de las tres lagunas

Para este estudio se cuantificaron las abundancias relativas y ángulos de contacto en 52 especies de tres lagunas costeras de Baja California, México. En el caso de La Lagunita El Ciprés, no se pudo muestrear el sitio en su totalidad, debido a las condiciones de inundación que presentaban la mayoría de los puntos trazados. Sin embargo, con base en las estimaciones totales de diversidad Alfa de los tres sitios, obtenidas de acuerdo al ajuste asintótico de cada curva de acumulación de especies, se observó que los muestreos estuvieron completos, excepto para La Lagunita-El Ciprés.

4.1.1 Curvas de acumulación de especies

4.1.1.1 Estero de Punta Banda

Se encontraron 28 especies en distintas zonas de inundación en Punta Banda. La medición de los ángulos de contacto indicó que la especie más hidrofóbica en este sitio fue *Nemacaulis denudata* (Polygonaceae, Nutt.), con un ángulo de contacto promedio de 127°, mientras que la más hidrofílica fue la especie *Batis maritima* (Bataceae, L.), con un ángulo de contacto promedio de 60°. La curva de acumulación de especies correspondiente a este sitio indica un esfuerzo de muestreo suficiente en cuanto a la diversidad Alfa, tomando como referencia los valores de los estimadores sugeridos por el programa EstimateS (Figura 26). El valor de la media ponderada por comunidad para este sitio fue de 93°, mientras que la amplitud funcional fue de un máximo de 127° y un mínimo de 60°.

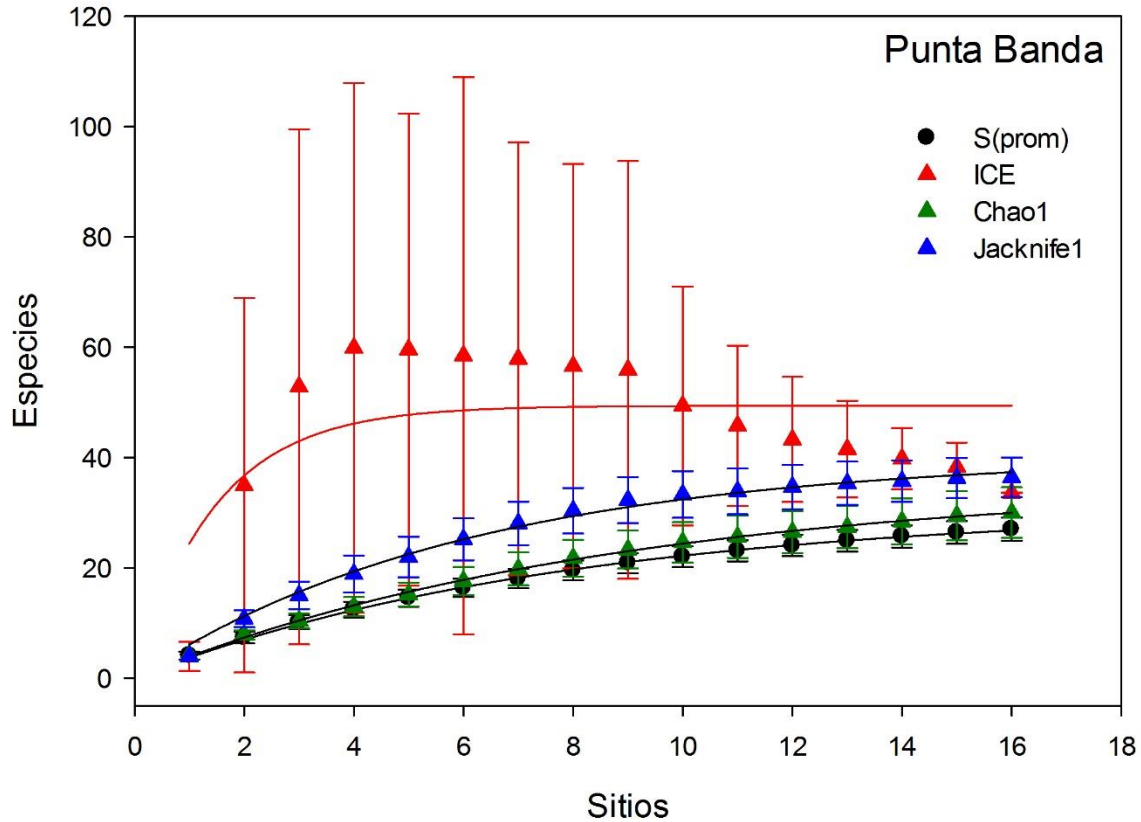


Figura 26: Curva de acumulación de especies para el humedal de Punta Banda, Baja California, México. El muestreo se realizó el 25 de noviembre de 2016. La curva de acumulación de la riqueza de especies encontradas se compara con tres estimadores de riqueza total de especies. ICE es el Incidence-Based Coverage Estimator, Jackknife 1 es un modelo de ajuste no paramétrico basado en Jackknife de primer orden y Chao1 es el modelo de ajuste asintótico de Chao (Coldwell y Coddington 1992). La riqueza encontrada se ajustó a un modelo asintótico $S = a \times (1 - e^{-b \times \text{No. de sitios}})$, donde a y b son parámetros de la regresión.

4.1.1.2 La Lagunita (El Ciprés)

Se encontraron 10 especies en distintas zonas de inundación del sitio de muestreo. La especie más hidrofóbica fue *Salsola tragus* (Chenopodiaceae, L.), con un ángulo de contacto promedio de 119°, y la más hidrofílica fue una especie no identificada de *Junco* (Juncaceae), con un ángulo de contacto promedio de 44°, siendo esta última especie la más hidrofílica de los tres sitios. La curva de acumulación de especies correspondiente al sitio indica un esfuerzo de muestreo insuficiente en cuanto a la diversidad Alfa, a consecuencia de la gran cantidad de puntos de muestreo que se encontraban inaccesibles por inundación (Figura 27). El valor de la media ponderada por comunidad para este sitio, tomando en cuenta los valores

de ángulo de contacto y la abundancia relativa de cada especie, fue de 77° y su amplitud funcional fue de 120° de valor máximo y 49° de valor mínimo.

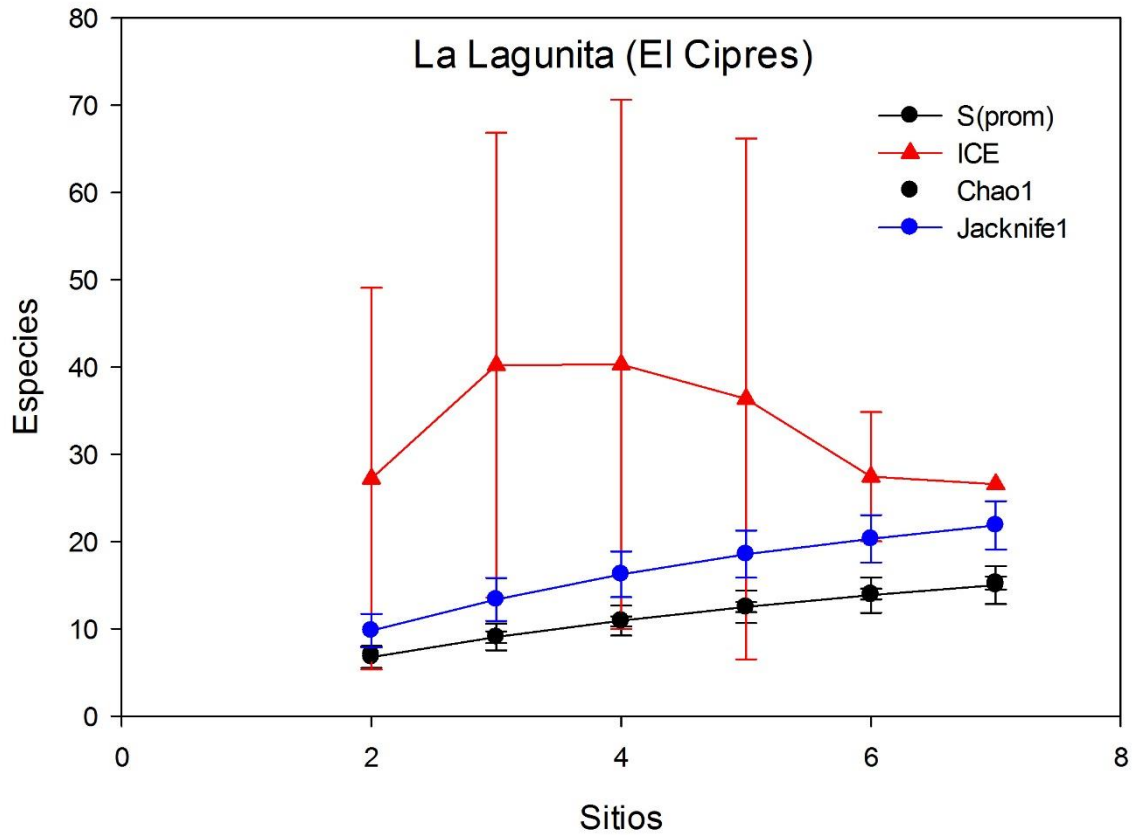


Figura 27: Curva de acumulación de especies para el humedal de La Lagunita El Ciprés, Baja California, México. El muestreo se realizó el 9 de febrero de 2017. La curva de acumulación de la riqueza de especies encontradas se compara con tres estimadores de riqueza total de especies. ICE es el Incidence-Based Coverage Estimator, Jackknife 1 es un modelo de ajuste no paramétrico basado en Jackknife de primer orden y Chao1 es el modelo de ajuste asintótico de Chao (Coldwell y Coddington 1992). La riqueza encontrada se ajustó a un modelo asintótico $S = a \times (1 - e^{-b \times \text{No. de sitios}})$, donde a y b son parámetros de la regresión.

4.1.1.3 La Misión

En este humedal se encontraron 14 especies. La especie más hidrofóbica fue *Anemopsis californica* (Saururaceae, (Nutt.) Hook. Arn.), con un ángulo de contacto promedio de 139°, siendo la especie más hidrofóbica de los tres sitios, mientras que la especie más hidrofílica fue *Sonchus asper* (Asteraceae, L. Hill.), con un ángulo de contacto promedio de 54°. La curva de acumulación de especies correspondiente al sitio, debido a que se logró ajustar a una curva asintótica, indica un esfuerzo de muestreo suficiente en cuanto a la diversidad Alfa (Figura 28). El valor de la media ponderada por comunidad para este sitio fue de 100° y su amplitud funcional resultó entre un máximo de 139° y un mínimo de 54° .

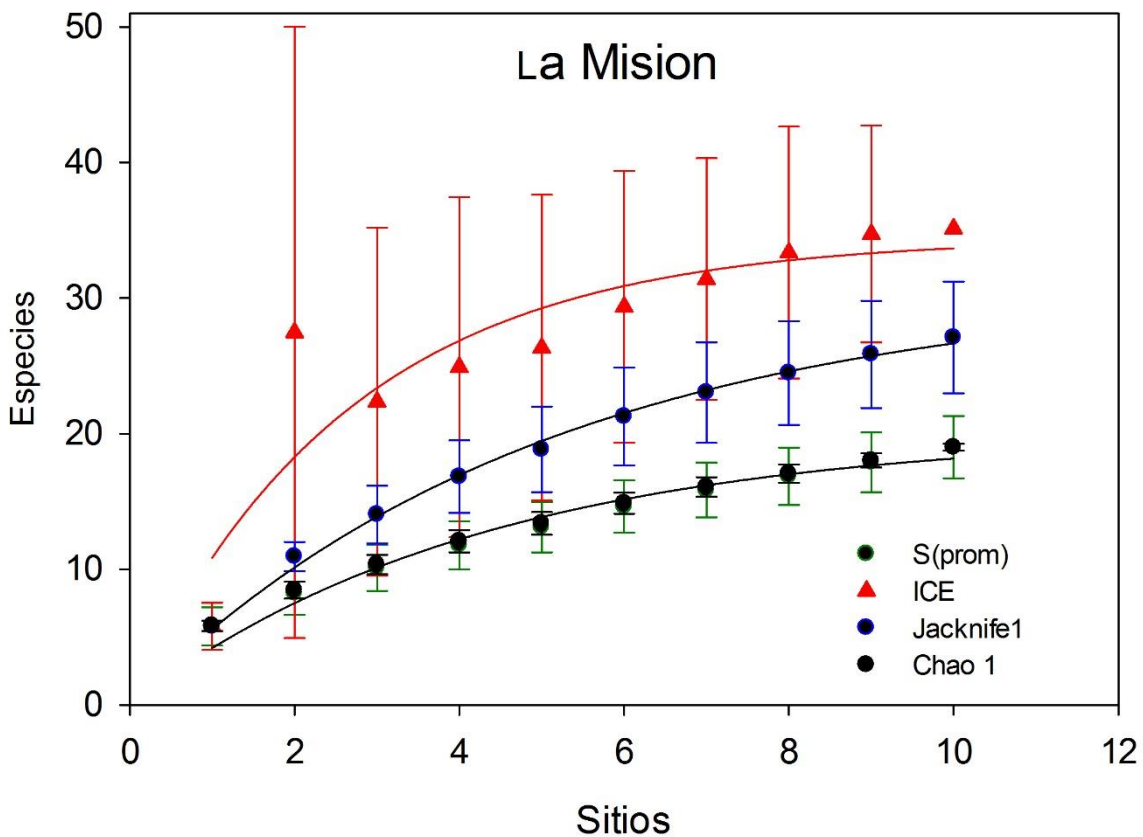


Figura 28: Curva de acumulación de especies para el humedal de La Misión, Baja California, México. El muestreo se realizó el 24 de marzo de 2017. La curva de acumulación de la riqueza de especies encontradas se compara con tres estimadores de riqueza total de especies. ICE es el Incidence-Based Coverage Estimator, Jackknife 1 es un modelo de ajuste no paramétrico basado en Jackknife de primer orden y Chao1 es el modelo de ajuste asintótico de Chao (Coldwell y Coddington 1992). La riqueza encontrada se ajustó a un modelo asintótico $S = a \times (1 - e^{-b \times \text{No. de sitios}})$, donde a y b son parámetros de la regresión.

4.2 Comparación de la diversidad entre sitios

Una vez obtenidos los datos de biodiversidad, así como las condiciones y esfuerzo de muestreo para cada uno de los humedales, se obtuvo la estadística comparativa entre sistemas, conocida como diversidad beta (β). Por sugerencia del programa EstimateS, se tomó en consideración el índice de disimilitud de Bray-Curtis, el cual indica las diferencias en la composición de especies entre todos los sitios. Cuando el valor del índice es cercano a cero, implica que las comunidades son iguales en su composición, mientras que un valor = 1 indica composiciones totalmente diferentes. En la Tabla 4 se observa el grado de disimilitud entre los tres humedales, tomando como referencia el índice Bray-Curtis y el número total y proporción de especies compartidas.

	Punta Banda	La Lagunita	La Misión
Punta Banda	---	0.1	0.28
La Lagunita	2 (2/10 LC, 2/28 PB)	---	0.063
La Misión	7 (7/14 LM, 7/28 PB)	1 (1/14 LM, 1/10 LC)	---

Tabla 4: Valores de disimilitud obtenidos del índice de Bray-Curtis (parte superior del cuadro), y cantidad de especies compartidas (parte inferior del cuadro) en tres humedales costeros de Baja California, México. Los valores de Bray-Curtis van de 0 a 1, donde 0 implica composiciones iguales y 1 composiciones totalmente diferentes.

4.2.1 Ángulo de contacto e hidrofobicidad foliar

Para comparar los resultados de valores de hidrofobicidad foliar tanto entre los sitios como entre los diversos ambientes de inundación, primero se realizaron histogramas de frecuencia de los valores de ángulo de contacto. Los histogramas fueron obtenidos con la regla de Rice. El histograma que incluye al total de las especies de los tres humedales visualmente no presenta normalidad sino bimodalidad (Figura 29). Se encontraron diferencias significativas en el ángulo de contacto entre humedales (ANOVA Bayesiana, $F= 24.43$, $BF > 10^7$, Figura 30), así como entre zonas de inundación (ANOVA Bayesiana, $F= 24.43$, $BF > 10^7$, Figura 31). No se realizaron comparaciones estadísticas de las CWM y amplitudes funcionales, dado que estas representan un solo valor por humedal.

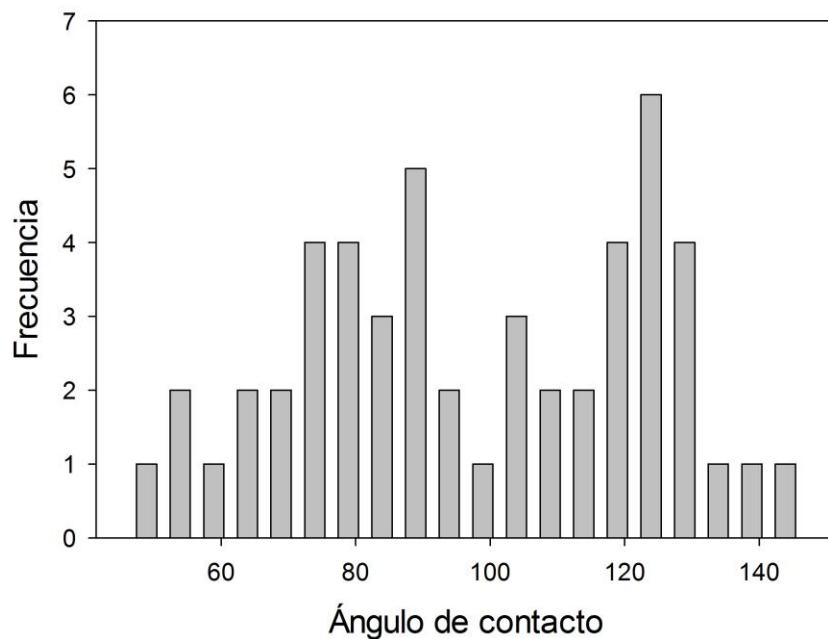


Figura 29: Histograma de frecuencias entre los tres sitios de muestreo, tomando en cuenta la variable de ángulo de contacto contra la frecuencia de especies por intervalo.

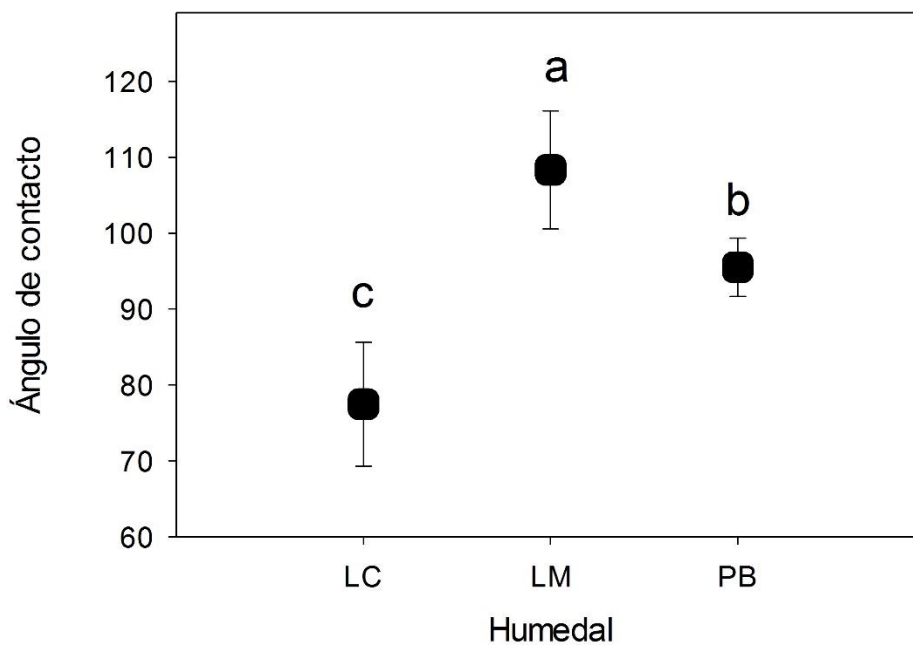


Figura 30: Variación en el ángulo de contacto estático en tres humedales costeros de Baja California, México. Estero de Punta Banda (EPB), La Lagunita El Ciprés (LC) y La Misión (LM). $F = 24.43$, $BF > 10^7$. Los puntos corresponden al valor de la media del ángulo de contacto y los bigotes corresponden a la desviación estándar de los valores.

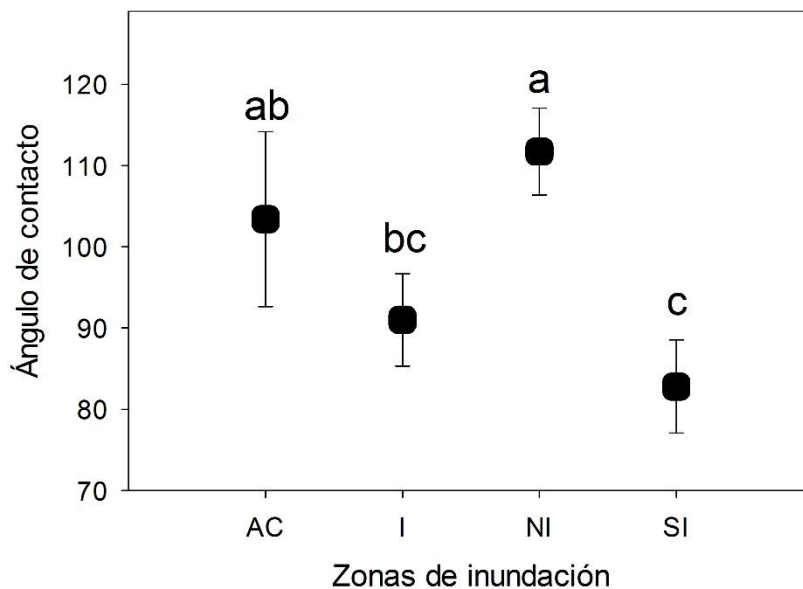


Figura 31: Variación en el ángulo de contacto estático de especies provenientes de tres humedales costeros de Baja California, México entre zonas de inundación. Acuáticas (AC), Inundadas (I), No inundadas (NI), semiinundadas (SI). $F = 24.43$, $BF > 10^7$. Los puntos corresponden al valor de la media del ángulo de contacto y los bigotes corresponden a la desviación estándar de los valores.

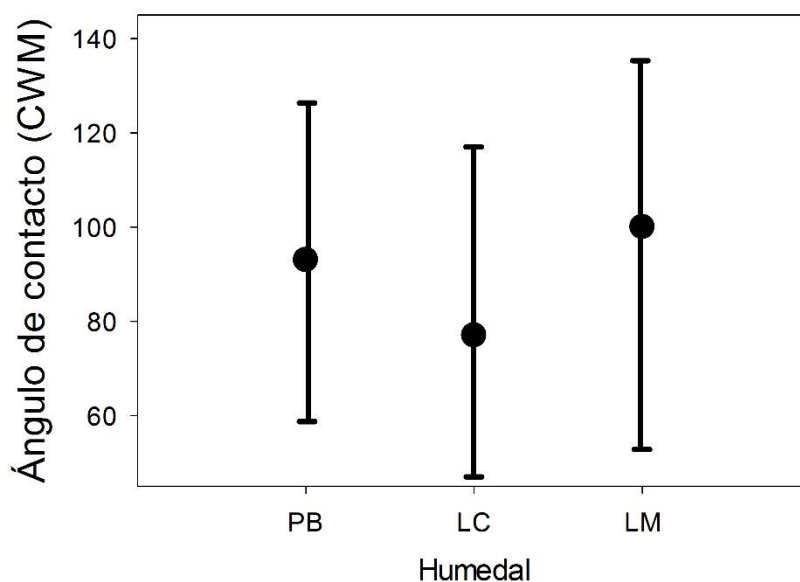


Figura 32: Variación en el ángulo de contacto estático promedio, por humedal, tomando en cuenta la media ponderada del ángulo de contacto estático de las hojas por comunidad (CWM, *community weighted mean*). Los puntos corresponden al CWM del ángulo de contacto y las barras de error corresponden a la amplitud funcional, que es el valor máximo y el mínimo encontrados por todos los individuos de cada laguna.

Como se puede apreciar en la gráfica anterior, los valores de promedio ponderado por humedal no indican una especial hidrofobicidad, sin embargo, en comparación con el estudio de Goldsmith et al., 2016, donde se muestra un promedio ponderado de $74^\circ \pm 21$, el cuál se enfoca en diversos hábitats distintos a humedales, es claro que está por debajo de los valores obtenidos en este estudio.

Los histogramas de frecuencia para cada humedal nos muestran que no hay una mayor frecuencia de especies con valores altos de ángulo de contacto, sino que hay distribuciones cercanas a la normalidad o bimodalidad en los valores de ángulo de contacto, por lo cual se rechaza la hipótesis de una alta prevalencia de especies altamente hidrofóbicas en humedales. Por ejemplo, para PB se presenta un histograma que visualmente no presenta normalidad sino bimodalidad (Figura 33), mientras que para LC, al igual que para LM, no hay modalidad aparente (Figuras 34 y 35).

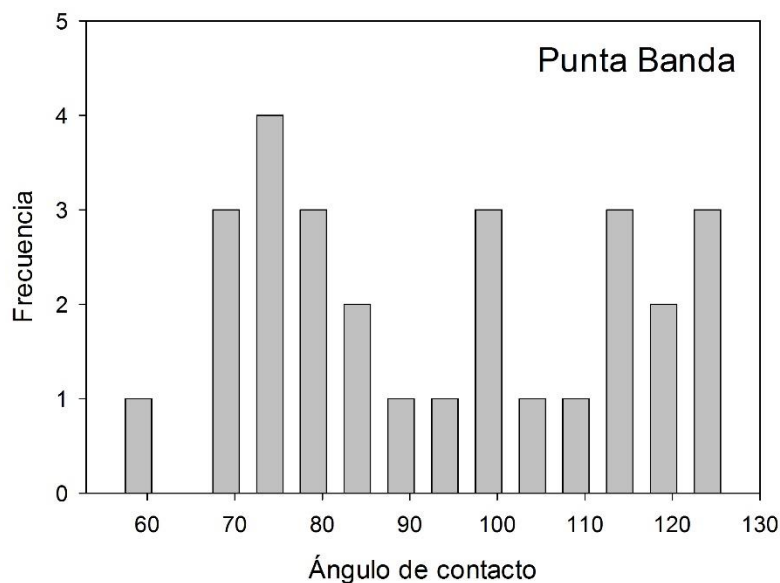


Figura 33: Histograma de frecuencias entre las especies del Estero de Punta Banda, tomando en cuenta la variable de ángulo de contacto contra la frecuencia de especies por intervalo.

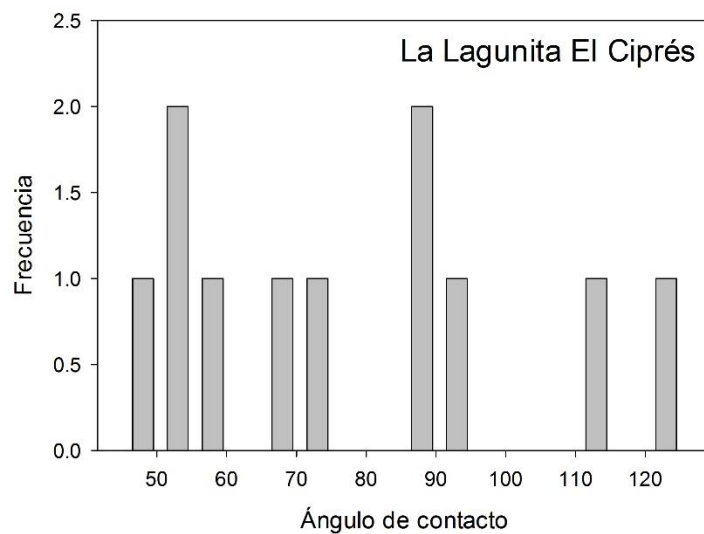


Figura 34: Histograma de frecuencias entre las especies de La Lagunita El Ciprés, tomando en cuenta la variable de ángulo de contacto contra la frecuencia de especies por intervalo.

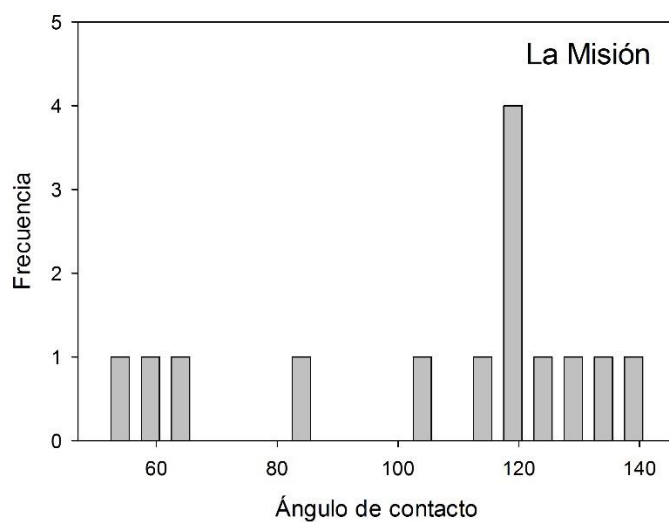


Figura 35: Histograma de frecuencias entre las especies de La Misión, tomando en cuenta la variable de ángulo de contacto contra la densidad de individuos por intervalo.

4.3 Caracterización de la microestructura foliar por imágenes de SEM

Para la sección de análisis por microscopía electrónica de barrido, se realizó previamente una selección de muestras que hubieran presentado valores extremos de ángulo de contacto, incluyendo tanto como para hidrofobicidad como para hidrofiliidad, así como también para especies de comportamiento neutro, de tal manera que hubiera margen de comparación para diferenciar los diversos tipos de estructuras cuticulares en la toma de imágenes de SEM.

Luego de la preparación y visualización de las muestras, se realizó una comparación con la clasificación de Barthlott et al., 1998 para caracterizar los resultados y asociarlos con su capacidad de repelencia (Figuras 36 y 37).

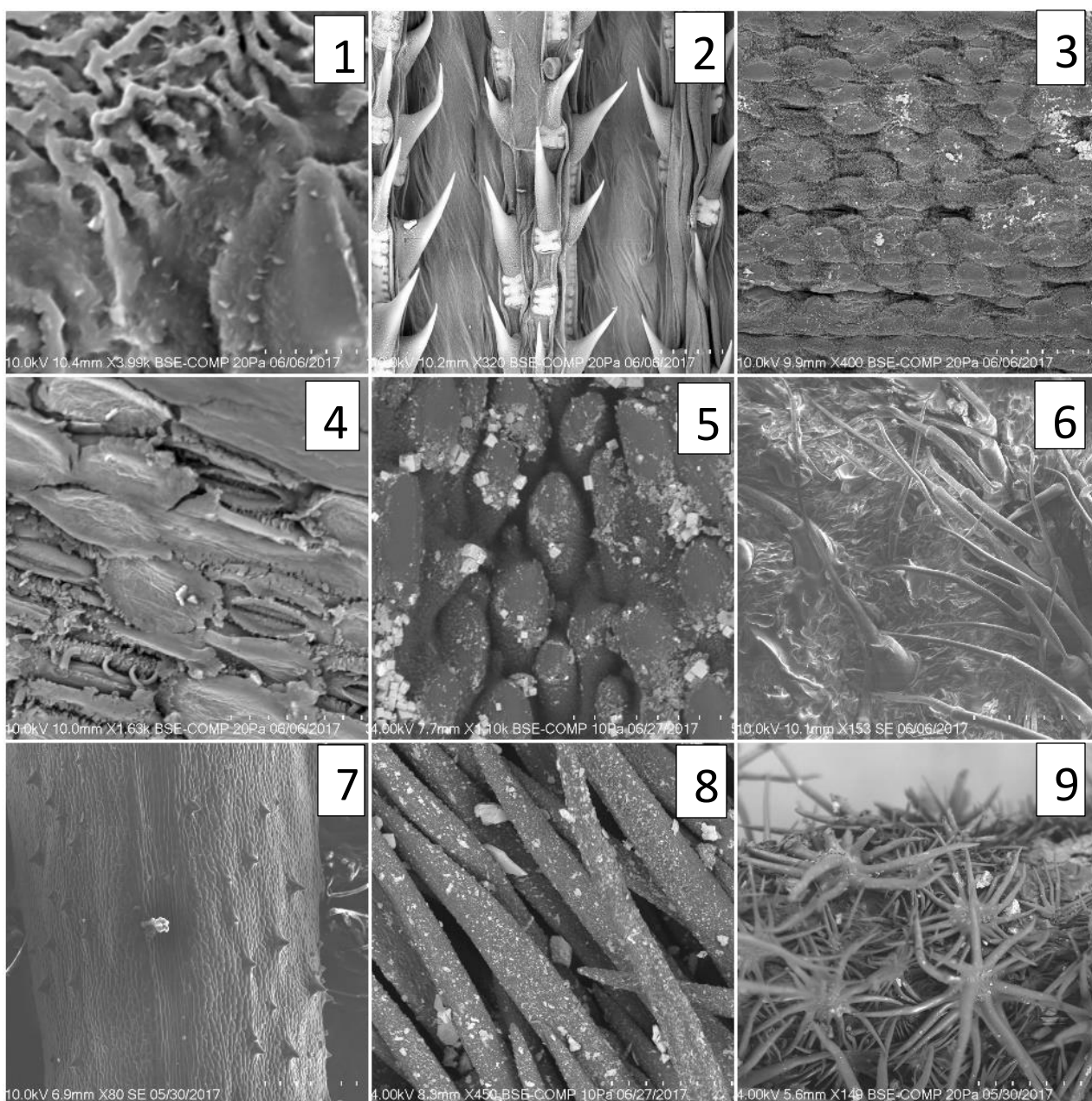


Figura 36: Imágenes de las especies más hidrofóbicas, ordenadas de mayor (1) a menor (9) ángulo de contacto. (1) *Anemopsis californica*, (2) *Polypogon montspeliensis*, (3) *Scirpus sculentus*, (4) *Typha domingensis*, (5) *Distichlis spicata*, (6) *Ambrosia psilostachya*, (7) *Salsola tragus*, (8) *Camisoniopsis cheirantipholia*, (9) *Malva parviflora*.

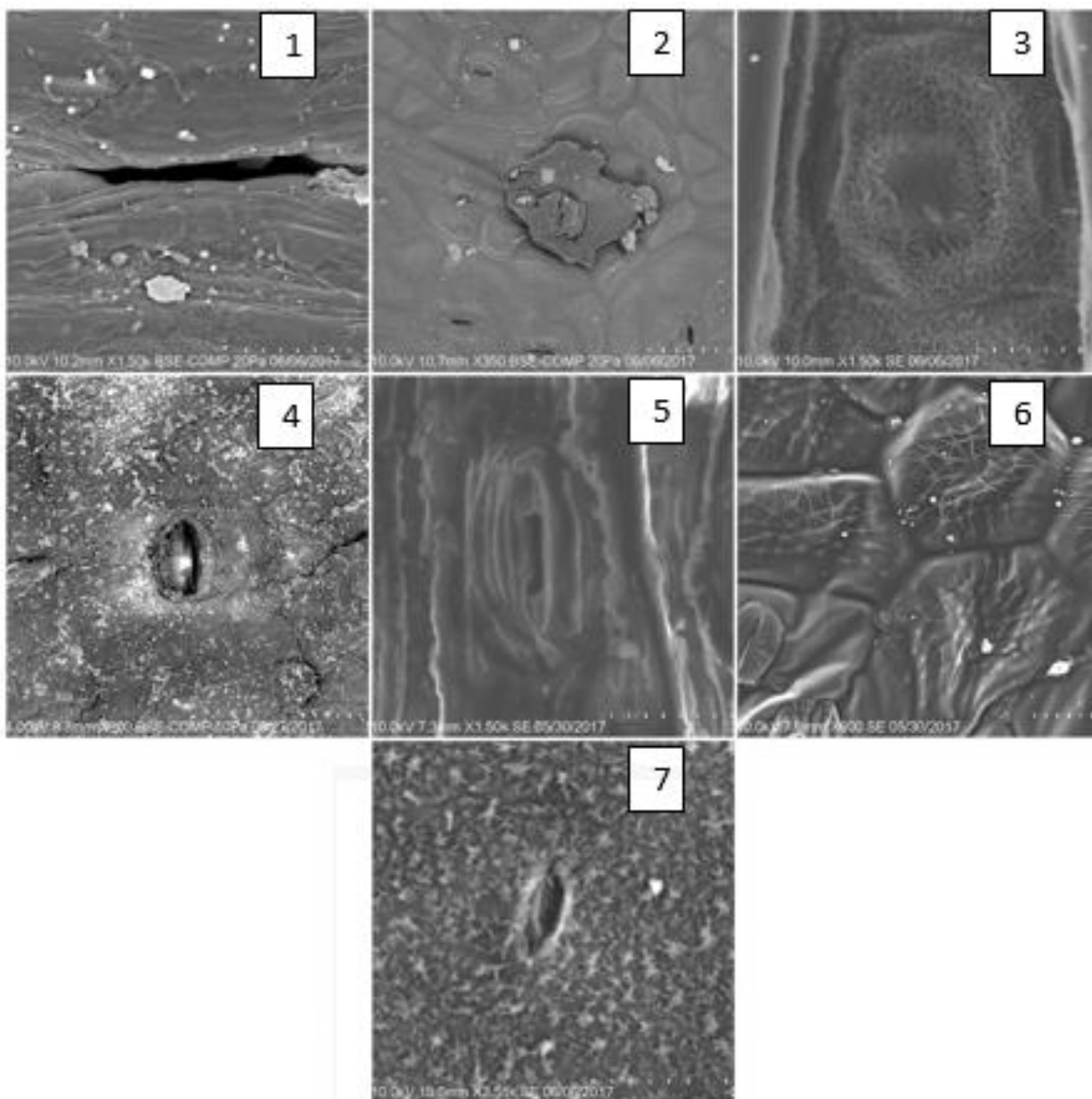


Figura 37: Imágenes de las especies más hidrofílicas, ordenadas de mayor (1) a menor (7) ángulo de contacto. (1) *Juncus acutus*, (2) *Isocoma menziessi*, (3) *Salicornia bigelovii*, (4) *Dudleya sp.*, (5) *Scoenoplectus californicus*, (6) *Rumex fueginus*, (7) *Sonchus asper*.

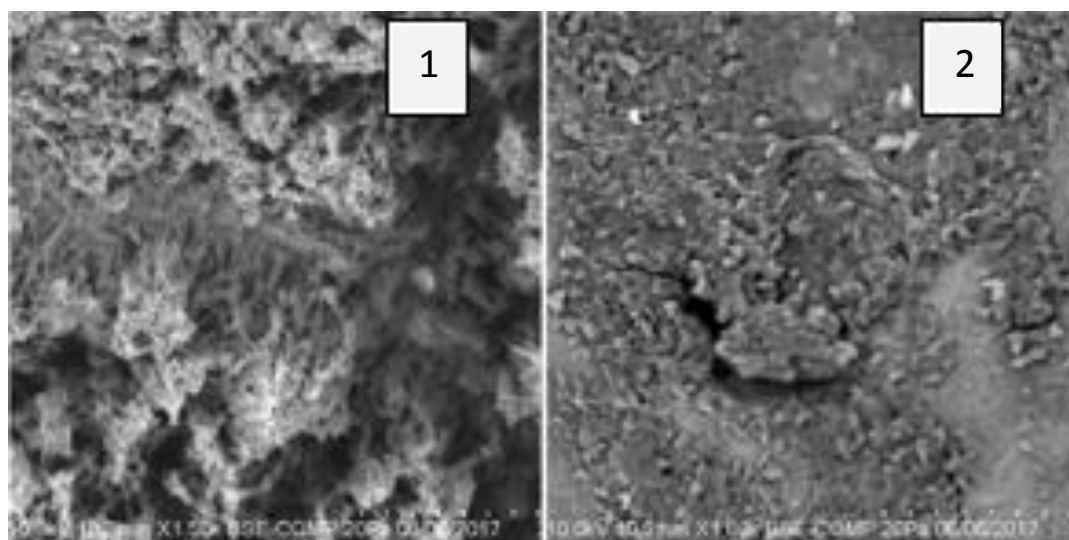


Figura 38: (1) Imágenes contrastantes de las dos variantes de la especie *Dudleya brittoni*. (1) *Dudleya brittoni* (Morfo blanco), (2) *Dudleya brittoni* (Morfo verde/glabro).

4.3.1 Características cuticulares de especies hidrofóbicas

Las especies que mostraron un comportamiento hidrofóbico para una gota de 10 μ l, en una superficie de 2 x 2 cm presentaron diversas estructuras en su microestructura foliar (Tabla 5):

Especie	AC	Tipo de estructura
<i>A. californica</i>	139°	Placas membranosas
<i>P. monspeliensis</i>	138°	Tricomas
<i>S. sculentus</i>	132°	Placas
<i>T. domingensis</i>	123°	Placas
<i>D. spicata</i>	120°	Rodeles
<i>A. psilostachya</i>	120°	Tricomas
<i>S. tragus</i>	119°	Corteza
<i>C. chirantipholia</i>	119°	Tricomas
<i>M. parviflora</i>	111°	Tricomas

Tabla 5: Relación entre tipos de estructuras cuticulares y el ángulo de contacto de las especies hidrofóbicas.

4.3.2 Características cuticulares de especies hidrofílicas

Las especies que mostraron un comportamiento hidrofílico presentaron los siguientes tipos de microestructura foliar (Tabla 6):

Espece	AC	Tipo de estructura
<i>S. bigelovii</i>	72°	Capas fisuradas
<i>Dudleya sp</i>	71°	Gránulos (Glabra)
<i>S. californicus</i>	69°	Capas fisuradas
<i>R. fueguinus</i>	64°	Placas membranosas
<i>S. asper</i>	54°	Gránulos (Glabra)

Tabla 6: Relación entre tipos de estructuras cuticulares y el ángulo de contacto de las especies hidrofílicas.

4.3.3 Características cuticulares de especies neutras

Las dos especies que mostraron un comportamiento neutro en cuanto a repelencia, presentaron solamente un tipo de microestructura foliar, como se muestra en la Tabla 7:

Espece	AC	Tipo de estructura
<i>J. acutus</i>	86°	Placas membranosas
<i>I. menziessi</i>	80°	Placas membranosas

Tabla 7: Relación entre tipos de estructuras cuticulares y el ángulo de contacto de las especies con comportamiento neutro.

4.3.4 Características cuticulares de especies de la familia Juncaceae

Las especies de la familia Juncaceae fueron separadas del resto de las especies, dado que son dominantes en las áreas de inundación de cada humedal, aun cuando presentan mucha variación en el ángulo de contacto estático foliar. Las especies que tienen este comportamiento se agrupan en la Tabla 8, con su respectivo tipo de microestructura foliar.

Especie	AC	Tipo de estructura
<i>S. sculentus</i>	132°	Placas
<i>T. domingensis</i>	123°	Placas
<i>J. acutus</i>	86°	Placas membranosas
<i>S. californicus</i>	69°	Capas fisuradas

Tabla 8: Relación entre tipos de estructuras cuticulares y el ángulo de contacto de las especies de tipo juncal.

Capítulo 5. Discusión

En este estudio exploré la variación de la hidrofobicidad foliar de las plantas encontradas en tres humedales costeros y en condiciones distintas de inundación (acuáticas, inundadas, semi-inundadas y no inundadas). Sin embargo, contrario a lo que se esperaba, las especies de humedales no presentaron una alta hidrofobicidad foliar, sino que hay una alta variación en repelencia al agua en hojas. Ésta difirió entre según las condiciones de inundación, con dominancia de especies hidrofóbicas en condiciones no inundadas, y especies hidrofílicas en la semiinundadas (Figura 28). Las especies “neutrales” fueron consideradas como aquellas cuyo ángulo de contacto estuviera entre 90 y 100° aproximadamente, y fueron notablemente escasas, con <10% de la flora total.

5.1 Relación entre diversidad biológica, factores abióticos y repelencia al agua en tres humedales costeros de Baja California, México

En general, no fue posible ajustar los ángulos de contacto de las 52 especies de los tres sitios en una curva de distribución normal, sin embargo tampoco hubo una prevalencia desproporcionada de especies en los extremos de distribución de los valores de AC. Esto indica que las especies encontradas en los humedales costeros de Baja California no son excepcionalmente hidrofóbicas, sino que hay una gran variedad de comportamiento de las especies respecto a su repelencia al agua, tendiendo en conjunto a un comportamiento neutral.

Encontramos que existen diferencias significativas en AC entre humedales. Exploramos la variación de hidrofobicidad en tres diferentes ambientes y en cuatro condiciones de inundación distintas. Sin embargo, contrario a lo que esperábamos, las especies de ambientes no inundados tuvieron una mayor hidrofobicidad que las de ambientes acuáticos o semiacuáticos. Esto puede deberse a que la presión selectiva para evitar la transpiración en sitios áridos promueva con mayor intensidad la aparición de estructuras que en sitios inundados, lo cual implicaría que las zonas áridas deberían de tener una cantidad proporcionalmente mayor de especies hidrofóbicas, aunque hasta ahora no se cuenta con dicha información.

Se encontró que La Misión fue el sitio que tuvo la mayor abundancia relativa de especies hidrofóbicas. Este valor puede deberse a la influencia en la composición de especies como *Anemopsis*

californica, *Ambrosia psilostachya* y *Polypogon montspelliensis*, que eran especies que aunque no fueron las dominantes en el sitio, presentaron valores muy altos de hidrofobicidad. En contraste, el humedal con una comunidad más hidrofílica fue La Lagunita El Ciprés, donde el valor bajo de AC a nivel comunidad se puede deber a que la mayor parte de la cobertura se debía a pastos exóticos neutros, y en menor medida a la presencia de *Juncus*, que en general fueron hidrofílicos. Se pudo observar que solamente algunas especies tienen valores extremos tanto de hidrofobicidad como de hidrofiliidad. Esto sugiere que en las especies de humedales costeros de Baja California no hay una presión selectiva que promueva la aparición de comportamientos superhidrofóbicos en las cutículas foliares.

Un ejemplo de esto puede ser la periodicidad de la inundación. Dado que las plantas sufren diversas adaptaciones cuando la cantidad de agua a la que están expuestas es mayor que la habitual, se esperaba que ocurrieran cambios en la microestructura foliar que les proporcionarían la capacidad de repeler el agua y por tanto una alta hidrofobicidad. En este caso, el comportamiento de las plantas, aún tratándose de humedales costeros, no fue especialmente hidrofóbico, y, en algunos casos, se encontró que las especies más hidrofóbicas solían ser las que se encontraron más alejadas del cuerpo de agua. Otros estudios han encontrado que la producción de estructuras puede asociarse a una menor absorción de luz, que podría ser una ventaja en ambientes de alta radiación solar como los desiertos (Ehleringer et al. 1976). En este caso se podría suponer que el exceso de radiación solar sea una presión más fuerte para generar alta hidrofobicidad, pero como un subproducto de la producción de estructuras para disminuir la absorción lumínica. Adicionalmente, las estructuras podrían ayudar a eliminar sales y polvo, tal como ocurre en especies con propiedades de autolimpieza como *N. nucifera*.

En comparación con el estudio de Goldsmith et al., 2016, el valor de promedio ponderado para todos los hábitats de donde se tomaron muestras para su análisis, es claramente hidrofílico ($74^{\circ} \pm 21$), en comparación con el promedio ponderado por los tres humedales ($88^{\circ} \pm 14$), que es un valor más sesgado hacia las especies de carácter neutro.

Esto sugiere que, aún sin ser especies hidrofóbicas, los humedales costeros manejan una diversidad de especies con valores mayores de ángulo de contacto, en comparación con las encontradas en hábitats tales como bosque tropical, estepa, bosque de niebla, entre otros.

5.1.1 Diversidad Biológica

La diversidad y composición de especies entre los tres sitios resultó muy variable, lo que sugiere que en la composición específica de cada humedal se reflejan tanto factores bióticos, abióticos e inclusive antropogénicos. Las condiciones hidrológicas son un factor diferencial entre los sitios, ya que, dependiendo del intercambio de aguas con el océano, los cuerpos de agua poseerán mayor o menor grado de salinidad. Respecto a este factor, el estero de Punta Banda, siendo el más diverso en cuanto a especies, es también el sitio que posee mayor intercambio de agua con el océano, siguiéndolo el sitio de La Misión, donde el intercambio de agua no es tan evidente como en Punta Banda; finalmente el sitio de La Lagunita El Ciprés, que es el sitio que se encuentra más aislado del océano, presentó una menor diversidad.

Aún habiendo diferencias entre las condiciones hidrológicas de cada sitio, tampoco existe una influencia directa entre la salinidad del agua y la diversidad biológica, siendo que el estero de Punta Banda y La Misión, a pesar de ser los dos sitios con mayor influencia del agua marina, resultaron ser los más diferentes en cuanto a composición específica, mientras que La Lagunita El Ciprés, cuyos cuerpos de agua son de mayor influencia de agua dulce, tuvo mucha similitud en la composición de la comunidad vegetal con el humedal de La Misión, que tiene un mayor recambio de aguas con el océano.

El impacto humano ha modificado de manera radical las estructuras de la comunidad vegetal de muchos de estos sitios, ya que especies que se habían encontrado previamente en alta abundancia han sido reemplazadas por vegetación exótica o han sido eliminadas en un período de menos de 40 años (Mulroy 1979, M. Salazar sin publicar). La causa de que La Lagunita El Ciprés y La Misión sean tan similares, puede ser que ambos sitios se encuentran bajo mucho impacto antropogénico, lo que ha llevado a que la comunidad se haya modificado con el tiempo y debido a la introducción de especies invasoras que puedan estar compartiendo los dos humedales. El Estero de Punta Banda, a diferencia de los otros dos humedales, aún teniendo gran cantidad y abundancia relativa de especies invasoras, no presenta mayor impacto antropogénico que los mencionados anteriormente, lo cual puede influir en que la diversidad de especies en este humedal sea mayor. Sin embargo, pudimos determinar que la cobertura mayor de cualquier especie en Punta Banda fue debida a *Carpobrotus edulis* (Aizoaceae), una especie que se considera un invasor de alta agresividad. Esta situación se repitió en La Lagunita, donde la mayor dominancia de cualquier especie era debida a pastos exóticos. Solamente La Misión fue el humedal que encontramos con mayor dominancia de especies nativa, sobretodo de *Jaumea carnosa* (Asteraceae, Less) y *Salicornia bigelovii* (Amaranthaceae, L.).

5.2 Relación entre microestructura foliar y repelencia al agua

En el análisis referente a las imágenes obtenidas del microscopio electrónico de barrido, los resultados en cuanto a tipos estructurasde estructuras epicuticulares fue muy variable, tomando en cuenta las categorías en que se separaron las muestras (hidrofóbicas, hidrofílicas, neutras, juncuales).

Considerando las especies con comportamiento hidrofóbico, en el caso de la especie *Malva parviflora* pueden observarse estructuras epicuticulares en forma de tricomas que cubren la mayoría, y muy densamente, todo el cuerpo de la hoja, pudiendo ser ésta la razón de su repelencia al agua, dada su estructura estrellada, que puede influir en la captación de gotas y dificultando su ingreso al interior de la hoja. Por el contrario, la especie *Salsola tragus*, presentó también un alto grado de hidrofobicidad, sin poseer, al menos a simple vista, formaciones particulares de estructuras, siendo su estructura de carácter glabro, aunque con espinas y tricomas, que pudieran influir en el resultado. En la imagen obtenida de la especie *Polypogon montpelliensis* no se muestra formación de estructuras en su cutícula, salvo algunos tricomas o espinas arregladas en columnas paralelas; sin embargo, la medición de ángulo de contacto para esta especie resultó en un valor muy alto de hidrofobicidad, lo que puede deberse a que, en conjunto, dichas estructuras pudieran fungir como una especie de canal especializado en el redireccionamiento de agua condensada hacia las raíces de la planta. Futuros estudios podrían determinar las causas de la variación en hidrofobicidad en especies particulares, para ver si esta variación es debida a la composición química de las cutículas o a la forma de las estructuras epicuticulares.

Las especies que mostraron comportamientos hidrofílicos presentaron estructuras ordenadas a manera de gránulos y placas de tipo fisuradas y membranosas. Esto se podría interpretar como que las hojas no se encuentran completamente cubiertas de dichas estructuras, lo que podría permitir el paso de la humedad hacia el interior de las hojas. La microestructura foliar de las especies juncuales poseen diversos comportamientos de repelencia al agua; sin embargo, es posible asociar la microestructura foliar a canales paralelos, así como sus estomas agrupados a lo largo de estos, ya sea cubiertos de estructuras o glabros. Sin embargo, no es posible en este punto conocer que función específica cumplen estas estructuras. Si las placas fisuradas permiten el ingreso o redirección del agua a las raíces, se debería esperar que las placas fisuradas, de alguna manera, pudieran estar dejando entrar humedad a través de las grietas, o de los espacios glabros en general, provocando que, aún teniendo estructuras epicuticulares, estas favorecieran el ingreso del agua en vez de repelerla.

Es necesario, en próximos estudios, realizar análisis de composición de estructuras epicuticulares, dado que la microestructura y el ángulo de contacto, son métodos cuantitativos válidos, sin embargo, contar además con la composición química de las estructuras de cada planta, ayudaría a tener un fundamento más sólido para poder realizar una clasificación completa en cuanto a su repelencia al agua.

Capítulo 6. Conclusiones y perspectivas

1. Se cuantificó la diversidad vegetal de tres humedales costeros de Baja California, el Estero de Punta Banda, La Lagunita El Ciprés y el arroyo de La Misión, siendo el primero el más diverso, y el segundo el menos diverso. Se encontró que las diferencias en composición y diversidad entre humedales, además de deberse a características hidrológicas, está influida por la proliferación de especies invasoras y destrucción de hábitat, que pudiera comprometer la abundancia de especies nativas en el futuro.
2. Las plantas de los humedales costeros estudiados, aunque en su mayoría son acuáticas o periódicamente inundadas, no presentan hidrofobicidad foliar particularmente alta, ni ésta se asocia directamente con el grado de inundación al que están expuestas. En cambio, las plantas que habitan en las zonas de inundación casi nula, tuvieron alta hidrofobicidad en promedio, lo que sugiere que las zonas áridas pueden tener incluso mayor hidrofobicidad que las zonas inundables de humedales.
3. Se encontró que existe una asociación entre la hidrofobicidad foliar y el desarrollo de indumentos epicuticulares, pues las plantas con comportamiento hidrofóbico presentaron más indumentos estructurales en la cutícula que las plantas más hidrofílicas.
4. Este es uno de los primeros trabajos en evaluar la variación a escala comunitaria de los ángulos de contacto foliares. En comparación con otras comunidades vegetales del mundo, la vegetación de humedales es más hidrofóbica, lo cual puede deberse a que hay una alta variación en este carácter en humedales, sin que todas las especies tiendan a la alta hidrofobicidad. Futuras comparaciones de los ángulos de contacto entre comunidades permitirán entender qué factores ecológicos son los más importantes en promover la aparición de especies superhidrofóbicas o superhidrofílicas, particularmente en ambientes extremos que promuevan la adaptación de las plantas nativas, y que pueda favorecer el desarrollo de indumentos hidrofóbicos, como los desiertos y chaparrales. Este tipo de investigación permitirá dirigir la búsqueda de modelos para productos bioinspirados.

Anexos

Medición de ángulos de contacto de especies de Punta Banda										
Sitio	Zona	Especie	Volumen = 10µl						Promedio	Clasificación
			Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4	Medición 5	Medición 6		
Punta Banda	SI	Dudleya sp	26.01	75.39	89.34	65.53	96.95	77.81	71.83833333	Hidrofílica
Punta Banda	SI	C. edulis	101.13	92.52	108.19	70.63	79.7	105.07	92.87333333	Hidrofóbica
Punta Banda	I	Atriplex	71.23	96.21	87.1	99.14	85.24	80.72	86.60666667	Neutro
Punta Banda	SI	Camisoniopsis	137.06	108.93	114.67	129.72	104.35	121.54	119.37833333	Hidrofóbica
Punta Banda	I	Juncus acutus	85.56	64.12	100.09	86.43	94.74	85.4	86.05666667	Neutro
Punta Banda	SI	Isocoma menziessi	87.59	77.77	80.73	76.41	78.01	82.14	80.44166667	Neutro
Punta Banda	SI	Myporum	82.01	78.73	86.46	74.67	81.72	79.52	80.51833333	Neutro
Punta Banda	I	Jaumea	112.76	88.24	93.3	102.97	114.32	96.17	101.29333333	Neutro
Punta Banda	I	Limonium	82.85	60.9	67.54	77.32	81.1	78.23	74.65666667	Hidrofílica
Punta Banda	I	Frankenia	117.51	129.33	129.92	130.25	119.12	126.43	125.42666667	Hidrofóbica
Punta Banda	I	Distyclus spicata	123.52	126.02	118.16	108.76	127.34	121.86	120.94333333	Hidrofóbica
Punta Banda	SI	Suaeda sp	90.37	117.12	111.1	100.95	92.14	122.24	105.65333333	Hidrofóbica
Punta Banda	NI	Hazardia sp	120.97	118.91	87.78	115.71	145.82	101.49	115.11333333	Hidrofóbica
Punta Banda	NI	Nemacaulis sp	126.32	132.72	127.04	125.91	128.25	124.66	127.48333333	Hidrofóbica
Punta Banda	NI	Cakile sp	51.82	107.34	73.09	89.21	66.4	101.03	81.48166667	Neutro
Punta Banda	AC	Spartina	74.02	83.12	67.98	70.36	79.01	81.71	76.03333333	Hidrofílica
Punta Banda	NI	Acnyspon	115.55	123.35	122.07	121.65	99.83	114.5	116.15833333	Hidrofóbica
Punta Banda	NI	Helianthus	85.33	110.54	116.61	117.44	89.4	104.3	103.93666667	Neutro
Punta Banda	NI	Stillingia	116.6	114.46	111.94	116.51	110.37	107.88	112.96	Hidrofóbica
Punta Banda	NI	Abronia	150.43	125.24	122.16	106.1	139.05	113.44	126.07	Hidrofóbica
Punta Banda	I	Salicornia arbustiva	79.92	101.98	104.78	86.09	115.44	96.88	97.515	Neutro
Punta Banda	SI	Atriplex canescens	77.6	84.06	62.29	70.98	73.99	79.44	74.72666667	Hidrofílica
Punta Banda	NI	Rus	80.69	88.17	68.32	75.52	82.62	63.79	76.51833333	Hidrofílica
Punta Banda	NI	Tamarix ramossissima	127.49	89.87	88.93	88.23	100.44	101.17	99.355	Neutro
Punta Banda	I	Bathys maritima	70.13	56.97	53.75	59.34	63.84	57.98	60.335	Hidrofílica
Punta Banda	I	Salicornia bigelovii	72.43	76.12	67.98	71.23	78.55	66.86	72.195	Hidrofílica
Punta Banda	I	Cuscuta salina	125.79	128.29	129.85	118.28	93.61	100.64	116.07666667	Hidrofóbica
Punta Banda	I	Distyclus litoralis	41.03	77.06	64.84	74.31	81.04	94.75	72.17166667	Hidrofílica

Tabla 9: Ángulos de contacto de la cutícula de cada especie muestreada en Punta Banda.

Mediciones de ángulos de contacto de especies de La Lagunita, El Ciprés										
Sitio	Zona	Especie	Volumen = 10µl						Promedio	Clasificación
			Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 4	Medición 5	Medición 6		
La Lagunita (El Ciprés)	I	Glebionis coronaria	69.06	37.3	45.75	57.81	42.31	64.85	52.84666667	Hidrofílica
La Lagunita (El Ciprés)	SI	Rumex sp	62.8	49.91	70.24	61.16	65.97	78.35	64.73833333	Hidrofílica
La Lagunita (El Ciprés)	SI	Chaenopodium sp	84.45	71.2	83.77	86.19	90.74	90.12	84.41166667	Neutro
La Lagunita (El Ciprés)	SI	Melilotus sp	78.13	93.74	82.43	93.28	77.15	95.68	86.735	Neutro
La Lagunita (El Ciprés)	I	Salsola sp	119.23	126.87	114.08	122.45	112.43	121.74	119.46666667	Hidrofóbica
La Lagunita (El Ciprés)	SI	Malvaceae	51.79	43.64	48.97	54.04	44.32	53.76	49.42	Hidrofílica
La Lagunita (El Ciprés)	I	M. cristallinum	93.44	102.04	89.56	84.77	90.31	94.53	92.44166667	Hidrofílica
La Lagunita (El Ciprés)	I	Scoenoplectus	75.46	71.05	62.74	65.49	69.46	70.18	69.06333333	Neutro
La Lagunita (El Ciprés)	I	Junco 2	51.18	37.02	47.79	50.46	46.95	31.21	44.10166667	Neutro
La Lagunita (El Ciprés)	I	Malvaceae	102.57	123.03	149.02	99.47	101.16	92.64	111.315	Hidrofóbica

Tabla 10: Ángulos de contacto de la cutícula de cada especie muestreada en La Lagunita El Ciprés.

Mediciones de ángulos de contacto de especies de La Misión				Volumen = 10µl						
La Misión	I	S. asper	46.34	111.93	42.7	22.27	49.5	54.61	54.55833333	Hidrofílica
La Misión	I	S. oleraceous	47.66	44.29	63.25	65.98	71.6	64.21	59.49833333	Hidrofílica
La Misión	AC	B. robustus	55.87	63.91	57.63	64.92	96.32	66	67.44166667	Hidrofílica
La Misión	I	Asteraceae sp	86.88	92.1	93.77	87.18	81.24	89.17	88.39	Neutro
La Misión	AC	Salix B	90.52	121.55	81.72	110.93	89.76	131.89	104.395	Neutro
La Misión	AC	Salix A	136.87	126.06	130.38	84.89	89.1	131.04	116.39	Hidrofóbica
La Misión	I	Artemisia sp	110.71	116.87	126.32	120.7	124.07	125.14	120.635	Hidrofóbica
La Misión	NI	Medicago hispida	101.72	127.08	124.94	122.46	121.26	126.43	120.6483333	Hidrofóbica
La Misión	NI	Melilotus indicus	89.2	131.04	125.33	133.87	139.44	114.32	122.2	Hidrofóbica
La Misión	AC	Typha domingensis	136.9	98.34	130.46	103.26	141.47	130.78	123.535	Hidrofóbica
La Misión	I	Asteraceae lineal	127.72	128.04	133.24	121.23	136.48	123.4	128.3516667	Hidrofóbica
La Misión	AC	Scirpus sculentus	133.69	131.99	133.26	132.05	129.49	135.35	132.6383333	Hidrofóbica
La Misión	NI	P. monspeliensis	135.14	144.38	142.46	140.98	137.96	131.59	138.7516667	Hidrofóbica
La Misión	I	Anemopsis	137.59	130.59	148.06	143.2	137.25	138.74	139.2383333	Hidrofóbica

Tabla 11: Ángulos de contacto de la cutícula de cada especie muestreada en La Misión.

Literatura citada

- Abdul-Wahab SA, Lea V (2008) Reviewing fog water collection worldwide and in Oman. *Int J Environ Stud* 65:487–500.
- Barthlott, W., Neinhuis, C., Cutler, D., Ditsch, F., Meusel, I., Theisen, I., y Wilhelmi, H. (1998). Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical journal of the Linnean society*, 126(3), 237-260.
- Bhushan, B. y Jung, Y. C. (2007) Wetting study of patterned surfaces for superhydrophobicity. *Ultramicroscopy* 107, 1033–1041. (doi:10.1016/j.ultramic.2007.05.002).
- Brower, J. E. y J. H. Zar. (1984). *Field and laboratory methods for general ecology*. Wm. C. Brown Co. Dubuque, Iowa. 226 pp.
- Cerman Z, Striffler BF, Barthlott W. (2009). Dry in the water: the superhydrophobic water fern *Salvinia* – a model for biomimetic surfaces. In *Functional Surfaces in Biology*, Gorb SN (ed). Springer: Berlin; 97–111. DOI: 10.1007/978-1-4020-6697-9_7.
- Convención RAMSAR, (1971) Recuperado en 2017 de: <http://www.ramsar.org>.
- Costanza, R., d'Arge, R., De Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., y Raskin, R. G. (1997). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *nature*, 387(6630), 253-260.
- Ehleringer, J. R., y Björkman, O. (1978). A comparison of photosynthetic characteristics of *Encelia* species possessing glabrous and pubescent leaves. *Plant physiology*, 62(2), 185-190.
- Ehleringer, J. R., y Björkman, O. (1978). Pubescence and leaf spectral characteristics in a desert shrub, *Encelia farinosa*. *Oecologia*, 36(2), 151-162.
- Ehleringer, J., Björkman, O., y Mooney, H. A. (1976). Leaf pubescence: effects on absorptance and photosynthesis in a desert shrub. *Science*, 192(4237), 376-377.
- FAO (2003) *Review of World Water Resources by Country*.
- Furey, S. (1998). *Fogwater harvesting for community water supply*. Canfield: Silsoe College Cranfield University.
- Garnier, E., Cortez, J., Billès, G., Navas, M. L., Roumet, C., Debussche, M., y Neill, C. (2004). Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, 85(9), 2630-2637.
- Goldsmith, G. R., Bentley, L. P., Shenkin, A., Salinas, N., Blonder, B., Martin, R. E. y Asner, G. P. (2017). Variation in leaf wettability traits along a tropical montane elevation gradient. *New Phytologist*, 214(3), 989-1001.
- Holloway, P.J. (1994) Plant cuticles: physicochemical characteristics and biosynthesis. In: Percy, K.E., Cape, J.N., Jagels, R, Simpson, C.J. (eds) *Air pollution and the leaf cuticle*. Springer, Berlin, pp 1–13.

- Jetter, R., Kunst, L. y Samuels, A. L. (2006) Composition of plant cuticular waxes. In *Biology of the plant cuticle* (eds M. Riederer y C. Müller). Annual plant review, vol. 23, pp. 145–175. Oxford, UK: Blackwell.
- Ju, J., Bai, H., Zheng, Y., Zhao, T., Fang, R., y Jiang, L. (2012). A multi-structural and multi-functional integrated fog collection system in cactus. *Nature communications*, 3, 1247.
- Juniper, B.E, Bradley, D.E. (1958). The carbon replica technique in the study of the ultrastructure of leaf surfaces. *Journal of Microscopy* 2: 127.
- Koch, K., y Barthlott, W. (2009). Superhydrophobic and superhydrophilic plant surfaces: an inspiration for biomimetic materials. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1893), 1487-1509.
- Krasowska, M., Zawala, J., y Malysa, K. (2009). Air at hydrophobic surfaces and kinetics of three phase contact formation. *Advances in colloid and interface science*, 147, 155-169.
- Krebs, C. J. (1989). *Ecological methodology*. Harper Collins Publ. 654 pp.
- Kummu, M., Ward P.J., de Moel, H., Varis, O. (2010) Is physical water scarcity a new phenomenon? Global assessment of water shortage over the last two millennia. *Environ Res Lett* 5:034006.
- Malhi Y, Silman M, Salinas N, Bush M, Meir P, Saatchi S. (2010). Introduction: elevation gradients in the tropics: laboratories for ecosystem ecology and global change research. *Global Change Biology* 16: 3171–3175.
- Mitsch, W. J. y Gosselink, J. G. (2000). *Wetlands*. J. Wiley and Sons, Nueva York, 920 p.
- Moreno, C. E., y Moreno, C. E. (2001). *Manual de métodos para medir la biodiversidad* (No. Sirsi) i9789688345436). Universidad Veracruzana.
- Moreno-Casasola, P. (2006). *Humedales costeros*. P. Moreno-Casasola, E, Peresbarbosa y AC Travieso-Bello. Editores.
- Mouchet, M. A., Villéger, S., Mason, N. W., y Mouillot, D. (2010). Functional diversity measures: an overview of their redundancy and their ability to discriminate community assembly rules. *Functional Ecology*, 24(4), 867-876.
- Mulroy, T. W. (1979). Spectral properties of heavily glaucous and non-glaucous leaves of a succulent rosette-plant. *Oecologia*, 38(3), 349-357.
- Nelumbo nucifera. Recuperado en 2017 de: https://es.wikipedia.org/wiki/Nelumbo_nucifera.
- Oliveira, R.S, Dawson, T, Burgess, S,S,O. (2005a). Evidence for direct water absorption by the shoot of the desiccation-tolerant plant *Vellozia flavicans* in the savannas of central Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 21: 585–588. DOI: 10.1017/S0266467405002658.
- Palmer, M. W. (1990). The estimation of species richness by extrapolation. *Ecology*, 71: 1195-1198.
- Perlman, D. L., y Adelson, G. (1997). *Biodiversity*, Exploring values and priorities in conservation. Environmental Science and Public Policy, Harvard University, Cambridge, Massachusetts, USA.

- Raven, Peter H.; Evert, Ray F.; Curtis, Helena (1981), *Biology of plants*, New York, N.Y.: Worth Publishers, pp. 427-28.
- Roach, P., Shirtcliffe, N. J. y Newton, M. I. (2008) Progress in superhydrophobic Surface development. *Soft Matter* 4, 224–240. (doi:10.1039/b712575p).
- Schemenauer RS, Cereceda P (1994b) Fog collection's role in water planning for developing countries. *Nat Resour Forum* 18:91–100.
- Shirtcliffe, N. J., McHale, G., y Newton, M. I. (2009). Learning from Superhydrophobic Plants: The Use of Hydrophilic Areas on Superhydrophobic Surfaces for Droplet Control†† Part of the “Langmuir 25th Year: Wetting and superhydrophobicity” special issue. *Langmuir*, 25(24), 14121-14128.
- Shirtcliffe, N. J., Pyatt, F. B., Newton, M. I., y McHale, G. (2006). A lichen protected by a super-hydrophobic and breathable structure. *Journal of plant physiology*, 163(11), 1193-1197.
- Unep (Editor) (1997): Chapter 1.3 Fog harvesting. In: UNEP (Editor) (1998): *Source Book of Alternative Technologies for Freshwater Augmentation in Latin America and the Caribbean*. Nairobi.