



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Desarrollo del fruto y semilla, banco de
semillas y germinación de *Syngonium*
filiforme Kütz.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA

SILVIA MARGARITA GUZMÁN TRAMPE

DIRECTORA DE TESIS

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN



México, DF.

Marzo, 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de datos del Jurado

1. Datos del alumno
Guzmán
Trampe
Silvia Margarita
53533335
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
099112619
2. Datos del Tutor
Dra.
Márquez
Guzmán
Guadalupe
Judith
3. Datos de sinodal 1
Dra.
van Tussenbroek
Ribbink
Brigitta
4. Datos de sinodal 2
Dra.
Collazo
Ortega
Margarita
5. Datos de sinodal 3
M. en C.
Wong
José Gonzalo Ricardo
6. Datos de sinodal 4
M. en C.
Jiménez
Durán
Karina

Esta tesis se realizó bajo la dirección de la Dra. Guadalupe Judith Marquez Guzmán en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM dentro del taller titulado “biología del Desarrollo y Función de las Estructuras Reproductoras en Cactaceas. Y en la Unidad Académica del ICMYL de Puerto Morelos con la colaboración de la Dra. Brigitta Van Tussenbroek Ribbink.

A mi madre, padre y hermanos

A Ponchito

Agradecimientos

Institucionales

A la Dra. Judith Márquez por todo el apoyo que me ha brindado, por ser mi amiga y aconsejarme, por formar este maravilloso espacio en el que uno puede ejercer la ciencia libremente, por ser una docente e investigadora con tanta experiencia, apasionada y dispuesta a resolver tus problemas, mil gracias.

A la Dra. Brigit por recibirme con tanto cariño y familiaridad, por amar tanto a los pastos y contagiarte su pasión, por ser una gran mujer llena de fortaleza.

A la Dra. Margarita Collazo por su invaluable ayuda, por revisar con paciencia mi trabajo una y otra vez sin morir en el intento, por ser tan cariñosa y maternal conmigo y siempre recibirme con una sonrisa.

Al M. en C. Ricardo Wong por ser tan odioso, por las horas de discusión y de punto de contacto, por ser mi amigo y escucharme siempre sin peros, por ser mi compañero en Puerto Morelos, por acudir a las comidas y las fiestas...porque siempre se puede contar contigo.

A la M. en C. Karina Jiménez por ser ejemplo de esfuerzo y dedicación, por apoyarme siempre que la necesite y por su tiempo para revisar la tesis a pesar de sus múltiples ocupaciones.

A la M. en C. Monica Karina porque sin tí este trabajo no hubiera sido posible, por todo el apoyo y dedicación a mi trabajo, a enseñarme a cortar en el ultra, por ayudarme a analizar mis preparaciones, por ser una confidente y amiga.

A la Dra. Sonia Vázquez por ser siempre tan colaboradora y alegre.

A la M. en C. Guadalupe Barba por su ayuda invaluable en las colectas de todos los experimentos, por sumergirse conmigo en las aguas someras de Pto. Morelos, por ser una persona tan ordenada y disciplinada.

AL M. en C. Alejandro Martínez Mena por su ayuda para tomar las fotografías en microcine.

A la Dra. Silvia Espinoza por el apoyo para tomar las fotografías de MEB.

A la M. en C. Yolanda Hornelas por su ayuda con las fotografías de MEB.

Personales

A mi madre por ser la gran mujer que es, por criarme y apoyarme siempre de forma incondicional, por quererme y confiar en mí, por ser tan noble y cumplir mis caprichos, por tolerarme.

A mi padre por apoyarme y darnos la oportunidad de convivir y ser amigos, por quererme y cantarme los tomatitos, canción que forma parte de los recuerdos más bonitos de mi infancia.

A mi hermano Juan por ser el compañero y confidente de mi infancia, por todos las vivencias, porque aprendimos a crecer juntos. A mi hermano Fede por ser ese topping del pastel y endulzar mi vida.

A mi tío Sidonio por ser un segundo padre para mí, por su apoyo y cariño. A mi tía Yoli por ser tan buena y noble, por quererme y apoyarme siempre. A mi gran amiga y hermana Marce por ser tan loca, por ser incondicional, por acompañarme y respaldarme, por siempre hablar con la verdad, te quiero mucho primis. A mi primo Podi por ser mi compañero nocturno cuando viví en esa casa, por ser tan chistoso y por la buena relación. A Pichit por ser compañero de acampada.

A mis suegritos queridos por enseñarme el valor de la convivencia en familia. A Gloria por ser una mujer tan maravillosa y dulce, por ser tan positiva y cariñosa conmigo, por alimentarme y darme esos ricos postrecitos. Te quiero y estoy profundamente agradecida contigo. A papá Poncho por siempre acogerme como miembro de su familia y hacerme sentir bien recibida, por las vacaciones que me ha invitado a convivir con los Troyo. A Poi por ser siempre una molestia agradable y divertida, es la mejor cuñis. A los Triana por recibirme en su casa y ser tan agradables.

A mis amigos amados y adorados. A lalo mi mejor amigo y compañero de tantos años, te adoro. A Josué por ser un buen amigo y tan divertido. A la familia González por ser tan cálidos y unidos. A Julia por ser la mejor amiga que uno puede tener, por la afinidad que nos une, por ser tan brillante y dedicada.

A los buenos amigos que hice en el laboratorio. Diana por ser tan especial y la mujer más amigable que he conocido, por ser divertida y buena amiga, por saber escuchar y ocuparse de mí. A Raúl por ser una persona tan increíble e inteligente, por apoyarme y escucharme, por convivir conmigo. Moni por ser tan buena y dedicada. Memo, Alf y Paty por apoyarme y convivir conmigo está etapa de mi vida.

A toda la gente bonita del labo: Aldebaran, Rocío, Magali, Almita, Juan, Amelia, Dulce, Leon Felipe, Axel, Odeth ya los que se me olvidaron por las prisas.

Y por último pero no menos importante, quiero erigir un monumento al hombre que ha soportado con paciencia mis berrinches y caprichos, me ha acompañado en todo momento incondicionalmente y ha transformado mi vida. Quiero darte gracias por ser el hombre de mi vida, mis sueños y pesadillas. Gracias por ser una persona tan llena de cualidades y virtudes. Gracias por amarme.

ÍNDICE

RESÚMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTECEDENTES.....	4
General.....	4
Evolución de las angiospermas marinas.....	5
Taxonomía de los pastos marinos.....	5
Distribución.....	6
Biología de los pastos marinos.....	7
Morfología.....	7
Reproducción.....	7
Desarrollo de fruto y semilla.....	8
Germinación en angiospermas.....	8
Banco de semillas en angiospermas.....	9
Familia Cymodoceaceae.....	10
Descripción de <i>Syringodium filiforme</i>	11
Desarrollo de fruto y semilla en <i>S. filiforme</i>	13
Germinación.....	13
Banco de semillas.....	15
JUSTIFICACIÓN.....	16
OBJETIVO GENERAL.....	16
MATERIAL Y MÉTODO	
Área de estudio.....	17
Desarrollo de fruto y semilla.....	18
Deshidratación.....	19
Inclusión.....	19
Montaje.....	19
Cortes.....	19
Tinción.....	19
Histoquímicas.....	19
Observaciones.....	19
Microscopía Electrónica de Barrido.....	20
Pruebas de germinación.....	20
Determinación del banco de semillas.....	21
Estimación del potencial banco de semillas.....	22
Prueba de Herbivoría.....	23
Cuento de plántulas.....	22
Prueba de viabilidad.....	25
Prueba de polinización.....	25
RESULTADOS	
Morfología de la inflorescencia.....	27
Estructura y desarrollo de la semilla.....	30
Estructura del óvulo.....	30
Desarrollo de la Semilla.....	30
Morfología de la semilla.....	31
Cubierta seminal.....	31
Estructura y desarrollo de Fruto.....	40
Morfología del fruto.....	40
Estructura del fruto.....	40
Desarrollo del fruto.....	40

Unidad de dispersión.....	41
Germinación.....	47
Banco de semillas.....	49
Estimación de la producción de frutos.....	49
Método de análisis por nucleadores.....	50
Método de análisis por transectos.....	50
Herbivoría de frutos.....	50
Viabilidad.....	51
Prueba de polinización.....	51
DISUSIÓN	
Morfología floral.....	54
Desarrollo de fruto y semilla.....	56
Fruto.....	56
Cubierta seminal.....	58
Semilla.....	59
Germinación.....	60
Banco de semillas.....	62
Viabilidad.....	65
CONCLUSIONES.....	66
CONSIDERACIONES FINALES.....	66
ANEXOS.....	68
BIBLIOGRAFÍA.....	73

RESUMEN

Syringodium filiforme (Cymodoceaceae) es un pasto marino dioico del Atlántico Oeste tropical. Se estudió el desarrollo del fruto y la semilla con microtecnia convencional. La inflorescencia de *S. filiforme* es de racimosa a cimosa. En cada nodo floral presenta dos flores idénticas y contrapuestas subtendidas por una bráctea. La flor está compuesta por ovario, estilo corto y hueco y un estigma alargado, liso y bifurcado. El óvulo es ortótropo, sésil, bitégmico y endóstomo. El saco embrionario es pequeño con respecto al óvulo maduro y presenta tres antípodas que se fusionan, una célula central, dos sinérgidas y una célula huevo. El fruto es una drupa indehiscente, presenta exocarpo, mesocarpo y endocarpo de grosor variable según la etapa de desarrollo, contiene 1 sola semilla, y constituye la unidad de dispersión. El exo- y mesocarpo del fruto se desprenden una vez que el fruto es dispersado, quedando únicamente el endocarpo. El endocarpo presenta lacinia (zona de dehiscencia del fruto) y está compuesto por células de paredes lignificadas y participa activamente en la latencia de la semilla. La semilla tiene una cubierta seminal delgada consistiendo de pocos estratos celulares, las reservas están alojadas en el hipocótilo y el embrión está compuesto por el eje embrionario y el cotiledón. El meristemo apical y los primordios foliares están cubiertos por un coleoptilo. En una zona costera la producción potencial de frutos fue de 1,800 frutos m⁻², sin embargo en el sedimento se encontraron sólo del 0.05 al 0.1% de éstos. La prueba de viabilidad aplicada en las semillas en el sedimento extraídas por medio de los nucleadores fue negativa. No se registró ninguna semilla germinando durante los 5 meses del transcurso del estudio.

INTRODUCCIÓN

Los pastos marinos son las únicas angiospermas adaptadas al ambiente marino y corresponden al grupo de las monocotiledoneas. A diferencia de otras hidrófitas poseen la capacidad de vivir y crecer en aguas salinas. Su ciclo de vida, incluyendo la polinización y reproducción, es totalmente hidrófilo (excepto en la familia Ruppiaceae). Se encuentran bien adaptadas al oleaje debido a su eficiente sistema de anclaje. Son importantes productores primarios y forman complejos ecosistemas marinos.

Los pastos marinos se incluyen dentro del orden Alismatales (Página en Red: Missouri Botanical Garden, 2008). Se encuentran representados por seis familias: Hydrocharitaceae que comprende especies marinas y dulce acuícolas; Ruppiaceae y Zannichelliaceae que incluyen especies eurisalinas; y por último tres familias compuestas exclusivamente por pastos marinos: Zosteraceae, Posidoniaceae y Cymodoceaceae, (*Syringodium filiforme* corresponde a esta última).

Syringodium filiforme se distribuye en el Golfo de México, el Caribe y las Bermudas. Se han hecho estudios taxonómicos que en un pasado la incluían dentro de la subfamilia Potamogetonaceae (Ascherson y Graebner, 1907; den Hartog, 1970), actualmente se encuentra dentro de la familia Cymodoceaceae que incluye los géneros *Halodule*, *Cymodocea*, *Thalassodendron*, *Amphibolis* y *Syringodium* (Larkum y Den Hartog, 1989).

A pesar de que los trabajos en pastos marinos han ido aumentando, la mayoría de ellos tratan temas sobre la ecología o bien fisiología de los mismos y sobre la ontogenia, los trabajos son extremadamente reducidos.

McMillan (1981, 1983) y Bragg y McMillan (1987) son las únicas referencias con que se cuenta a la fecha sobre investigaciones relacionadas con el morfología general fruto, la semilla, germinación y estimación de banco de semillas de *S. filiforme*. Sin embargo aún falta por conocer el desarrollo del fruto y la semilla así como la posible formación de bancos de semillas en el Caribe mexicano, ambos, propósitos del presente trabajo.

La bibliografía de trabajos histológicos y micromorfológicos referentes al desarrollo de fruto y semilla en pastos marinos es escasa, únicamente se cuenta con el trabajo de Jiménez (2002) en *Thalassia testudinum*. El resto de los trabajos reportados para *Cymodocea*, *Zostera* y *Halodule* (Bragg y McMillan, 1986; Bragg y McMillan, 1987; Caye y Meinesz, 1986; Den Hartog, 1970; Kuo y Den Hartog, 2000; Kuo y Kirkman, 1990; McMillan, 1981 y McMillan *et al*, 1982), se refieren más bien a descripciones morfológicas observadas durante la germinación.

ANTECEDENTES

Los pastos marinos se encuentran presentes en alrededor del 15% de la superficie del océano. Se considera que conforman ecosistemas complejos y que ocupan uno de los primeros lugares entre las comunidades autosuficientes del planeta (Duarte y Chiscano, 1999).

Las plantas acuáticas abarcan grandes áreas de extensión del suelo marino en zonas costeras y sostienen la cadena alimenticia en estos sistemas. Se han visto sujetas a diversas adaptaciones para poder desarrollarse exitosamente dentro del agua. En 1920, Aber (en: Den Hartog, 1970), reconoció cuatro propiedades fundamentales que debe tener toda planta acuática marina: 1) estar adaptada a la vida en un medio salino; 2) ser capaz de crecer completamente sumergida; 3) tener un sistema de anclaje seguro y, 4) tener un sistema de polinización hidrófilo. Recientemente una quinta propiedad fue propuesta por Den Hartog (2000), ser capaces de competir exitosamente en el medio marino. De acuerdo a estas cinco propiedades, los pastos marinos forman complejos grupos ecológicos y están bien adaptados a vivir en el agua.

Representan una de las comunidades más productivas del mar puesto que son productores primarios, proveen hábitat a otras especies, mantienen estable el sedimento y lo oxigenan, protegen el fondo marino y a sus habitantes de fenómenos abrasivos (Phillips y Meñez, 1988) y evitan la erosión de las playas; por tanto son un recurso insustituible en las comunidades litorales. Viven en ecosistemas costeros, los cuales suelen ser de baja profundidad, por lo que se encuentran constantemente sometidos al estrés ocasionado por diferentes factores físicos como la corriente, el oleaje, huracanes, tormentas y antropomórficos, entre otros. Un modo de respuesta a las condiciones desfavorables es la formación de bancos de semillas (Orth 2000; Orth *et al.*, 2006; Pergent y Pergent, 2000), los cuales contribuyen a la permanencia de los pastos ante perturbaciones, puesto que las semillas están bien protegidas y pueden soportar periodos de latencia largos hasta que las condiciones tanto ambientales como fisiológicas de la semilla sean adecuadas para la germinación (Inglis, 2000).

Evolución de las angiospermas marinas

Se han realizado diversos estudios para tratar de discernir el origen de las angiospermas marinas, sin embargo ha sido difícil reconstruir su historia dado que existen patrones de evolución convergente en los caracteres morfológicos y no son un grupo monofilético. De acuerdo con Les *et al.* (1997) las angiospermas marinas han evolucionado en tres clados monofiléticos: Cymodoceaceae, Zosteraceae e Hydrocharitaceae. En 1920 Arber (citado en Den Hartog, 1970) menciona que las angiospermas marinas penetraron al mar desde el agua dulce. Si esto es cierto, significa que los pastos marinos evolucionaron a partir de un ancestro que ya estaba adaptado al agua y la transición de agua dulce a agua salada se dio de la siguiente manera:

Especies de agua dulce → especies tolerantes a la salinidad → especies de agua salobre → especies marinas.

Taxonomía de los pastos marinos

Utilizando secuencias del gen de la subunidad larga de la ribulosa - difosfato carboxilasa (rbcL), los análisis de filogenia molecular obtenidos soportan la inclusión de los pastos marinos en la subclase Alismatidae (Procaccini *et al.*, 1999), en la cual las plantas cumplen las siguientes tres condiciones: ser acuáticas, tener tolerancia a la sal y verdadera hidrofilia (Les *et al.*, 1997).

Existen aproximadamente 60 especies de angiospermas marinas que se encuentran distribuidas en 14 géneros (Short y Coles, 2001) y 6 familias (Les *et al.*, 1997; Phillips y Meñez, 1988)

- Zosteraceae que incluye los géneros *Zostera*, *Heterozostera* y *Phyllospadix*.
- Cymodoceaceae que incluye a los géneros *Halodule*, *Cymodocea*, *Syringodium*, *Thalassodendron*, *Amphibolis*.
- Posidoniaceae que incluye un solo género *Posidonia*.

- Hydrocharitaceae que incluye a los géneros *Thalassia*, *Halophila*, *Enhalus*.
- Ruppiales con las especies *Ruppia aff. Tuberosa* y *Ruppia megacarpa*.
- Zannichelliaceae donde se encuentra *Lepilaena marina*.

Distribución

La distribución puede definirse como el rango o el área dentro de la cual se localizan especies particulares (Short y Coles, 2001).

La mayoría de las especies de pastos marinos están confinadas a zonas tropicales y tienen una amplia distribución en este rango; se concentran principalmente en cuatro áreas: el Océano Atlántico, el Pacífico, el Mar del Caribe y el Golfo de México (Green y Short, 2003) (Fig. 1).

Los patrones fitogeográficos se dan como resultado de la interacción de las poblaciones individuales de especies con las condiciones locales ambientales. La distribución geográfica de los pastos marinos está fuertemente determinada por la temperatura, y la distribución local se debe a la disponibilidad de luz solar y es el resultado de una interacción dinámica de condiciones como: salinidad, radiación solar, sustrato, profundidad, y temperatura asociada a la tolerancia de las poblaciones (Phillips y Meñez, 1988).

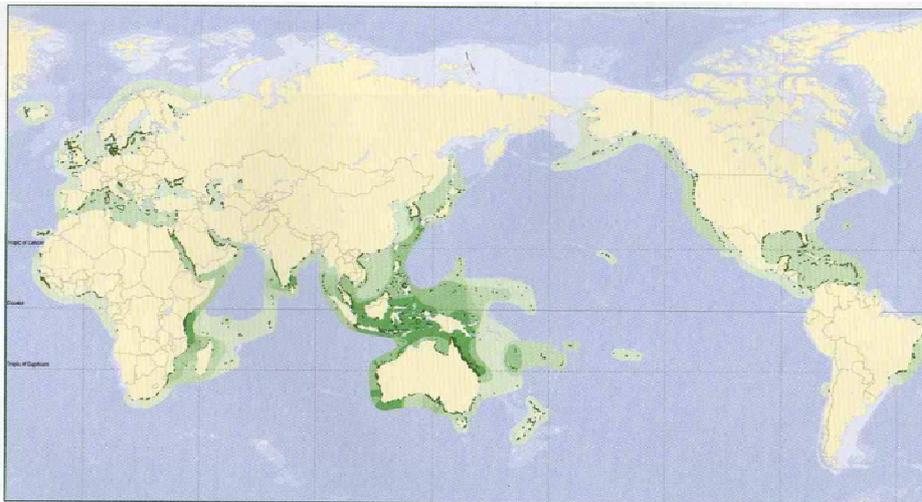


Figura 1: Mapa de la distribución mundial de los pastos marinos que muestra, en color verde oscuro, los centros de alta diversidad específica, es decir, donde se han elaborado estudios con diferentes especies. En color verde claro se muestra la potencial distribución de las poblaciones elaborada con programas de distribución geográfica. Tomada de Green y Short, 2003.

En México los pastos marinos se distribuyen en el Golfo de México, el Mar del Caribe y el Océano Pacífico. Forman extensas praderas distribuidas a lo largo de las zonas litorales, abarca desde estuarios, marismas, pantanos de marea a lagunas costeras; desde los pocos centímetros hasta poco más de 7m de profundidad (de La Lanza y Tovilla, 1986). La profundidad a la que crecen se encuentra asociada a la disponibilidad de luz para la fotosíntesis (Duarte, 1991).

Biología de los pastos marinos

Morfología

El cuerpo de la planta de un pasto marino consiste de: rizoma herbáceo o cilíndrico rastrero bien desarrollado hundido en la arena, uno o dos tipos de raíces y varios tallos erectos que tiene varias hojas, cada una con vaina en la base. Las raíces son adventicias, con pelos radiculares; la raíz madura tiene epidermis y tejido parenquimatoso que encierra al aerénquima y al haz vascular. Las hojas están cubiertas por una cutícula delgada sin estomas que permite realizar el intercambio gaseoso y la fotosíntesis (Kuo y McComb, 1989; Kuo y Den Hartog, 2006).

Reproducción

La reproducción en pastos marinos puede ser de dos tipos, por medio de semillas o sexual, o a través de partes de la planta o vegetativa (Den Hartog, 1970). La capacidad de propagarse asexualmente y el éxito de la reproducción sexual son factores biológicos que determinan el tamaño, variabilidad y abundancia de los pastos marinos (Short y Coles, 2001).

La reproducción vegetativa es muy común y se lleva a cabo por medio de la extensión de los rizomas (Duarte y Sand-Jensen, 1990); o bien puede ocurrir por medio de la dispersión y establecimiento de fragmentos sueltos de la planta. Muchas de las especies perennes de pastos marinos son capaces de utilizar reservas de energía y nutrientes que han sido almacenadas temporalmente en sus

rizomas para sobrevivir en condiciones desfavorables e iniciar el crecimiento de un nuevo clon cuando las condiciones son propicias (Hammerstrom *et al.*, 2006).

La reproducción sexual (a partir de la fusión de dos gametos sexuales) es importante ya que brinda variabilidad genética a la población. Es a través de ésta que las poblaciones pueden responder genéticamente a las condiciones del medio y adaptarse. Se ha supuesto que la colonización de nuevas áreas se da cuando las semillas o frutos que han sido dispersados más allá de la población originaria se depositan en el sedimento y dan lugar a la germinación (Phillips y Meñez, 1988; Orth, 2001; Orth *et al.*, 2006). Las semillas se dispersan en el espacio por varios agentes: corrientes, oleaje, posiblemente herbívoros y humanos (Matthew y Battista, 2004).

Desarrollo de frutos y semillas

Existen pocos trabajos en los que se haya estudiado el desarrollo de frutos y semillas de los pastos marinos, Jiménez (2004) describió el desarrollo de frutos y semillas, material de reserva y el embrión de *Thalassia testudinum* Banks ex Kőning (Hydrocharitaceae). Se conocen otros estudios del desarrollo de *Cymodocea rotundata* y *Zostera noltii* (McMillan *et al.*, 1982; Loques *et al.*, 1990).

La consistencia de los frutos puede variar de carnosa a dura (Kuo y Den Hartog, 2006; Jiménez, 2004; McMillan, 1981, 1983) y en uno o más estratos puede presentar taninos (metabolitos secundarios para defensa de la planta) (Becker, 1984 y Bennett y Wallsgrave, 1994).

Una vez que el fruto se desprende puede dispersarse y las semillas pueden formar bancos dependiendo de la especie y éstos pueden ser persistentes (Bragg y McMillan 1986; McMillan y Bragg, 1987; Jiménez, 2004; Kuo y Den Hartog, 2006).

Germinación en Angiospermas

La germinación es el proceso por medio del cual el embrión que había permanecido encerrado en la semilla da origen a la raíz y a las primeras hojas de

una nueva planta que, por tanto, puede ya alimentarse por sí misma (Hootsman *et al.*, 1987). Es la combinación de cambios en los estados de latencia, morfológicos, fisiológicos y ambientales (Baskin y Baskin, 1998). Aunque hay especies que no presentan periodo de latencia y germinan una vez que son liberadas del fruto. Es una de las etapas cruciales del ciclo de vida de los pastos marinos y en general de las plantas. La germinación de las semillas significa la continuidad de la etapa de embrión a plántula y posteriormente a planta joven (Baskin y Baskin, 1998; Fenner, 1985).

Las semillas pueden presentar periodos de latencia la cual les permite mantenerse en reposo durante determinados lapsos de tiempo, colonizar nuevos habitats o dispersarse, (McMillan, 1981) y germinar cuando las condiciones ambientales sean apropiadas (Fenner, 1985). La latencia puede deberse a dos causas, la primera es al estado de desarrollo de la semilla percibe y responde a señales para inducir la germinación. La segunda causa es la estructura misma de la cubierta seminal que puede requerir de procesos químicos o físicos (abrasivos, escarificación, enterramiento y disponibilidad de luz) para inducir la germinación (Fenner, 1985).

Banco de Semillas en Angiospermas

Una de las formas en que las plantas en general sobreviven a las condiciones desfavorables del medio es la formación de bancos de semillas, el cual es un mecanismo de dispersión en el espacio y tiempo que provee un establecimiento efectivo (Fenner, 1985; McMillan, 1981, 1983; Orth, 2000; Orth *et al.*, 2006).

La formación de bancos de semillas representa una estrategia de vida que pretende asegurar el establecimiento de un nuevo individuo, colonizar nuevas áreas, proteger al embrión (por la latencia) de variaciones de factores ambientales, y la colonización de ambientes que se encuentran sujetos a cambios estacionales (Cherry y Gough, 2006).

Los bancos de semillas están clasificados por el tipo de latencia. Aquellos bancos que germinan en un año o menos se conocen como bancos transitorios y los bancos que tienen semillas que permanecen por más de un año en latencia se

les conoce como bancos persistentes (Orth *et al.*, 2000). La longevidad así como la viabilidad de las semillas son factores decisivos en la formación de bancos de semillas. Ambos factores están vinculados al tipo, tamaño y el significado ecológico del banco de semillas (Fenner, 1985).

La dimensión de los bancos de semillas depende fuertemente del medio ambiente que las rodea, puesto que delimita la distribución temporal y espacial de las semillas y, por lo tanto, determina también la disposición de los individuos femeninos y masculinos (Inglis, 2000). El número de semillas en el fruto de una planta varía con la edad de la misma, el disturbio causado por herbívoros y la tasa normal de producción y liberación de semillas (Baskin y Baskin, 1998).

FAMILIA CYMODOCEACEAE

Cymodoceaceae es una familia homogénea y monofilética (Cox y Humphries, 1993). Se considera una familia antigua puesto que se han encontrado registros fósiles del eoceno. Comprende cinco géneros: *Halodule*, *Cymodocea*, *Syringodium*, *Thalassodendrom* y *Amphibolis* (Den Hartog, 1970; Larkum *et al.* 2006). *Amphibolis* se encuentra limitada a aguas Australianas y los otros cuatro géneros se distribuyen en mares tropicales, algunas especies se extienden a aguas sub-tropicales y cálido-templadas mientras que (Den Hartog, 1970).

La parte vegetativa de la planta consiste de hojas que se extienden hacia ambos lados del tallo y contienen taninos. Rizoma rastrero, herbáceo, monopodial y con raíces en los nodos (*Cymodecea*, *Syringodium* y *Halodule*) o lignificado, simpodial y con raíces en los internodos (*Thalassodendrom* y *Amphibolis*). Ambos tipos de rizoma poseen pequeñas escamas.

Son plantas dioicas. Las flores femeninas son sésiles o con pedicelos cortos y se encuentran arregladas en inflorescencias cimosas (*Syringodium*) o bien solitarias en tallos o brácteas terminales (*Halodule*, *Cymodecea* y *Thalassodendrom*). Consisten de dos ovarios libres o desnudos que se encuentran cubiertos por brácteas. Los ovarios presentan estilos largos simples (*Halodule*) o bien estilos cortos que se dividen en 2 o 3 estigmas. Las flores

masculinas son sub-sésiles y consisten de dos anteras cuadriloculares unidas por la base y con dehiscencia extrosa. La polinización de las especies de esta familia en general es sumergida (hidrofilia). En casos excepcionales en áreas intermareales el polen puede transportarse por encima del agua (epidrofilia) como se ha reportado para *Halodule uninervis*, *Amphibolis antarctica* y *Thalassodendron* (Cox y Humphries, 1993; Les, 1988).

El óvulo es sub-ortótropo y péndulo. El fruto es indehiscente y muestra un pericarpio duro. En algunos casos sólo el endocarpo es duro mientras que el exocarpo es suave. El fruto de *Syringodium* retiene únicamente el endocarpo mientras que el exocarpo suave se pierde durante el desarrollo. La semilla consiste de la plúmula, una radícula reducida adyacente al hipocótilo cilíndrico y alargado que se encuentra empujado hacia la parte superior de la plúmula (McMillan, 1981). En *Syringodium* y *Halodule* el cotiledón y la plúmula están doblados dentro de una invaginación del hipocótilo mientras que *Amphibolis* posee un cotiledón largo y no presenta radícula. *Thalassodendron* y *Amphibolis* se producen plántulas vivipáras (Kuo y Kirkman, 1990).

DESCRIPCIÓN DE *Syringodium filiforme*

Syringodium filiforme Kütz (pasto manatí) pertenece a la familia Cymodoceaceae, se distribuye en el Atlántico Oeste (Green y Short, 2003). Se distribuye en el Mar del Caribe y el Atlántico (Fig.2).

Presenta reproducción fundamentalmente vegetativa por desprendimiento de partes de la planta y por el crecimiento de nuevos individuos a través de brotes rastreros. Pero también se presenta reproducción sexual por medio de semillas.

Las ramificaciones de las inflorescencias son racimosas, y esencialmente cimosas en los estados avanzados (Fig. 3). El tamaño de la inflorescencia depende de la edad y el vigor de la planta, las de mayor tamaño pueden tener de 30-50 flores en diferentes etapas de desarrollo (Tomlinson y Posluszny, 1978).

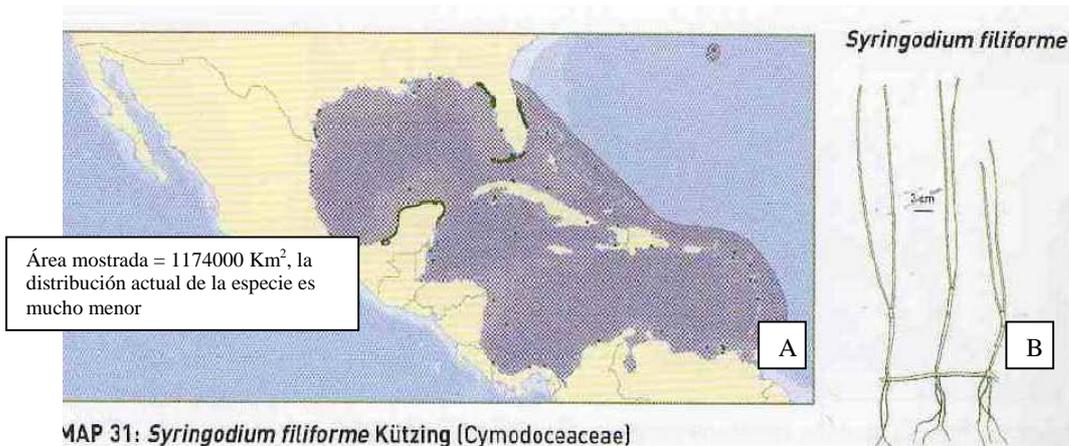


Figura 2: A. Mapa de México en donde se muestra la distribución de *Syringodium filiforme* en el Mar del Caribe, Golfo de México y el Oeste Atlántico. B. Esquema de la planta. Tomada del Green y Short, 2003.

Las flores masculinas y femeninas se desarrollan dentro de brácteas o espátelas que surgen de los meristemas florales contenidos en las hojas. La flor masculina consiste en cuatro pares de microsporangios encapsulados por una bráctea par. Está constituida por dos anteras que en la superficie tienen numerosas células alargadas con taninos. Los granos de polen son sumamente alargados 2 mm dando la apariencia de hilos finos. Tomlinson y Posluszny (1978) describen que la flor femenina es desnuda (sin sépalos ni pétalos), presenta un gineceo apocárpico bicarpelar con un óvulo por ovario.



Figura 3: Fotos de inflorescencias femeninas de *S. filiforme*. (Fotografías: Ricardo Wong.)

Desarrollo de fruto y semilla en *S. filiforme*

Los frutos de *S. filiforme* son de color café que puede ir de claro a oscuro. Son de forma redonda a oblonga, miden aproximadamente de 4.4 a 8.0 mm de largo, 2.0 a 3.0 mm de ancho y un promedio de 1.7 mm de grosor. Se encuentran aplanados por uno de los lados y se van estrechando hacia los extremos (McMillan, 1981) (Fig. 4).

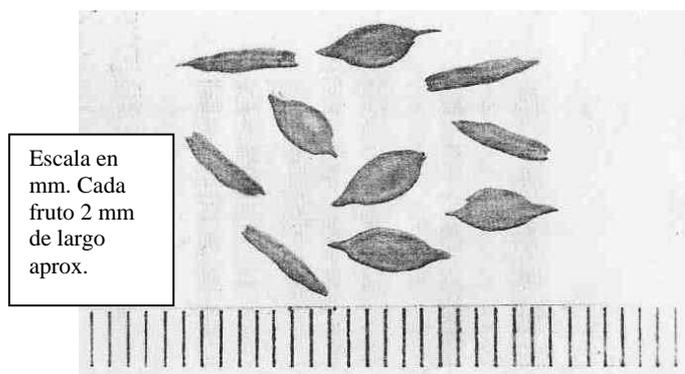


Figura 4: Frutos de *S. filiforme* con forma aplanada y ancha en el centro y estrechos hacia las orillas. Se presenta una escala para apreciar sus dimensiones. (McMillan, 1981).

En *S. filiforme* el pericarpio del fruto es persistente e indehiscente. La pared del fruto está compuesta por células delgadas del endocarpo que tiene de 7 a 10 células de grosor. La cubierta seminal se compone de 5 a 6 capas de células aplanadas y son poligonales. El embrión tiene un hipocótilo oblongo y el cotiledón se encuentra doblado dentro de una invaginación al lado de la lacinia (Bragg y McMillan, 1987). El tejido de almacenamiento que se ha reportado es el hipocótilo que almacena almidón. El meristemo radicular se localiza por debajo del nodo cotiledonario (McMillan 1981; Bragg y McMillan, 1987).

Germinación

En pastos marinos se ha reportado que tanto la temperatura como la salinidad afectan la tasa de germinación de las poblaciones (Hootsmans *et al.*, 1987). La germinación de semillas de *S. filiforme* en el Oeste Atlántico es aparentemente

anual y se da en un amplio intervalo de salinidad de 20-50 ppm. (McMillan, 1981), y a una temperatura máxima de 30°C (Hootsmans *et al.*, 1987). Todas las especies de pastos marinos tienen un rango de temperatura y salinidad óptimos en los cuales presentan los mayores porcentajes de germinación (McMillan, 1989).

El fruto de *S. filiforme* presenta latencia de tres años y presenta germinación a bajas tasas, continua y a lo largo de mucho tiempo (McMillan, 1981).

McMillan (1981) describió los pasos de la germinación para *S. filiforme*. Primero, las dos valvas del fruto se abren, posteriormente surge el cotiledón y la primera bráctea, después la primera hoja. La bráctea rodea la base de la primera y segunda hoja. Comienzan a aparecer las raíces adventicias por el nodo cotiledonario. Al parecer el pericarpio del fruto es persistente y se presenta adherido a la semilla sufriendo junto con ésta la dehiscencia para la germinación (Fig. 5).

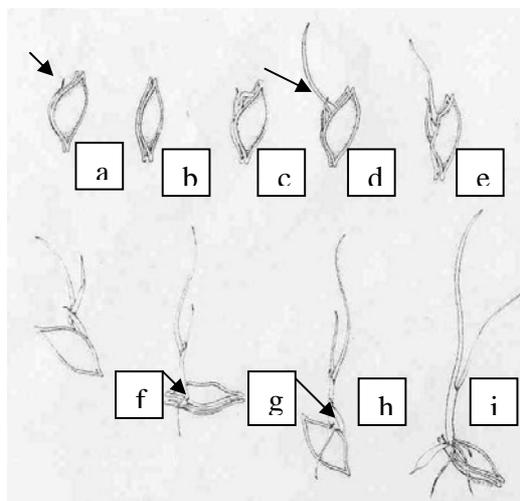


Figura 5: Pasos de la germinación descritos por McMillan (1981). En orden superior izquierdo a inferior derecho se observa: a y b, la dehiscencia de las valvas del fruto; c, el surgimiento del cotiledón; d, el surgimiento de las primera hojas; e, el surgimiento de la bractea; f y g, el surgimiento de las raíces adventicias y h, i, el desprendimiento del cotiledón. Foto tomada de McMillan, 1981

Banco de Semillas

En estudios realizados en el Oeste Atlántico se reporta que los frutos de *S. filiforme* contienen una sola semilla con cubierta seminal dura, no se encontró que forme bancos de semillas puesto que los frutos (con semilla) son escasos en el sustrato, aunque estimó una formación de semillas de 9000 por m² mediante el conteo de las cimas de *S. filiforme* (McMillan, 1981). La mayoría de los estudios de banco de semillas se han realizado con otras especies de pastos marinos (Bragg y McMillan, 1987; McMillan 1981, 1983; Orth, 2006; Poiner *et al*, 1987). Para *S. filiforme* se conoce poco acerca de aspectos ecológicos como la dinámica del banco de semillas.

Los estudios realizados con anterioridad (Bragg y McMillan, 1987; McMillan, 1981, 1983) no arrojan suficiente información para definir si existe o no banco de semillas para *S. filiforme* y cuál es la dinámica del mismo en el Caribe mexicano.

JUSTIFICACIÓN

Los pastos marinos desempeñan múltiples funciones en el ecosistema donde habitan: son productores primarios, son guarderías para muchos organismos y sus rizomas retienen la arena y evitan que ésta se pierda durante eventos climáticos catastróficos. La manera en que los pastos marinos se perpetúan es a través de la reproducción sexual y asexual.

Syringodium filiforme produce semillas y germinan, y existe un reporte de la posible formación de bancos de semillas. Dada la importancia de esta especie y la escasés de trabajos al respecto, el propósito de la presente investigación fue averiguar cómo se forma la semilla, cómo se dispersa y si al dispersarse forma o no bancos de semillas.

OBJETIVO GENERAL

- Conocer el desarrollo de la unidad de dispersión de *Syringodium filiforme*, el porcentaje de germinación y la posible formación de bancos de semillas.

MATERIAL Y MÉTODO

Área de estudio

Puerto Morelos (Fig. 6) se ubica en el estado de Quintana Roo al norte del municipio de Benito Juárez y constituye una de las tres delegaciones del mismo. Geográficamente se localiza en las coordenadas $20^{\circ}54'16''$ N $86^{\circ}49'30''$ W. Comprende un polígono cuyas coordenadas geográficas extremas son $21^{\circ}00'00''$ y $20^{\circ}48'33''$ latitud norte y $86^{\circ}53'14.40''$ y $86^{\circ}46'38.94''$ longitud oeste (Pág. en Red Conanp, 2009).

Su arrecife que se encuentra dentro de un parque nacional, forma parte de la segunda barrera arrecifal más grande del mundo dentro del gran cinturón de arrecifes del Atlántico Occidental.

En Pto. Morelos, el trabajo de laboratorio se realizó dentro de la unidad académica de Puerto Morelos perteneciente al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM. La parte correspondiente al trabajo de campo se realizó en los alrededores del muelle de la estación, donde se encuentran los pastizales.

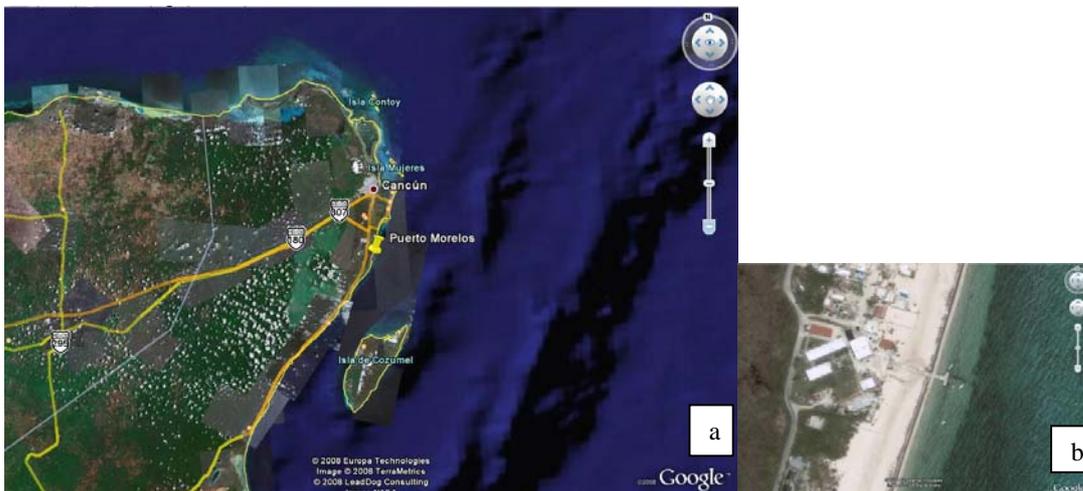


Figura 6. a. Mapa de la península de Yucatán donde se observa Quintana Roo. Puerto Morelos se ubica entre Playa del Carmen y Cancún. b. Acercamiento de la Unidad Académica de Puerto Morelos, ICMyL, UNAM. Fotografías tomadas de Google Earth, 2008.

Desarrollo del fruto y semilla

Se colectaron inflorescencias y frutos de *S. filiforme* en Puerto Morelos en Abril del 2003, Marzo- Abril del 2007 y Julio 2007. Parte de este material se proceso fresco en la estación y otra parte se fijo en FAA y transportó a la Facultad de Ciencias, UNAM en donde se conservó en un lugar fresco dentro de frascos de plástico.

Para la observación de muestras previamente fijadas en FAA

Selección de material

- Se utilizaron dos criterios para la selección de las diferentes etapas del desarrollo de semillas o frutos:
 - a. Posición del fruto con respecto al nodo principal y a la rama en la que se encuentra.
 - b. Por tamaño de acuerdo al largo del fruto:
 1. 0.4 – 1.0 mm
 2. 1.01 – 1.61 mm
 3. 1.62 – 2.22 mm
 4. 2.23 – 2.83 mm
 5. 2.84 – 3.44 mm
 6. 3.45 – 4.05 mm

- Los frutos se procesaron con técnicas convencionales de histología para poder describir el desarrollo del fruto y la semilla de *S. filiforme*. Los frutos grandes (etapas 4, 5 y 6) se procesaron para ser incluidos en paraplast mientras que los botones pequeños (etapas 1, 2 y 3) se procesaron incluyeron en resina LR-White. A continuación se describe cada procedimiento:

I. Deshidratación. Las diferentes etapas de los frutos se deshidrataron en una serie de alcoholes graduales (30%, 50%, 70%, 85%, 96% y 100%), 1 h en cada uno.

II. Inclusión. Este paso abarcó la infiltración del medio e inclusión del material, el cual se procesó para cortes semifinos en parafina y finos en LR-White.

- Parafina: El material deshidratado se puso en una mezcla 1:1 de alcohol 100%-xilol durante 1 h; en xilol puro por 5 min.; xilol-paraplast 1:1 durante 24 h y finalmente paraplast puro por 48 h.
- LR-White: El material deshidratado se colocó en 1:1 de alcohol-LR-White durante 1 día.

III. Montaje. Las muestras de parafina se montaron en cubos de metal con paraplast puro.

Las muestras de LR-White se incluyeron en LR-White puro (100%) en cápsulas de gelatina, las cuales se colocaron en una estufa a 56°C para que polimerizara la resina.

IV. Obtención de cortes. Los cortes en paraplast se obtuvieron con un micrótopo de rotación American Optical y fueron de entre 7-10 μ m.

Los cortes en LR-White semifinos se obtuvieron con un ultramicrotomo y fueron de 1 μ m.

IV. Tinción. Los cortes se tiñeron con la técnica de Safranina-Verde rápido en metilcelosolve (López *et al.*, 2005). Una vez teñidos, se montaron con resina sintética.

Las laminillas de LR-White se secaron en una estufa y se tiñeron con azul de toluidina.

V. Histoquímicas. Se aplicaron las pruebas histoquímicas Ácido peryódico – Reactivo de Schiff (tiñe polisacáridos insolubles), lugol (tiñe almidón), rojo "O" de aceite (tiñe reservas lipídicas, cutina y suberina) y vainillina (tiñe taninos).

VI. Observaciones. Las laminillas obtenidas por ambas técnicas se analizaron con microscopía óptica, usando técnicas de campo claro y contraste de fases.

El material fijado se deshidrató hasta alcohol al 100% como se mencionó anteriormente; posteriormente se secó hasta punto crítico con CO₂ y se bañaron con oro de 14k. Las muestras se observaron con MEB.

Pruebas de Germinación

Con respecto a la germinación de las semillas, se realizaron dos experimentos:

El primer experimento tuvo como objetivo registrar el porcentaje de germinación en un periodo de 4 meses.

- Se colectaron inflorescencias en abril y mayo del 2006 y se les retiraron los frutos. El 23 de mayo 2006 se colocaron en un acuario 100 frutoss y se cubrieron con malla ciclónica. Durante 4 meses se registró semanalmente el número de frutos germinados y se colectaron de 6 a 7 frutos que se fijaron en FAA para ser procesadas en el laboratorio.

El segundo experimento tuvo como propósito observar los cambios morfológicos que experimentaron las semillas colocadas en diferentes microambientes.

- Con 30 bolsas de 5 x 5 cm de malla ciclónica, se hicieron tres grupos para cada uno de los tres tratamientos y en cada grupo las bolsas se marcaron del 1 al 10. En cada una de ellas se colocaron 17 frutos previamente desprendidos de inflorescencias colectadas en abril y mayo del 2006. Los tres tratamientos fueron los siguientes:

1. Mesocosmo: Estanque de cemento que se encuentra expuesto a la luz del sol, con abastecimiento continuo de agua de mar, a temperatura ambiente y con sedimento (arena). Medidas 0.7 m ancho x 2.0 m largo x 0.56 m alto.

2. Acuario: Con flujo de agua de mar continuo, con temperatura controlada, sin sedimento y bajo techo (poca luz natural). Medidas 0.4 m ancho x 1.0 m largo x 0.4 m alto.
3. Mar: Cercanas al muelle de la Unidad Académica del ICMYL donde comienza la pradera.

A partir del 28 del junio y hasta el 25 de Octubre del 2006, cada 15 días se colectaron tres bolsas, una por cada tratamiento, inmediatamente los frutos se fijaron en FAA para posteriormente ser procesados con microtecnia convencional en el alboratorio.

Determinación del Banco de semillas

Para determinar la existencia de un posible banco de semillas de *S. filiforme* en la laguna arrecifal de Puerto Morelos se establecieron de acuerdo a la floración y fructificación, tres fechas de colecta: agosto del 2006, abril de 2007 y julio de 2007. Se seleccionaron dos sitios para muestrear: El Muelle y La Ceiba. El área correspondiente a El Muelle ($80^{\circ}52.060 N$ y $85^{\circ}52.022 O$) incluye la zona frente al ICMYL, en la cual los pastizales se encuentran a 3 m de profundidad. La Ceiba ($20^{\circ} 51' 34'' N$ y $86^{\circ} 51' 6.6'' O$) se encuentra cercana al hotel La Ceiba y los pastizales se encuentran a 4 m de profundidad.

Por medio de un nucleador (diámetro 4.4 cm) se extrajeron 4 muestras de suelo en un área de aproximadamente $1 m^2$, de 10 cm de profundidad cada una (Figura 7).

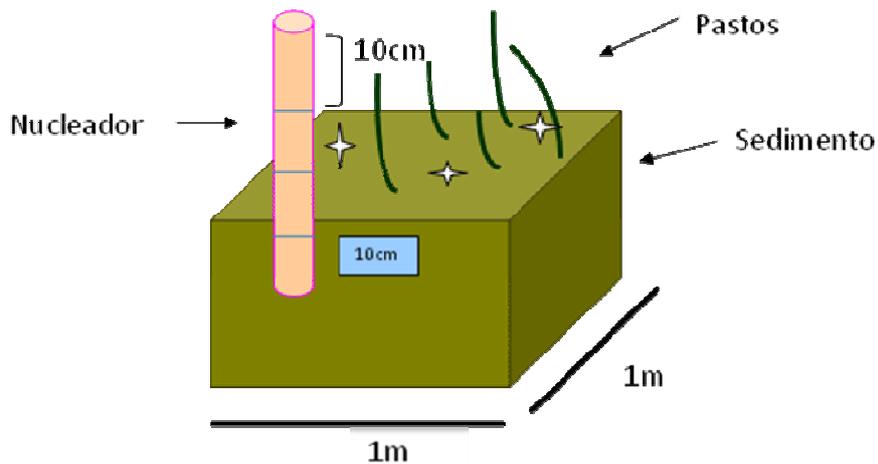


Figura 7: El área de muestreo es de 1 m². Cada vez que se mete el nucleador se introduce hasta la primera muesca (10 cm), se extrae y se mete al azar en otro punto, (estrella), en total se obtienen cuatro muestras de profundidad con un mismo nucleador.

En agosto de 2006 se extrajeron 15 núcleos en la Unidad y 16 núcleos en La Ceiba. En abril de 2007 se colectaron 17 y 10 núcleos respectivamente y en julio del mismo año se colectaron 20 núcleos en *La Ceiba* y 25 en el muelle. Se prosiguió a la limpieza de los nucleadores. Se revisaron las muestras de arena (gruesa y fina) con microscopio estereoscópico, se contó y registró el número de frutos por núcleo y se fijaron en FAA. Los frutos encontrados en los nucleadores de la Unidad Académica del ICMYL del periodo de abril del 2007, que se utilizaron para la prueba de viabilidad con tetrazolio.

Estimación de Potencial banco de semillas

El número de frutos/semillas que podrían potencialmente producirse en un área determinada fue estimado en una franja costera dominada por *Syringodium filiforme* de 28.3 m de largo por 3.6 m de ancho, el 30 de marzo del 2007. Esta zona se localizó en frente de la Unidad Académica del ICMYL, a una distancia aproximada de 50 m de la línea de costa y a una profundidad de aproximadamente 2 m. A cada intervalo de 1.3 m se colocó un cuadrante de 0.3 x 0.3. En cada cuadrante se contó el número de inflorescencias femeninas, y se

recolectaron al azar 5 cimas que se almacenaron en bolsas para posteriormente ser disectadas. En el laboratorio, de cada cima se contó el número de flores post y pre-antesis así como de frutos por cima, se sacó el promedio de producción de frutos por inflorescencia asumiendo que cada flor se convertirá en un fruto Posteriormente se calculó la producción de frutos por cuadrante.

I. Pruebas de herbivoría

Para evaluar la posible depredación de frutos recién liberados sobre el sedimento, o en las capas superiores del sedimento, se diseñaron los siguientes tratamientos (Fig. 8):

1. Control. Caja con la cara superior totalmente descubierta y sin barreras.
2. Exclusión de pez. Caja a la que se le colocaron hilos a lo largo y ancho de la cara superior.
3. Exclusión de pez y cangrejo. Caja completamente forrada con malla ciclónica.

Se colocaron 24 cajas (8 por cada tratamiento) a 200 m del muelle de Pto. Morelos (Fig. 8), el espacio entre cada una de ellas fue de 1m. Se introdujeron 10 frutos en cada una de las cajas. Las cajas de 21 x 10.5 cm se forraron con malla ciclónica con una porosidad de 3 mm y se realizaron ocho repeticiones de cada tratamiento obteniendo un total de 24 cajas. Se colocaron el 02 de Abril del 2007 y se retiraron el 09 de Abril del mismo año. Posteriormente se contó el número de frutos en cada caja.

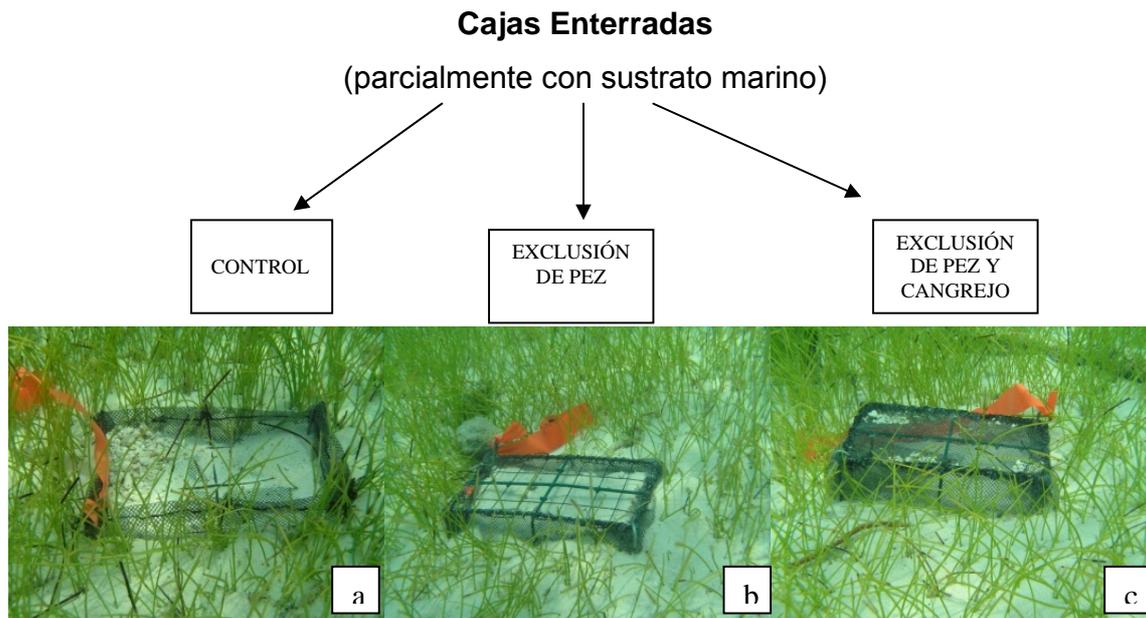


Figura 8. *S. filiforme*, Fotos de los cuadrantes in situ de los diferentes tratamientos. a) control, no se observan hilos; b) exclusión de pez, se observan hilos formando pequeños cuadros; c) exclusión pez y cangrejo, cubierto todo con red

II. Coteo de plántulas

Otro estudio consistió en un registro visual del arenal (área aproximada 50 x 30 m) colindante a la franja costera de *S. filiforme* marcar dos cuadrantes de 50 m x 30 m a ambos lados del muelle y contar el número de frutos o plántulas encontradas. Cada plántula significó que hubo una semilla que germinó debido a que no se puede decir que esas plántulas fuesen de propagación asexual debido a su lejanía con respecto a las poblaciones. El modo en que del recorrido se muestra en la figura 9.

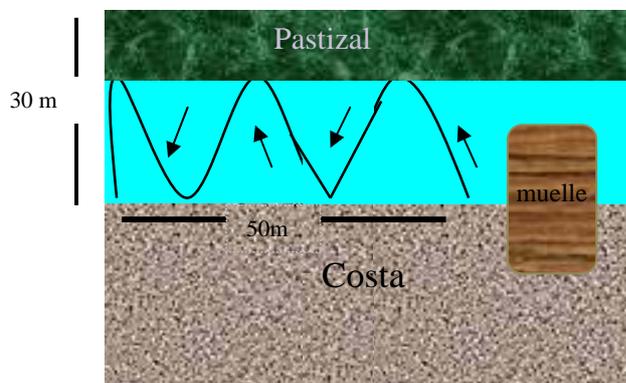


Figura 9. Se muestran los cuadrantes de recorrido a lado izquierdo del muelle (en café). La forma de recorrerlo fue oscilatoria desde el muelle hasta los 30 m y de regreso. Conforme se aleja de la costa, la profundidad va aumentando, de modo que a los 30 m es de aproximadamente 3 m, que es en donde comienzan los pastizales.

Prueba de viabilidad

A través de la prueba del tetrazolio (Moreno, 1984) se determinó la viabilidad de las semillas que se encontraron en los nucleadores en abril del 2007. Para comprobar la efectividad de la prueba, se estableció un control con frutos frescos adheridos aún a la cima. Con el objeto de permitir el paso del cloruro de trifenil tetrazolio, se realizó una punción en el fruto o se les removió totalmente el pericarpio. Se preparó una solución al 0.1% y otra al 1.0% preparados ambos en agua de mar y agua dulce para evaluar la efectividad de cada uno. El tetrazolio (incoloro) al ser aplicado sobre una estructura viva, reacciona con el hidrógeno, producto de diversas reacciones metabólicas, reduciéndose en un compuesto llamado farmazán de color rosa a rojo, tiñendo las zonas meristemáticas activas (plúmula, radícula). Cuando el embrión no fue viable no se presentó tinción.

La interpretación de los resultados se realizó de siguiendo los criterios del Dr. Moreno (1984).

Se prepararon dos soluciones stock con la siguiente relación :

1g tetrazolio —————> Aforar a 100 ml con agua destilada

1g tetrazolio —————> Aforar a 100 ml con agua de mar

Se ajustó el pH de la solución a 7.3 con NaCl y HCl.

Una vez que se comprobó que la prueba funcionaba se aplicó a los frutos de los sedimentos obtenidos en los nucleadores, ya que estos forman parte del banco de semillas.

Prueba de polinización

El primero de abril del 2007 se colectaron inflorescencias en el Muelle del ICMYL. En fresco, se separaron las flores que se consideraron en antesis: brácteas encerrando las flores, las puntas de los estigmas ligeramente asomados por encima de la bráctea, sin oxidar y que no presentaran fisuras en los estigmas (Fig. 10). Se seleccionaron las flores masculinas en antesis, se les retiró el polen y se

colocó en una caja de petri. Las flores femeninas ($N_{\text{total}} = 24$) seleccionadas se polinizaron manualmente y se fijaron en FAA. En el laboratorio se les aplicó azul de anilina para observar el crecimiento de tubos polínicos con el microscopio de fluorescencia.



Figura 10. Flor femenina en anthesis. Se observa que las bracteas cubren parte de la flor dejando expuestas ligeramente las puntas estigmáticas las cuales se observan sin maltratar.

RESULTADOS

Morfología de la Inflorescencia

Se observó una inflorescencia de tipo cimosa en la cual las flores y frutos se encuentran en diferentes etapas de desarrollo, desde botones florales hasta frutos maduros, y sin un orden aparente con respecto al tallo o a la base o ápice de la inflorescencia (Fig. 11 b). Al parecer cada una de las flores puede ser fecundada de manera individual puesto que con frecuencia se observó un fruto joven o maduro con una flor en el mismo nodo,

Cada nodo floral sostiene dos flores idénticas, contrapuestas y sésiles. La flor se compone de el gineceo sin perianto conteniendo una semilla, el estilo corto y hueco, el estigma largo, bifurcado y delgado y un pedicelo reducido. Ambas flores se encuentran unidas por un pedúnculo corto (Fig. 11 c, d); y cubiertas por una bráctea (Fig. 12 a, b). Conforme se van desarrollando el fruto y la semilla, el estigma se oxida y se desprende casi completamente quedando en el fruto maduro sólo el estilo engrosado y el pedicelo reducido.

Cada carpelo al inicio de su desarrollo tiene una forma esférica, conforme el crecimiento avanza adquiere una morfología diferente con una mitad plana y otra convexa, de tal manera que ambos carpelos tienen viendo hacia el mismo lado (frente a frente) a sus partes planas, y opuestas a las convexas (Fig 13 a, b). Hay un solo óvulo por carpelo y este se origina en la parte plana del ovario. El haz vascular entra por le pedicelo y posteriormente se bifurca para entrar a cada flor (Fig. 13 c, d).



Figura 11. INFLORESCENCIAS Y FLORES **a.** Cima donde se observan las ramificaciones y las flores y frutos en diferentes etapas de desarrollo sin una secuencia de maduración determinada de la inflorescencia. **b.** Acercamiento de ramificación donde se observan flores y frutos. **c.** Acercamiento de una flor femenina donde se observan las brácteas cubriendo a la flor y únicamente los estigmas largos se asoman por encima de esta (flecha). **d.** Flores a las cuales se les han quitado las brácteas, se observa el estigma bifurcado, estilo y ovario redondeado.

Eg- estigma, **El-** estilo, **O-** ovario, **Pd-** pedúnculo

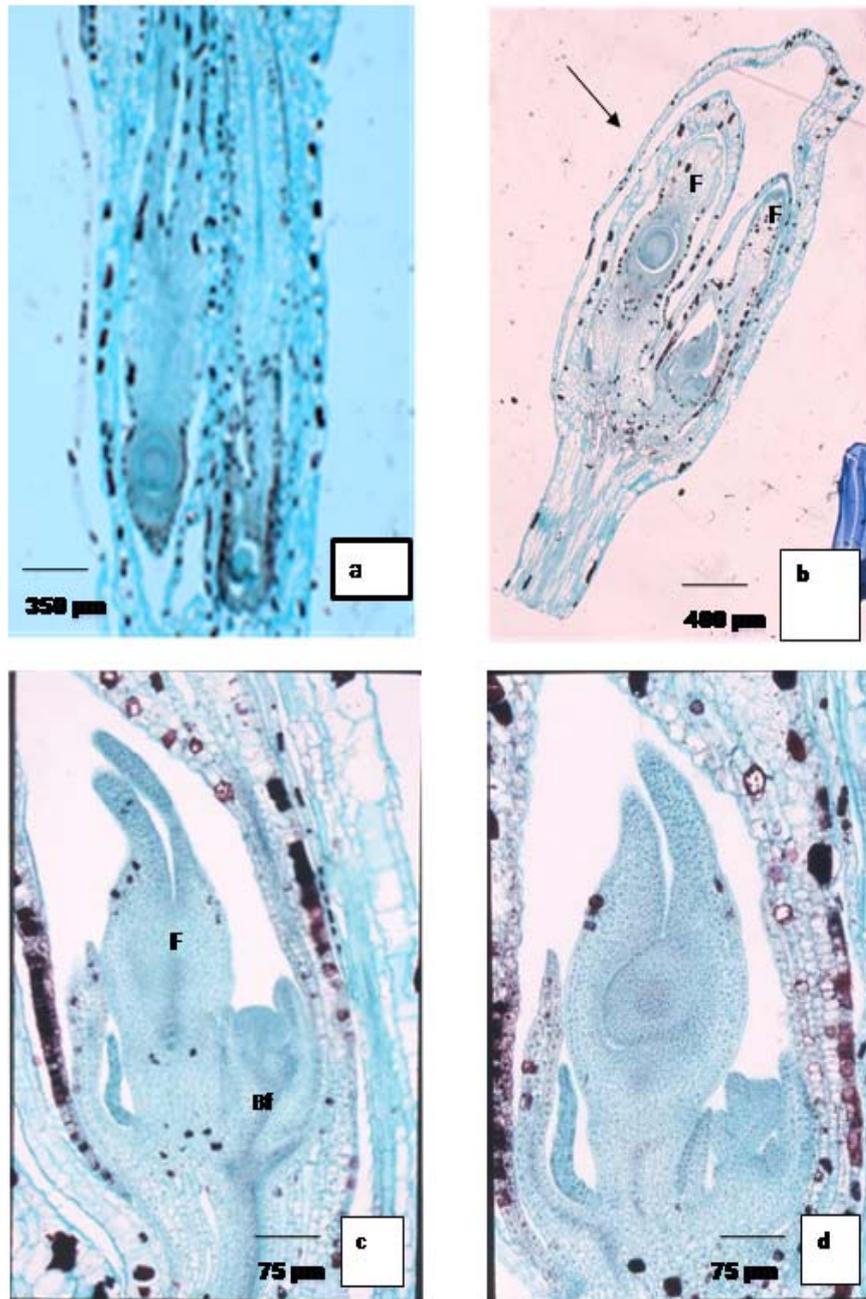


Figura 12. CORTE LONGITUDINAL DE BOTONES FLORALES vistos con Microscopía de luz, campo claro **a.** Se observan los dos carpelos cubiertos por brácteas. La flor presenta ovario, estilo y estigma bifurcado. **b.** Bráctea principal cubriendo los dos carpelos. **c.** Botón floral (flecha) junto a flor en desarrollo que posee estigmas diferenciados. **d.** Corte longitudinal de flor, el ovario y el óvulo.

Bf- botón floral, **F-flor**

ESTRUCTURA Y DESARROLLO DE LA SEMILLA

ESTRUCTURA DEL ÓVULO

El óvulo es sésil, pendulado, casi ortótropo y crasinucelado (Fig. 13 b, c).

La célula madre de la megaspora que ocupa una posición subhipodérmica, después de la meiosis forma una tétrada de megasporas lineal (Fig 14 a, b, c). La megaspora funcional es la calazal (Fig. 14 a, b).

El óvulo es bitégmico endóstomo en el cual el tegumento externo se desarrolla más rápido que el interno (Fig. 14 d). El micrópilo se encuentra orientado en línea recta con respecto a la calaza y se forma por el tegumento interno que siempre es triestratificado, mientras que el tegumento externo puede tener más de tres estratos. Se observó que el haz vascular penetra por la zona de la placenta y termina en la zona calazal. En la zona de la calaza, existe una región denominada hipostase que posee células con abundantes taninos. El saco embrionario, pequeño con respecto al tamaño del óvulo, se encuentra conformado por tres antípodas, dos sinérgidas (Fig. 15 a, b), una célula huevo y una célula central con dos núcleos polares prominentes (Fig. 15 c). Las células antípodas se encuentran hacia el extremo calazal en posición triangular, a veces se fusionan y se llega a ver una sola y gran antípoda. (Fig. 15 b, d).

DESARROLLO DE LA SEMILLA

La semilla en etapas jóvenes no muestra histodiferenciación, la etapa más temprana que se observó consiste de un embrión globoso. Posteriormente este embrión presenta un alargamiento que dará lugar al cotiledón, mientras que el hipocótilo se mantiene globoso y alargado (Fig. 16 a, b). Conforme se va alargando el cotiledón se observa la diferenciación del meristemo apical y tiempo después el del meristemo radicular (Fig. 16 c). El procambrium se curva mientras la radícula se ubica en línea recta con el epicótilo y por debajo de la inserción del hipocótilo. Posteriormente se encuentran el primer

primordio foliar junto con el meristemo apical encerrados dentro de una cavidad hueca (Fig. 16 d, e) que no se encuentra completamente sellada. La semilla es globosa y cilíndrica en las etapas más jóvenes, mientras que en las etapas maduras el hipocótilo se ensancha radialmente y el cotiledón se elonga. El meristemo apical presenta una histodiferenciación túnica-carpus (Fig. 16 d, e).

MORFOLOGÍA DE LA SEMILLA

La semilla madura está constituida por el tejido de reserva, la cubierta seminal y el embrión (Fig. 17 a, c) que tiene dos primordios foliares, el meristemo apical y la radícula (Fig. 17 b, d y Fig. 18 c, d, e, f), El hipocótilo, que toma la función de tejido de reserva, es el más abundante y ocupa la mayor parte de la semilla (Fig. 18 a, b). Presenta células redondeadas de gran tamaño y es fundamentalmente almidonoso con reacción positiva para el Reactivo de Schiff – Ácido periyódico - Azul negro de naftol (tiñe proteínas) y Lugol (Fig. 19 c, d, e, f y g).

El meristemo apical se encuentra dentro del coleóptilo que se a su vez se observa dentro del cotiledón, sin embargo se nota la diferencia entre ambos tejidos (Fig. 20).

La etapa máxima de desarrollo observada en las semillas que se colectaron directamente de las inflorescencias y fueron analizadas mediante microtecnica fue de entre dos y cuatro primordios foliares. Las semillas en el interior de los frutos encontrados mediante los nucleadores presentaron esta misma etapa de desarrollo.

CUBIERTA SEMINAL

La cubierta seminal tiene un grosor de 30 μm , y presenta cuatro estratos de células irregulares, alargadas y aplanadas, el segundo estrato, próximo a la pared del fruto, presenta inclusiones de taninos. (Fig. 19 a, b).

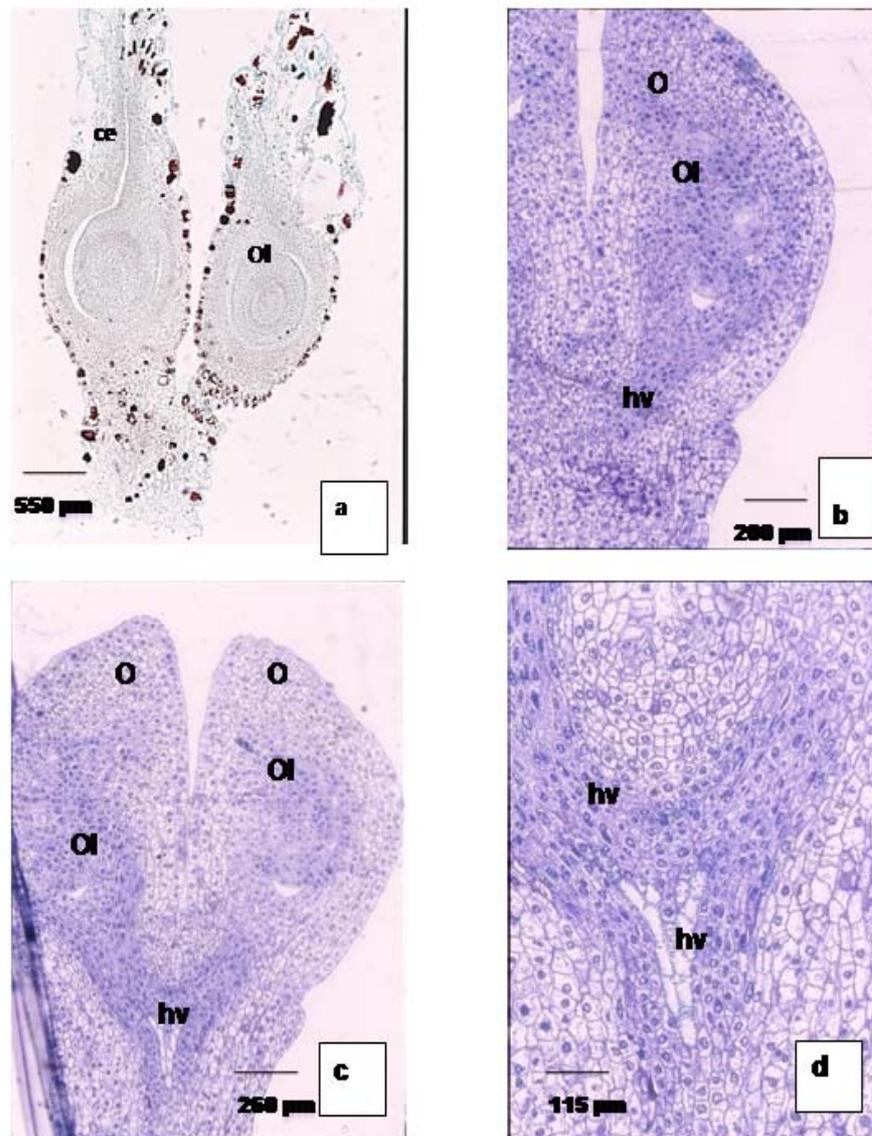


Figura 13. MORFOLOGÍA DE LA FLOR. Microscopía de luz, campo claro. **a.** Gineceo compuesto por dos carpelos, se observa el canal estilar en ovario izquierdo. **b.** Óvulo con el micrópilo orientado hacia la parte contraria a la entrada del haz vascular. **c.** Se observan el crecimiento de los tegumentos que formarán el micrópilo. **d.** Acercamiento donde se observa el haz vascular que se divide para dirigirse hacia cada óvulo.

O- ovario, **hv-** haz vascular, **OI-** óvulo, **ce-** canal estilar

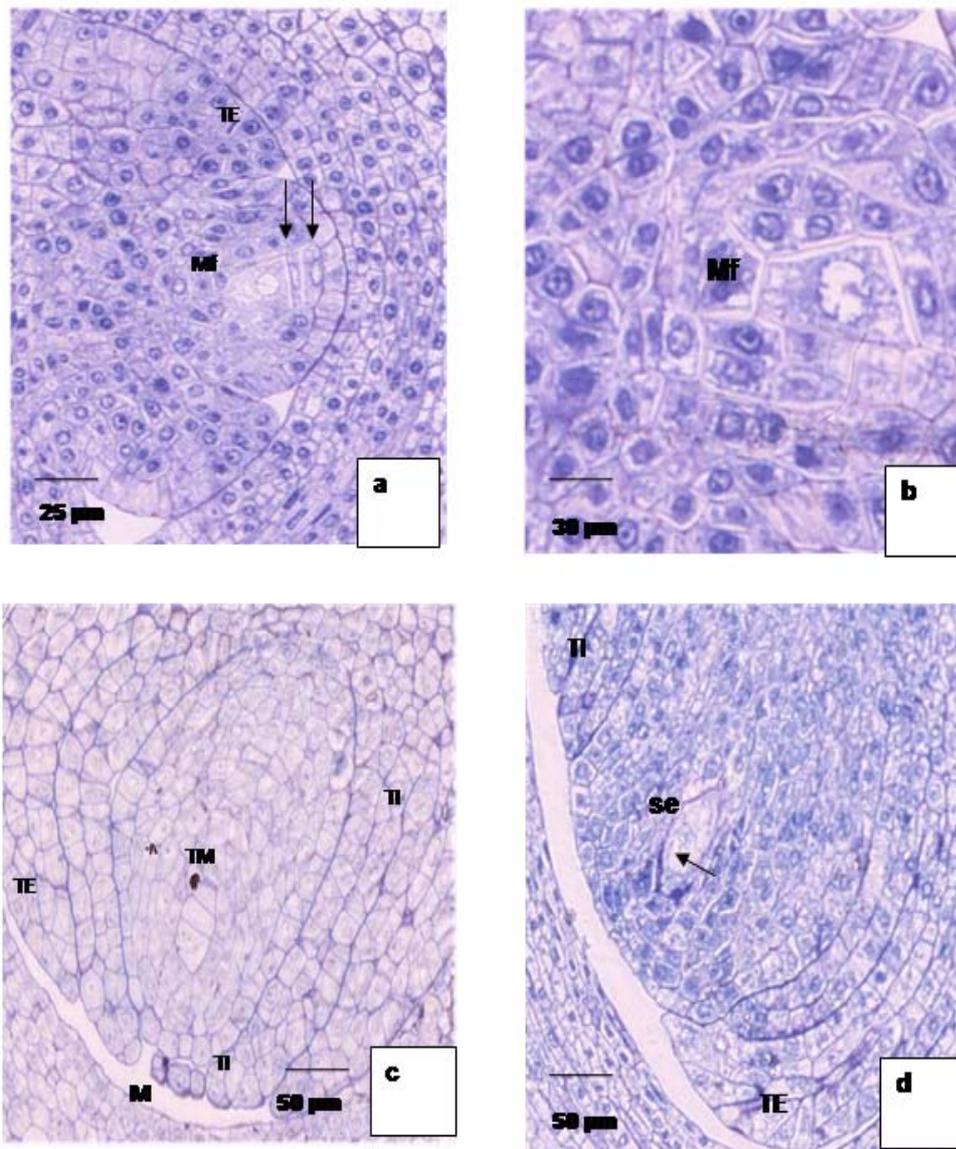


Figura 14. CORTE LONGITUDINAL DE OVULO. Microscopía de luz, campo claro. **a.** Óvulo inmaduro con un tegumento, se observa la división de la. **b.** Megaspora funcional hacia zona calazal, resto de megasporas no funcionales (flechas), tegumento externo en desarrollo. **c.** Megaspora funcional dividiéndose para dar lugar a saco embrionario. **d.** tegumento externo mas desarrollado que tegumento interno, saco embrionario pequeño y ovoide con sinérgidas, tegumento externo, tegumento interno y nucela (flecha).

TE- tegumento externo, TI- tegumento interno, MF- megaspora funciona, Tm- tétrada de la megaspora, M- micropilo, se- saco embrionario. nu- nucela

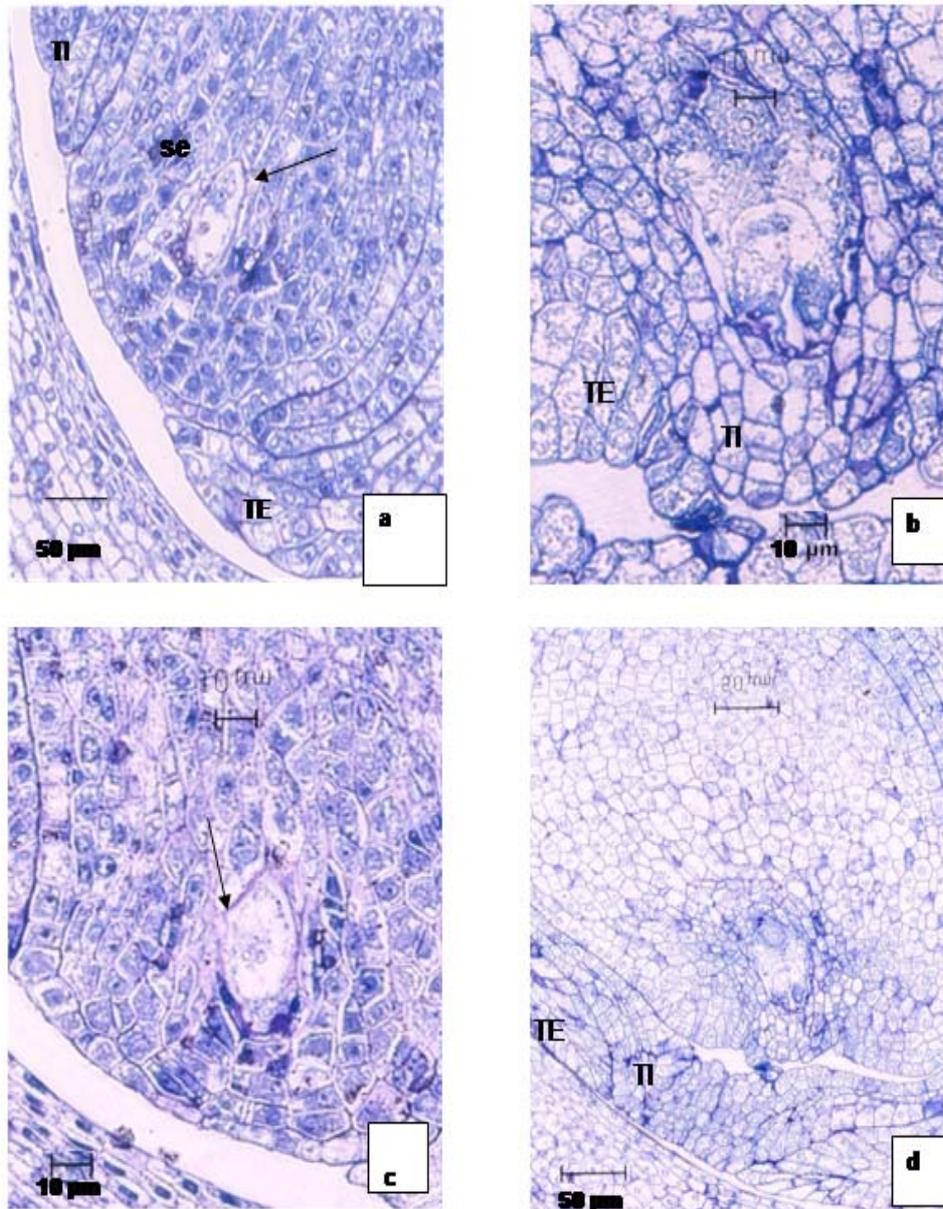


Figura 15. CORTE LONGITUDINAL DE ÓVULO MADURO. Microscopía de luz, campo claro (CC) **a.** Saco embrionario con antípodas (flecha) y célula central. **b.** Saco embrionario donde se observa una antípoda. **c.** Célula central binucleada (flecha). **d.** Óvulo maduro con micrópilo formado (flecha) por tegumento interno y saco embrionario con antípoda y dos sinérgidas.

TE-tegumento externo, TI-tegumento interno, se- saco embrionario

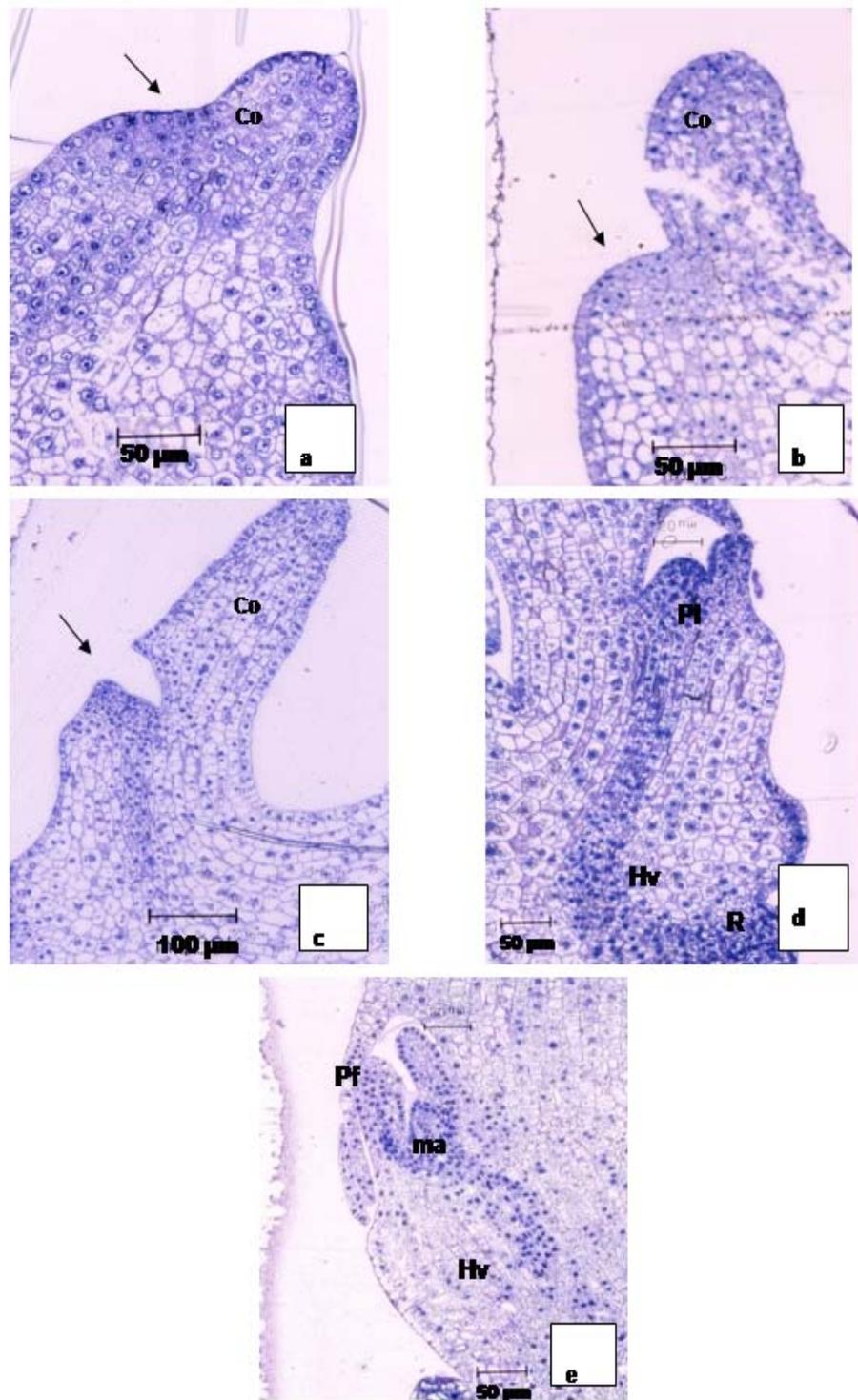


Figura 16. CORTE LONGITUDINAL DE EMBRION. Microscopía de luz, campo claro. **a.** Desarrollo del meristemo apical y el cotiledón. **b y c.** Mayor crecimiento y diferenciación del meristemo apical y el cotiledón **d.** Haz vascular . **e.** Meristemo apical con dos primordios foliares.

Co-Cotiledón, **Hv-**Haz vascular, **ma-** Meristemo apical, **Pl-** Plúmula, **R-** Radícula

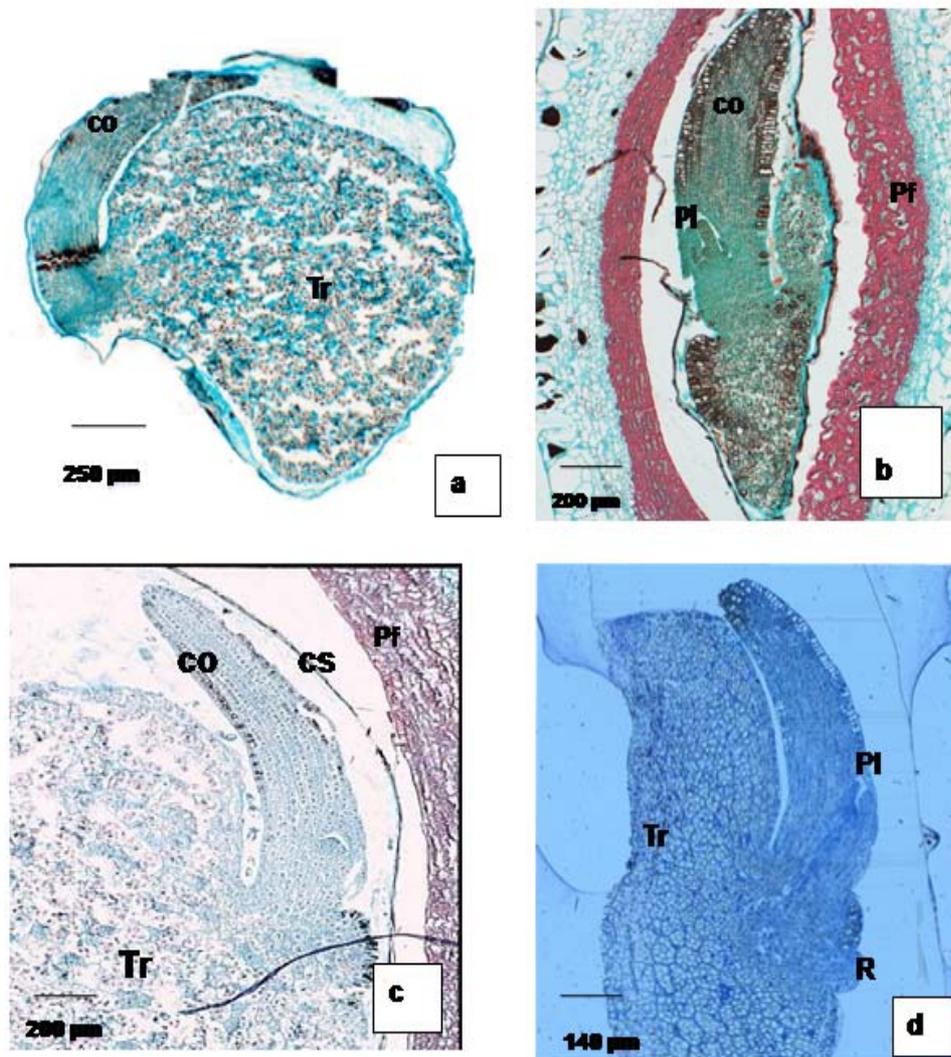


Figura 17. CORTE LONGITUDINAL DE LA SEMILLA MADURA. Microscopía de luz, Campo Claro (CC). **a.** Corte longitudinal de semilla, con la cubierta seminal, cotiledón e hipocótilo que es el tejido de reserva. **b.** Plúmula dentro del coleoptilo envuelto por el cotiledón, la radícula y tejido de reserva. **c.** Vista de semilla dentro de fruto, con el cotiledón y la plúma, la cubierta seminal y el tejido de reserva abundante. **d.** Acercamiento a la zona de la plúmula donde se observa el mersitemo apical con dos primordios foliares.

co- cotiledón, cs- cubierta seminal, Pl- plúmula, R- radícula, Tr- tejido de reserva, Pf- pared del fruto

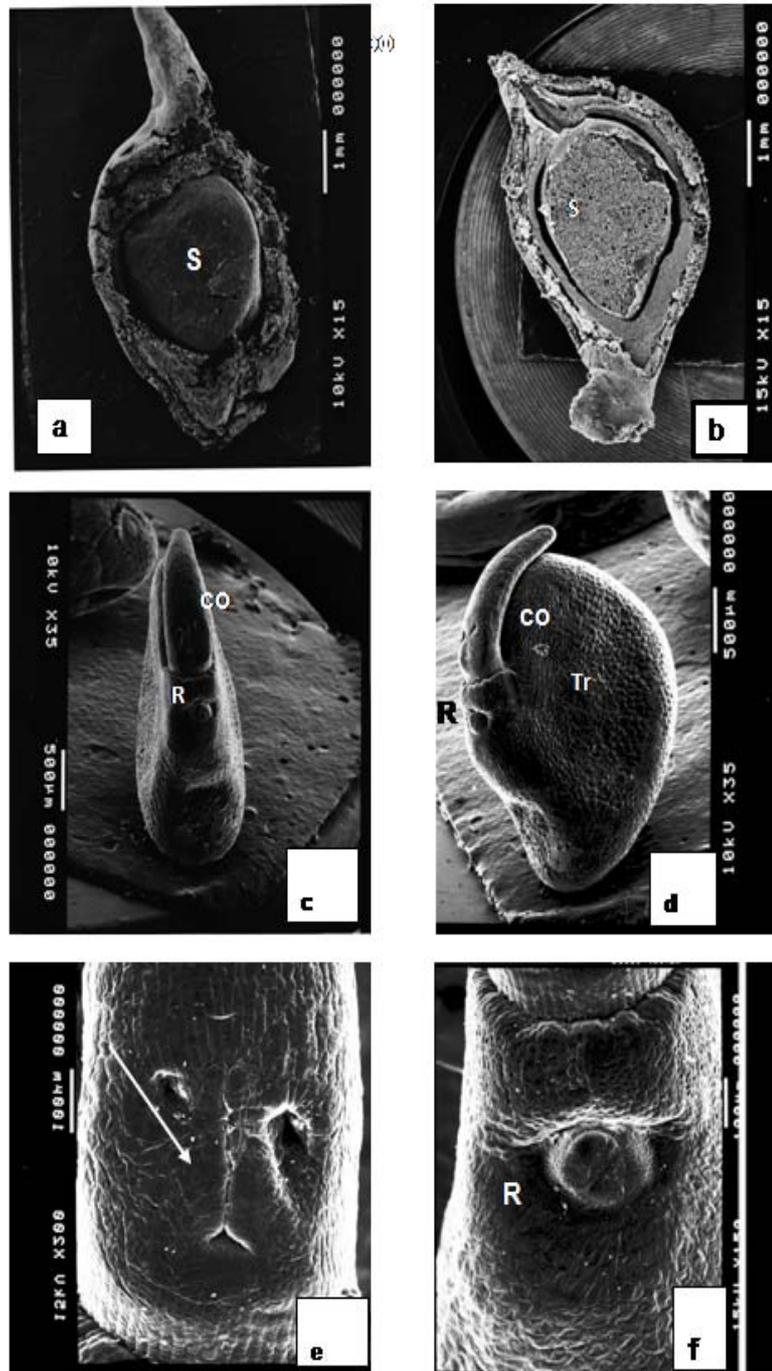


Figura 18. MORFOLOGÍA DE LA SEMILLA. MEB. a. Corte longitudinal de fruto incluyendo a la semilla con cubierta seminal. b. Corte longitudinal de fruto donde se observa la semilla a la que se le removió la cubierta seminal. Se observa el hipocótilo con abundante tejido de reserva y cotiledón. c. Vista frontal de la semilla, se observa el cotiledón curvo y alargado y la radícula por debajo de este. d. Vista lateral del embrión, se observa al hipocótilo que contiene abundante tejido de reserva, el cotiledón y la radícula. e. Acercamiento al área de la plúmula (flecha). f. Acercamiento al área de la radícula redondeada.

co- cotiledón, R- radícula, S- semilla, Tr- tejido de reserva

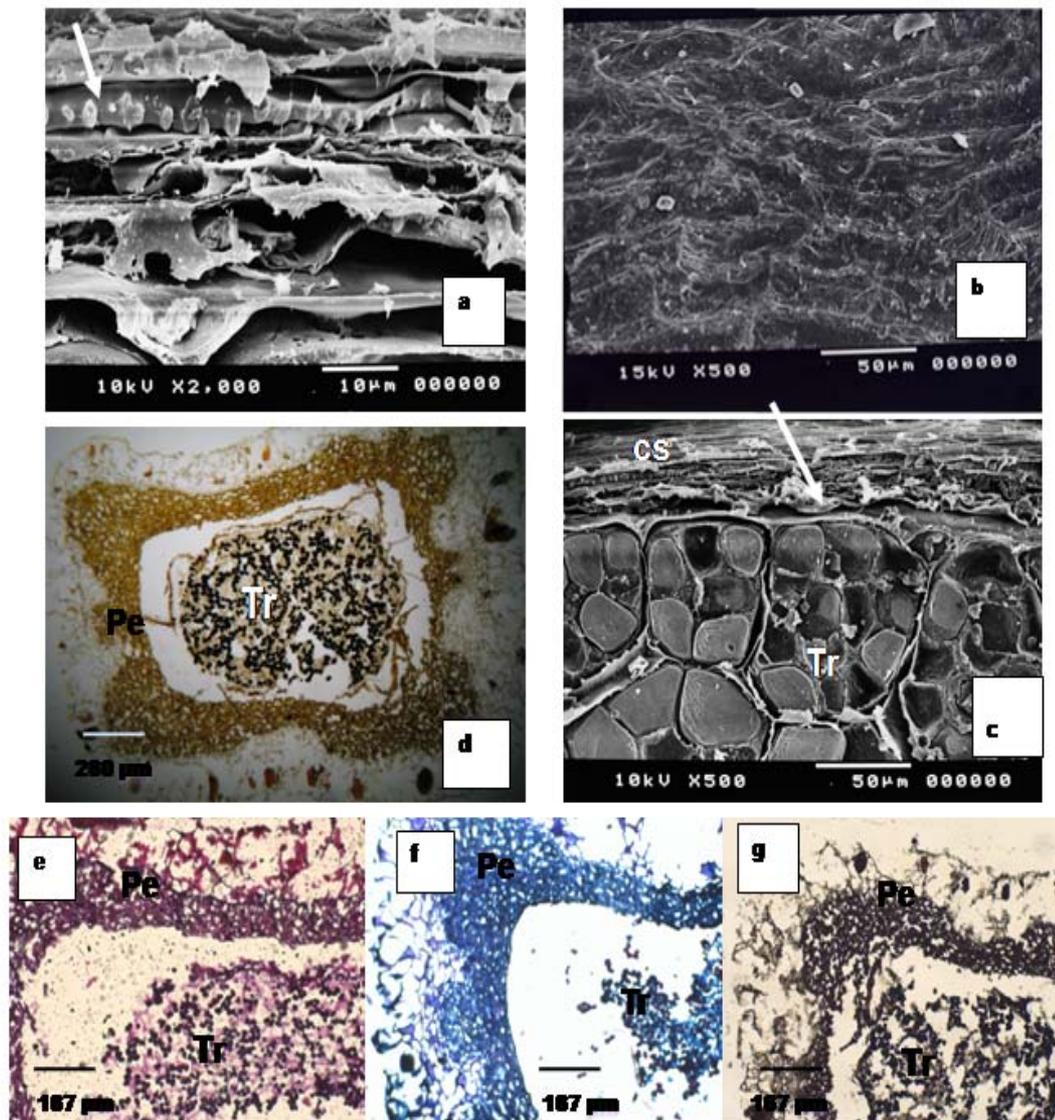


Figura 19. CUBIERTA SEMINAL E HISTOQUÍMICAS DE LA SEMILLA. **a.** Microscopía electrónica de barrido (MEB). Cubierta seminal tetraestratificada, segunda capa con taninos redondeados (flecha). **b.** MEB. Células de cubierta seminal de forma irregular alargadas. **c.** MEB. Cubierta seminal de células aplanadas delgada. Depositiones del tejido de reserva (flecha). **d.** Microscopía de luz, CC. Histoquímica lugol que evidencia el almidón de color café oscuro a negro. **e.** Microscopía de luz. Histoquímica Ácido periyódico – reactivo de Schiff. Se observan los polisacáridos insolubles (almidón) en rosa en el tejido de reserva. **f.** Ácido periyódico- Reactivo de Schiff – Azul negro de naptol. Polisacáridos insolubles del tejido de reserva en magenta, proteínas de color azul. **g.** Microscopía de luz. Lugol. Almidón del tejido de reserva de color café oscuro a negro.

Tr- tejido de reserva, cs- cubierta seminal, Pe- pericarpio

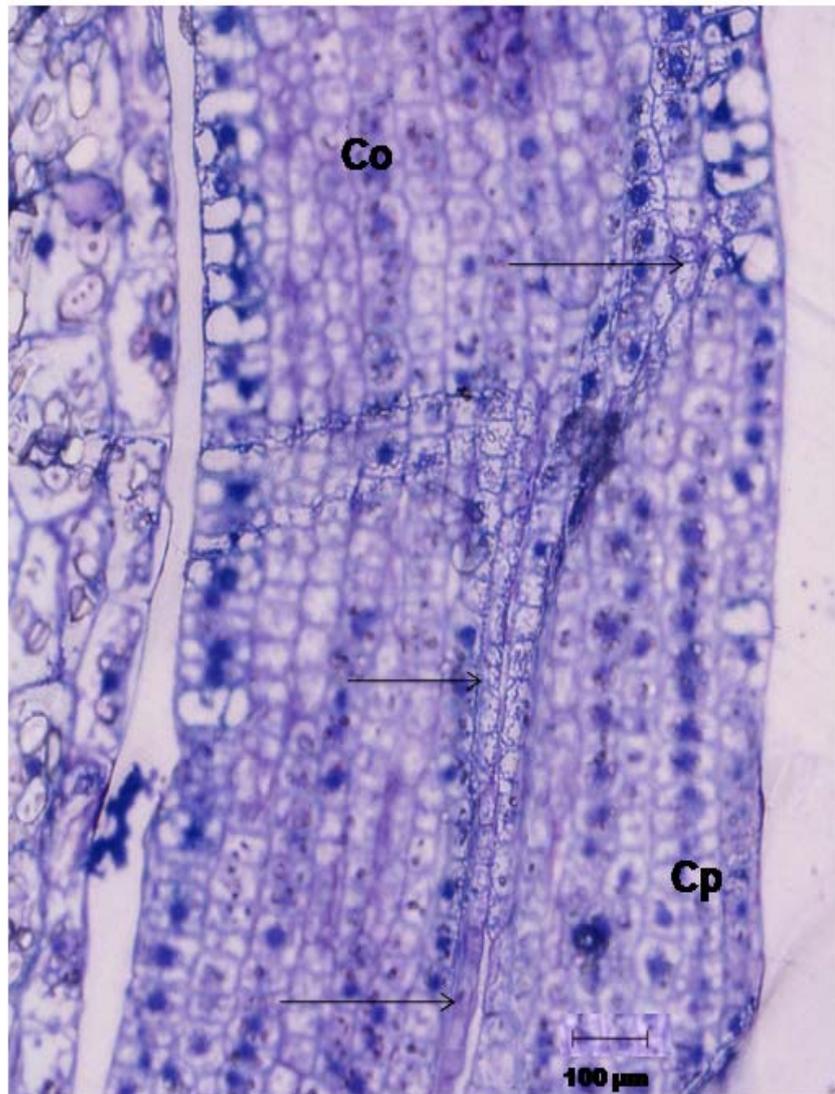


Figura 20. COLEOPTILO. Se observa la separación entre el cotiledón y el coleoptilo (flechas).

Co-cotiledón, **Cp-**coleoptilo

ESTRUCTURA Y DESARROLLO DEL FRUTO

MORFOLOGIA DEL FRUTO

El fruto joven posee un ovario ovoide y ligeramente ensanchado (Fig. 21 b, c). En la madurez el fruto se ensancha radialmente y se observan remanentes del pedicelo y estilo (Fig. 21 e), es seco e indehisciente de color verde brillante (Fig. 21 a, d y Fig. 22 a), con manchas oscuras que corresponden a las inclusiones de taninos que se encuentran en el exocarpo (Fig. 22 b).

Una vez polinizada la flor comienza la depositación de taninos en los estigmas, tornándose oscuros en la punta. Conforme pasa el tiempo estos se oscurecen más y se desprenden. En el fruto maduro sólo se conserva una parte muy pequeña del estigma. El estilo es corto y hueco. Y se observó un pedicelo muy reducido uniendo al fruto con el pedúnculo.

ESTRUCTURA DEL FRUTO

La pared del fruto o pericarpo está formado por tres capas de grosor variable: exocarpo, mesocarpo y endocarpo (Fig. 22 c, d). La capa externa del exocarpo está conformada por células cúbicas o casi cúbicas de paredes muy delgadas y con inclusiones del taninos (Fig. 22 e, f y Fig. 23 c, d). El mesocarpo está compuesto de células de paredes primarias y redondas (Fig. 23 a, b, e). El endocarpo se encontró sumamente lignificado con depósitos concéntricos de lignina (Fig. 23 a, b, f).

DESARROLLO DEL FRUTO

En las primeras etapas de desarrollo del fruto el pericarpo se encuentra dividido en dos estratos, de los cuales el más evidente es el exocarpo. Posteriormente la capa menos definida dará origen al meso y endocarpo respectivamente. El exocarpo transparente y suave, presenta de 2 a 3

estratos de células que contienen depósitos de taninos en forma de cristales, es la parte más externa del fruto (Fig. 24 a, b). El mesocarpo tiene una coloración verde brillante, con 10 estratos al inicio del desarrollo del fruto que se reducen a 1 o 2 hacia el final del desarrollo (Fig. 24 a, b, c, d). El endocarpo, que es la capa más interna del fruto, en la etapa de fruto joven está formado por 1 a 3 estratos de células y conforme avanza el desarrollo las células de éste se dividen hasta formar una capa de 11 a 12 células con paredes secundarias lignificadas en el fruto maduro de hasta 11 o 12 estratos celulares (Fig. 24 e, f).

El fruto posee una zona denominada lacinia adyacente al embrión que se desprende durante la germinación de la semilla permitiendo que el embrión se esponga. En esta zona, el endocarpo está constituido únicamente por dos estratos celulares tornándose en una zona débil que se rompe por la presión que ejerce el embrión durante su crecimiento. (Fig. 25 a, b, c, d, e).

UNIDAD DE DISPERSIÓN

La unidad de dispersión es el fruto. (Fig 26 a).

Se observó que los frutos pierden el exo y mesocarpo una semana después de que éste es dispersado y se encuentra en el sedimento. De modo que durante el tiempo que reste para la germinación, el fruto conserva solo el endocarpo. Una vez que la semilla está lista para germinar, el fruto se abre a través de la lacinia y la primera estructura de la semilla que emerge es el cotiledón.

Puesto que el fruto es indehisciente, la plántula germina a través del fruto que la dispersa (Fig. 26 b).



Figura 21. MORFOLOGÍA DEL FRUTO. **a.** Fruto joven al cual se le han separado las brácteas, se observan restos de los estigmas oxidados en la punta. **b.** MEB. Frutos jóvenes con estigmas reducidos y ovario ensanchado. **c.** MEB. Acercamiento de ensanchamiento radial del ovario, se observa un carpelo ligeramente más ancho que el otro. **d.** Fruto maduro ensanchado radialmente con remanentes del estigma (flecha). **e.** MEB. Carpelos donde se observa un fruto maduro y uno no desarrollado.

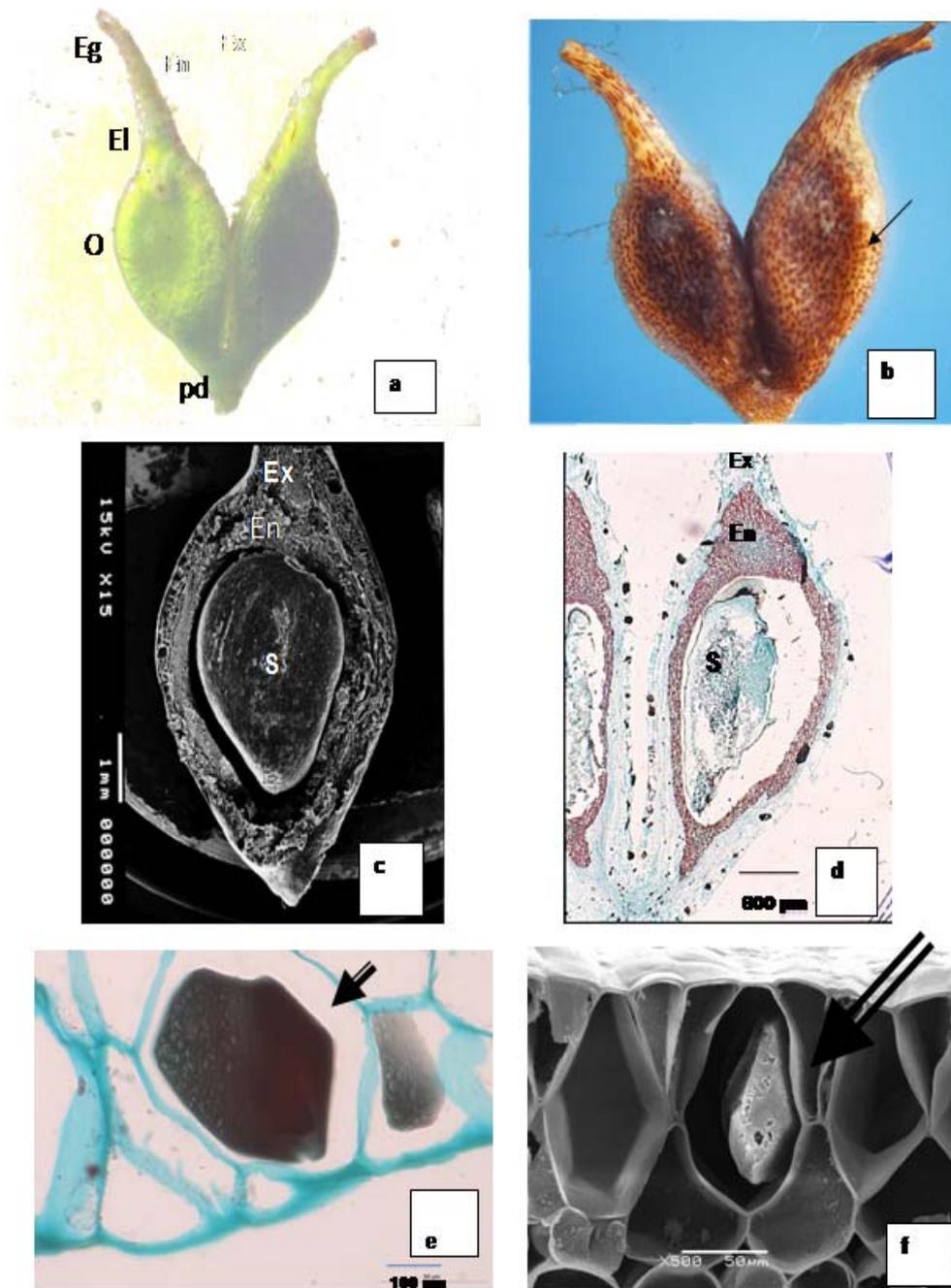


Figura 22. FRUTO. **a.** Fruto maduro de color verde brillante. **b.** El fruto después de ser fijado en FAA pierde color y los taninos se hacen evidentes (flecha). **c.** MEB. Fruto disectado longitudinalmente, se observa la semilla pendular ovoide. **d.** Microscopía de luz, CC. Corte longitudinal de fruto donde se observa en rojo el endocarpo lignificado. **e.** Microscopía de luz, CC. Corte donde se observa la depositación de taninos (flecha) en exocarpo. **f.** MEB. Tanino (flecha).

Ex-exocarpo, En-endocarpo, S- semilla

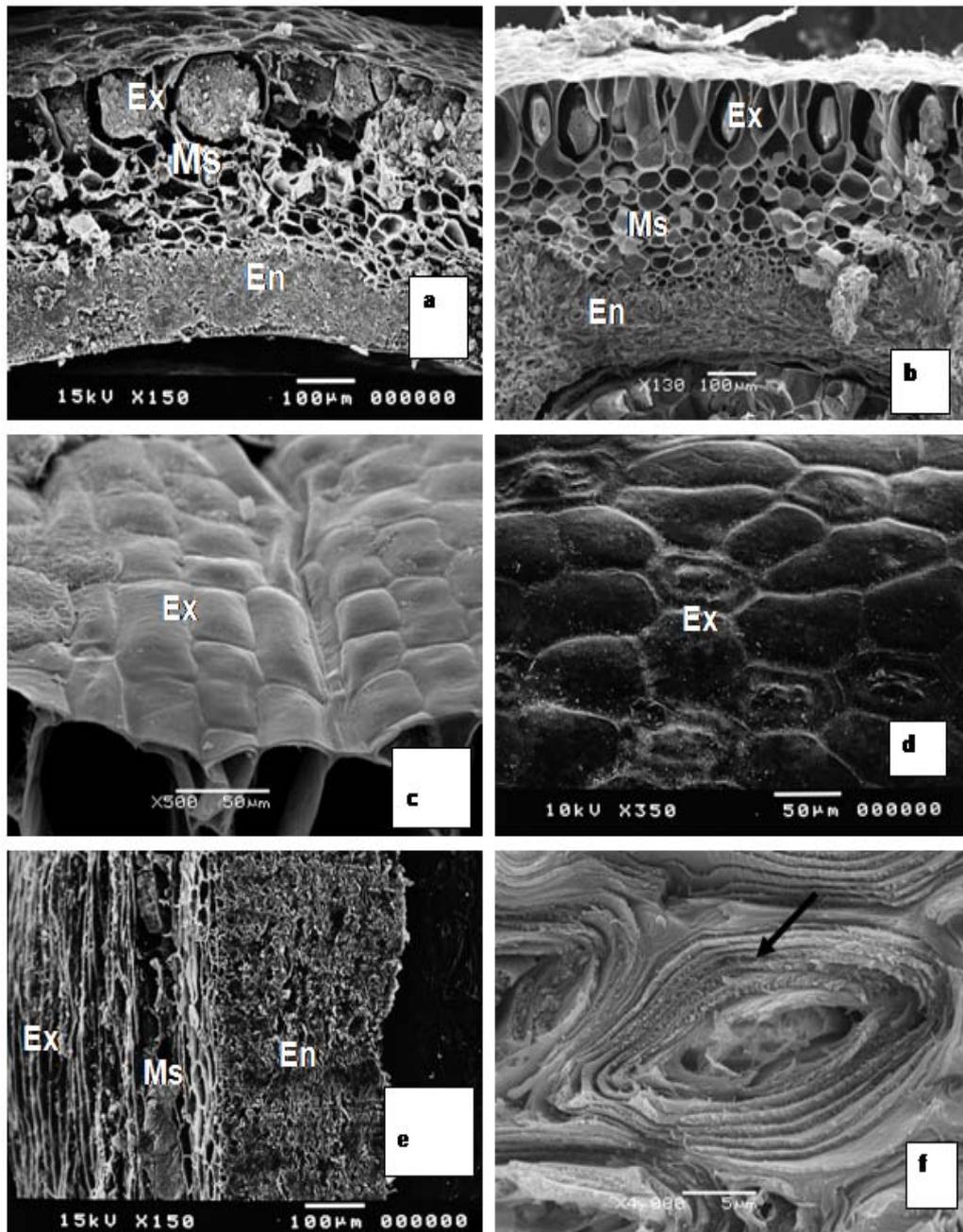


Figura 23. MORFOLOGÍA DE LA PARED DEL FRUTO. Microscopía electrónica de barrido (MEB) a. Corte transversal de fruto, exocarpo con abundantes taninos, mesocarpo de células delgadas aplanadas y endocarpo lignificado. b. Corte transversal de pared del fruto. c. Células rectangulares del exocarpo, vista frontal. d. Células exocarpo, vista satelital. e. Corte longitudinal de pared del fruto. f. Acercamiento a células del endocarpo con depositaciones concéntricas de lignina (pared secundaria) (flecha).

Ex-exocarpo, En-endocarpo, Ms- Mesocarpo

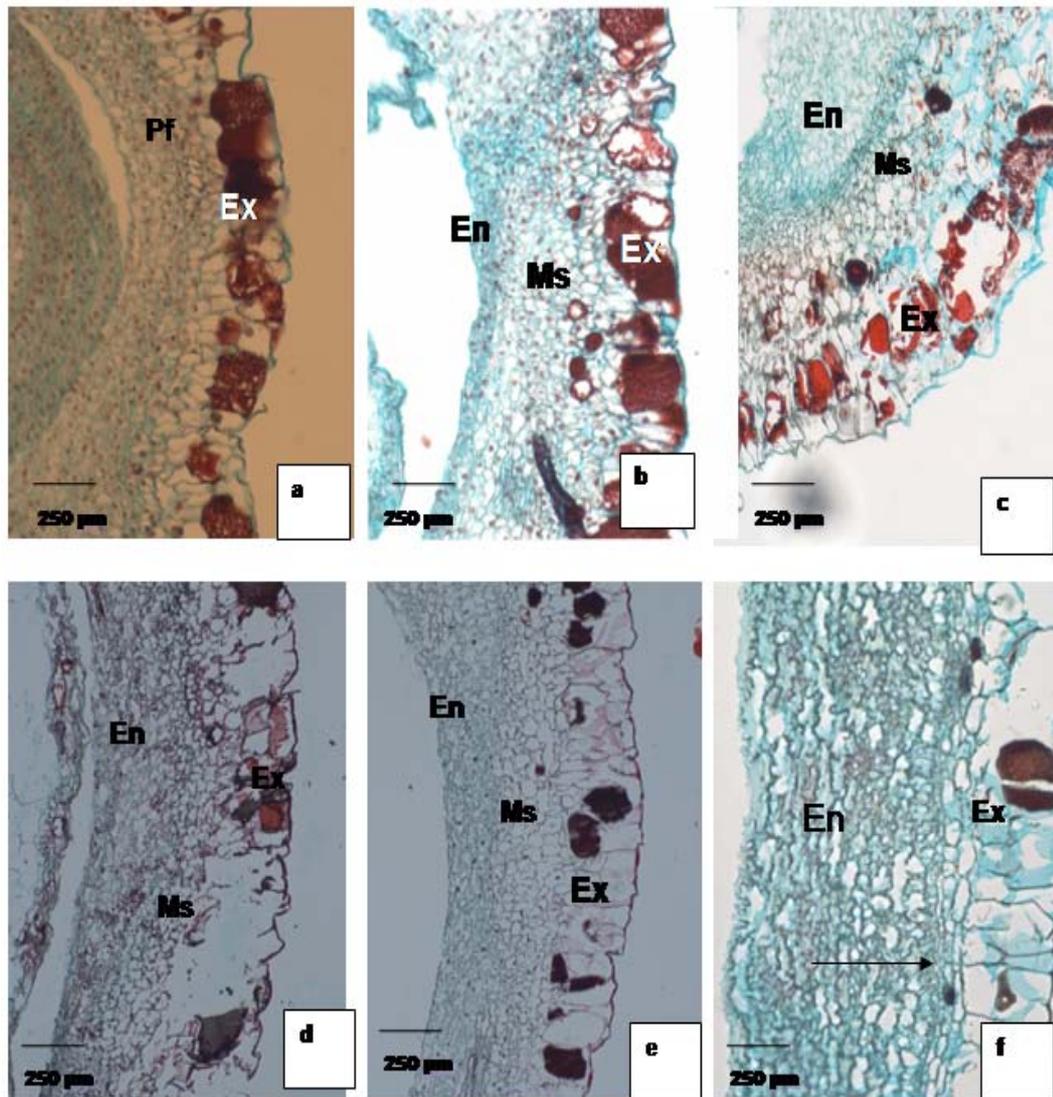


Figura 24. DESARROLLO DEL PERICARPIO. Microscopía de luz (campo claro). **a.** Fruto en etapa 1 donde se observa el pericarpio en formación, se distingue el exocarpo con taninos y la parte interna del fruto aún diferenciándose. **b.** Fruto en etapa 2, el endocarpo comienza a diferenciarse del mesocarpo **c.** Fruto en etapa 3, el endocarpo se encuentra ya bien delimitado con respecto al mesocarpo **d.** Fruto en etapa 4, la pared de las células del endocarpo comienza a engrosarse, el mesocarpo está constituido por 5-7 estratos de grosor **e.** Fruto en etapa 5, el endocarpo se encuentra muy lignificado, el mesocarpo comienza a degenerar **f.** Fruto en etapa 6 endocarpo muy engrosado y lignificado, mesocarpo reducido a 2 estratos.

Ex-exocarpo, **Ms-** mesocarpo, **En-** endocarpo, **Pf-** pared del fruto

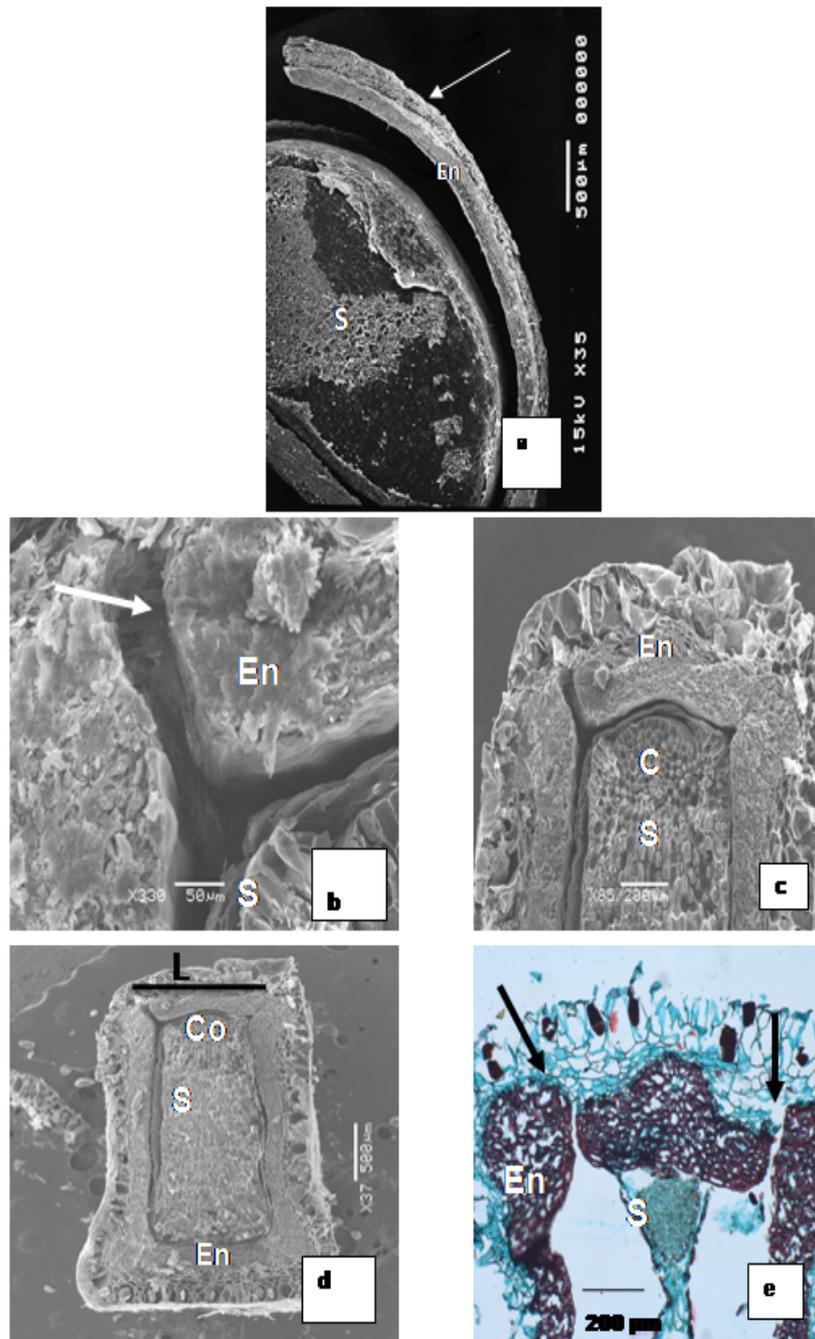


Figura 25. VISTA DE LA LACINIA. a. MEB. Estructura general de la lacinia y la forma en que es separada del resto de la semilla (flecha). **b.** MEB. Acercamiento de la zona de la lacinia, se observa una capa de endocarpo cercana al exocarpo (flecha). **c.** MEB. Corte transversal de fruto donde se observa la lacinia. **d.** MEB. corte transversal del fruto donde se observa la semilla y el cotiledón ubicado inmediatamente detrás de la lacinia que comprende la parte algada y que termina en pico adyacente al cotiledón. **e.** Microscopía de luz, CC. Corte transversal de fruto que muestra que no hay depositación de endocarpo en la zona de la lacinia (flechas).

C- cotiledón, **En-** endocarpo, **L-** lacinia, **S-** semilla

GERMINACIÓN

De 100 frutos que se colocaron en el acuario, hasta la semana 17 ninguna había germinado, aunque cerca del 33% de los frutos se encontraron con la lacinia desprendida y vacíos (Fig. 26 c, d). Sin embargo, después de un año de haber colocado los frutos en el acuario, 4 de ellos germinaron (comunicación personal: Dra. Brigitta Van Tussenbroek).

En los frutos procesados con microtecnia convencional de los experimentos conducidos en el estanque, mar y acuario fijados en FAA, no se observaron diferencias entre los tres tratamientos que nos indicaran que el desarrollo del fruto y semilla puede variar dependiendo del ambiente en que se encuentren estos. Todos los frutos colocados en las bolsitas se recuperaron conforme se realizaron las colectas. Una vez que se realizaron las colectas se observó que los frutos que se colocaron en el mar, sólo poseían el endocarpo por lo que el exo y mesocarpo se pierde antes que en los frutos de los otros tratamientos. Durante las colectas de estos frutos tampoco se observó germinación.

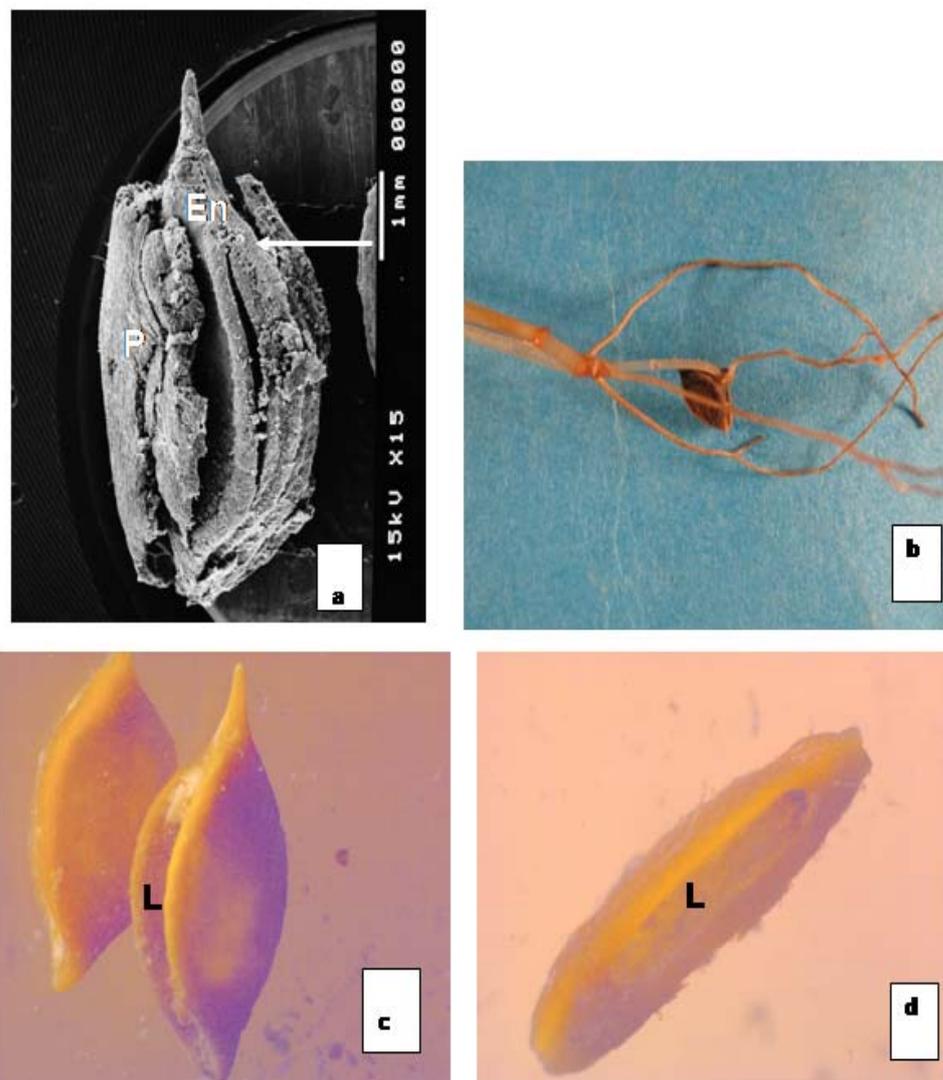


Figura 26. UNIDAD DE DISPERSIÓN. **a.** MEB. Unidad de dispersión. se observa el fruto perdiendo el meso y exocarpo conservando únicamente el endocarpo en el cual aparece la lacinia ligeramente abierta (flecha). **b.** plántula en la cual se observa que la semilla durante la germinación nunca sale del fruto **c.** Frutos encontrados abiertos por la lacinia, en el acuario. **d.** Fruto vacío de acuario.

En- endocarpo, P- pericarpo, L- lacinia

BANCO DE SEMILLAS

ESTIMACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE FRUTOS

Los resultados del transecto que se realizó para determinar la densidad de frutos en un área de 5.94 m^2 (resultado de la multiplicación del área del cuadrante 0.09 m^2 x el total de cuadrantes muestreados 66) fueron de un promedio de 11.7 frutos por cima femenina. De igual forma se calculó el área total de los 66 cuadrantes muestreados en 22 metros y se estimó el banco potencial de semillas (Anexo 1 y 1b) y estimó la producción de semillas.

Las cimas femeninas produjeron un promedio de 11.7 frutos por cuadrante, aunque se observó que la distribución de hembras y machos no es uniforme en el sedimento puesto que en 40 de los 66 cuadrantes no se encontraron inflorescencias femeninas, y en otros cuadrantes se observó que la densidad de femeninas era de hasta 41 cimas por cuadrante.

En total en el área muestreada se registró una producción de 650 frutos por m^2 (cálculo obtenido de multiplicar las 5 cimas x 11.7 frutos por cima x 66 cuadrantes x 1 m^2 y dividir el resultado entre 5.94 m^2 área total muestreada).

Los resultados anteriores se compararon con el número real de frutos encontrados en el Muelle del ICMYL para el periodo comprendido entre marzo-abril 07.

En el 2007 en la misma franja costera se encontraron un total de 7 frutos en 42 nucleos (4.4 de diámetro x 3 repeticiones por núcleo) con un área total muestreada de 0.194 m^2) (Tabla 1) en el periodo muestreado de marzo 2007, resultando en un banco de semillas de 68 semillas por m^2 . Asumiendo que la prevalencia de los frutos es menor a 1 año, de los 650 frutos producidos solo 68 (10.4%) permanecen en el sedimento para formar parte del banco de semilla.

MÉTODO DE ANÁLISIS POR NUCLEADORES

En los datos obtenidos en el conteo de densidad de frutos en abril del 2007 se estimó que el número potencial de semillas que pueden ser producidas en 1 m² es de 605. Sin embargo, el número de semillas encontrado en el análisis del contenido de los nucleadores es de 2 para el Muelle del ICMYL.

El número total de semillas encontradas para los periodos agosto 06, marzo-abril 07 y junio-julio 07, se muestra en la Tabla 1. La relación de núcleos analizados y frutos encontrados se muestra en el Anexo 2.

Se calculó el área muestreada de los nucleadores y con el número real de frutos encontrados se estimó cuantos se encontrarían en 1 m² (Anexo 3).

Tabla 1. Registro de banco potencial de frutos por 1 m² y número de frutos encontrados en sedimento en un área dada para los dos sitios de colecta.

Sitio de colecta	La Ceiba			El Muelle		
Período de colecta	Ago 06	Mar- Abr 07	Jun- Jul 07	Ago 06	Mar- Abr 07	Jun- Jul 07
Área de nucleador	0.00456 m ²			0.00456 m ²		
Número de nucleadores Extraídos	16	10	20	15	17	25
Área total muestreada	0.07 m ²	0.04 m ²	0.09 m ²	0.06 m ²	0.08 m ²	0.114 m ²
Frutos encontrados	10	18	21	2	2	5
Estimación potencial de banco por m ²	142	450	233	33	25	43

MÉTODO DE ANÁLISIS POR TRANSECTOS

En el arenal de aproximadamente 50 m x 30 m colindante a la franja de *S. filiforme* se encontró únicamente una plántula.

HERBIVORÍA DE FRUTOS

Para el caso del experimento en el cual se pusieron frutos en trampas, se encontraron todos los frutos dentro de las mismas para cada uno de los

tratamientos (exclusión pez, herbívoros pequeños y pez, y control) después de un periodo de 7 días, sugiriendo una baja presión de depredación de los frutos liberados.

VIABILIDAD

Como el banco de semillas debe estar conformado por semillas viables, se aplicó una prueba de viabilidad a los frutos del sedimento. Los frutos correspondientes al grupo control que fueron tratados con tetrazolio preparado en agua destilada, mostraron en general un buen resultado (12 teñidas de 15). Sin embargo, a las que se les aplicó tetrazolio preparado en agua de mar mostraron mejores resultados, puesto que todos los embriones presentaron reacción positiva (Fig. 28 a, b).

Una vez que se corroboró que la prueba funcionaba de manera adecuada en el control, se aplicó a los frutos del sedimento colectados por medio de nucleadores. De los 17 frutos que se utilizaron en la prueba ninguno presentó tinción (Fig. 28 a, b).

Algunas de las semillas se observaron en un estado de descomposición o bien con el tejido necrosado y de coloración café opaca (Fig. 28 e, f).

Prueba de polinización

Sólo mediante el crecimiento del tubo polínico se puede determinar la ocurrencia de la reproducción sexual, se observó que las flores sujetas a polinización manual a las cuales se les aplicó azul de anilina para la detección del crecimiento de tubos polínicos en el estigma y en el estilo dieron resultados positivos (Fig. 27 a, b). Esto indica que la polinización ocurrió normalmente.

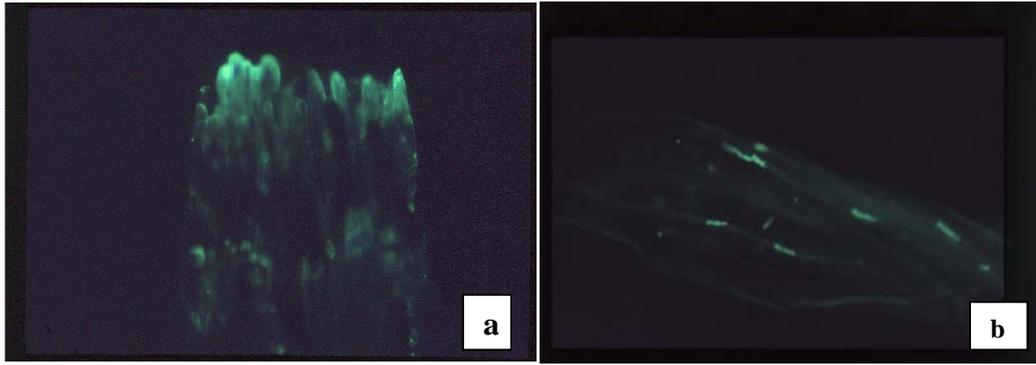


Figura 27. TUBOS POLINICOS **a**, **b**. Microscopía de fluorescencia. 10 X. Crecimiento de tubos polínicos en el estigma. Teñido con azul de anilina. Se observan en verde los tapones de calosa que va dejando cada tubo polínico durante su recorrido a través del estigma.

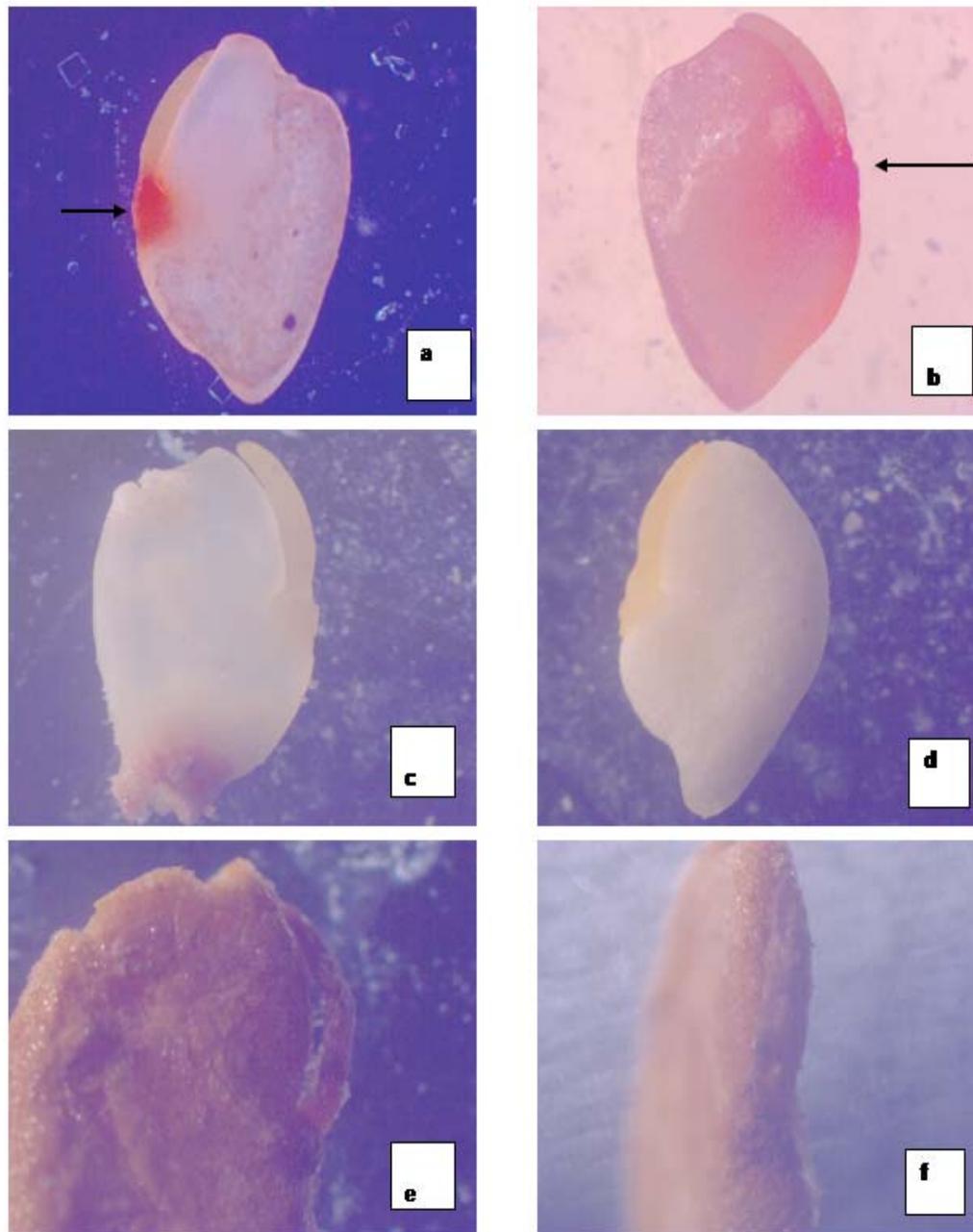


Figura 28. PRUEBA DE VIABILIDAD. a. Semillas viables (control) con tinción roja en áreas meristemáticas activas (radícula y plúmula). **b.** Semilla viable tomada directamente de inflorescencias frescas. **c.** Semillas obtenidas del sedimento con nudeadores, no se observa tinción en ningún área. **d.** Semilla de sedimento tratada con tetrazolio que no presenta tinción de estructuras meristemáticas. **e.** Semilla no viable con tejido colapsado y en mal estado. **f.** Vista frontal de semilla no viable en la cual la radícula no se observa.

DISCUSIÓN

Morfología floral

La ramificación de la inflorescencia de *Syringodium filiforme* es sumamente compleja, sin embargo, la descripción que parece más adecuada es la propuesta por Tomlinson y Posluszny (1978), que la define como una inflorescencia racimosa hasta los dos o tres primeros nodos y cimosa en los estados finales de su desarrollo. Estos autores reportaron la inflorescencia como superficialmente paniculada es decir, que ramifica en un solo plano También mencionaron que es simpodial o de crecimiento determinado y que la maduración de las flores por eje es acropétala (de la base al ápice). Aunque es frecuente encontrar frutos maduros en el ápice de la inflorescencia y flores o frutos inmaduros en la base y viceversa, esto puede deberse a que no todas las flores son polinizadas al mismo tiempo y por lo tanto su transformación a fruto es asincrónica o bien, a que no todas los óvulos son viables y por lo tanto no todos se desarrollan. Esta puede también ser la razón por la cual se llegó a observar una sola flor por nodo debido a que una de las flores pudo sufrir un proceso de abortición.

Para propósitos descriptivos, Tomlinson y Posluszny (1978) denominan “flor” a cada unidad encerrada por un par de brácteas en la inflorescencia. Ellos definieron que cada flor es sésil y está compuesta por un gineceo bicarpelar apocárpico con estilo corto y un estigma alargado y bifurcado. Sin embargo, al concluir su trabajo mencionan que no existen evidencias suficientes para determinar la organización de la flor femenina, debido a su extremada simplicidad tanto en su desarrollo como en su anatomía vascular. Para otros miembros de la familia como son *Thalassodendron* y *Amphibolis*, existen propuestas alternativas en las que se considera que cada unidad contiene dos flores separadas e idénticas (Ducker y Knox, 1976 y Markgraf, 1936 mencionado en: Tomlinson y Posluszny, 1978).

Una flor es un tallo con crecimiento determinado e internodos altamente reducidos que contiene a los esporofitos y otros apéndices

estériles y asociados que están especializados para desempeñar diferentes funciones. Está típicamente compuesta por cáliz, corola, androceo y gineceo aunque cualquiera de estas partes puede estar ausente (Batygina, 2002; Bhojwani y Bhatnagar, 2000; Flores-Vindas, 1999 y Warren, 2002). Mientras que la inflorescencia es todo sistema de ramas modificadas que se resuelve en flores. Una de las modificaciones es la reducción de entrenudos. Una inflorescencia típica presenta: hojas modificadas denominadas brácteas, un pedúnculo que delimita y sostiene a la inflorescencia, el eje floral o raquis, el pedicelo y las flores que usualmente son idénticas (González et al, 2007; Mauseth, 2003; Warren, 2002 y Quer 1993), por lo tanto cabe la posibilidad de que la cima sea una inflorescencia de inflorescencias en la cual, se observan dos flores en cada nodo floral al igual que en *Thalassodendron* y *Amphibolis* (Den Hartog, 1970; Ducker y Knox, 1976) separadas, idénticas, contrapuestas y desnudas, y para el caso particular de *S. filiforme*, unidas por el pedúnculo corto. Lo anterior se podría derivar de que cada flor posee su propio haz vascular y se encuentra unida a un eje común o pedicelo que termina en el raquis, en donde se haya una sola bráctea axilar encerrándolas. De esta forma, cada flor sésil estaría conformada por el ovario redondeado, un estilo corto y hueco y un estigma bifurcado y alargado. Cada par de flores se encuentran unidas a un pedúnculo conformando así una inflorescencia parcial.

Es importante resaltar que en este trabajo se sugiere un punto de vista alternativo al planteado por Tomlinson y Posluszny (1978), sin embargo cualquiera de las dos propuestas (si es un o dos flores por nodo) puede ser válida. Para un mejor entendimiento de la morfología floral se necesita, como sugieren Tomlinson y Posluszny (1978) realizar trabajos meticulosos que resuelvan este problema. Este trabajo puede valerse de técnicas de microtecnia convencional y tomando en cuenta el desarrollo desde el meristemo floral hasta fruto.

Desarrollo de fruto y semilla

La morfología (tamaño y forma de los estigmas, el estilo y el ovario) de las flores implicó un problema para determinar su etapa de desarrollo debido a que la forma de flores en pre-antésis y en pos-antésis es muy parecida. Utilizando parámetros visuales del color de los estigmas y la fenología (posición de las brácteas) se estableció un parámetro que pudo determinar cuando las flores podían estar receptivas y cuando habían sido polinizadas, aunque este criterio pudo no ser el más adecuado. Las flores que se tomaron en “etapa de antesis” (de acuerdo al patrón mencionado) estrictamente debían acoplarse al criterio de selección: las brácteas abiertas así como los estigmas sin oxidar asomándose ligeramente por encima de éstas. Estos criterios también pueden aplicarse a plantas terrestres (Maheswari, 1950; Raven *et al.*, 2005), la presencia de polen en los estigmas, la coloración cobriza, pequeños taponcitos de arena y fracturas en las puntas estigmáticas, denotan que han sido polinizadas. Estas últimas son flores pos-antesis, etapa a partir de la cual se comienzan a desarrollar el fruto y las semillas.

Fruto

En pastos marinos existen diferentes tipos de pericarpio (Den Hartog, 1970 y Kuo y Den Hartog, 2000). Se ha reportado que para los miembros de la familia Cymodoceaceae: *Amphibolis*, *Halophila*, *Halodule*, *Cymodocea* y *Syringodium* el pericarpio se divide en tres estratos de consistencia y grosor variable que son el endocarpo, mesocarpo y exocarpo (Bragg y McMillan, 1986; Caye Y Meinesz, 1986 y McMillan, 1981).

Lo anterior también se ha observado en miembros de otras familias como *Zostera* (Kuo y Kirkman, 1990) y *Thalassia* (Jiménez, 2004).

Bragg y McMillan (1987) reportaron que el exocarpo suave se pierde en la madurez del fruto de *S. filiforme* en *Halodule* y *Cymodocea* se ha observado que poseen un mesocarpo y exocarpo carnosos que se desprenden con facilidad y un endocarpo duro y persistente (Caye y Meinesz, 1986 y McMillan, 1981), y en el caso de *S. filiforme*, lignificado. En el

presente trabajo si se encontró que el fruto pierde tanto el exocarpo como el mesocarpo, sin embargo no necesariamente en la madurez de la semilla, suponemos que esto puede ocurrir tiempo después de que este se dispersa, pues la abrasión del sedimento y el oleaje causan la pérdida de ambas estructuras.

En un miembro de la familia Hydorcharitaceae, *T. testudinum* se encontró que a diferencia de *S. filiforme*, el endocarpo degenera y se queda como un remanente gelatinoso (Jiménez, 2004).

El tipo de fruto de *Cymodocea nodosa* corresponde a una drupa (Caye y Meinesz, 1986). Puesto que una drupa se define como el fruto de un solo carpelo, conteniendo una semilla, que se encuentra rodeado por un exocarpo delgado, un mesocarpo suave y pulposo y en el cual el endocarpo constituye “el hueso” y está conformado por células de paredes secundarias, (González *et al.* 2007 y Warren, 2002) en *S. filiforme* se describe como drupa.

El fruto de *S. filiforme* presenta lacinia de acuerdo a lo reportado anteriormente por Bragg y McMillan (1987) para esta especie. Ésta estructura se observa también en *Cymodocea nodosa* (Caye y Meinesz, 1986), aunque en este artículo la denominan anillo dorsal, sin embargo no ha sido reportada para otra especie de pasto marino. Se denomina lacinia a una incisión ya sea en una hoja, pétalo etc., o bien una estructura lobular y curva que se adelgaza (Warren, 2002); en este trabajo se decidió emplear este término propuesto por McMillan (1987). La lacinia representa el único punto débil del pericarpo, puesto que en esas áreas no hay formación de endocarpo. El endocarpo protege a la semilla y presenta esclereidas, que son células muertas de paredes ya sea suberificadas o lignificadas y que sirven de soporte y resistencia (Esau, 1977; Fahn, 1990; Mauseth, 1988). Posiblemente esta capa sea la responsable de la latencia de la semilla al impedir la entrada del agua para la germinación, o funcionar como una capa mecánica que impide la salida de la radícula.

En las paredes del fruto se encuentran abundantes taninos, un tipo de metabolitos secundarios que le sirven a la planta de protección contra la herbivoría (Bennett *et al.*, 1994; Becker 1984), y que es un factor fundamental que afecta la dinámica de las poblaciones evitando la presión de

herbivoría (Esau, 1977; Fahn, 1990, Fenical, 1988 y Reed, 1995). Se encuentran en forma de cristales y se pueden observar en las células de la pared del fruto, la cubierta seminal, estilo y estigma. Puesto que son taninos condensados, a diferencia de los hidrosolubles, no se pierden tan fácilmente con el manejo del material (Bennett *et al*, 1994; Becker 1984; Zucker 1983).

El fruto de *C. nodosa* y *S. filiforme* es extremadamente parecido, sin embargo existen discrepancias en la denominación de las estructuras tanto del fruto como la semilla. En ambos casos el fruto es una drupa. Sin embargo, Caye y Meinesz (1986) reportaron que *C. nodosa* ocurre pérdida del pericarpio y se considera que la cubierta seminal es dura y es ésta la que provee la resistencia. En este trabajo se demuestra que el equivalente a la cubierta seminal reportado para *C. nodosa*, es el endocarpo en *S. filiforme*, que es persistente y lignificado, puesto que la cubierta seminal es delgada e impermeable y no desempeña la función de protección del embrión.

Cubierta seminal

La cubierta seminal varía dependiendo de la especie de pasto marino, para *Syringodium* al igual que para *Halodule*, *Cymodocea* y *Halophila* se ha reportado que la cubierta seminal es dura y posee células con paredes lignificadas (Kuo y Kirkman, 1992). En esta investigación se encontró que las células del fruto son las que están lignificadas, no así las de la cubierta seminal. Claramente, la cubierta seminal de esta especie no está involucrada en la protección del embrión; papel que si desempeña el endocarpo. La cubierta seminal posee de 4 a 5 estratos con un grosor de 30 μm y está formada por células aplanadas de paredes delgadas, que coincide también con lo encontrado para *S. isoetifolium*. En *Halodule* la cubierta seminal posee 7 estratos con células alargadas (Bragg y McMillan, 1986). En *S. filiforme* se observaron que hay depositación de taninos en la cubierta seminal. Se ha encontrado que los taninos funcionan también como antagonistas de las giberelinas, hormonas que están involucradas en la germinación de la semilla (Ritzel *et al.*, 1972). Posiblemente en las semillas y frutos como los de *S. filiforme* que presentan latencia, los taninos estén directamente involucrados

con procesos metabólicos que inhiban o retrasen la germinación del embrión, además de su papel en la herbivoría.

Semilla

En el desarrollo de la semilla de *S. filiforme* se observó que el óvulo posee un saco embrionario es de tipo poligonum, en el cual las tres antípodas pueden fusionarse en una sola célula de gran tamaño cuya función se desconoce. El embrión de *S. filiforme* al igual que el embrión de otras monocotiledoneas como el maíz (Vernoud *et al*, 2005) posee un coleoptilo, que es la primera hoja de la plántula la cual se convierte en una vaina protectora. Es una de las estructuras que emerge primero sobre el suelo como una vaina alrededor de la plúmula (Warren, 2002). Esta estructura no ha sido reportada para ninguna otra especie de pasto marino. Dado que los frutos se encuentran depositados en el sedimento formando el banco de semillas y son erosionados constantemente por el sedimento y el oleaje, la presencia del coleoptilo podría resultar fundamental, ya que se encuentra rodeando y protegiendo al meristemo apical del embrión. El embrión consiste de un eje epicótilo – hipocótilo - radícula. Aunque se observó la presencia de radícula es difícil asegurar que esta sea persistente hasta el momento de la germinación y que la raíz que presenta la plántula sea una raíz primaria y no una raíz adventicia sin más estudios del seguimiento del desarrollo del embrión.

En miembros de otras familias la presencia de radícula no ha sido reportada como es el caso de *T. testudinum* (Jiménez, 2002) y *Zostera marina* (Taylor, 1957) y *Cymodocea rotundata* (McMillan *et al*. 1982).

El tejido de reserva en *S. filiforme* es el hipocótilo. Y se ha observado lo mismo en *Halodule* (Bragg y McMillan, 1987).

En *S. filiforme* se encontró que el hipocótilo es alargado y en forma de riñón, este posee una posición lateral en el eje embrionario y el cotiledón es alargado y curvo. En *C. nodosa* el cotiledón es al igual cilíndrico y ocupa una especie de surco en un órgano voluminoso que se cree es la radícula (Caye y Meinesz, 1986).

En *T. testudinum* el cotiledón se inserta lateralmente al meristemo apical, el cotiledón tiene forma de triángulo y se encuentra encima del hipocótilo de forma de disco (Jiménez, 2004).

En *Z. noltii* Asherson el cotiledón que contiene la plúmula y el meristemo apical tiene forma cilíndrica y se encuentra doblado a lado del hipocótilo (Loques *et al.* 1990).

Germinación

Una germinación exitosa resulta de la interacción de factores fisiológicos, genéticos (internos) y ambientales (externos) (Baskin y Baskin, 1998). Se entiende por germinación al proceso mediante el cual se rompe la cubierta seminal seguido por la emergencia de la radícula, cotiledón o hipocótilo (Baskin y Baskin, 1998; Caye y Meinesz, 1986; Hootsmans *et al.*, 1987; Inglis, 2000; Loques *et al.*, 1990 y Orth *et al.*, 2000). En el caso de *S. filiforme* una vez que la semilla está lista para germinar, los primordios foliares junto con el cotiledón y el coleoptilo ejercen presión sobre la lacinia hasta que finalmente la vencen y la separan del resto de la semilla. Cabe aclarar que no solo el coleoptilo ejerce presión para separar a la lacinia, también deben actuar en este mismo sentido el aumento de células del embrión completo. Aunque en esta investigación no se observaron las etapas de la germinación, se ha reportado para *Z. noltii*, *C. nodosa*, *H. wrightii* y *S. filiforme* que la primera estructura en emerger es el cotiledón, (Loques *et al.*, 1990; Caye y Meinesz, 1986 y McMillan, 1981) posteriormente surge la plúmula; en *Z. noltii* el cotiledón continua creciendo hasta que la plúmula se hace evidente, posteriormente surge la primera hoja (Loques *et al.*, 1990). En *S. filiforme* “la estructura que sigue a la emergencia del cotiledón es la bráctea o profila que envuelve a la primera hoja” (McMillan, 1981). Dado que el endocarpo se adelgaza en demasía en la zona de la lacinia y la cubierta seminal es muy delgada para brindar protección al embrión, el coleoptilo es una estructura de suma importancia que resguarda al meristemo apical antes y después de la germinación, ya que el fruto se encuentra expuesto a factores erosivos como lo son el oleaje y el sedimento.

A pesar de que en el embrión de *S. filiforme* se observó la radícula, en la descripción de la germinación de la semilla realizada por McMillan (1981) no se menciona el surgimiento de esta estructura, sin embargo se menciona la presencia de raíces adventicias sin dar más detalles. Por lo tanto, el presente trabajo no se puede ligar con el de McMillan porque existe un “vacío” entre las etapas que se estudiaron en la semilla y las que él describe en la germinación. En *C. nodosa* se reporta también la posible existencia de la radícula, sin embargo se menciona que al momento de germinar esta estructura no se desarrolla y las que emergen son las raíces adventicias (Caye y Meinesz, 1986), McMillan (1981) indicó lo mismo para *S. filiforme*. ¿Qué le sucede a esa radícula que tan claramente se presenta en el embrión y que a diferencia de *T. testudinum*, si posee haz vascular?, ¿Emerge la radícula y después desaparece?, o no desaparece y ¿el sistema radicular de los pastos no es adventicio?, son algunos de los cuestionamientos que derivan de este trabajo. Estudios más detallados acerca de la germinación y apoyados con trabajos estructurales, son necesarios para entender la correlación entre las estructuras del embrión y la plántula de *S. filiforme*.

La bibliografía actual de germinación en pastos marinos se ha enfocado en determinar las variables que afectan la germinación, como la luz, la temperatura, la salinidad y la escarificación de las semillas. Para *S. filiforme*, *H. wrightii* no se ha reportado que la temperatura o la salinidad influyan en la germinación (McMillan, 1981 y McMillan, 1983). En *C. nodosa* (Caye y Meinesz, 1986) se ha demostrado que la germinación es favorecida a bajas concentraciones de salinidad.

En miembros de otras familias la escarificación de la semilla resultó en un aumento de la germinación en *Z. noltii* y *Z. marina*. En *C. nodosa* se observan resultados parecidos una vez que se remueve la cubierta seminal (Caye y Meinesz, 1986).

La germinación para *S. filiforme* se ha reportado por McMillan (1981 y 1983), en donde menciona que puede presentar un periodo de latencia hasta de 3 años. En este trabajo no se observó la germinación de las semillas en ninguno de los tres tratamientos (acuario, mar, estanques) lo cual puede indicar que la latencia en *S. filiforme* está dada por factores ambientales

(extrínsecos) como cambios en la luminosidad del acuario, o cantidad de O₂ disponible. Lo anterior se conoce como latencia secundaria, puesto que son las condiciones a las que se expone el banco de semillas como grupo y no la semilla como unidad, las que la imponen la latencia del embrión (Orth *et al*, 2000). Es interesante mencionar que aunque en el experimento conducido en el acuario para observar germinación a lo largo de 5 meses no se observó germinación, algunos frutos (alrededor de 5) que no se colectaron se encontraron germinando después de un año. Las condiciones que pueden haber influido en la germinación de estos frutos necesitan aún ser estudiadas.

La latencia en pastos marinos ha sido reportada también para *Z. noltii* (Hootsmans, 1987 y Loques *et al*, 1990), en *H. wrightii* de hasta 4 años (McMillan, 1981) y en *C. nodosa* se menciona que es de tipo secundaria y dura de 7 a 8 meses (Caye y Minesz, 1986).

Banco de Semillas

Para el caso de *S. filiforme* se tomó como la unidad de dispersión al fruto completo, de acuerdo con el criterio fijado por Starr *et al.* (2004) teniendo en cuenta que la unidad de dispersión es considerada a partir de que el fruto se desprende de la planta madre, ya sea como unidad, o con parte de la planta.

En *T. testudinum* en que el fruto abre cuando todavía se encuentra adherido a la planta y las semillas son la unidad de dispersión (Jiménez, 2004). En *Z. noltii* el fruto se dispersa con partes vegetativas de la planta madre (Loques *et al.*, 1990)

En este estudio se observó que para *S. filiforme* la unidad de dispersión consiste en el fruto en su totalidad, aunque una vez en el sedimento, el fruto pierde el exocarpo y mesocarpo de modo que la semilla (embrión, tejido de reserva y cubiertas seminal) y parte del fruto, el endocarpo, continúan el proceso.

En la gran mayoría de las plantas terrestres se puede observar que es la cubierta seminal quien regula la latencia de las semillas y le confiere dureza a las mismas protegiendo al embrión de eventos climáticos desfavorables (Briggs *et al.*, 2005; Kozlowski, 1972; Mayer y Poljakoff-Mayber, 1978), papel que en *S. filiforme* desempeña el endocarpo. La dureza

en las estructuras del fruto juega un papel importante en la dinámica de las semillas. Muchas de las semillas o frutos necesitan ser escarificados ya sea por animales, agentes físicos o químicos (Briggs *et al.*, 2005; Debeaujon *et al.*, 2000; Kozlowski, 1972; Mayer y Poljakoff-Mayber, 1978), para el caso de *S. filiforme* es muy probable que el endocarpo necesite ser escarificado, en este caso por el sedimento del mar y el oleaje.

De acuerdo a la clasificación de Orth *et al.* (2000) *S. filiforme* forma bancos del tipo 3: cubierta seminal dura, latencia y banco de semillas persistente, de acuerdo a las características de su semilla. El banco de semillas persistente ha sido reportado también para *Halodule wrightii* (McMillan, 1991) en esta especie, los bancos de semillas alcanzan densidades de hasta 3,000 frutos por m² en el sedimento (McMillan, 1981). En *Cymodocea rotundata* se observó un banco de semillas de 140 frutos por m², es decir, al menos 1 fruto por cada cm² (McMillan *et al.*, 1982). En *C. nodosa* se encuentran 220 semillas por m² (Caye y Meinsz, 1986). El número de semillas que forman parte del banco de *S. filiforme* fue variable, de 33 a 43 por m², con respecto a una producción estimada de 650 semillas por m². Estos datos denotan una diferencia entre la posible producción y el número de frutos encontrados en el sedimento. El presente estudio se asemeja al realizado por McMillan (1981) en donde estimó una producción potencial de frutos de 10,000 por m² pero encontró pocas reservas en el sedimento.

En *Halodule uninervis* las semillas de los bancos se acumulan en depresiones que se forman en aguas someras llegándose a encontrar hasta 114 por cm² (Inglis, 2000). Para el caso de *Z. noltii* y *Z. marina* se estimó un potencial banco de semillas de 9000 por m² y el real fue de 200 por m² (Hootsmans, 1987).

En ambientes acuáticos los patrones espaciales en el banco de semillas están fuertemente influenciados por la intensidad y dirección de fuerzas hidrodinámicas como la corriente y el oleaje, que influyen directamente en su dispersión y enterramiento (Inglis, 2000). Las corrientes y el oleaje pueden afectar la regeneración de los bancos de semillas así como su estabilidad y número de semillas (Cherry y Gough, 2006). Otros procesos

que los afectan son la muerte natural y predación de las semillas (Hammerstrom *et al.*, 2006).

Probablemente los bancos de semillas persistentes (más de un año), contengan semillas que se han ido acumulando por más de una temporada, por lo cual, el banco puede contener semillas de condición fisiológica y edad variables (Inglis y Waycott, 2000).

Hay múltiples factores a los cuales puede deberse la ausencia o el número reducido de semillas *in situ* de *S. filiforme*, una de ellas es el tipo de dispersión que para este caso puede ser sólo de centímetros (Orth *et al.*, 2006) como lo reportado para *Halodule* y *Cymodocea* (Inglis, 2000 y McMillan *et al.*, 1982) o hasta varios Km como lo reportado para *T. testudinum* (Jiménez, 2004).

Al igual que en *H. uninervis* (Inglis, 2000) los frutos/semillas de *S. filiforme* pueden encontrarse depositados en hondonadas, y en este estudio simplemente no se encontraron frutos acumulados por grupos mayores de 3 por nucleador (diámetro 4.4 cm). Es importante tomar en cuenta que el oleaje se encuentra constantemente removiendo y reacomodando el sedimento por lo cual, estos pequeños “bancos de semillas” son vulnerables a cambiar continuamente en su densidad y de un lugar a otro y resentir cambios debidos a fenómenos climáticos como los huracanes. El caso de la herbivoría es un factor fundamental que modifica el número de frutos que forman parte del banco, puesto que incluso antes de que los frutos se desprendan de la cima están sometidos a predación continua y en un alto porcentaje (datos no publicados). A pesar de que las pruebas de herbivoría no arrojaron datos, se ha observado que existe toda una variedad de frujívoros que pudiesen alimentarse de los frutos (comunicación personal). La falta de datos pudo deberse a un error en el diseño del experimento. En *H. uninervis* se ha reportado que la herbivoría reduce la densidad de tallos en un 80% lo que se refleja en una redistribución de las semillas (Inglis, 2000). Estudios más detallados a cerca de la dispersión y depredación ayudarían a entender mejor la dinámica del banco de semillas.

En el sedimento sólo reportamos la presencia de una plántula consistiendo de 2 hojas en un área de 30 x 50 m enfrente de la zona costera

estudiada que quedó desprovista de vegetación a causa del huracán Wilma, que paso en octubre del 2005 (Pag. en red: Wikipedia, 2009), indicando que la recolonización de áreas nuevas por semillas no es un proceso frecuente.

Viabilidad

De acuerdo con Moreno (1984), cuando se aplica la prueba del tetrazolio a semillas, existen ciertas estructuras clave que deben teñirse de rosa pálido a rojizo mostrando que el embrión es viable y por tanto capaz de germinar. Estas estructuras son: el eje embrionario y ligeramente el tejido de reserva.

Las unidades de dispersión obtenidas en los nucleadores en el sitio de colecta *La Ceiba*, carecen ya de parte del fruto (meso y exocarpo), lo cual indica que las semillas fueron producidas con al menos un año de anterioridad, es decir, en las temporadas de floración de 2004, 2005 o 2006, de acuerdo con McMillan y Bragg (1987) que ha reportado la latencia de las semillas por hasta 3 años, en este estudio se reportó la germinación de 5 frutos en un periodo menor a un año.

Aunque las pruebas de viabilidad en semillas de *S. filiforme* fueron negativas, no necesariamente atribuimos esto a que las semillas estén muertas, sino que puede deberse a una falla en la técnica. Lo anterior se sostiene en que se observó que los cuatro frutos que quedaron olvidados en los acuarios produjeron germinación después en 1 año.

Loques *et al* (1990) estimaron la viabilidad de las semillas en *Z. noltii* usando una concentración de 0.25% de tetrazolio durante 5 h a 30° C y obtuvieron un 72% de semillas viables. La falla de la prueba pudo bien ser la concentración del tetrazolio o la temperatura a la que se realizó.

La prueba más adecuada para medir la viabilidad de las semillas en pastos marinos parece ser la germinación in vitro, en *C. nodosa* es del 90% en 10 días (Caye y Meinsz, 1986), en *Cymodocea rotundata* es del 40% (McMillan, 1982) y en *H. wrightii* del 45 al 63% en dos años y en *S. filiforme* va del 51 al 75% en un periodo de dos a tres años (McMillan, 1981).

CONCLUSIONES

- La morfología floral de *S. filiforme* es un tema inconcluso que requiere más estudios dada la complejidad del desarrollo de la inflorescencia.
- En cada nodo floral se encuentran dos flores femeninas, las cuales están compuestas por ovario, estilo y dos estigmas lisos alargados y bifurcados. Los estigmas no están diferenciados morfológicamente. El estilo es corto y hueco. La flor posee un pedicelo corto.
- A diferencia de Tomlinson (1978), en este trabajo se propone que lo que él denomina flor, en realidad son dos flores subtendidas por una bráctea.
- La cubierta seminal es muy delgada por lo cual la función de protección de la semilla la adquiere la pared del fruto, específicamente el endocarpo lignificado.
- La plúmula se encuentra adyacente a la lacinia que es una zona en donde el endocarpo se adelgaza, por lo tanto la función del coleoptilo es fundamentalmente la protección de esta plúmula.
- Se observó la presencia de una raíz primaria en el embrión cuyo destino durante la germinación se desconoce.
- La unidad de dispersión es el fruto.
- La germinación de la semilla se da a través del fruto.
- En cinco meses de permanencia en el acuario, las semillas no germinaron, lo que confirma su latencia.
- El porcentaje de semillas que potencialmente pueden formar el banco es de 10.4%.

Consideraciones finales.

Para continuar con esta investigación sería recomendable Investigaciones futuras que se desprenden de este estudio, por ejemplo:

- Conocer cuántos frutos se desprenden de la cima y cuantos se conservan en esta.Cuál es la distancia máxima de dispersión, se dispersan sobre el sedimento o se entierran.
- Determinar el destino del coleoptilo durante la germinación. ¿Es igual que en otras monocotiledóneas?
- Correlacionar las estructuras del fruto y la semilla con las presentadas por la plántula durante la germinación y el establecimiento.

Anexo 1

Transecto	Cuadrante	Cima	# nodos	preant	flor	fruto					Suma flores	Suma frutos	Total	
					femenina	flor	acrónico	maduro	inmaduro	mordido				ausente
1	1	1	6			1	3	3				7	7	
		2	5			1	1	3		1		5	6	
		3	8			1	3	7			1	10	11	
		4	11	1		2	7	2	1		1	12	13	
		5	10			3	2	9		1		14	15	
	2	1	8			1	1	1	2		1	1	4	6
		2	10				2	2	10		1		14	15
		3	7				2	2	2	2	1	0	8	9
		4	7			1	4	5		2		1	11	12
		5	8			2	2	5	2		2	9	11	
	3	1	10	1		3	1	3	6	1	4	4	11	19
		2	5			1	1	1	2			1	4	5
		3	4			1	1	1	2	2	1	1	6	8
		4	8				5	9	2			0	16	16
		5	6	1				2	6			1	8	9
2	1	1	6			3	5		4		0	12	12	
		2	7			2	6		4		0	12	12	
		3	5				2	1	5		0	8	8	
		4	2	2			2				2	2	4	
		5	8			2	6	4	4		0	16	16	
	2	1	3					4				0	4	4
		2	7			2	5	2	1		0	10	10	
		3	6			3	2	1			0	6	6	
		4	3				2		4		0	6	6	
		5	7			1	4	2	7		0	14	14	

		6	4			2	2	4		0	8	8	
	3	1	3			3	4	3		0	10	10	
		2	9			2	2	4		0	14	14	
		3	7			2	4			0	14	14	
		4	5			1	5	2		2	0	8	10
		5	3			1	1	2			0	4	4
		6	3			3	3				0	6	6
3	1	1	12	2	2	2	2	14	2		4	20	24
		2	7			4	9	2			0	15	15
		3	2					5			0	5	5
		4	8	2	2	1	2	7	2		4	12	16
		5	3				3		4		0	7	7
	2	1	6			2	4	2	1	3	0	9	12
		2	9	1		3	10	4		1	1	17	19
		3	5	2		1	1	8			2	10	12
		4	4			1	5	2			0	8	8
		5	3			1	1			2	0	2	4
	3	1	7			3	6	2		3	0	11	14
		2	3			1	2			2	0	3	5
		3	3			2	4				0	6	6
		4	12		2	3	7	8	1	1	2	19	22
		5	7			4	5	4		2	0	13	15
4	1	1	9	1		4	8	2		2	1	14	17
		2	6			1	8	4		1	0	13	14
		3	6			3	3	5		1	0	11	12
		4	9	1		4	5	10		2	1	19	22
		5	5				6	2		1	0	8	9
	2	1	8	1		2	6	6		3	1	14	18
		2	9			2	4	6			0	12	12
		3	6			1	3	4	1		0	9	9
		4	16			6	8	14		4	0	28	32
		5	6			2	6	4	2	2	0	14	16
	3	1	11		2	3	7	6	4		2	20	22

		2	12			4	4	8	8		0	24	24
		3	14	4		4	8	6	4		4	22	26
		4	10		2	2	7	7	2		2	18	20
		5	18	2	2	6	12	8	3		4	29	33
5	1	1	6				4	4		2	0	8	10
		2	9	2		4	6	6			2	16	18
		3	8	2	1		3	8			3	11	14
		4	4				3		1	1	0	4	5
		5	6	1		2	3	2	3	1	1	10	12
	2	1	8		3		4				3	4	7
		2	3		1			2	2	1	1	4	6
		3	4	2		2	1	3			2	6	8
		4	5	1	1			4	1		2	5	7
		5	4		2			2	1	1	2	3	6
	3	1	3	2				2	1		2	3	5
6	1	1	3			1	1	2			0	4	4
		2	3				2	2			0	4	4
	2	0											
	3	1	6	2		2	2	8			2	12	14
		2	4			2	4	2			0	8	8
		3	4		1	2	2	2			1	6	7
		4	6	1		1	9	2			1	12	13
		5	4			1	2	4		1	0	7	8
7	1	1	3				5		1		0	6	6
		2	2		2		2				2	2	4
		3	1			1	1				0	2	2
		4	5			2	5				0	7	7
	2	0											
	3	1	19		2	4	11	6	13	2	2	34	38
		2	7		2	4	2	2	4		2	12	14
		3	4										
		4	14	2	2	6	2	14	2		4	24	28
		5	14		4	5	4	13	2		4	24	28

8	1	1	6			1	1	6	2		0	10	10
		2	7			2	2	4	1	2	0	9	11
		3	8	1		2	2	12	1	1	1	17	19
		4	3			3	2	2	1	2	0	8	10
		5	7			1	5	4	2	2	0	12	14
	2	1	5			2	2	3	1	3	0	8	11
		2	13	1		5	4	15		1	1	24	26
		3	5			4	4	4			0	12	12
	3	0											
9	1	0											
	2	0											
	3	1	4	4				2		2	4	2	8
		2	2	2	2						4	0	4

Anexo

2

COLECTA DE JULIO-AGOSTO 2006

Sitio de colecta/Nucleadores	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<i>La Ceiba</i>			I	I					II			III		I		II
<i>Muelle del ICMYL</i>								II								
Frutos frescos en sedimento	0															
Frutos vacíos	0															
Frutos Mordidos	13															

COLECTA DE MARZO-ABRIL 2007

Sitio de colecta/Nucleadores	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
<i>La Ceiba</i>	II	IIIIIII			III		I		III	II							
<i>Muelle del ICMYL</i>		II															
Frutos frescos en sedimento	17																
Frutos vacíos	5																
Frutos Mordidos	17																

COLECTA DE JUNIO-JULIO 2007

Sitio de colecta/Nucleadores	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
<i>La Ceiba</i>		III		I		I		I		III			IIII			III		II
<i>Muelle del ICMYL</i>									I			I					II	

Sitio de colecta/Nucleadores	19	20	21	22	23	24	25
<i>La Ceiba</i>	II						
<i>Muelle del ICMYL</i>				I			
Frutos frescos en sedimento	0						
Frutos vacíos	1						
Frutos Mordidos	7						

Cada I indica una unidad de dispersión

.os espacios en blanco significan que no hubo registro de unidades de dispersión

a la colecta del 2006-2007 se registró el número de frutos frescos y frutos vacíos que se encontraban ya en el sedimento

BIBLIOGRAFÍA

1. Arber A. 1920. Water plants. A study of aquatic angiosperms. Cambridge University Press. Cambridge
2. Baskin C. y M. Baskin. 1998. Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic Press. Boston. 666 p.
3. Batygina. 2002. Embriology of flowering plants. Terminology and concepts. 1: generative organs of flower. Science Publishers, Inc. USA. 417 p.
4. Becker P. 1984. Tannin structure and function: keeping our perspective. The American Naturalist 124. (1): 134-136.
5. Bennett R y R. Wallsgrave. 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. New Phytol. 127: 617-633.
6. Bragg H. L. y C. McMillan. 1987. SEM Comparison of fruits and seeds of *Syringodium filiforme* (Cymodoceaceae) from Texas, U.S. Virgin Islands, and the Philippines. Contributions in Marine Science 30: 91-103.
7. Bhojwani S. S. y S. P. Bharnagar. 1981. The embriology of angiosperms. 3^{ra} edición. Vikas Publishing House. Nueva Delhi. pp. 223-224.
8. Briggs C L., E C Morris y A E Ashford. 2005. Investigations into seed dormancy in *Grevillea linearifolia*, *G. buxifolia* and *G. sericea*: Anatomy and Histochemistry of the seed coat. Annals of Botany 96: 965-980.
9. Caye C. y A. Meinesz. 1986. Experimental study of seed germination in the seagrass *Cymodocea nodosa*. Aquatic Botany 26: 79-87.
10. Cherry J. A. y L. Gough. 2006. Temporary floating island formation maintains wetland plant species richness: The role of the seed bank. Aquatic Botany 85: 29-36
11. Cox A., T. Elmqvist, P. B. Tomlinson. 1990. Submarine pollination and reproductive morphology in *Syringodium filiforme* (Cymodoceaceae). Biotropica 22 (3): 259-265.
12. Cox P. y C. Humphries. 1993. Hydrophilous pollination and breeding system evolution in seagrasses: a phylogenetic approach to the evolutionary ecology of the Cymodoceaceae. Botanical Journal of Linnean Society. 113: 217-226.
13. Debeaujon I., Karen Léon-Kloosterziel y M. Koornneef. 2000. Influence of the Testa on Seed Dormancy, Germination, and Longevity in Arabidopsis. Plant Physiol, February. 122: 403-414.
14. Den Hartog C. 1970. The sea-grasses of the world. North-Holland Publishing Company. Amsterdam, pp 1-33
15. Duarte C. M. y K. Sand –Jensen. 1990. Seagrass colonization: biomass development and shoot demography in *Cymodocea nodosa* patches. Mar. Ecol. Prog. Ser. 67: 97-103
16. Duarte C. M. 1991. Seagrass depth limits. Aquatic Botany 40: 363-377.

17. Duarte M. C. y C. L. Chiscano. 1999. Seagrass biomass and production: a reassessment. *Aquatic Botany* 65: 159-174.
18. Ducker S. y R. Knox. 1976. Submarine pollination in seagrasses. *Nature* 263: 705 – 706.
19. Esau, K. 1977. Anatomía vegetal. Editorial Omega, España, 779 p.
20. Espinar J L., L V García y L Clemente. 2005. Seed storage conditions change the germination pattern of clonal growth plants in Mediaterranean SALT marshes. *American Journal of Botany* 92 (7): 1094-1101.
21. Fahn A. 1990. Plant Anatomy. Cuarta edición. Pergamon Press. New York. 588p.
22. M E., W Fenical. 1988. Marine plant-Herbivore interactions: the ecology of chemical defense. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. 19. 111-145 pp.
23. Fenner M. 1985. Seed ecology. Chapman and Hall. Nueva York. pp: 56-102.
24. Flores-Vindas E. 1999. La planta. Volumen II. Libro Universitario Regional. Costa Rica. 844 p.
25. Green E.P. y F.T. Short. 2003. World Atlas of seagrasses. University of California Press. Berkeley, USA. 298 p.
26. González A., E. Cedillo y L. Díaz. 2007. Morfología y anatomía de las plantas con flores. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 276 p.
27. Hammesstrom K. K., W. J. Kenworthy, M. S. Fonseca, y P. E. Whitfield. 2006. Seed bank, biomass, productivity of *Halophila decipiens*, a deep water seagrass on the best Florida continental shelf. *Aquatic Botany* 84: 110-120.
28. Hemminga M. 2000. Seagrass ecology: an introduction. Cambridge University. United Kingdom. 289 p.
29. Hootsmans M., J. E. Vermaat y W. Vierssen. 1987. Seed-bank development, germination and early seedling survival of two seagrass species from the Netherlands: *Zostera marina* L. and *Zostera noltii* hornem. *Aquatic Botany* 28: 275- 285
30. Inglis G. 2000. Disturbance-related heterogeneity in the seed banks of a marine angiosperm. *Journal of Ecology* 88: 88-99
31. Inglis J. Y M. Waycott. 2001. Methods for assessing seagrass seed ecology and population genetics. En: Short T. y R. G. Coles. 2001. Global seagrass research methods. Elsevier. Ámsterdam. pp. 125-140
32. Jiménez K. 2004. Desarrollo y dispersion de frutos y semillas de *Thalassia testudinum* Banks Ex König (Hydrocharitaceae). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.

33. Kendall M., T. Battista y Z. Hillis-Starr. 2004. Long term expansion of a deep *Syringodium filiforme* meadow in St. Croix, US Virgin Islands: the potential role of hurricanes in the dispersal of seeds. *Aquatic Botany*. 78: 15-25.
34. Kozłowski T T. 1972. Seed biology. Volumen II. Germination Control, Metabolism, and Pathology. Academia Press. New York. 1-271 pp.
35. Kozłowski T T. 1972. Seed Biology. Volumen III. Insects and seed collection, storage, testing, and certification. Academic Press. New York. 150-257 pp.
36. Kuo J y J McComb. 1989. Seagrass taxonomy, structure and development. En: Larkum A, J McComb y S Shepherd (Eds.). *Biology of seagrasses. A treatise on the biology of seagrasses with special reference to the Australian region*. Elsevier. 841 pp
37. Kuo J y C Den Hartog. 2000. Seagrasses: A profile of an ecological group. *Biol. Mar. Medit.* 7 (2): 3-17
38. Kuo J. y D. Hartog. 2006. Seagrass morphology, anatomy, and ultrastructure. En: Larkum W. D., R. Orth y C. Duarte. *Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer, Noruega. pp. 51-87
39. Kuo J., y H. Kirkman. 1990. Anatomy of viviparous seagrasses seedlings of *Amphibolis* and *Thalassodendrom* and their nutrient supplies. *Botánica Marina*. 33: 117-126.
40. Kuo J., y H. Kirkman. 1992. Fruits, seeds and germination in the seagrass *Halophila ovalis* (Hydrocharitaceae). *Botanica Marina*. 35: 197-204.
41. de la Lanza G y C Tovilla. 1986. Una revisión sobre taxonomía y distribución de pastos marinos. *Universidad y Ciencia* 3(6): 17-38.
42. Larkum A., R. Orth y C. Duarte. 2006. *Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer. Noruega. 649 p.
43. Les D. 1988. Breeding systems, population structure and evolution in hydrophilous angiosperms. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 75: 819-835.
44. Les D., M. Cleland y M. Waycott. 1997. Phylogenetic studies in Alismatidae, II: evolution of marine angiosperms (seagrasses) and Hydrophily. *Systematic Botany*. 22(3): 443-463.
45. López L., J. Marquez y G. Murguía. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Facultad de Ciencias, UNAM. 178 pp
46. Loques F., G. Caye., y A. Meinesz. 1990. Germination in the marine phanerogam *Zostera noltii* Horneman at Golfe Juan, French Mediterranean. *Aquatic Botany*. 38: 240-260.
47. Maheswari P. 1950. An introduction to embryology of angiosperms. McGraw-Hill. Londres. 453 p.
48. Matthew S. K., T. Battista y Z. Hillis-Starr. 2004. Long term expansion of a deep *Syringodium filiforme* meadow in St. Croix, US Virgin Islands: the

- potential role of hurricanes in the dispersal of seeds. *Aquatic Botany* 78: 15-25.
49. Mauseth, J. D. 1988. *Plant anatomy*. The Benjamin/Cummings publishing Company, Inc. California. 560 pp.
 50. Mauseth J. 2003. *Botany. An introduction to plant biology*. Tercera Edición. Universidad de Texas, Austin. Boston. 848 p.
 51. Mayer A M. y A Poljakoff-Mayber. 1975. *The germination of seeds*. Segunda edición. Pergamon Press. New York. 20-61 pp.
 52. McMillan C. 1981. Seed reserves and seed germination for two seagrasses, *Halodule wrightii* and *Syringodium filiforme*, from the Western atlantic. *Aquatic Botany* 11: 279-296
 53. McMillan C., R. Logan, y M. Falanruw. 1982. Fruits and seedling of *Cymodocea rotundata* in Yap, Micronesia. *Aquatic Botany*. 14: 99-105.
 54. McMillan C. 1983. Seed germination in *Halodule wrightii* and *Syringodium filiforme* from Texas and the U.S. Virgin Islands. *Aquatic Botany* 15: 217-220.
 55. McMillan C. y L. Bragg. 1987. Comparison of fruits of *Syringodium* (Cymodoceaceae) from Texas, the U.S. Virgin Islands and the Philippines. *Aquatic Botany*: 97-100
 56. Moreno E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. UNAM. México. 169-214 pp.
 57. Muñoz M. 1979. Determinación de saponinas, taninos y acción antibiotica en algunas plantas silvestres mexicanas. Tesis de licenciatura (Biólogo). Facultad de Ciencias, UNAM. México D.F. pp 15-23
 58. Orth R., M. Harwell, E. Bailey, A. Bartholomew, J. Jalad, A. Lombana, K. Moore, J. Rhode y H. Woods. 2000. A review of issues in seagrass seed dormancy and germination: implications for conservation and restoration. *Mar Ecol Prog Ser*. 200: 277-288
 59. Orth R., M. Harwell y J. Inglis. 2006. Ecology of seagrass seeds and seagrass dispersal processes. En: Larkum W. D., R. Orth y C. Duarte (Eds). *Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer, Noruega. pp. 111-133
 60. Pergent G. y C. Pergent. 2000. Disturbance-related germination of *Halodule uninervis* seeds. *Biol. Mar. Medit.* 7 (2): 63-66
 61. Phillips R. C. y E. G. Meéz. 1988. Seagrasses. *Smithsonian Contributions to Marine Science* 34: 1-104.
 62. Poiner R., D Staples y R. Kenyon. 1987. Seagrass communities of the Gulf of Carpentaria, Australia. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*. 38(1) 121 – 131.

63. Procaccini G., L. Mazzella, R. Alberte y D. Les. 1999. Chloroplast tRNA^{Leu} (UAA) intron sequences provide phylogenetic resolution of seagrass relationships. *Aquatic Botany* 62: 269-283.
64. Quer F. 1993. Diccionario de botánica. Editorial Labor, s. a. España. 1244 p.
65. Raven P H., R F Evert, S E Eichhorn. 2005. *Biology of plants*. Séptima edición. W. H. Freeman and Company Publishers. New York. 497-616 pp.
66. Reed J. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* 73: 1516-1528.
67. Ritzel M C., T A Geissman y B O Phinney. 1972. Tannins as gibberellin antagonists. *Plant Physiology*. 49: 323-330.
68. Short T. y G. Coles. 2001. Global seagrass research distribution. En: Short T. y R. G. Coles. 2001. *Global seagrass research methods*. Elsevier. Ámsterdam. pp. 5-30.
69. Simpson G M. 1990. Seed dormancy in grasses. Cambridge University Press. Nueva York. 40-41 pp.
70. Taylor A. 1957. Studies of the development of *Zostera marina* L. I. The embryo and seed. *Can. J. Botany*. 35: 477-499.
71. Tomlinson P.B. y U. Posluszny. 1978. Aspects of floral morphology and development in the seagrass *Syringodium filiforme* (Cymodoceaceae). *Bot. Gaz* 139(3): 333-345.
72. Vernoud V., M Hajdich, A.-S. Khaled, N. Depege y P. Rogowsky. 2005. Maize Embriogenesis. *Maydica* 50: 469-483.
73. Warren D. y M. Zetina. 2002. *English – Spanish dictionary of plant biology*. Cambridge International Science Publishing. Inglaterra. 647 pp.
74. Zucker W. 1983. Tannins: Does structure determine function? An ecological perspective. *The American Naturalist*. 121: 3.

Páginas de Red:

75. Wikipedia. 2009. Huracán Wilma. Página en red: http://es.wikipedia.org/wiki/Hurac%C3%A1n_Wilma.
76. Conanp. 2009. Página en red: <http://puertomorelos.conanp.gob.mx/ca.htm>.