



1
2
3
4 LA HERBIVORÍA DE LAS FLORES MASCULINAS DE TRES ESPECIES DE
5 PASTOS MARINOS EN LA LAGUNA ARRECIFAL DE PUERTO MORELOS

6
7 **T E S I S**

8
9
10 QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

11
12 **MAESTRA**

13
14 EN

15
16 CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
17 (BIOLOGÍA MARINA)

18
19 PRESENTA:

20
21 **BIOL. MANUELA MUHLIA MONTERO**

22
23
24
25
26 DIRECTORA DE TESIS: DRA. BRIGITTA INE VAN TUSSENBROEK RIBBINK

27
28
29
30 JURADO DE EXAMEN: DR. JUAN NÚÑEZ FARFÁN
31 DRA. JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
32 DR. LUIS ZAMBRANO GONZÁLEZ
33 DRA. MARGARITA GALLEGOS MARTÍNEZ

34
35
36
37
38 Puerto Morelos, Quintana Roo, México, 2011



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.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27

Esta tesis se realizó en el Laboratorio de Botánica Marina de la Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, Puerto Morelos del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección de la Dra. Brigitta Ine van Tussenbroek Ribbink.

El Comité Tutorial y el Jurado de Examen de Grado estuvieron integrados por:

Dr. Juan Núñez Farfán	Presidente
Dra. Brigitta Ine van Tussenbroek Ribbink	Secretario
Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán	Vocal
Dr. Luis Zambrano González	Suplente
Dra. Margarita Gallegos Martínez	Suplente

La tesis fue realizada con beca de apoyo de posgrado otorgada por CONACYT, con número de becario: 207840

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19

A mis padres

Agustín† y Alicia

A mi hermana

Jimena

A mis amigos

Cynthia, Marlene, Jorge, Elvia y Sugey

Geraldine, Fernando, Ricardo, Miriam y Thayde

1 **AGRADECIMIENTOS**

2

3 *A la Dra. Brigitta van Tussenbroek, jefa del Laboratorio de Botánica Marina de la UASA,*
4 *Puerto Morelos, por recibirme y apoyarme incondicionalmente durante la realización de*
5 *la tesis.*

6 *A la M. en C. Guadalupe Barba y al Dr. Kor van Dijk por su invaluable ayuda en campo,*
7 *así como a los Pasantes de Biólogos Tania Valdivia, Manuel Márquez, León Felipe*
8 *González por su colaboración y amistad.*

9 *A la Dra. Teresa Rodríguez por la revisión exhaustiva del escrito final.*

10 *A la Dra. Judith Márquez y al M en C Ricardo Wong por su apoyo durante mi estancia en*
11 *el Laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM, y*
12 *posteriormente durante el desarrollo de la tesis.*

13 *Al M. en C. Francisco Ruiz y su colaborador el M. en C. Edgar Escalante, coordinadores*
14 *de la Base de Datos de Hidrología y Meteorología de la UASA, Puerto Morelos por*
15 *facilitar datos meteorológicos, además del apoyo técnico ilimitado para la realización de*
16 *éste trabajo.*

17 *Al M. en C. Fernando Negrete y la M. en C. Cecilia Barradas, por la coordinación*
18 *experimental de las filmaciones y del trabajo de gabinete. Así como las asesorías y el*
19 *préstamo de material e instalaciones del Laboratorio de Crustáceos a cargo de la Dra.*
20 *Patricia Briones y el Dr. Enrique Lozano.*

21 *Al comité tutorial integrado por la Dra. Judith Márquez, Dra. Margarita Gallegos, Dr.*
22 *Juan Núñez y Dr. Luis Zambrano por las sugerencias y comentarios a lo largo de la*
23 *realización de este trabajo.*

24

1 **RESUMEN**

2 La polinización abiótica implica el transporte de polen por viento o agua, sin intervención
3 de animales. Esto no significa que durante el proceso de fertilización no hay interacciones planta-
4 animal (p.e. florivoría), pero se han realizados pocos estudios al respecto. En el presente trabajo, se
5 estudió el posible papel de los peces herbívoros como depredadores de polen de los pastos marinos,
6 que son angiospermas con polinización hidrofílica. Las flores masculinas las especies de pastos
7 marinos *Thalassia testudinum*, *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii* tuvieron sustancias
8 nutritivas (proteínas, polisacáridos, almidones, lípidos insolubles) determinadas
9 histoquímicamente. Durante marzo, abril y mayo del 2007 y 2008, en una pradera de pastos
10 marinos en la laguna arrecifal de Puerto Morelos, Mexico, se ofrecieron flores descubiertas
11 artificialmente en su hábitat, y fueron consumidas por gran variedad de peces principalmente en
12 etapa juvenil. Por lo tanto, existe la posibilidad de que algunos peces interfirieran en el proceso
13 reproductivo al disminuir la abundancia de polen. Las 3 especies de pastos marinos mantuvieron
14 las flores ocultas hasta pocas horas antes de la liberación de polen. *Thalassia testudinum* liberó su
15 polen en la noche cuando los peces herbívoros no son activos y las anteras de *Halodule wrightii* se
16 volvieron inconspicuas durante la liberación de polen. Estos caracteres de floración pudieron ser
17 mecanismos para evitar la pérdida excesiva de polen por depredación, con la limitación de polen
18 como posible mecanismo de evolución estos mismos. En la exploración de indicativos de
19 limitación de polen no se registró evidencia de limitación de polen en las poblaciones de
20 *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii*, pero se requieren más estudios al respecto. Sin
21 embargo, *Thalassia testudinum* presentó limitación de polen (expresado por una elevada tasa de
22 frutos abortados) al reducir al 50% las flores masculinas *in situ*, sugiriendo que el consumo de
23 polen por peces potencialmente puede afectar su éxito reproductivo. Por lo tanto, éste pasto marino
24 puede haber desarrollado mecanismos para evitar la depredación de polen por peces.

25

1	ÍNDICE	
2	CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN GENERAL	1
3	Los pastos marinos	1
4	Reproducción sexual en los pastos marinos	3
5	Planteamiento del estudio	4
6	Descripción de las especies de estudio.....	6
7	<i>Syringodium filiforme</i> (Kützting).....	6
8	<i>Halodule wrightii</i> (Ascherson).....	9
9	<i>Thalassia testudinum</i> (Banks ex Köing)	12
10	HIPÓTESIS	15
11	OBJETIVOS	15
12	General de la tesis.....	15
13	Particulares por capítulo.....	16
14	ÁREA DE ESTUDIO	17
15	CAPÍTULO 2 HERBIVORÍA FLORAL	21
16	ANTECEDENTES	21
17	Herbivoría de pastos marinos	21
18	Florivoría	23
19	HIPÓTESIS Herbivoría Floral	44
20	OBJETIVOS	44
21	Particulares.....	44
22	MATERIAL Y MÉTODOS	45
23	Análisis histoquímicos de las flores masculinas	45
24	Filmación de depredadores del polen.....	46
25	<i>Syringodium filiforme</i>	46
26	<i>Halodule wrightii</i>	47
27	Trabajo de gabinete	49
28	RESULTADOS	50
29	Análisis histoquímicos de las flores masculinas.....	50
30	Filmación de depredadores del polen.....	52
31	DISCUSIÓN	56
32	CONCLUSIONES	58
33	CAPÍTULO 3 LIMITACIÓN DE POLEN	59
34	ANTECEDENTES	59
35	Polinización acuática	59
36	Limitación de polen	61
37	HIPÓTESIS	63
38	OBJETIVOS	63

1	Objetivos particulares	63
2	MATERIAL Y MÉTODOS	64
3	Conteo de polen.....	64
4	Vecindario floral.....	66
5	<i>Syringodium filiforme</i>	66
6	<i>Halodule wrightii</i>	69
7	<i>Thalassia testudinum</i>	71
8	Experimentos de limitación de polen.....	72
9	<i>Syringodium filiforme</i>	72
10	<i>Thalassia testudinum</i>	73
11	RESULTADOS	76
12	Conteo de polen.....	76
13	<i>Syringodium filiforme</i>	76
14	<i>Halodule wrightii</i>	76
15	<i>Thalassia testudinum</i>	78
16	Vecindario floral.....	81
17	<i>Syringodium filiforme</i>	81
18	<i>Halodule wrightii</i>	85
19	<i>Thalasia testudinum</i>	88
20	Razón polen/óvulo.....	90
21	<i>Syringodium filiforme</i>	90
22	<i>Halodule wrightii</i>	91
23	<i>Thalassia testudinum</i>	92
24	Limitación de polen	93
25	<i>Syringodium filiforme</i>	93
26	<i>Halodule wrightii</i>	96
27	<i>Thalassia testudinum</i>	97
28	DISCUSIÓN	100
29	<i>Syringodium filiforme</i>	100
30	<i>Halodule wrightii</i>	101
31	<i>Thalassia testudinum</i>	102
32	Limitación de polen	103
33	OBSERVACIÓN ADICIONAL.....	105
34	<i>CAPÍTULO 4 POSIBLES ESTRATEGIAS DE DEFENSA CONTRA HERBIVORÍA</i>	106
35	ANTECEDENTES	106
36	HIPÓTESIS.....	110
37	OBJETIVOS	110
38	MATERIAL Y MÉTODOS	111
39	Frecuencia de herbivoría de las flores masculinas.....	111
40	<i>Syringodium filiforme</i>	111
41	<i>Halodule wrightii</i>	112
42	<i>Thalassia testudinum</i>	112
43	Antesis de las flores masculinas	113
44	<i>Syringodium filiforme</i>	113
45	<i>Halodule wrightii</i>	114
46	RESULTADOS	115
47	Frecuencia de herbivoría de las flores masculinas.....	115
48	<i>Syringodium filiforme</i>	115

1	<i>Halodule wrightii</i>	118
2	<i>Thalassia testudinum</i>	120
3	Antesis de las flores masculinas	123
4	<i>Syringodium filiforme</i>	123
5	<i>Halodule wrightii</i>	125
6	DISCUSIÓN	127
7	CONCLUSIONES	130
8	REFERENCIAS GENERALES	131
9		

1 **CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN GENERAL**

2 Los pastos marinos

3 Los pastos marinos son plantas vasculares con flores, las cuales pertenecen a la
4 División Magnoliophyta (Angiospermas), Clase Liliopsida (Monocotiledóneas), Orden
5 Alismatales, familias Posidoniaceae, Zosteraceae, Cymodoceaceae, Ruppiaceae,
6 Zanicellaceae e Hydrocharitaceae (den Hartog, 1970; Tomlinson, 1982; den Hartog y Kuo,
7 2006). Las familias Posidoniaceae, Zosteraceae y Cymodoceaceae consisten exclusivamente
8 de especies marinas. La familia Hydrocharitaceae tiene especies tanto de pastos marinos como
9 de plantas que viven en ambientes de agua dulce (den Hartog y Kuo, 2006; Green y Short,
10 2003). Existe cierta controversia sobre la consideración de algunas especies de Ruppiaceae y
11 Zannichellaceae como pastos marinos y su clasificación fuera o dentro de este grupo ecológico
12 depende del criterio del investigador (Kuo y McComb, 1998; Short *et al*, 2011 (en prensa).

13 Los pastos marinos son polifiléticos y dada la diversidad filética de sus taxa, las
14 convergencias evolutivas en cuanto a las formas y funciones de sus estructuras son notorias,
15 así como el crecimiento horizontal mediante los rizomas, estrictamente ligado a la expansión
16 clonal (Tomlinson, 1982). Arber (1920, en den Hartog, 1970) se refiere a los siguientes
17 criterios para que una especie pertenezca al grupo de los pastos marinos: (1) tolerancia al
18 medio salino; (2) plantas complejas completamente sumergidas; (3) sistema de rizoma y
19 raíces que soportan el efecto del oleaje y la marea; (4) capacidad para la polinización
20 hidrófila; y, finalmente, den Hartog (1970) incluye (5) la necesidad de dispersión en el medio
21 marino.

1 En los ambientes costeros, los pastos marinos juegan un papel crucial en cuanto a
2 productividad primaria, alimento y hábitat, además de procesos biogeoquímicos globales (van
3 Tussenbroek *et al.*, 2006; Orth *et al.*, 2006c). Proveen de alimento a tortugas marinas, peces y
4 mamíferos marinos como manatíes y dugongos, reportados en la lista roja de la IUCN
5 (International Union for Conservation of Nature) como especies vulnerables a la extinción
6 (Vié, 2008). Además, está bien documentado el papel que juegan como zonas de crianza de
7 juveniles de crustáceos, peces y moluscos, algunos de gran importancia comercial (Watson *et*
8 *al.*, 1993; Duffy, 2006). Los pastos marinos incrementan la transparencia del agua atenuando
9 su movimiento y ayudando al depósito de partículas finas (Orth *et al.*, 2006c); su extenso
10 sistema de raíces y rizomas estabiliza y retiene el sedimento ayudando a prevenir la erosión
11 costera durante tormentas y huracanes (van Tussenbroek *et al.*, 2008b). Además, las hojas
12 fungen como sustrato para un gran número de epibiontes, como macroalgas, microalgas,
13 bacterias y protozoos (Borowitzka *et al.*, 2006). Los arrecifes de coral, manglares, mantos de
14 sargazo gigante (*Macrocystis pyrifera*) y las praderas de pastos marinos, son los ecosistemas
15 costeros más productivos del mundo (Duarte *et al.*, 2004). Sin embargo, los pastizales
16 marinos y los servicios ambientales que brindan a nivel mundial han sido afectados por el
17 incremento de la población humana y la consecuente presión sobre las zonas costeras (Duffy,
18 2006; Duarte *et al.*, 2008). Se ha sugerido que la pérdida del pastizal marino es un factor que
19 contribuye a la degradación de los océanos en el mundo (Short y Coles, 2001; Orth, *et al.*,
20 2006c; Duarte *et al.*, 2008; Waycott *et al.*, 2009).

21

1 Reproducción sexual en los pastos marinos

2 El transporte de polen de los pastos marinos, en contraste con la mayoría de las
3 angiospermas, no ocurre por medio de animales y, por lo tanto, es clasificado como abiótico.
4 Los síndromes abióticos de la polinización se denominan como anemofílico (polinización por
5 viento), hidrofílico (polinización submarina o bajo el agua) y ephidrofílico (polinización en
6 una superficie acuosa) (Ackerman, 2000). Las distinciones en la clasificación de la
7 polinización basadas en el medio de transporte del polen traen como consecuencia ciertas
8 adaptaciones, como el color, la morfología de la flor, el tamaño y la forma del polen, la
9 morfología de los estigmas, así como los costos de transferencia.

10 El síndrome abiótico de polinización se caracteriza por: 1) estigmas y anteras
11 extendidas en el medio de dispersión y 2) carencia de estructuras florales llamativas. Los
12 pastos marinos pueden tener tépalos pequeños con coloración poco llamativa o incluso
13 carecer de una corola (ej. *Cymodoceaceae*, den Hartog, 1970). Las flores femeninas de la
14 familia *Hydrocharitaceae* son solitarias, con estigmas papilados, alargados y bífidos.
15 *Halophila*, *Amphibolis*, *Cymodocea*, *Halodule* y *Thalassodendron* (familia *Cymodoceaceae*)
16 tienen flores desnudas, es decir, sin pétalos ni sépalos y cada carpelo posee un estigma
17 aplanado, bífido (excepto *Halodule*) y sin papilas (den Hartog y Kuo, 2006), con excepción de
18 *Amphibolis* que tiene tres estigmas por carpelo (Tomlinson, 1982). Algunos géneros tienen
19 flores solitarias (tal como *Halodule* y *Cymodocea*) mientras que *Syringodium* tiene
20 inflorescencias cimosas y cada flor está cubierta por brácteas (den Hartog, 1970; Tomlinson,
21 1982).

22 La prevalencia de la separación de sexos es otra de las características del síndrome
23 abiótico, aunque en plantas hidrófilas queda en duda si es el resultado de una convergencia

1 evolutiva de adaptación a la vida en el agua (Les, 1988; Les *et al.*, 1997). El 75% de los
2 géneros de pastos marinos son dioicos, las flores femeninas y masculinas crecen en diferentes
3 plantas. Sólo 3-4% de las angiospermas en el mundo son dioicas (McConchie y Knox, 1989;
4 Kuo y den Hartog, 2006). Cox (1988) menciona que existen dos posibles explicaciones para
5 tratar de entender el origen de la alta frecuencia de dioicidad en este grupo de plantas, ambas
6 íntimamente relacionadas con el síndrome hidrófilo. La primera, si las funciones
7 reproductivas masculinas interfirieran con las funciones reproductivas femeninas, la
8 población podría declinar. Por ejemplo, si los mecanismos para la captura de polen (estigmas
9 extendidos en el medio), fueran bloqueados físicamente por las estructuras de dispersión del
10 polen, que deben ser alargadas para transportarlo en el medio acuático (Ackerman, 2006),
11 podría existir un riesgo de disminuir los niveles de fecundación. Segunda, en muchos taxa
12 hidrófilos, que son clonales, la separación de sexos excluye la autofecundación, disminuyendo
13 las posibilidades de efectos negativos de la endogamia (“inbreeding depression”).
14 Alternativamente, tal como Les (1993) sugirió para las Cymodoceaceae, los pastos marinos
15 pudieron tener ancestros dioicos, y por lo tanto, los descendientes son dioicos, ya que el
16 proceso de regresar a flores hermafroditas después de separación de sexos es casi imposible
17 por razones de desarrollo (ver Barrett, 2002).

18

19 Planteamiento del estudio

20 Mientras realizaban observaciones de los tiempos y la sincronización de la antesis de
21 *Thalassia testudinum*, van Tussenbroek *et al.* (2008a) observaron y filmaron cómo un pez
22 loro juvenil se comió una flor masculina. Posteriormente, registraron que la florivoría de las
23 flores masculinas de la especie, en el área de estudio (la laguna arrecifal de Puerto Morelos),

1 es relativamente común. Como el proceso de polinización es abiótico, existe el paradigma de
2 que no haya ninguna interacción planta-animal en tal proceso. Sin embargo, a la luz de dicha
3 observación, existe la posibilidad de que los animales interfieran en el proceso reproductivo
4 de la planta al disminuir la abundancia de polen.

5 El presente estudio pretende dar seguimiento a esta observación al evaluar:

- 6 1) Si la herbivoría floral es común entre los pastos marinos en la laguna arrecifal de
7 Puerto Morelos y no sólo restringida a la especie *T. testudinum* (Capítulo 2).
- 8 2) Si la cantidad de polen producido por los pastos marinos es suficiente para una
9 fecundación óptima y si una reducción de flores masculinas puede afectar el éxito
10 reproductivo de estas especies (Capítulo 3).
- 11 3) Si las especies de pastos marinos han desarrollado estrategias para evitar una
12 depredación excesiva de las flores masculinas (Capítulo 4).

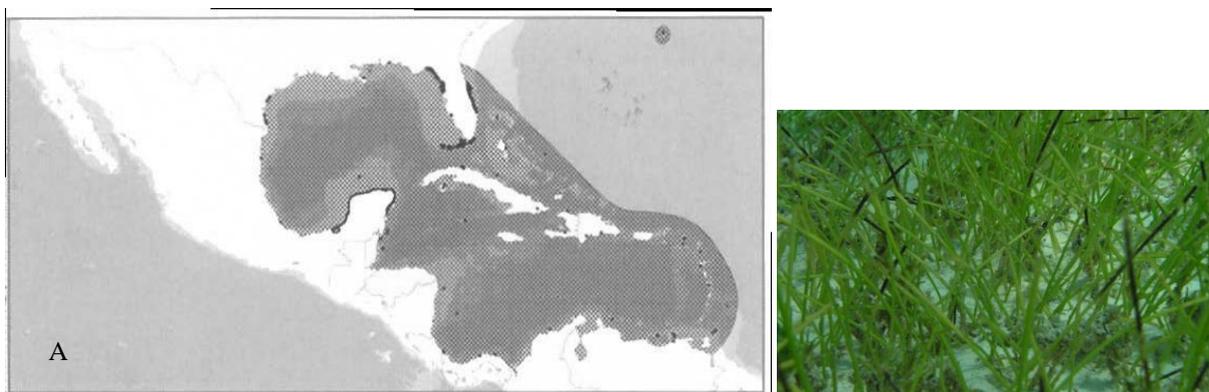
13

1 Descripción de las especies de estudio

2 El presente estudio se realizó con tres especies de pastos marinos: *Syringodium*
3 *filiforme*, *Halodule wrightii*, *Thalassia testudinum*, comunes en la laguna arrecifal de Puerto
4 Morelos, Quintana Roo, México.

5 *Syringodium filiforme* (Kützing)

6 La distribución de *Syringodium filiforme* (Cymodoceaceae) está restringida al Golfo
7 de México, Caribe, Bermuda y Bahamas (den Hartog y Kuo, 2006; Fig. 1.1A). Este pasto
8 crece en sustratos suaves compuestos principalmente por arena (Phillips, 1960, Fig. 1.1B). La
9 mayor abundancia de *S. filiforme* ocurre entre 1.5 y 10 m de profundidad, pero puede formar
10 praderas extensas a mayor profundidad (hasta 30 m); en aguas someras de hasta 5-6 m,
11 generalmente crece acompañada de otras especies. Eiseman (1980) reporta que *S. filiforme*
12 ocurre donde el oleaje y las corrientes no son intensas, frecuentemente mezclada con
13 *Thalassia testudinum* y *Halodule wrightii*. *Syringodium filiforme* es considerada una especie
14 tropical; sin embargo, también se distribuye al norte de la Florida, por lo que se le considera
15 euritermal. La salinidad óptima para el crecimiento de esta especie varía entre 25 y 35 ‰
16 (Phillips, 1960).

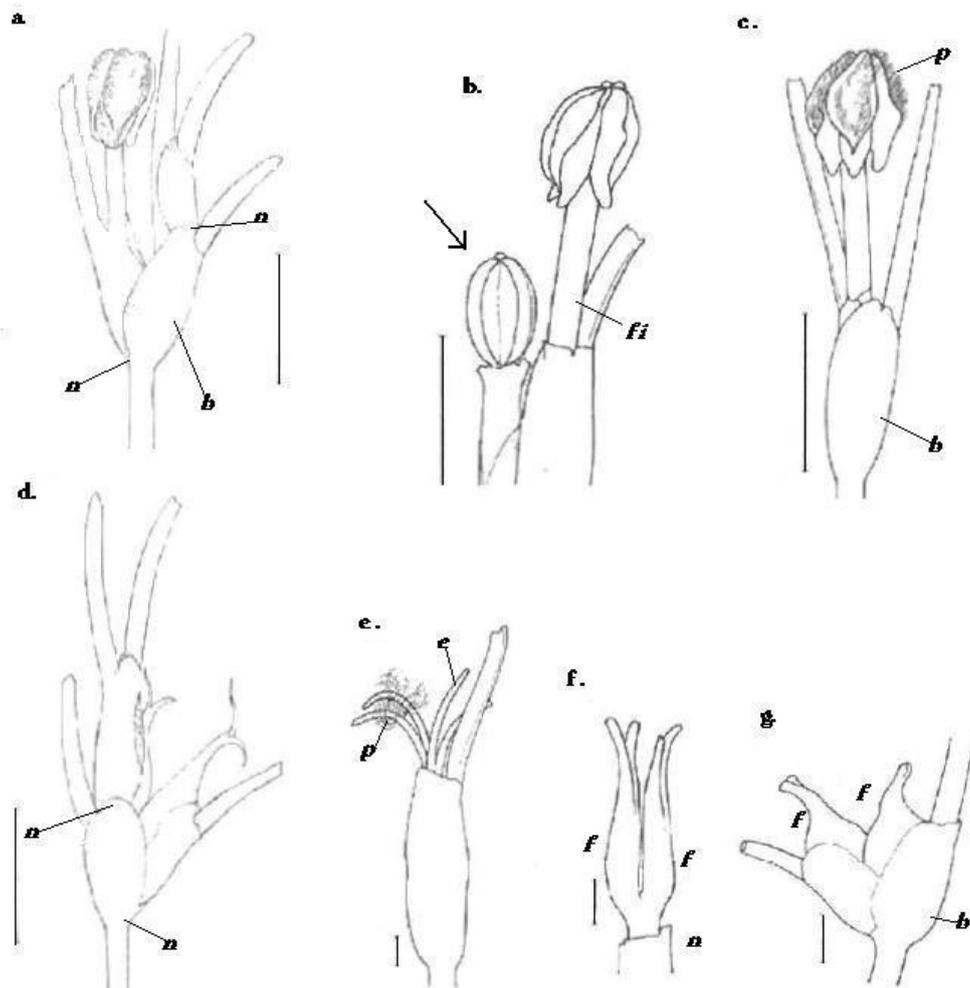
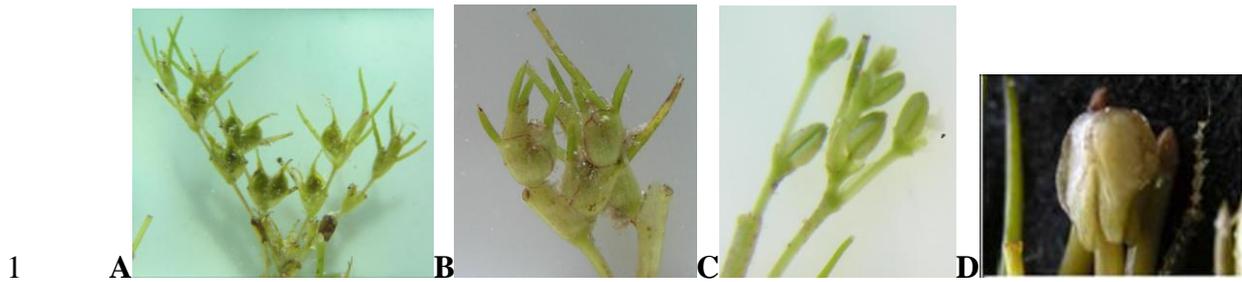


17 Figura 1.1. A. Distribución mundial de *Syringodium filiforme*. Las zonas sombreadas en gris son el rango esperado de la
18 especie y los puntos representan las localidades registradas (Tomado de Green y Short, 2003). B Detalle de una pradera
de *S. filiforme* en Puerto Morelos. Fotografía de Ricardo Wong, 2007.

1 *Syringodium filiforme* es una planta herbácea con crecimiento monopodial, con el
2 rizoma enterrado en la arena. El rizoma puede tener hasta 5 mm de grosor, tiene nodos o
3 zonas meristemáticas en las que se encuentran las raíces y los haces foliares y sexuales. Las
4 hojas son cilíndricas, la longitud pueden variar de 10 a 30 cm y son de aproximadamente 2
5 mm de diámetro (den Hartog, 1970). La principal forma de reproducción es a través del
6 crecimiento vegetativo, como la elongación del rizoma y la producción de nuevos haces. Se
7 trata de una planta dioica con flores desnudas (sin sépalos ni pétalos) agrupadas en
8 inflorescencias cimosas con máximo 30-50 flores en diferentes etapas de desarrollo y
9 cubiertas por brácteas (Kuo y den Hartog, 2006, Fig. 1.2). En las cimas, por cada nodo hay
10 una flor. Las flores femeninas tienen dos ovarios, cada uno con un estilo y dos estigmas finos
11 y alargados. En ocasiones, en la misma flor, el desarrollo de los ovarios presenta un óvulo
12 acrónico y, como resultado, un fruto muestra mayor desarrollo que el otro (Kuo y den Hartog,
13 2006). Las flores masculinas tienen dos anteras fusionadas con cuatro pares de
14 microsporangios. El polen es filamentoso y se encuentra embebido en una sustancia
15 mucilaginosa rica en carbohidratos (Kuo y den Hartog, 2006).

16 En Puerto Morelos, la época de floración es de enero-febrero hasta junio-julio
17 (comunicación personal Brigitta van Tussenbroek). Los frutos son de color café claro u
18 oscuro, ovoides, de 6-7 mm de largo, 3.5-5 mm de ancho y 1.5 mm de grosor; el nostrum es
19 bífido de 2-3 mm (den Hartog, 1970). Los frutos maduran en las cimas antes de caer al
20 sedimento y pueden tener un periodo de latencia prolongado, de aproximadamente 3 años
21 (McMillan, 1981). Sin embargo, el banco de semillas es considerado como transitorio
22 (Guzmán-Trampe, 2009; Orth *et al.*, 2006a).

23



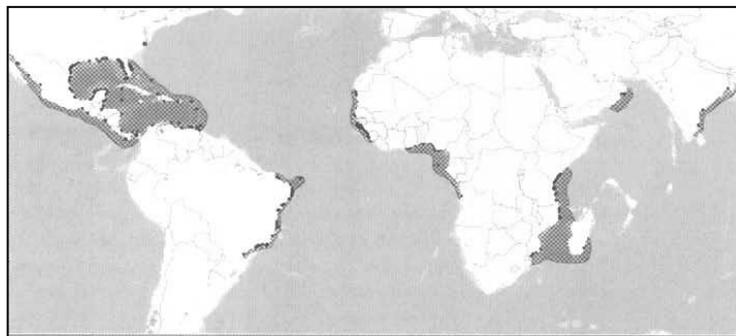
3 Figura 1.2. *Syringodium filiforme* (Cymodoceaceae): **A.** Cima femenina; **B.** Botones masculinos cubiertos por
 4 brácteas; **C.** Botones masculinos sin brácteas; **D.** Flor masculina con las anteras abriendo y el polen expuesto
 5 (Fotografías de Brigitta van Tussenbroek, 2007). Diagrama de estructuras reproductoras: **a.** Flor masculina
 6 después de antesis; **b.** Botón con brácteas removidas, indicado con flecha; **c.** Flor masculina abierta liberando
 7 polen; **d.** Parte de una cima femenina; **e.** Flor femenina con los estigmas receptivos con polen; **f.** Frutos jóvenes
 8 con brácteas removidas; **g.** Frutos con estigmas cortos y brácteas abiertas. Barras: (a, b, c, d) 1 cm y (e, f, g) 1
 9 mm. Dibujos de Elvia Esparza, 2009. *b:* bráctea, *e:* estigma, *f:* fruto, *fi:* filamento, *n:* nodo, *p:* polen,

10

1 *Halodule wrightii* (Ascherson)

2 *Halodule wrightii* pertenece a la familia Cymodoceaceae, se distribuye ampliamente
3 en el Caribe y el Golfo de México, hasta las costas del Atlántico de Estados Unidos y
4 Bahamas, además de Sao Tomé y Príncipe en Brasil. También se distribuye en las costas
5 Africanas de Angola, Kenya, Madagascar, Mauritania, Mozambique y Tanzania y en el Indo-
6 Pacífico (den Hartog, 1970; Green y Short, 2003) (Fig. 1.3). Ésta es una especie que se
7 desarrolla en aguas someras hasta 2.5 m de profundidad, generalmente en sustratos suaves
8 compuestos principalmente por arena (Creed *et al.*, 2003). También puede crecer en aguas
9 turbias y profundas o en ambientes estuarinos influenciados por manglares donde predominan
10 las fluctuaciones de salinidad, turbidez y contenido de nutrientes en sedimento y agua.
11 *Halodule wrightii* puede formar praderas monoespecíficas o crecer acompañada de
12 *Syringodium filiforme*, *Thalassia testudinum* o algas verdes y rizofíticas como *Caulerpa* spp.,
13 *Halimeda* spp., *Penicillus* spp., entre otras (Creed *et al.*, 2003). En las costas Africanas se
14 puede encontrar en asociación con *Cymodocea rotundata*, *Halodule uninervis* y *Halophila*
15 *ovalis* (den Hartog, 1970).

16



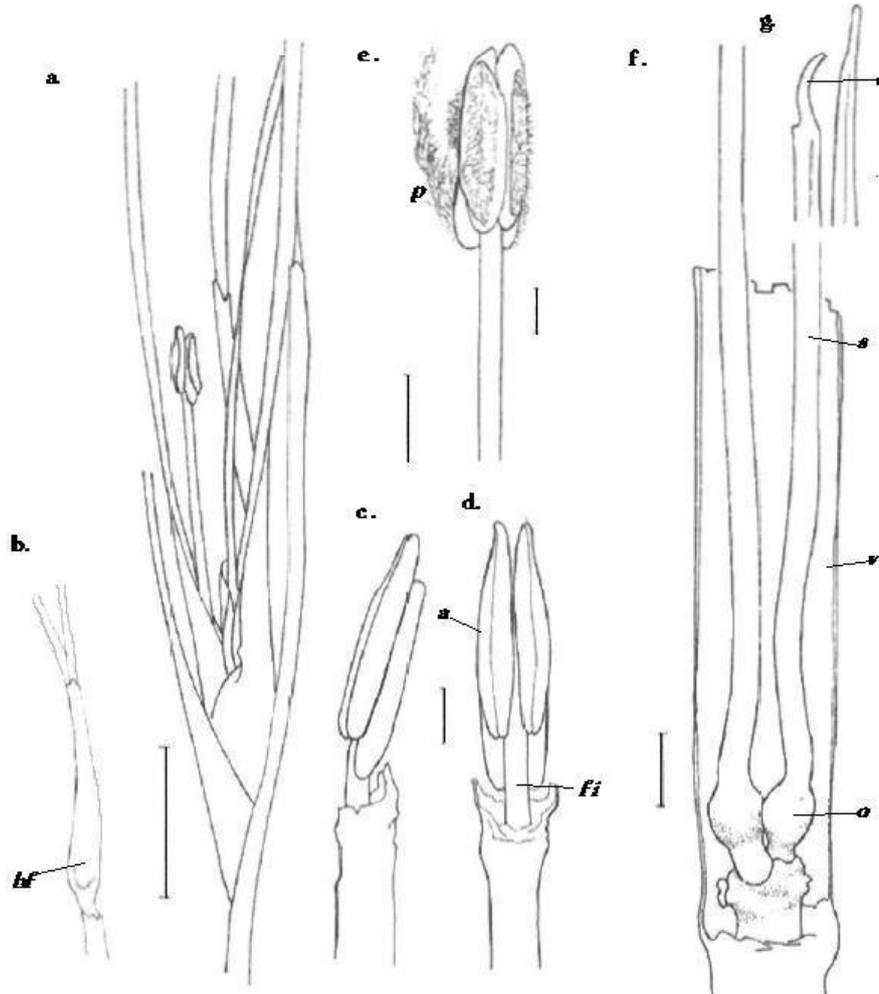
17

18 Figura 1.3. Distribución mundial de *Halodule wrightii*. Las zonas sombreadas en gris son el rango esperado de la
19 especie y los puntos negros representan las localidades registradas (Tomado de Green y Short, 2003).

20

1 *Halodule wrightii* es una planta herbácea de crecimiento monopodial, el rizoma se
2 encuentra enterrado algunos centímetros bajo la arena y tiene 2-5 raíces y un haz foliar por
3 cada nodo. Las hojas son liguladas y alargadas, pueden medir de ancho de 2 a 5 mm y de
4 largo entre 4 y 10 cm. Como todos los pastos marinos, *H. wrightii* es una planta clonal,
5 extendiéndose y manteniendo las praderas (perennes) a través del crecimiento horizontal de
6 los rizomas (Ferguson *et al.*, 1993). Esta planta es dioica, las flores se localizan en la base de
7 los haces y se desarrollan bajo el sedimento. Las flores femeninas poseen dos ovarios
8 elipsoidales o globosos de 1.5 a 2 mm de diámetro, cada uno con un óvulo con un estilo no
9 segmentado de 10-28 mm de longitud. Al madurar, los estigmas se estiran en la columna de
10 agua parecidos a dos hilos blancos (Fig. 1.4A). Los frutos se presentan en pares, son ovoides
11 o globosos, ligeramente comprimidos de unos 3 mm de diámetro y con coloración café
12 oscuro o negro (Fig. 1.4C). Las flores masculinas están compuestas por dos anteras
13 fusionadas y lobuladas de 3 a 5 mm de longitud, la antera superior está 0.5 mm arriba de la
14 inferior (Fig. 1.4B, c-d) y es de coloración rojiza por las numerosas células de taninos que
15 contiene. El polen es filamentoso (den Hartog, 1970; den Hartog y Kuo, 2006, Fig. 1.4e).
16 Poco antes de la antesis, el filamento se estira para levantar el botón floral por encima del
17 sedimento. El filamento puede dejar una cicatriz de floración en el rizoma vertical. En la
18 laguna arrecifal de Puerto Morelos, la floración ocurre de marzo a junio o julio, con un clímax
19 en abril-mayo, aunque durante toda la temporada floral pueden encontrarse haces sexuales en
20 diferentes etapas de desarrollo. Esta especie puede colonizar áreas perturbadas por medio de
21 bancos de semillas (comunicación personal Brigitta van Tussenbroek).

1



2

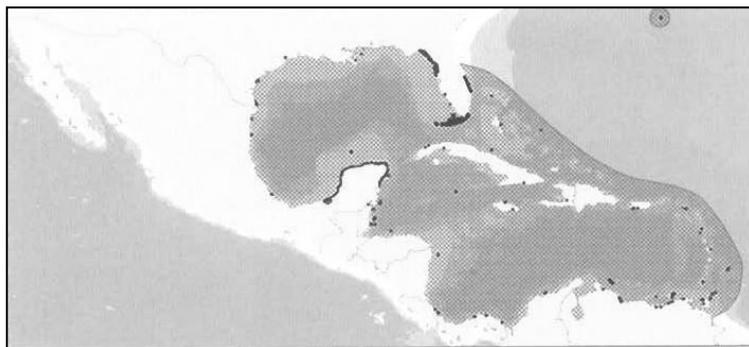
3 Figura 1.4. *Halodule wrightii* (Cymodoceaceae): **A.** Flor femenina; **B.** Flor masculina; **C.** Frutos (Fotografías de
 4 Brigitta van Tussenbroek, 2007). Diagrama de estructuras reproductoras. **a.** Haz foliar con flor masculina
 5 después de la antesis; **b.** Botón masculino envuelto en la vaina foliar. Barra: 1 cm. **c** y **d.** Detalles de antera y
 6 vaina removida; **e.** Flor masculina en antesis; **f.** Flor femenina mostrando dos ovarios con estilo; **g.** Detalle de las
 7 puntas de los estigmas. Barra: 1 mm. Dibujos de Elvia Esparza, 2009. **a:** antera, **bf:** botón floral, **e:** estigma, **fi:**
 8 filamento, **o:** ovario, **p:** polen, **s:** estilo, **v:** vaina foliar.

9

1 *Thalassia testudinum* (Banks ex Köing)

2 *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae) está ampliamente distribuída en el oeste del
3 océano Atlántico tropical y subtropical, desde Florida (E.U.) hasta Venezuela y las Antillas
4 (den Hartog, 1970). En México se localiza en las costas del Golfo de México y el Caribe (den
5 Hartog, 1970; Green y Short, 2003). Esta especie se presenta desde áreas expuestas durante
6 mareas bajas hasta los 10-15 m de profundidad y crece principalmente en sitios con sustrato
7 de lodo o arena (Green y Short, 2003). *T. testudinum* se desarrolla óptimamente entre los 23 y
8 31 °C (Barber y Behrens, 1985) y en el intervalo de salinidad de 24 a 35 ‰ (van Tussenbroek
9 *et al.*, 2006).

10



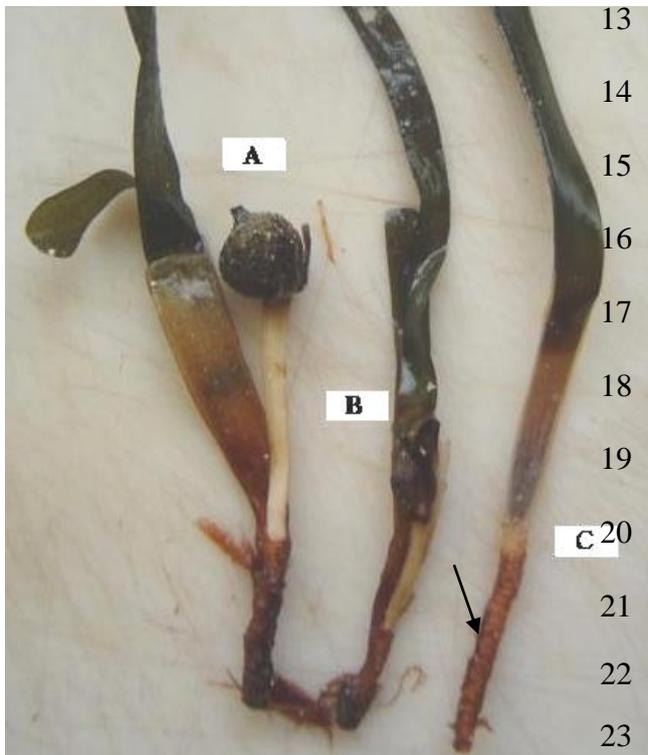
11

12 Figura 1.5. Distribución mundial de *Thalassia testudinum*. Las zonas sombreadas son el rango de la especie y los
13 puntos representan las localidades de registro (Tomado de Green y Short, 2003).

14

15 Este pasto marino es una planta herbácea tipo monopodial que crece con el rizoma
16 enterrado, el cual es grueso y con numerosas raíces. Es una planta dioica, cuyas flores se
17 forman dentro de la vaina del grupo foliar y sobresalen del sustrato cuando llegan a la
18 madurez, justo antes de la antesis, emergiendo unos centímetros arriba del sustrato (Cox y
19 Tomlinson, 1988). Las flores femeninas son solitarias, tienen un ovario con 2-6 óvulos, con
20 un estilo y 7-8 estigmas alargados de 1.5-2.5 cm de largo (Orpurt y Boral, 1964; den Hartog,

1 1970). Estas flores crecen sobre un pedúnculo de 3-4 cm de largo (den Hartog, 1970). Las
2 flores masculinas tienen un pedicelo de 1.25-2.5 cm de largo y crecen en grupos de 2 ó 3, en
3 diferentes etapas del desarrollo. Se pueden reconocer los haces masculinos por las cicatrices
4 que dejan los pedicelos de floraciones anteriores en el rizoma vertical (Fig. 1.6C). Cada flor
5 tiene 9-10 anteras bilobuladas y el polen es esférico, embebido en mucílago. Las flores
6 masculinas y femeninas (Fig. 1.7) tienen tépalos incoloros con motas de tonalidad rosa o
7 violeta (den Hartog, 1970). El fruto es globoso y puede medir hasta 1.5 cm de diámetro; el
8 fruto maduro es suave y cambia de verde brillante a verde amarillento y ocasionalmente a
9 rojo; puede contener 1 a 6 semillas (Fig. 1.7, Orpurt y Boral, 1964). El fruto maduro puede
10 permanecer pegado a la planta parental (Fig. 1.6A), en donde abre y libera las semillas, o se
11 puede liberar por medio de la acción de las olas y abrir cuando está flotando (Orpurt y Boral,
12 1964).



13 En el Caribe mexicano, la reproducción
14 sexual de *T. testudinum* es estacional
15 iniciando en febrero-marzo con la
16 aparición de los primordios florales, con
17 flores en antesis durante los meses de
18 marzo-abril hasta septiembre y frutos
19 maduros desde julio hasta octubre (van
20 Tussenbroek, 1994; 2006).

21
22 Figura 1.6. *Thalassia testudinum*. Haces sexuales.

23 A. Haz femenino con fruto maduro. B. Haz

24 femenino con fruto inmaduro. C. Haz masculino con cicatriz de pedicelos en el rizoma vertical.

1



2



3

4

5

6

7

8

9

Figura 1.7. *Thalassia testudinum*. (Hydrocharitaceae). **A**: flor femenina, **B**: flor masculina (Fotografías de Brigitta van Tussenbroek, 2007). Diagramas de estructuras reproductoras: **a**: haz con flores masculinas en diferentes etapas del desarrollo, **b-c**: elongación del pedicelo y apertura de los tépalos y de las anteras, **d**: botón floral femenino, **e**: flor femenina, se removió la bráctea frontal, **f**: fruto inmaduro, **g**: fruto maduro, **h**: semilla, **i**: fruto abierto sin semillas. Barra: 1 cm. **a**: anteras, **b**: brácteas, **bo**: botón, **e**: estigmas, **eo**: estigmas oxidados, **p**: polen, **pe**: pedicelo, **ps**: anteras después de la antesis, **t**: tépalos, **v**: vaina (Dibujos de Elvia Esparza, 2009).

1 **HIPÓTESIS**

2 Capítulo II. Herbivoría floral

3 Hipótesis 1. Las flores masculinas de *Thalassia testudinum*, *Syringodium filiforme* y
4 *Halodule wrightii* (las tres especies abundantes de pastos marinos en la laguna
5 arrecifal de Puerto Morelos), son una fuente de alimento preferido por peces.

6 Capítulo III. Limitación de polen

7 Hipótesis 2. La producción potencial de polen de las tres especies de pastos
8 marinos más abundantes en el área de estudio es suficiente para fecundar todos los
9 óvulos disponibles.

10 Hipótesis 3. Una depredación de polen sin restricciones por peces herbívoros
11 resultaría en limitación de polen.

12 Capítulo IV. Posibles estrategias de defensa contra herbivoría

13 Hipótesis 4. Las flores de las tres especies de pastos marinos del estudio han
14 desarrollado características morfológicas para evitar la depredación de las flores
15 masculinas.

16 **OBJETIVOS**

17 General de la tesis

18 Determinar si las flores masculinas de *Thalassia testudinum*, *Syringodium filiforme* y
19 *Halodule wrightii* en la laguna arrecifal de Puerto Morelos, están sujetas a herbivoría y
20 establecer las posibles estrategias de defensa.

1

2 Particulares por capítulo

3 Capítulo II. Herbivoría Floral

4 1. Conocer si el polen de las tres especies de pastos marinos contiene sustancias nutritivas.

5 2. Observar si especies de peces depredan el polen de las tres especies de pastos marinos.

6

7 Capítulo III. Limitación de polen

8 1. Realizar un conteo del polen en las anteras de las tres especies de pastos marinos.

9 2. Conocer la frecuencia de floración de las tres especies de pastos marinos.

10 3. Determinar la producción potencial de polen por óvulo por m² en las tres especies de
11 pastos marinos en el área de estudio.

12 4. Explorar indicativos de limitación de polen en las praderas de las especies *Syringodium*
13 *filiforme* y *Halodule wrightii*.

14 5. Establecer, por medio de experimentos, si la reducción de las flores masculinas puede
15 resultar en la limitación de polen en *Thalassia testudinum* y *S. filiforme*.

16

17 Capítulo IV. Posibles estrategias de defensa contra herbivoría

18 1. Estudiar *in situ* la frecuencia de herbivoría de las flores masculinas de las tres especies
19 de pastos marinos.

20 2. Registrar y proponer los posibles mecanismos desarrollados por los pastos marinos
21 para evitar la herbivoría de las flores masculinas.

22

1 **ÁREA DE ESTUDIO**

2 La laguna arrecifal de Puerto Morelos se ubica en la costa noreste de la Península de
3 Yucatán, en Quintana Roo, México, situada dentro del Área Natural Protegida Parque
4 Nacional Arrecife de Puerto Morelos (localizada en 20°51'16.51" N, 86°52'20.23" W). El
5 clima es clasificado como Aw; cálido subhúmedo con lluvias todo el año e inviernos
6 generalmente menos lluviosos (INEGI, 2009). Las tormentas tropicales y huracanes ocurren
7 entre los meses de junio y noviembre. (Ruíz-Rentería *et al.*, 1998).

8 La laguna está delimitada por un arrecife de franja de más de 7 km de largo situado a
9 una distancia de entre 350 m y 1.6 km de la línea de costa. Este arrecife está ubicado de norte
10 a sur paralelo a la línea de costa. No hay descargas de ríos y lagos superficiales, por lo que la
11 salinidad se mantiene en 35 ‰. La temperatura superficial del agua varía entre 25° C durante
12 el invierno y 31° C en el verano. La laguna tiene profundidad de hasta 7 m (generalmente 2.5
13 a 4 m) y el fondo está cubierto por arena calcárea colonizada por una comunidad de pastos
14 marinos, en la cual domina *Thalassia testudinum*. La vegetación de los pastizales se divide en
15 tres zonas principales: costera, laguna media y arrecife posterior (Ruíz-Rentería *et al.*, 1998).

16 En el borde de la costa existen praderas de *T. testudinum* y *Syringodium filiforme*, las
17 cuales están acompañadas de algas rizofíticas y franjas bordeantes de *Halodule wrightii* hacia
18 la playa. La zona de la laguna media tiene suelo arenoso y en ella se encuentra una densidad
19 moderada de *T. testudinum* y *S. filiforme*, acompañadas de algas rizofíticas. En la zona del
20 arrecife, la pradera se compone principalmente por *T. testudinum*, bajas densidades de algas
21 rizofíticas y *S. filiforme* (Ruíz-Rentería *et al.*, 1998; observación personal).

22

23

1 Los sitios experimentales del presente estudio fueron los siguientes (Fig. 1.8).

2

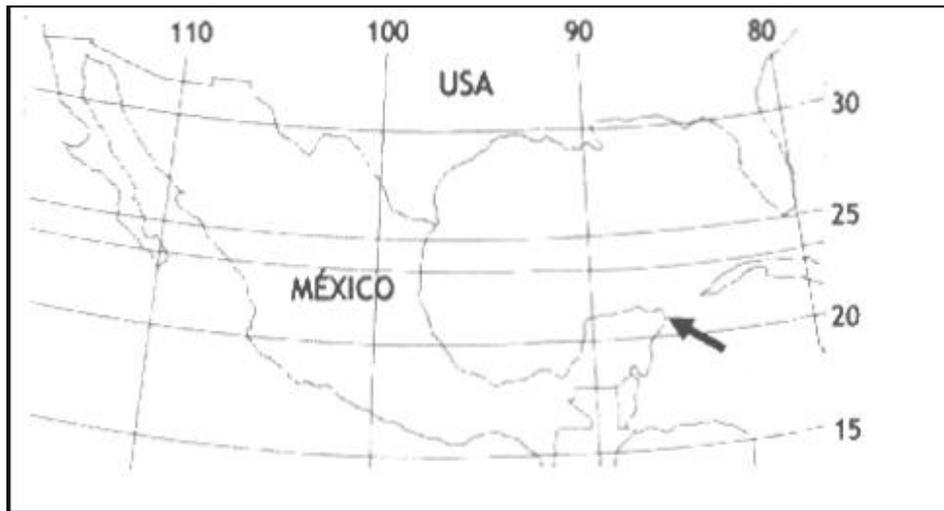
3 **1.** Franja costera con parches de *Halodule wrightii*, con coordenadas geográficas 20°52.073'
4 N, 86°52.017' W y 20°52.118' N, 86°54.999' W. Es una zona que bordea la línea de costa (a
5 unos 10-50 m de distancia). La profundidad varía de < 1 hasta 2 m, el sustrato es suave
6 compuesto principalmente por arena. La vegetación dominante es *Halodule wrightii*
7 acompañada de algas rizofíticas *Halimeda incrassata*, *Penicilus* spp. y algunos parches
8 pequeños de *Syringodium filiforme*.

9 **2, 3.** Praderas de *Syringodium filiforme* cercanas a la costa, con coordenadas geográficas
10 20°52.096' N, 86°52.012' W y 20°52.080' N, 86° 52.004' W. Se encuentran aproximadamente
11 a 50 m de distancia de la línea costera, la profundidad es de unos 2.5 m y el sustrato es
12 arenoso. El oleaje se puede denominar como ligero. La vegetación se compone de *S. filiforme*,
13 algas rizofíticas *Caulerpa paspaloides*, *Udotea* spp., *Halimeda incrassata*, *Penicilus* spp. y
14 algas pardas, principalmente *Lobophora variegata*.

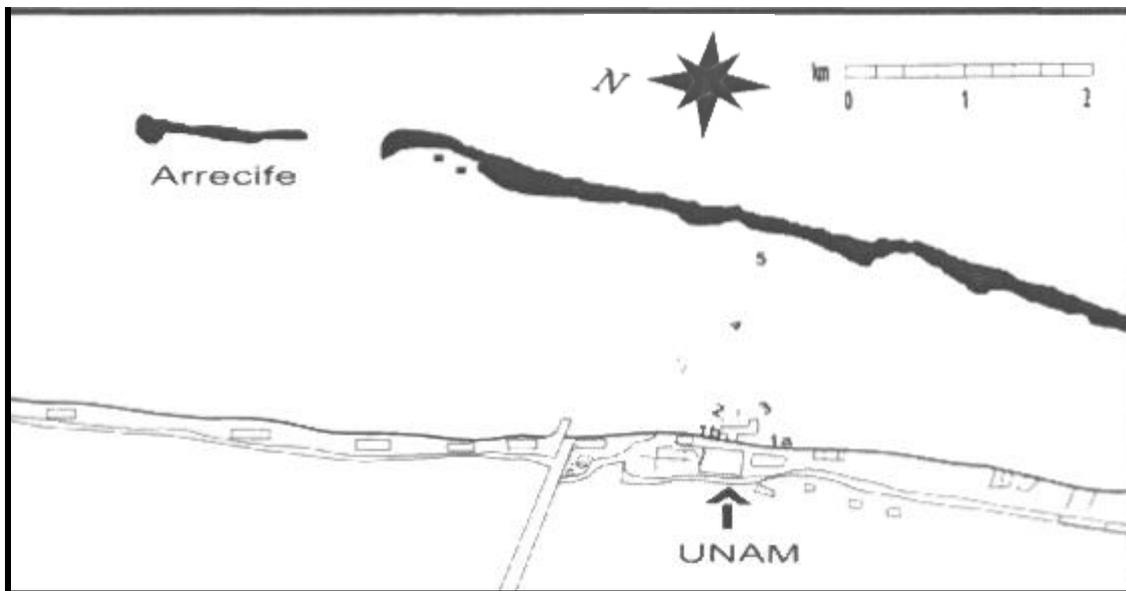
15 **4.** Pradera de *Thalassia testudinum* en laguna media, con coordenadas geográficas
16 20°52.058`N, 86°51.942`W. La profundidad media de esta zona es de 3 m, el sustrato es
17 arenoso. El oleaje es moderado. La vegetación dominante es *T. testudinum* con algas
18 rizofíticas *Halimeda incrassata*, *Caulerpa paspaloides*, *Udotea* spp. *Penicilus* spp. y algas
19 pardas *Lobophora variegata*, *Padina* spp., *Laminaria* spp.

20 **5.** Praderas de *Thalassia testudinum* con baja densidad de *S. filiforme* cercanas al arrecife. Las
21 coordenadas geográficas son 20°51.854`N, 86°51.492`W y 20°51.643`N, 86°51.971`W. La
22 profundidad es de unos 3 m y el sustrato es arenoso con pedacería de coral. Esta protegida por
23 la rompiente arrecifal con un relativo régimen hidrodinámico alto.

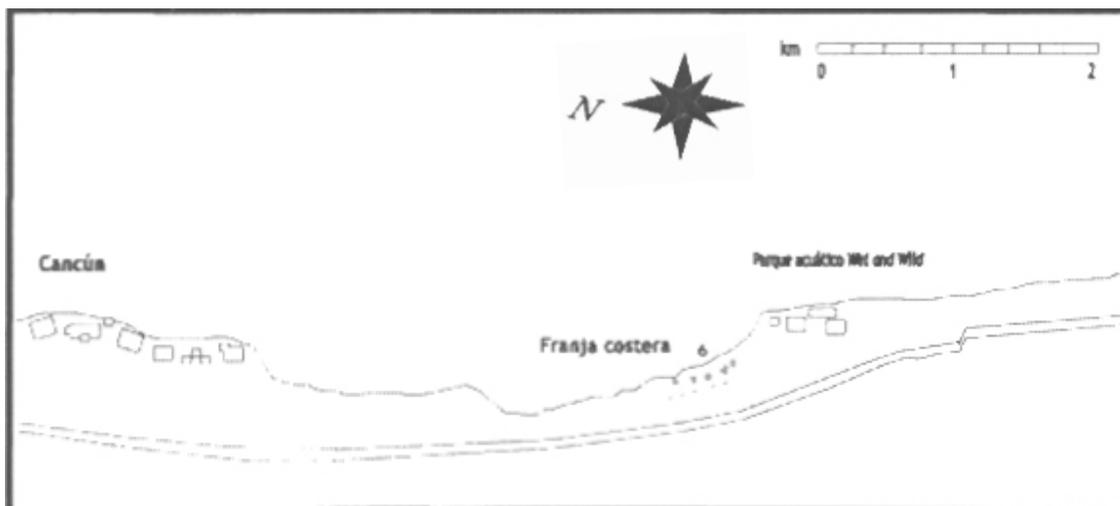
1 **6.** Franja costera cercana a Cancún con coordenadas geográficas 21°01.421`N, 86°48.739`W.
2 Es una bahía somera y con poca energía de oleaje, la profundidad es de < 1 m hasta
3 aproximadamente 1.5 m. El sustrato es fangoso y con abundante materia orgánica. La
4 vegetación dominante cercana a la costa es *Halodule wrightii* en parches distribuidos a lo
5 largo de la costa mezclados con *Syringodium filiforme* y abundantes algas rizofíticas y pardas.
6



1



2



3

4 Figura 1.8. Mapas de las áreas de estudio donde se indican los sitios experimentales. 1.

5 República Mexicana; 2. Laguna arrecifal de Puerto Morelos; 3. Zona hotelera de Cancún.

1 **CAPÍTULO 2 HERBIVORÍA FLORAL**

2 **ANTECEDENTES**

3 Herbivoría de pastos marinos

4 El pastoreo sobre las hojas de los pastos marinos es considerable y afecta su
5 productividad y abundancia en los ambientes marinos del mundo (Valentine y Heck, 1999).
6 Los herbívoros de los pastos marinos pertenecen a diferentes *phyla*. Algunos ejemplos de
7 herbivoría foliar incluyen al erizo de mar (Echinodermata) *Lytechinus variegatus* como el
8 consumidor principal de las hojas de *Thalassia testudinum* en Florida Bay, con densidades de
9 20 a 40 individuos por m² que consumen hasta 1 g seco/erizo/semana (Greenway, 1976; Hay,
10 1984; Valentine *et al.*, 1997; 2000). En el área exterior a Florida Bay, Rose *et al.* (1999)
11 reportaron una disminución en 82% de la abundancia del pasto marino dominante
12 *Syringodium filiforme* por el mismo erizo, con consecuencias nocivas para la epifauna y la
13 infauna, claridad del agua, calidad del hábitat de peces y reducción de la productividad
14 primaria. En Bermuda, la herbivoría del pez loro *Sparisoma radians* (Chordata, Scaridae)
15 sobre hojas de *T. testudinum* en áreas experimentales con elevado contenido de nutrientes fue
16 del 100% en 9 días, pero los sitios experimentales se recuperaron en un periodo de 6 a 10
17 semanas (McGlathery, 1995). Ogden (1980) reportó que en una pradera caribeña oligotrófica,
18 5 a 10% de la producción primaria neta fue consumida principalmente por *S. radians*. En
19 algunos sistemas arrecifales se han registrado “halos” por peces y erizos que migran del
20 arrecife al pastizal (Randall, 1965; Valentine y Duffy, 2006). Zimmerman *et al.* (2001),
21 observaron reducciones drásticas en la abundancia, tamaño y productividad de *Zostera*
22 *marina* (Monterey Bay, California), debido a *Tectura depicta*, una lapa (Mollusca) que se
23 alimenta de la epidermis de las hojas, consumiendo solamente el 10% de biomasa, pero

1 creando un gran daño por consumo exclusivo de la epidermis con pigmentos fotosintéticos.
2 También existen organismos excavadores en los pastos marinos, tales como el isópodo
3 *Limnoria simulata* y *Lynseia* spp. (Arthropoda) que viven y se alimentan dentro de canales
4 creados en tejido foliar vivo de *Thalassia testudinum* del Caribe (van Tussenbroek y Brearley,
5 1998) y *Posidonia* spp. en Australia (Brearley y Walker, 1995), respectivamente. En una
6 revisión sobre dispersión de semillas por zoocoría, Clausen *et al.* (2002) mencionan que
7 algunas aves migratorias de la familia Anatidae (gansos, patos y cisnes) son consumidoras de
8 plantas con semillas de *Zostera marina* y *Ruppia maritima*. Los efectos del pastoreo continuo
9 o intensivo de la tortuga marina *Chelonia midas* y sirénidos sobre pastos tropicales fueron
10 probablemente muy impactantes en el pasado cuando éstos eran abundantes (Nietschmann y
11 Nietschmann, 1981; Ogden *et al.*, 1983; Williams, 1988; Moran y Bjorndal, 2006). Incluso,
12 Valentine y Duffy (2006) sugieren que la similitud morfológica vegetativa entre angiospermas
13 terrestres y marinas pudiera haber sido resultado de una respuesta común a una alta presión de
14 grandes herbívoros en las praderas, independientemente de sus distintos orígenes
15 taxonómicos. Esta respuesta incluye crecimiento de rizomas bajo el sustrato, integración
16 fisiológica entre ramets y colocación de meristemas bajo el sustrato para protección y rápida
17 regeneración foliar después de la defoliación.

18 Aunque la herbivoría foliar es común en todas las áreas donde crecen los pastos
19 marinos y su impacto local puede ser significativo, actualmente se estima que sólo un 20% de
20 la producción primaria de los pastos del mundo es consumida por herbívoros a nivel global
21 (Valentine y Duffy, 2006), posiblemente porque las hojas no son una fuente alimenticia
22 atractiva para los peces y fauna pequeña. Duarte (1990) menciona que las hojas de los pastos
23 marinos contienen altas proporciones de carbono (C): nitrógeno (N): fósforo (P) con valores
24 promedio de C: N: P de 474: 24: 1, mismos que varían entre especies y de acuerdo a las

1 condiciones locales. Además, el contenido de N y P es bajo, con porcentajes promedio de
2 1.8% N y 0.20% P del peso seco del tejido foliar. Por último, el carbono se encuentra en
3 forma refractaria y, por lo tanto, es difícil de digerir (Klumpp *et al.*, 1989). Por lo anterior, el
4 valor nutricional de las hojas de los pastos marinos es mucho menor en comparación con el de
5 muchas macroalgas con una proporción típica de C: N: P de 550: 30: 1 (Atkinson y Smith,
6 1984). Muchos herbívoros prefieren las algas epífitas que se encuentran en los pastos
7 (Klumpp *et al.*, 1989; Borowitzka *et al.*, 2006) y en algunas ocasiones el consumo del tejido
8 foliar (viejo) de los pastos es incidental.

9

10 Florivoría

11 Aunque los informes de herbivoría sobre el tejido foliar de los pastos marinos son
12 amplios, existen pocos reportes sobre el impacto de la herbivoría de sus estructuras
13 reproductoras. Los pocos registros se mencionan en la Tabla 2.1; la mayoría son de
14 depredación de semillas y frutos y se resalta que existen escasas observaciones de
15 depredación de flores (florivoría). Las estructuras reproductoras de los pastos marinos son
16 efímeras y poco visibles e incluso las flores sedentarias de algunas especies como *Thalassia*
17 *testudinum* y *Halodule wrightii* se encuentran cubiertas por sedimento la mayor parte del
18 tiempo. Por lo tanto, pocos han observado las flores y su fenología, no porque no las haya,
19 sino porque son inconspícuas en el medio marino. Esto último también podría explicar los
20 escasos registros de florivoría en los pastos marinos, ya que estudiarlos requiere de
21 observaciones cuidadosas y continuas en el mar, un medio ajeno al humano y sólo accesible
22 por medio de buceo autónomo.

1 Es importante considerar las diferencias en las consecuencias de herbivoría foliar y
2 florivoría. La herbivoría foliar tiene consecuencias a nivel fisiológico; las hojas son fuente de
3 energía y al removerlas se reduce el área fotosintéticamente activa. Las estructuras
4 reproductoras son un sumidero de energía de la planta (McCall e Irwin, 2006) y, por lo tanto,
5 el efecto de su remoción sobre el balance energético es probablemente mínimo. En el caso de
6 la florivoría, las consecuencias son principalmente evolutivas y a nivel de la población y no
7 de los individuos (McCall e Irwin, 2006).

8 Los registros de florivoría en angiospermas terrestres son más comunes, pero también
9 en el medio terrestre la cuantificación de la florivoría suele ser más complicada que medir el
10 consumo de hojas, debido a que las flores son estructuras efímeras (McCall e Irwin, 2006). En
11 el caso de que la florivoría sea común y frecuente, puede afectar el éxito reproductivo (Canela
12 y Sazima, 2003). Florívoros que consumen los pétalos pueden reducir el impacto visual y, por
13 lo tanto, disminuir las visitas de la fauna polinizadora. Los florívoros que se concentran en
14 consumir anteras y polen (Kirk *et al.*, 1995) pueden reducir la cantidad y la calidad de los
15 gametos, afectando la eficiencia de la reproducción (McCall e Irwin, 2006). El polen de la
16 mayoría de las angiospermas entomófilas y anemófilas es una fuente nutricional importante
17 de proteínas, nitrógeno, aminoácidos, almidón, esteroides y lípidos y puede contener
18 aminoácidos libres y carbohidratos (Roulston y Cane 2000). Las flores entomófilas, con
19 corolas llamativas (e.g. Cucurbitaceae), pueden contener elementos nutritivos como azúcares,
20 vitaminas, carotenoides, almidones, proteínas y elementos minerales como potasio y calcio
21 (Montalvo y Colinas, 2002). Algunos registros de florivoría y sus efectos son mencionados a
22 continuación. Calvo-Irabién e Islas-Luna (1999) registraron que cerca del 30% de las flores
23 censadas del arbusto *Aphelandra aurantiaca* (Acanthaceae) en Los Tuxtlas, México, fueron
24 dañadas por diversos florívoros incluyendo adultos de Coleoptera, Hemiptera y Orthoptera,

1 así como larvas de Lepidoptera e Hymenoptera (hormigas), lo que provocó una reducción en
2 la producción de semillas viables para el establecimiento de plántulas. El impacto del
3 escarabajo florívoro, *Eusphalerum bosatsu*, resultó en un daño casi total en la producción de
4 semillas en una población de la hierba *Primula sieboldii* (Primulaceae) en Japón (Washitani *et*
5 *al.*, 1996) y en una población de la hierba *Silene latifolia* (Caryophyllaceae) en Europa
6 (Wolfe, 2002). Weiss (1996) encontró que por lo menos 71% de las flores del arbusto
7 *Centropogon solanifolius* (Campanulaceae) en Costa Rica fueron infestadas con una larva
8 consumidora de polen, resultando en alteraciones del fenotipo floral masculino. En una
9 población de la hierba *Lupinus amplus* (Fabaceae) se registró un daño de 50-79% de las
10 inflorescencias por larvas de Lepidoptera (Lycaenidae). Las larvas causaron una importante
11 reducción en la producción de semillas; este pequeño herbívoro podría actuar como un agente
12 de selección floral en poblaciones de *L. amplus* (Breedlove y Ehrlich, 1968). En un estudio de
13 41 especies herbáceas en un área de 0.16 m², en Inglaterra, se encontró que el 50% de los
14 pétalos de *Silene dioica* (Caryophyllaceae) y el 40% de *Ranunculus ficaria*, *Ranunculus acris*
15 (Ranunculaceae) y *Myosotis sylvatica* (Boraginaceae) fueron removidos por babosas. Los
16 autores mencionan que la herbivoría de pétalos puede provocar selección sobre la fenología
17 floral (Breadmore y Kirk, 1998). La florivoría en plantas terrestres afecta a poblaciones de
18 angiospermas en escalas grande y pequeña y en todos los continentes (McCall e Irwin, 2006).

19 En el caso específico de los pastos marinos, las inflorescencias del pasto mediterráneo
20 hermafrodita *Posidonia oceanica* son comidas por el pez *Sarpa salpa* (Sparidae). Los autores
21 de ese estudio observaron que la herbivoría contribuye a la pérdida de inflorescencias en un
22 27%, aunque no se observó exactamente qué parte de la inflorescencia era comida por el pez
23 (Piazzi *et al.*, 2000) (Tabla 2.1). Van Tussenbroek *et al.* (2008a) observaron cómo un pez loro
24 juvenil (Scaridae) consumía la flor masculina de *Thalassia testudinum*, la cual había liberado

1 el polen recientemente. Lo importante de esta observación es que nunca antes se había
2 registrado la depredación selectiva de polen en ningún pasto marino. Al igual que el polen
3 terrestre, el polen de los pastos marinos puede ser una fuente de alimento nutritiva o atractiva.
4 Las pruebas citoquímicas que Pettitt (1980) realizó de los granos de polen de *Enhalus*
5 *acoroides* y *Halophila stipulacea* y también del mucílago de *Thalassia hemprichii* muestran
6 que tienen componentes nutricionales como polisacáridos y proteínas. Por lo tanto, en el
7 presente trabajo pretendemos comprobar si el polen de las especies de pastos estudiadas
8 podría ser una fuente de alimento preferido por peces en la laguna arrecifal de Puerto
9 Morelos.

1 Tabla 1. Registros de herbivoría de estructuras reproductoras en pastos marinos. Zoocoría, se refiere a dispersión de semillas mediante
 2 animales. En pastos marinos no se ha reportado polinización biótica (animales como vectores del transporte de polen).

Familia/especie	Separación de sexos	Tipo de inflorescencia	Flores por inflorescencia	Consumo de	Herbívoro	Socorría	Defensa	Lugar	Referencia
DEPREDACIÓN DE SEMILLAS									
Zosteraceae									
<i>Zostera capricorni</i>	Monoica	racemosa	2-5 espádices con ~10 flores cada una.	Semillas	<i>Penaeus esculentus</i> (langostino)	N		Australia	Wassenberg, 1990
<i>Zostera marina</i>	Monoica	racemosa	2-5 espádices con ~10 flores cada una.	Semillas	<i>Callinectes sapidus</i> (jaiba)	N		USA	Fishman y Orth, 1996
				Semillas	Moluscos e isópodos	N		Carolina del Norte, USA	Adams, 1976
				Semillas	<i>Pagurus longicarpus</i> (cangrejo hermitaño)				Wigand y Churchill, 1988
				Semillas	Anatidae (cisnes, patos y gansos)	S (aves)		Norte de Europa	Clausen <i>et al.</i> , 2002
<i>Zostera marina</i> y <i>Z. caulescens</i>				Semillas	<i>Zeuxo</i> sp. (tanaidáceo)	N		Japón	Nakaoka, 2002
<i>Zostera caulescens</i>	Monoica	racemosa	2-5 espádices con ~10 flores cada una.	Semillas	¿?				Wigand y Churchill, 1988
<i>Phyllospadix torreyi</i>	Dioica	racemosa	10- 13	Fruto y semilla	<i>Pugettia producta</i> , <i>Pachygrapsus crassipes</i> (cangrejos) e <i>Idotea resicata</i> (isópodo)	N	Taninos en el pericarpio de frutos (Kuo <i>et al.</i> , 1990)	California, USA	Holbrook <i>et al.</i> , 2000
Cymodoceaceae									
<i>Syringodium filiforme</i>	Dioica	Cima	~10	Fruto	<i>Sparisoma</i> spp. (pez)	N		Caribe Mexicano	Comunicación personal, van Tussenbroek
<i>Halodule wrightii</i>	Dioica	solitaria	1	Fruto	<i>Sparisoma</i> spp. (pez)	N		Caribe Mexicano	Comunicación personal, van Tussenbroek
Ruppiceae									
<i>Ruppia maritima</i>	Perfecta	pedunculada	2	Frutos/semillas	Anatidae (cisnes, patos y gansos)	S (aves)		Norte de Europa	Clausen <i>et al.</i> , 2002
					<i>Anas acuta</i> (pato) <i>Anas penelope</i> (pato)	S			Cramp y Simmons, 1977, en Clausen <i>et al.</i> , 2002

Familia/ especie	Separación de sexos	Tipo de inflorescencia	Flores por inflorescencia	Consumo de	Herbívoro	Zoocoría	Defensa	Lugar	Referencia
Posidoniaceae									
<i>Posidonia oceanica</i>	Perfecta	racemosa	8-10 inflorescencias con 3-5 flores cada una	Semillas	¿?	N		Italia	Balestri y Cinelli, 2003; Piazzini <i>et al.</i> , 2000
<i>Posidonia australis</i>	Perfecta	racemosa	inflorescencias con 3-5 flores cada una	Semillas	Lysianassidae (anfipodos)	N		Australia	Orth <i>et al.</i> , 2006a
				Semillas	<i>Monacanthus</i> spp., <i>Girella zebra</i> , <i>Khyphosus</i> spp. (peces)	N		Australia	Orth <i>et al.</i> , 2002
				Semillas	<i>Portunus pelagicus</i> (cangrejo) <i>Nectocarcinus integrifrons</i> (cangrejo), <i>Cymodoce</i> sp. (isópodo)	N		Australia	Orth <i>et al.</i> , 2006b; 2007
Hydrocharitaceae									
<i>Thalassia testudinum</i>	Dioica	pedicelada	1-2 femenina, 3 masculina	Fruto	<i>Sparisoma</i> sp. (pez)		Taninos en la cubierta seminal, cotiledón y primordios foliares de semillas jóvenes (Jiménez-Durán, 2004) y pericarpio de frutos (Troyo-Ballina, 2009)	Caribe Mexicano	Troyo-Ballina, 2009
FLORIVORÍA (Depredación de flores)									
Zosteraceae									
<i>Zostera marina</i>	Monoica	espádice	2-5 espádices con ~10 flores cada una	Inflorescencia	<i>Zeuxo</i> sp (tanaideo), <i>Platynereis</i> sp (poliqueto), <i>Lirulania iridescens</i> y <i>Siphonacmea oblongata</i> (gasteropodos)			Japón, Thailandia	Nakaoka <i>et al.</i> 2008; Hellwig-Armonies, 1988
<i>Phyllospadix torreyi</i>	Dioica	espádice	10-13	Espádice masculina	<i>Girella nigricans</i> (pez)	N		California, USA	Williams, 1995

1

Familia/ especie	Separación de sexos	Tipo de inflorescencia	Flores por inflorescencia	Consumo de	Herbívoro	Zoocoría	Defensa	Lugar	Referencia
Posidoniaceae									
<i>Posidonia oceanica</i>	Perfecta	racemosa	8-10 inflorescencias con 3-5 flores cada una	Inflorescencias completas	<i>Sarpa salpa</i> (pez)	N		Italia	Piazzini <i>et al.</i> , 2000
				Inflorescencias	<i>Paracentrotus lividus</i> (erizo)	N		Mediterráneo	Vergés <i>et al.</i> , 2006; 2007
				Inflorescencias	¿?			Palermo, Italia	Fradà-Orestano <i>et al.</i> , 1989
Hydrocharitaceae									
<i>Thalassia testudinum</i>	Dioica	pedicelada	1- 2 femenina, 3 masculina	Flor masculina	<i>Sparisoma</i> sp. (pez)			Caribe Mexicano	Van Tussenbroek <i>et al.</i> , 2008a
DEPREDACIÓN DE PLANTA COMPLETA									
Hydrocharitaceae									
<i>Halophila ovalis</i>	Dioica	solitaria	masculina pedicelada y femenina subsésil	Planta completa**	<i>Dugong dugong</i> (sirénido)	posible		Australia	McMahon, 2005; Preen, 1995
				Planta completa**	<i>Chelonia midas</i> (tortuga verde)			USA	Ogden <i>et al.</i> , 1983; Williams, 1988; Moran y Bjorndal, 2006

2

**Herbivoría de estructura reproductora no definida.

1 ***HIPÓTESIS Herbivoría Floral***

2 Las flores masculinas de *Thalassia testudinum*, *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii* (las
3 tres especies abundantes de pastos marinos en la laguna arrecifal de Puerto Morelos), son una fuente de
4 alimento preferido por peces.

5 ***OBJETIVOS***

6 Particulares

- 7 • Conocer si el polen de las tres especies de pastos marinos contienen sustancias nutritivas.
8 • Observar si especies de peces depredan el polen de las tres especies de pastos marinos.

9

1 **MATERIAL Y MÉTODOS**

2 Análisis histoquímicos de las flores masculinas

3 Los análisis histoquímicos del polen de *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii* se realizaron
4 siguiendo los protocolos para *Thalassia testudinum* de van Tussenbroek *et al.* (2009). Las flores
5 masculinas en etapa adulta fueron recolectadas en los meses de marzo a junio de 2007 en la laguna
6 arrecifal de Puerto Morelos, Quintana Roo. El material biológico fue fijado inmediatamente después de
7 su colecta en FAA (formol, ácido acético, etanol al 96% y agua; 1:0.5:5:3.5). Los análisis histoquímicos
8 fueron realizados en el Laboratorio de Desarrollo en Plantas, Facultad de Ciencias, UNAM. La
9 preparación para los análisis histoquímicos consistió en la deshidratación de las muestras que luego
10 fueron enjuagadas en agua corriente durante dos horas para eliminar o diluir el FAA y posteriormente se
11 transfirieron a una serie gradual de etanol (30%, 50%, 70%, 85%, 96% y 100%) durante 1 hora en cada
12 uno. Después de la deshidratación, el material se colocó en las siguientes mezclas: etanol 100%-slide
13 brite (1:1) por 1 hora, slide brite puro por 5 min; slide brite-paraplast (1:1) por 24 horas y paraplast puro
14 durante 24 horas a 56 °C. La inclusión de las flores fue en moldes de metal en forma de cubos. Mediante
15 un microtomo de rotación con cuchillas de acero se obtuvieron cortes longitudinales y transversales
16 seriados de un grosor de 9 µm. Los cortes incluidos en paraplast se tiñeron con la tinción doble de
17 safranina-verde rápido (metilcelosolve). Para la identificación y localización de compuestos se
18 practicaron las siguientes pruebas histoquímicas en cortes seleccionados y desparafinados de dos flores
19 de *H. wrightii* y dos flores de *S. filiforme* (López *et al.*, 2005).

20 Acido Peryódico-reactivo de Schiff (APS). Revela la presencia de polisacáridos insolubles.

21 Azul negro de naftol-APS (ANF). Tinción doble para evidenciar polisacáridos insolubles en magenta y
22 proteínas en azul.

1 Lugol. Tiñe el almidón de color azul intenso a morado.

2 Rojo "O" de aceite. Tiñe lípidos insolubles de rojo.

3 Las series de fotografías de las diferentes pruebas histoquímicas fueron tomadas en varios aumentos (5x,
4 10x y 40x). La fotografía fue realizada mediante cámara digital Canon Power Shot A620 adaptada a un
5 microscopio óptico de contraste de fases marca *Zeiss*.

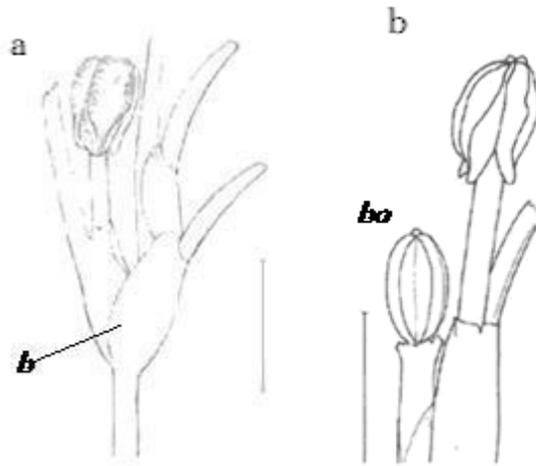
6

7 Filmación de depredadores del polen.

8 *Syringodium filiforme*

9 La depredación de polen de *Syringodium filiforme* fue filmada en la zona costera de la laguna
10 arrecifal de Puerto Morelos (sitio 2, Fig. 1.8). Videos cortos de aproximadamente 1:30 hrs de duración
11 fueron tomados mediante dos cámaras digitales subacuáticas, los días 28, 29 y 30 de abril del 2008, a
12 diferentes horas del día. Enfrente de las cámaras se colocaron cimas masculinas de *S. filiforme* fijadas
13 con un hilo de alambre dentro de un dosel casi monoespecífico. La altura de cada cima fue la misma que
14 las cimas tienen *in situ*. Previamente a la colocación de estas flores, en el laboratorio se desprendieron
15 las brácteas con ayuda de pinzas, dejando al descubierto las anteras maduras denominadas como botones
16 desnudos (Fig. 2.1). Cada vez que se volvían a situar las dos cámaras, se colocaban cimas nuevas con
17 botones maduros desnudos. La verificación de la presencia o ausencia de los botones visitados por los
18 peces se realizó en el laboratorio. La filmación se repitió 9 veces. Posteriormente, del 1 al 6 de mayo del
19 2008 se realizaron grabaciones de video continuo durante 24 hrs, por medio de una cámara conectada a
20 una videgrabadora y un monitor en la caseta del muelle de la UAPM (sitio 3, Fig. 1.8). La cámara
21 subacuática (blanco/negro) fue fijada a una estructura de concreto a una profundidad de 2.5 m y a 10 m

1 de distancia del muelle. De ésta manera se observó la depredación diurna de los botones masculinos de
2 *S. filiforme*, tratados con el mismo procedimiento que en las grabaciones cortas.



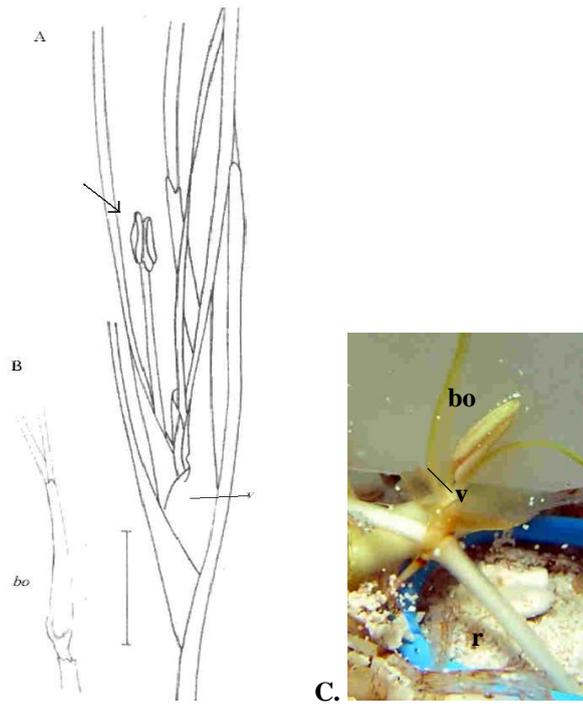
3

4 Figura 2.1. *Syringodium filiforme*. Botones masculinos expuestos. **a.** parte de una cima masculina, **b.** botón masculino
5 expuesto; las brácteas fueron removidas con pinzas. Barra: 1 cm. **b:** brácteas, **bo:** botón desnudo (dibujos de Elvia Esparza,
6 2009).

7

8 *Halodule wrightii*

9 La filmación de *Halodule wrightii* fue realizada en el mismo sitio y con el mismo equipo de
10 grabación continua que *S. filiforme* (sitio 3, Fig. 1.8), los días 6 al 12 de mayo del 2008. Las plantas
11 completas (rizomas y haces con botones masculinos) fueron fijadas al sustrato con clips y marcadas con
12 cinturones de plástico. Para exponer los botones maduros *in situ* se quitó la hoja exterior de cada uno
13 con pinza y se dobló la vaina de la hoja interior (ver Fig. 2.2). Posteriormente, estas plantas se marcaron
14 con varillas para poder distinguir las en el video blanco/negro. Cada vez que el video era cambiado, o
15 cuando la flor desaparecía, se colocaban flores nuevas. De los videos, solamente se revisaron las horas
16 del día, que es cuando los peces herbívoros son activos y buscan su alimento.



1

2 Figura 2.2. *Halodule wrightii*. **A.** Haz foliar con flor masculina en posantesis, indicado con flecha; **B.** botón masculino
 3 cubierto por la vaina. Barra: 1 cm (dibujos de Elvia Esparza, 2009). **C.** Haz foliar con botón masculino desnudo, se dobló la
 4 vaina de la hoja interior, **bo:** botón, **r:** rizoma, **v:** vaina (Fotografía de Brigitta van Tussenbroek, 2007).

5

1 Trabajo de gabinete

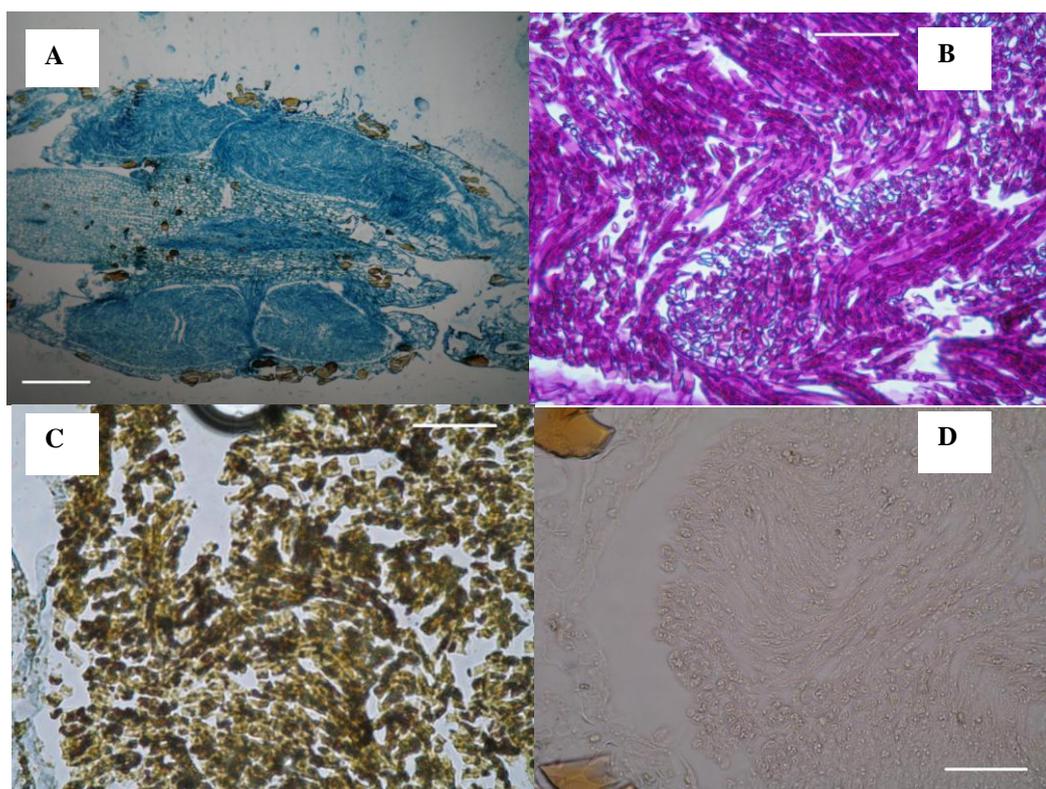
2 Los videos se revisaron en el laboratorio y se registraron los eventos de depredación de flores en
3 la zona de crianza de peces arrecifales. Con la ayuda de M. en C. Fernando Negrete Soto, experto en
4 peces arrecifales del Caribe y con la guía Peces del Caribe de P. Humann (1997), se identificaron las
5 especies de peces juveniles que se alimentaron de las flores masculinas de *Syringodium filiforme* y
6 *Halodule wrightii*.

7

1 **RESULTADOS**

2 Análisis histoquímicos de las flores masculinas

3 El polen de *Syringodium filiforme* contiene proteínas en el interior de la célula vegetativa (prueba
4 ANF, Fig. 2.4A). El contenido de polisacáridos (prueba APS) se observó principalmente en el
5 recubrimiento de mucílago, el cual se tiñó intensamente de magenta (Fig. 2.4B). La prueba de Lugol
6 reveló la presencia de reservas de almidón a lo largo del polen filiforme, en las paredes de la antera y en
7 el pedicelo de la flor (Figs. 2.4C1 y C2). La prueba de Rojo "O" de aceite no reveló la presencia de
8 lípidos insolubles como pudiera ser la esporopolenina que generalmente se localiza en la capa externa
9 del polen (Fig. 2.4D) (Wong, 2007, com. pers.).



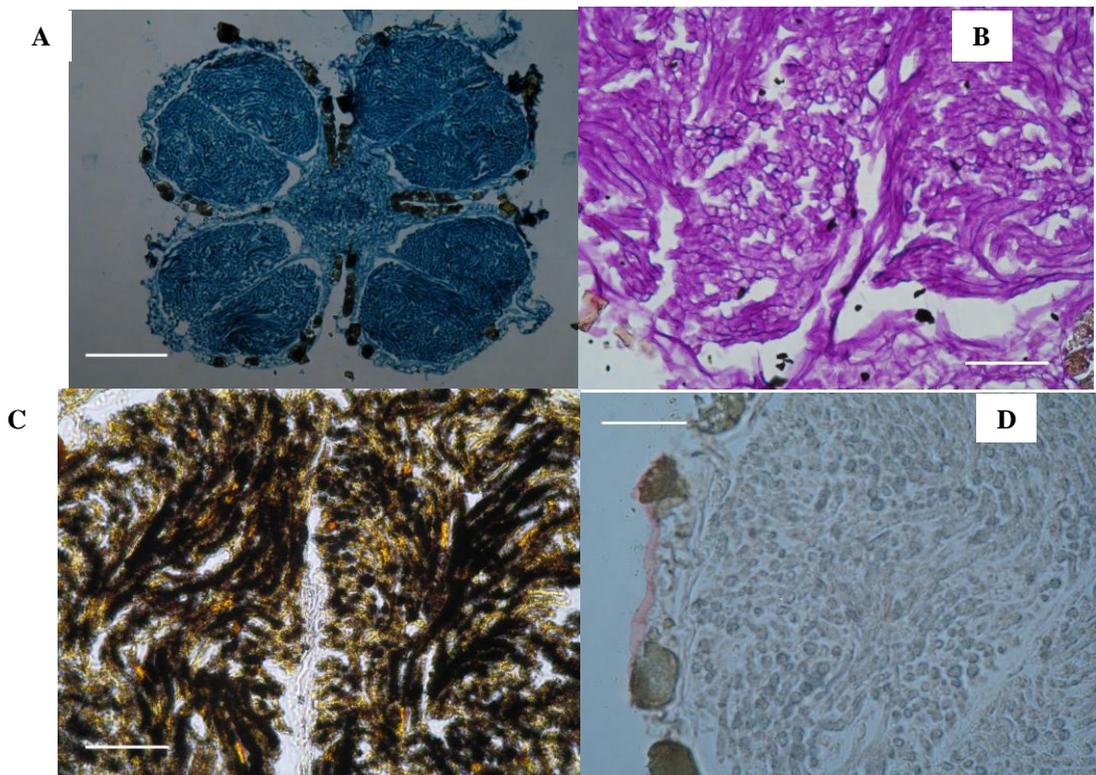
12 Figura 2.4. *Syringodium filiforme*. Pruebas histoquímicas de los cortes longitudinales (A y B) y transversales (C y D) de una
13 antera madura de *S. filiforme*. **A.** Tinción con Azul-Negro de Naftol (ANF), corte longitudinal de la antera (5x), barra: 300
14 μm ; **B.** Tinción con Ácido Peryódico-reactivo de Schiff (APS), detalle del polen dentro de unos de los lóbulos de la antera

1 (40x), barra: 50 μm ; **C.** Tinción con Lugol (40x), barra: 50 μm ; **D.** Tinción con Rojo “O” de aceite en corte transversal (40x),
2 barra: 50 μm .

3

4 En los cortes transversales de la flor masculina de *Halodule wrightii* se obtuvieron resultados
5 histoquímicos similares a los de *Syringodium filiforme*. Mediante la prueba ANF se observó que el polen
6 contiene proteínas en las estructuras internas y aparentemente en la capa externa del polen (Fig. 2.5A).
7 Mediante la prueba APS se observaron los polisacáridos del mucílago (Fig. 2.5B). La prueba de Lugol,
8 reveló la presencia de almidón a lo largo de los lóbulos de la flor, en el polen filiforme y en el pedicelo
9 de la flor (Fig. 2.5C). La prueba de Rojo “O” de aceite denota la presencia de cutículas en las paredes de
10 las anteras (Fig. 2.5D).

11



12

13 Figura 2.5. *Halodule wrightii*. Pruebas histoquímicas de los cortes longitudinales (A y B) y transversales (C y D) de una
14 antera madura de *H. wrightii* **A.** Tinción con Azul-Negro de Naftol (ANF, 10x), barra: 200 μm ; **B.** Tinción con Ácido
15 Peryódico-reactivo de Schiff (APS, 40x), barra: 50 μm ; **C.** Tinción con Lugol de corte transversal donde se observa el polen
16 (40x), barra: 50 μm ; **D.** Tinción Rojo “O” de aceite en corte transversal (40x), barra: 50 μm .

1 Filmación de depredadores del polen

2 En el laboratorio se observaron las películas y se registró cada mordida a las flores masculinas,
3 que se consideró como depredación floral. Algunos peces regresaban a la misma flor o a buscar otra flor
4 descubierta, una vez que las habían ubicado (Tabla 2.1). Los peces que depredaron las flores masculinas
5 descubiertas de *Syringodium filiforme* fueron juveniles de *Sphoeroides spengleri*, *Canthigaster rostrata*
6 (Tetraodontidae) y *Sparisoma rubripinne* (Scaridae), principalmente. En el caso de *Halodule wrightii*,
7 los depredadores fueron *Sphoeroides spengleri* y *Sparisoma viride*. Algunos peces mordieron toda la
8 flor (*Sparisoma viride*), otros parte de la flor (*Sphoeroides spengleri*, *Canthigaster rostrata*) y otros
9 quitaban el polen de la flor (*Sparisoma rubripinne*). Los peces grandes, de más de 10 cm de longitud,
10 consumieron la flor una sola mordida y los pequeños por partes. *Sparisoma viride* (15-20 cm de
11 longitud; Humann, 1997) comió todas las flores masculinas de *Halodule wrightii* y segundos después
12 regresaba en búsqueda de más flores situados bajo la cámara en el filme de herbivoría. *Canthigaster*
13 *rostrata* (3-5 cm de longitud) y *Acanthurus bahianus* (15 cm de longitud; Humann, 1997) comieron una
14 parte de las flores de *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii* y no volvieron. *Sphoeroides spengleri*
15 (3-5 cm de longitud; Humann, 1997) también comió una parte de la flor y en una ocasión se registró que
16 volvió y mordió la misma flor masculina de *S. filiforme*. *Sparisoma rubripinne* (10-15 cm de longitud;
17 Humann, 1997) y ocasionalmente *Canthigaster rostrata* desprendían y comían las hebras de polen de las
18 flores desnudas de *S. filiforme*. *Sparisoma rubripinne* regresaba casi inmediatamente a seguir comiendo
19 polen. *Haemulon sciurus* (15 cm de longitud) y *Halichoeres bivittatus* (20 cm de longitud) (Humann,
20 1997) comieron en una ocasión las flores masculinas y no volvieron a registrarse en las filmaciones de *S.*
21 *filiforme*. *Syacium* sp. (10 cm de longitud; Humann, 1997) fue registrado en dos ocasiones postrándose
22 sobre las flores masculinas de *H. wrightii*. También fue registrado que cangrejos, morenas y calamares
23 examinaron las flores en la zona de filmación o se acercaban a alimentarse de algas verdes como
24 *Halimeda* sp., *Udotea* sp., y otras más pequeñas que en los videos no se distinguían claramente.

1 Mediante la verificación posterior de flores parcial o completamente mordidas (Fig. 2.6), se observó que
2 los peces comieron a cualquier hora del día (Tabla 2.1). Algunas veces, las flores de *H. wrightii* fueron
3 consumidas totalmente por *Sparisoma viride*; el pez zafaba las plantas completas de los sujetadores para
4 comerse la flor.
5

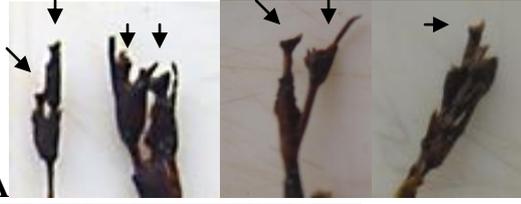
1 Tabla 2.1. Monitoreo de la depredación de polen de cimmas masculinas de *Syringodium filiforme* con flores manualmente
 2 descubiertas y de flores masculinas descubiertas manualmente de *Halodule wrightii*, en un sitio cercano a la costa enfrente de
 3 la UAPM. Todos los depredadores fueron peces juveniles.

Especie de pez	Fecha	Hora	N mordidas	
<i>Syringodium filiforme</i>				
<i>Sphoeroides spengleri</i>	29/04/08	17:45, 18:30	2	
	30/04/08	15:10	1	
	2/05/08	08:17, 09:33, 11:55, 13:16, 13:37, 13:53, 14:00*, 14:08, 14:39, 14:57, 15:23, 16:51, 16:59	14	
	3/05/08	06:38, 06:53, 07:10, 07:35, 08:52, 09:20, 10:12, 14:53, 15:58, 18:24	10	
	4/05/08	06:00, 06:34	2	
	5/05/08	11:04, 12:27, 15:24, 08:22, 10:40	5	
	<i>Canthigaster rostrata</i>	28/04/08	17:48, 17:57, 18:06, 18:11	4
		1/05/08	18:42, 18:55	2
		2/05/08	17:16, 18:16, 18:39, 18:53, 19:20	5
		3/05/08	07:47, 08:04, 08:24, 17:53, 19:08, 19:33,	6
4/05/08		07:12, 13:41, 14:15	3	
<i>Sparisoma rubripinne</i>	5/05/08	15:46, 15:57, 17:09, 18:03	4	
	30/04/08	11:15, 11:55*, 12:00*, 14:15, 15:15**	9	
	2/05/08	06:58*, 07:17, 07:28, 07:35*, 08:14, 09:39, 17:50	9	
	3/05/08	06:34, 06:38, 07:37, 07:47, 08:11, 08:44, 08:57, 17:07*, 17:16	10	
	4/05/08	15:04, 15:38, 17:30, 17:39	4	
<i>Haemulon sciurus</i>	5/05/08	13:51, 14:42, 15:24, 09:08, 10:26	5	
	2/05/08	05:57	1	
<i>Acanthurus bahianus</i>	3/05/08	07:06	1	
<i>Halodule wrightii</i>				
<i>Sphoeroides spengleri</i>	6/05/08	16:58	1	
	8/05/08	12:26	1	
	11/05/08	16:44, 16:49, 16:51, 16:59, 17:18	5	
	<i>Canthigaster rostrata</i>	6/05/08	18:23, 19:31	2
		<i>Sparisoma viride</i>	7/05/08	06:33, 07:04, 07:09, 07:33*, 07:35*, 07:42*, 07:51*
8/05/08	13:04, 13:07*, 13:33, 13:34***		8	
9/05/08	14:16***, 14:57		5	
10/05/08	07:21, 15:06, 16:45		3	
11/05/08	06:15, 19:00***		5	
<i>Halichoeres bivittatus</i>	6/05/08	17:08	1	
<i>Acanthurus bahianus</i>	7/05/08	06:58, 12:18	2	
<i>Syacium</i> sp.	6/05/08	16:39	1	
	11/05/08	13:21	1	

4 * El pez regresa y come otra vez. ** Dos peces al mismo tiempo en una toma. *** El pez se come todo (4-5
 5 flores).

6

1



A

2



B

3

4

5

6

7

Figura 2.6. Verificación posterior de las flores expuestas bajo las cámaras de filmación del 1 al 6 de mayo de 2008. Detalles de flores masculinas parcial y completamente cortadas por los peces. **A:** flores de *Syringodium filiforme*; **B:** flores de *Halodule wrightii*.

1 **DISCUSIÓN**

2 El polen y el mucílago de los pastos marinos *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii*
3 contienen sustancias potencialmente nutritivas para los peces. En ambas especies se observaron
4 proteínas y polisacáridos y, a diferencia de *Syringodium filiforme*, en *Halodule wrightii* también se
5 observó la presencia de lípidos. Van Tussenbroek *et al.* (2009) detectaron la presencia de carbohidratos
6 y proteínas en el polen y el mucílago de *Thalassia testudinum*, mediante los mismos análisis
7 histoquímicos que se realizaron en este trabajo. Son pocos los estudios histoquímicos del polen de pastos
8 marinos. Se ha reportado que los granos de polen de *Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii* y
9 *Halophila stipulacea* tienen alto contenido de polisacáridos, y el polen de *Thalassia hemprichii*
10 probablemente contenga glicoproteínas, mientras que el mucílago que lo rodea pudiera también tener
11 glicoproteínas además de carbohidratos (Pettitt, 1980; 1984).

12
13 Adicionalmente, en el presente estudio se registraron taninos en ambas especies. Den Hartog
14 (1970) menciona la presencia de células de taninos en las flores masculinas de *Syringodium filiforme*.
15 Kuo *et al.* (1990) reportaron células de taninos en perianto de frutos de *Phyllospadix torreyi*. Jiménez-
16 Durán (2004) y Troyo-Ballina (2009) observaron la presencia de taninos en la cubierta seminal,
17 cotiledón y primordios foliares de semillas jóvenes y perianto de frutos de *Thalassia testudinum*. La
18 presencia de taninos en las anteras de los pastos estudiados pudiera darles cierta resistencia contra
19 algunos florívoros (McCall e Irwin, 2006), ya que el consumo de estos metabolitos secundarios provoca
20 la inactividad de las enzimas digestivas, resultando en efectos negativos en el desarrollo y la
21 supervivencia de los herbívoros (Robbins *et al.*, 1987; Bernays *et al.*, 1989; Butler, 1989). Sin embargo,
22 las flores masculinas en la zona de estudio son de la preferencia alimenticia de los peces juveniles. Al
23 parecer, la presencia de taninos en las anteras y polen no les confiere tanta resistencia contra los

1 depredadores observados y probablemente tienen otras estrategias para defenderse de los florívoros (ver
2 Capítulo 4, Posibles estrategias de defensas contra herbivoría).

3

4 Los peces consumidores de las flores masculinas de los pastos marinos estudiados poseen
5 diferentes hábitos alimenticios y muchos de ellos no son estrictamente herbívoros. En adultos se ha
6 registrado que de la familia Tetraodontidae, *Spherooides spengleri* es carnívoro y *Canthigaster rostrata*
7 es omnívoro. De la familia Scaridae, *Sparisoma rubripinne* es herbívoro y *Sparisoma viride* puede ser
8 herbívoro y coralívoro. *Acanthurus bahianus* (Acanthuridae) es herbívoro, mientras que *Haemulon*
9 *sciurus* (Haemulidae), *Halichoeres bivittatus* (Labridae) y *Syacium* sp. (Paralichthyidae) son carnívoros
10 (Fishbase.org). El comportamiento de los peces al consumir las flores masculinas fue particular en cada
11 caso y estrechamente relacionado con su longitud, que fue variable dependiendo de la especie de pez. El
12 tamaño de los botones masculinos de *S. filiforme* es de 3.7 mm y *H. wrightii* es de 3.9 mm de largo, en
13 promedio (Capítulo 3, Limitación de polen). En relación con el tamaño de los peces, las flores
14 masculinas de los pastos estudiados son pequeñas y probablemente pasan desapercibidas cuando abren
15 naturalmente (ver Capítulo 4, Posibles estrategias de defensas contra herbivoría).

16

17 Los peces se alimentaron de las flores durante todo el día, aunque se observaron diferencias en
18 las horas de mayor actividad alimenticia, dependiendo de cada especie. Según Humann (1997) y
19 Helfman (1993), los peces de las familias Acanthuridae, Labridae, Scaridae y Tetraodontidae son activos
20 durante el día, los de la familia Haemulidae, principalmente durante la noche y la familia
21 Paralichthyidae, en el día y en la noche. El registro de la actividad alimenticia de los peces juveniles en
22 la zona de estudio coincidió con lo reportado por estos autores.

23

1 *CONCLUSIONES*

2 Las flores masculinas de las especies de pastos marinos más abundantes en la laguna arrecifal de
3 Puerto Morelos tienen sustancias nutritivas y fueron consumidas por gran variedad de peces,
4 principalmente en su etapa juvenil.

5

1 **CAPÍTULO 3 LIMITACIÓN DE POLEN**

2 **ANTECEDENTES**

3 Polinización acuática

4 El polen de los pastos marinos posee características morfológicas íntimamente relacionadas con
5 el síndrome hidrofílico. En vez de ser esférico, como la mayoría de los granos de polen terrestres, el
6 polen marino tiene una gran variedad de formas y tamaños, con una capa de exina reducida o ausente
7 (den Hartog, 1970; Pettitt, 1984; McConchie y Knox, 1989). En los géneros de las familias
8 Cymodoceaceae, Posidoniaceae y Zosteraceae, el polen es filamentoso. En la familia Hydrocharitaceae,
9 el polen es esférico (*Enhalus* y *Thalassia*) o elipsoidal (*Halophila*) (Pettitt, 1984; Tanaka *et al.*, 2004;
10 Ackerman, 2006). Las plantas de la familia Ruppiaceae, en contraste, tienen polen en forma de
11 bumerang (Ackerman, 2006). McConchie y Knox (1989) y Pettitt (1984) han reportado la ausencia de
12 exina en el polen filamentoso de las familias Zosteraceae, Cymodoceaceae y Posidoniaceae. Tanaka *et*
13 *al.* (2004) mencionan que en los géneros *Thalassia* y *Enhalus* de la familia Hydrocharitaceae, la capa de
14 exina es reducida y discontinua. En ambientes terrestres, la disminución del grosor de las capas
15 protectoras en el polen ha sido relacionada con la polinización en condiciones de humedad excesiva
16 (Krees *et al.*, 1978) o en hábitats acuáticos (McConchie y Knox, 1989). Adicionalmente, Tanaka *et al.*
17 (2004) sugieren que la delgada capa de exina facilita la germinación del polen en condiciones de mucha
18 humedad.

19 La mayoría de los pastos marinos se polinizan bajo el agua y el polen es transportado a través de
20 las corrientes (Ackerman, 1995; 2006). Excepcionalmente, la polinización ocurre en la superficie del
21 agua (ephidrófila) como en *Enhalus acoroides* o, en situaciones particulares, en algunas especies de
22 *Halodule*, *Zostera*, *Halophila*, *Phyllospadix* y *Amphibolis*, al estar expuestas a mareas bajas (Cox, 1988;

1 van Tussenbroek *et al.*, 2009). Sin embargo, la polinización bajo el agua es mucho más común, donde el
2 oleaje y las corrientes son modificados por el dosel de los pastos marinos (Koch *et al.*, 2006). La
3 ubicación y orientación de las flores es esencial para la liberación y captura del polen (Ackerman, 2006;
4 Smith y Walker, 2002). Las flores necesitan estar elevadas a cierta distancia del fondo (Ackerman,
5 2006) para permitir la dispersión del polen en un régimen hidrodinámico óptimo. En contraste con el
6 polen anemófilo, el cual puede viajar largas distancias (>100 m-1 km; Okubo y Levin, 1989), la
7 dispersión del polen hidrófilo tiende a ser limitada (del orden de metros) dentro de las praderas
8 (Verduin, 1996; Ackerman, 2002).

9 En pastos marinos con polinización sumergida, la proporción polen:óvulo es de 10^4 :1 en *Zostera*
10 *marina* (Ackerman, 1993), *Phyllospadix torreyi* (Williams, 1995) y *Amphibolis antarctica* (Verduin *et*
11 *al.*, 2000) y de 10^5 :1 en *Posidonia australis* y *Posidonia sinuosa* (Smith y Walker, 2002). Se ha sugerido
12 que el número de granos de polen por cada óvulo (proporción polen: óvulo) puede ser un indicador de la
13 eficiencia de los síndromes de polinización (Faegri y van der Pijl, 1979, en Ackerman, 2006), lo cual
14 puede conducir a la conclusión de que la polinización abiótica es un proceso derrochador debido a las
15 grandes cantidades de polen por óvulo. Sin embargo, la inversión energética está dada en función de los
16 costos metabólicos y/o competitividad entre flores masculinas y puede ser similar en plantas polinizadas
17 por insectos (Ackerman, 2000). Por ejemplo, las plantas con polinización abiótica no producen néctar o
18 sustancias químicas para atraer a los polinizadores, lo que implican un ahorro metabólico. (Les, 1997).
19 Por lo tanto, una proporción alta de polen: óvulo no necesariamente indica un desgaste metabólico de la
20 planta. La polinización hidrofílica, al igual que la anemofílica, no es direccional y, por su naturaleza
21 aleatoria, existe una baja probabilidad de que el polen llegue a un estigma de la misma especie (Cox,
22 1988; Les, 1988; Ackerman, 2000). El transporte pasivo del polen y la probable dilución del polen en el
23 medio marino, pueden disminuir la posibilidad de que los gametos masculinos y femeninos se

1 encuentren (van Tussenbroek *et al.*, 2009). Por lo tanto, un gran número de granos de polen no implica
2 que éstos sean suficientes para fecundar todos los óvulos.

3

4 Limitación de polen

5 Hay limitación de polen cuando no existe suficiente polen para fertilizar todos los óvulos
6 disponibles, lo que trae como consecuencia una reducción en la recombinación genética y una
7 disminución en la producción de semillas. En especies polinizadas por un vector animal, la limitación de
8 polen puede variar con la distribución espacial de las plantas (Kunin, 1993). Aquellas plantas que crecen
9 en poblaciones densas, generalmente sufren menos limitación de polen debido a que más polinizadores
10 son atraídos por la abundancia de flores (Kunin, 1993). En especies polinizadas por viento también se ha
11 registrado una relación entre la alta densidad de individuos y altos niveles de fecundación (Smith *et al.*,
12 1988; Allison, 1990; Arista y Talavera, 1996). La limitación de polen se ha registrado en pocas especies
13 con polinización hidrófila; una de ellas es *Zostera marina*. Esta especie es monoica y las flores
14 masculinas y femeninas se encuentran en la misma inflorescencia, cubiertas por un espádice. Reush
15 (2003) manipuló la densidad de flores en el campo y posteriormente utilizó marcadores moleculares para
16 determinar la diversidad genotípica y los niveles de endogamia, encontrando que éstos últimos no
17 afectaron significativamente la producción de semillas. Sin embargo, la densidad del vecindario floral
18 fue más importante que la composición genética para el éxito reproductivo de esta especie. Shelton
19 (2008) realizó observaciones de dos especies del género dioico *Phillospadix* (*P. scouleri* y *P. serrulatus*)
20 en múltiples sitios de Washington, USA, con poblaciones caracterizadas por una alta dominancia de
21 inflorescencias femeninas. Este autor encontró que a mayor distancia entre plantas masculinas y
22 femeninas fue menor el número de semillas producidas, sugiriendo que estas especies sufrieron de
23 limitación de polen. El autor además realizó experimentos *in situ* de exclusión, reducción y adición de

1 polen; en ninguna de las especies encontró diferencias estadísticas significativas en la producción de
2 semillas (proporción de semillas maduras: óvulos) entre tratamientos. Por su parte, Vermaat *et al.* (2004)
3 evaluaron la producción de flores y frutos y la cobertura de *Enhalus acoroides* en Filipinas. Esta especie
4 es dioica y las flores masculinas o el polen flotan en la superficie del agua llegando a las flores
5 femeninas elevadas a la superficie por un largo pedúnculo. La razón granos de polen por óvulo es la más
6 baja que se conoce en los pastos marinos, de 10:1. Los autores aportaron la primera evidencia real de
7 que la fragmentación de la población y, por lo tanto, la separación de flores, tiene un efecto negativo
8 sobre la tasa de fecundación y, en consecuencia, sobre el éxito reproductivo de esta especie. Aunque un
9 efecto de limitación de polen no fue completamente demostrado en los dos últimos casos (*Phyllospadix*
10 spp. y *Enhalus acoroides*), sus observaciones presentaron, aunque de manera incidental, una evidencia
11 de limitación de polen.

12 Según Knight *et al.* (2005), la selección de los caracteres florales puede ser muy fuerte en
13 poblaciones con limitación de polen. Ashman *et al.* (2004a) plantearon que las perturbaciones
14 ecológicas pueden afectar la eficiencia de la polinización y, por lo tanto, pueden traer como
15 consecuencia la limitación de polen, que en casos extremos pueden influir para forzar la evolución de las
16 características florales. Van Tussenbroek *et al.* (2008a) sugirieron que la depredación selectiva de los
17 herbívoros sobre las flores masculinas en *Thalassia testudinum* pudiera dar como resultado la limitación
18 de polen. El presente estudio explora las relaciones polen:óvulo de las tres especies de estudio y analiza
19 la posibilidad de que éstas pueden sufrir de limitación de polen bajo distintas condiciones de
20 disponibilidad de polen.

21

1 **HIPÓTESIS**

- 2 • La producción potencial de polen de las tres especies de pastos marinos más abundantes en el
3 área de estudio es suficiente para fecundar todos los óvulos disponibles.
- 4 • Una depredación de polen sin restricciones por peces herbívoros resultaría en limitación de
5 polen.

6 **OBJETIVOS**

7 Objetivos particulares

- 8 • Realizar un conteo del polen en las anteras de las tres especies de pastos marinos.
- 9 • Conocer la frecuencia de floración de las tres especies de pastos marinos.
- 10 • Determinar la producción potencial de polen por óvulo por m² en las tres especies de pastos
11 marinos en el área de estudio.
- 12 • Explorar indicativos de limitación de polen en las praderas de las especies *Syringodium*
13 *filiforme* y *Halodule wrightii*.
- 14 • Establecer, por medio de experimentos, si la reducción de las flores masculinas puede
15 resultar en la limitación de polen en *Thalassia testudinum* y *S. filiforme*.

16

1 **MATERIAL Y MÉTODOS**

2 Conteo de polen.

3 Las pruebas de aislamiento de polen de las tres especies de pastos estudiadas fueron realizadas en
4 el laboratorio de Desarrollo en Plantas de la Facultad de Ciencias, UNAM, durante agosto y septiembre
5 de 2007. Para la separación de polen, se utilizaron anteras maduras fijadas en FAA, previamente
6 colectadas en la zona de estudio (Cap.2, Análisis histoquímicos). La manipulación del polen se llevó a
7 cabo utilizando pinzas de punta y aguja de disección, bajo un microscopio estereoscópico Olympus
8 Sz60. Para separar el polen del mucílago se utilizó el protocolo de acetólisis. Esta técnica consiste en
9 someter el paquete de polen a ácido acético y posteriormente a una mezcla de ácido sulfúrico-anhídrido
10 acético (López *et al.*, 2005). En cada prueba con acetólisis se utilizaron un par de lóbulos de
11 *Syringodium filiforme*, un par de lóbulos de *Halodule wrightii* y cinco anteras de *Thalassia testudinum*.
12 Se realizaron cinco pruebas con *T. testudinum*, tres con *S. filiforme* y tres con *H. wrightii*. Solamente fue
13 posible aislar el polen de *T. testudinum*, el cual se preservó en agua o alcohol al 70%, en un volumen
14 final de 1 ml y se utilizó para las pruebas de conteo de polen. La morfología del polen aislado fue
15 observada con microscopios óptico y estereoscópico y posteriormente se obtuvieron fotografías del
16 polen granular de *T. testudinum* y de algunos granos de polen filiformes de *S. filiforme* y *H. wrightii*.

17 El conteo de los granos esféricos de polen de *Thalassia testudinum* se realizó por antera,
18 utilizando un hematocitómetro de vidrio esmerilado marca Bright-Line. Sobre la cuadrícula del
19 hematocitómetro se colocó una gota de la muestra de polen aislado con acetólisis y se cubrió con un
20 cubreobjetos; la cuadrícula tiene un volumen conocido de 0.9 μ l. El conteo de polen fue realizado con
21 20 alícuotas de una muestra y 12 alícuotas de otra muestra. El promedio del conteo de polen en las
22 alícuotas se extrapoló a 1 ml, que corresponde al volumen total de la solución. Sin embargo, el polen no

1 fue aislado completamente de la matriz mucilaginosa. Al realizar los conteos fue evidente que estaba
2 conglomerado, por lo que posiblemente las muestras no fueron representativas.

3 Una segunda prueba de aislamiento de polen de *Thalassia testudinum* se realizó con flores en
4 fresco, recolectadas el 3 de abril de 2008. Las muestras fueron tres flores masculinas maduras con 10
5 anteras por flor. Cada flor fue colocada en un tubo vial con 15 ml de solución jabonosa al 50%, en agua
6 de mar filtrada. Las anteras se agitaron en un vórtex durante 1 min a alta velocidad, en repetidas
7 ocasiones, para separar polen del mucílago. El conteo del polen libre de mucílago se hizo con un
8 hematocitómetro, según el método descrito anteriormente. El conteo fue realizado con 40 alícuotas de
9 cada muestra.

10 El polen de *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii* es filamentoso y es sumamente difícil
11 separar cada grano de polen de la antera porque se rompen muy fácilmente. Por lo tanto, el número de
12 granos de polen por antera se determinó por medio del conteo de polen en cortes transversales, con la
13 ayuda del programa Zeiss Image. Se obtuvo un registro fotográfico de los cortes incluidos en paraplast y
14 teñidos con Safranina-verde rápido (ver Cap. 2 Análisis histoquímicos). Las fotografías con mejor
15 resolución fueron seleccionadas. Para el conteo se utilizaron seis fotos de *H. wrightii* (3 a 10x y 3 a
16 100x) y ocho de *S. filiforme* (4 a 10x y 4 a 100x). También se tomaron fotografías a una reglilla
17 micrométrica en los aumentos 10x y 100x para utilizarlas como patrón de referencia. El análisis
18 consistió en trazar digitalmente sobre la fotografía con mayor aumento (100x) un área en el lóbulo de la
19 antera donde se observara el mayor número posible de cortes transversales de polen filiforme y
20 enseguida proceder al conteo. El valor obtenido (número de cortes de polen/área) se extrapoló al área
21 total del lóbulo. Se tomó en cuenta que cada corte transversal no necesariamente corresponde con un
22 grano de polen, ya que éstos pueden estar doblados dentro de la antera o, alternativamente, puede haber
23 varios granos de polen encimados en una antera. Por esta razón, posteriormente se determinó la relación
24 entre la longitud de un grano de polen y la longitud de la antera, la cual resultó en un factor de

1 conversión para estimar la cantidad de polen por antera. El factor de conversión sólo se puede
2 determinar con mediciones de las dimensiones del polen fresco. La recolecta de las flores maduras de
3 *Halodule wrightii* y *Syringodium filiforme* se realizó en la laguna arrecifal de Puerto Morelos los días 6
4 y 11 de marzo y 3 de abril de 2008. Las flores recolectadas se conservaron en agua de mar a temperatura
5 ambiente sin utilizar fijador. Para determinar la longitud de las anteras de cada especie se utilizaron 40
6 flores masculinas maduras y fueron medidas con un Vernier de alta precisión. Las flores frescas de *S.*
7 *filiforme* y de *H. wrightii* se colocaron en cajas de Petri con agua de mar. En el laboratorio, las cajas
8 Petri fueron puestas sobre un agitador de plato para la inducción de antesis a temperatura ambiente; de
9 esta manera había más garantía de coleccionar un polen completo. El polen liberado se recolectó con una
10 pipeta Pasteur y se colocó sobre un portaobjeto para la medición en un microscopio óptico con ocular
11 micrométrico y reglilla. En total se midieron 35 filamentos de polen de *S. filiforme* y 60 de *H. wrightii*.

12 Adicionalmente, en marzo del 2010 el M. en C. Ricardo Wong (Facultad de Ciencias,
13 Laboratorio de Desarrollo en Plantas, UNAM) realizó fotografías de microscopía electrónica de barrido
14 (MEB) de los cortes transversales y longitudinales de anteras de *Halodule wrightii* y *Syringodium*
15 *filiforme*. Con las estimaciones dimensionales de los esporangios se determinó el factor de conversión
16 (longitud esporangio/ longitud polen); el área circunferencial del esporangio y el volumen de cada
17 esporangio.

18 Vecindario floral

19 *Syringodium filiforme*

20 El 30 de marzo de 2007 se realizó el análisis de la frecuencia y distribución de las flores de
21 *Syringodium filiforme* en una franja costera con dominancia de esta especie (sitio 2, Fig. 1.8). En esta
22 zona se colocaron 22 transectos paralelos a la costa, con 1 m de distancia entre ellos. En los transectos se
23 trazaron tres cuadrantes en dirección perpendicular a la costa, a una distancia de 1 m entre cada uno. La

1 muestra total fue de 66 cuadrantes. Por cada cuadrante se contaron todas las cimas sexuales *in situ* y
2 únicamente se cortaron 5 cimas maduras, de manera aleatoria e independientemente del sexo. En caso de
3 que no hubiera este número de cimas sexuales, se recolectaron todas las cimas presentes. En el
4 laboratorio se procesaron las muestras frescas, contando el número de flores por cima con base en la
5 clasificación realizada para este estudio (ver Tabla 3.1; Fig. 1.2 Descripción de la especie).

6 Un año después, el 26 de marzo de 2008, se determinó nuevamente la frecuencia de floración de
7 *Syringodium filiforme*. El método utilizado fue el descrito anteriormente en la misma franja costera (sitio
8 2, Fig. 1.8). La muestra fue de 75 cuadrantes en 25 transectos. Adicionalmente, el 11 de abril de 2008, se
9 recolectaron las cimas florales de esta especie en una pradera más profunda en la laguna de Puerto
10 Morelos (sitio 5, Fig. 1.8). En esta área fueron trazados 54 cuadrantes en 18 transectos utilizando el
11 mismo diseño de muestreo con la orientación del transecto paralelo a la línea costera. El análisis de
12 muestras fue el utilizado el año anterior. Se calculó la densidad de flores masculinas y femeninas por
13 transecto.

14 Como la franja costera estaba virtualmente aislada, sólo bordeada por una pradera de *T.*
15 *testudinum* hacia el lado del mar, se analizó si la prevalencia de frutos acrónicos (Tabla 3.1) aumentaba
16 en los transectos con pocas cimas masculinas, buscando evidencia indirecta de limitación de polen. El
17 porcentaje de frutos abortados por cima y por transecto fue obtenido mediante la razón frutos
18 acrónicos/número total de frutos (maduros, inmaduros y acrónicos) (Tabla 3.1). Se realizó un análisis
19 estadístico de regresión con los datos agrupados de 2007 y 2008 para determinar si la proporción de
20 frutos acrónicos disminuye con un incremento de la proporción de flores masculinas. La regresión se
21 determinó con Excel después de una transformación de *arcoseno* para acercar los datos a una
22 distribución normal (Howell, 1997).

23

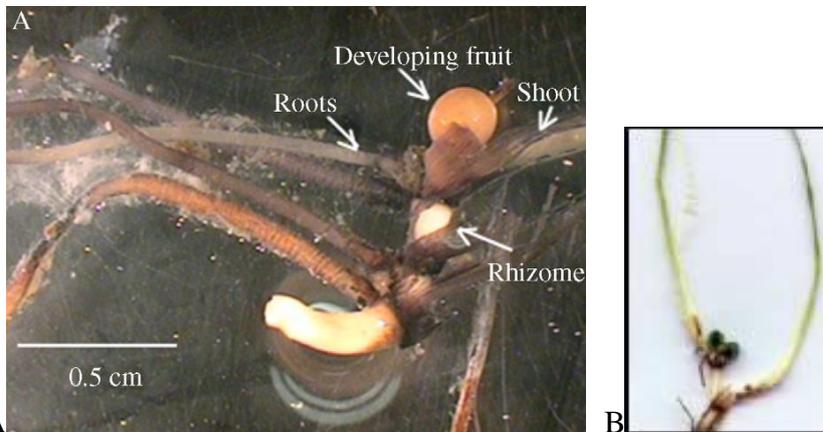
Tabla 3.1. *Syringodium filiforme*. Clasificación morfológica (por etapas) de las flores femeninas y masculinas.

Etapa	Descripción
Femenina	
Botón	Ovarios sin engrosamiento aparente, las brácteas están cerradas y cubren completamente los ovarios, los estigmas son pequeños y apenas sobresalen de las brácteas.
Flor	Con engrosamiento de los ovarios, las brácteas están separadas, los estigmas generalmente son largos con las puntas frescas sin oxidación.
Fruto inmaduro	Ovario alargado y poco engrosado, las brácteas cubren más de la mitad del ovario, estigmas cortos y con puntas oxidadas.
Fruto maduro	Ovario engrosado y redondeado, las brácteas cubren menos de la mitad del ovario, con restos de estigmas oxidados.
Fruto acrónico	Ovario pequeño sin engrosar y oxidado, estigmas cortos. Siempre acompañado de fruto inmaduro o maduro.
Masculina	
Botón	Anteras completamente cubiertas por las brácteas, pedicelo corto.
Flor	Pedicelo alargado, brácteas separadas, anteras empezando a abrir o abiertas (dehiscentes), liberando polen.
Postantesis	Anteras visibles, oxidadas y sin polen, brácteas abiertas, pedicelo alargado o pedicelo sin restos de anteras.

1 *Halodule wrightii*

2 En el año 2007 se realizaron dos recolectas de esta especie en sitios cercanos a la
3 costa, ubicados al lado este del muelle de la UAPM (sitio 1a, Fig. 1.8). Esta población se
4 estableció después del Huracán Wilma, ocurrido en octubre de 2005, y consiste de parches de
5 distintos tamaños en arenales desprovistos de vegetación o con vegetación escasa. La primera
6 recolecta se realizó el 25 de mayo de 2007 en tres parches de unos 10 m² de área cada uno y
7 con una distancia entre ellos de 10 a 20 m. Como las estructuras reproductoras de *H. wrightii*
8 se encuentran abajo o al ras del sustrato y además son virtualmente invisibles en el campo, se
9 recolectaron los haces foliares con los rizomas. Con un cuchillo se cortaron los rizomas en un
10 círculo de 10 cm de diámetro y se eliminaron las raíces y restos de arena a mano, repitiendo
11 esto varias veces hasta coleccionar varios cientos de haces. Todos los haces se juntaron en una
12 sola bolsa para examinarlos en el laboratorio. El segundo muestreo se realizó el 12 de junio de
13 2007 (sitio 1a, Fig. 1.8), recolectando haces de la misma manera descrita arriba pero en seis
14 parches de *H. wrightii*, a una distancia de 5 a 15 m entre cada uno. En esta ocasión, las
15 muestras de los distintos parches se mantuvieron por separado para analizar la distribución de
16 haces sexuales. En el laboratorio se examinó una submuestra de haces de cada muestra, hasta
17 haber examinado un total de 1,000 haces por muestra. De una manera similar a la
18 clasificación de *S. filiforme*, los haces se denominaron de la siguiente manera: los haces
19 vegetativos no tenían estructuras reproductoras, los masculinos tenían botón, flor o cicatriz
20 reciente del filamento de la antera y las femeninas tenían botones, flores o frutos. Los frutos
21 inmaduros tenían el ovario engrosado con coloración verde claro, casi blanco y restos del
22 estigma oxidado; los frutos maduros eran redondos y de color café (Fig. 3.1). Los frutos
23 abortados tenían el ovario muy pequeño (ca. 1 mm), oxidado, sin engrosamiento, con los

1 estigmas cortos y oxidados y en conjunto con un fruto inmaduro o maduro o solitarios, pero
2 visiblemente oxidados (ver Fig. 1.4, en descripción de la especie).



4 Figura 3.1. *Halodule wrightii*. **A:** Fruto desarrollado unido a rizoma y haz (Fotografía tomada de McGovern y
5 Blankenhorn, 2007); **B:** Frutos (Fotografía de Brigitta van Tussenbroek, 2007).

6 Un año después, el 11 de marzo de 2008, el número de flores femeninas y masculinas
7 de *Halodule wrightii* fue determinado con el mismo método de muestreo utilizado en el año
8 2007, abarcando la misma área de muestreo en la zona costera de Puerto Morelos (sitios 1a y
9 1b, Fig. 1.8). Adicionalmente, el 7 de abril de 2008, se realizó una recolecta de *H. wrightii* en
10 un transecto de 50 m en una franja costera cercana a Cancún que sobrevivió al paso del
11 Huracán Wilma en 2005 (sitio 6, Fig. 1.8).

12 La frecuencia de flores masculinas y femeninas fue determinada por parche, además
13 de la frecuencia de frutos abortados en los parches de Puerto Morelos. Por medio de una
14 regresión de proporción de flores masculinas vs. proporción de frutos abortados se buscó
15 evidencia indirecta de limitación de polen. La regresión se determinó con Excel, después de
16 una transformación de *arcoseno* (Howell, 1997).

17

1 *Thalassia testudinum*

2 La distribución y la densidad de flores femeninas y masculinas de *T. testudinum* fue
3 determinada en dos sitios de la laguna arrecifal de Puerto Morelos. El primer sitio se ubicó
4 cerca del arrecife en la laguna arrecifal de Puerto Morelos (sitio 5, Fig. 1.8) y el segundo fue
5 una pradera ubicada a media laguna arrecifal (sitio 4, Fig. 1.8). En el sitio cercano al arrecife
6 se recolectaron los haces el 3 de abril de 2008 mediante un cuadrante colocado previamente,
7 de 6 x 20 m, marcado a intervalos de 1 m con clavos y cinta fluorescente, nombrando las
8 columnas con letras y números (A0-A19; B0-B19...F0-F19). La orientación de las columnas
9 fue perpendicular a la barrera arrecifal. La recolecta fue de 3 haces en un perímetro de 10 cm
10 en cada punto. Los rizomas verticales se cortaron bajo el sustrato y las muestras fueron
11 recolectadas en bolsitas *ziploc* numeradas previamente. En el laboratorio se procesaron las
12 360 muestras, lo más frescas posibles, registrando la presencia de flores femeninas y
13 masculinas y, cuando fue posible, las cicatrices de la época de floración del año anterior. Las
14 flores de esta especie dejan marcas o cicatrices muy claras en el rizoma vertical y con ellas se
15 puede determinar el sexo del haz (ver Fig. 1.6, en descripción de la especie). La recolecta de
16 haces en la zona media de la laguna arrecifal fue el 27 de mayo de 2008, de igual manera que
17 en la pradera cercana al arrecife, con la orientación de las columnas de manera perpendicular
18 a la línea de costa. Se realizó un mapa de la distribución de los haces sexuales (flores y
19 cicatrices) en las dos áreas de muestreo con el programa Surfer, Division of Scientific
20 Software Group, Windows 2000.

21

1 Experimentos de limitación de polen.

2 *Syringodium filiforme*

3 Si la depredación de polen puede resultar en limitación de polen se determinó
4 mediante la eliminación experimental del 50 % de cimas con flores masculinas de
5 *Syringodium filiforme*. El tamaño del área experimental del tratamiento Reducción de polen
6 (R) se basó en datos de la distancia que puede recorrer el polen filamentososo de otras especies
7 de pastos, obtenidos de la literatura (*Amphibolis antarctica*, en Verduin, 1996; Verduin *et al.*,
8 2000; *Posidonia* spp., en Smith 2000). Los sitios de muestreo fueron seleccionados en áreas
9 cercanas al arrecife por que ahí se encontró una población relativamente uniforme de esta
10 especie, aunque escasa (sitio 5, Fig 1.8). El 10 de abril de 2008 se colocó un cuadrante de 1 x
11 1 m, hecho de cuerda, el cual se fijó al sustrato con clavos y se marcó con cintas de colores y
12 boyita a media agua. A partir del cuadrante se extendieron de manera radial 8 cuerdas de 5 m
13 de longitud (a manera de telaraña, Fig. 3.2), haciendo un círculo de unos 11 m de diámetro.
14 Todas las cimas con flores masculinas dentro de la circunferencia se marcaron con una de dos
15 cintas de diferente color, puestas en varillas o clavos, utilizando el mismo número de cintas de
16 cada color, es decir, la mitad de las cimas se marcó con un color y la otra mitad con el otro
17 color, aleatoriamente. Después de marcar todas las cimas por sección, se eliminaron
18 manualmente las cimas marcadas con las cintas de un mismo color, quedando el 50% de
19 cimas masculinas. En el cuadrante central se eliminaron todas las cimas masculinas,
20 marcando todas las cimas femeninas con botones. Además se marcaron 20 cimas que sólo
21 tenían botones femeninos, eliminando los frutos en algunos casos, en un perímetro del
22 cuadrante central (perímetro de 1 m). El control (C) consistió en un cuadrante de 1 x 1 m, sin
23 tratamiento. En la época de fructificación, después de 3 semanas (1º. de mayo de 2008), se
24 colectaron todas las cimas femeninas marcadas del tratamiento (R) y de dos parcelas control

1 (C). En el laboratorio se realizó el conteo del número de frutos maduros, inmaduros, sin
2 desarrollar (acrónico) y mordidos, con base en la clasificación utilizada para el vecindario
3 floral (Tabla 3.1). Finalmente, se realizaron análisis estadísticos de X^2 de independencia para
4 determinar (H_0) si la proporción de frutos acrónicos era independiente del tratamiento (C y
5 R).

6

7 *Thalassia testudinum*

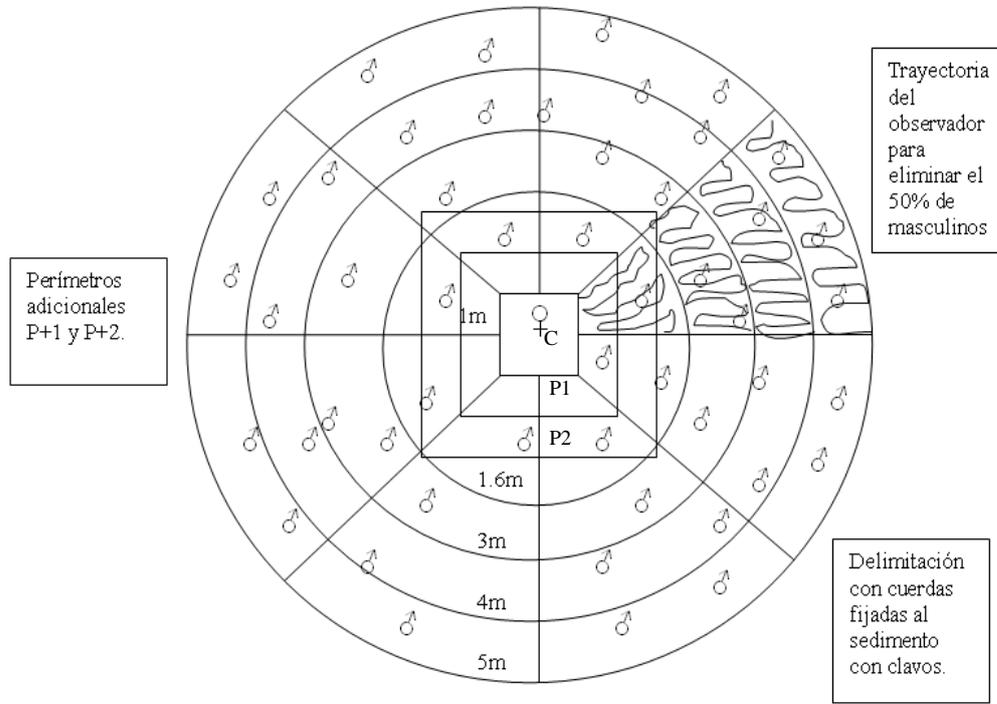
8 El experimento de limitación de polen de *Thalassia testudinum* se realizó en la misma
9 zona de la laguna arrecifal, cerca del arrecife (sitio 5, Fig. 1.8), porque es una de las zonas con
10 más alta frecuencia de floración en esta especie. El método consistió en la eliminación
11 experimental del 50% de las flores masculinas de *T. testudinum*. El tamaño del área
12 experimental del tratamiento Reducción de polen (R) se basó en conocimiento previo de la
13 distancia que recorre el polen en el sitio de experimentación, que fue de 1-8 m,
14 mayoritariamente se traslada ≤ 3 m (Sanabria Alcaráz, 2009). Los días 16-17 de abril de
15 2008 se colocó un cuadrante de cuerda de 2 x 2 m, fijado al sustrato con clavos y marcado con
16 cintas de colores y boyas a media agua. A partir del cuadrante se extendieron de manera radial
17 8 cuerdas de 5 m de longitud, a manera de telaraña (Fig. 3.2). Todas las haces con flores
18 masculinas dentro de la circunferencia se marcaron con una de dos cintas de distinto color,
19 puestas en varillas o clavos (el mismo número de muestras de cada color). Para descubrir los
20 haces con botones masculinos bajo el sedimento se removió el sustrato. Después de marcar
21 todos los haces masculinos en una sección, se eliminaron manualmente los haces marcados
22 con las varillas de un mismo color, quedando el 50 % de haces marcados. Posteriormente, en
23 el cuadrante central se eliminaron todas las flores masculinas y se marcaron 20 botones

1 florales femeninos, si estaban presentes. En las dos semanas posteriores se marcaron nuevos
2 botones florales femeninos, en caso que el número de flores marcadas fuera menor a 20.
3 Además, se marcaron un máximo de 20 botones femeninos en dos perímetros del cuadrante
4 central (perímetros de 1 m y 2 m, Fig. 3.2). El tratamiento Control (C) consistió en un
5 cuadrante de 2 x 2 m con sus respectivos perímetros, sin tratamiento. En el control de
6 procedimiento (CP) se aplicó el mismo tratamiento al cuadrante central (eliminación de flores
7 masculinas) que al tratamiento de reducción de polen, sin eliminar el 50% de masculinas en
8 los 5 m de circunferencia. Hubieron dos réplicas de cada tratamiento: Reducción de polen (R),
9 Control de procedimiento (CP) y Control (C), resultando en un total de 6 áreas
10 experimentales. Los frutos se examinaron en la época de inicio de fructificación (después de
11 un mes, el 29 de mayo de 2008). La clasificación utilizada fue de la siguiente manera: los
12 frutos desarrollados medían más de 1 cm de diámetro, eran globosos y de color verde intenso
13 (ver Figs. 1.6 y 1.7 en descripción de la especie); los frutos abortados se veían con resto de
14 fruto café o resto de pedicelo muy flácido y oxidado (Fig. 3.3); los frutos mordidos tenían
15 resto de pedicelo firme, blanco o café, cortado nítidamente; y los frutos perdidos cuando no se
16 logró distinguir estructura de pedicelo o florescencia o la varilla se salió de su lugar.
17 Posteriormente, en junio de 2008, se recolectaron los frutos maduros para realizar el conteo
18 del número de semillas viables (color verde claro y tejido firme) y abortadas (sin desarrollo,
19 pequeñas y oxidadas), en el laboratorio.



20 Figura 3.3. *Thalassia testudinum*. Frutos abortados con resto de
21 fruto oxidado (Fotografía de Brigitta van Tussenbroek, 2008).

1 El análisis estadístico de X^2 de independencia se usó para determinar (H_0) si la
 2 proporción de frutos abortados o semillas abortadas era independiente del tratamiento (C, CP
 3 y R).



4
 5 Figura 3.2. Esquema general del diseño experimental Reducción de polen de *Thalassia testudinum* y
 6 *Syringodium filiforme*. **C**: cuadrante central (2 x 2 m); **P1**: perímetro uno; **P2**: perímetro dos. En *S. filiforme* el **C**
 7 fue de 1 x 1 m y solamente hubo **P1**. ♂: flores masculinas. ♀: flores femeninas.

8

1 **RESULTADOS**

2 Conteo de polen

3 *Syringodium filiforme*

4 La longitud de las anteras de *S. filiforme* fue de 3.68 mm (SD 0.27, N 40) y el polen
5 (tuvo una longitud promedio de 2.08 mm (SD 0.26 N35) (Tabla 3.2). La relación longitud
6 antera/longitud polen fue de 1.77. Las flores masculinas de esta especie tienen cuatro lóbulos
7 fusionados con 1.16×10^6 granos de polen por flor (Tabla 3.3 a). Resultados obtenidos
8 mediante fotografías de microscopía electrónica de barrido (MEB): Diámetro esporangios 850
9 micras (medición de la parte más ancha), largo esporangios 4.00 mm, número de esporangios
10 8. Factor de conversión 1.92 (Tabla 3.2). Granos de polen en 8 esporangios fue de 1.33×10^6
11 (Tabla 3.3 b) en un volumen de 18.08 mm^3 (cada esporangio fue de 2.26 mm^3).

12 *Halodule wrightii*

13 La longitud promedio del polen de *H. wrightii* fue de 1.17 mm (SD 0.14 N60). Las
14 flores masculinas de *H. wrightii* se componen de 4 lóbulos fusionados y la longitud de las
15 anteras fue de 3.92 mm (SD 0.37 N 40) (Tabla 3.2). La relación entre la longitud de la antera
16 y la del polen fue de 3.3 para esta especie. El número de granos de polen por flor fue de 0.41
17 $\times 10^6$ (Tabla 3.3 a). Y mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) (Tabla 3.2),
18 diámetro esporangios 500 micras, largo esporangios 5.71 mm, número de esporangios 8.
19 Factor de conversión 4.88 (Tabla 3.2). Granos de polen en 8 esporangios fue de 0.11×10^6
20 (Tabla 3.3 b) en un volumen estimado de 8.96 mm^3 (1.12 mm^3 por esporangio).

21 La morfología del polen de *S. filiforme* y *H. wrightii* es filiforme, como se muestra en
22 las figuras 3.4 y 3.5, respectivamente.

1

2 Tabla 3.2. Mediciones de las anteras y el polen de *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii*. El factor de
 3 conversión es la relación entre la longitud de la antera y la longitud del polen. Con MEB, el factor de conversión
 4 se obtuvo de la longitud de esporangios.

Especie	N anteras	Longitud antera (mm)	SD	N polen medido	Longitud polen (mm)	SD	Factor de conversión
<i>S. filiforme</i>	40	3.68	0.27	35	2.08	0.26	1.78
<i>H. wrightii</i>	40	3.92	0.37	60	1.17	0.14	3.30

5

Microscopía electrónica de barrido			
	Long. esporangio (mm)	Longitud polen (mm)	Factor de conversión
<i>S. filiforme</i>	4.00	2.08	1.92
<i>H. wrightii</i>	5.71	1.17	4.88

6

7 Tabla 3.3 a. Estimación del número de granos de polen por flor de *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii*.
 8 Valores obtenidos a partir de fotografías, con el programa Zeiss Image, de las anteras de *S. filiforme* y *H.*
 9 *wrightii*, en 2007; y en 2008, el factor de conversión fue estimado con las dimensiones de anteras y polen frescos
 10 de ambas especies.

Especie	Área promedio de conteo (μm^2)	Promedio de cortes de polen /área de conteo.	Área * estimada por flor (mm^2)	2007		2008
				Promedio de cortes de polen/ flor	Factor de conversión estimado mm	Polen por flor verificado
<i>Syringodium filiforme</i>	930.58	133.5	4 mm^2	573,835	1.78	1.16 x 10 ⁶
<i>Halodule wrightii</i>	974.27	88.7	4 mm^2	364,170	3.30	0.41 x 10 ⁶

11

1 Tabla 3.3 b. Estimación del número de granos de polen por flor de *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii*.
 2 Valores obtenidos a partir de microscopía electrónica de barrido de las anteras de *S. filiforme* y *H. wrightii*, en
 3 2010, el área por esporangio fue estimada con el diámetro de los esporangios de las anteras de ambas especies.

Microscopía electrónica de barrido						
	Diámetro esporangio (mm)	Área por esporangio mm²	Área por 8 esporangios mm²	Promedio de cortes de polen/ flor (2007)	Factor de conversión	Polen por flor
<i>S. filiforme</i>	0.85	0.56	4.48	573,835	1.92	1.33 x 10 ⁶
<i>H. wrightii</i>	0.50	0.19	1.52	364,170	4.88	0.11 x 10 ⁶

4
5

6 *Thalassia testudinum*

7 Para *Thalassia testudinum* se contó el polen de 9 anteras por flor, en promedio
 8 (mínimo 8, máximo 10, N30, SD 0.55). En el conteo de la muestra de cinco anteras fijadas en
 9 FAA, tratadas con acetólisis, se obtuvo un promedio de 285 mil granos de polen (N2, SD
 10 15,556), correspondiendo con 5.7×10^5 granos de polen por flor (N2, SD 31,112). Pero este
 11 resultado no fue muy satisfactorio por las aglomeraciones del polen en el mucílago restante y
 12 porque las desviaciones estándar de los conteos fueron muy altas (Tabla 3.4). El conteo de
 13 polen con flores sin preservar fue en promedio 3.4×10^5 granos de polen por flor (N3, SD
 14 13.93). Este resultado es menor al determinado en 2007 con flores preservadas, pero es más
 15 confiable. Una muestra de la morfología granular del polen de *Thalassia testudinum* se ilustra
 16 en la figura 3.6.

17

1 Tabla 3.4. *Thalassia testudinum*. Flores preservadas: Conteo de granos de polen de flores masculinas fijadas en
 2 FAA, 2007. La muestra fue de cinco anteras en un volumen total de 1 ml. Flores frescas: Conteo de granos de
 3 polen de flores sin preservar, 2008. La muestra consistió de una flor (10 anteras) en un volumen de 15 ml.

Conteo	Muestra	N alícuota	Volumen conteo	Polen promedio/ alícuota	SD	Volumen muestra	Polen/ muestra	Polen por flor
2007	1	20	0.9 µl	247.40	95.24	1 ml	274,444	5.5 x 10 ⁵
Flores	2	12	0.9 µl	266.83	112.96	1 ml	296,444	5.9 x 10 ⁵
preservadas				257.11	104.10			
Promedio								
								Polen por flor
2008	1	40	0.9 µl	19.42	4.22	15 ml		3.3 x 10 ⁵
Flores	2	40	0.9 µl	20.85	5.60	15 ml		3.5 x 10 ⁵
frescas	3	40	0.9 µl	21.22	5.73	15 ml		3.5 x 10 ⁵
Promedio				20.47				3.4 x 10 ⁵
SD				0.94				13.93

4

5



6

7 Figura 3.4. *Syringodium filiforme*. **A.** Morfología filiforme y aspecto flexible del polen separado del mucílago.

8 Barra: 100 µm. **B.** Longitud de polen señalado de unos 1929 µm. Barra: 200 µm (Fotografías de Ricardo Wong,

9 2007).



1

2 Figura 3.5. *Halodule wrightii* (macro), antera en anthesis mostrando los tubos polínicos que contienen al polen
3 filiforme . Barra: 1 mm (Fotografía de Brigitta van Tussenbroek, 2007).

4



5

6 Figura 3.6. *Thalassia testudinum*. Polen aislado a partir de acetólisis modificada (López *et al.*, 2005); diferentes
7 enfoques de las estructuras que lo rodean. Diámetro aproximado es 52 μm . Barra: 10 μm (Fotografía de Ricardo
8 Wong, 2007).

9

1 Vecindario floral

2 *Syringodium filiforme*

3 El 30 de marzo de 2007 se registraron 359 cimas femeninas y 456 masculinas en los
4 cuadrantes colocados en la zona costera de 22 x 3 m, resultando en una densidad promedio de
5 60.4 y 76.8 cimas/m², femeninas y masculinas, respectivamente. Las etapas florales
6 masculinas más abundantes fueron los botones y las flores en postantesis; mientras que los
7 frutos fueron la etapa dominante de las cimas femeninas (Tabla 3.5). La distribución de las
8 cimas no fue homogénea y hubo un alto grado de separación por sexo en el área (Fig. 3.7). La
9 proporción de cimas masculinas:cimas femeninas fue de 1.2:1; la proporción de flores
10 masculinas:femeninas en todas las etapas fue 0.8:1; y la proporción de flores receptivas
11 masculinas:femeninas (en antesis o preparándose para antesis) fue de 1.5:1.

12
13 El 26 de marzo de 2008, el registro en la zona costera en 25 x 3 m resultó en 888
14 cimas femeninas y 1,235 masculinas. La densidad promedio de cimas por m² fue de 131.5
15 femeninas y 182.9 masculinas. El promedio de flores de las cimas recolectadas fue 13.3 en las
16 cimas masculinas y 11 en las femeninas. La proporción de cimas masculinas:femeninas fue
17 1:0.71, correspondiente a la proporción 1:0.82 de flores masculinas:femeninas. La proporción
18 de la densidad de flores en antesis masculinas:femeninas fue de 0.36:1. Al igual que en el
19 registro del año 2007, hubo una marcada separación espacial entre cimas femeninas y
20 masculinas en la zona de estudio (Fig. 3.7). La etapa masculina más prominente fue la flor en
21 postantesis y la femenina fue el fruto, como sucedió en 2007 (Tabla 3.5).

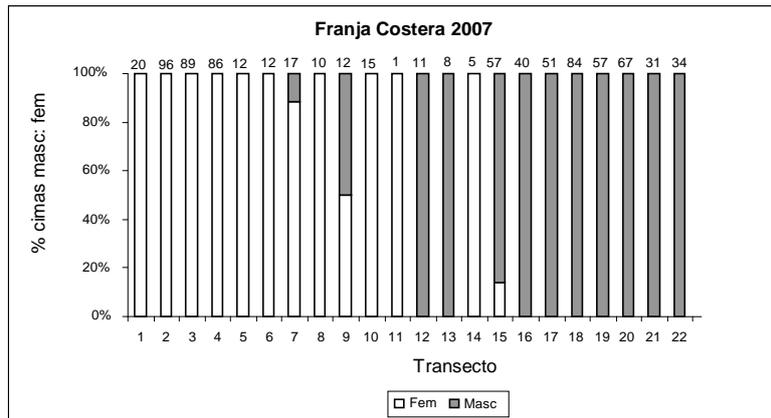
22

1 En la pradera profunda se registraron un total de 177 cimas, 152 femeninas y 25
2 masculinas, en 18 x 3 m, el 11 de abril de 2008, correspondiendo con una densidad promedio
3 de 31 cimas femeninas y 5 masculinas por m². El promedio de flores por cima fue 4.8 en
4 masculinas y 4.4 en femeninas (Tabla 3.5). También en esta zona de muestreo hubo una
5 separación espacial entre las cimas femeninas y masculinas (Fig. 3.7). La proporción de cimas
6 masculinas:femeninas fue de 1:6 y la proporción de flores masculinas: femeninas fue de
7 1:0.91. La densidad de flores receptivas (en antesis) masculinas:femeninas fue de 0.05:1,
8 notablemente más baja que en la franja costera (Tabla 3.5).

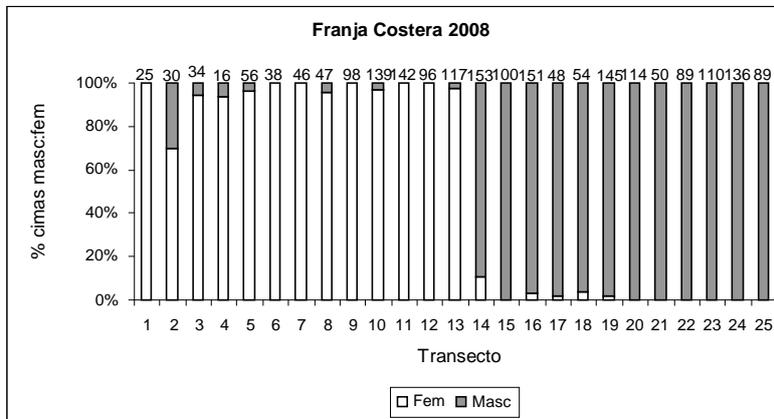
1 Tabla 3.5. *Syringodium filiforme*. Número de floraciones por etapa y por fecha de recolecta en las cimas femeninas y masculinas de *S. filiforme*, en los sitios seleccionados de
 2 franja costera de la laguna arrecifal de Puerto Morelos. Mín-máx: mínimo y máximo por cima, SD: desviación estándar, N: floración total por etapa.

		Masculino				Femenino					
Fecha		Botón	Antesis	Postantesis	Mordido	Botón	Antesis	Frutos maduros	Frutos inmaduros	Frutos acrónicos	Mordido
30/03/2007	Promedio	4.1	1.4	4.2	2.1	1.7	2.1	4.1	5.2	1.8	2.8
	Mín-máx	1-10	1-5	1-15	1-11	1-4	1-4	1-12	1-16	1-7	1-8
	SD	2.0	0.8	2.6	1.9	0.8	1.2	2.5	3.4	1.4	2.0
	N	114	43	82	46	31	28	98	88	110	49
26/03/2008	Promedio	4.7	1.2	8.2	1.3	1.5	1.7	6.5	5.0	3.0	2.0
	Mín-máx	1-13	1-2	1-24	1-3	1-4	1-5	1-25	1-46	1-11	1-10
	SD	2.5	0.4	4.7	0.5	0.7	0.9	5.0	5.30	2.1	1.6
	N	143	41	147	37	82	113	168	137	149	52
11/04/2008	Promedio	3.0	1.0	3.2		1.1	1.5	4.2	4.0	1.8	1.3
	Mín-máx	1-5	1-1	1-9		1-2	1-3	1-13	1-12	1-5	1-2
	SD	1.5	0	2.3		0.3	0.7	2.8	2.4	1	0.6
	N	19	2	15	0	24	38	84	69	60	3

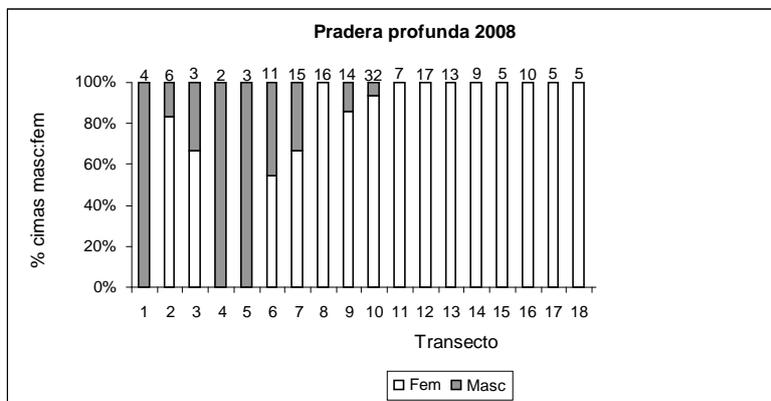
1



2



3



4

5 Figura 3.7. *Syringodium filiforme*. Porcentaje y distribución de cimas femeninas (Fem) y masculinas (Masc) en

6 los transectos de la zona costera (1 y 2) y la pradera profunda (3), realizados en los años 2007 (1) y 2008 (2 y 3).

7 Arriba de las barras se indica el número de cimas sexuales totales registradas *in situ*, por transecto. En cada

8 transecto se recolectaron las cimas de 3 cuadrantes de 0.30 x 0.30 m.

9

1 *Halodule wrightii*

2

3 De los 1000 haces analizados de la recolecta del 25 de mayo de 2007, en
4 Puerto Morelos, 884 fueron vegetativos, 88 masculinos y 28 femeninos. La proporción
5 de haz masculino:femenino fue de 1:0.32 (Tabla 3.6). En la segunda recolecta del
6 2007, se analizaron 1000 haces, 637 vegetativos, 197 masculinos y 166 femeninos. La
7 proporción haz masculino por femenino fue de 1:0.84 (Tabla 3.6) y se registró una
8 marcada separación de haces sexuales en los parches de *H. wrightii* (Fig. 3.8).
9 También en Puerto Morelos, el 11 de marzo de 2008, se analizaron 972 haces
10 recolectados en 10 parches, 402 fueron masculinos, 208 femeninos y 362 vegetativos
11 (Fig. 3.9). La proporción haz masculino:femenino fue de 1:0.52 (Tabla 3.6).

12

13 El 7 de abril de 2008, en la franja costera cercana a Cancún, hubo una
14 predominancia de haces masculinos (Fig. 3.10). El análisis fue de 1,200 haces, 198
15 masculinos, 22 femeninos y 980 haces vegetativos. La proporción de flor
16 masculina:femenina fue de 1:0.11 (Tabla 3.6).

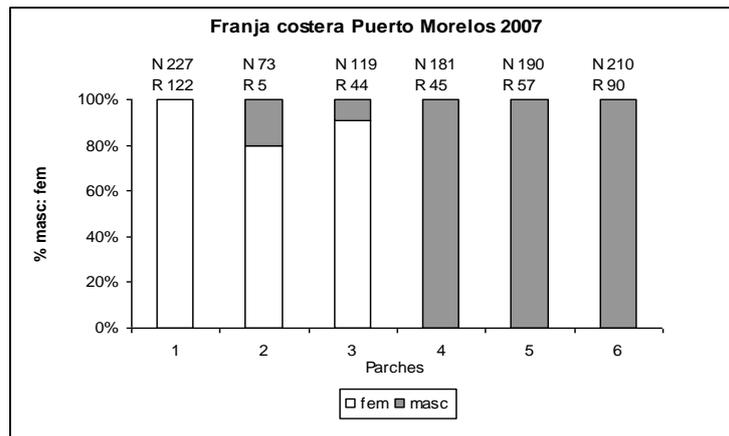
17

18

1 Tabla 3.6. *Halodule wrightii*. Proporciones de haces masculinos:femeninos por recolecta durante 2007
 2 y 2008 en la franja costera de la laguna arrecifal de Puerto Morelos y en Cancún.

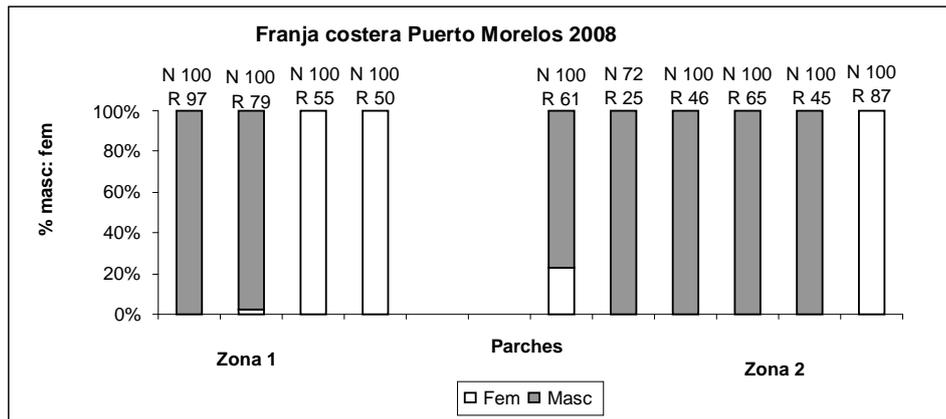
	Lugar	N total de haces	N masc	N fem	Proporción masc:fem
Colecta					
2007	Puerto Morelos	1000	88	28	1:0.32
2007	Puerto Morelos	1000	197	166	1:0.84
2008	Puerto Morelos	972	402	208	1:0.52
2008	Cancún	1200	198	22	1:0.11

3
4



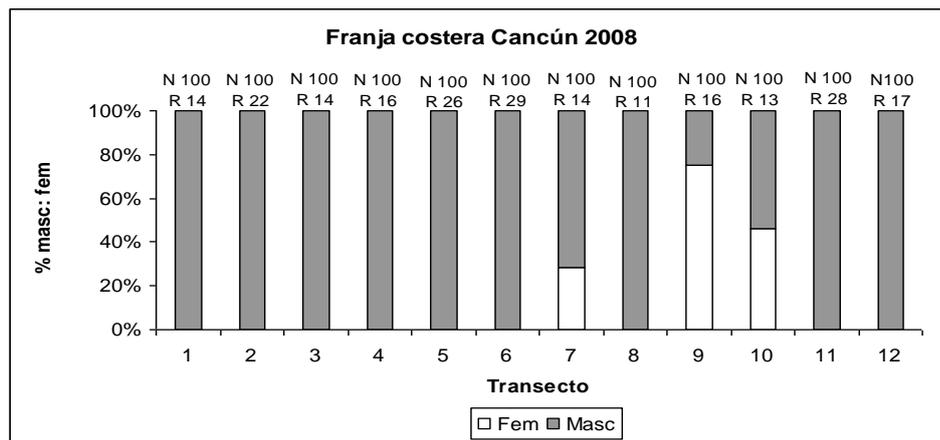
7 Figura 3.8. Porcentaje de haces femeninos y masculinos de *Halodule wrightii* en la zona costera de
 8 Puerto Morelos, 12 de junio de 2007. N: número de haces por parche, R: número de haces con
 9 estructuras reproductoras. La distancia entre parches fue de 5 a 15 m. La recolecta del 25 de mayo
 10 de 2007 no fue separada por parches.

11



1
2
3
4
5
6

Figura 3.9. Porcentaje de haces femeninos y masculinos de *Halodule wrightii* en la zona costera de Puerto Morelos, 11 de marzo de 2008. N: número de haces por parche, R: número de haces con estructuras reproductoras. Zona 1: norte del muelle, zona 2: sur del muelle. Distancia entre parches 5 a 10 m y entre zonas de unos 20 m.



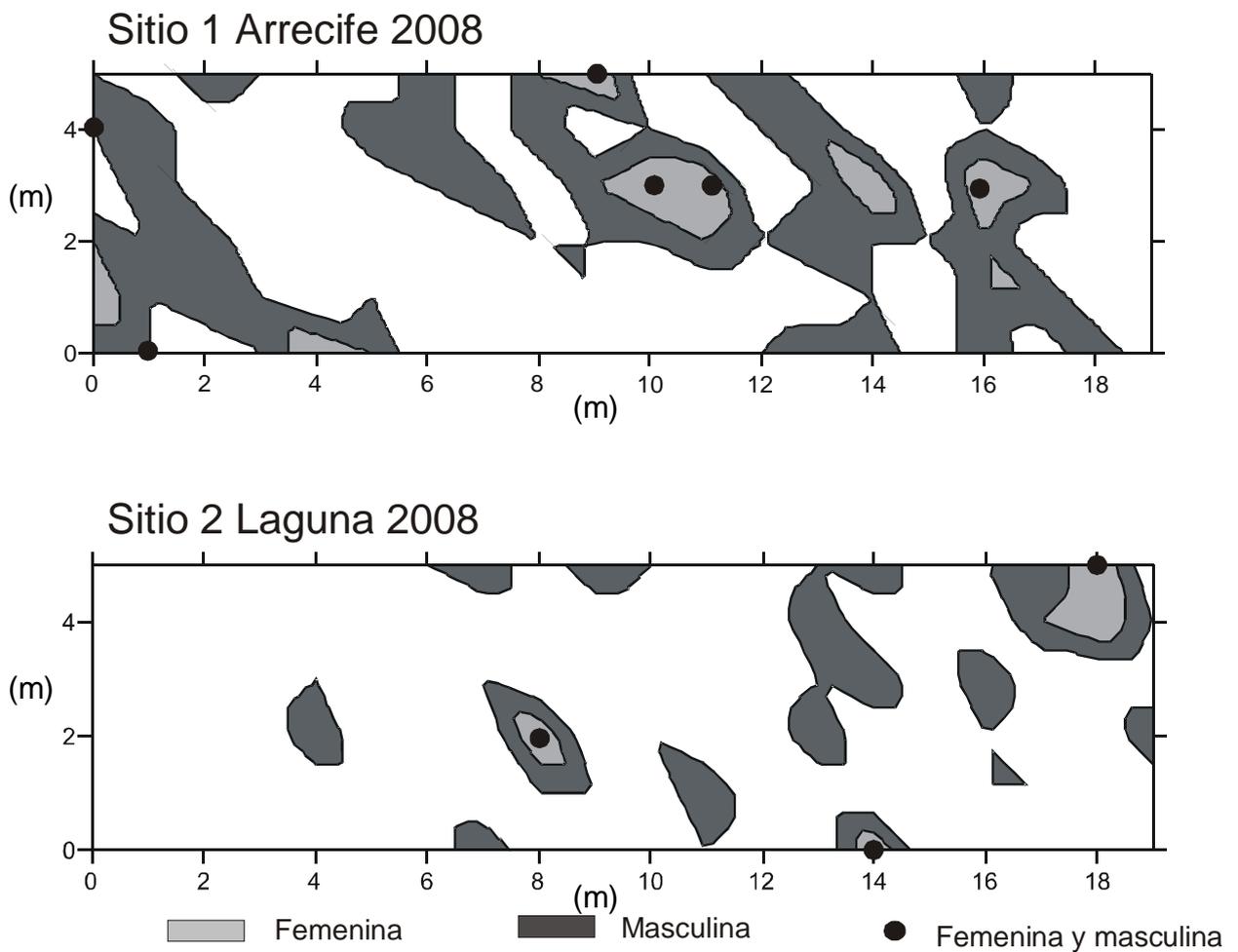
7
8
9
10
11

Figura 3.10. Porcentaje de haces femeninos y masculinos de *Halodule wrightii* de la franja costera cercana a Cancún el 7 de abril de 2008. N: número de haces, R: número de haces con estructuras reproductoras. Distancia entre puntos de colecta aproximadamente 5 m.

1 *Thalasia testudinum*

2 La distribución de los haces masculinos y femeninos fue determinada por la presencia
3 de flores frescas, combinada con haces con restos de flores del mismo año (2008) (Fig. 3.11).
4 Se observó que los clones masculinos y femeninos se encuentran entremezclados en algunos
5 puntos. La frecuencia de flores en 2008 se presenta en la Tabla 3.7, habiendo más haces con
6 flores masculinas que femeninas.

7



8

1 Figura 3.11. Distribución de haces masculinos y femeninos de *Thalassia testudinum* en las dos zonas de estudio.
 2 Se colectaron 3 haces en cada punto de intersección, a una distancia de 1 m. En los casos en que se encontraron
 3 haces de los dos sexos, éstos se ilustran de manera puntual.

4 La frecuencia de floración en el Sitio 1 Arrecife fue de 16.6 %, visiblemente más alta
 5 que en el Sitio 2 Laguna, donde fue de 1.9 %. En los dos sitios se registró una la dominancia
 6 de flores masculinas. El promedio de flores por inflorescencia de los haces masculinos en el
 7 Sitio Arrecife (1) fue de 2.8 (N 31, SD 0.7) y en el Sitio Laguna (2) fue de 2.5 (N 2, SD 0.7).
 8 Las flores femeninas son solitarias y se registraron 29 de estas flores en el sitio 1 y 5 flores en
 9 el sitio 2. Considerando el porcentaje de haces sexuales, la proporción de flores
 10 masculinas:femeninas fue de 1:0.35 y 1:0.4 en los sitios Arrecife y Laguna, respectivamente
 11 (Tablas 3.7 y 3.10).

12

13 Tabla 3.7. *Thalassia testudinum*. Porcentaje de haces sexuales y proporción de flores masculinas:femeninas
 14 de la floración del 2008 en los dos sitios de la laguna arrecifal de Puerto Morelos, recolectados el 3 de abril
 15 de 2008 y el 3 de mayo de 2008.

	N	% de haces	Flores
Sitio		sexuales (2008)	masc:fem
Arrecife	360	16.6	1: 0.35
Laguna	360	1.9	1: 0.42

16

17

1 Razón polen/óvulo

2 *Syringodium filiforme*

3 La razón polen por óvulo, calculado con base en el número de flores masculinas y
 4 femeninas y sus respectivos contenidos de polen y óvulos se presenta en la Tabla 3.8. La
 5 razón polen/óvulo de *S. filiforme* en la franja costera en 2007 fue de 4.13×10^5 y en 2008 de
 6 6.21×10^5 . Esta razón fue de 5.60×10^5 en la zona de pradera profunda en 2008 (Tabla 3.8).

7

8 Tabla 3.8. *Syringodium filiforme*. Proporción de cimas y flores masculinas y femeninas en las zonas estudiadas.

9 La razón polen/óvulo fue calculada con datos preliminares del 2007 y datos verificados en 2008.

Año	Sitio	Proporción de cimas masc:fem	Proporción flores masc:fem	óvulos por flor	conteo de polen	Razón polen/óvulo
2007	Franja costera	1:0.81	1:1.23	2	1.02×10^6	4.13×10^5
2008	Franja Costera	1:0.71	1:0.82	2	1.02×10^6	6.21×10^5
2008	Pradera profunda	1:6.00	1:0.91	2	1.02×10^6	5.60×10^5

10

11

1 *Halodule wrightii*

2 La razón polen/óvulo varió entre 1.87×10^6 (25 de mayo de 2007), 7.14×10^5 (12 de
 3 junio de 2007) y 1.15×10^6 (11 de marzo de 2008), en Puerto Morelos. En Cancún, con
 4 dominancia masculina, la razón polen/óvulo fue 5.45×10^6 el 7 de abril de 2008 (Tabla 3.9).

5

6 Tabla 3.9. *Halodule wrightii*. Proporciones florales en las zonas de estudio (franja costera) durante 2007 y 2008.

7 Las razones de polen por óvulo fueron estimadas en 2007 y corregidas en 2008.

Fecha	Sitio	Proporción flores masc:fem	óvulos por flor	conteo de polen	Razón polen/óvulo
25 de mayo de 2007	Puerto Morelos	1:0.32	2	1.20×10^6	1.87×10^6
12 de junio de 2007	Puerto Morelos	1:0.84	2	1.20×10^6	7.14×10^5
11 de marzo de 2008	Puerto Morelos	1:0.52	2	1.20×10^6	1.15×10^6
7 de abril de 2008	Cancún	1:0.11	2	1.20×10^6	5.45×10^6

8

9

1 *Thalassia testudinum*

2 Las flores femeninas pueden tener 4 óvulos en promedio (Ricardo Wong,
3 comunicación personal). En este estudio se obtuvieron 342,166 granos de polen por flor. La
4 razón polen/óvulo fue de 2.44×10^5 en Arrecife y 2.04×10^5 en Laguna (Tabla 3.10).

5

6 Tabla 3.10. *Thalassia testudinum*. Proporciones florales en las zonas de estudio durante el año 2008. Las razones
7 polen por óvulo fueron estimadas con el número de polen por flor verificado en 2008.

Año	Sitio	Proporción flores masc:fem	óvulos por flor (promedio)	conteo de polen	Razón polen/óvulo
2008	Arrecife	1:0.35	4	342,166	2.44×10^5
2008	Laguna	1:0.42	4	342,166	2.04×10^5

8

9

1 Limitación de polen

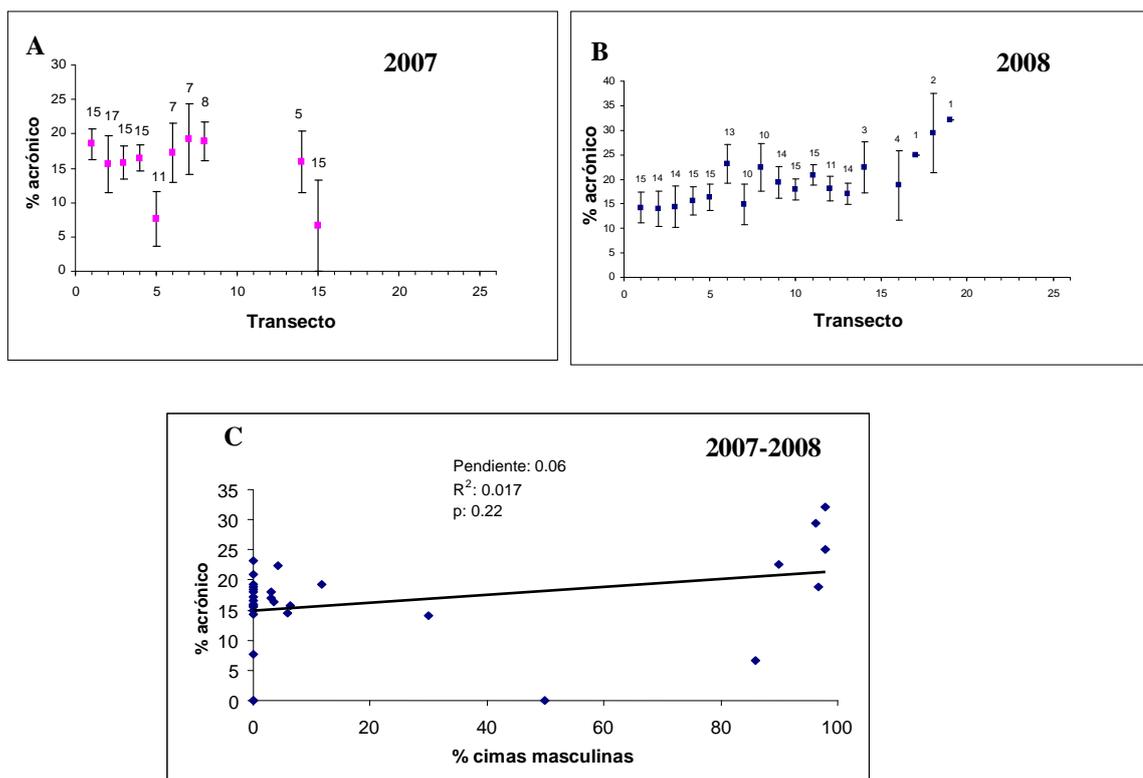
2 *Syringodium filiforme*

3 De manera natural, no hubo una relación significativa entre la proporción de frutos
4 acrónicos y la abundancia de cimas masculinas en la franja costera de Puerto Morelos (Fig.
5 3.12). La pendiente de la relación es virtualmente cero, por lo que no encontramos evidencia
6 indirecta de limitación de polen en esta zona.

7

8

Franja Costera Puerto Morelos



9

10

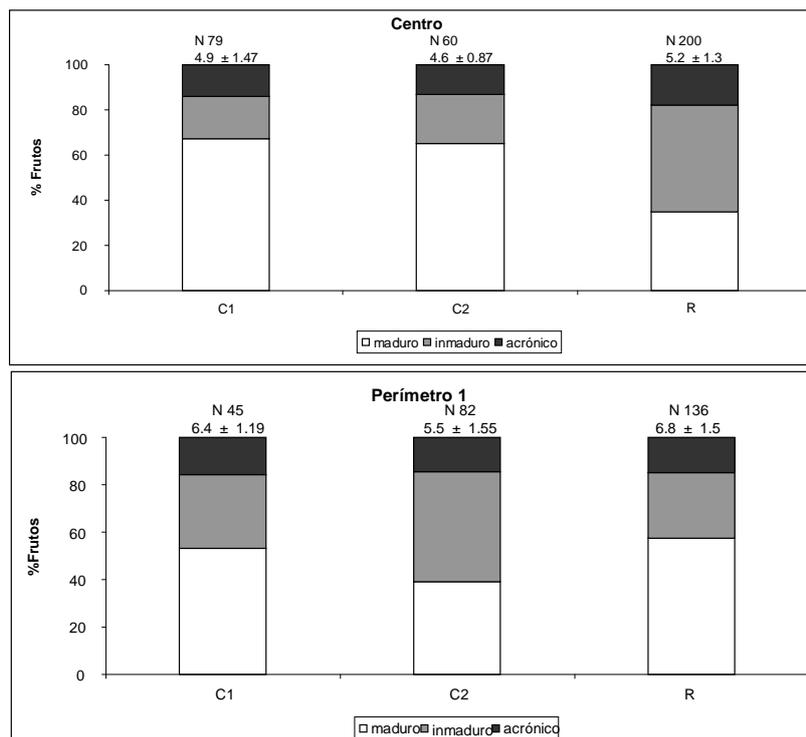
11 Figura 3.12. *Syringodium filiforme*. Proporción de frutos acrónicos (frutos acrónicos/total de óvulos
12 fructificantes) de la zona costera de Puerto Morelos en (A) 2007 y (B) 2008. Las barras representan el error
13 estándar de la muestra. El número de cimas recolectadas por transecto se indica arriba de cada punto. Los
14 transectos con N=0 se refieren a ninguna cima femenina o sin frutos. (C) Regresión lineal y tendencia de los
15 datos agrupados de 2007 y 2008 de la proporción de frutos acrónicos vs. porcentaje de cimas masculinas.

1 Experimento

2

3 En los tratamientos de limitación de polen no hubo diferencia significativa entre los
4 porcentajes de frutos acrónicos de los Controles 1 (15.60 %) y 2 (14.63 %) ($X^2=0.008$, $p>0.9$,
5 $df=1$, Fig. 3.13), por lo que los datos se agruparon. En el área Centro del tratamiento
6 reducción de polen R1, el número de frutos acrónicos fue de 18 % y en la subárea Perímetro 1
7 del mismo tratamiento, el porcentaje de los frutos acrónicos fue de 14.7 %. No se observaron
8 diferencias estadísticas entre estas secciones de R1 ($X^2=0.454$, $p>0.5$, $df=1$) y también se
9 agruparon estos datos. Al comparar los datos agrupados de Control y R no se encontraron
10 diferencias significativas en la proporción de frutos acrónicos ($X^2=0.467$, $p>0.5$, $df=1$) y, por
11 lo tanto, no se registró evidencia de limitación de polen en el experimento (Tabla 3.11).

12



13

14 Figura 3.13. Desarrollo de los frutos de *Syringodium filiforme* en las áreas Centro y Perímetro 1 del experimento
15 de limitación de polen en la laguna arrecifal de Puerto Morelos. C1 y C2: Controles 1 y 2; R1: 50 % de

1 reducción de cimmas masculinas. Los números arriba de las barras se refieren al número de frutos de cada
 2 tratamiento (N) y al promedio de frutos por cima y su respectiva desviación estándar (\pm DS).

3

4

5 Tabla 3.11. *Syringodium filiforme*. Resultados del análisis de X^2 aplicado a los datos agrupados de producción de
 6 frutos (Σ frutos desarrollados vs. Σ frutos acrónicos) del experimento de limitación de polen. Los tratamientos
 7 fueron C: Control, dos parcelas, R: Reducción de masculinos, una parcela. Efecto N: no, S: si. La prueba de la
 8 subárea fue para verificar si había un efecto de la distancia límite del área experimental sobre la producción de
 9 frutos en el tratamiento de reducción de masculinos. Per 1: perímetro 1 m, distancia del límite del cuadrante
 10 central.

11

Prueba	Aplicado a tratamiento	Subárea	X^2	df	P	Efecto
Agrupamiento	C1 vs. C2	Centro	0.008	1	> 0.9	N
Subárea	R	Centro vs. Per1	0.454	1	> 0.5	N
Reducción	C vs. R	Parcela completa Centro + Per 1	0.467	1	> 0.5	N

12

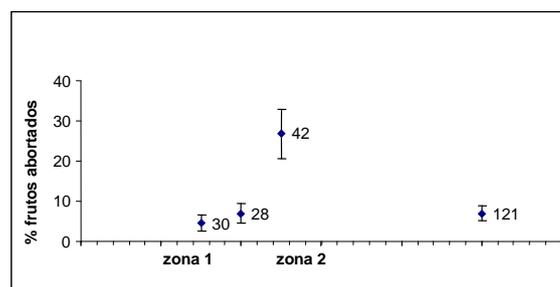
13

1 *Halodule wrightii*

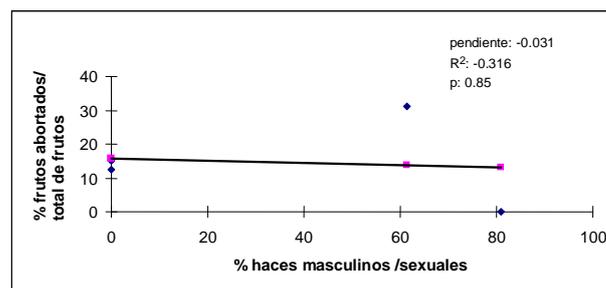
2 La proporción promedio de frutos abortados por parche (frutos abortados/total
3 de óvulos fructificantes) en la franja costera de Puerto Morelos (11 de marzo de 2008)
4 fue de 9.05 % (N=5, SD=14.45, SE=2.48). En relación con la abundancia de haces
5 masculinos, la proporción de frutos abortados no fue significativa (pendiente= -0.031,
6 R^2 :=0.316, p =0.85, Fig. 3.14). En la franja costera cercana a Cancún (7 de abril de
7 2008) la proporción promedio de frutos abortados fue de 18.05 % (N=3, SD=25.76,
8 SE=10.5), a pesar de una elevada dominancia de flores masculinas (Fig. 3.10). Por lo
9 tanto, no se encontró evidencia indirecta de limitación de polen en *H. wrightii* en las
10 zonas de estudio.

11

Puerto Morelos 2008



12



13

14 Figura 3.14. *Halodule wrightii*. Porcentaje de frutos abortados por parche en la franja costera de Puerto Morelos,
15 11 de marzo 2008. El número total de frutos (desarrollados y abortados) se indica en cada punto. Las barras
16 representan el error estándar. Regresión lineal negativa y no significativa del % de frutos abortados vs. % de
17 haces masculinos.

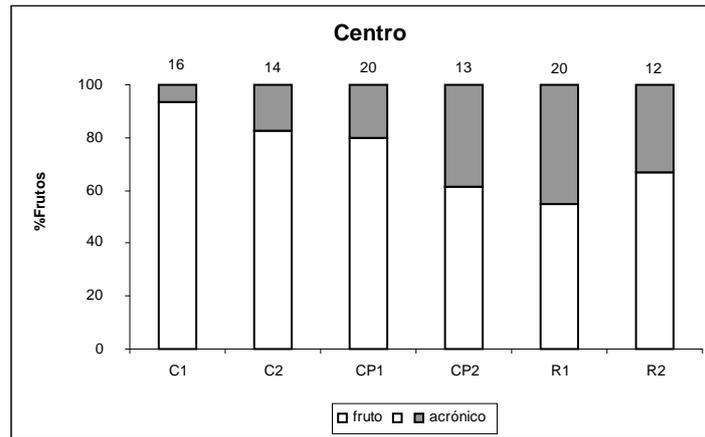
18

1 *Thalassia testudinum*

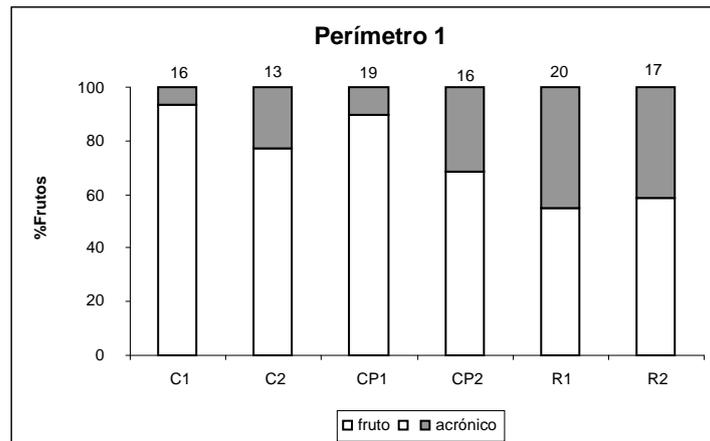
2

3 En el tratamiento control (C1 y C2 combinados) se obtuvieron 88 % de frutos
4 desarrollados y 12 % de frutos abortados y en el control de procedimiento (CP1 y CP2
5 combinados) un 81 % de frutos desarrollados y 19 % de frutos abortados. No hubo diferencia
6 estadística en la proporción de frutos abortados entre C y CP en las tres subáreas de la parcela
7 ($X^2=0.84$, $p>0.5$, $df=1$, Tabla 3.12). En el tratamiento de reducción de polen (R1 y R2
8 combinados) se obtuvo 60 % de frutos desarrollados y 40 % de frutos abortados. Se
9 observaron diferencias significativas en la proporción de frutos abortados entre C-CP y R
10 ($X^2=11.54$, $p<0.001$, $df=1$, Tabla 3.12). Al eliminar el 50% de las flores masculinas, la
11 producción de frutos disminuyó y los frutos abortados aumentaron de igual manera en las tres
12 secciones de la parcela, Centro, Perímetro 1 y Perímetro 2 ($X^2=0.315$, $p>0.9$, $df=2$, Fig. 3.15).
13 Hubo mayor número de semillas abortadas en las parcelas donde se redujo el número de flores
14 masculinas (Semillas viables: $X^2=10.07$, $df=4$, $p<0.05$; Semillas abortadas: $X^2=8.34$, $df=3$,
15 $p<0.05$, Fig. 3.16). Por lo tanto, si se encontró un efecto de limitación de polen al remover las
16 flores masculinas en esta especie.

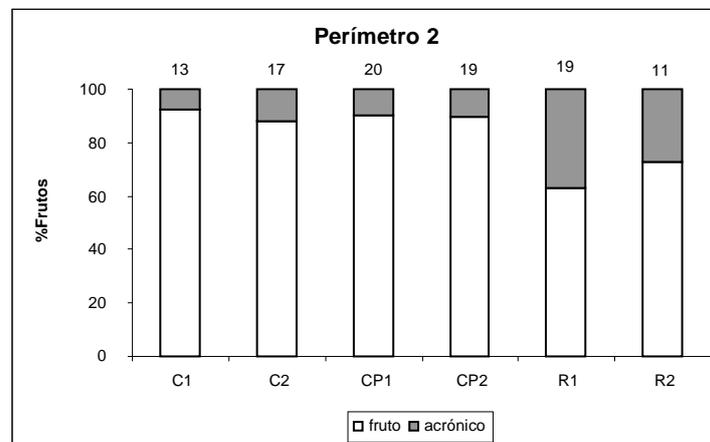
1



2

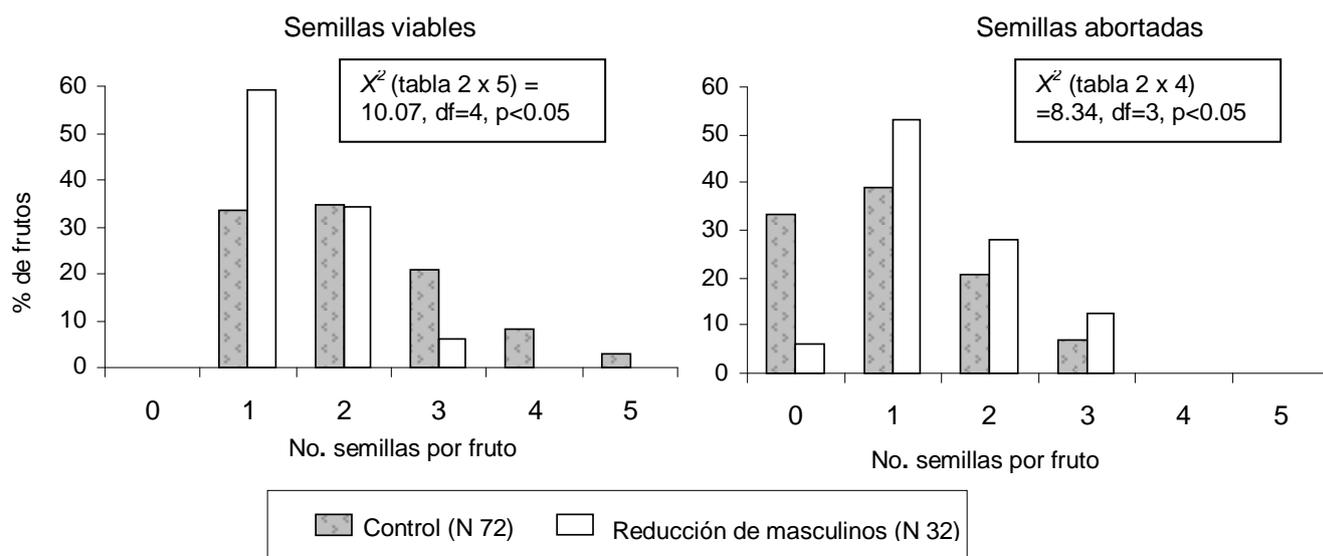


3



8

4 Figura 3.15. Desarrollo de los frutos de *Thalassia testudinum* en el cuadro Centro de 2 x 2 m, primer perímetro
5 +1 m y perímetro 2 +2 m del experimento de limitación de polen en la laguna arrecifal de Puerto Morelos. C:
6 Control, CP: Control de Procedimiento, R: Reducción de 50 % de flores masculinas. Los números arriba de las
7 barras indican N flores marcadas.



1
2 Figura 3.16. *Thalassia testudinum*. Semillas viables y semillas abortadas por fruto del experimento de limitación
3 de polen en la laguna arrecifal de Puerto Morelos. Los frutos fueron recolectados de las parcelas experimentales
4 y parcelas controles en junio de 2008. el número de muestras en el control y el tratamiento se especifica en cada
5 gráfico.

6
7 Tabla 3.12. *Thalassia testudinum*. Resultados del análisis estadístico X^2 aplicado a los datos agrupados de los
8 frutos abortados y desarrollados en las 2 réplicas por tratamiento. Los tratamientos fueron C: Control, CP:
9 Control de Procedimiento, R: Reducción de masculinos. Efecto N: no, S: si. La prueba de manipulación fue para
10 verificar si había un efecto de la remoción de las flores masculinas sobre la producción de frutos. La prueba de la
11 subárea fue para verificar si la producción de frutos era afectada por la distancia límite del tratamiento de
12 reducción de masculinos. Per 1 y Per 2: perímetros 1 m y 2 m de distancia del límite del cuadrante central,
13 respectivamente. *estadísticamente significativo.

Prueba	Aplicada al tratamiento	Subárea	Fruto	X^2	df	p	Efecto
Manipulación	C vs. CP	Centro	Fruto	1.61	1	> 0.1	N
Manipulación	C vs. CP	Parcela completa	Fruto	0.84	1	> 0.5	N
Subárea	R	Centro vs. Per1 vs. Per 2	Fruto	0.31	2	> 0.9	N
Reducción	C vs. R	Parcela completa	Fruto	11.54	1	< 0.001*	S

1 **DISCUSIÓN**

2 Las tres especies de estudio mostraron diferencias en el contenido de polen en las
3 anteras. Además, mostraron diferencias en la distribución de sus flores, lo cual se detalla a
4 continuación, por especie.

5 *Syringodium filiforme*

6 La longitud del polen filamentoso de *S. filiforme*, de unos 2 mm de largo, está en el
7 mismo orden de magnitud de otras especies de la misma familia, Cymodoceaceae. El polen de
8 *Cymodocea* spp. tiene una longitud de 2 mm y 10 μm de diámetro, el de *Thalassodendron*
9 spp. mide unos 5 mm de longitud y 20 μm de diámetro, en *Amphibolis* spp. mide 3-5 mm de
10 longitud y 20 μm diámetro (*sensu* Ackerman, 2006). El polen filamentoso de otras familias de
11 pastos puede tener dimensiones similares, por ejemplo, el de *Zostera marina* (Zosteraceae)
12 mide 2.7 mm de longitud (McConchie y Knox, 1989). La razón polen/óvulo se estimó con
13 base en los análisis de frecuencia de floración y el conteo de polen en las anteras. Esta razón
14 varió de 4.13×10^5 a 6.21×10^5 para *S. filiforme*, en Puerto Morelos, concordando con
15 estimaciones previas para *Posidonia australis* y *Posidonia sinuosa* de la familia
16 Posidoniaceae, (Warnbro Sound, cerca de Perth, oeste de Australia), cuya razón polen/óvulo
17 es de 2.4×10^5 y 9.8×10^5 , respectivamente (Smith y Walker, 2002). Otra especie de
18 Cymodoceaceae, *Amphibolis antarctica*, tiene una razón de polen por óvulo de 8×10^4
19 (Verduin, 1996), que corresponde a un orden de magnitud menor al estimado en el presente
20 estudio para *S. filiforme*. Lo mismo sucede con *Zostera marina* y *Phyllospadix torreyi* de la
21 familia Zosteraceae, que tienen razón de polen por óvulo de 10^4 (Ackerman, 1993) y un rango
22 de $1.9\text{-}5.8 \times 10^4$ (Williams, 1995), respectivamente.

23

1 Las plantas de *S. filiforme* en la pradera de Puerto Morelos mostraron cierta separación
2 espacial entre las cimas masculinas y femeninas. En esta especie no existe información
3 disponible sobre el transporte y la captura del polen; sin embargo, Ackerman (2006) señala
4 que en pruebas de laboratorio, las brácteas de *S. filiforme* ayudan a redirigir el flujo,
5 generando zonas de recirculación alrededor de las flores femeninas. En plantas anemófilas, las
6 zonas de recirculación proveen oportunidades para que el polen quede atrapado en un
7 “remolino” y pueda tener contacto con los estigmas (Niklas, 1992).

8 De acuerdo a lo determinado para *Amphibolis* spp. (Verduin, 1996) y *Posidonia* spp.,
9 la distancia de transporte del polen filiforme es del orden de metros y depende de la densidad
10 de la cobertura foliar en la pradera (Smith y Walker, 2002). Por esta razón esperábamos
11 encontrar posible evidencia de limitación de polen (frutos con desarrolloacrónico) en los
12 transectos con dominancia femenina y alejados por varios metros de las cimas masculinas. Sin
13 embargo, no hubo ninguna evidencia que apoyara nuestro supuesto. Además, la reducción
14 experimental del 50% de las cimas masculinas de *S. filiforme* tampoco mostró un efecto de
15 limitación de polen y la producción de frutos en las parcelas experimentales no varió con la
16 fructificación de las cimas controles ni con la fructificación natural en las zonas de estudio.
17 Posiblemente el polen filamentoso de *S. filiforme* puede viajar a mayor distancia que lo
18 reportado en la literatura para *Posidonia* spp. y *Amphibolis* spp., lo cual depende además de
19 las condiciones hidrodinámicas, que influyen mucho en el transporte del polen.

20 *Halodule wrightii*

21 La longitud del polen filamentoso de *H. wrightii* fue de 1.2 mm, lo cual concuerda con
22 lo mencionado por McConchie y Knox (1989) y Ackerman (2006) para la misma especie.
23 Comparativamente con otras familias, el polen filamentoso de *Phyllospadix* spp.
24 (*Zosteraceae*) mide 1 mm de longitud. En el género *Posidonia* (*Posidoniaceae*) la longitud es

1 de $450 \pm 150 \mu\text{m}$. En los parches estudiados de *H. wrightii*, la separación de sexos fue muy
2 marcada y la razón polen por óvulo varió entre 7.14×10^5 y 5.45×10^6 , con un promedio
3 general de 2.29×10^6 . La presencia de parches casi monosexuales es probablemente debida a
4 que se trata de parches monoclonales recién establecidos en la laguna de Puerto Morelos
5 después del paso del huracán Wilma, en octubre de 2005 (Brigitta van Tussenbroek, com.
6 pers.). La distancia entre estos parches (5-15 m) fue mayor a la distancia promedio de
7 dispersión del polen filamentososo de otras especies (ver *S. filiforme* arriba). Sin embargo, en la
8 exploración de algún efecto de limitación de polen de manera natural en la franja costera de
9 Puerto Morelos no se registró una relación entre la ausencia de flores masculinas y la
10 abundancia de frutos acrónicos.

11

12 *Thalassia testudinum*

13 La razón polen/óvulo de *Thalassia testudinum* en la zona de estudio (2.03×10^5 a 2.44
14 $\times 10^5$) es notoriamente mayor a la de *Enhalus acoroides* (proporción polen:óvulo de 10:1),
15 que es una especie de la misma familia (Hydrocharitaceae), pero *E. acoroides* tiene una
16 polinización epihidrófila y posiblemente el transporte bidireccional, en vez de tridimensional,
17 es más eficiente (Kausik, 1941 en Ackerman, 2006). Malm (2006) registró en la especie
18 dioica *Halophila stipulacea* (Hydrocharitaceae) que la proporción de plantas masculinas por
19 femeninas es de 0.5-0.9:1, dependiendo de la profundidad. Comparativamente, McMillan y
20 Jewett-Smith (1988) obtuvieron que *Halophila engelmannii* (dioica) tiene proporciones
21 masculino:femenino de 50:50 (experimentalmente) y 42:58 (naturalmente). La distribución de
22 haces sexuales en *T. testudinum* en las zonas de estudio fue principalmente entremezclada,
23 con una dominancia de haces masculinos, como ya lo han registrado van Tussenbroek *et al.*
24 (2008; 2009) en la misma zona de estudio.

1 Sobre la dispersión del polen de *T. testudinum*, Okubo *et al.* (2002) sugieren que el
2 polen liberado en el dosel de la pradera es transportado a distancias limitadas, del orden de
3 metros, aunque la velocidad de dispersión puede incrementarse en el interior del dosel. Van
4 Tussenbroek *et al.* (2009) mencionan que posiblemente los granos embebidos en mucílago
5 tienen un vehículo menos eficiente que el polen filamentoso para transportarse en el medio
6 marino.

7 En los tratamientos experimentales de reducción en 50 % de flores masculinas de *T.*
8 *testudinum* se registró una disminución en la fructificación y producción de semillas por fruto,
9 sugiriendo que había limitación de polen en estas parcelas.

10 Limitación de polen

11 En este estudio no registramos evidencias de limitación de polen en las poblaciones
12 estudiadas de *S. filiforme* y *H. wrightii*. Se esperaba que en condiciones extremas de déficit de
13 flores masculinas pudiera aumentar la proporción de frutos abortados, sin embargo, no fue el
14 caso. En el experimento de *S. filiforme* no hubo un efecto significativo, pero la densidad fue
15 muy baja en general, posiblemente por un efecto de diseño experimental, aunque tampoco se
16 puede excluir que el transporte de polen es muy eficiente en ésta especie. Además, hacen falta
17 análisis y estudios mucho más exhaustivos para llegar a una conclusión definitiva. *T.*
18 *testudinum*, en contraste, mostró un efecto muy marcado de limitación de polen al reducir las
19 flores masculinas. Así, dependiendo de las especies y los factores como la hidrodinámica del
20 medio o la densidad de sexos, algunas poblaciones de pastos marinos pueden sufrir limitación
21 de polen, mientras otras pueden tener equilibrio en la proporción de polen por óvulo o un
22 exceso de polen (e.g., no se registró un efecto en *S. filiforme* al reducir 50 % de individuos
23 masculinos). Reusch (2003) manipuló experimentalmente las densidades florales (eliminación
24 y adición) de *Zostera marina* (monoica) y encontró que la producción de semillas estaba

1 relacionada positivamente con la densidad floral, hasta que se alcanzaba la saturación y
2 sugirió que las densidades naturales generalmente son bajas y que la limitación de polen
3 puede ser generalizada en esta especie. Ackerman (2002) simuló la captura del polen en *Z.*
4 *marina* con relación a los regímenes hidrodinámicos dentro del pastizal y dedujo que éstos
5 pastos marinos requieren 10^3 - 10^4 polen para polinizar una sola flor, lo cual corresponde con la
6 proporción de 10^4 :1 de polen:óvulo (Ackerman, 1993) de esta especie, lo que implica que *Z.*
7 *marina* pudiera estar en “equilibrio” con sus requerimientos de polen en condiciones óptimas
8 de densidad. Williams (1995) estudió *Phyllospadix torreyi* en un sitio con régimen
9 hidrodinámico alto (oleaje intenso), donde la proporción masculino:femenino varía con la
10 profundidad de 0 a 8 metros, encontrando que la escasez masculina no afectaba la
11 fecundación, que fue prácticamente del 100 %. Sin embargo, Shelton (2008), al estudiar a *P.*
12 *scouleri* y *P. serrulatus* sobre una amplia gama geográfica y una amplia gama de
13 proporciones de sexo, encontró que la fecundidad femenina, medida como producción de
14 semillas, aumenta con la densidad masculina, lo cual sugiere que puede haber un umbral
15 mínimo necesario de polen para la fecundación eficiente (Shelton, 2008). Por su parte,
16 Balestri y Cinelli (2003) reportaron reducción de semillas en el pasto hermafrodita *Posidonia*
17 *oceanica*, donde el 87% de la pérdida de semillas fue debido a abortos, que atribuyeron a una
18 posible combinación de polinización limitada, limitación de recursos y endogamia. *Posidonia*
19 tiene flores perfectas y no tiene un sistema de reconocimiento polen-estigma que evite la
20 autofecundación (McConchie y Knox, 1989). Los estudios de limitación de polen en pastos
21 marinos son pocos y en el caso del presente estudio, para *Thalassia testudinum* fue el primer
22 registro experimental de limitación de polen en un pasto marino dioico.

1 ***OBSERVACIÓN ADICIONAL***

2 Para comprobar si hay limitación de polen se deben realizar experimentos que
3 demuestren si el déficit de polen resulta en una producción limitada de semillas. Sin embargo,
4 una producción limitada de semillas también puede ser una consecuencia de escasez de otros
5 recursos. Por lo tanto, se deben hacer pruebas experimentales paralelas añadiendo polen
6 mediante polinización manual *in situ*, para ver el efecto en la producción de semillas.

7

1 **CAPÍTULO 4 POSIBLES ESTRATEGIAS DE DEFENSA CONTRA HERBIVORÍA**

2 ***ANTECEDENTES***

3 Los pastos marinos han desarrollado varias adaptaciones ante una alta presión de
4 pastoreo, especialmente de sus hojas. La pérdida del tejido foliar por la acción de los
5 herbívoros puede estimular el crecimiento de nuevas hojas como una respuesta compensatoria
6 a la pérdida de biomasa. Valentine y Heck (1997; 1999) mencionan que los pastos marinos
7 utilizan las reservas de nutrientes acumuladas en los rizomas para estimular el desarrollo
8 foliar después de un evento de daño. Vergés *et al.* (2007) examinaron la respuesta de
9 *Posidonia oceanica* a la acción de los peces herbívoros *Sarpa salpa* y *Paracentrotus lividus*
10 en el Mediterráneo y encontraron que este pasto marino contrarresta la pérdida de tejidos
11 incrementando el crecimiento foliar de los haces dañados por la herbivoría. Otro mecanismo
12 de compensación se mostró para la especie *Halophila ovalis*, que es estructuralmente delicada
13 y con poca inversión en tejidos subterráneos. McMahon (2005) observó en Moreton Banks,
14 Australia, que la población de *H. ovalis* crece mucho más rápido por extensión de nuevos
15 rizomas y produce más flores en áreas impactadas por *Dugong dugong* (Sirenidade),
16 comparadas con áreas que no han sido afectadas por herbivoría. Cabe mencionar que el
17 dugongo no sólo consume las hojas, sino que elimina las plantas completas, arrancándolas del
18 sedimento y dejando caminos desprovistos de vegetación marina. Estas últimas respuestas a la
19 herbivoría se pueden considerar como defensas tipo tolerancia (*sensu* Núñez-Farfán *et al.*,
20 2007). Una defensa contra herbivoría foliar de tipo resistencia incluye la producción de
21 taninos. Estos metabolitos secundarios inactivan las enzimas digestivas de los herbívoros. Los
22 taninos pueden reducir significativamente el crecimiento y la supervivencia de muchos
23 herbívoros cuando se adicionan a su dieta (Robbins *et al.*, 1987; Bernays *et al.*, 1989; Butler,

1 1989). Larkum y Hartog (1989) resaltan la presencia de fenoles en las hojas y en los
2 meristemas de los pastos marinos y sugieren que se puede deber al estrés que provocan la
3 herbivoría y las infecciones causadas por agentes patógenos. McMillan (1984) reportó la
4 presencia de taninos en las hojas de pastos marinos de las familias Zosteraceae,
5 Posidoniaceae, Cymodoceaceae e Hydrocharitaceae. Los ácidos fenólicos, p-hidroxibenzoico
6 y vanílico se han registrado en las hojas de *P. oceanica* (Cariello y Zanetti, 1979). Las hojas,
7 rizomas y raíces de *Thalassia testudinum*, *Syringodium filiforme*, *Halodule wrightii* y
8 *Halophila engelmannii* contienen ácidos fenólicos, los cuales tienen propiedades alelopáticas
9 (Zapata y McMillan, 1979). Otra defensa pudiera ser la existencia de cristales de oxalato de
10 calcio (Dobbs *et al.*, 2004), que han sido asociados con la protección contra herbívoros
11 (Prychid y Rudall, 1999).

12 La pérdida de tejidos foliares tiene un costo energético para la planta, mientras que el
13 daño a las estructuras florales puede afectar el éxito reproductivo, con posibles consecuencias
14 evolutivas para la especie (McCall y Irwin, 2006). Kirk *et al.* (1995) mencionan que insectos
15 como los escarabajos de la familia Nitidulidae, son florívoros que se alimentan de anteras y
16 polen. *Meligethes aeneus* provoca daños a las flores de la col *Brassica napus* (Brassicaceae),
17 disminuyendo las visitas de las abejas polinizadoras (*Apis mellifera*), afectando la producción
18 de semillas y la evolución de sus características florales. Las plantas con altos niveles de
19 metabolitos secundarios en las estructuras reproductoras pudieran ser más resistentes a los
20 florívoros. Por ejemplo, la hierba terrestre *Castilleja indivisa* (Orobanchaceae) tiene altos
21 niveles de alcaloides en las inflorescencias y sufre menos florivoría que plantas con menores
22 niveles de estos metabolitos secundarios (Adler *et al.*, 2001). El escape en espacio y tiempo es
23 otro mecanismo para evitar el consumo de las flores. Breedlove y Ehrlich (1968) sugirieron
24 que las flores de la hierba *Lupinus amplus* (Fabaceae) pueden reducir los efectos dañinos de

1 las larvas de las mariposas (Lycaenidae) adelantando la maduración de las flores antes de que
2 las larvas emerjan. Otras adaptaciones para evitar la florivoría pueden ser morfológicas, como
3 los tricomas (excrecencias epidérmicas) en las flores, que fungen como barrera física para los
4 florívoros (Da Craene y Miller 2004; Leitao *et al.*, 2005). Pueden existir complejas relaciones
5 entre la fauna y las flores. Un ejemplo son las hormigas que cuidan el néctar extrafloral de la
6 hierba *Calathea ovandensis* (Marantaceae), reduciendo el daño a las inflorescencias
7 provocado por la mariposa *Eurybia elvina* (Horvitz y Schemske, 1984). Los compuestos
8 volátiles florales pueden servir para atraer a los enemigos naturales de los florívoros. El metil
9 salicilato, ácido fenólico derivado de ácido benzóico, es un componente del olor floral en
10 muchas especies (Knudsen *et al.*, 2006), que afecta negativamente la sobrevivencia de
11 algunos insectos (Ollerstam y Larsson, 2003); además es una molécula importante en la
12 defensa de plantas contra infecciones patógenas (Shuvalev *et al.*, 1997). Se ha reportado que
13 la chirivía (*Pastinaca sativa*) sufre con mayor frecuencia severos daños en el tejido
14 reproductivo que en hojas o raíces y al parecer esta especie es capaz de controlar la expresión
15 de metabolitos secundarios en diferentes tejidos (Zangerl y Rutledge, 1996), protegiendo
16 hojas y raíces a costa de las flores. Adicionalmente, cualquier característica floral que reduce
17 la apariencia de la flor o su calidad nutricional, como corolas pequeñas o anteras ocultas,
18 también puede evitar la florivoría a costa de la atracción de polinizadores (Ashman *et al.*,
19 2004b). Otra estrategia de defensa contra la florivoría es la compensación, en vez de evitar el
20 daño. Algunas plantas abortan flores dañadas y canalizan los recursos para la producción de
21 nuevas flores (Olesen, 1992). La hierba *Lathyrus vernus* (Fabaceae) compensa la remoción de
22 flores a través de un incremento en el tamaño de los frutos de las flores restantes (Ehrlen,
23 1993). De manera similar, Holtsford (1985) simuló la florivoría al remover la primera flor en
24 la azucena *Calochortus leichtlinii* (Liliaceae), lo que provocó un incremento en la producción
25 de semillas de las segundas flores, las cuales raramente producen frutos cuando las primeras

1 flores no son removidas. En *Yucca filamentosa* (Agavaceae), el consumo de los botones
2 florales es común y la estrategia de esta planta para atenuar los efectos sobre su “salud” es
3 deshacerse de las flores dañadas (abscisión floral) (Althoff *et al.*, 2005). Después de un daño,
4 la misma planta puede amplificar el nivel atractivo de sus flores y así incrementar el potencial
5 de ser fecundadas, por ejemplo, aumentando el tamaño de la flor o el número de granos de
6 polen por flor (McCall y Irwin, 2006). La selección sobre el fenotipo floral (morfología floral
7 o sustancias atrayentes como néctar) puede ser trascendente en poblaciones con limitación de
8 polen y así influir en la evolución de los caracteres sexuales (Ashman *et al.*, 2004a). Van
9 Tussenbroek *et al.* (2008a) plantearon la hipótesis de que la rapidez de elevación del pedicelo
10 floral y la antesis nocturna y altamente sincronizada del pasto marino *Thalassia testudinum* en
11 el Caribe mexicano, pudieran ser respuestas a la presión de florivoría por peces. El presente
12 estudio pretende estudiar esta hipótesis más a fondo.

13

1 **HIPÓTESIS**

- 2 • Las flores de las tres especies de pastos marinos más abundantes en el área de estudio
3 han desarrollado características morfológicas para evitar la depredación de las flores
4 masculinas.

5

6 **OBJETIVOS**

- 7 • Estudiar *in situ* la frecuencia de herbivoría de las flores masculinas de las tres especies
8 de pastos marinos.
- 9 • Registrar y proponer los posibles mecanismos desarrollados por los pastos marinos
10 para evitar la herbivoría de las flores masculinas.

11

12

1 **MATERIAL Y MÉTODOS**

2 Frecuencia de herbivoría de las flores masculinas

3 *Syringodium filiforme*

4 La primera observación de herbivoría de *Syringodium filiforme* se realizó del 9 al 12 y
5 del 16 al 19 de marzo de 2007, mediante la toma de fotografías. El lugar de registro fue el
6 área de estudio 2 (Fig. 1.8). Previamente a la observación, se recolectaron 11 cimas
7 masculinas y 12 femeninas. En el laboratorio se quitaron las brácteas con pinzas, dejando las
8 anteras y los ovarios expuestos (ver Cap. 2, Fig. 2.1), denominando los botones como
9 “desnudos”. Se colocaron las cimas en el campo y se marcaron con varillas de alambre
10 galvanizado y cinta color naranja. Los botones cubiertos (12 cimas femeninas, 97 botones; 12
11 cimas masculinas, 51 botones) fueron marcados de la misma manera que los desnudos,
12 dejando intactas las brácteas que cubren los botones. Para las flores femeninas se utilizó cinta
13 rosa y naranja para las masculinas. Los registros *in situ* con fotografías fueron realizados los
14 días 12, 16 y 19 de marzo, con cámaras digitales *Canon*, modelos 770UZ y 765UZ, con
15 estuches sumergibles. Al final, algunos botones fueron recolectados y fotografiados en el
16 laboratorio.

17 El registro de herbivoría del año 2008 fue realizado en el mismo sitio, los días 28, 29 y
18 30 de abril, por la mañana y por la tarde. Las mismas cimas masculinas se utilizaron para
19 filmar a los peces herbívoros. Para este fin, se descubrieron los botones maduros (Cap. 2, Fig.
20 2.1) de 18 cimas masculinas (91 botones descubiertos), observados con las cámaras digitales y
21 22 cimas (131 botones descubiertos), observados con la cámara fija.

1

2 *Halodule wrightii*

3 Las observaciones de herbivoría de botones masculinos de *Halodule wrightii* en 2007
4 fueron realizadas los días 5, 6 y 9 de abril, mediante fotografías (sitio 1a, Fig. 1.8). Para
5 exponer 10 botones maduros *in situ*, con una pinza se quitó la hoja exterior del haz portando
6 el botón y se dobló la vaina de la hoja interior (Cap. 2, Fig. 2.2). El rizoma horizontal cercano
7 al haz se marcó con un clip de color y la posición fue marcada con una varilla con cinta. Los
8 botones cubiertos (10) fueron marcados de la misma manera que los desnudos, removiendo la
9 capa superficial del sedimento para poder ver los botones y marcando con un clip y colita de
10 rata con cinta llamativa, dejando intacta la vaina que cubre el botón masculino.

11 En el año 2008 se realizó otro registro de frecuencia de herbivoría de las flores
12 masculinas de *Halodule wrightii*. Los botones, también utilizados para la filmación de los
13 depredadores, fueron colocados en la pradera cercana al muelle de la UAPM (Cap. 2, sitio 3,
14 Fig. 1.8). En el experimento de 5 días se utilizaron en total 34 botones masculinos,
15 descubiertos manualmente. Los botones (4 ó 5) eran revisados y cambiados todos los días por
16 la mañana y por la tarde.

17

18 *Thalassia testudinum*

19 Los experimentos de herbivoría de botones florales masculinos de *Thalassia*
20 *testudinum* se realizaron los días 10 y 11 a 14 de mayo del 2007 y también del 5 al 7 de mayo
21 del 2008, dejando los botones sujetos a herbivoría de un día para otro. El lugar de observación
22 fue un punto cercano al arrecife de Puerto Morelos (sitio 5, Fig. 1.8). En el año 2007 se

1 realizó el experimento con 15 botones masculinos cubiertos y 15 botones masculinos
2 expuestos. En el 2008 se marcaron 20 botones masculinos cubiertos y 20 botones masculinos
3 expuestos. Para ver los botones, fue necesario remover la capa superficial de sedimento. Las
4 flores masculinas maduras se desnudaron *in situ*, quitando las brácteas pero dejando los
5 tépalos (Fig. 1.7, descripción de la especie). Cuando fue necesario, se quitó la hoja exterior
6 del haz para exponer los botones. Las flores fueron marcadas con varillas de alambre
7 galvanizado y cinta de color llamativo. Los botones cubiertos se trataron de la misma manera
8 que los desnudos, removiendo el sedimento, marcando con cinta pero dejando intactas las
9 brácteas que cubren los botones.

10 Análisis estadístico

11 Para determinar si el número de botones desaparecidos o mordidos fue independiente de los
12 tratamientos de los botones (cubierto o descubierto) se realizaron pruebas de X^2 de
13 independencia de las pruebas realizadas en 2007, con H_0 : La frecuencia de botones
14 desaparecidos es independiente del tratamiento del botón (cubierto o desnudo).

15

16 Antesis de las flores masculinas

17 *Syringodium filiforme*

18 El 13 de mayo de 2008, en la tarde, se marcaron 20 cimas masculinas con varillas de
19 unos 20 cm de alto y cintas de color, en el área de estudio 3 (ver Fig 1.8). Las observaciones
20 de la antesis de *Syringodium filiforme* se realizaron los días 14 y 15 de mayo. Al mismo
21 tiempo, se tomaron fotografías *in situ* de las etapas de los botones florales de las cimas por un
22 período de 36 hrs, cada 3-4 hrs durante el día a partir de las 6:00 hrs (amanecer), hasta las

1 19:30 hrs (anocheceer). Al inicio del monitoreo, por cada cima se contó el número de botones
2 que potencialmente pudieran abrirse. Posteriormente, las secuencias de las fotografías se
3 revisaron y se registraron los botones que habían pasado por antesis y postantesis (Fig. 1.2 en
4 descripción de la especie) durante el periodo de observación. En *S. filiforme* no se puede
5 observar el estiramiento del filamento porque el botón está cubierto por brácteas, pero en el
6 momento que el botón se eleva por encima de las brácteas da inicio la antesis.

7 *Halodule wrightii*

8 Veinte botones masculinos maduros de *H. wrightii* se marcaron con varillas y cinta en
9 una pequeña pradera, a escasos metros de la zona del registro de antesis de *S. filiforme*. Los
10 datos del estadio de *H. wrightii* (botón, antesis o postantesis, Fig.1.4 en descripción de la
11 especie) se tomaron *in situ*, registrando los detalles en tablas de acrílico. Si una flor pasó por
12 antesis durante el periodo de observación, se marcó otro botón en su lugar, siempre habiendo
13 20 botones al inicio de cada periodo. Los monitoreos se realizaron del 13 al 15 de mayo de
14 2008, en un período de 36 hrs, cada 3-4 hrs durante el día, a partir de las 6:00 hrs (amanecer)
15 hasta las 19:30 hrs (anocheceer).

16

1 **RESULTADOS**

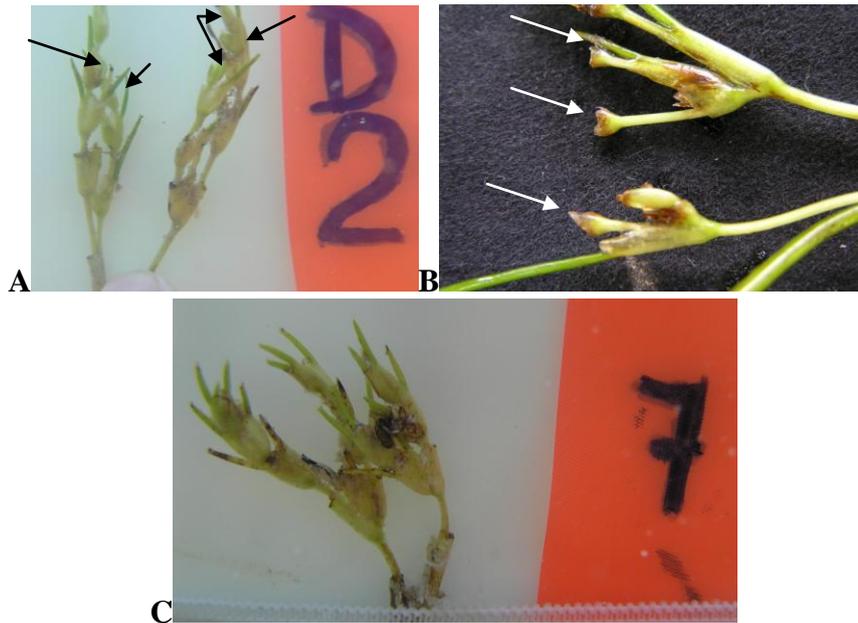
2 Frecuencia de herbivoría de las flores masculinas

3 *Syringodium filiforme*

4 De los botones masculinos expuestos los días 9-12 de marzo de 2007, el 93.6 %
5 recibió mordidas; en contraste, los botones control casi no fueron mordidos (9.8 %, $X^2 =$
6 68.72, $gl = 1$, $p < 0.001$, Tabla 4.1). En el período del 16 al 19 de marzo de 2007, el 91.3 % de
7 los botones desnudos fueron mordidos y sólo el 11.8 % de los controles recibió una mordida
8 ($X^2 = 57.85$, $gl = 1$, $p < 0.001$, Tabla 4.1). Algunos de los botones desnudos desaparecieron
9 completos y se asumió que fueron comidos (Fig. 4.3) y otros tenían una parte de las anteras
10 cortada. Los botones de control (en condición natural) sólo fueron comidos cuando tenían el
11 filamento estirado y elevando las anteras fuera de las brácteas. Se observó que las flores
12 femeninas expuestas no fueron de la preferencia de los peces ($X^2 = 0.56$, $gl = 1$, $p > 0.5$); sin
13 embargo, algunos de los frutos maduros descubiertos (22 %) fueron cortados o desaparecieron
14 (Tabla 4.1).

15

1



2

3

4 Figura 4.3. *Syringodium filiforme*. **A:** Botones expuestos *in situ*, se indican con flechas (12/03/2007, 12:29 hrs);

5 **B:** Botones expuestos mordidos (16/03/2007, 14:53 hrs), detalles en laboratorio, las mordidas se indican con

6 flechas; **C:** Botón cubierto (16/03/2007), sin cambios (Fotografías de Ricardo Wong y Brigitta van Tussenbroek,

7 2007).

8

9

10 Durante la filmación de depredación de flores masculinas en abril de 2008, de las

11 flores masculinas descubiertas en 18 cimbras de *S. filiforme*, 40 flores (43.9 %) recibieron

12 mordidas por peces juveniles. Durante la segunda filmación se observó que las 131 flores

13 descubiertas (22 cimbras) fueron comidas en su totalidad (Tabla 4.2).

14

1 Tabla 4.1. *Syringodium filiforme*. Porcentaje de botones maduros masculinos y flores femeninas clasificados
 2 según etapa, mordidas o desaparecidas, durante un periodo de tres días en dos observaciones durante marzo de
 3 2007. Desnudo: se eliminaron las brácteas.

Periodo	9-12 marzo 2007				16-19 marzo 2007			
MASCULINO	N	Sin cambio (%)	Desaparecido o mordido (%)	Postantesis (%)	N	Sin cambio (%)	Desaparecido o mordido (%)	Postantesis (%)
Desnudo	47	6.4	93.6	0.0	46	6.5	91.3	2.2
Control	51	90.2	9.8*	0.0	51	76.5	11.8*	11.8
FEMENINO	N	Sin cambio (%)	Desaparecido o mordido (%)		N	Sin cambio (%)	Desaparecido o mordido (%)	
Desnudo								
Botón	-	-			12	100	0.0	
Flor	-	-			35	94.3	5.7	
Fruto	-	-			14	57.1	42.9	
Control								
Botón	9	100	0.0		9	100	0.0	
Flor	42	100	0.0		42	97.6	2.4	
Fruto	46	97.8	2.2		46	100	0.0	

4 *Filamento estirado.

5

1 Tabla 4.2. *Syringodium filiforme*. Porcentaje de herbivoría de las cimas masculinas desnudas durante la
 2 filmación con cámaras digitales del 28 al 30 de abril, y con cámara VHS del 1 al 6 de mayo de 2008.

Filme	Periodo (hrs)	Cimas			Botones masculinos desnudos		
		N	Sin cambio (%)	Mordidas (%)	N	Sin cambio (%)	Mordidos (%)
Digital	10:00 – 12:00 y 17:00 – 19:00	18	55.5	44.4	91	56.0	43.9
VHS	06:00 - 19:30	22	0.0	100.0	131	0.0	100.0

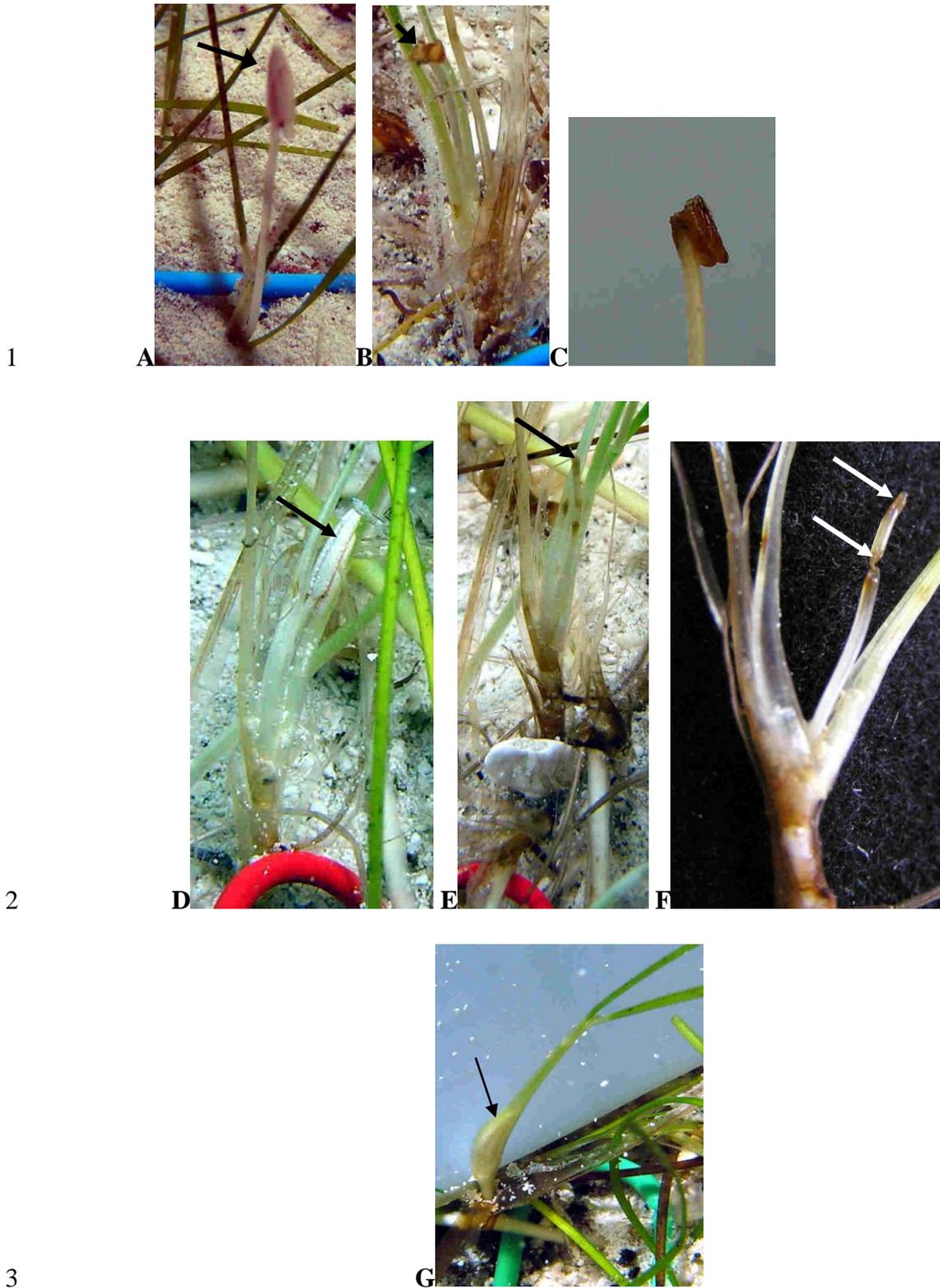
3

4

5 *Halodule wrightii*

6 En el registro de herbivoría de botones masculinos de *Halodule wrightii* (N = 10,
 7 Tabla 4.3) se observó que durante el primer periodo el 10 % de los botones expuestos
 8 desapareció y el 50 % se mantuvieron sin cambios, mientras que el 30 % de los botones
 9 desnudos habían estirado el pedicelo, preparándose para antesis. Los botones cubiertos se
 10 mantuvieron sin cambios y fueron detectados botones masculinos en antesis durante el día, en
 11 el segundo periodo. Al final de la observación, el 70 % de los botones cubiertos estaban en
 12 postantesis y el 30 % sin cambios; no hubo registro de botones cubiertos desaparecidos
 13 durante el seguimiento. Los botones desnudos desaparecieron en un 30 % durante la
 14 observación de 5 días, a diferencia de los botones cubiertos ($X^2 = 4.58$, $gl = 1$, $p < 0.025$,
 15 Tabla 4.3).

16



1
 2
 3
 4 Figura 4.4. *Halodule wrightii*. Secuencia de botones comidos. **A y D**: Botón desnudo con el filamento estirado, 05/04/07,
 5 11:19 y 11: 21 hrs, respectivamente; **B y E**: Botón comido, 06/05/07, 13:00 y 13: 34 hrs, respectivamente; **C y F**: Detalles en
 6 laboratorio; **G**: Botón cubierto 09/04/07, sin cambios (Fotografías de Brigitta van Tussenbroek, 2007).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

En las observaciones del 6 al 12 de mayo de 2008, todos los botones masculinos maduros (34 botones), mismos que se encontraban descubiertos y fijados al sustrato para la filmación de herbivoría *in situ*, fueron comidos durante las horas de luz.

Tabla 4.3. *Halodule wrightii*. Porcentaje de botones florales desaparecidos durante el monitoreo realizado por medio de fotografías. Desnudo: se dobló la vaina, Antesis: antesis ó preparación antesis con estiramiento del filamento. X^2 para datos agrupados, Ho: Frecuencia de botones desaparecidos es independiente del tratamiento del botón (cubierto o descubierto). *estadísticamente significativo ($\alpha = 0.05$).

Periodo	Desnudo						Control						X^2	gl	P	
	N	% Sin cambio	% Desaparecido /mordido	% Antesis	% Posantesis	% perdido	N	% Sin cambio	% Desaparecido /Mordido	% Antesis	% Posantesis	% Perdido				
2007																
4-5 abril	10	50	10	10	20	10	10	100	0	0	0	0				
5-6 abril	10	50	10	0	30	10	10	80	0	20	0	0				
6-9 abril	10	20	10	10	60	0	10	30	0	0	70	0				
Datos agrupados	30	40	10				30	70	0				4.58	1	< 0.025*	

11
12

Thalassia testudinum

En mayo de 2007, durante el registro de herbivoría de botones masculinos de *Thalassia testudinum*, se observó que los botones desnudos desaparecieron inicialmente en un 20 % y hasta un 86.6 % al final de las observaciones (N = 15). Los botones desnudos que permanecieron sin cambios fueron encontrados semicubiertos por el sedimento o poco visibles. Los botones de control (cubiertos), desaparecidos en un 33.3 % (N = 15), tenían el pedicelo estirado con las anteras sobresaliendo de las brácteas, preparándose para antesis Las

1 diferencias estadísticas entre tratamientos (desnudos y controles) fueron significativas, con X^2
2 = 13.17, $gl= 1$, $p < 0.001$ (Tabla 4.4).

3 En las observaciones del 2008, el 50 % de los botones masculinos desnudos de
4 *Thalassia testudinum* desaparecieron, mientras en los botones cubiertos la desaparición fue
5 del 15 % ($N = 40$, $X^2 = 11.91$, $gl = 1$, $p < 0.001$, Tabla 4.5). Estos últimos botones
6 desaparecieron porque estaban parcialmente expuestos, en preparación para antesis, con el
7 pedicelo estirado (Fig. 4.5).

8



9

10 Figura 4.5. *Thalassia testudinum*. Detalles en laboratorio. **A**: Flor masculina en antesis **B**: Botón comido
11 (Tomado de van Tussenbroek *et al.*, 2009).

12

1
2
3
4
5
6

Tabla 4.4. *Thalassia testudinum*. Porcentaje de botones masculinos desaparecidos durante las observaciones por medio de fotografías, en 2007. Desnudo: se quitaron las brácteas. ¹ botones florales al ras del sedimento, semicubiertos o poco visibles. ² botones florales comidos, al parecer en antesis, por el estiramiento del pedicelo. X^2 para datos agrupados, Ho: Frecuencia de botones desaparecidos es independiente del tratamiento del botón (cubierto o descubierto). *estadísticamente significativo ($\alpha = 0.05$).

Periodo	Desnudo				Control				X^2	gl	p
	N	% Sin cambio	% Desaparecido / mordido	% Posantesis	N	% Sin cambio	% Desaparecido / Mordido	% Posantesis			
2007											
10-11 mayo	15	33.3	20	26.6	15	93.3	6.6 ²	0			
11-14 mayo	15	13.3 ¹	86.6	0	15	66.6 ²	33.3	0			
Datos agrupados	30	23.3	53.3		30	80	20		13.17	1	< 0.001*

7
8
9
10
11
12

Tabla 4.5. *Thalassia testudinum*. Porcentaje de botones masculinos desaparecidos durante las observaciones *in situ* en la laguna arrecifal de Puerto Morelos, en 2008. Desnudo: se quitaron las brácteas. ¹ botones florales al ras del sedimento, semicubiertos o poco visibles. ² botones florales comidos al parecer en antesis por el estiramiento del pedicelo. X^2 para datos agrupados, Ho: Frecuencia de botones desaparecidos es independiente del tratamiento del botón (cubierto o descubierto). *estadísticamente significativo ($\alpha 0.05$).

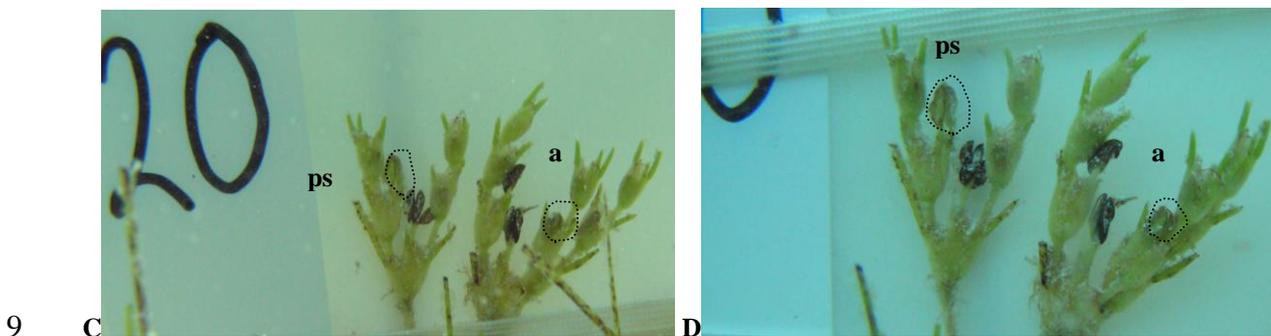
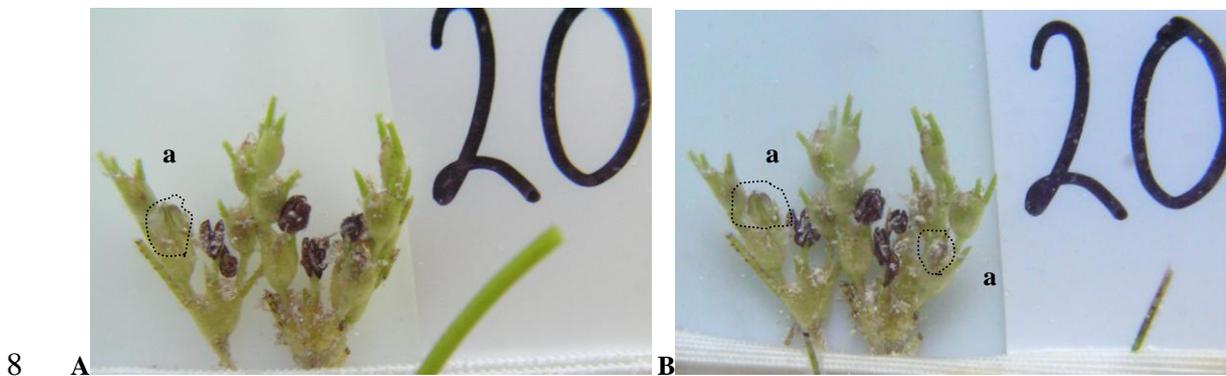
Periodo	Desnudo				Control				X^2	gl	p
	N	% SC	% Desaparecido / mordido	% Posantesis	N	% Sin cambio	% Desaparecido / Mordido	% Posantesis			
2008											
5-6 mayo	20	45	50	5	20	80	15 ²	5			
6-7 mayo	20	35 ¹	45	20	20	65	10 ²	25			
Datos agrupados	40	40	47.5		40	72.5	12.5		11.91	1	<0.001*

22

1 Antesis de las flores masculinas

2 *Syringodium filiforme*

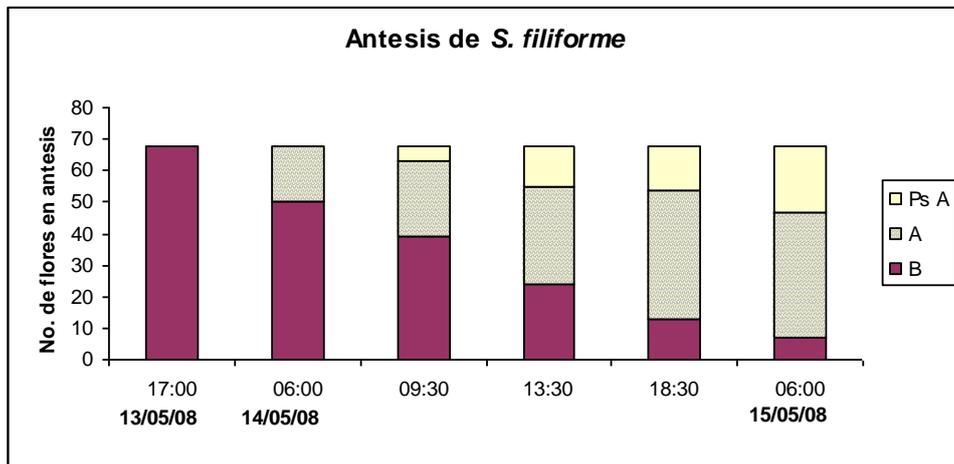
3 La antesis sucedió a cualquier hora del día (Figs. 4.6 y 4.7). El proceso de antesis
4 inicia en el momento en que el botón se eleva sobre las brácteas; el filamento floral sigue
5 estirándose durante la antesis hasta sacar por completo la flor de las brácteas (Fig. 4.6). Las
6 flores no abren al mismo tiempo y cada una tarda en liberar todo el polen unas 4 hrs (Fig. 4.7;
7 Tabla 4.6).





1
2
3
4
5

Figura 4.6. *Syringodium filiforme*. Secuencia de liberación de polen de dos botones en una cima. Se indican día y hora. **a**: antesis; **ps**: postantesis. **A**: 14/05/08, 06 hrs, **B**: 14/05/08, 09 hrs, **C**: 14/05/08, 14 hrs, **D**: 14/05/08, 18 hrs, **E**: 15/05/08, 06 hrs.

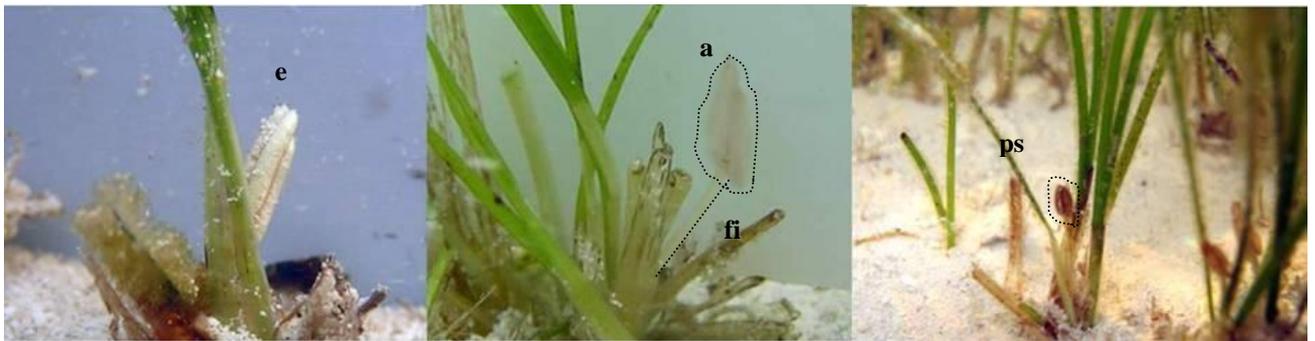


6
7
8
9

Figura 4.7. *Syringodium filiforme*. Seguimiento de antesis de 68 flores masculinas maduras los días 14 al 15 mayo de 2008 en la zona costera de la laguna arrecifal de Puerto Morelos. **B**: botón, **A**: antesis, **Psa**: postantesis.

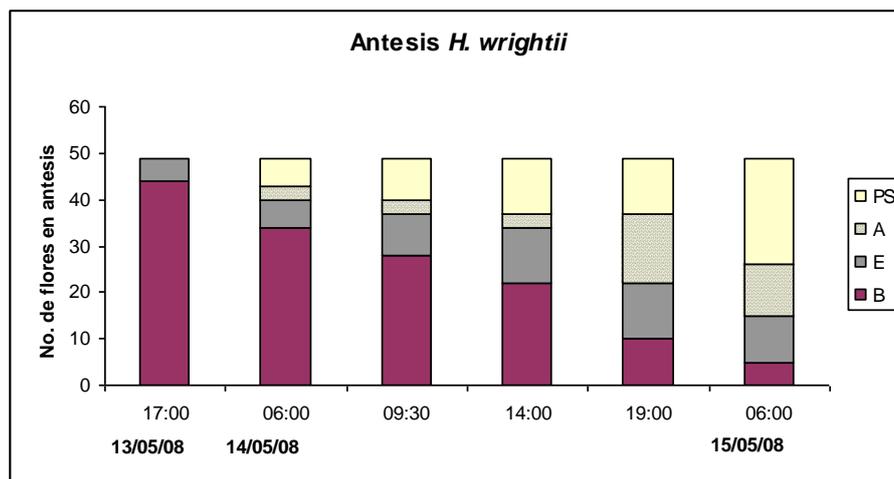
1 *Halodule wrightii*

2 El proceso de antesis de *Halodule wrightii* puede ocurrir durante el día, pero el
3 número de flores en antesis es mayor aproximadamente a las 19:00 hrs (Figs. 4.8 y 4.9).
4 Durante la antesis la flor es casi invisible (Fig. 4.5). Se observó que el estiramiento del
5 pedicelo es durante el día (Tabla 4.6).



6
7 Figura 4.5. *Halodule wrightii*. Ejemplo de secuencia de antesis. **e**: el filamento empieza a estirarse, **a**: antesis, la
8 flor ha emergido de la bráctea y se prepara para la dehiscencia de la antera, filamento estirado (**fi**), **ps**:
9 postantesis, la liberación del polen (dehiscencia) ha sucedido y la antera se ha oxidado.

10



11
12 Figura 4.6. *Halodule wrightii*. Monitoreo de antesis de 49 botones masculinos maduros del 13 al 15 de mayo de
13 2008, en la zona costera de la laguna arrecifal de Puerto Morelos. **B**: botón; **E**: filamento estirado, **A**: antesis,
14 **PS**: postantesis.

1

2 Tabla 4.6. *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii*. Horas aproximadas del proceso de antesis. SR: sin
 3 registro. * tomado de van Tussenbroek *et al.*, 2008a.

Especie	Protección	Estiramiento		Antesis	Liberación de polen
		antes de la antesis	duración		
		Hora	duración	hora	duración
<i>T. testudinum</i> *	Sedimento, brácteas	12 -14 hrs	3 - 4 hrs	18 - 20 hrs	1.5 hrs
<i>S. filiforme</i>	Brácteas	SR	es mínimo	Todo el día	4 - 6 hrs
<i>H. wrightii</i>	Sedimento, vaina	En el día, la mayoría después de las 14 hrs	3 - 12 hrs	Ocurre todo el día, con un pico al anochecer cerca de las 19 hrs	4 hrs

4

5

1 **DISCUSIÓN**

2 Las flores de los pastos marinos están cubiertas por estructuras protectoras antes de la
3 antesis y las de *Halodule wrightii* y *Thalassia testudinum* además se encuentran cubiertas por
4 sedimento hasta varias horas antes de la antesis. En el presente estudio, al descubrir los
5 botones masculinos maduros, eliminando el sedimento y las estructuras protectoras,
6 observamos que muchos botones fueron consumidos en poco tiempo (horas o días). En
7 contraste, los botones de control, mismos que se mantuvieron cubiertos por las estructuras
8 protectoras, casi no fueron tocados y los botones de control que recibieron mordidas
9 estuvieron en el proceso de antesis. En los registros *in situ* del consumo de las flores
10 masculinas de *Thalassia testudinum*, se encontró que 86.6 % de los botones florales
11 masculinos expuestos recibieron mordidas en la anteras, algunas marcas fueron en la parte
12 superior, cortando casi por la mitad el botón expuesto; otros botones fueron cortados
13 completamente, en este caso la marca de la mordida fue en el pedicelo floral. Las marcas de
14 mordeduras coinciden con lo encontrado por van Tussenbroek *et al.* (2008a), quienes
15 registraron que las mordidas fueron de *Sparisoma viride* (Scaridae) en *Thalassia testudinum*.
16 Sin embargo, debido a la lejanía de la zona de flores de esta especie en la laguna arrecifal de
17 Puerto Morelos, la herbivoría no se filmó en este estudio.

18 Los botones florales de *Syringodium filiforme* se encuentran en inflorescencias
19 cimosas y arriba del sedimento, únicamente protegidos por brácteas. Al despojar
20 manualmente los botones masculinos de las brácteas protectoras y exponerlos al medio, los
21 peces consumieron el polen o la flor completa, a diferencia de las flores femeninas que de
22 igual manera fueron expuestas en la pradera y no fueron consumidas, pero algunos frutos
23 descubiertos si recibieron mordidas. Las estructuras reproductoras de *Halodule wrightii* están

1 envueltas por la vaina foliar y se encuentran bajo el sedimento y al descubrirlas se las
2 comieron los peces.

3 Entre más invasivo es el método de filmación, durante el experimento de la interacción
4 entre peces y flores masculinas expuestas de *S. filiforme* y *H. wrightii*, la depredación es
5 menor. En los filmes cortos con cámaras digitales hubo menor depredación de flores que con
6 la cámara fija. El número de flores fue menor y, además, al hacer los cambios de batería cada
7 2 o 3 horas, los peces se alejaban por nuestra presencia. Fue notorio que a los peces les
8 llamaba la atención la cubierta de las cámaras digitales y tal vez fue una distracción para los
9 peces más curiosos. En contraste, el método con la cámara fija permitió posicionar más flores
10 expuestas y hacer menos intervenciones durante la filmación, la cual resultó ser más discreta.

11 En conclusión, si se eliminan las estructuras protectoras, la presión de la herbivoría
12 sobre las flores masculinas de las tres especies es considerable y significativa. A diferencia de
13 muchas plantas terrestres en las cuales la florivoría también puede ocurrir en los pétalos o
14 sépalos, el efecto de florivoría en los pastos marinos es sobre los órganos sexuales,
15 disminuyendo la cantidad de polen disponible (McCall e Irwin, 2006). Ésto último sólo ocurre
16 en algunos casos específicos en plantas terrestres, por ejemplo los escarabajos de la familia
17 Nitidulidae, que se alimentan de anteras y polen (Kirk *et al.*, 1995). El consumo de polen de
18 los pastos marinos por los peces puede tener un efecto negativo en la eficacia de la
19 fertilización, reduciendo el éxito reproductivo. Ashman *et al.* (2004a) sugirieron que la
20 limitación de polen puede ser de gran influencia en la evolución de las estructuras
21 reproductoras. En el Capítulo 3 se mostró que cuando menos en el caso de *T. testudinum* 50 %
22 de reducción de polen afecta negativamente la producción de frutos. Aunque no se registraron
23 indicaciones de limitación de polen para *H. wrightii* o *S. filiforme*, los peces comieron casi
24 todos los botones masculinos expuestos y en este escenario tampoco habría fecundación.

25

1 En este estudio encontramos distintas estrategias de liberación de polen en las tres
2 especies. En primer lugar, el tiempo en que el botón está expuesto hasta la liberación de polen
3 es reducido, desde varias horas hasta máximo medio día en las tres especies (Tabla 4.6), pero
4 hubo diferencias en el horario y sincronización entre las especies. El proceso de liberación de
5 polen de *S. filiforme* ocurrió durante todo el día. Las anteras de la misma flor abren en
6 secuencia y la flor tarda en liberar todo el polen aproximadamente 4 - 6 hrs. En el caso de *H.*
7 *wrightii* se registró que la liberación de polen también ocurre en el día, aunque hay más flores
8 en anthesis al atardecer, como a las 19 hrs. Además, van Tussenbroek *et al.* (2008a) registraron
9 anthesis sincronizada al atardecer de las flores masculinas de *T. testudinum*. En el atardecer, la
10 actividad alimenticia de los peces arrecifales disminuye, ya que los herbívoros se alimentan
11 de día (Hay, 1984; Helfman, 1993). Los botones masculinos de *T. testudinum* permanecen
12 bajo el sedimento hasta unas horas (3 - 4 hrs) antes de la anthesis y la liberación de polen dura
13 aproximadamente una hora y media. Las flores masculinas de *S. filiforme* están cubiertas con
14 brácteas, la liberación del polen inicia cuando el filamento apenas empieza a estirar y puede
15 durar entre 4 y 6 hrs, ocurriendo durante el día e iniciando en la madrugada. Entonces, *S.*
16 *filiforme* libera el polen en el periodo en que los herbívoros son activos. Se puede sugerir que
17 el número de flores por cima (30 – 50 flores) sea un mecanismo de defensa contra los
18 florívoros y probablemente *S. filiforme* puede “perder” cierta cantidad de polen sin que haya
19 limitación de polen (Cap. 3). En este contexto se observó que los peces lora pequeños
20 (*Sparisoma rubripinne*) no comen todo el polen que sacan de la flor, pudiendo ayudar en la
21 dispersión. La liberación de polen de *H. wrightii* también ocurre durante todo el día, aunque la
22 mayoría de las flores tienen anthesis en el atardecer y anochecer, sugiriendo cierto grado de
23 escape en el tiempo. Las flores en anthesis de día no se ven porque son casi transparentes. El
24 escape en el tiempo de *T. testudinum* y, en menor grado de *H. wrightii*, evita que las flores
25 sean consumidas y es un mecanismo de tipo resistencia (*sensu* Núñez-Farfán *et al.*, 2007). La

1 presencia de taninos en las anteras de *S. filiforme* y *H.e wrightii*, como se ha sugerido para *T.*
2 *testudinum* (van Tussenbroek *et al.*, 2009), no les confiere resistencia contra los peces
3 florívoros, pero posiblemente sí contra otros depredadores como larvas de poliquetos y
4 crustáceos pequeños.

5 **CONCLUSIONES**

6 Los peces sólo consumen las flores desprotegidas y este consumo es casi total (60 -
7 100 %). Los pastos marinos probablemente han desarrollado mecanismos de protección para
8 evitar la pérdida excesiva de polen por depredación, tales como mantener las flores ocultas
9 hasta poco antes de la liberación de polen, “programar” la hora de antesis para cuando los
10 peces son menos activos, o volverse inconspicuas durante la liberación de polen.

11

1 **REFERENCIAS GENERALES**

- 2
- 3 Adams SM 1976 Feeding ecology of eelgrass fish communities. II. Transactions of the American Fisheries
4 Society 105: 514-519.
- 5 Adler LS, Karban R and Strauss SY 2001 Direct and indirect effects of alkaloids on plant fitness via herbivory
6 and pollination. Ecology 82: 2032–2044.
- 7 Ackerman JD 1993 Pollen germination and pollen tube growth in the marine angiosperm, *Zostera marina*
8 L. Aquatic Botany 46: 189-202.
- 9 Ackerman JD 1995 Convergence of filiform pollen morphologies in seagrasses: Functional mechanisms.
10 Evolutionary Ecology Research 9: 139-153.
- 11 Ackerman JD 2000 Abiotic pollen and pollination: Ecological, functional, and evolutionary perspectives. Plant
12 Systematics and Evolution 222: 167-185.
- 13 Ackerman JD 2002 Diffusivity in a marine macrophyte bed: Implications for submarine pollination and
14 dispersal. American Journal of Botany 89: 1119-1127.
- 15 Ackerman JD 2006 Sexual reproduction of seagrasses: pollination in the marine context. In: Seagrasses:
16 Biology, Ecology and Conservation. Larkum AWD, Orth RJ, Duarte CM (eds). Springer Printed in
17 the Netherlands pp 1-23.
- 18 Allison TD 1990 Pollen production and plant density affect pollination and seed production in *Taxus*
19 *Canadensis*. Ecology, 71 (2): 516-522.
- 20 Althoff DM, Segraves KA and Pellmyr O 2005 Community context of an obligate mutualism: pollinator and
21 florivore effects on *Yucca filamentosa*. Ecology 86: 905–913.
- 22 Arista M and Talavera S 1996 Density effects on the fruit-set, seed crop viability and seedling vigour of *Abies*
23 *pinsapo*. Annals of Botany 77: 187-192.
- 24 Ashman TL, Knight TM, Steets JA, Amarasekare P, Burd M 2004a Pollen limitation of plant reproduction:
25 ecological and evolutionary causes and consequences. Ecology 85: 2408-21.
- 26 Ashman TL, Cole DH and Bradburn M 2004b Sex-differential resistance and tolerance to herbivory in a
27 gynodioecious wild strawberry. Ecology 85: 2550-2559.
- 28 Atkinson MJ and Smith SV 1984 C:N:P ratios of benthic marine plants. Limnology and Oceanography 28: 568-
29 574.
- 30 Balestri E and Cinelli F 2003 Sexual reproductive success in *Posidonia oceanica*. Aquatic Botany 75: 21-32.
- 31 Barber BJ and PJ Behrens 1985 Effects of elevated temperature on seasonal in situ leaf productivity of *Thalassia*
32 *testudinum* Banks ex König and *Syringodium filiforme* Kützting. Aquatic Botany 22: 61-69.
- 33 Barrett SCH 2002 Review. The evolution of plant sexual diversity. Nature 3: 274-284.
- 34 Bernays EA, Cooper G and Bilgener M 1989 Herbivores and plant tannins. Advances in Ecological Research 19:
35 263-302.

- 1 Borowitzka MA, Lavery PS, van Keulen M 2006 Epiphytes of seagrasses. In: Larkum WD, Orth RJ, Duarte CM
2 (eds) Seagrasses: Biology, ecology and conservation. Springer, Netherlands p 441-461.
- 3 Brearley A and Walker DI 1995 Isopod miners in the leaves of two Western Australian *Posidonia* species.
4 Aquatic Botany 52:163-181.
- 5 Breadmore KN and Kirk WDJ 1998 Factors affecting floral herbivory in a limestone grassland. Acta Oecologica
6 19: 501-506.
- 7 Breedlove DE and Ehrlich PR 1968 Plant-herbivore coevolution: lupines and lycaenids. Science 162: 671-672.
- 8 Butler LG 1989 Effects of condensed tannin on animal nutrition. In: RW Hemingway y JJ Carchesy (eds).
9 Chemistry and significance of condensed tannins. Plenum, New York pp 391-402.
- 10 Calvo-Irabién LM and Islas-Luna A 1999 Predispersal predation of an understory rainforest herb *Aphelandra*
11 *aurantiaca* (Acanthaceae) in gaps and mature forest. American Journal of Botany 86: 1108-1113.
- 12 Canela MBF and Sazima M 2003 Florivory by the crab *Armases angustipes* (Grapsidae) influences
13 hummingbird visits to *Aechmea pectinata* (Bromeliaceae). Biotropica 35: 289-294.
- 14 Cariello L and Zanetti L 1979 Distribution of chicoric acid during leaf development of *Posidonia oceanica*.
15 Botanica Marina 22: 359–360.
- 16 Clausen P, Nolet BA, Fox AD, Klaassen M 2002 Long-distance endozoochory dispersal of submerged
17 macrophyte seeds by migratory waterbirds in northern Europe, a critical review of possibilities and
18 limitations. Acta Oecologica 23:191-203.
- 19 Cox PA 1988 Hydrophilous pollination. Annual Review of Ecological Systems 19:261-280. Cox PA and
20 Tomlinson PB 1988 Pollination ecology of seagrass, *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae), in St
21 Croix. American Journal of Botany 75: 958-965.
- 22 Creed JC, Phillips RC, van Tussenbroek BI 2003 The Seagrasses of The Caribbean, In Green EP, Short FT
23 (Edits) World atlas of seagrasses. Present status and future conservation. University of California Press,
24 Berkeley, USA.
- 25 De Craene LPR and Miller AJ 2004 Floral development and anatomy of *Dirachma socotrana* (Dirachmaceae), a
26 controversial member of the Rosales. Plant Systematics and Evolution 249: 111-127.
- 27 Den Hartog C 1970 The seagrasses of the world. North Holland Publ Co, Amsterdam 275 pp.
- 28 Den Hartog C and Kuo J 2006 Chapter 1: Taxonomy and Biogeography of Seagrasses. In: Seagrasses:
29 Biology, Ecology and Conservation. Larkum AWD, Orth RJ y Duarte CM (eds) Springer. Printed in the
30 Netherlands pp 1-23.
- 31 Dobbs FC, Zimmerman RC and Drake LA 2004 Occurrence of intracellular crystals in leaves of *Thalassia*
32 *testudinum*. Aquatic Botany 80: 23-28.
- 33 Duarte CM 1990 Seagrass nutrient content. Marine Ecology Progress Series 67: 201-207.
- 34 Duarte CM, Middelburg J, Caraco N 2004 Major role of marine vegetation on the oceanic carbon cycle.
35 Biogeosciences 2: 1-8.
- 36 Duarte CM, Dennison WC, Orth RJW, Carruthers TJB 2008 The Charisma of Coastal Ecosystems: Addressing
37 the Imbalance. Journal of Estuaries and Coasts 31:233–238.
- 38 Duffy JE 2006 Biodiversity and the functioning of seagrass ecosystems. Marine Ecology Progress Series 311:
39 233-250.

- 1 Ehrlen J 1993 Ultimate functions of non-fruiting flowers in *Lathyrus vernus*. *Oikos* 68: 45-52.
- 2 Eiseman NJ 1980 An illustrated guide to the seagrasses of the Indian River region of Florida. Tech Rep No 31,
3 Harbor Branch Found, Inc, Fort Pierce, FL, in Seagrass Habitats, Smithsonian Marine Station at Fort
4 Pierce (www.sms.si.edu).
- 5 Ferguson RL, Pawlak, BT, Wood, LL, 1993 Flowering of the seagrass *Halodule wrightii* in North Carolina,
6 USA. *Aquatic Botany* 46: 91–98.
- 7 Fishman JR and Orth RJ 1996 Effects of predation on *Zostera marina* L. Seed abundance. *Journal of*
8 *Experimental Marine Biology and Ecology* 198:11-26.
- 9 Fradà-Orestano S, Calvo SF and Minutillo F 1989 Impatto delle attività antropiche sulla prateria di *Posidonia*
10 *oceanica* (L.) Delile nel Golfo di Palermo: analisi strutturale. *Nuovo Giornale Botanico Italiano* 123 (1)
11 p 78.
- 12 Green EP and Short FT 2003 World atlas of seagrasses. Present status and future conservation. University of
13 California Press, Berkeley, USA.
- 14 Greenway M 1976 The grazing of *Thalassia testudinum* in Kingston Harbour, Jamaica. *Aquatic Botany* 2:117-
15 126.
- 16 Guzmán-Trampe SM 2009 Desarrollo de fruto y semilla, banco de semillas y germinación de *Syringodium*
17 *filiforme*. Tesis Licenciatura (Biólogo), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de
18 México.
- 19 Hay ME 1984 Patterns of fish and sea urchin grazing on Caribbean coral reefs: are previous results typical?
20 *Ecology* 65: 446-454.
- 21 Helfman GS 1993 Chapter 14: Fish behaviour by day, night and twilight In: Behaviour of teleost fishes 2nd
22 edn, edited by Tony J. Pitcher. Published by Chapman and Hall 479-512.
- 23 Hellwig-Armonies M 1988 Mobile epifauna on *Zostera marina*, and infauna of its inflorescences. *Helgoland*
24 *Marine Research* 42 (2): 329-336.
25 pp.
- 26 Holbrook SJ, Reed DC, Hansen K, Blanchette CA 2000 Spatial and temporal patterns of predation on seeds of
27 the surfgrass *Phyllospadix torreyi*. *Marine Biology* 136: 739-747.
- 28 Holtsford TP 1985 Nonfruiting hermaphroditic flowers of *Calochortus leichtlinii* (Liliaceae): potential
29 reproductive functions. *American Journal of Botany* 72: 1687-1694.
- 30 Horvitz CC and Schemske DW 1984 Effects of ants and an ant-tended herbivore on seed production of a
31 neotropical herb. *Ecology* 65: 1369-1378.
- 32 Howell DC 1997 Statistical methods for psychology 4^a ed. Duxbury Press 724pp.
- 33 Humann P 1997 Guía de Peces del Caribe MandG Difusión, Elche, 597pp.
- 34 Jiménez-Durán K 2004 Desarrollo y dispersión de frutos y semillas de *Thalassia testudinum* Banks ex König
35 (Hydrocharitaceae). Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad
36 Nacional Autónoma de México.
- 37 Kirk WDJ, Ali M and Breadmore KN 1995 The effects of pollen beetles on the foraging behavior of Honey
38 bees. *Journal Apicultural Research* 34: 15-22.

- 1 Klumpp DW, Howard RK and Pollard DA 1989 Chapter 13 Trophodynamics and nutritional ecology of seagrass
2 communities. In: Larkum, AWD, McComb AJ, Shepard SA (eds) *Biology of Seagrasses. A treatise on*
3 *the biology of seagrasses with special reference to the Australian region.* Elsevier, Amsterdam p 394-
4 437.
- 5 Knight TM, Steets JA, Vamosi JC, Mazer SJ, Burd M, Campbell DR, Dudash MR, Johnson MO, Mitchell RJ,
6 Ashman TL 2005 Pollen limitation of plant reproduction. *Annual Review of Ecology, Evolution, and*
7 *Systematics* 36: 467-497.
- 8 Knudsen JT, Eriksson R, Gershenzon J and Ståhl B 2006 Diversity and distribution of floral scent. *Botanical*
9 *Review* 72: 1-120.
- 10 Koch WE, Ackerman JD, Verduin J and van Keulen M 2006 Chapter 8 Fluid Dynamics in Seagrass Ecology
11 from Molecules to Ecosystems. In: *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation.* Larkum AWD,
12 Orth RJ y Duarte CM (eds) Springer. Printed in the Netherlands pp 193-225.
- 13 Kress WJ, Stone DE and Sellers SC 1978 Ultrastructure of exine-less pollen:*Heliconia* (Heliconiaceae).
14 *American Journal of Botany* 65: 1064- 1076.
- 15 Kunin WE 1993 Sex and the single mustard: Population-density and pollinator behavior effects on seed-set.
16 *Ecology* 74:2145–60.
- 17 Kuo J, Iizumi H, Nilsen BE and Aioi K 1990 Fruit anatomy, seed germination and seedling development in the
18 Japanese seagrass *Phyllospadix* (Zosteraceae). *Aquatic Botany* 37: 229-245.
- 19 Kuo J and McComb AJ 1998 Cymodoceaceae, Posidoniaceae, Zosteraceae. In Kubitzki K (ed) *The families and*
20 *genera of vascular plants, vol IV. Flowering plants, Monocotyledons: Alismatanae and Commelinanae*
21 *(except Gramineae), pp133-140, 404-408, 496-502.* Springer Verlag, Berlin.
- 22 Kuo J and den Hartog C 2006 Chapter 3: Seagrass Morphology, Anatomy and Ultrastructure. In: *Seagrasses:*
23 *Biology, Ecology and Conservation.* Larkum AWD, Orth RJ y Duarte CM (eds) Springer. Printed in the
24 Netherlands pp 51-87.
- 25 Larkum AWD and den Hartog C 1989 Chapter 4: Evolution and Biogeography of seagrasses In: Larkum, AWD,
26 McComb AJ, Shepard SA (eds) *Biology of Seagrasses. A treatise on the biology of seagrasses with*
27 *special reference to the Australian region.* Elsevier, Amsterdam p 112-156.
- 28 Leitao CAE, Meira RMSA, Azevedo AA, de Araujo JM, Silva KLF and Collevatti RG 2005 Anatomy of the
29 floral, bract, and foliar nectaries of *Triumfetta semitriloba* (Tiliaceae). *Canadian Journal of Botany* 83:
30 279-286.
- 31 Les DH 1988 The origin and affinities of the Ceratophyllaceae. *Taxon* 37: 326-345.
- 32 Les DH 1993 Phylogenetic studies in the monocot Subclase Alismatidae: Evidence for a reappraisal of the
33 aquatic order Najadales. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2: 304-314.
- 34 Les DH, Cleland MA, Waycott M 1997 Phylogenetic studies in the Alismatidae, II: Evolution of marine
35 angiosperms (seagrasses) and hydrophily. *Systematic Botany* 22: 443-463.
- 36 López-Curto ML, Márquez-Guzmán J, Murgía-Sánchez G 2005 Técnicas para el estudio del desarrollo en
37 angiospermas. Libro de laboratorio. 2da ed. Las prensas de Ciencias. D.F, México.
- 38 Malm T 2006 Reproduction and recruitment of the seagrass *Halophila stipulacea*. *Aquatic Botany* 85: 345–
39 349.

- 1 McCall AC and Irwin RE 2006 Florivory: the intersection of pollination and herbivory. Review and Synthesis
2 Ecology Letters 9: 1351-1365.
- 3 McConchie CA and Knox RB 1989 Pollination and reproductive biology in seagrasses. In: AWD Larkum, AJ
4 McComb, SA Sheperd (Eds) Biology of Seagrasses. A treatise on the Biology of Seagrasses with the
5 special reference to the Australian Region, Elsevier, The Netherlands, 74- 111.
- 6 McGlathery K 1995 Nutrient and grazing influences on subtropical seagrass community. Marine Ecology
7 Progress Series 122: 239-252.
- 8 McGovern TM and Blankenhorn K 2007 Observation of fruit production by the seagrass *Halodule wrightii*
9 in the northeastern Gulf of Mexico. Aquatic Botany 87: 247–250.
- 10 McMahan K 2005 Recovery of subtropical seagrasses from natural disturbances. PhD Thesis, The University of
11 Queensland, Australia.
- 12 McMillan C 1981 Seed reserves and seed germination for two seagrasses, *Halodule wrightii* y *Syringodium*
13 *filiforme*, from western Atlantic. Aquatic Botany 11:279-296.
- 14 McMillan C 1984 The condensed tannins (proanthocyanidins) in seagrasses. Aquatic Botany 20: 351–357.
- 15 McMillan C and Jewett-Smith J 1988 The sex ratio and fruit production of laboratory-germinated seedlings of
16 *Halophila engelmannii* Aschers. (Hydrocharitaceae) from Redfish Bay, Texas, Aquatic Botany 32:
17 329–339.
- 18 Montalvo-Hernández O and Colinas-León MT 2002 Evaluación de ocho variedades de calabaza (*Cucurbita* spp)
19 para producción de flor y fruto como verdura. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma
20 Chapingo, México.
- 21 Moran KL and Bjorndal KA 2006 Simulated green turtle grazing affects nutrient composition of the seagrass
22 *Thalassia testudinum*. Marine Biology 150: 1083-1092.
- 23 Nakaoka M 2002 Predation on seeds of seagrasses *Zostera marina* and *Zostera caulescens* by a tanaid crustacean
24 *Zeuxo* sp. Aquatic Botany 72:99-106.
- 25 Nakaoka M, Matsumasa M, Toyohara T and Williams SL 2008 Animals on marine flowers: does the presence of
26 flowering shoots affect mobile epifaunal assemblage in an eelgrass meadow? Marine Biology 153(4):
27 589-598.
- 28 Nietschmann B and Nietschmann J 1981 Good dugong, bad dugong and bad turtle, good turtle. Natural
29 History 90: 54-63.
- 30 Niklas KJ 1992 Plants Biomechanics. University of Chicago Press, Chicago.
- 31 Núñez-Farfán J, Fornoni J and Valverde PL 2007 The evolution of resistance and Tolerance to herbivores.
32 Annual Review Ecology, Evolution, and Systematics 38: 541-566.
- 33 Ogden JC 1980 Faunal relationships in Caribbean seagrass beds. In: Phillips RC, McRoy CP (eds). Handbook
34 of seagrass biology. An ecosystem perspective. Garland STPM Press, New York p 173-198.
- 35 Ogden JC, Robinson L, Whitlock K, Daganhardt H, Cebula R 1983 Diel foraging patterns in juvenile green
36 turtles (*Chelonia mydas* L.) in St. Croix United States Virgin Islands. Journal Experimental of
37 Marine Ecology 66:199-205.
- 38 Okubo A and Levin SA 1989 A theoretical framework for the analysis of data on the wind dispersal of seeds
39 and pollen. Ecology, 70, 329.

- 1 Okubo A, Ackerman JD and Swaney DP 2002 Passive diffusion in ecosystems. In: Okubo A and Levin S (eds)
2 Diffusion and ecological problems: new perspectives, pp 31-106. Springer Verlag, New York.
- 3 Olesen JM 1992 Flower mining by moth larvae versus pollination by beetles and bees in the cauliforous
4 *Sapranthus palanga* (Annonaceae) in Costa Rica. *Flora (Jena)* 187: 9-15.
- 5 Ollerstam O and Larsson S 2003 Salicylic acid mediates resistance in the willow *Salix viminalis* against the gall
6 midge *Dasineura marginemtorquens*. *Journal Chemical Ecology* 29: 163-174.
- 7 Orpurt PR and Boral LL 1964 The flowers, fruits, and seeds of *Thalassia testudinum* König. *Bull Marine*
8 *Science Gulf and Caribbean* 14: 296-302.
- 9 Orth RJ, Heck KL Jr, Tunbridge DJ 2002 Predation on seeds of the *Posidonia australis* in Western Australia.
10 *Marine Ecology Progress Series* 244: 81-88.
- 11 Orth RJ, Harwell MC, Inglis GJ 2006a Chapter 5: Ecology of seagrass seeds and dispersal strategies. In: Larkum
12 AWD, Orth RJ, Duarte CM (eds), *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation*. Springer, The
13 Netherlands pp 111-133.
- 14 Orth RJ, Kendrick GA, Marion SA 2006b *Posidonia australis* seed predation in seagrass habitats of two peoples,
15 Western Australia: patterns and predators. *Marine Ecology Progress Series* 313: 105-114.
- 16 Orth RJ, Carruthers TJB, Dennison WC, Duarte CM, Fourqurean JW, Heck Jr KL, Hughes AR, Kendrick GA,
17 Kenworthy WJ, Olyarnik S, Short FT, Waycott M and Williams SL 2006c A global crisis for seagrass
18 ecosystems. *Bioscience* 56: 987-996.
- 19 Orth RJ, Kendrick GA, Marion SA 2007 *Posidonia australis* seed predation in seagrass habitats of Rottneist
20 Island, Western Australia. *Aquatic Botany* 86: 83-85.
- 21 Pettitt JM 1980 Reproduction in Seagrasses: Nature of the Pollen and Receptive Surface of the Stigma in the
22 Hydrocharitaceae. *Annals of Botany* 45: 257-271.
- 23 Pettitt JM 1984 Aspects of flowering and pollination in marine angiosperms. *Oceanography and Marine Biology:*
24 *An Annual Review* 22: 315-342.
- 25 Phillips RC 1960 Observations on the ecology and distribution of the Florida seagrasses, Prof Pap Ser, No 2 Fla
26 St Bd Conserv Mar Lab, St. Petersburg, 72p, in *Seagrasses. Syringodium filiforme* (Manatee Grass).
27 Smithsonian Marine Station at Fort Pierce (www.sms.si.edu).
- 28 Piazzì L, Balestri E, Cinelli F. 2000 Grazing of inflorescences of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile.
29 *Botanica Marina* 43: 581-584.
- 30 Preen A 1995 Impacts of dugong foraging on seagrass habitats: observational and experimental evidence for
31 cultivation grazing. *Marine Ecology Progress Series* 124:201-213.
- 32 Provanca J and Hall CR 1991 Observations of associations between seagrass beds and manatees in east central
33 Florida. *Florida Scientist* 54: 87-98.
- 34 Prychid CJ and Rudall PJ 1999 Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and
35 systematics. *Annals of Botany* 84: 725-739.
- 36 Randall JE 1965 Grazing effect on seagrasses by herbivorous reef fishes in the West Indies. *Ecology* 46: 255-
37 260.
- 38 Reush TBH 2003 Floral neighbourhoods in the sea: how floral density, opportunity for outcrossing and
39 population fragmentation affect seed set in *Zostera marina*. *Journal of Ecology* 91:610-615.

- 1 Robbins CT, Hanley TA, Hagerman AE, Hjeljord O, Baker DL, Schwartz CC and Mautz WW 1987 Role of
2 tannins in defending plants against ruminants: Reduction in protein availability. *Ecology* 68: 98-107.
- 3 Rose CD, Sharp WC, Kenworthy WJ, Hunt JH, Lyons WG, Prager EJ, Valentine JF, Hall MO, Whitfield P and
4 Fourqurean JW 1999 Sea urchin overgrazing of a large seagrass bed in outer Florida Bay. *Marine*
5 *Ecology Progress Series* 190:211-222.
- 6 Roulston TH and Cane JH 2000 Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and*
7 *Evolution* 222:187-209.
- 8 Ruíz-Rentería F, Van Tussenbroek BI, Jordán-Dahlgren E 1998 Puerto Morelos, Quintana Roo, Mexico. In:
9 CARICOMP - Caribbean Coral Reef, Seagrass and Mangrove Sites (ed. Kjerfve B), pp. 57-66.
10 UNESCO, Paris.
- 11 Sanabria-Alcaraz SNM 2009 Rango de dispersión del polen de *Thalassia testudinum* en la laguna arrecifal de
12 Puerto 287 Morelos. Tesis Licenciatura (Biólogo), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional
13 Autónoma de México.
- 14 Shelton OA 2008 Skewed sex ratios, pollen limitation, and reproductive failure in the dioecious seagrass
15 *Phyllospadix*. *Ecology* 89 (11): 3020-3029.
- 16 Short FT and Coles RG (eds) 2001 *Global Seagrass Research Methods*. Elsevier Science BV, Amsterdam.
- 17 Short FT, Polidoro B, Livingstone SR, Carpenter KE, Bandeira S, Bujang JS, Calumpong HP, Carruthers TJB,
18 Coles RG, Dennison WC, Erftemeijer PLA, Fortes MD, Freeman AS, Jagtap TG, Kamal AHM,
19 Kendrick GA, Kenworthy WJ, La Nafie YA, Nasution IM, Orth RJ, Prathep A, Sanciangco JC, van
20 Tussenbroek BI, Vergara SG, Waycott M, Zieman JC 2011 Extinction risk assessment of the world's
21 seagrass species. *Biological Conservation* doi:10.1016/j.biocon.2011.04.010 in press.
- 22 Smith CC, Hamrick JL and Kramer CL 1988 The effects of stand density on the frequency of filled seeds and
23 fecundity in *Logepole pine* (*Pinus contorta* Dougl.). *Canadian Journal Forest Research*, 18: 453-460.
- 24 Smith NM 2000 Canopy structure, water flow and pollination in two *Posidonia* species. *Biologia marina*
25 *mediterranea* (Genova) 7: 135-138.
- 26 Smith NM and Walker DI 2002 Canopy structure and pollination biology of the seagrasses *Posidonia*
27 *australis* and *P. sinuosa* (Posidoniaceae). *Aquatic Botany* 74: 57-70.
- 28 Shuvalev V, Silverman P and Raskin I 1997 Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen
29 resistance. *Nature* 385: 718-721.
- 30 Tanaka N, Uehara K and Murata J 2004 Correlation between pollen morphology and pollination mechanisms in
31 the Hydrocharitaceae. *Journal of Plant Research* 117 (4): 265- 276.
- 32 Tomlinson PB 1982 *Anatomy of the Monocotyledon: VII Helobiae (Alismatidae)*. Oxford University Press,
33 New York.
- 34 Troyo-Ballina A 2009 Contenido de taninos en el fruto de *Thalassia testudinum*. Tesis Licenciatura (Biólogo),
35 Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- 36 Valentine JF, Heck KL, Busby J and Webb D 1997 Experimental evidence that herbivory increases shoot
37 density and productivity in a subtropical turtlegrass (*Thalassia testudinum*) meadow. *Oecologia* 112:
38 193-200.

- 1 Valentine JF and Heck KL Jr 1999 Review. Seagrass herbivory: evidence for the continued grazing of marine
2 grasses. Marine Ecology Progress Series 176: 291-302.
- 3 Valentine JF, Heck KL Jr, Kirsch KD and Webb D 2000 Role of sea urchin *Lytechinus variegatus* grazin in
4 regulating subtropical turtlegrass *Thalassia testudinum* meadows in the Florida keys (USA). Marine
5 Ecology Progress Series 200: 213-228.
- 6 Valentine JF and Duffy JE 2006 The central role of grazing in seagrass ecology. In: Larkum AWD, Orth RJ,
7 Duarte CM (eds) Seagrasses: Biology, ecology and conservation. Springer, Netherlands p 463-501.
- 8 Van Tussenbroek BI 1994 Aspects of the reproductive ecology *Thalassia testudinum* in Puerto Morelos reef
9 lagoon, México. Botánica Marina 37:413-419.
- 10 Van Tussenbroek BI and Brearley A 1998 Isopod burrowing in leaves of turtle grass, *Thalassia testudinum*, in a
11 Mexican Caribbean reef lagoon. Marine and Freshwater Research 49(6): 525-531.
- 12 Van Tussenbroek BI, Vonk JA, Stapel J, Erftemeijer PLA, Middelburg JJ, Zieman JC 2006 The biology of
13 *Thalassia*. Paradigms and recent advances in research. In: Larkum AWD, Orth RJ, Duarte CM (eds)
14 Seagrasses: Biology, ecology and conservation. Springer, Netherlands p 409-439.
- 15 Van Tussenbroek BI, Wong JGR, Márquez-Guzmán J 2008a Synchronized anthesis and predation on pollen in
16 the marine angiosperm *Thalassia testudinum* (Hydrocharitaceae). Marine Ecology Progress Series 354:
17 119-124.
- 18 Van Tussenbroek BI, Barba-Santos MG, van Dijk JK, Sanabria-Alcaraz SNM, and Téllez- Calderón ML 2008b
19 Selective elimination of rooted plants from a tropical seagrass bed in a back-reef lagoon: A hypothesis
20 tested by hurricane Wilma (2005). Journal of Coastal Research 24 (1): 278-281.
- 21 Van Tussenbroek BI, Márquez-Guzmán J, Wong JGR 2009 Chapter 2: Phenology of marine angiosperms
22 (seagrasses): Reproductive synchrony in the sea In: Functional Diversity of Plant Reproduction, (Eds)
23 Gamboa-deBuen A, Orozco-Segovia A and Cruz-Garcia F. pag 17-46.
- 24 Verduin JJ 1996 Seagrass Biology: Proceedings of an International Workshop, J Kuo, R. Phillips, DI Walker, H
25 Kirkman (Eds). The University of Western Australia, 123.
- 26 Verduin JJ, Backhaus JO and Walker DI 2000 Estimates of pollen dispersal and capture within submerged
27 *Amphibolis antarctica* meadows. Biologia Marina Mediterranea 7: 152-155.
- 28 Vergés A, Pérez M, Alcoverro T and Romero J 2007 Compensation and resistance to herbivory in seagrasses:
29 induced responses to simulated consumption by fish. Oecologia 155(4): 751-760.
- 30 Vergés A, Becerro MA, Alcoverro T and Romero J 2006 Variation in multiple traits of vegetative and
31 reproductive seagrass tissues influences plant-herbivore interactions. Oecologia 151: 675-686.
- 32 Vermaat JE, Rollon RN, Lacap CDA, Billot C, Alberto F, Nacorda HME, Wiegman F, Terrados J 2004 Meadow
33 fragmentation and reproductive output of the SE Asian seagrass *Enhalus acoroides*. Journal of Sea
34 Research 52: 321– 328.
- 35 Vié JC, Hilton-Taylor C and Stuart SN (Eds) 2008 WILDLIFE IN A CHANGING WORLD. An analysis of
36 the 2008 IUCN Red List of Threatened Species.
- 37 Washitani I, Okayama Y, Sato K, Takahashi H and Ohgushi T 1996 Spatial variation in female fertility related to
38 interactions with flower consumers and pathogens in a forest metapopulation of *Primula sieboldii*.
39 Researches on Population Ecology 38: 249-256.

- 1 Wassenberg TJ 1990 Seasonal feeding on *Zostera capricorni* seeds by juvenile *Panaeus esculentus* (Crustacea:
2 Decapoda) in Moreton Bay Queensland. Australian Journal of Marine and Freshwater Research 41:
3 301-310.
- 4 Watson RA, Coles RG, Lee-Long WJ 1993 Simulation estimates of annual yield and landed value for
5 commercial penaeid prawns from a tropical seagrass habitat. Australian Journal of Marine and
6 Freshwater Research 44: 211-219.
- 7 Waycott M, Duarte CM, Carruthers TJB, Orth RJ, Dennison, WC, Olyarnike S, Calladin A, Fourqurean JW,
8 Heck KL, Hughes Jr AR, Kendrick GA, Kenworthy WJ, Short FT, Williams SL 2009 Accelerating
9 loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. Proceedings of the National Academy
10 of Sciences. 106 (30): 12377–12381.
- 11 Weiss MR 1996 Pollen-feeding fly alters floral phenotypic gender in *Centropogon solanifolius*
12 (Campanulaceae). Biotropica 28:770-773.
- 13 Wigand C and Churchill AC 1988 Laboratory studies on eelgrass seed and seedling predation. Estuaries 11:180-
14 183.
- 15 Williams SL 1988 *Thalassia testudinum* productivity and grazing by green turtles in a highly disturbed seagrass
16 bed. Marine Biology 98:447-455.
- 17 Williams SL 1995 Surfgrass (*Phyllospadix torreyi*) reproduction: Reproduction, phenology, resource
18 allocation, and male rarity. Ecology 76: 1953-1970.
- 19 Wolfe LM 2002 Why alien invaders succeed: support for the escape-from-enemy hypothesis. The American
20 Naturalist 160: 705-711.
- 21 Zangerl AR and Rutledge CE 1996 The probability of attack and patterns of constitutive and induced defense: a
22 test of optimal defense theory. The American Naturalist 147:599-608.
- 23 Zapata O and McMillan C 1979 Phenolic acids in seagrasses. Aquatic Botany 7: 307–317.
- 24 Zimmerman RC, Steller DL, Kohrs DG, Alberte RS 2001 Top-down impact through a bottom-up mechanism. In
25 situ effects of limpet grazing on growth, light requirements and survival of the eelgrass *Zostera marina*.
26 Marine Ecology Progress Series. 218: 127–140.
- 27 <http://www.fishbase.org/search.php>
28 <http://www.inegi.gob.mx>
29
30