



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

“Desarrollo floral de *Ruppia mexicana*”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIOL. KARLA MAYORGA LIZAOLA

TUTORA PRINCIPAL:

DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN
FACULTAD DE CIENCIAS

MEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO
FACULTAD DE CIENCIAS

DRA. BRIGITTA I. VAN TUSSENBROEK
INSTITUTO CIENCIAS EL MAR Y LIMNOLOGÍA



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EVOLUTIVA

“Desarrollo floral de *Ruppia mexicana*”

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIOL. KARLA MAYORGA LIZAOLA

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:
DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN

COMITÉ TUTOR:
DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO
DRA. BRIGITTA I. VAN TUSSENBROEK

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE
POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
OFICIO CGEP/CPCB/ FC/0774/2023

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 13 de marzo de 2023 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en el campo de conocimiento de Biología Evolutiva de la estudiante MAYORGA LIZAOLA KARLA con número de cuenta 101001814 con la tesis titulada "Desarrollo floral de *Ruppia mexicana*", realizada bajo la dirección de la DRA. GUADALUPE JUDITH MÁRQUEZ GUZMÁN, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. LUIS FELIPE JIMÉNEZ GARCÍA
Vocal: DR. JUAN SERVANDO NÚÑEZ FARFÁN
Vocal: DR. SERGIO RAFAEL SILVESTRE CEBALLOS FERRIZ
Vocal: DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ACEVEDO
Secretario: DRA. MARTHA JUANA MARTÍNEZ GORDILLO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 27 de septiembre de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno
AGNS/AAC/GEMF/EARR/mnm



Agradecimientos institucionales

Agradezco al Posgrado de Ciencias Biológicas por su profesionalismo y los servicios académicos brindados, los cuales fueron fundamentales para la finalización de este trabajo de investigación.

Extiendo mi gratitud al proyecto Ciencia de Frontera, CONAHCYT/ FORDECYT (61501), por el apoyo económico proporcionado para llevar a cabo esta investigación.

Por último, agradezco a mi comité tutor, compuesto por la Dra. Judith Márquez Guzmán, Dra. Brigitta van Tussenbroek y la Dra. Martha Martínez Gordillo, por sus invaluable contribuciones a través de tutorías y la revisión del texto.

Agradecimientos personales

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a la Dra. Judith Márquez Guzmán por su paciencia, cariño y por compartir su profunda sabiduría, lo cual resultó fundamental para el desarrollo de este trabajo. Asimismo agradezco a Ricardo Wong por enseñarme las técnicas de cortes y tinciones histológicas y discutir conmigo hipótesis y resultados, así como la colecta en la laguna Nichupté, que junto a la Dra. Brigitta van Tussenbroek, lo cual fue esencial para la realización de esta investigación; a Mónica Karina Pérez Pacheco por el apoyo en los materiales y las técnicas para el trabajo de campo y laboratorio; al M. en C. Alejandro Mena por las fotomicrografías y la calidez con la que siempre me recibió; a la Dra. Silvia Espinoza Matías por el procesamiento de muestras y toma de fotografías al MEB; a la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés por facilitar nuestra estancia y muestreo en SISAL y la laguna Celestun y al M. C. Johnny Omar Valdez Iuit por la logística, las técnicas y los conocimientos para hacer el muestro de *Ruppia* spp. en la laguna de Celestun. A Rebeca, Sergio y Martín por la compañía, refugio y ayuda para el procesamiento de muestras biológicas. Y quiero expresar mi profundo agradecimiento a Pepe, a mi familia y amigos, quienes han sido los pilares fundamentales que me han sostenido a lo largo de mi vida. En particular, deseo destacar el amor y apoyo incondicional de mi mamá y mi papá, cuyo respaldo ha sido invaluable.

Índice

Resumen	1
Abstract.....	2
1. Introducción	3- 4
2. Objetivos	5
2.1. Objetivos generales	5
2.2. Objetivos particulares	5
3. Antecedentes	6
3.1. Los pastos marinos y las especies eurihalinas.....	6
3.2. Nomenclatura de la familia Ruppiaceae	7- 8
3.3. Caracteres taxonómicos generales y florales de la familia Ruppiaceae	9- 11
3.4. Características florales en Posidoniaceae y Cymodoceaceae	11- 12
3. 5. Descripción de <i>Ruppia mexicana</i>	13- 14
3.6. Estudios de desarrollo floral en <i>Ruppia</i> sp.	14- 19
4. Marco teórico	22- 23
5. Método	24
5.1. Sitio de colecta	24
5.2. Tratamiento de material biológico	24- 25
6. Resultados	26
6.1. Exploraciones de campo para identificar poblaciones de <i>Ruppia</i>	26
6.2. ¿Flor o inflorescencia?	27
6.3. Descripción del pseudanto	28- 30
6.4. Desarrollo de la antera	31- 36
6.5. Desarrollo del gineceo	37- 39
7. Discusión	40- 47

8. Conclusiones	48
9. Referencias bibliográficas.....	49- 53

Resumen

Desarrollo floral de *Ruppia mexicana*

Esta investigación tiene como objetivo conocer la ontogenia floral de *Ruppia mexicana*, especie de reciente descripción. Se siguió el desarrollo floral desde la formación de los meristemas florales hasta la flor madura, determinado el orden en que se desarrollan los órganos florales. La microdissección de las estructuras, su inclusión en paraplast y en plásticos, la obtención de laminillas, así como su observación a microscopio de luz y electrónico de barrido fue la metodología utilizada en esta tesis. La descripción de la inflorescencia que se tenía para *R. mexicana* indicaba que estaba formada por dos flores, una basal y otra apical con posiciones diferentes.

Algunos de los resultados que se obtuvieron fueron la localización de brácteas asociadas a las flores masculinas, la descripción de la antera desde la etapa meristemática hasta la expulsión de los granos de polen, así como las características del gineceo apocárpico y el tipo de óvulo presente. Los resultados también indican que *Ruppia mexicana* está formada por dos pseudantos constituidos a su vez por dos flores masculinas compuestas por anteras sésiles, dos tecas por antera y cuatro microsporangios por antera y subtendidos por una bráctea y una flor femenina formada por un gineceo apocárpico con dos a cuatro carpelos sésiles, con estigma en forma de disco, un óvulo por carpelo de tipo ortótropo, la organogénesis es acropétala y maduran las anteras antes que el gineceo. Estos resultados apoyan una nueva hipótesis para la estructura floral comparando nuestros resultados con otros de la literatura sobre el tema. Se concluye poniendo énfasis en la necesidad de contar con más información sobre la ontogenia del desarrollo de las especies de la familia Ruppiales, que apoye o rechace la interpretación que se presenta en esta investigación sobre la estructura floral de *R. mexicana*.

Abstract

Floral Development of *Ruppia mexicana*

The objective of this research is to understand the floral ontogeny of *Ruppia mexicana*, a recently described species. The floral development was followed from the formation of floral meristems to the mature flower, determining the order in which floral organs develop. The methodology employed in this thesis included microdissection of structures, embedding them in paraplast and plastics, obtaining thin sections, and observing them under light and scanning electron microscopes.

The description of the inflorescence for *R. mexicana* indicated that it was composed of two flowers, one basal and one apical, with distinct positions. Some of the results obtained included the identification of bracts associated with male flowers, the description of the anther from the meristematic stage to the expulsion of pollen grains, as well as the characteristics of the apocarpous gynoecium and the type of ovule present. The results also indicate that *Ruppia mexicana* is composed of two pseudanthia, each consisting of two male flowers composed of sessile anthers, two thecae per anther, and four microsporangia per anther, subtended by a bract, and one female flower composed of an apocarpous gynoecium with two to four sessile carpels, a disc-shaped stigma, one orthotropous ovule per carpel, with acropetal organogenesis, and anthesis of anthers occurring before the gynoecium. These results support a new hypothesis regarding the floral structure when compared with other literature on the subject. The study concludes by emphasizing the need for more information on the ontogeny of the development of species in the Ruppiaceae family to either support or reject the interpretation presented in this research on the floral structure of *R. mexicana*.

1. Introducción

La familia Ruppiaceae con un único género *Ruppia* (Alismatales) posee catorce especies taxonómicamente aceptadas (Guiry y Guiry, 2019), con distribución cosmopolita (Figura 1). Hasta la fecha todavía hay incógnitas respecto a la taxonomía de este género. Anteriormente, se consideraba que *Ruppia maritima* presenta distribución global; sin embargo, estudios recientes revelaron que posiblemente varios de los linajes de *Ruppia* tengan distribución restringida a continentes, partes de continentes e incluso a costas a lo largo de océanos (Triest *et al.*, 2017; den Hartog y Triest, 2020). den Hartog *et al.*, (2016) determinaron una nueva especie de Ruppiaceae nombrándola *Ruppia mexicana*, que incluye la descripción externa de la flor.

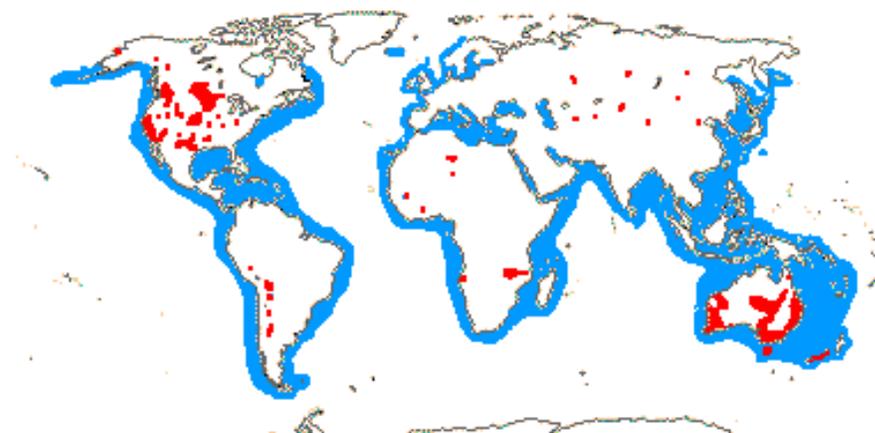


Figura 1. En azul la distribución de Ruppiaceae (Stevens, 2001).

Estudios ontogenéticos en la familia Ruppiaceae aportan información sobre las estructuras reproductoras y su desarrollo (Posluszny y Sattler, 1974; Kaul, 1993; Sokoloff *et al.*, 2006 y Lock *et al.*, 2011). Sin embargo, ninguno de estos estudios expone el proceso completo del desarrollo de las mismas. Gamero (1968) identifica para *Ruppia spiralis*¹ algunos datos sobre el desarrollo de la flor, como la descripción de uno de los estadios de la pared de la antera. Lacroix y Kempo (1997) describen algunos estadios de desarrollo

¹En el texto de Gamero (1968) se nombra a *Ruppia cirrhosa*, actualmente se considera un sinónimo de *Ruppia spiralis* (den Hartog y Triest, 2020).

tempranos en relación a la formación de las estructuras del carpelo como el ovario y el estigma de *R. maritima* y, finalmente, Posluszny y Sattler (1974) presentan parte de la ontogenia de la flor, en donde describen etapas tempranas del desarrollo del androceo y el gineceo y de las etapas maduras de las estructuras sexuales, omitiendo las etapas de formación de meristemas y las intermedias de *R. maritima*.

Los estudios de *Ruppia* son escasos y por lo tanto, la presente investigación tiene como propósito conocer la ontogenia de la flor de *R. mexicana*, desde la aparición del meristemo floral hasta la flor madura. Como resultado, se plantea la hipótesis de que el “conjunto floral” de *Ruppia mexicana* consiste en dos flores masculinas constituidas por dos anteras cada una y una flor femenina con dos a cuatro carpelos. Este “conjunto floral”, identificado como flor en muchos trabajos, es en realidad un conjunto de flores, es decir una inflorescencia de inflorescencias que forman un pseudanto. Cabe destacar que *R. mexicana* es la primer especie de *Ruppia* en donde se describen los órganos reproductores como un conjunto de flores.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

- Conocer la ontogenia floral de *Ruppia mexicana*.

2. 2. Objetivos particulares

- Conocer la estructura del meristemo floral de *Ruppia mexicana*.
- Conocer orden y posición en el que surgen las flores.
- Describir el desarrollo del androceo y del gineceo.
- Describir la micromorfología de las flores maduras.

3. Antecedentes

3. 1. Los pastos marinos y las especies eurihalinas

Los pastos marinos y las eurihalinas son clasificaciones artificiales que forman gremios, es decir, las familias que tienen especies reconocidas en alguno de estos grupos artificiales no necesariamente son filogenéticamente cercanas (den Hartog y Kuo, 2006). Las especies acuáticas representan menos del dos por ciento de las angiospermas, y dieciocho géneros acuáticos se polinizan en el agua (hidrófilas), y frecuentemente tienen flores unisexuales. De los géneros hidrófilos, trece han colonizado hábitats marinos (Les y Cleland, 1997) y están distribuidos en pocas familias, todos dentro del clado de las monocotiledóneas y pertenecientes al orden Alismatales (den Hartog y Kuo, 2006).

Las especies de *Ruppia* se consideran pastos marinos si se toma en cuenta que: 1.- el ciclo de vida de los representantes de la familia está adaptado al medio salino; 2.- tienen un crecimiento completo estando totalmente sumergidas; 3.- presentan un sistema de anclaje seguro y 4.- presentan polinización hidrófila (Arber, 1920). den Hartog (1981) propuso una característica más restrictiva para que los pastos marinos fueran un grupo exclusivo, debido a que muchas plantas acuáticas cumplían con lo establecido por Arber (1920) y no eran precisamente pastos marinos. Este autor, acuña, entonces, el término “eurihalinas” para referirse al grupo de plantas acuáticas que crecen en cuerpos acuáticos continentales con composición química distinta al agua de mar, que toleran concentraciones de sal inestables y algunas pueden vivir en estuarios y son tolerantes a altas temperaturas. Los representantes de Ruppiales, se consideran especies eurihalinas pues crecen en la zona litoral de cuerpos de agua epicontinentales, en un amplio rango de altitud, latitud y salinidad, por ejemplo, a alturas de 4000 msnm (den Hartog y Kuo, 2006), en estuarios con salinidad mesohalina a hiperhalina, cuerpos de agua dulce, pantanos o lagunas hipersalinas y humedales lacustres (Kantrud, 1991).

El trabajo filogenético molecular de Les y Cleland (1997), explora la evolución de la hidrofilia, unisexualidad y hábitat marino a partir de secuencias del cloroplasto (*rbcL*), concluye que la hidrofilia es polifilética y no solo se encuentra en monocotiledóneas, sino también en Ceratophyllaceae (orden Ceratophyllales) y Callitrichaceae (eudicotiledónea) (Les y Cleland, 1997). Aunque las especies eurihalinas pueden vivir en el mar, tienden a tener capacidades competitivas menores que los pastos marinos en estos ambientes. Las especies de *Ruppia* tienen un rango de distribución predominante en aguas continentales pero su rango de tolerancia a la salinidad es amplio. Pueden establecerse en camas monoespecíficas o permanecer junto a otras macrofitas subacuáticas. La dominancia puede alternarse por cambios de salinidad, temperatura u otros factores climáticos cambiantes (Kantrud, 1991). Hay tres familias identificadas como eurihalinas: Ruppiceae, Zannichelliaceae y Potamogetonaceae, las tres monocotiledóneas (den Hartog y Kuo, 2006).

3.2. Nomenclatura de la familia Ruppiceae

La familia Ruppiceae está conformada por un grupo de monocotiledóneas acuáticas de distribución cosmopolita (Stevens, 2001) (Figura 1). Linneo describió en 1753 a *Ruppia maritima* como miembro de la familia Potamogetonaceae. Hutchinson (1959) la colocó en la familia Ruppiceae con un sólo género: *Ruppia*. Este género está bien delimitado, pero ha habido confusión para identificar a las especies que contiene; pues han habido errores en el trabajo taxonómico (den Hartog y Triest, 2020). Por ejemplo, algunas descripciones se han basado en especímenes incompletos, con inflorescencias o frutos inmaduros y no se ha puesto suficiente atención a los órganos vegetativos como los caracteres de la hoja, tampoco existen trabajos que incluyan tanto caracteres florales como vegetativos. Dichas carencias en las descripciones se han repetido por décadas (den Hartog y Triest, 2020).

Por otro lado, las claves de identificación locales se han elaborado sin analizar los especímenes tipo y no incluyen ilustraciones de los mismos, por tal motivo, muchos ejemplares han sido identificados posiblemente de manera incorrecta como *R. maritima*. Una de las consecuencias de las incertidumbres taxonómicas es que no existen mapas de la distribución de las especies de *Ruppia* (den Hartog y Triest, 2020).

Según la revisión de Guiry y Guiry (2019), hay catorce especies aceptadas, cuatro de ellas se identificaron para Europa, entre las cuales se encuentra *Ruppia maritima* (Linnaeus) que es la especie tipo. La idea más difundida es que *R. maritima* y *R. spiralis*, otra de las especies descritas en Europa, son especies cosmopolitas, sin embargo, según den Hartog y Triest (2020) las especies de *Ruppia* que habitan en América son distintas a las de Europa e incluso es probable que algunas de los linajes de *Ruppia* tengan distribución restringida a continentes, partes de continentes e incluso a costas particulares, por lo tanto, la información respecto a la distribución cosmopolita de las especies de *Ruppia* posiblemente se ha perpetuado sin fundamento.

A lo largo del tiempo se han ido describiendo diferentes especies de *Ruppia* alrededor del mundo: en Europa, además de *Ruppia maritima* (Linnaeus) y *Ruppia spiralis* (Linnaeus ex Dumortier), se describieron a *Ruppia maritima-miocenica* (Szafer ex Palamarev y Petkova) y *Ruppia drepanensis* (Tineo); en Australia: *Ruppia megacarpa* (R. Mason) y *Ruppia tuberosa* (J. S. Davis), que den Hartog, (2006) la considera hasta hoy como el único pasto marino del género; en China: *Ruppia sinensis*, *Ruppia brevipedunculata* (Yu y Hartog, 2014) y *Ruppia yushensis* (Zhao)); en América: *Ruppia mexicana* (den Hartog et al., 2016) y *Ruppia filifolia* (Philippi Skottsberg); en Sudáfrica: *Ruppia bicarpa* (Ito et al., 2014) y en Oceanía: *Ruppia polycarpa* (Mason) (Guiry y Guiry, 2019).

3.3. Caracteres taxonómicos generales y florales de la familia Ruppiaceae

Ruppiaceae es una familia de angiospermas acuáticas eurihalinas (den Hartog y Kuo, 2006) que crecen en agua salina o dulce (Stevens, 2001). Son plantas de hábito herbáceo, monoicas, anuales o perennes (den Hartog y Kuo, 2006) con crecimiento simpodial; raíces no ramificadas (Stevens, 2001); rizomas rastreros monopodiales, a menudo con ramificaciones laterales. En especies anuales estos rizomas están reducidos (Stevens, 2001). Hojas lineales con una sola nervadura central muy marcada, márgenes lisos, pero cerca de la punta irregularmente aserrados y con abundantes taninos. A ambos lados de la nervadura hay amplias lagunas de aire (den Hartog y Kuo, 2006).

En la familia Ruppiaceae se reporta una inflorescencia en espiga, (una inflorescencia indeterminada) portadora de flores sésiles (Valencia *et al.*, 2012). Cabe mencionar, que existe una polémica en cuanto a si las inflorescencias de *Ruppia* spp. portan dos flores opuestas o si se trata de una inflorescencia de inflorescencias y, por lo tanto, de aquí en adelante se denominarán como “conjuntos florales”.

El pedúnculo surge de las bases de dos hojas apicales, es erecto, engrosado luego de la floración o delgado, su longitud varía desde unos pocos centímetros hasta más de un metro; a menudo se alarga durante la floración y luego de la fecundación se enrosca o contrae en espiral, liberando los frutos maduros que caen al sustrato (den Hartog y Kuo, 2006) o son consumidos y dispersados por animales (Santamaría, 2002).

Los “conjuntos florales” se sitúan en lados opuestos del eje muy juntas, sin perianto, aunque Gamarro (1968) los describe como flores en *R. spiralis*¹, con perianto muy pequeño, formado por dos estambres opuestos y cuatro carpelos. Los estambres cuentan con una antera sésil, bilocular, con tejido conectivo a cada lado de la teca, que se desprende después de la

emisión del polen (den Hartog y Kuo, 2006), el cual es largo y arqueado, con forma de boomerang con exina reticular y tres aperturas (Stevens, 2001).

Los carpelos son libres, sésiles o subsésiles, ovario ovoide, sin estilo, con un pequeño estigma más o menos peltado, con forma de disco. Después de la fertilización, la infrutescencia puede tener una apariencia de umbela. Óvulo solitario, pendular, campilótropo (den Hartog y Kuo, 2006). En *R. spiralis*¹ se describe también como péndulo, pero átropo (Gamero, 1968). Fruto de tipo aquenio. Exocarpo esponjoso, que se descompone rápido, endocarpio duro que en la parte apical tiene un foramen pequeño, cuya forma tiene valor diagnóstico a nivel de especie (den Hartog y Kuo, 2006).

Sokoloff *et al.*, (2006) han descrito los “conjuntos florales” de *Ruppia maritima* como dos pseudantos (inflorescencia que se asemeja a una flor) agrupados sobre la espiga. Los dos pseudantos agrupados están en medio de dos hojas subopuestas debajo de la espiga y se continúa con la parte vegetativa del brote dentro de la inflorescencia. Según Sokoloff *et al.*, (2006), el pseudanto que describe se debe a la pérdida de identidad de las flores que producen nuevos patrones de superposición en las zonas de expresión de los genes reguladores y concluye que se requiere una comparación amplia de estudios del desarrollo y estructuras de los “conjuntos florales” dentro de las Alismatales para tener un enfoque filogenético mejor soportado y poder explicar las consecuencias morfológicas de la pérdida de identidad de las flores.

La diversidad de poblaciones eurihalinas de *Ruppia* spp. de diferentes continentes ha permitido identificar la complejidad en cuanto a hibridización, introgresión, poliploidía y divergencia haplotípica a partir del estudio de secuencias específicas del cloroplasto. Aunque estos análisis permitieron comprender mejor las relaciones filogenéticas entre las especies de

Ruppia, el estudio morfológico de ellas permitió la descripción de cuatro especies nuevas (Triest *et al.*, 2017); la más reciente, *Ruppia mexicana* (den Hartog *et al.*, 2016).

3.4. Características florales en Posidoniaceae y Cymodoceaceae

Les y Cleland (1997) llevaron a cabo la filogenia molecular con secuencias del cloroplasto (*rbcL*) y concluyeron que la familia Posidoniaceae es la más cercana a Cymodoceaceae y Ruppiaceae.

Posidoniaceae es una familia de plantas marinas que pueden distribuirse en estuarios; son hierbas robustas perennes. La familia cuenta con un solo género *Posidonia* y nueve especies, una en el Mediterráneo: *P. oceanica* y las otras ocho en las costas al sur de Australia: *P. angustifolia*, *P. australis*, *P. coriacea*, *P. denhartogii*, *P. kirkmanii*, *P. ostensfeldii*, *P. robertsoniae*, *P. sinuosa* (Kuo y McComb, 1998).

Sus estructuras reproductivas consisten en inflorescencias racemosas, espigas con un pedúnculo largo y aplanado. Sus flores son actinomorfas, hermafroditas y sin perianto; presentan tres estambres con anteras sésiles, tetraesporangiadas y polen filiforme. Las flores de *Posidonia* spp. son morfológicamente inusuales, y no hay otras monocotiledóneas con sus características, especialmente porque sus estambres presentan una estructura parecida a un tépalo (Remizowa, *et al.* 2012). Presenta un carpelo con estigma sésil vistoso, un solo óvulo; fruto con pericarpo esponjoso dehiscente, testa membranosa e hipocótilo agrandado con almidón almacenado. La polinización es hidrófila (Kuo y McComb, 1998).

Cymodoceaceae es una familia de pastos marinos y un grupo parafilético respecto a Ruppiaceae. Las flores son unisexuales sin perianto, solitarias o en pares dispuestas en una inflorescencia cimosa. Las flores masculinas son sésiles o pedunculadas y consisten en dos anteras connadas por el dorso; polen filiforme. Las flores femeninas presentan uno, dos o tres

estilos filiformes (den Hartog y Kuo, 2006). Esta familia tiene cinco géneros y dieciséis especies: *Amphibolis* (dos especies), *Cymodocea* (cuatro especies), *Halodule* (seis especies), *Syringodium* (dos especies) y *Thalassodendron* (tres especies; den Hartog, 1970 y Duarte *et al.* 2012). A partir de caracteres morfológicos, se puede agrupar a los cinco géneros en dos, el primero compuesto por *Amphibolis* y *Thalassodendron* presentan estambres filamentosos, mientras que el segundo conjunto está compuesto por *Cymodocea*, *Syringodium* y *Halodule* cuentan con estambres sésiles (Petersen *et al.* 2014).

Todos los géneros presentan flores reducidas, dioicas y generalmente solitarias, con excepción de *Syringodium* que desarrolla inflorescencias cimosas. Las flores de diferentes familias incluidas Cymodoceaceae, Ruppiaceae y Posidoniaceae adaptadas a la polinización subacuática, son mucho más reducidas y su interpretación resulta conflictiva a tal punto que diferenciar las flores de las inflorescencias es problemático (den Hartog, 1970; Kuo y McComb, 1989, 1998).

Las inflorescencias de *Syringodium filiforme* se desarrollan primero como racimos y luego como cimas. Cada flor está enclaustrada en un par de brácteas, dentro de las cuales se forman nuevos brotes. Las flores masculinas tienen cuatro pares de microsporangios. Las flores femeninas son desnudas y consisten en dos carpelos separados. Inicialmente el carpelo es peltado pero luego madura como una estructura cerrada con un óvulo pendular y dos estilos (Tomlinson y Posluszny, 1978).

3. 5. Descripción de *Ruppia mexicana*

Ruppia mexicana se caracteriza por ser más robusta que *R. maritima*, su pedúnculo enrollado tiene una longitud de entre 10 y 60 cm, generalmente 15 cm (Figura 2) mientras que *R. maritima* tiene un pedúnculo no enrollado y con longitud menor a 5 cm, aunque, según Gamero (1968), la longitud del pedúnculo en *Ruppia* spp. está relacionado con la distancia del sustrato a la superficie. El fruto de *R. mexicana* es ovoide ligeramente oblicuo, en lugar de asimétrico, número cromosómico de $2n= 40$ en vez de $2n= 20$ y a diferencia de *R. spiralis*¹, las hojas presentan puntas agudas (den Hartog *et al.*, 2016).

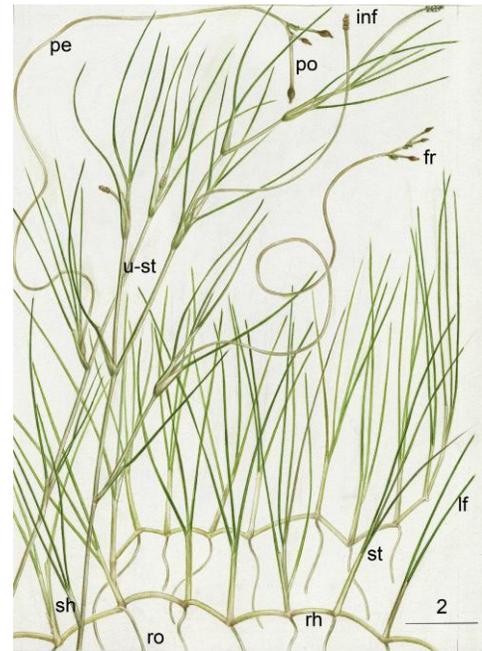


Figura 2. En el dibujo se muestra el pedúnculo en (pe); raíz (ro); rizoma (rh); vaina (st); hoja (lf); brote (sh); brote alto (u.sh); fruto (fr); inflorescencia (inf); podogonio (po); pedúnculo (pe). Tomado de den Hartog *et al.* (2016).

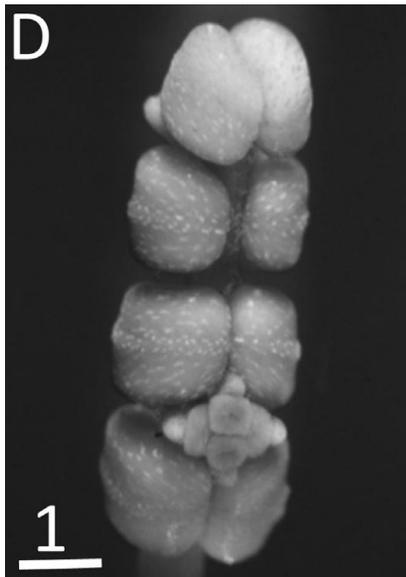


Figura 3. Estructuras reproductivas de *Ruppia mexicana*. Tomado de den Hartog, *et al.* (2016).

Otras características importantes de *R. mexicana* en cuanto a sus estructuras reproductivas, descritas por den Hartog *et al.*, 2016, se muestran en la Figura 3 y son que tiene una inflorescencia terminal de tipo espiga, los “conjuntos florales” (que los autores identificaron como flores) son opuestas en el ápice del pedúnculo muy cerca unas de otras, bisexuales, protándricas, sin perianto. El androceo consiste en cuatro tecas (que los autores identificaron como estambres) opuestas y el gineceo cuenta con al menos cuatro carpelos; generalmente las

flores de cada inflorescencia tienen el mismo número de carpelos, pero no todos los primordios femeninos se desarrollan. Los estambres tienen una antera sécil bilocular con tejido conectivo que une ambas tecas, las tecas tienen dehiscencia extrosa y se acorta luego de la emisión del polen. El polen tiene forma de boomerang con exina reticulada. El gineceo es apocárpico, cada carpelo mide al menos 0.5mm, es sécil, y tiene forma de brotes oblongos y el estigma peltado. Durante la fructificación el ápice del pedúnculo muestra un crecimiento delgado continuo y separa los dos “conjuntos florales”.

Cada vez que el receptáculo de las flores se extiende ligeramente, parece que del fruto surgen brácteas. La infrutescencia consiste en ocho frutos, usualmente menos, y no tiene apariencia de umbela como se ha reportado en *Ruppia maritima*, y el arreglo del fruto es irregular. Conforme va creciendo el carpelo fertilizado para convertirse en un fruto maduro, la forma del ovario cambia. El fruto maduro tiene una longitud de 10- 25 mm de largo, y con la parte del ovario más o menos globosa, la parte del ovario mide 3 mm de largo, algo asimétrica (den Hartog *et al.*, 2016).

Se tienen registros de *R. mexicana* en bahías y lagunas salobres de la península de Yucatán, México, también se ha registrado su colecta en el archivo del Herbario Nacional de México (MEXU) en el extremo sur del lago de Texcoco, CDMX; Laguna Pom, Campeche; lago del cráter de Alchichica, Puebla y el lago del cráter de Tecuillapa, Puebla (den Hartog *et al.*, 2016).

3.6. Estudios de desarrollo floral de *Ruppia* sp.

La investigación floral más antigua y completa de Ruppiales es la de Gamero (1968) quien documenta las flores maduras de *Ruppia spiralis*¹ colectadas en la laguna Luro, Provincia de la Pampa, Argentina, con ilustraciones y fotografías de la vascularización de la inflorescencia,

de la anatomía de la antera, fruto y semilla y datos de polinización. Así como la descripción del proceso de germinación de la semilla.

Gammero (1968) discute, a grandes rasgos, las interpretaciones de la estructura de los órganos florales de *Ruppia spiralis*¹. De este trabajo nos interesa en gran medida el órgano que señala en su figura 4E, del cual el autor propone varias interpretaciones, entre las cuales considera que se trata de un apéndice conectival, conectivo sepaloideo o pseudoperianto. La resolución de estas hipótesis puede ser clave para discernir si el “conjunto floral” es una inflorescencia reducida o una flor verdadera.

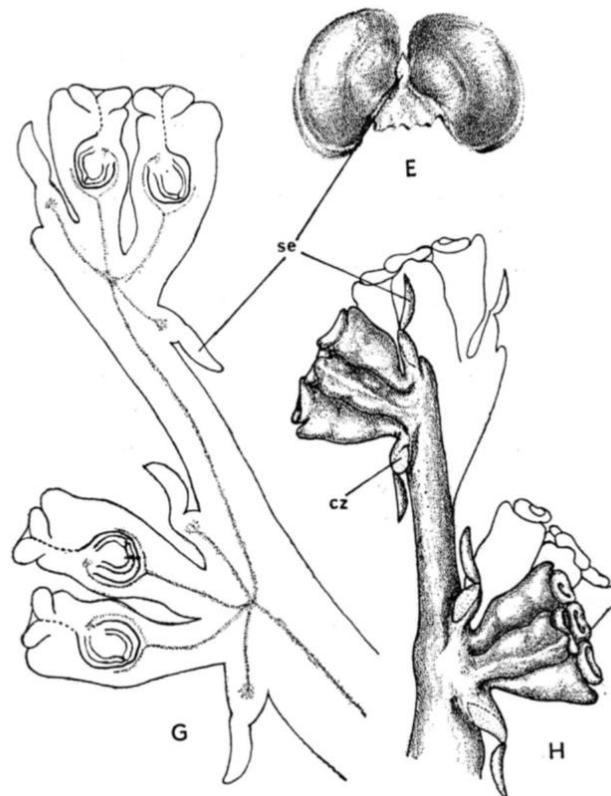


Figura 4. Inflorescencia de *Ruppia spiralis*¹, tomado de Gammero, (1968). Antera sésil consistiendo en dos tecas con tejido conectivo (E) removida, que deja ver el posible perianto reducido en (G) y (H).

Para los autores que a continuación se citan también fue importante diferenciar brácteas de perianto y de estructuras emergentes del tejido conectivo. Kunth (1841) (citado por Gamero, 1968), consideró que los “conjuntos florales” que observó de *Ruppia* spp. consisten en cuatro flores masculinas y cuatro femeninas centrales, mientras que Uhl, 1947 (citado por Singh, 1965, citado por Gamero, 1968) consideró que el “conjunto floral” consiste de dos flores masculinas y una femenina central de cuatro o más carpelos. Gamero (1968) define los “conjuntos florales” de *Ruppia spiralis*¹ como flores verdaderas y considera que poseen sépalos o tépalos con diferentes grados de soldadura a los estambres, señalando que se hallan reducidas a pequeñas lengüetas y sin vascularización, ocultas por las tecas de los estambres, y visibles después de la antesis y la caída de las anteras vacías (Figura 4). Por su posición homólogos a los sépalos de *Potamogeton* spp. y su extrema reducción y nula vascularización, las considera como una de las adaptaciones acuáticas.

Posluszny y Sattler (1974) describieron el desarrollo floral de *Ruppia maritima* con la finalidad de evaluar homologías y relaciones respecto a dos especies: *Potamogeton densus* y *P. richardsonii*. Comparaban el tejido conectivo que sobresale en *R. maritima* con un apéndice estéril de las flores maduras de *Potamogeton* spp. sin tomar en cuenta los estadios anteriores de desarrollo. Observaron que tanto el desarrollo de la antera como del gineceo entre ambos géneros es muy similar; sin embargo el tejido conectivo de *R. maritima* es la mitad de largo que los apéndices estériles de las especies de *Potamogeton*, tomando en cuenta que el tamaño del primordio de las anteras son iguales y no hay en *R. maritima* un órgano homólogo con los filomas estériles de *Potamogeton* spp. Además, el número de anteras entre los géneros es distinto, pues para *Potamogeton* el “conjunto floral” se describe con cuatro anteras y para *R. maritima* con dos anteras. La conclusión del trabajo de Posluszny y Sattler (1974) respecto al desarrollo comparado de los apéndices vegetativos, flores maduras y semillas para determinar

homologías entre *Ruppia maritima* y *Potamogeton* spp. no son determinantes. Las similitudes consisten en el desarrollo del estambre y el carpelo pero difieren en el filoma estéril y el número de estambres.

Kaul (1993) describe el meristemo floral y la variación organogenética de *Ruppia occidentalis*² y *Ruppia maritima* colectadas en un lago alcalino de Nebraska, U. S. A. En este estudio se concluye que el androceo siempre se compone por dos estambres pero el gineceo puede tener cuatro a nueve carpelos con un promedio de seis. También se describe la polinización epihidrófila.

Unos años más tarde, se publicó el desarrollo del androceo y gineceo de *Ruppia maritima* colectada en el agua salina de Southport, isla del Príncipe Eduardo, Canadá. El trabajo tiene como objetivo estudiar las etapas iniciales de desarrollo del androceo y el gineceo y relacionar las estructuras con sus roles en la polinización. También incluye la morfología de los granos de polen, con un enfoque funcional para la polinización y describe a la estructura reproductora como una inflorescencia de dos flores opuestas (Lacroix y Kempo, 1997).

Socoloff *et al.* (2006) hacen una revisión de las familias de los órdenes Alismatales y Piperales que presentan estructuras terminales que parecen flores (TFLS por sus siglas en inglés; en este trabajo denominados “conjuntos florales”) en inflorescencias indeterminadas como espádices, racimos o espigas. Se propone que para el caso de Ruppiaceae las TFLS pueden interpretarse como pseudantos que corresponderían al carácter plesiomórfico, es decir ancestral, del orden Alismatales.

El último trabajo con datos de la ontogenia de *Ruppia* spp. publicado hasta el momento es el de Lock *et al.* (2011) que documenta distintos grados de fusión congénita de las

²*Ruppia occidentalis* no es un nombre taxonómicamente aceptado según Guiry y Guiry (2019), sino que se trata de un sinónimo de *Ruppia spiralis*

estructuras florales de diferentes poblaciones de *R. maritima* en el Mar Blanco, Rusia. Los “conjuntos florales” se describen sin hojas que las sostengan y se identificaron algunos aglomerados que se muestran en su etapa madura. La secuencia del desarrollo embriológico sería de mucha utilidad para identificar el proceso que causa estas estructuras aglomeradas. Probablemente, se trate de mutaciones que corresponden a genes regulatorios ya antes estudiados en *Arabidopsis* y *Antirrhinum* en donde las estructuras florales en el ápice de la inflorescencia difieren considerablemente en la morfología de las características de las flores laterales, lo cual se ha interpretado como una fusión completa de las flores laterales más altas (Lock *et al.*, 2011).

Lock *et al.* (2011) concluyen que: 1).- la frecuencia de estructuras que parecen flores (TFL) en poblaciones naturales de *Ruppia maritima*, varían considerablemente entre poblaciones; 2).- el suministro vascular es similar en las TFL’ s libres y en las TFL’ s fusionadas; 3).- la variación en el número de órganos florales entre poblaciones sugiere que entre más grande es el primordio floral, mayor fusión habrá en la estructura terminal y 4).- las inflorescencias con TFL’ s fusionadas frecuentemente contienen estambres transversales con polaridad invertida (Lock *et al.*, 2011).

El estudio del desarrollo de las flores de *Ruppia mexicana*, que se presenta en este texto, permitió obtener evidencias estructurales para elaborar una hipótesis y contrastarla con otras planteadas para especies de este género desde mediados del siglo XIX hasta el siglo XXI y que a continuación se citan (Tabla 1).

Tabla 1. Descripciones de los “conjuntos florales” de diferentes especies del género *Ruppia*

Estudio	Especie	Descripción “conjunto floral”
Kunth, 1841, citado por Gamero, 1968.	<i>Ruppia</i> spp.	Inflorescencia de cuatro flores masculinas y cuatro femeninas centrales.
Uhl, 1947, citado por Gamero, 1968.	<i>Ruppia</i> spp.	Inflorescencia de dos flores masculinas y una flor femenina central formada por el gineceo apocárpico de cuatro o más carpelos.
Gamero, 1968.	<i>Ruppia spiralis</i>	Flor con un par de anteras y carpelos que varían en número
Posluszny y Sattler, 1974	<i>Ruppia maritima</i>	Flor con dos estambres sésiles, cada estambre con dos tecas biesporangiadas están separados por tejido conectivo y el gineceo tiene de tres a cinco carpelos peltados.
Lacroix y Kemp, 1997.	<i>Ruppia maritima</i>	Flor con dos estambres y cuatro carpelos
Kaul, 1993	<i>Ruppia occidentalis</i> y <i>Ruppia maritima</i>	Flor con dos estambres carpelos que difieren en número. En <i>R. maritima</i> generalmente son cuatro carpelos y en <i>R. occidentalis</i> en promedio son seis pero pueden ser nueve.
Sokoloff, et al., 2006 y Lock et al., 2011.	<i>R. maritima</i>	Estructuras que parecen flores (TFL's)
den Hartog et al., 2016.	<i>R. mexicana</i>	Flor con cuatro anteras y dos a cuatro carpelos

4. Marco teórico

Las inflorescencias son agrupaciones o cúmulos florales. Representan un sistema de ramificación modificado que porta flores o termina en flores. Las inflorescencias pueden ser determinadas, también llamadas cerradas o definidas cuando los botones florales apicales son los primeros en abrir y presentan crecimiento simpodial (eje principal deja de crecer y se activa el crecimiento lateral); por ejemplo, las cimbras como monocasios y dicasios. Las inflorescencias indeterminadas, o también conocidas como abiertas o indefinidas, tiene un meristemo apical que funciona indefinidamente, y que termina en una flor; tiene crecimiento monopodial (eje principal crece más que las ramas laterales) algunos ejemplos son racimo, espiga, espádice, corimbo, amento, umbela y capítulo. En particular, las espigas tienen una morfología similar a la del racimo, es decir, las flores comparten un eje, pero en las espigas, las flores son sésiles (Figura 5). Cuando las inflorescencias presentan un eje se denominan simples y cuando tiene ejes laterales se le llama compuestas (Márquez- Guzmán *et al.*, 2013).

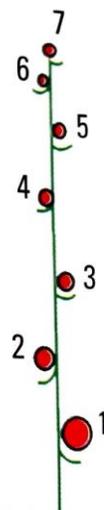


Figura 5. Espiga. Tomado de (Márquez- Guzmán *et al.* 2013).

La ramificación de una inflorescencia puede ser monopodial o simpodial. En la mayoría de los casos, cada flor está acompañada de una bráctea. En algunos casos, se observan pseudantos, cuando la inflorescencia parece una sola flor (Márquez- Guzmán *et al.* 2013).

Las inflorescencias son estructuras complejas que al momento de la antesis, permiten optimizar la transferencia de polen y el éxito reproductivo, proveen nutrientes para el desarrollo de flores y frutos y permiten la mejor dispersión de semillas. Además, son caracteres importantes para el estudio sistemático y filogenético de las angiospermas (Kirchoff y Claben, 2013). Claßen- Bockhoff y Bull- Hereñu (2013) proponen un modelo conceptual de la estructura de la inflorescencia tomando en cuenta el tipo de meristemo y los procesos de

desarrollo. Estos autores buscan resolver la confusión de la diversidad fenotípica de las inflorescencias, y sugieren que a partir del análisis del origen ontogenético, la diversidad de los tipos de inflorescencia se reduce, y con ello se mejora el entendimiento de éstas. Su propuesta también es útil para comprender homologías, evolución y genética de las inflorescencias. Siguiendo sus parámetros, los autores señalan que las inflorescencias se pueden clasificar en tres tipos: 1.- Sistema de brotes florales (FSS), 2.- Inflorescencia en sentido estricto y 3.- Unidades florales (FU). A cada uno de estos tipos de inflorescencia le corresponde un tipo de meristemo, descritos como: 1.- Meristemo de unidades florales (FUM), 2.- Meristemo de inflorescencia (IM) y 3.- Meristemo de flor (FM), respectivamente.

Para diferenciar los tipos de meristemo, Claßen- Bockhoff y Bull- Hereñu (2013) señalan que los vegetativos (VM) presentan crecimiento indeterminado, en un proceso denominado segregación, en el que hay producción continua de nuevos tejidos meristemáticos en tallos. Mientras se sigan produciendo nudos e entrenudos no se forman unidades reproductivas terminales. Este tipo de meristemo cuenta con tres zonas: periférica, central y medular.

Los meristemas reproductivos se diferencian del siguiente modo: el IM da lugar a flores e inflorescencias laterales sostenidas por brácteas (de menor tamaño que las hojas nomófilas) que no protegen, es decir no envuelven al IM, por el rápido desarrollo del mismo. El FM presenta el meristemo desnudo subdividido para formar los órganos florales sin la intervención de células del tallo en un proceso llamado fraccionamiento. Los entrenudos se inhiben y en un corte histológico se observa un núcleo en el manto. Por último, los FUM se acerca más a un meristemo floral que a un meristemo de inflorescencia, aunque dan lugar a estructuras que llevan varias o muchas flores. Inician con una etapa desnuda y tienen núcleo en el manto. Presentan fraccionamientos que se convierten en primordios florales y no en órganos florales

como ocurre en el FM. La producción de brácteas se suprime en gran medida, aunque la flor del primordio puede tenerlas. Los FUM pueden ser solitarios o formar parte de la inflorescencia. Otras características del meristemo vegetativo y de los reproductivos se describen en Tabla 2.

Tabla 2. Características distintivas entre el meristemo vegetativo (VM), meristemo de inflorescencia (IM), meristemo de unidades florales (FUM) y meristemo floral (FM). Tomado de Claßen- Bockhoff y Bull- Hereñu (2013)

Meristemo	Xilema (acropétalo)	Meristemo apical	Forma	Primordio lateral	Desarrollo del meristemo axilar	Secuencia del desarrollo
VM	Infinito	Indeterminado	Pequeño de domo	Hojas	Tardío	Acropétalo
IM	Limitado	De indeterminado a determinado	Engrandecida, domo o plano	Brácteas	Inmediato	Acropétalo
FUM	Ausente	Determinado	Engrandecida, domo, plano o desnuda	Brácteas pequeñas	Inmediato	Centrípeto o centrífugo (cimas)
FM	Ausente	Determinado	Engrandecida, domo, plano o desnuda	Órganos florales	Ausente	Centrípeto o centrífugo

Otra de las aportaciones del trabajo de Claßen- Bockhoff y Bull- Hereñu (2013), son los esquemas de desarrollo para deducir los sistemas de brotes florales (FSS) a partir de la posición y del tipo de meristemo. Es importante mencionar que las inflorescencias tipo FSS están compuestas por unidades reproductivas que surgen de diferentes meristemas reproductivos. En la FSS indeterminadas la floración ocurre en dirección acropétalo o simultánea.

La determinación del meristemo floral de *R. mexicana* es una herramienta que abona a la descripción de su “conjunto floral” que hasta el momento es ambigua. La importancia de comprender a profundidad sus estructuras reproductivas sirve para inferir la evolución de las

estructuras florales de las Alismatales que presentan gran variabilidad floral (Remizowa *et al.*, 2012).

5. Método

5.1. Sitio de colecta

El sistema lagunar Nichupté está ubicado en la región de la península de Yucatán, México, en el estado de Quintana Roo. El clima que presenta es cálido subhúmedo, temperatura media anual mayor a 22°C, con mayores lluvias en verano. La estación relativamente seca es de enero a mayo, la más húmeda de mayo a octubre. La dirección predominante de los vientos es de sureste a noreste (Vázquez *et al.*, 2009). La laguna Nichupté tiene una extensión de 4, 691 ha. Los principales aportes de agua al sistema lagunar son inducidos por la marea del mar Caribe. No hay corrientes superficiales de agua dulce permanente, sino un flujo de agua subterránea por infiltración de agua pluvial a través de roca caliza. La vegetación es manglar, pastizal inducido, selva mediana subperennifolia y tular (Vázquez *et al.*, 2009).

La flora marina característica es *Thalassia testudinum* (pasto marino), *Syringodium filiforme* (pasto marino). Las principales actividades socioeconómicas en el sistema lagunar Nichupté son el turismo, la pesca y actividades portuarias (Vázquez *et al.*, 2009).

5. 2. Tratamiento de material biológico

Este trabajo se realizó con los ejemplares de botones florales de diferentes tamaños y flores en anthesis de *Ruppia mexicana* colectados en el sistema Lagunar Nichupté, Quintana Roo, México. Mismo sitio en donde se colectaron los ejemplares que fueron determinados por den Hartog *et al.* (2016) como *R. mexicana*. Para obtener los resultados de esta investigación se llevaron a cabo los siguientes pasos:

- Colecta de botones de diferentes tamaños y flores en anthesis de *Ruppia mexicana* en el sistema lagunar de Nichupté, Quintana Roo, México. Principalmente etapas muy tempranas del desarrollo reproductivo.

- Fijación inmediata a su colecta de los botones y flores en FAA (Formol, ácido acético y alcohol).
- Separación de botones por tamaño para establecer diferentes etapas de desarrollo.
- Deshidratación e inclusión de botones y flores en plástico LR White y tinción con azul de toluidina (López Curto *et al.*, 2005).
- Deshidratación e inclusión de botones y flores en parafina y tinción con safranina y verde rápido (López Curto *et al.*, 2005).
- Cortes en micrótopo de 5 micras para las muestras incluidas en parafina y ultramicrotopo de 0.5 micras para muestras incluidas en LR White.
- Análisis micromorfológico de las flores (MEB).

6. Resultados

6.1. Exploraciones de campo para identificar poblaciones de *Ruppia*

Las plantas de la colecta que se utilizaron para obtener los resultados de esta investigación se colectaron en el sistema lagunar Nichupté entre los años 2015 y 2016. Las exploraciones que el laboratorio de Desarrollo en Plantas ha llevado a cabo han permitido identificar nuevos sitios con poblaciones de *Ruppia* sp. Durante la primera mitad del año 2022, se encontraron dos grandes poblaciones. La primera en la laguna de Celestún en Yucatán con coordenadas 20°51'28.04'' N, 90°22'36.56''W; profundidad de 66.5 cm; salinidad de 23.76 y temperatura de 27.45°C (figura 6) y la segunda en la laguna Carbonera, cerca de Sisal, Yucatán con coordenadas 21.19104° N, 89.95277° O y profundidad de medio metro (Figura 7).



Figura 6. Población de *Ruppia* sp. localizada en la laguna Celestún, Yucatán.



Figura 7. Población de *Ruppia sp.* en la laguna Carbonera, Sisal, Yucatán.

6.2. ¿Flor o inflorescencia?

Un “conjunto floral” en *R. mexicana* corresponde a un pseudanto, ya que cada estambre tiene asociada una bráctea reducida que se localiza en la base de la flor masculina madura. Esta característica es fundamental ya que cataloga a las estructuras masculinas como flores masculinas solitarias (Figura 9 A- D). Según esta interpretación, cada pseudanto está compuesto por dos flores masculinas y una flor femenina con dos a cuatro carpelos.

La estructura reproductora de *Ruppia mexicana* consiste en una pequeña inflorescencia de inflorescencias tipo espiga que crece sobre ramas con crecimiento rizomatoso. El tamaño de los pedúnculos varía según la profundidad del cuerpo acuático donde crecen, pues la estructura reproductora se mantiene al ras por debajo del agua. Las inflorescencias de inflorescencias dan la apariencia de pseudantos imperfectos, sin sépalos ni tépalos; el pseudanto superior está en el ápice y pseudanto inferior queda por debajo del pseudanto superior. Dichos pseudantos son opuestos entre sí como se muestra en la fotografía de la Figura 8.

6.3. Descripción de pseudanto

Cada pseudanto está compuesto por dos flores masculinas y una flor femenina con dos a cuatro carpelos. Las flores masculinas están representadas por dos anteras sésiles cada una. Cada estambre tiene una bráctea reducida en su base (Figura 9 A- D) y cada antera está compuesta por dos tecas y cada teca presenta un microsporangio. Entre las anteras se observa tejido conectivo que sobresale menos, conforme las anteras van creciendo, hasta la dehiscencia de la antera como se muestra en la Figura 14 (A- F).

Cada pseudanto tiene una flor femenina desnuda. El gineceo es apocárpico con dos a cuatro carpelos. Los estigmas son peltados y sésiles. Los ovarios son uniloculares, con un óvulo por carpelo, bitégmico, sésil, con el micrópilo formado por ambos tegumentos, pendulado y de tipo ortótropo. La placentación es parietal (Figura 10 A- E).



Figura 8. Pseudantos de *Ruppia mexicana*. Definida en este trabajo como una inflorescencia de inflorescencias espigada. En el cuadro rojo se observa el pseudanto superior en la parte apical de la rama y el cuadro lila se señala al pseudanto inferior. Las tecas uno y dos forman una de las dos anteras de la flor masculina. Flor masculina (FM); flor femenina (FF), anteras (A), tecas (T1 y T2). En la parte opuesta de la inflorescencia inferior se encuentra el gineceo del pseudanto inferior.

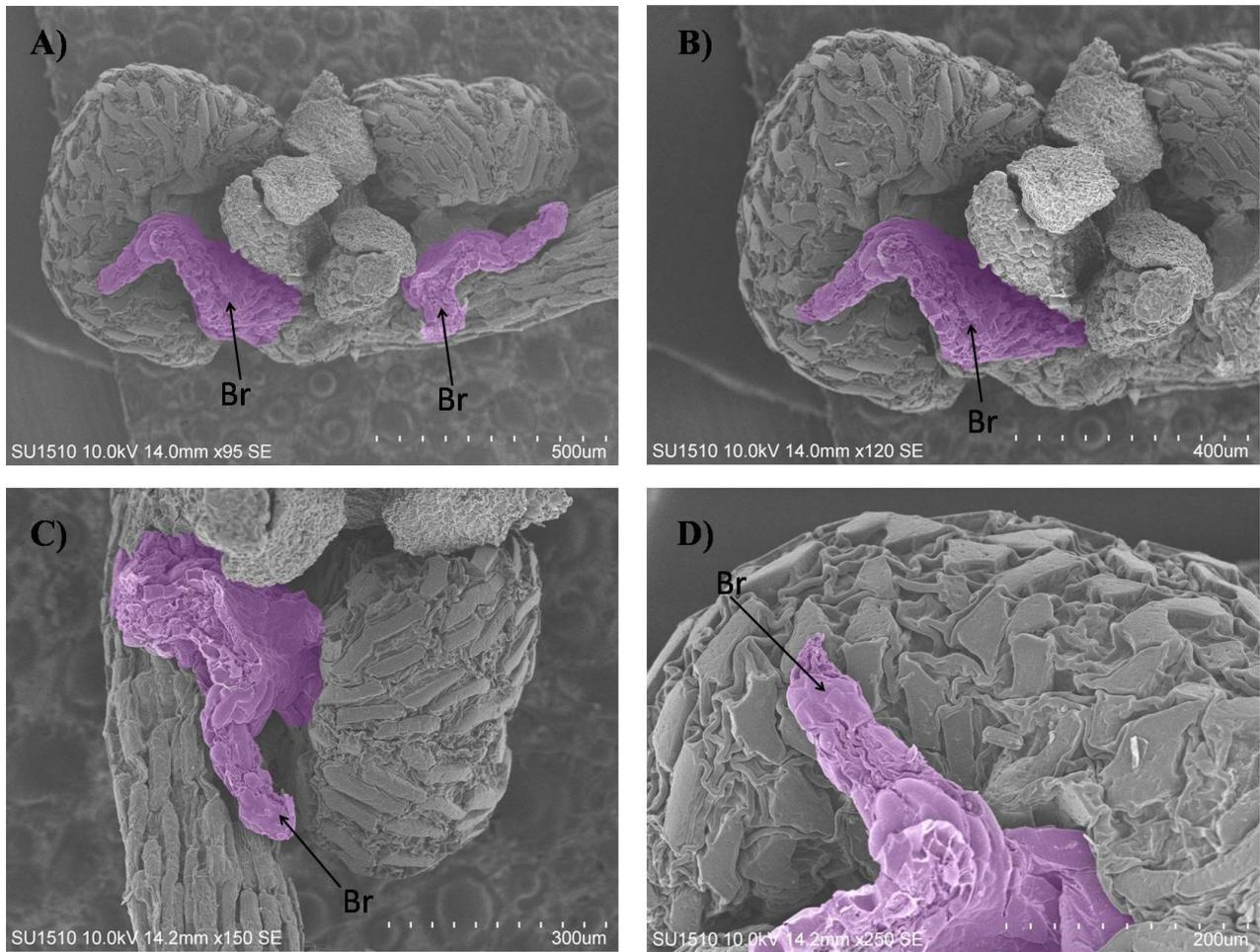


Figura 9. Microscopía electrónica de barrido coloreado con Adobe Photoshop 2018. Brácteas (Br) asociadas a las anteras. A) Pseudanto superior en donde se removió una antera por flor masculina y se observan dos brácteas coloreadas en lila asociadas a cada antera. B-D) Acercamiento a la bráctea de las flores masculinas.

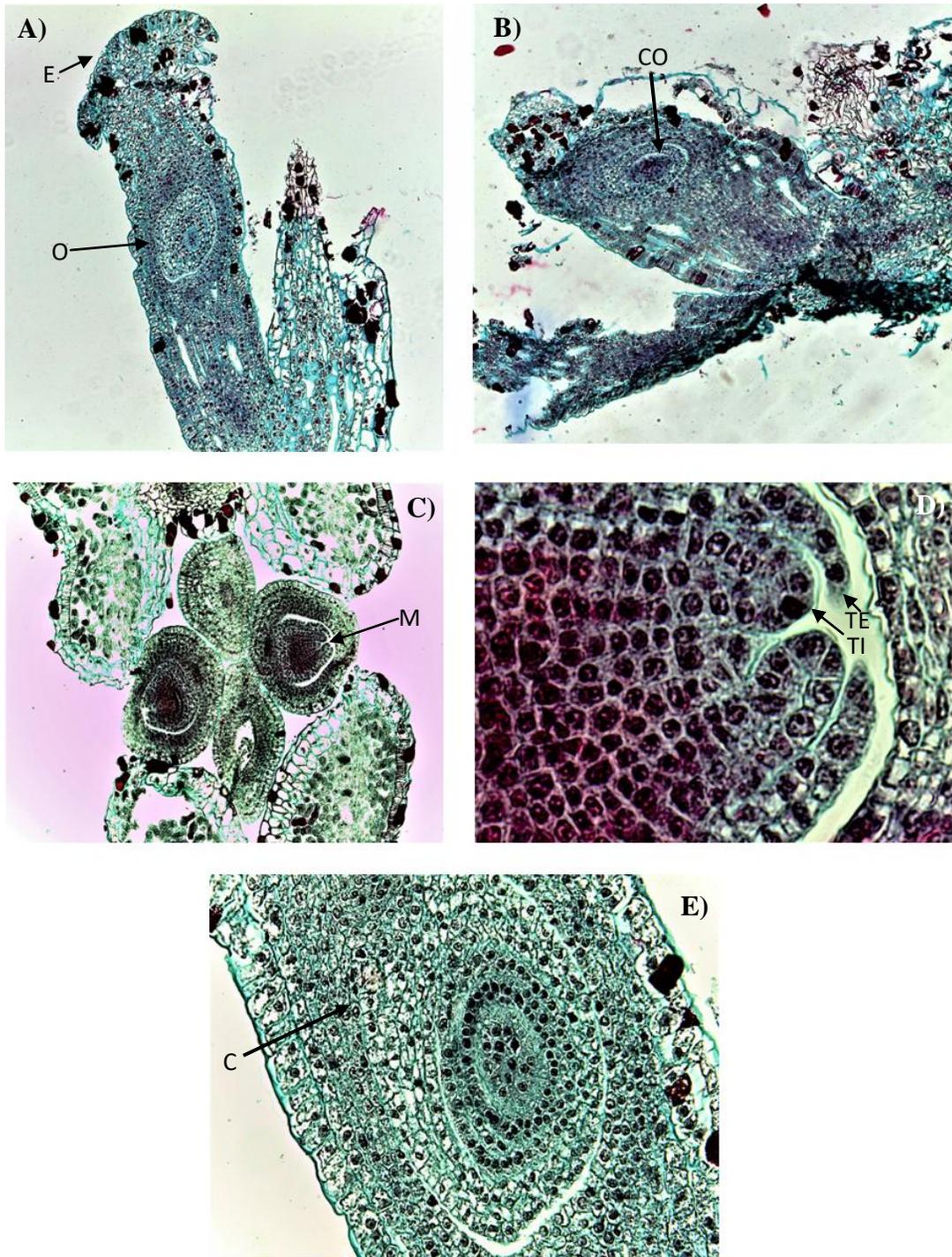


Figura 10. Microfotografías de gineceo, incluidos en parafina y teñidos con safranina-verde rápido. En A) se muestra el gineceo con el estigma peltado y ovario unilocular; B) gineceo en donde se señala la cámara ovárica; C) se muestra la zona micropilar de uno de los cuatro ovarios; D) se señala el tegumento interno y externo; E) se señala el término de la cutícula y el inicio del funículo, por lo que consideramos que se trata de un óvulo ortótropo. E: estigma; O: ovario; CO: cámara ovárica; M: micrópilo; TE: tegumento externo; TI: tegumento interno y C: cutícula.

6. 4. Desarrollo de la antera

Se analizó el desarrollo de la antera desde el meristemo, y la etapa juvenil hasta la antera dehiscente con el polen maduro. Cada pseudanto cuenta con dos flores masculinas y cada una de ellas está constituida por dos anteras, cada antera con dos microsporangios y dos tecas. Para observar los meristemas se buscaron las zonas engrosadas de los nudos, en donde los meristemas florales comienzan a desarrollarse.

Los meristemas florales en etapas muy jóvenes presentan la túnica monoestratificada y el corpus pluriestratificado (Figura 11 B y C). Lo primero que se desarrolla es la flor masculina que en su base tiene asociada una bráctea (Figura 12 A y C). Cada una de las anteras presenta un par de tecas (lóbulos) con un total de dos microsporangios (Figura 12 D). La pared de la antera está compuesta por la epidermis monoestratificada con inclusiones de taninos, endotecio monoestratificado, capa media biestratificada y tapete plasmodial que envuelve a las microsporas (Figura 10 B).

Al inicio de la microsporogénesis las células madres de las microsporas se observan en etapa premeiótica (Figura 13 B). Posteriormente los microsporocitos o células madre del polen entran en la etapa meiótica y la primera división de las microsporas (Figura 13 C). En la microgametogénesis el núcleo de los granos de polen jóvenes (microsporas) se dividen por mitosis y se forma una célula vegetativa y otra generatriz (Figura 13 E y F). En el grano de polen se logra ver la exina que es la capa superficial ornamental que le da resistencia al polen y que es el primer contacto con el estigma para la función del reconocimiento (figura 13 F).

Diversas etapas en el desarrollo de las inflorescencias de *R. mexicana* se trabajaron con microscopía electrónica de barrido (MEB) (Figura 14), en donde se muestran flores muy jóvenes apenas surgiendo de los meristemas axilares que se encuentran en la rama inferior (Figura 14 C) y con las dos flores masculinas del pseudanto superior bien formadas y la

inflorescencia inferior en desarrollo (Figura 14 A). En las anteras jóvenes de las flores masculinas, entre las tecas está el tejido conectivo que sobresale y una vez que maduran éste se hace menos evidente (Figura 14 B). Las tecas abren por la línea de dehiscencia (Figura 14 B) y dejan ver los numerosos granos de polen con una morfología semejante a un boomerang, con exina reticulada y en los vértices solo intina, que es una capa lisa compuesta generalmente por celulosa y donde se encuentran las aberturas germinales (Figura 14 H, E, I).

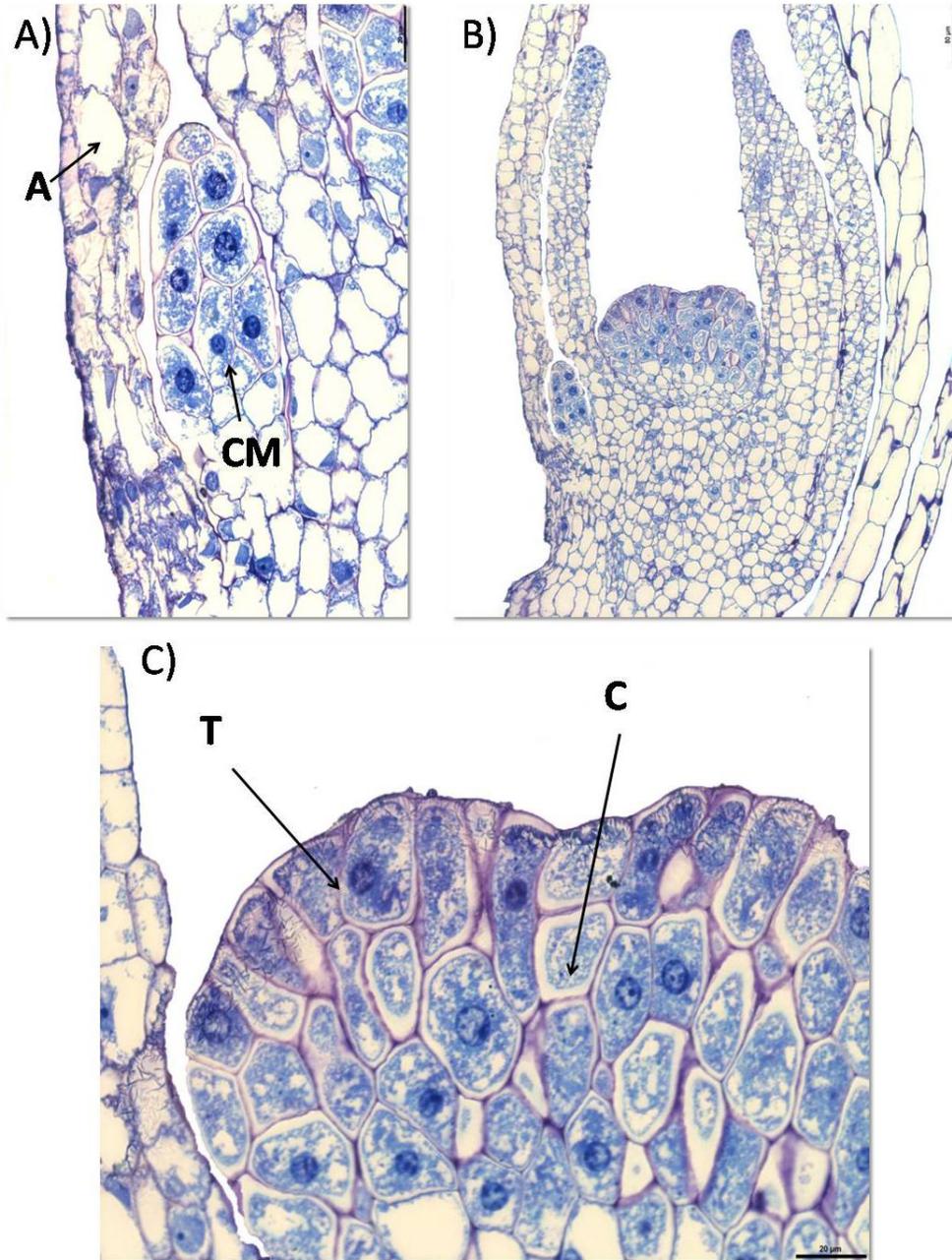


Figura 11. A) Posición axilar de los meristemas florales. A= aerénquima y CM= células del meristemo. B) Meristemas florales en la axial de la bráctea C) Estructura del meristemo floral. T= túnica y C= corpus.

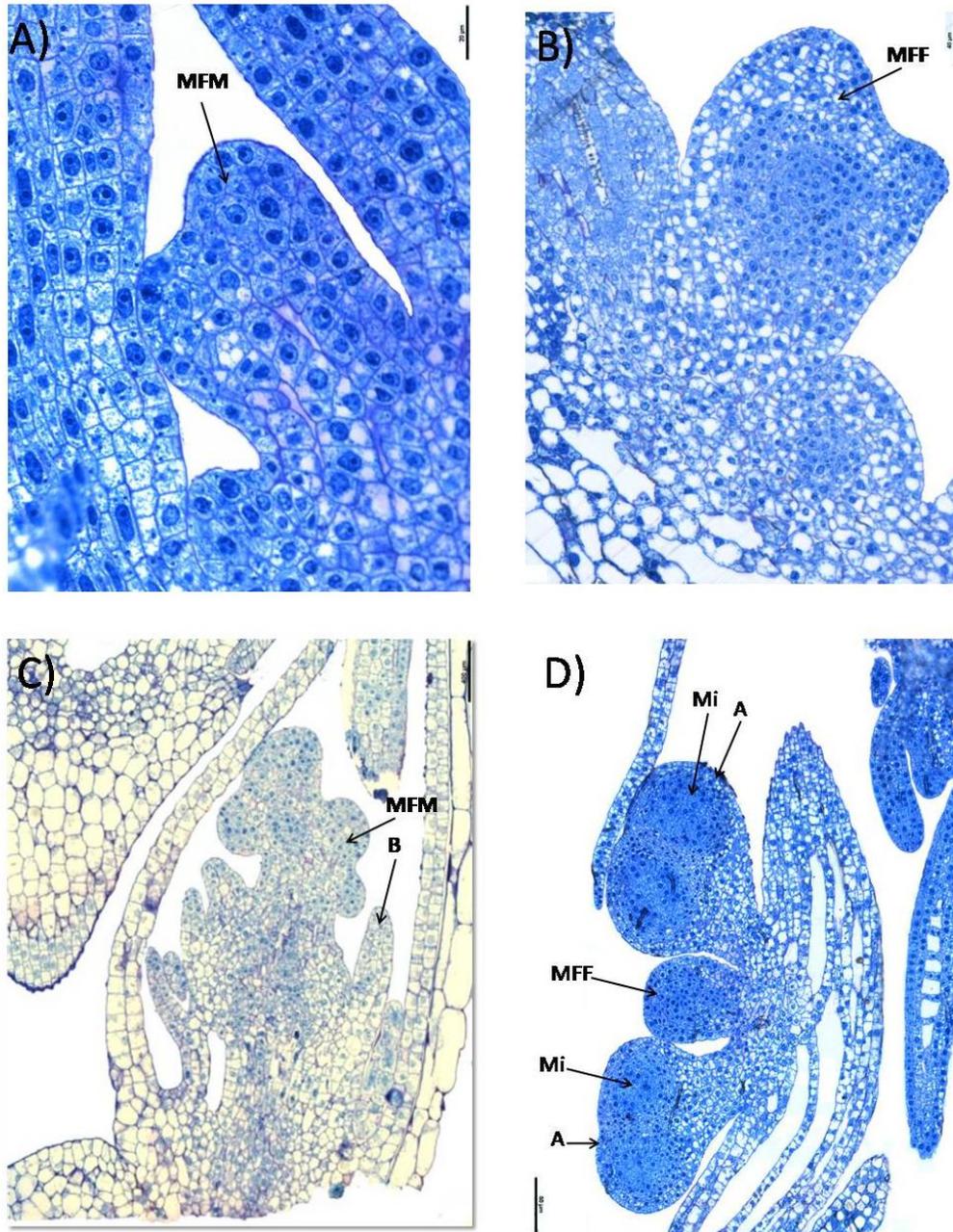


Figura 12. Corte longitudinal de meristemas A) Meristemo de la flor masculina B) Meristemo de la flor femenina C) Meristemo en etapas posteriores de la flor masculina, debajo a la derecha una bráctea D) Órganos flores en estadios tempranos, donde se señala dos anteras biloculares y en medio de las anteras, el meristemo de la flor femenina. MFM= meristemo de la flor masculina; MFF= Meristemo de la flor femenina; M=meristemo; B= bráctea; Mi= microsporangio; A= androceo.

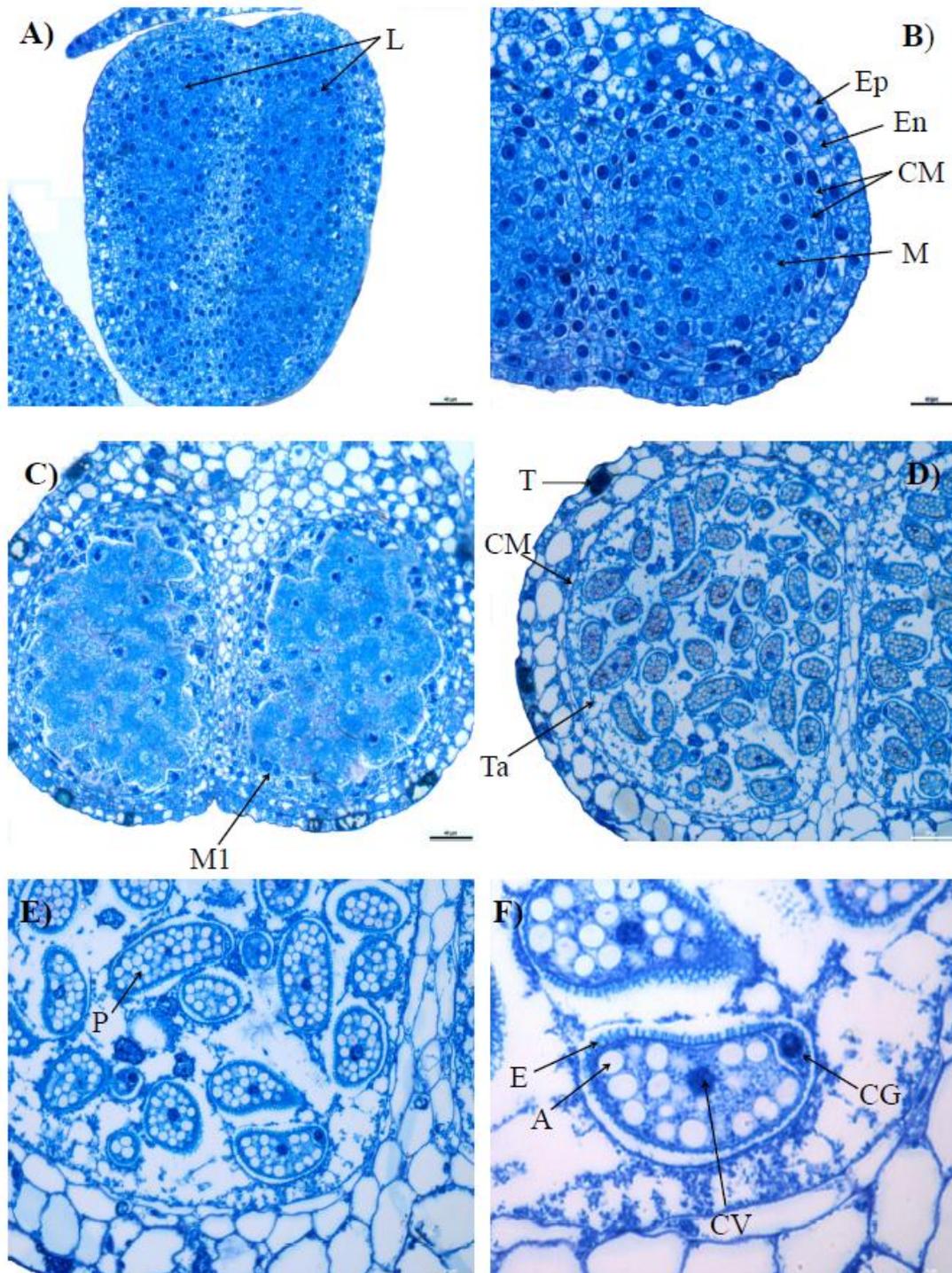


Figura 13. Desarrollo del androceo en *Ruppia mexicana*. En la imagen A) se muestra una de las dos tecas de la antera con dos lóculos (L); B) capas de la pared de la antera: epidermis (Ep), endotecio (En), capa media biestratificada (CM) y microsporocitos (M); C) primera división meiótica; D) epidermis con taninos (T), capa media biestratificada adelgazada (CM), tapete plasmodial (Ta); E) polen en forma de boomerang y F) exina (E), granos de almidón (A), célula vegetativa (CV) y célula generativa (CG).

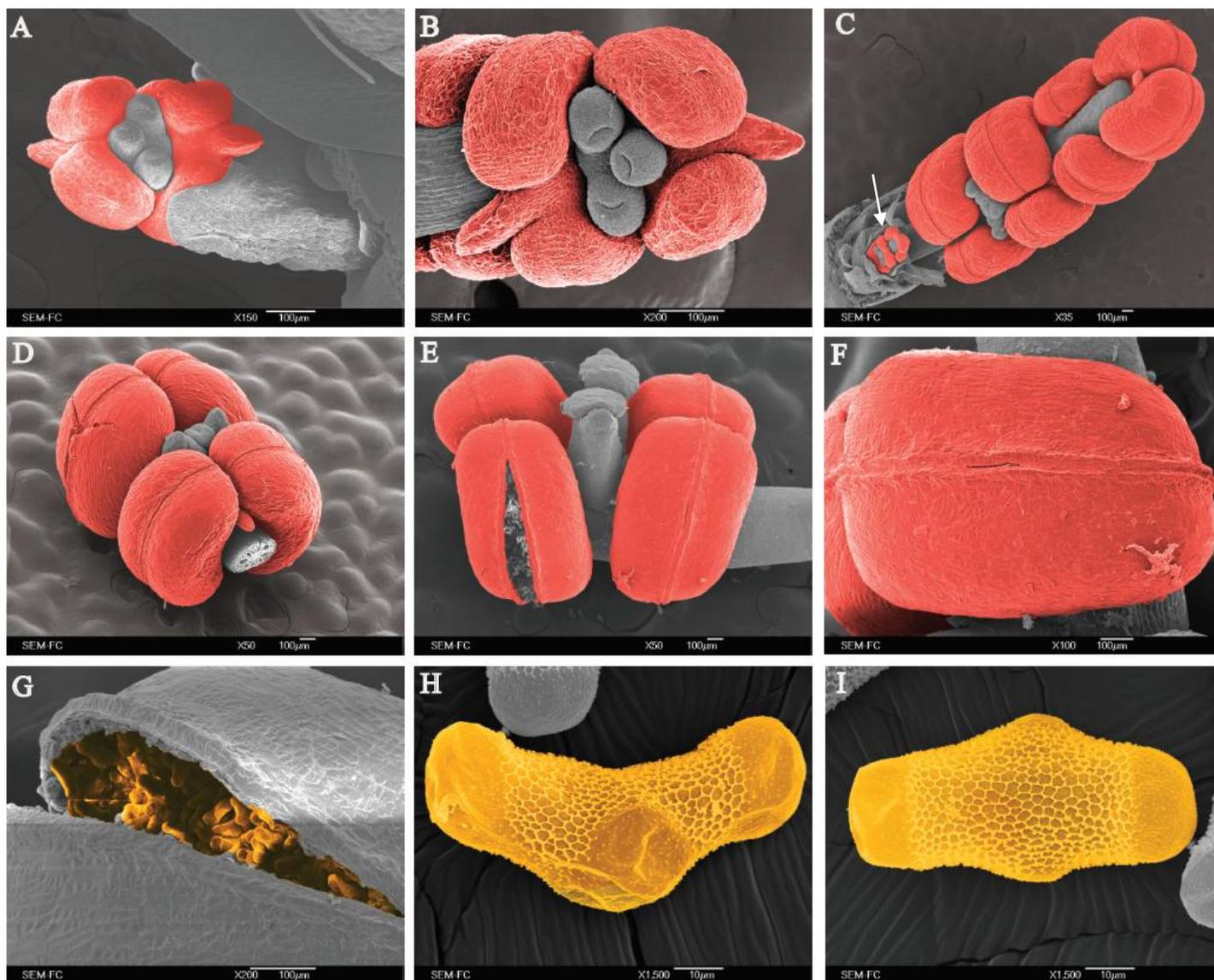


Figura 14. Microscopía electrónica de barrido coloreado con Adobe Photoshop 2018. Micromorfología de la antera y granos de polen. Se muestran diferentes etapas del desarrollo de la antera coloreadas de rojo claro hasta que la antera se abre por la línea de dehiscencia. El polen maduro coloreado en amarillo. A) Desarrollo basipétalo de las inflorescencias, en donde se muestra a la inflorescencia superior con las anteras formadas y las inferiores en formación, las anteras desarrollan una estructura de tejido conectivo entre las tecas; B) Inflorescencia superior con las anteras en crecimiento; C) Tanto las flores masculinas como las femeninas maduras, sin embargo el pedúnculo no se ha elongado, lo que indica que se trata de una flor joven, pues cuando están lo suficientemente maduras para liberar el polen, el pedúnculo llega hasta la superficie. En la parte inferior se señala con una flecha una inflorescencia en etapas tempranas; D) Unidades reproductivas superiores maduras (dan la apariencia de flor); E) Unidades reproductoras inferiores maduras con una de las anteras abierta; F) Rompimiento del estomio; G) Antera abierta con el polen maduro; H) Vista polar del polen en forma de boomerang con exina reticulada e intina en los vértices; I) Vista ecuatorial del polen.

6. 5. Desarrollo del gineceo

Cada pseudanto cuenta con una flor femenina constituida por dos, tres o cuatro carpelos (Figura 16 E y H). La flor femenina surge de un meristemo floral en las zonas engrosadas de los nudos.

La flor femenina se desarrolla después de las flores masculinas en dirección acropétala, del cual se forman tres protuberancias que dan origen a un carpelo cada una. Cada carpelo se desarrolla formando el estigma sésil, en forma de plato unido al ovario que es sésil también. La flor femenina es aperiántada, con dos o tres carpelos sésiles, con estigma peltado, que desarrolla una hendidura en el centro que forma el canal estigmático va desde el estigma y rodeando por un lado la cámara ovárica (Figura 15 A, B y C).

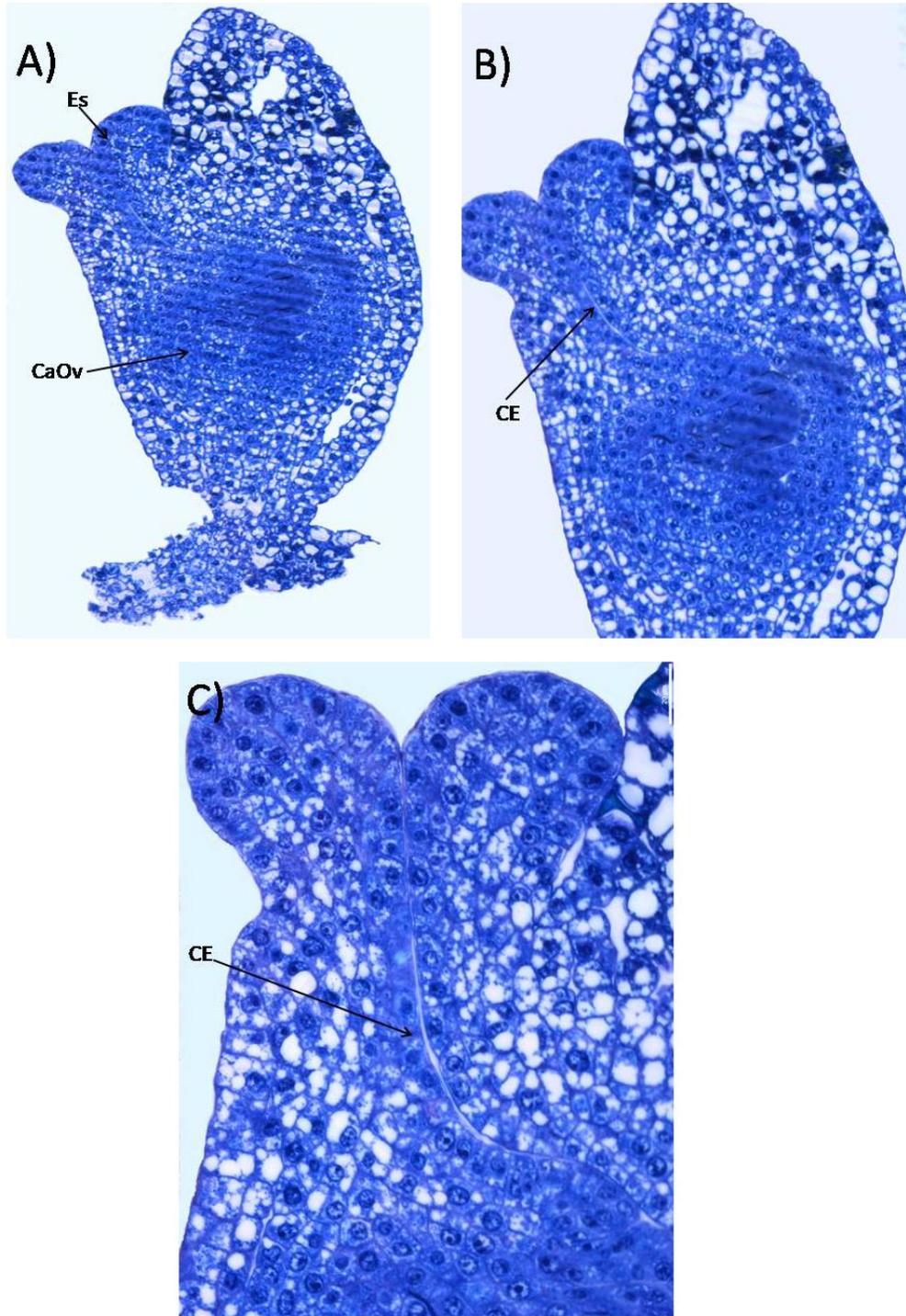


Figura 15. Microfotografías de gineceo, incluidas en LR White. A) Gineceo bien formado, sésil, con estigma peltado, sin estilo, B) Canal estilar desde el estigma hasta la cámara ovárica y C) Canal estilar.

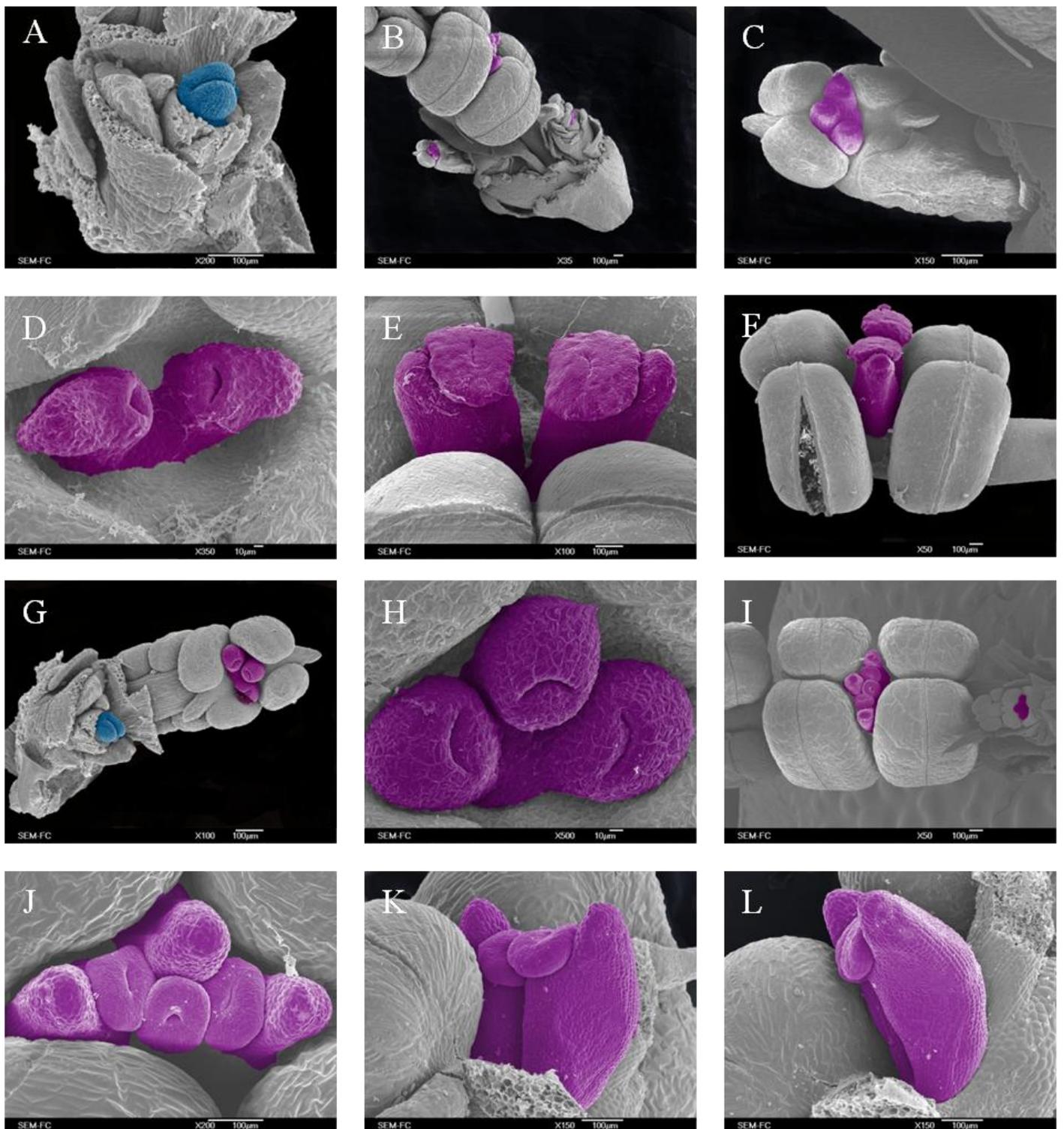


Figura 16. Microscopía electrónica de barrido coloreado con Adobe Photoshop 2018. Desarrollo de anteras y carpelos. A) Nudo con un meristemo de la antera coloreado en azul. B) Tres inflorescencias de inflorescencias, que dan la apariencia de flor en diferentes etapas del desarrollo. C) Una de las inflorescencias, con los órganos superiores formados con tres carpelos. D) Dos carpelos. En E) y F) Carpelos con los estigmas peltados. G) y H) Tres carpelos sésiles que aún no forman las protuberancias que los caracterizan. I) y J) Tres carpelos con sus respectivas extensiones. En K) y L) Dos carpelos bien formados sin estilo, con el estigma en forma de disco y con una extensión en la parte dorsal de cada uno.

7. Discusión

Ontogenia comparativa entre especies de *Ruppia*

Los estudios sobre el desarrollo floral del género *Ruppia* describen a grandes rasgos algunos de los estadios de las estructuras reproductivas y en una de las investigaciones (Posluszny y Sattler, 1974) se muestra parte de la ontogenia de *R. maritima*. En esta investigación se aportan datos embriológicos de distintas etapas del desarrollo del “conjunto floral” de *R. mexicana* (que fue definido como la flor en den Hartog, *et al.*, 2016), los cuales apoyan la hipótesis que identifica a dicho “conjunto floral” como una inflorescencia.

¿Flor o inflorescencia?

Gamerro (1968) señala un elemento fundamental en *R. spiralis*¹ que en este trabajo se retoma, pues encuentra estructuras que considera sépalos o tépalos (que formarían el perigonio), con diferentes grados de fusión a los estambres, reducidas a pequeñas lengüetas sin vascularización, ocultas por las tecas de los estambres, visibles después de la antesis.

En el análisis de la flor madura de *R. mexicana* logramos observar las estructuras que describió Gamerro (1968), como sépalos o tépalos, pero que en este trabajo, dada su posición en la base de las anteras y tomando en cuenta que las flores acuáticas generalmente son reducidas, las consideramos como brácteas. A diferencia del autor que define las estructuras reproductoras de *R. spiralis*¹ como dos flores verdaderas, consideramos dichas brácteas son fundamentales para describirlas como flores masculinas.

Los resultados de la ontogenia de *R. mexicana* señalan que los meristemas que dan lugar a las anteras presentan brácteas debajo de ellas. Al disectar las anteras maduras, se observan dichas brácteas altamente reducidas en la base de cada antera. Dado que una de las características que define a una flor es la presencia de brácteas (Márquez- Guzmán *et al.*, 2013), se propone que las estructuras reproductoras de *R. mexicana* (y *R. spiralis*¹) presentan

inflorescencias con flores masculinas y no flores hermafroditas como varios autores han descrito (Tabla 1). En el caso del gineceo no se encontraron estructuras similares por lo que consideramos que se trata de una sola flor femenina con gineceo apocárpico formado por dos a cuatro carpelos. Con las evidencias que hasta el momento se presentan, sugerimos que la espiga de *R. mexicana* es una inflorescencia de inflorescencias que está formada por dos pseudantos, cada uno compuesto por dos flores masculinas y una femenina.

Otro elemento que apoya nuestra hipótesis es el trabajo de Claßen- Bockhoff y Bull-Hereñu (2013) quienes buscan analizar los meristemas para discernir entre flores e inflorescencias. Las características que observamos en el desarrollo de *R. mexicana* coinciden con los elementos para definir la estructura reproductiva de *R. mexicana* como inflorescencia pues el meristemo apical que pasa de ser indeterminado a determinado, tiene forma de domo, presenta brácteas, el desarrollo del meristemo axilar es inmediato y la secuencia de desarrollo es de tipo acropétala tal como Claßen- Bockhoff y Bull- Hereñu (2013) definieron para un meristemo tipo inflorescencia (Tabla 2).

De acuerdo con los resultados de la ontogenia de *R. mexicana*, consideramos que incluir fotografías o ilustraciones de las secuencias de desarrollo son fundamentales para presentar resultados y discutir hipótesis como la de Sokoloff *et al.* (2006) y Lock *et al.* (2011) quienes proponen al “conjunto floral” de *R. maritima* como un ejemplo de pseudanto. Incluso Locket *al.* (2010) elaboran un modelo transicional de los grados de fusión entre los órganos flores de *R. maritima*, iniciando con una inflorescencia de dos flores laterales hasta formar un conglomerado de órganos que nombran como pseudanto. Estos dos trabajos, realizados por la misma red de investigadores, son los únicos que han mostrado fotografías de estructuras florales normales (en términos estadísticos) y amalgamadas de *R. maritima* que podrían

tratarse más bien de una excepción producida por mutaciones de los genes de desarrollo que podrían dar un camino evolutivo por selección natural de especies de *Ruppia*.

Desarrollo de la antera

Los estudios de ontogenia floral, comienzan con la formación de los meristemas, cuya localización en *R. mexicana* implica un alto grado de dificultad por el tamaño de la estructura reproductiva, donde la única señal de su presencia es el ensanchamiento de los nudos del tallo. Seguir la trayectoria durante el desarrollo del meristemo floral, es un conocimiento indispensable para la interpretación de la homología de los órganos florales.

Siguiendo a Claßen- Bockhoff y Bull- Hereñu (2013), podemos interpretar que la estructura reproductora (inflorescencia) de *R. mexicana* se origina de un meristemo de inflorescencia en domo que se invagina dando la forma de corazón, organizado en un estrato de túnica y varios de corpus que de ser indeterminado (vegetativo) pasa a determinado (floral) y da lugar a flores unisexuales laterales masculinas sostenidas por una bráctea y desnudas y la femenina desnuda. Cada pseudanto surge de tres meristemas de inflorescencia independientes.

El número y posición de los estambres descritos en *R. maritima* (Posluszny y Sattler, 1974 y Kaul, 1993), *R. occidentalis* (Kaul, 1993) y *R. spiralis*¹ (Gamerro, 1968) no varía, se consideran dos estambres con dos tecas biesporangiadas por estambre y por “conjunto floral”. Mientras que en *R. mexicana* describieron cuatro estambres por flor, con anteras sésiles biesporangiadas (den Hartog, *et al.*, 2016). Sin embargo, con nuestras observaciones sugerimos que las estructuras reproductoras masculinas de *R. mexicana* consisten de dos flores masculinas por cada pseudanto. Las flores masculinas se componen por un estambre sésil con dos anteras bitecadas y tejido conectivo que crece entre las anteras.

El único trabajo de desarrollo de la pared de la antera es el de Gamerro (1968), quien ilustra para *R. spiralis*¹ la pared un poco antes de la anthesis. La pared de *R. mexicana* en la

misma etapa presenta muchas similitudes en las formas de las células epidérmicas, las del endotecio, más o menos isodiamétricas, con algunos engrosamientos. Ambas especies presentan también inclusiones de taninos en las células epidérmicas.

Kaul (1993) consideró el tejido conectivo entre las anteras en *R. maritima* y en *R. occidentalis* como un tépalo que se desarrolló rápidamente en el primordio del estambre superior y luego en el inferior. Cuando las anteras maduran, el tejido conectivo, considerado como tépalo, está cubierto por las mismas, y en el momento de la antesis las tecas circundan el raquis dando la impresión de una flor con cuatro estambres. Posluszny y Sattler (1974) señalan, igual como en el presente trabajo una extensión dorso ventral del tejido conectivo entre las tecas en *R. maritima*. En este trabajo sobre *R. mexicana* se apoya la interpretación de Posluszny y Sattler (1974), del tejido conectivo dada su posición y con los cortes histológicos que lo acreditan.



Figura 17. Burbujas que permiten flotar a los granos de polen al momento de la dehiscencia. Tomado de Wong y van Tussenbroek (2002)

Los granos de polen en *R. spiralis*¹ y *R. mexicana* son arqueados, con forma de boomerang y adelgazamiento de la exina hasta la casi desaparición del retículo en los extremos y parte media distal. Gamero (1968) explica que cuando ocurre la dehiscencia de las anteras, se forma una burbuja en contacto con la atmósfera que explota y expande el polen que queda flotando en la superficie del agua con la concavidad hacia arriba, como si fueran canoas. En el espacio cóncavo retienen una burbuja de gas que les sirve de flotador, impidiendo que los granos se hundan.

Wong y van Tussenbroek (2002) observaron en *R. mexicana* la liberación de los granos de polen en su ambiente natural (Figura

17) y las poblaciones de *Ruppia* sp. que observaron en Celestún y la laguna Carbonera, ambas en Yucatán, presentaron las estructuras florales muy cerca de la superficie del agua, pero sumergidas, es decir que el pedúnculo se alarga hasta ese sitio donde es posible observarlas por debajo del ras de agua donde lleva a cabo la polinización.

Desarrollo del gineceo

El número y posición de los carpelos de las especies de *Ruppia* son distintos según la especie, en *R. spiralis*¹ presenta cuatro o más carpelos (Gamerro, 1968). En *R. maritima* son tres o cuatro (Kaul, 1993) o hasta cinco (Posluszny y Sattler 1974); en *R. occidentalis* varía de cuatro a nueve (en promedio seis), y en esta especie, generalmente la flor superior presenta mayor número de carpelos (Kaul, 1993). *R. mexicana* (den Hartog, *et al.* 2016) presenta de dos a cuatro carpelos.

R. maritima (Posluszny y Sattler, 1974 y Kaul, 1993), *R. occidentalis* (Kaul, 1993) y *R. spiralis*¹ (Gamerro, 1968) tiene ápices dorsales gibosos, estigmas peltados y sésiles. Kaul (1993) señala también estomas en los carpelos en *R. maritima*. En *R. spiralis*¹ el carpelo presenta un solo óvulo, péndulo, átropo o subátropo pues no se reporta soldadura entre el funículo y el tegumento externo para constituir un rafe. Lo que existe es una flexión del óvulo sobre su funículo en la región calazal. El gineceo de *R. mexicana* es apocárpico, con dos, tres o cuatro carpelos libres, ápice dorsal giboso, sin estilo, estigma peltado y el óvulo es ortótropo porque el funículo y el micrópilo se encuentra en línea recta. El funículo se logra diferenciar por la cutícula alrededor del ovario.

Orden y posición de los órganos florales

La organogénesis de las estructuras reproductoras de las especies de *Ruppia* es importante para discernir entre las hipótesis planteadas en la Tabla 1, pues una de las características que proponen Claßen- Bockhoff y Bull- Hereñu (2013) es la secuencia del desarrollo de los órganos

florales. Kaul (1993) trabajó la organogénesis a partir de fotografías de MEB de *R. maritima* y *R. occidentalis* y encontró similitud entre los órganos femeninos. Específica que el primer primordio de inflorescencia no tiene características particulares, pero que pronto se diferencian los primordios de flor en lóbulos laterales, alargados y aplanados. Las fotografías que muestra Kaul (1993) coinciden con nuestras observaciones de los meristemas reproductivos más jóvenes de *R. mexicana*, en los que señalamos los lóbulos tanto en cortes histológicos como en MEB. Sin embargo, la interpretación de este primer meristemo lobulado es distinta, pues Kaul (1997) considera que cada lóbulo dará lugar a la estructura reproductiva que señala como flor, lo que coincide con Lock *et al.* (2011) y nosotros consideramos que cada lóbulo dará lugar al primordio de la flor masculina del pseudantosuperior.

Kaul (1993) también observó para *R. maritima* y *R. occidentalis* que el desarrollo del primordio de la estructura reproductora inferior ocurre un poco más rápido que la superior. Nosotras observamos lo contrario para *R. mexicana*, y la estructura reproductora superior se desarrolla primero. Tanto Kaul (1993) como nosotros coincidimos en que se desarrolla primero la antera, es decir la flor masculina según nuestra hipótesis.

Kaul (1993) describe cuatro carpelos por “conjunto floral” de *R. maritima* y *R. occidentalis* y observa que los primeros dos se desarrollan simultáneamente en el momento en que los estambres aún están inmaduros y luego comienza el desarrollo de los otros dos, a veces no se forma el cuarto, en el caso de *R. maritima* o noveno carpelo, en el caso de *R. occidentalis* y se queda un hueco en el eje. A diferencia de los estambres, primero se forman los carpelos del “conjunto floral” superior y después los del “conjunto floral” inferior. En *R. spiralis*¹ (Gamerro, 1968) y en *R. mexicana* el desarrollo de las estructuras femeninas ocurre después que las masculinas, es decir, son protándricas y en *R. mexicana* el desarrollo de las flores con tres o cuatro carpelos ocurre al mismo tiempo en sentido acropétalo, pues el primer órgano floral en

formarse es la flor masculina que queda en el ápice del eje floral, que se origina de un meristemo en forma de corazón, tal como lo describe también Posluszny y Sattler (1974) para *R. maritima*.

Camino evolutivo

Las estructuras de las flores de las plantas acuáticas, como las de la familia Ruppiaceae, se han simplificado de tal manera que la interpretación morfológica se ha vuelto muy compleja (Gamerro, 1968). Lo anterior aunado a lo escaso de los estudios ontogenéticos, y la ausencia de estudios comparativos, especialmente en la familia Ruppiaceae, ha complicado su interpretación. Por ello resulta importante explorar su desarrollo, para comprender mejor la estructura floral y poder interpretar sus posibles caminos evolutivos.

Siguiendo el estudio molecular de Les y Cleland (1997) que concluye que las familias Posidoniaceae y Cymodoceaceae son las más cercanas a Ruppiaceae, podemos describir sus semejanzas y diferencias para proponer la ruta evolutiva de las flores de las plantas acuáticas en general. Comenzando por su hábitat, las familias Cymodoceaceae y Posidoniaceae son pastos marinos y las Ruppiaceae tienen especies eurihalinas. En cuanto a la estructura reproductiva, las tres presentan especies con inflorescencias con anteras y gineceos sésiles. Todas las especies de Posidoniaceae desarrollan espigas con flores hermafroditas y los estambres presentan una estructura parecida a un tépalo; cuando menos varias especies de Ruppiaceae presentan inflorescencias de tipo espiga, con ramas reducidas que forman dos pseudantos con flores solitarias monoicas y con bráctea asociada a las flores masculinas y *Syringodium* spp. de Cymodoceaceae tienen inflorescencias de tipo cima con flores solitarias y dioicas.

Remizowa, *et al.* (2013) consideran que las inflorescencias racemosas representan la condición plesimórfica en monocotiledóneas y que las especies que presentan prófilos

(brácteas) como el caso de Ruppiaaceae y Posidoniaceae se relacionan cercanamente con aquellas que presentan tirso (inflorescencia determinada). Puede ocurrir que *Syringodium* spp. de Cymodoceaceae tengan caracteres derivados por sus inflorescencias de tipo cima y por sus flores dioicas que aumenta la probabilidad de entrecruzamiento para evitar la endogamia (Bawa, 1980).

Los pseudantos de *Ruppia mexicana* pueden tener un efecto positivo para la polinización pues las flores masculinas y femeninas son tan pequeñas que agregadas formando pseudantos, aumentan el área para ser más visibles para la polinización por animales. Además, es posible que se evite la autogamia porque las flores masculinas maduran antes que las flores femeninas.

Se sabe que los pseudantos son líneas evolutivas independientes y no están ligados a un tipo de inflorescencia específica, si no más bien a la agregación de flores que forman una unidad atractiva para la polinización. La visibilidad y atracción de las flores individuales se pierde para formar una unidad más grande y exitosa en términos reproductivos (Classen-Bockhoff, 1990). Se han observado diversos insectos en algunas poblaciones de *Ruppia mexicana* (comunicación directa con la Dra. van Tussenbroek), habría que determinar si son vectores de distribución del polen para confirmar esta hipótesis.

8. Conclusiones

- Aunque se han realizado avances en la descripción del desarrollo de los órganos florales, es necesario comparar las etapas entre las diferentes especies de *Ruppia*, especialmente en sus fases tempranas, para determinar el tipo de estructura floral a partir de los meristemas.
- Basándonos en la identificación del meristemo, que presenta características como son meristemo apical que cambia de indeterminado a determinado, en forma de domo y presencia de brácteas, junto con el desarrollo inmediato del meristemo axilar y la secuencia de desarrollo de tipo acropétala, consideramos que el "conjunto floral" de *R. mexicana* corresponde a un meristemo de inflorescencia que forma un pseudanto.
- Al comparar nuestras observaciones con investigaciones previas sobre el desarrollo de otras especies de *Ruppia* y al considerar la presencia de una bráctea asociada a cada flor masculina y su hábitat acuático, concluimos que *R. mexicana* presenta un pseudanto compuesto por dos flores masculinas y una femenina.
- Es fundamental realizar un mayor esfuerzo en el trabajo taxonómico de las especies de *Ruppia* para mapear su distribución. Los estudios embriológicos, como el que hemos presentado, representan contribuciones importantes para la correcta determinación de las especies.
- El número y posición de los carpelos varían entre las especies de *Ruppia*.
- Aunque el número y la posición de los estambres en las especies de *Ruppia* no varían, se describen de diferentes formas; generalmente se consideran como parte masculina de una flor hermafrodita imperfecta, o como hemos concluido en este trabajo, como flores masculinas.

9. Referencias bibliográficas

- Arber, A. (1920). "Chapter I. Water plants as a biological group" y "The life-history of the marine angiosperm" en *Water Plants. A Study of Aquatic Angiosperms*. Cambridge University Press, Cambridge. Pp. 3, 4, 133.
- Bawa, K. S. (1980). Evolution of Dioecy in Flowering Plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 11, 15–39.
- Classen- Bockhoff, R. (1990). Pattern analysis in pseudanthia. *Plant Systematic and Evolution*. (171): 57- 88.
- Claßen- Bockhoff, R. y Bull- Hereñu, K. (2013). Towards and ontogenetic understanding of inflorescence diversity. *Annals of Botany*. 112: 1523- 1542.
- den Hartog, C. (1970). The sea-grasses of the World. *Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen. Afdeling Natuurkunde, Sectie 2*. 59: 1–275.
- den Hartog, C. (1981). Aquatic Plant Communities of poikilosaline waters. *Hydrobiologia*. 81: 15- 21.
- den Hartog, C. y Kuo, J. (2006). "Taxonomy and Biogeography of Seagrasses" en: Larkum, A. W. D. et al. (Ed.) *Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation*. Springer. Pp. 1- 23.
- den Hartog, C., van Tussenbroek B.I., Wong J.G.R., Mercado Ruaro P. y Márquez Guzmán J.G. (2016). A new *Ruppia* from Mexico: *Ruppia mexicana* n. sp. *Aquatic Botany*, 131: 38- 44.
- den Hartog, C. y Triest L. (2020). A profound view and discourse on the typification and status of three confused taxa: *Ruppia maritima*, *R. spiralis* and *R. cirrhosa*. *Botanica Marina*. 63 (3): 1- 12.

- Duarte, M.C., Bandeira, S. y Romeiras, M.M. (2012). Systematics and ecology of a new species of seagrass (*Thalassodendron*, Cymodoceaceae) from southeast African coasts. *Novon* 22: 16–24. <http://dx.doi.org/10.3417/2010079>
- Gamerro, J. C. (1968). Observaciones sobre la biología floral y morfología de la Potamogetonácea *Ruppia cirrhosa* (Petag.) Grande (= *R. spiralis* L. ex Dum.). *Darwiniana*. 14(4): 575- 612.
- Graves, A. H. (1908). The morphology of *Ruppia maritima*. *Connecticut Academy of Arts and Sciences*.14: 59- 170.
- Guiry, M. D. y Guiry, G. M. (2019). *Algae Base*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 13 February 2019.
- Hutchinson, J. (1959). *Families of flowering plants*. Macmillan, New York. Pp 792.
- Ito, Y., Ohi-Toma T., Skriptsova A. V., Sasagawa M., Tanaka N., y Murata J. (2014). *Ruppia megacarpa* (Ruppiaceae): A new species to the floras of Japan, Korea, and Russia. *Botanica Pacifica*. 3(1): 49–52.
- Kantrud, H. A. (1991). Wigeongrass (*Ruppia maritima* L.): A literature Review. United States. Fish and Wildlife Service, Fish and Wildlife. Pp. 10- 58.
- Kaul, R. B. (1993). Meristic and organogenetic variation in *Ruppia occidentalis* and *R. maritima*. *International Journal of Plant Sciences*. 154(3): 416- 424.
- Kirchoff, B. K. y Claßen- Bockhoff. R. (2013). Inflorescences: concepts, function, development and evolution. *Annals of Botany*. 112: 1471- 1476.
- Kunth, C. S. (1841). *Enumeratio Plantarum* T. 3. Stuttgart und Tübingen (no visto).
- Kuo, J. y McComb, A.J. (1989). “Seagrass taxonomy, structure and development” en Larkum, A.W.D., McComb, A.J. y Shephard, S.A. (eds.). *Biology of seagrasses: A treatise on*

- the biology of seagrasses with special reference to the Australian region*. Amsterdam: Elsevier. Pp. 6–73.
- Kuo, J. y McComb, A.J. (1998). “Cymodoceaceae” y “Posidoniaceae” en Kubitzki, K. (ed.), *The families and genera of vascular plants, vol. 4, Flowering plants: Monocotyledons; Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)*. Heidelberg: Springer. Pp. 133–140, 404- 408.
- Lacroix, C. R. y Kemp J. R. (1997). Developmental morphology of the androecium and gynoecium en *Ruppia maritima* L.: considerations of pollination. *Aquatic Botany*. 59(3-4): 253- 262.
- Les, D. H. y Cleland M. A. (1997). Phylogenetic Studies in Alismatidae, II: Evolution of Marine Angiosperms (Seagrasses) and Hydrophily. *Systematic Botany*. 22 (3): 443-463.
- Les, D. H. y Tippery N. P. (2013). “In time and with water. The systematics of alismatid monocotyledons” en Wilkin P. y Mayo S. J. (editores). *Early vents in Monocot evolution*. Cambridge University Press. Pp 118- 164.
- Lock, I. E., Sokoloff D. D. y Remizowa M. V. (2011) Morphogenetic Lability of the *Ruppia maritima* (Ruppiaceae, Alismatales) Reproductive Organs: From Two Lateral Flowers to a Terminal Flower. *Russian Journal of Developmental Biology*. 42(4): 247- 260.
- López Curto, M. de L., Márquez Guzmán J. y Murguía Sánchez G. (2016) “Técnicas de fijación y deshidratación”, “Técnicas de inclusión en LR White”, “Microtomía y tinción simultánea en LR White” en *Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas*. Las prensas de ciencias. Pp. 19- 22, 27- 28, 35- 36.

- Márquez Guzmán, J., Collazo Ortega M., Martínez Gordillo M., Orozco Segovia A. y Vazquez Santana S. (2013) “Tema III. La flor” en *Biología de angiospermas*. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 53.
- Petersen, G., Seberg O. y Short F. T. y Fortes M. D. (2014). Complete genomic congruence but non-monophyly of *Cymodocea* (Cymodoceaceae), a small group of seagrasses. *Taxon*. 63 (1): 3- 8.
- Posluszny, J. W. y Sattler R. (1974). Floral development of *Ruppia maritima* var. *maritime*. *Canadian Journal of Botany*. 52 (7): 1607- 1612.
- Remizowa, M. V., Sokoloff D. D., Calvo S., Tomasello A., Rudall P. J. (2012). Flowers and inflorescences of the seagrass *Posidonia* (Posidoniaceae, Alismataes). *American Journal of Botany*. 99 (10): 1592- 1608.
- Remizowa, M. V., Rudall P. J., Choob V. V. y Sokoloff D. D. (2013). Racemose inflorescences of monocots: structural and morphogenetic interaction at the flower/ inflorescence level. *Annals of Botany*. 112: 1553–1566.
- Santamaría, L. (2002). Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta Oecológica*. 23(3): 137-154.
- Singh, V. (1965). Morphological and anatomical studies in *Helobiae*. II. Vascular anatomy of the flower of *Potamogetonaceae*. *Botanical Gazette*. 126 (2): 137- 144.
- Sokoloff, D., Rudall P. J. y Remizowa, M. (2006). Flower- like terminal structures in racemose inflorescences: a tool in morphogenetic and evolutionary research. *Journal of Experimental Botany*. 57(13): 3517- 3530.
- Stevens, P. F. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Versión 14, julio 2017 [continuamente actualizado]. Consultado en <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

- Tomlinson P. B. y Posluszny U. 1978. Aspects of floral morphology and development in the seagrass *Syringodium filiforme* (Cymodoceaceae). *Botanical Gazette*. 139 (3): 333- 354.
- Triest, L., Beirinckx L. y Sierens T. (2017). Lagoons and saltwater wetlands getting more diversity: A molecular approach reveals cryptic lineages of a euryhaline submerged macrophyte (*Ruppia*). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 1-13.
- Uhl, Natalie, W. (1947). Studies in the floral morphology and anatomy of certain members of the *Helobiae*. Ph. D. dissertation, Cornell University, Ythaca, N. Y. (no visto).
- Valencia Ávalos, S. *et al.* (2012). *Glosario Ilustrado de embriofitas*. Primera edición. Prensas de Ciencias. Pp. 119.
- Vázquez-Lule, A. D., Santos-González P. y M. F. Adame. (2009). Caracterización del sitio de manglar Nichupté, en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 2009. Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica. CONABIO, Ciudad de México.
- Wong, J. G. R. y van Tussenbroek B. I. (2002). “Ruppiaceae” en *Los pastos marinos mexicanos: las plantas invisibles*. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp. 73
- Yu, S., y den Hartog C. (2014). Taxonomy of the genus *Ruppia* in China. *Aquatic Botany*, 119: 66–72.