



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**DESARROLLO DE FRUTO Y SEMILLA EN *Halophila
decipiens* OSTENFELD (HYDROCHARITACEAE)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

DIANA CERVANTES PADILLA

DIRECTORA DE TESIS :

Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán

CO-TUTORA :

Dra. Brigitta Van Tussenbroek Ribbink

(2013)





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

A mi ángel Gabriel Rodríguez Tovar...

A mis padres Andrea Padilla Flores y Santiago Cervantes Chávez por todo el amor que me han dado y por su apoyo incondicional cada instante de mi vida.

A mis hermanos Eliza y Edgar por ser parte de mí, soportar mi idioma biólogo y estar conmigo en los buenos y malos momentos ¡Los amo!.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Guadalupe Judith Márquez Guzmán, por ser mi asesora y por todas las enseñanzas que me ha dejado, por la confianza y también por soportar todo mi drama e insistencia por querer que las cosas me salieran bien.

A los integrantes de mi jurado: Dr. Antonio Lot Helgueras, M. C. Karina Jiménez Durán, Dra. Judith Márquez Guzmán, M. C. José Gonzalo Ricardo Wong y Dra. Brigitta Van Tussenbroek Ribbink por sus apreciables comentarios y correcciones de mi trabajo.

A la Dra. Brigitta Van Tussenbroek Ribbink por brindarme el material para trabajar y sus valiosas observaciones.

A la Biól. Yolanda Hornelas Orozco y a la Dra. Silvia Espinosa Matías por la toma de fotografías en el Microscopio Electrónico de Barrido.

Al laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias, en particular a la Biól. Anabel Bieler Antolin por la eficiencia y paciencia en la toma de las fotomicrografías.

A la M. C. Mónica Karina Pérez por su ayuda en el procesamiento de las muestras, enseñarme todo lo necesario para trabajar mi material y sus comentarios.

Al M. C. José Gonzalo Ricardo Wong por el apoyo en todos los aspectos, por siempre tener un tiempo para resolver mis dudas, discutir mis inquietudes y por siempre animarme.

A mis maestras Mague (por soportar mis dramas jeje) y Soni (por siempre recibirme con una sonrisa).

A toda mi hermosa familia: mis abuelos papá León y mamá Soco; a mis primos Alex, Mar, Yuli, Ra, Oscar, Leo, Yova, Paty y Yuri por tanta alegría que hemos pasado juntos; mis tías Silvia (y tío Felipe), Paty, Carmen y Charis por quererme; y a mis hermosos sobrinos Nico, Naomi y Gabriel que son lo más bonito que tenemos.

A Alfredo por ser mi amor de ultramar, por todo su apoyo, paciencia y el tiempo que siempre tiene para mí ¡te adoro psj!.

A mi amigue del alma Diana y a toda la banda CCH-ra por las sonrisas y buenos recuerdos.

A César Orozco por aparecer en mi vida, te quiero amigo.

A mis amigas de la Universidad Nancy y Luisa por ser mis confidentes y por estar conmigo en momentos difíciles y felices.

A mis amigos de siempre Luis Angel, Fer y Moy, por permitirme entrar en su circulo tan Vip jaja y por ser tan divertidos.

A mis amigos de ecosistemas de montaña Vero, Moni, Nihuib, Erick, Bety, Inti, Mario, Gustavo, Rodrigo por hacer más amena la estancia en el laboratorio.

A toda la banda Real Chupirul AA, me alegra haberlos conocido.

A todos mis compañeros del laboratorio de Desarrollo en Plantas: Isa y Ros (combinación ganadora), Ulises, Aldebarán, Almita, Alejandra CTV, Nancy CTV, Melba, Magali, Saúl, Eli, Anabel, Nadia, Bel, Luis, María Félix por pasar juntos un buen momento mientras trabajamos.

Y a todos los que han dejado una huella en mi vida...

ÍNDICE

RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	
Los pastos marinos	6
Relaciones filogenéticas de los pastos marinos de la familia Hydrocharitaceae	7
El género <i>Halophila</i>	9
ANTECEDENTES	
Desarrollo de fruto y semilla en los pastos marinos	11
Los óvulos en el grupo de pastos marinos de la familia Hydrocharitaceae.	11
Fruto	12
Semilla	15
Cubierta seminal	15
Endospermo	17
Embrión	18
ESPECIE DE ESTUDIO	19
<i>Halophila decipiens</i> Ostenfeld.....	20
Estatus de la biología reproductiva de frutos y semillas en <i>Halophila</i>	21
OBJETIVOS	
Objetivo general	23
Objetivos particulares	23
ÁREA DE ESTUDIO	24
METODOLOGÍA	25
RESULTADOS	
Fruto	
Micromorfología del fruto	27
Desarrollo del pericarpio	28
Semilla	
Micromorfología de la semilla	30
Desarrollo de la cubierta seminal	31
Embriología	
Endospermogénesis	33
Embriogénesis	36
Desarrollo de la semilla	40
DISCUSIÓN	
Fruto	46
Semilla	47
Micromorfología de la semilla	48
Cubierta seminal	48
Embriología	
Endospermogénesis	51
Embriogénesis	52
Desarrollo de la semilla	53
CONCLUSIONES	56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

RESUMEN

Halophila decipiens (familia Hydrocharitaceae) es un pasto marino con distribución pantropical. La información tanto de frutos como de semillas de los miembros de esta familia es escasa, en algunos trabajos es errónea, y la mayor parte de los estudios se restringe a frutos y semillas maduros. Se pretende, que al ser estudiada extensivamente en aspectos de desarrollo, esta información pueda ser usada como una base (patrón) para posteriores investigaciones, y para encontrar aspectos sobre el desarrollo que sean comparables con especies de esta familia, especialmente entre los tres géneros marinos (*Halophila*, *Thalassia* y *Enhalus*), los cuales, puedan ser un apoyo para la resolución de los problemas taxonómicos y filogenéticos.

Además, esta información podría revelar algunos detalles sobre los procesos de adaptación al ambiente marino de estas plantas.

El fruto es ovoide con un estilo persistente. El pericarpio aumenta de estratos celulares en una semilla madura y puede tener una estratificación irregular; tiene gránulos de almidón con mayor concentración en las células internas. En la semilla, la cubierta seminal está formada por la testa y el tegmen biestratificados, entre los cuales hay una cutícula ondulada; más tarde se pierde el tegmen y sólo persiste la exotesta y dos cutículas entre las que hay restos de paredes celulares. El desarrollo del endospermo es de tipo helobial y no se encuentra en la semilla madura. La embriogénesis es de tipo Cariofilado variación *Sagittaria*, la primera división del cigoto es transversal produciendo una célula apical y una basal que forma el suspensor unicelular que es absorbido posteriormente.

En semillas jóvenes la nucela es abundante y probablemente tenga una función haustorial, más tarde se absorbe y no está presente en semilla madura.

En una semilla madura el cotiledón es curvo y envuelve al primordio foliar, el hipocótilo se expande radialmente y es el principal tejido de reserva (almidón). El embrión no posee raíz primaria como tal, pero sí un cúmulo de células meristemáticas en el polo radicular.

INTRODUCCIÓN

Los pastos marinos

Las plantas acuáticas (Alismatales) pasan su ciclo de vida completa o gran parte de ella en el agua y pueden estar completa o parcialmente sumergidas. Estas plantas habitan en océanos, lagos, ríos y humedales (Philbrick y Les, 1996).

Los pastos marinos son angiospermas acuáticas de origen polifilético confinadas a ambientes marinos (Larkum *et al.*, 2006), aunque algunos crecen también en ambientes hiper- o hiposalinos. Comprenden menos del 0.02% de la flora angiospérmica y son representados por cerca de 60 especies (Hemminga y Duarte, 2000; Short *et al.*, 2001).

De acuerdo con Arber (1920) (en: den Hartog, 1970) existen cuatro propiedades que deben poseer los pastos marinos: (1) deben estar adaptados a vivir en el medio salino, (2) deben ser capaces de crecer cuando se encuentran completamente sumergidos, (3) deben tener un sistema de anclaje capaz de resistir al oleaje y a las corrientes y (4) deben presentar polinización hidrófila. Den Hartog (1970) agrega que las angiospermas marinas deben ser capaces de competir exitosamente en el ambiente marino. Considerando estos criterios es claro que los pastos marinos forman un grupo ecológico más no taxonómico. Esto implica que no están necesariamente relacionadas filogenéticamente. Los taxa de pastos marinos son monocotiledóneas con un número muy limitado de familias de angiospermas (Tomlinson, 1982; Tanaka *et al.*, 1997; den Hartog y Kuo, 2006), agrupadas dentro del superorden Helobiae (Tomlinson, 1982) y la subclase Alismatidae. Existen cerca de 60 especies dentro de 13 géneros y 5 familias (Hydrocharitaceae, Posidoneaceae, Zosteraceae, Cymodoceaceae y Ruppiaceae) (Short *et al.*, 2001). Cuatro de las cinco familias son exclusivamente de pastos marinos. La familia Hydrocharitaceae tiene sólo tres géneros considerados como pastos marinos y los 14 restantes son confinados a hábitats de agua dulce y no son considerados pastos marinos (den Hartog, 1957; Phillips y Meñez, 1988).

El análisis molecular de la subclase Alismatidae demostró que hay al menos tres orígenes independientes en este grupo de plantas. Los linajes marinos

monofiléticos se encuentran dentro de Hydrocharitaceae, Zosteraceae y el “complejo Cymodoceaceae” (Cymodoceaceae, Posidoniaceae y Ruppiaceae; Les *et al.* 1993,1997).

La importancia de los pastos marinos en ambientes costeros y cercanos a las costas ha sido cada vez más reconocida (Short *et al.*, 2001). Los ecosistemas de pastos marinos se encuentran entre los sistemas más productivos de la biósfera, su producción es la base de la cadena alimentaria. Además proporcionan un hábitat para numerosos organismos que pasan su ciclo de vida parcial o completo en los pastizales, algunas de éstas son de importancia comercial (Thayer *et al.*, 1975). Por otra parte, los pastos estabilizan y mantienen en el fondo los sedimentos, lo que juega un papel importante en la presencia de huracanes o tormentas. Las hojas disminuyen y retardan las corrientes y las olas, promoviendo la sedimentación de partículas e inhiben la resuspensión de materia orgánica e inorgánica (Phillips y Meñez, 1988).

Dada la importancia de estas especies, el conocimiento de la reproducción de estos organismos y de sus estructuras reproductoras, resulta de mayor importancia si se quiere preservar a estas especies.

Relaciones filogenéticas de los pastos marinos de la familia Hydrocharitaceae

La familia Hydrocharitaceae es diversa y cosmopolita con alrededor de 15 géneros y cerca de 100 especies (den Hartog, 1957; Tanaka *et al.*, 1997). De los géneros que contiene, sólo *Thalassia*, *Enhalus* y *Halophila* son totalmente marinos mientras que el resto comprende especies de agua dulce (den Hartog y Kuo, 2006).

La considerable diversidad ecológica y morfológica provoca confusiones en los tratamientos sistemáticos dentro de esta familia (Tanaka *et al.* 1997). Por ejemplo, dentro de las Hydrocharitaceae existe una gran diversidad en mecanismos de polinización (entomofilia, epihidrofilia, anemofilia e hipohidrofilia) (Tanaka, *et al.*, 1997; 2004). Para la taxonomía y evolución, la diversidad dentro de Hydrocharitaceae provee un sistema modelo excelente que demuestra la transición evolutiva de la vida terrestre a los hábitats acuáticos (Les *et al.*, 2006).

Las relaciones filogenéticas entre las familias Hydrocharitaceae y Najadaceae, como grupos hermanos, han sido aclaradas con evidencia anatómica, morfológica

y molecular (Shaffer-Fehre 1991a, b; Les *et al.*, 1993). Actualmente se ha sugerido que Najadaceae es un grupo que pertenece a la familia Hydrocharitaceae (Shaffer-Fehre, 1991a, b; Les *et al.*, 1997; Tanaka *et al.*, 1997; figura 1).

La filogenia molecular basada en el gen *rbcl* de cloroplasto y *matK* del intron de RNA de transferencia ha reconocido a las especies marinas de la familia Hydrocharitaceae como grupo monofilético (Les *et al.*, 1993; 1997; Waycott y Les, 1996; Tanaka *et al.*, 1997; figura 1).

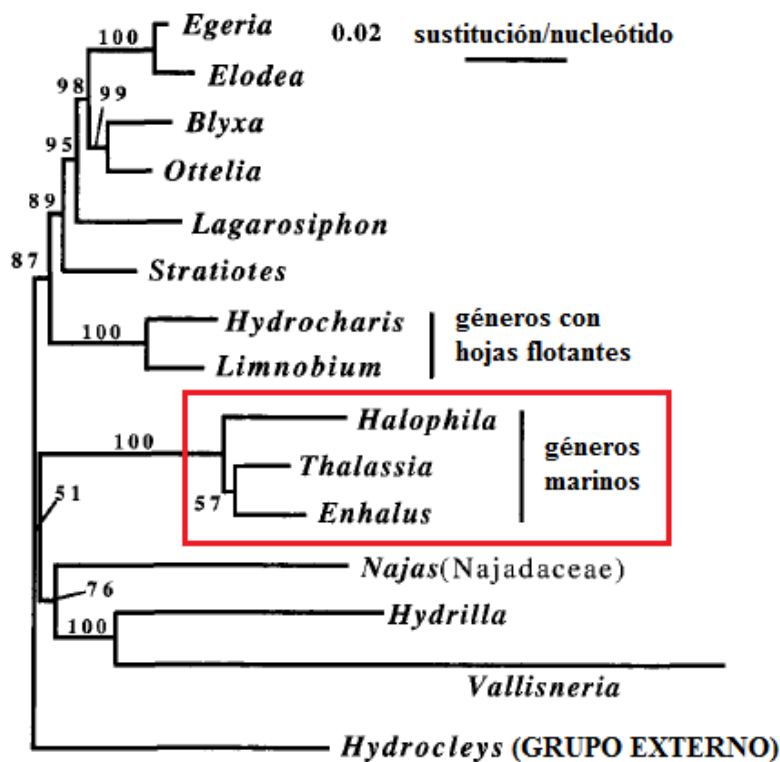


Figura 1. Cladograma basado en los genes *rbcl* de cloroplasto y *matK* del intron de RNA de transferencia que señala las relaciones entre la familia Hydrocharitaceae y Najadaceae y la monofilia dentro de la familia con énfasis en los pastos marinos (Modificado de Tanaka *et al.*, 1997).

Aunque los análisis moleculares señalan la monofilia en los pastos marinos de la familia Hydrocharitaceae, algunos autores continúan sugiriendo que las tres especies deberían de mantenerse en las subfamilias: Thalassioideae, Halophiloideae y que *Enhalus* pertenezca a Vallisnerioideae, debido a su

considerable diversidad ecológica y morfológica (den Hartog, 1970, 1977; Kuo y den Hartog, 2006).

El género *Halophila*

Actualmente, el género *Halophila* contienen 13 especies divididas en 5 secciones (Kuo y den Hartog, 2001) (tabla 1). De estos grupos, la sección *Halophila* ha presentado algunos problemas taxonómicos (den Hartog, 1970; Uchimura *et al.*, 2006).

Tabla 1. Especies de pastos marinos del género *Halophila*

Sección	Especies
Halophila	<i>H. australis</i> , <i>H. capricorni</i> , <i>H. decipiens</i> , <i>H. ovalis</i> , <i>H. hawaiiiana</i> , <i>H. johnsonii</i> , <i>H. minor</i> y <i>H. stipulacea</i>
Microhalophila	<i>H. beccarii</i>
Sipinulosae	<i>H. spinulosa</i>
Tricostata	<i>H. tricostata</i>
Americanae	<i>H. engelmannii</i> y <i>H. baillonis</i>

La taxonomía de *Halophila* se ha basado largamente en caracteres morfológicos vegetativos. Sin embargo, el rango de variación morfológica puede ser considerable, lo que trae consigo problemas taxonómicos (den Hartog 1970; Kuo *et al.*, 2006; Uchimura *et al.*, 2006; 2008). Por ejemplo, se ha mencionado a *Halophila ovalis* como un “complejo de especies” que contiene al menos 8 sinónimos específicos y 5 subespecies (den Hartog, 1970). Este “complejo” presenta un nivel amplio de variación morfológica, ya que también existe un rango de variabilidad en respuesta a diferentes factores ambientales en varios hábitats como son luz, temperatura y tipo de sedimentos (den Hartog, 1970, MacMillan,

1983, Annaletchumy *et al.*, 2005). Se ha discutido si las especies *H. ovata*, *H. minor* y *H. ovalis* son especies distintas o sólo variaciones morfológicas (den Hartog, 1957; 1970). Por otro lado, Waycott *et al.* (2002), indican que el estatus taxonómico de *H. hawaiiiana*, *H. johnsonii* y *H. euphlebia* necesita clarificación ya que no se distinguen genéticamente (ITS, espaciador del transcrito interno de DNA ribosomal nuclear) de *H. ovalis* a nivel molecular.

Se ha sugerido la necesidad de hacer estudios en donde se incluya un amplio rango de taxa de distintas regiones geográficas para entender mejor la relación entre la variabilidad morfológica, los parámetros ambientales y la posibilidad de que alguna variación pueda estar genotípicamente determinada (den Hartog, 1970).

H. decipiens es quizá el único pasto marino con distribución pantropical (den Hartog, 1970; York *et al.*, 2008). Esta distribución debe haber surgido recientemente en la historia geológica (Waycott *et al.*, 2002). Waycott *et al.* (2002) en un estudio molecular, no reporta diferencias en las secuencias de muestras del Caribe y alrededor del Indo-Pacífico, lo que podría indicar un salto de dispersión reciente a larga distancia entre los sistemas de océanos. Como otra característica, esta especie crece en un amplio rango de profundidad lo que facilita su localización (desde 1m en aguas turbias hasta 85 m en aguas muy claras).

Frecuentemente se encuentra a profundidades de 10-30 m (Phillips y Meñez, 1988).

Halophila decipiens, por ser una de las especies de *Halophila* más comunes, ésta ha sido muy estudiada en aspectos morfológicos, ecológicos y morfológicos comparativos dentro del género (*H. capricorni*: Larkum, 1995; *H. johnsonii* : York *et al.*, 2008; *H. baillonis*: Short *et al.*, 2006).

Por otro lado, estudios sobre el desarrollo son muy escasos e incompletos, tanto en la especie como en el género, por lo que es necesario completar y corroborar las características que se le han atribuido.

Se seleccionó a *H. decipiens* por ser la especie con más amplia distribución dentro de las plantas marinas del género y porque es la especie que tiene mayor

información (aunque incompleta) sobre su biología. Se pretende, que al ser estudiada extensivamente en aspectos de desarrollo, pueda ser usada como base (patrón) para posteriores investigaciones, y para encontrar aspectos sobre desarrollo que sean comparables con especies de esta familia, especialmente entre los tres géneros marinos, los cuales puedan ser un apoyo a la resolución de los problemas taxonómicos y filogenéticos.

Este trabajo investiga el desarrollo de fruto y semilla de *Halophila decipiens*, un pasto marino de la familia Hydrocharitaceae.

ANTECEDENTES

DESARROLLO DE FRUTO Y SEMILLA EN PASTOS MARINOS

En las plantas con flor, como son los pastos marinos, después de la fecundación, el ovario se desarrolla en un fruto y los óvulos en semillas. Las estructuras y desarrollo de los frutos y semillas son muy diversos en este grupo de plantas (Larkum *et al.*, 2006).

Las características estructurales más notables en el embrión de los pastos marinos y en general de las plantas acuáticas, es que el endospermo es de vida corta y se presenta un hipocótilo muy grande (Tomlinson, 1982) que es la estructura que acumula las reservas alimentarias.

Los óvulos en el grupo de pastos marinos de la familia Hydrocharitaceae

Dentro de la familia Hydrocharitaceae, los óvulos pueden ser anátropos u ortótropos, ambos crasinucelados y presentan dos tegumentos (Lakshmanan, 1970).

En *Enhalus acorioides*, los óvulos maduros presentan dos tegumentos, el interno consiste en tres capas celulares, mientras que el externo regularmente presenta cuatro. Mientras se va desarrollando la semilla, las dos capas más internas se aplastan y el tegumento externo muestra un gran número de cavidades llenas de aire (Kausik, 1940).

En *Thalassia testudinum*, en los óvulos post-antesis, el tegumento externo, que dará origen a la testa, está formado de 5-6 estratos celulares y el interno, que dará origen al tegmen, de 10-11 estratos (Jiménez, 2004).

Para *H. decipiens* y *H. johnsonii*, los óvulos son anátropos, bitégmicos y crasinucelados. En *H. decipiens*, la nucela está envuelta por dos tegumentos los cuales tienen dos capas excepto hacia la zona micropilar, donde el tegumento externo tiene de 3-4 capas (Lakshmanan y Poornima, 1991; York *et al.*, 2008)

Los ovarios premeióticos de *H. johnsonii* miden 500 micras de ancho y contienen de 10-15 óvulos que miden 150 micras de diámetro. En estado postmeiótico los óvulos presentan una tétrada lineal que en estado posterior de desarrollo contienen de 2-8 núcleos. Tanto *H. decipiens* y *H. johnsonii* difieren en que el megagametofito de *H. decipiens* presenta una grande y espaciosa bolsa calazal que está ausente en *H. johnsonii* (York *et al.*, 2008).

Los ovarios premeióticos de *H. decipiens* miden 250 micras de ancho y contienen de 20-30 óvulos que en promedio miden 75 micras de diámetro, contienen una célula madre de la megaspóra dentro de una bolsa calazal. Los ovarios postmeióticos contienen tétradas lineares. En un estado tardío el megagametofito contiene de 2-8 núcleos. Los óvulos fecundados miden 150 micras de diámetro, y contienen embriones en varios estados de desarrollo (York *et al.*, 2008).

FRUTO

El desarrollo y estructuras de los frutos en los pastos marinos son tan diversificados como sus patrones y estructuras florales (Kuo y den Hartog, 2006). Dentro de la familia Cymodoceaceae, el fruto presenta un pericarpio duro más o menos comprimido (*Cymodocea*, *Halodule* y *Syringodium*) o un endocarpio duro y un exocarpio carnoso, de los cuales cuatro lóbulos acunados se expanden por fuera (*Amphibolis*) o están compuestos por una bráctea carnosa que encierra los ovarios fecundados (*Thalassodendron*). Los frutos de esta familia no son dehiscentes (den Hartog y Kuo, 2006).

Dentro de la familia Zosteraceae se ha descrito con mayor detalle la anatomía del fruto de *Phyllospadix sp.* Durante el desarrollo de las semillas, el pericarpio se diferencia en un exocarpio suave, un mesocarpio esponjoso y en un endocarpio duro y fibroso. Cuando el fruto madura se desprende del espádice de la planta madre permaneciendo una cicatriz en su base. El endocarpio es el que forma el cuerpo principal de los dos brazos con cerdas rígidas e inflexibles que

proporcionan al fruto un excelente aparato de anclaje (Kuo *et al.*, 1990). El endocarpo consiste de células internas tubulares y células externas perpendiculares a las primeras. Tres de las cinco capas del endocarpio se encuentran muy comprimidas, de forma tubular y corren paralelo al eje longitudinal del embrión. Estas células presentan engrosamientos en sus paredes (no lignificados) con una lamela media lignificada. La capa interna del mesocarpio consiste de una capa de 4 a 8 células comprimidas, elongadas, rectangulares y con engrosamientos lignificados en las paredes. La capa externa del mesocarpio consta de algunas capas de células elongadas con engrosamientos no lignificados y orificios. Finalmente el exocarpio consta de una capa epidermal, esta epidermis y la porción externa del mesocarpio se desintegran gradualmente y no siempre están presentes en los frutos maduros (Kuo *et al.*, 1990). La composición de la pared del fruto es distinto en la región de la base a la del resto de la cubierta: sobre el hipocótilo no hay endocarpio ni cubierta seminal, en su lugar se encuentra una protección nucelar con una cadena de células con pigmentos que está conectada al fruto. Esta protección nucelar consiste en varias capas celulares con engrosamientos no lignificados en las paredes y normalmente llega a ser aplastada en el fruto maduro. Algunas veces estas células llegan a ser células de transferencia con finos crecimientos en la pared celular interna (Kuo *et al.*, 1990). La familia Posidoniaceae tiene frutos con un pericarpio carnoso y que flota (Kuo y McCombo, 1989).

En la familia Hydrocharitaceae, se han descrito pocos estudios detallados de frutos, y la mayoría, sólo corresponden a una etapa de desarrollo (fruto maduro). Se han descrito frutos en los tres géneros de pastos marinos: *Thalassia*, *Enhalus* y *Halophila* (Cunnington, 1912 en: Tomlinson, 1982; Orpurt y Boral, 1964; Kuo *et al.*, 1991; Lakshmanan y Poornima, 1991; Kuo y Kirkman, 1992; Kuo *et al.*, 1993; Jiménez, 2004,).

El fruto de *Thalassia hemprichii* es una cápsula con forma de domo con un pico estilar de 2-5 mm, se encuentra sujeto a un corto pedúnculo. En la superficie del fruto se observan numerosos tricomas y los frutos maduros se suelen separar de

la base del pedúnculo probablemente a través de la acción del oleaje (Kuo *et al.*, 1991).

En *Thalassia testudinum*, el fruto es una cápsula de forma elíptica a globosa con un pico estilar. La superficie del fruto es primero equinada convirtiéndose en tuberculada en la madurez. La capa interna del pericarpio se vuelve mucilaginoso conforme madura. El fruto se abre por medio de 5-8 valvas y dentro se producen por lo general 3 semillas, a veces 1 o 2 y rara vez hasta 6 (Orpurt y Boral, 1964).

Jiménez (2004), reporta que en *Thalassia testudinum* al comienzo del desarrollo del fruto, se observa el exocarpio con el inicio de la formación de protuberancias (las cuales presentan taninos), el endocarpio se presenta como un tejido blanco formado por varios estratos con grandes espacios intercelulares y el mesocarpio es de color verde. En frutos con semillas en etapas de desarrollo avanzadas y hasta semillas casi maduras, cesan de crecer las protuberancias, el endocarpio adquiere una consistencia gelatinosa y se localiza principalmente alrededor de las semillas desprendiéndose del mesocarpio. En la región basal del fruto donde se une al pedicelo y en el pedicelo mismo, se observa una gran cantidad de aerénquima. En el pedicelo este aerénquima está localizado tanto por arriba y por debajo de la zona de abscisión.

Troyo (2009) menciona que en *Thalassia testudinum*, la acumulación de taninos en las protuberancias del exocarpio, disminuye conforme el fruto madura y éstos sirven para evitar la depredación. También se identificó la presencia de cristales poligonales, cúbicos y rafidios en el exocarpio.

El fruto de *Enhalus acoroides* es una cápsula carnosaverrugosa con superficie equinada. La cápsula abre irregularmente para liberar las semillas angulares (Cunnington, 1912 en: Tomlinson, 1982).

En el género *Halophila*, los frutos son cápsulas carnosas con estilos persistentes y semillas globosas (Tomlinson, 1982). Los frutos son ovoides o globosos, rostrados, uniloculares con pericarpio membranoso (den Hartog, 1970). La anatomía de la pared del fruto sólo se han investigado en *H. tricostrata* y *H. ovalis* en fruto maduro (Kuo *et al.*, 1993, Kuo y Kirkman, 1992).

En *Halophila ovalis*, el fruto es protegido por un par de brácteas y la pared del fruto consiste en células alargadas parenquimatosas, hay una capa cuticular delgada pero visible la cual cubre el pericarpio del fruto. La pared externa de las células epidérmicas del pericarpio, está engrosada pero no lignificada. Los frutos tienen varias capas de células parenquimatosas, las cuales son más pequeñas que la epidermis del pericarpio. Las células internas son más pequeñas y contienen más granos de almidón que las externas. El número de semillas por fruto es de 1-16 (Kuo y Kirkman, 1992).

En *Halophila tricostata* Kuo *et al.* (1993) reportan que la pared del fruto consiste en células epidérmicas grandes y de 3-4 capas de células parenquimatosas. La pared externa de cada célula epidermal es engrosada pero no lignificada, por fuera se detecta una cubierta cuticular. La capa interna de células parenquimatosas es más pequeña en tamaño pero contiene más granos de almidón.

SEMILLA

Cubierta seminal

Kuo y Kirkman (1996) clasificaron tres principales tipos de semillas en relación con el almacenaje de nutrientes, la estructura de la cubierta seminal y germinación en los pastos marinos. El tipo I, donde las semillas tienen un pericarpio resistente o una distintiva cubierta seminal (*Zostera*, *Phyllospadix*, *Heterozostera*, *Cymodocea*, *Syringodium* y *Halodule*). El tipo II, donde las semillas tienen una cubierta membranosa como *Posidonia*, o sin un periodo de latencia como es *Enhalus* y *Thalassia*. El tipo III, donde las semillas que no tienen una cubierta seminal ni latencia pero que germinan en las plantas parentales (*Thalassodendron* y *Amphibolis*).

En *Thalassia testudinum*, en estado de embrión globular tardío, la parte calazal de la semilla presenta un mayor número de estratos celulares, produciendo una estructura semejante a un capuchón, en la testa se observan 10 estratos celulares, los dos o tres estratos celulares más internos tienen células más delgadas y alargadas mientras que los estratos más externos presentan células grandes más o menos esféricas. Conforme avanza el desarrollo, las células del

tegmen se comienzan a aplastar y a desaparecer en algunas zonas. En estados tardíos de desarrollo, la cubierta seminal se forma sólo por la testa y en la parte basal queda expuesta una parte del hipocótilo. La testa forma costillas arregladas irregularmente sobre la superficie y posee una microescultura papilosa (Jiménez, 2004).

En *Thalassia hemprichii*, la semilla es desnuda y no tiene una cubierta seminal distintiva, sólo una porción en la parte apical es cubierta por restos de pericarpio blando, también se distingue una capa cuticular discontinua y restos de tegumentos entre el hipocótilo y los restos de pericarpio, el tejido epidermal, el hipocótilo externo así como el pericarpio remanente, algunas veces presentan taninos. El haz provascular va de la base del embrión al centro del hipocótilo (Kuo *et al.*, 1991).

La composición y morfología de la semilla reportada para algunas especies del género *Halophila* parece ser similar: presentan una cubierta seminal formada por dos capas que envuelven al embrión, al hipocótilo y a un cotiledón curvo (Lakshmanan, 1963; den Hartog, 1970; Birch, 1981).

Las semillas de *H. engelmannii* tienen una cubierta compuesta por dos capas; la capa externa de la cubierta seminal presenta una reticulación rectangular y la capa interna es papirácea (McMillan, 1987).

Lakashmanan (1963) reporta que la cubierta seminal de *H. ovata* tiene dos capas que se desarrollan de los tegumentos externo e interno durante el desarrollo de las semillas. Los tegumentos presentan engrosamientos, y se ha demostrado que se presentan al inicio de los estados post-fecundación y más tarde llegan a ser comprimidos quedando solamente una capa de células del tegumento externo que permanecen intactas; las otras se desintegran para formar una capa papirácea discontinua.

En las semillas de *H. spinulosa*, el desarrollo y la expansión del cotiledón durante la germinación significa la desintegración de la testa, para facilitar el desarrollo temprano de tricomas que funcionan para anclarse al sustrato (Birch, 1981). La testa está característicamente esculpida con pequeñas proyecciones como clavijas (peg-like), de las cuales, se ha propuesto que tienen la función de proveer

una superficie de fricción contra el sustrato puesto que la cubierta seminal se pierde antes de la germinación (Birch, 1981).

H. ovalis presenta semillas con una testa con escultura más o menos rectangular parecida a *H. engelmannii*. La superficie de la cubierta seminal tiene una reticulación isométrica. La cubierta de la semilla consiste de varias capas celulares de pericarpio remanente y dos capas cuticulares de la cubierta seminal cubriendo las células epidermales del hipocótilo que contiene granos de almidón y menos cantidad de proteínas y lípidos (Kuo y Kirkman, 1992).

La cubierta de la semilla en *H. tricostata* que es una estructura muy compleja, consiste en restos de pericarpio y la cubierta seminal. Los remanentes de pericarpio se representan por varias capas de células que son aplanadas y paralelas a la superficie de la semilla. La cubierta seminal consiste en dos capas cuticulares delgadas; la superficie de la cubierta seminal presenta protuberancias finas y cada semilla está unida por un tallo a la pared del fruto (Kuo *et al.*, 1993).

Endospermo

Dentro de la subclase Alismatidae, existe una característica única entre las monocotiledóneas, y es la ausencia de tejidos de reserva (perispermo y endospermo) cuando el embrión está bien desarrollado y posee un cotiledón de almacenamiento. El endospermo puede ser sustituido por otros tejidos de almacenamiento como es: el calazospermo (Cyanastraceae), perispermo (Marantaceae) o una combinación de endospermo y perispermo (Zingiberaceae, Costaceae, y Cannaceae) (Danilova *et al.*, 1995).

Los pastos marinos son monocotiledóneas de la clase Helobiae, en la cual el desarrollo del endospermo es intermedio entre los tipos nuclear y celular, pero más tarde está ausente en la semilla madura (Tomlinson, 1982). El endospermo se desarrolla vía helobial en Hydrocharitaceae y vía endospermo nuclear en Zosteraceae, lo cual refuerza el concepto de polifilia en los pastos marinos (Tomlinson, 1982).

El endospermo de tipo helobial, se distingue por la formación de dos cámaras de endospermo. La cámara de endospermo calazal, frecuentemente denominada “aparato basal” y que normalmente se vuelve haustorial y no se divide. Y la

cámara de endospermo micropilar la cual es de mayor tamaño que la calazal y se somete a repetidas divisiones nucleares libres (Maheshwari, 1950; Johri, 1984).

Lakasmanan y Poornima (1991) reportan que en *H. decipiens* el núcleo del endospermo primario situado en la mitad superior del saco embrionario se mueve hacia la calaza y se divide cerca de las antípodas, resultando dos núcleos hijos de tamaño similar separados por una pared delgada, para diferenciar la cámara del endospermo calazal y la micropilar. El núcleo del endospermo calazal no se divide más, y se hipertrofia y gradualmente se desintegra. El citoplasma de la cámara calazal llega a ser denso, altamente vacuolado y tiene una apariencia fibrilar. En estado maduro la cámara calazal es completamente absorbida.

En el desarrollo del endospermo de *H. ovata*, el endospermo calazal (aparato basal), posee un citoplasma poco denso y vacuolado, se encuentra en contacto con las células nucleares las cuales van adquiriendo actividad meristemática y forman una masa de células que empujan hacia la parte donde se encuentra el aparato basal, hasta el punto en que sus paredes se rompen, migrando su contenido celular hacia la cámara calazal de endospermo (Lakshmanan, 1963).

Embrión

El embrión en los pastos marinos se distingue por la presencia de un hipocótilo muy expandido (Tomlinson, 1982), y en algunos pastos puede presentar o no radícula (Kuo y den Hartog, 2006). Trabajos sobre el desarrollo del embrión son escasos e incompletos.

En *Zostera* y *Heterozostera*, el embrión tiene un cotiledón alargado y un gran hipocótilo (Gibs, 1902). En Posidoniaceae, el embrión tiene un hipocótilo alargado y radícula corta. En la familia Cymodoceaceae, *Syringodium* sp. tiene radícula reducida y gran hipocótilo al igual que en *Halodule* (McMillan y Bragg, 1987).

En *Enhalus acorioides*, la primera división del cigoto ocurre después de que el núcleo del endospermo primario se ha dividido y los dos núcleos formados son separados por una pared transversal. Durante el desarrollo del embrión, se forma una célula basal que persiste hasta estados tardíos de desarrollo de la semilla y al final se hipertrofia. El endospermo es helobial por lo que se forman las cámaras micropilar y calazal. La cámara calazal donde no hay división celular constituye un

haustorio (aparato basal) que después es absorbido (Kausik, 1940). El embrión presenta un hipocótilo masivo. Se dice que la radícula no se desarrolla (Cunnington, 1912 en: Tomlinson, 1982).

En *Thalassia testudinum*, la primera división del cigoto es transversal y asimétrica. La célula apical es pequeña con núcleo prominente y dará lugar al cuerpo del embrión mientras que la célula basal que es grande y vacuolada ya no se divide y da origen al suspensor. En la semilla casi madura, el embrión presenta múltiples primordios foliares con depósitos de taninos. Las hojas presentan aerénquima y las más externas gránulos de almidón al igual que el hipocótilo, que es el principal tejido de reserva, no existe un meristemo radicular pero se desarrollan dos raíces adventicias (Jiménez, 2004).

En *Thalassia hemprichii*, el desarrollo de la semilla es similar que en *T. testudinum*, sólo que en *T. hemprichii* se encontró un par de primordios radiculares (Kuo *et al.*, 1991).

En el género *Halophila*, las semillas poseen un embrión con un distintivo primordio foliar protegido por un cotiledón curvo y un hipocótilo muy grande. La raíz primaria está ausente (den Hartog, 1970). Se han encontrado estas características en semillas maduras de *H. ovata* (Lakshmanan, 1963), *H. engelmannii* (McMillan, 1987), *H. spinulosa* (Birch, 1981), *H. decipiens* (Lakshmanan y Poornima, 1991), *H. ovalis* (Kuo y Kirkman, 1992) y *H. tricostata* (Kuo *et al.*, 1993). Aunque para esta última se han encontrado células meristemáticas localizadas al final del hipocótilo el cual parece ser el primordio radicular.

ESPECIE DE ESTUDIO

Halophila es uno de los géneros que contiene más especies dentro de los pastos marinos (Waycott *et al.*, 2002), Kuo y McComb (1989) reportan 13 especies.

La mayoría de las especies del género *Halophila* son restringidas en su distribución, pero el género es ampliamente distribuido en el mundo. Únicamente *H. decipiens* está distribuida tanto en el hemisferio norte como en el sur, a lo largo de las costas tropicales y subtropicales de los océanos Índico, Pacífico así como

en el mar del Caribe (den Hartog, 1970; den Hartog y Kuo, 2006); éste es el único pasto marino que puede ser considerado como pantropical.

En la región del Caribe se encuentran cuatro especies del género: *H. engelmannii*, *H. decipiens*, *H. johnsonii* (sólo en el Este de Florida) y *H. baillonii* (Kuo y den Hartog, 2001). Recientemente se ha encontrado *H. stipulacea* en Granada (Ruiz y Ballantine, 2004) y Dominica (Willette y Ambrose, 2009), y *H. ovalis* en las Antillas (Short *et al.*, 2010).

La morfología del género es única entre los pastos marinos debido a que presentan hojas pecioladas carentes de una vaina (den Hartog, 1970). Las laminas foliares son ovadas, elípticas, lanceoladas o lineares con una vena media y venas intramarginales conectadas por venas cruzadas. Las flores son cubiertas por dos brácteas espatales. La flor masculina es pedicelada, tiene tres tépalos, estambres con tres anteras sésiles, los granos de polen son elipsoides y se pueden agrupar en cadenas. Los frutos son de elipsoides a globosos y contienen numerosas semillas globosas (Short *et al.*, 2001).

Halophila decipiens Ostenfeld

Las plantas crecen comúnmente de 1 a 30 metros de profundidad y hasta a 85 m (dependiendo de la transparencia del agua). Es una especie pantropical y está ampliamente distribuida en el Océano Índico y las partes tropicales de los Océanos Pacífico y Atlántico occidental (den Hartog, 1970; Phillips y Meñez, 1988). Es una planta monoica, los rizomas son muy delgados y frágiles. La lámina foliar de 1-2.5 mm de anchos 3-6 mm de longitud. Margen de las hojas finamente aserrado, ápice obtuso o redondeado; base cuneada; de 6-9 pares de venas cruzadas, peciolo de 3-15 mm de longitud (Phillips y Meñez, 1988).

Las flores unisexuales están en el mismo eje floral y cubiertas por una spatela. Las flores masculinas tienen tépalos de 1.5 mm de longitud y las anteras 1 mm. La flor femenina tiene tres estilos 1.5-2.5 mm. El fruto maduro es elipsoide, 1.5 mm de longitud y 1 mm de ancho. Las semillas son ovoides, de 0.2-0.4 mm de diámetro (Kuo y den Hartog, 2001).

Estatus de la biología reproductiva de frutos y semillas en *Halophila*

La anatomía de los frutos y semillas en especies de *Halophila* se han investigado con mayor detalle sólo en dos especies del género: en *Halophila ovalis* (Kuo y Kirkman, 1992) y *Halophila tricostata* (tabla 2) (Kuo *et al.*, 1993).

El desarrollo del endospermo y embrión en la semilla se han estudiado en *Halophila decipiens* (Laksmanan y Poornima, 1991) y en *Halophila ovata* (Lakshmanan, 1963). Estos trabajos no están acompañados con el material ilustrativo ideal donde se observe el proceso de desarrollo y tampoco para realizar comparaciones, porque principalmente presentan dibujos sin fotos ó sin mostrar las etapas del desarrollo (tabla 2).

Las descripciones del género *Halophila* indican que los frutos maduros contienen semillas que poseen un embrión con un distintivo primordio foliar protegido por un cotiledón curvo y un hipocótilo muy grande. La cubierta de la semilla consiste en varias capas celulares: capas remanentes del fruto (pericarpio) y dos capas que conformaban los dos tegumentos en el óvulo (Laksmanan, 1963; McMillan, 1987; Kuo *et al.*, 1993; Kuo y Kirkman, 1992).

Tabla 2. Trabajos sobre desarrollo y morfología de frutos y semillas en el género *Halophila*

Características	<i>H. ovalis</i> (Kuo y Kirkman, 1992)	<i>H. tricostata</i> (Kuo <i>et al.</i> 1993)	<i>H. ovata</i> (Swamy y Lakshmanan, 1962; Lakshmanan, 1963)	<i>H. spinulosa</i> (Birch, 1981)	<i>H. decipiens</i> (Lakashmanan y Poornima, 1991)	<i>H. engelmannii</i> (McMillan, 1986, 1987)
óvulo			Con óvulos atrofiados. Crecimiento exagerado de la nucela en la zona calazal			Con óvulos atrofiados. crecimiento exagerado de nucela en la zona calazal
Semilla estudio realizado en semilla:	Madura	Madura	Desarrollo	Madura	Desarrollo	Madura

Tabla 2. Continuación...

Características	<i>H. ovalis</i> (Kuo y Kirkman, 1992)	<i>H. tricostrata</i> (Kuo et al. 1993)	<i>H. ovata</i> (Swamy y Lakshmanan, 1962; Lakshmanan, 1963)	<i>H. spinulosa</i> (Birch, 1981)	<i>H. decipiens</i> (Lakashmanan y Poornima, 1991)	<i>H. engelmannii</i> (McMillan, 1986, 1987)
Cotiledón	Curvo	Curvo	Curvo	Curvo	Curvo	
Hipocótilo	Hipocótilo expandido	Hipocótilo expandido				
Suspensor			Unicelular		Unicelular	
Superficie seminal	Reticulada	Protuberancias		Protuberancias		Reticulada
Cubierta seminal	2 capas cuticulares	2 capas cuticulares	1 capa celular (exotesta) y capa papirácea.			1 capa celular (exotesta) y capa papirácea
Otros componentes que cubren la semilla	Restos de pericarpio compacto	Restos de pericarpio formando dos capas celulares				
Material de reserva	Almidón, proteínas, lípidos en hipocótilo	Almidón, proteínas y lípidos en el hipocótilo	Almidón en hipocótilo			
endospermo			Helobial		Helobial	
otros	Posible primordio radicular		Restos nucleares en la cámara de endospermo en la calaza.		Se forma una cresta anular que se diferencia en procambium	
Fruto maduro o en etapas de desarrollo	Maduro	Maduro				Maduro
Epidermis	Células engrosadas no lignificadas	Células engrosadas no lignificadas				

Parénquima	Células pequeñas aplanadas con más almidón que la epidermis	3-4 capas celulares con mayor almidón que la epidermis				El pericarpio membranoso y el endocarpio es carnoso
------------	---	--	--	--	--	---

Si bien, la información tanto de frutos como de semillas de los miembros de esta familia es escasa y la mayor parte de los estudios se restringe a frutos y semillas maduros. Aunado a esto, existen problemas de concepto en la denominación de estructuras, principalmente en la semilla.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Describir el desarrollo del pericarpio y semilla de *Halophila decipiens*

Objetivos particulares

Fruto

- Describir las capas celulares que conforman el pericarpio así como su modificación durante el proceso de desarrollo.

Semilla

- Describir el desarrollo del endospermo y el embrión.
- Describir las capas que conforman la cubierta seminal así como la microescultura de la semilla.
- Determinar el material de reserva que presenta el fruto y la semilla, y su degradación conforme el desarrollo.

ÁREA DE ESTUDIO

Las muestras de frutos de *H. decipiens* se colectaron en Septiembre del año 2006, en el mar del Golfo de México de Puerto Progreso en Mérida Yucatán, en las coordenadas 27° 17' 33.22" N y 89° 39' y 55.17" O (fig. 2). Aproximadamente a 1 Km de la costa.



Figura 2. Mapa de sitio de estudio en Puerto Progreso, Mérida Yucatán

Las colectas se realizaron a profundidades alrededor de 5 a 6 metros. Estos pastos crecen junto con macroalgas durante primavera y verano, y están ausentes durante otoño e invierno.

El material de colecta se fijó en FAA en el sitio de colecta y se trasladó a la estación de Puerto Morelos, Quintana Roo del ICMYL de la UNAM para su separación. Posteriormente, las muestras ya fijadas se trasladaron a la Facultad de Ciencias de la UNAM, para su posterior procesamiento.

METODOLOGÍA

Fijación

Las distintas etapas de los de los frutos se fijaron en FAA (formol, ácido acético, alcohol 96% y agua destilada, 1:0.5:5:3.5).

Deshidratación

Las muestras se deshidrataron en alcoholes etílicos graduales 70%, 85%, 96% y 100%, durante dos horas en cada concentración.

Separación por etapas

Los frutos se separaron de las plantas y se dividieron por etapas según su tamaño, esperando que estos reflejaran diferentes etapas de desarrollo. Se formaron cinco etapas que van de 1 a 3 mm, con 0.5 mm de diferencia entre cada categoría. La primera etapa en la serie corresponde a los óvulos maduros (flor en antesis) y las etapas restantes conforman los diferentes estados de desarrollo de los frutos de *H. decipiens*.

Etapas	Tamaño (milímetros)
I	1-1.4
II	1.5-1.9
III	2-2.4
IV	2.5-2.9
V	3-3.4

Inclusión

El material deshidratado se sometió a mezclas de etanol absoluto y LR White a distintas proporciones: LR White-etanol 1:3, 1:1 y 3:1 por una hora en cada tratamiento.

Las muestras se incluyeron en LR White puro en cápsulas de gelatina y se polimerizaron en una estufa a 59°C por 24 horas.

Cortes

Mediante un microtomo de rotación RMC MT990 se obtuvieron cortes seriados de 1-2 μ m de grosor con ayuda de cuchillas de vidrio. Los cortes se flotan en agua

destilada y se colocaron en portaobjetos y posteriormente se dejaron secar en una platina caliente.

Tinción

Los cortes se tiñeron con azul de toluidina al 0.5 %.

Las muestras obtenidas se observaron al microscopio óptico Standard 25ICS y posteriormente se tomaron fotomicrografías.

Observación de microescultura de fruto y semilla (MEB)

Las muestras de frutos se deshidrataron en alcoholes graduales hasta alcohol absoluto. Se desecaron a punto crítico con CO₂ y fueron cubiertas con oro para la observación de la microescultura al microscopio electrónico de barrido (MEB).

Pruebas histoquímicas

Para observar si los frutos y las semillas contenían almidón como material de reserva, los cortes en LR White se expusieron a la prueba histoquímica de lugol para su detección.

RESULTADOS

FRUTO

Micromorfología del fruto

El fruto de *H. decipiens* es ovoide y presenta un estilo persistente (fig. 3-A). La superficie es lisa y presenta ondulaciones dadas por el relieve de las células tangenciales del pericarpio (fig. 3-B). La pared del fruto está formada por células parenquimatosas que presentan gránulos de almidón (fig. 3-C). Las células que conforman la pared son más grandes en la epidermis y más comprimidas y aplanadas hacia el interior (figs. 3-C y D).

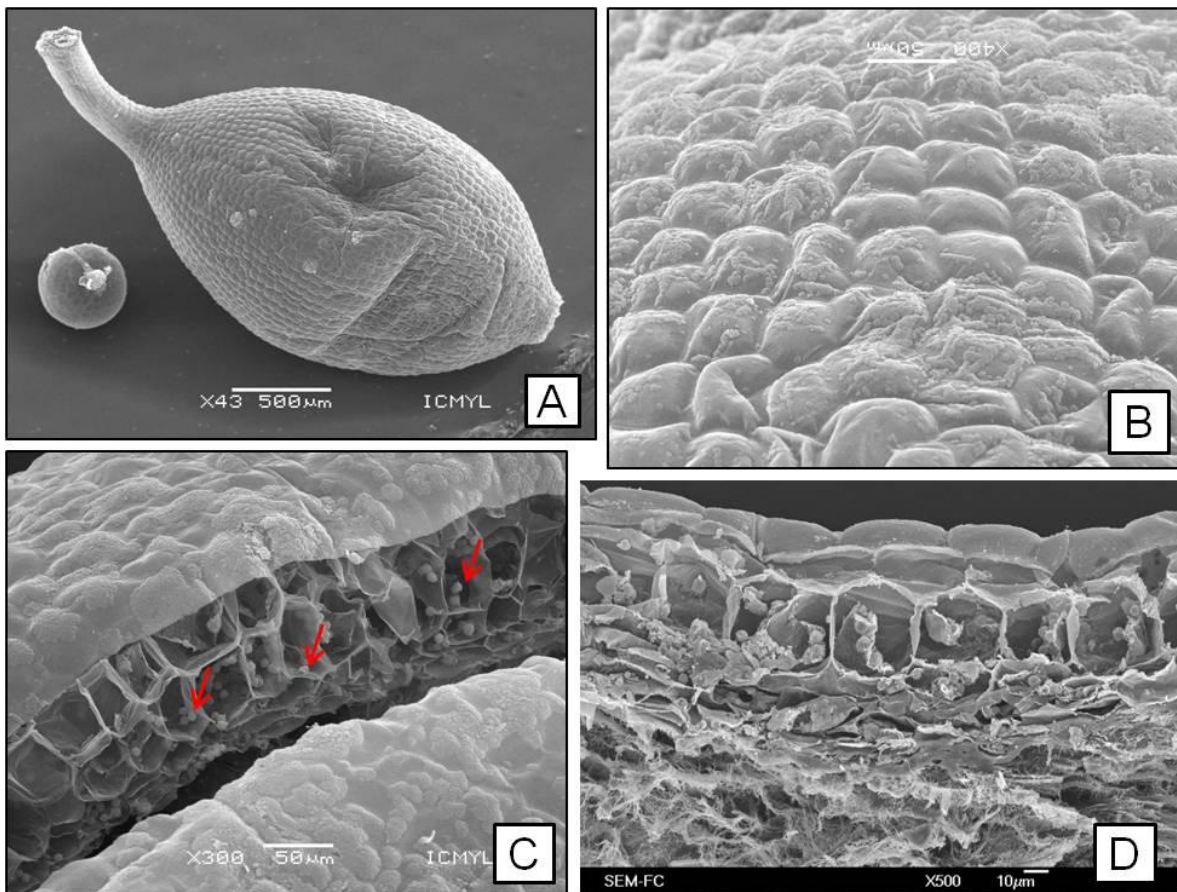


Figura 3. MICROMORFOLOGÍA DEL FRUTO (MEB). A. El fruto con estilo persistente. B. La microescultura es lisa ondulada y está dada por las paredes tangenciales de la epidermis. C. La pared del fruto presenta gránulos de almidón (flechas). D. La pared con células de mayor tamaño hacia el exterior.

Desarrollo del pericarpio

La pared del ovario de una flor en antesis consta de cuatro estratos celulares. La epidermis externa está formada por células parenquimatosas de mayor tamaño que el resto de las células de la pared y una cutícula hacia el exterior. Una enorme vacuola ocupa casi todo el volumen celular y los escasos gránulos de almidón se ubican entre el tonoplasto y la membrana celular. Por debajo de la epidermis hay una capa media monoestratificada con las mismas características que la epidermis pero con células un poco más pequeñas. Continúan dos estratos de células aplanadas rectangulares con el eje periclinal más grande que el anticlinal. Finalmente se encuentra una zona, posiblemente de mucílago, en la pared interna del carpelo y que delimita el lóculo donde se localizan los óvulos. Hay un mayor número de gránulos de almidón en las células internas del pericarpio (fig. 4-A).

No sabemos si el origen de esta capa supuestamente de mucílago es secretada por las células de la pared del ovario, de las placentas parietales del óvulo ó de la exotesta de la semilla.

En un fruto joven, el pericarpio presenta cinco estratos celulares, con un estrato más de los que se encuentran en la pared del ovario. Así, el pericarpio tiene una epidermis con una cutícula externa, una capa media monoestratificada, una capa interna con tres estratos celulares aplanados y restos de mucílago. Los gránulos de almidón siguen concentrándose en los estratos celulares internos (fig. 4-B).

El pericarpio en un fruto maduro aumenta los estratos celulares en la capa media. Se forma por la epidermis con cutícula, de dos a tres estratos en la capa media y la capa interna con tres estratos de células aplanadas internas y que se aplanan aún más; la zona con los restos de mucílago sigue siendo evidente y el almidón se distribuye con el mismo patrón (figs. 3-C y 4-C).

Algunos frutos no conservan la misma estratificación de la capa media, en algunas partes de la pared se presentan hasta cinco estratos de células, mientras que en otras se encuentran de dos a tres estratos (fig. 4-D).

La prueba histoquímica de lugol para almidón, también muestra que éste se encuentra en mayor concentración en las células internas del pericarpio (fig. 4-E).

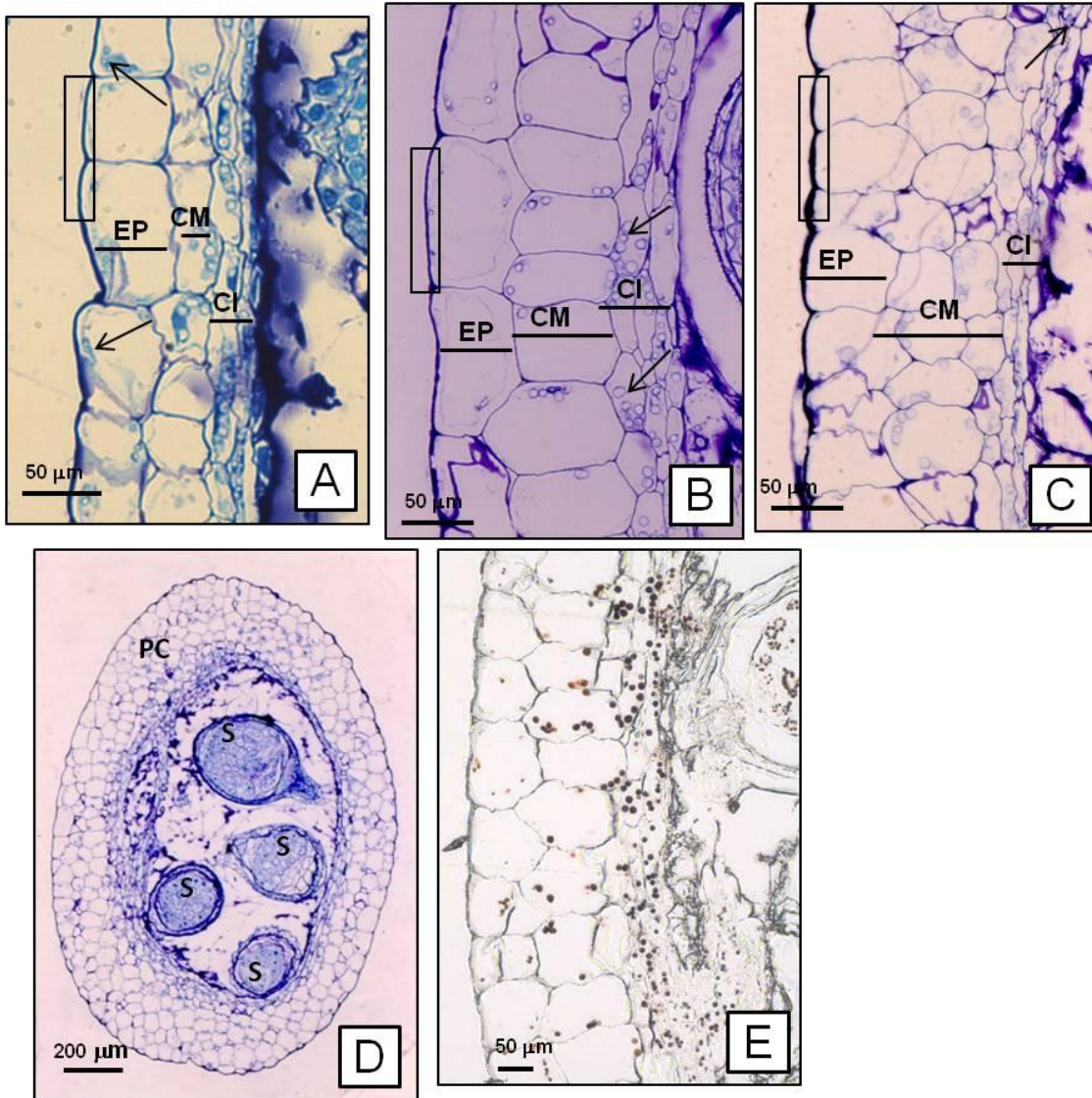


Figura 4. DESARROLLO DEL PERICARPIO. Secciones longitudinales de la pared del ovario y fruto en diferentes etapas de desarrollo. A. Pared del ovario formado por una epidermis, una cutícula externa (rectángulo) y algunos gránulos de almidón (flechas), una capa media de células más pequeñas, una capa interna con dos estratos de células aplanadas y restos de mucílago. Los gránulos de almidón se concentran en los estratos internos. B. Pericarpio joven, epidermis con cutícula (rectángulo), una capa media, una interna con tres capas de células aplanadas y con mayor cantidad de almidón (flechas). C. Pericarpio maduro. Epidermis con cutícula externa (rectángulo), capa media (3-5 estratos), la interna (3 estratos) con células aplanadas y mucílago en la pared interna del lóculo. D. Fruto con el grosor del pericarpio irregular. E. Gránulos de almidón que tienen mayor concentración en el pericarpio interno (prueba histoquímica con lugol). CI-Células internas, CM-capa celular media, EP-epidermis, PC-pericarpio, S-semilla.

SEMILLA

Micromorfología de la semilla

Las semillas de *H. decipiens* son ovoides y apiculadas en la parte de la calaza (fig. 5-A).

La microescultura de la semilla es ligeramente reticulada, en ella se marcan las paredes tangenciales de las células hexagonales elongadas de la testa (fig.5-B).

La cubierta seminal se observa como un conjunto de capas papiráceas, morfología dada por cutículas y paredes celulares (fig. 5-C). La capa celular más externa corresponde a la exotesta y presenta una cutícula (fig. 5-D).

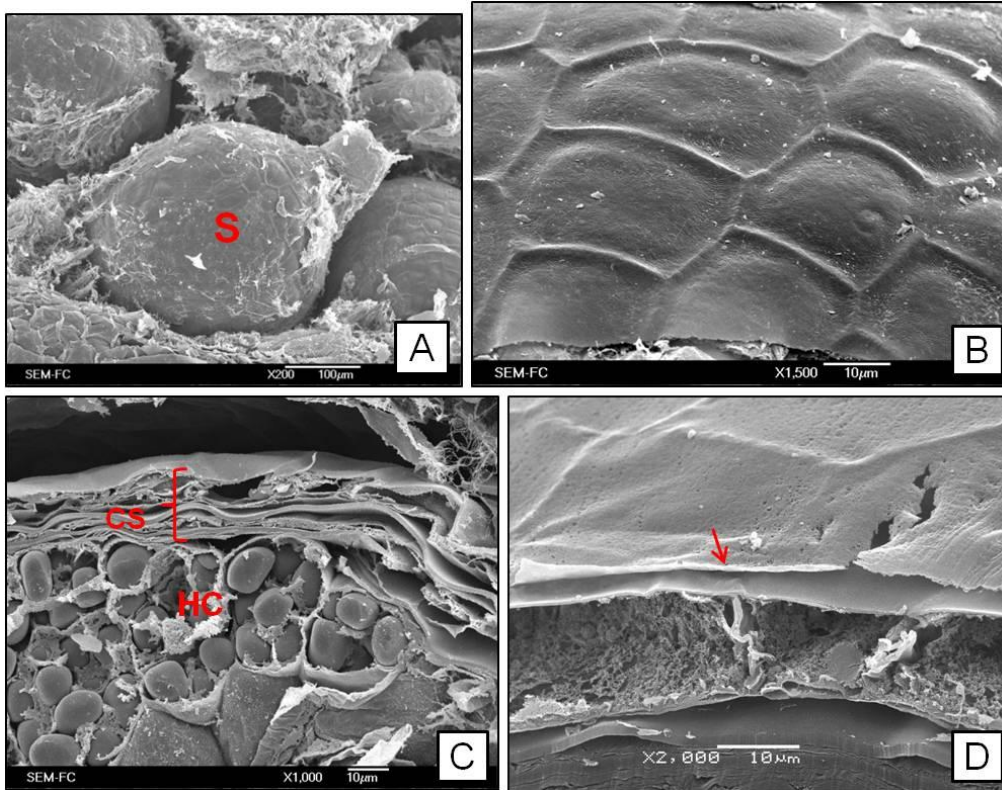


Figura 5. MORFOLOGÍA DE LA SEMILLA (MEB). A. Semilla ovoide y apiculada en el interior del ovario. B. Microescultura ligeramente reticulada donde sobresalen las paredes tangenciales de las células hexagonales de la testa C. Cubierta seminal en una semilla madura; se observa como un conjunto de capas papiráceas D. Exotesta con una cutícula externa (flecha). CS-Cubierta seminal, HC-hipocótilo, S-semilla.

Desarrollo de la cubierta seminal

El óvulo de *H. decipiens* antes de la fecundación, posee un tegumento externo que en la semilla formará la testa y un tegumento interno que formará el tegmen. Cada tegumento presenta dos capas de células (fig. 6-A).

En una semilla joven, cuando el embrión es globular, la cubierta de la semilla está constituida por tegmen y testa. La cubierta de la semilla desde el interior hacia el exterior, está formada por una cutícula que colinda con la cara interna seguida de dos estratos de células paralelas a la superficie de la semilla, las cuales son alargadas y aplanadas, éstas corresponden al tegmen (fig. 6-B). En seguida se presenta una cutícula gruesa con ondulaciones a lo largo de la semilla (Figs. 6-C y D). Después hay dos estratos de células, paralelas a la superficie de la semilla y que son más alargadas que las del tegmen, éstas corresponden a la testa (figs. 6-B y E). Finalmente, en la superficie de la semilla, adyacente a la última capa celular (exotesta), se encuentra un depósito de sustancias, como pequeñas gotas que cubren toda la semilla (fig. 6-E).

En un estado de desarrollo avanzado, la cubierta de la semilla se forma por la exotesta y dos cutículas separadas por restos de paredes celulares. Las células del tegmen han degenerado, lo que provoca que las dos capas cuticulares que se encontraban en las paredes tangenciales externas del tegmen se junten, y entre ellas queden remanentes de paredes celulares que correspondían al mismo tegmen. La testa se forma únicamente por la capa externa de células (exotesta), las cuales son una línea de células alargadas muy bien definidas (fig. 6-F).

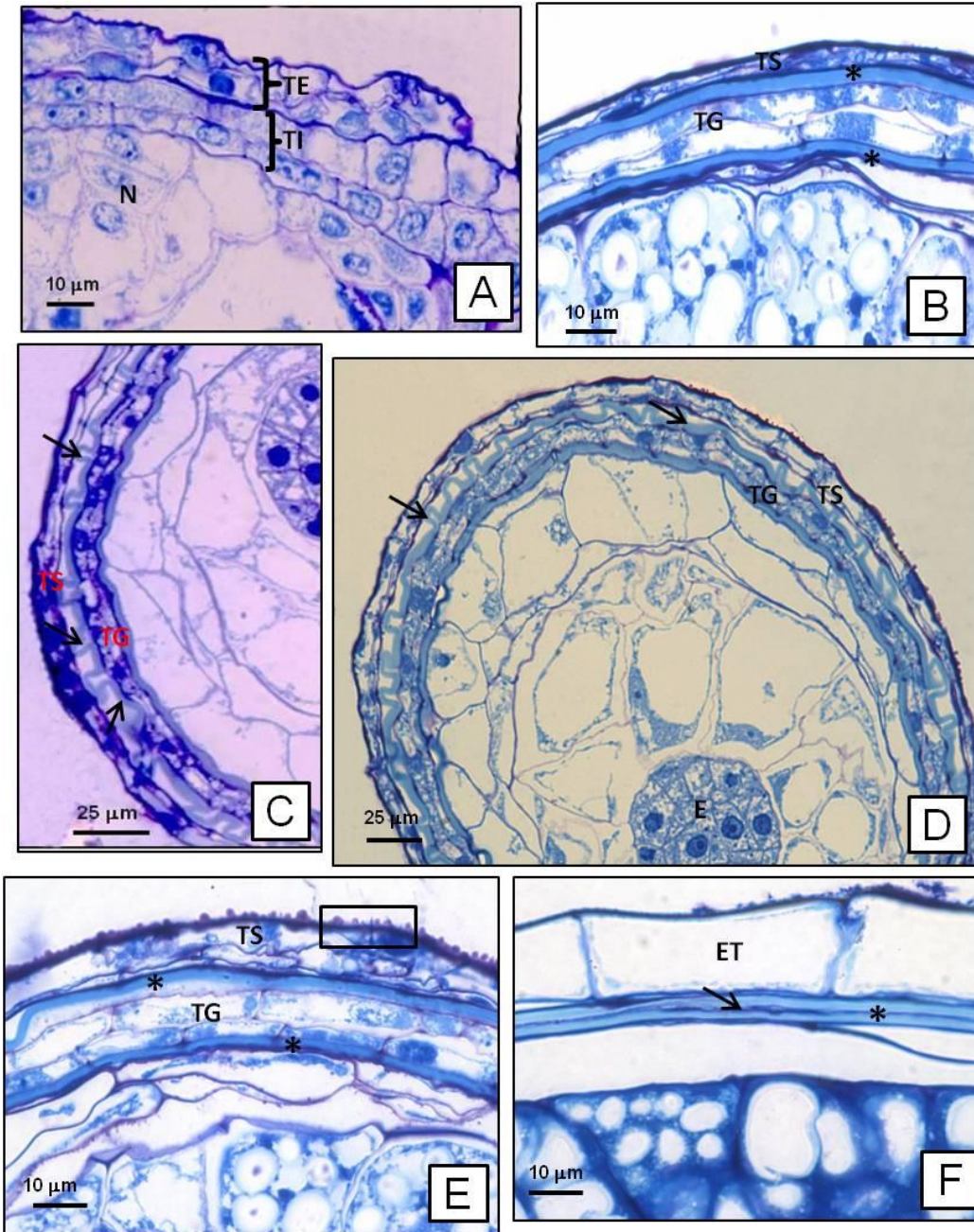


Figura 6. DESARROLLO DE LA CUBIERTA SEMINAL. Secciones longitudinales de óvulo (A) y semillas (B-F) en distintas etapas de desarrollo. A. Tegumentos del óvulo. Cada tegumento con dos estratos celulares. B. Pared de semilla joven que se forma de adentro hacia afuera por tegmen, dos cutículas (asteriscos) y la testa. C y D. Cubierta de la semilla. La cutícula que se encuentra entre la testa y el tegmen presenta ondulaciones a lo largo de la semilla (flechas). E. Testa, tegmen, y dos cutículas gruesas (asteriscos). La exotesta presenta un depósito de sustancias (rectángulo). F. Cubierta seminal en semilla donde ya sólo persiste la exotesta, dos capas cuticulares (asterisco) separadas por restos de paredes celulares del tegmen (flecha). N-nucela, ET-extotesta, TE-tegumento externo, TG-tegmen, TI-tegumento interno, TS-testa.

EMBRIOLOGÍA

Endospermogénesis

El saco embrionario de *H. decipiens* antes de la fecundación está constituido por dos células sinérgidas, la ovocélula, y juntas forman el aparato del huevo en el extremo micropilar. La célula central con dos núcleos polares y las antípodas que se encuentran arregladas en forma de triángulo en el extremo calazal (fig. 7-A). Cuando ocurre la doble fecundación, una de las células espermáticas se une con la célula central que tiene los dos núcleos polares, mientras el otro núcleo espermático se fusiona con la ovocélula para formar el cigoto.

Cuando ocurre la fusión de los núcleos polares con una de las células espermáticas comienza el desarrollo del endospermo. El núcleo primario del endospermo, resultado de la triple fusión, migra hacia la parte calazal y se divide por cariocinesis sin citocinesis resultando dos núcleos prominentes de igual tamaño. Muy pronto los núcleos se celularizan mediante una pared delgada, para formar dos células (cámaras) (fig. 7-B). La cámara calazal es pequeña y presenta un citoplasma denso, mientras que la cámara micropilar es más grande y tiene una vacuola que ocupa la mayor parte de la cámara por lo que el citoplasma se encuentra cerca del núcleo adyacente a la pared que las divide. En este estadio, las antípodas aún persisten (fig. 7-B).

El cigoto se divide y en la etapa de proembrión tricelular, el protoplasto de la célula que forma la cámara micropilar comienza a acomodarse en la periferia (figs. 7-C y D). y las antípodas comienzan a degenerar (Fig. 7-D). En esta etapa, La célula de la cámara calazal presenta un citoplasma denso, ya no se divide más y posteriormente degenerará; las antípodas, aunque degeneradas, persisten sus restos celulares (fig. 7-D).

A continuación, el núcleo del endospermo micropilar tiene repetidas divisiones mitóticas (cariocinesis) dando origen a una serie de núcleos libres, que se acomodan en la periferia, en un cordón protoplasmático. La cámara calazal todavía es evidente (fig. 7-E).

Cuando el embrión toma la forma globular, los núcleos del endospermo empiezan a celularizarse a partir de la región más próxima al micrópilo (fig. 7-F) y continúa la

citocinesis hacia la zona calazal y de afuera hacia adentro (fig. 8-A). La cámara calazal ha sido absorbida por completo y ya no se observa.

En etapa de embrión globular tardío, el endospermo termina de celularizarse y comienza a degradarse para sustentar el desarrollo del embrión (Fig. 8-B). En estados posteriores del desarrollo, cuando el meristemo apical y el cotiledón del embrión se han diferenciado perfectamente, sólo quedan restos del endospermo en forma de células aplastadas (figs. 8-C y D).

Este tipo de desarrollo del endospermo se conoce como de tipo helobial.

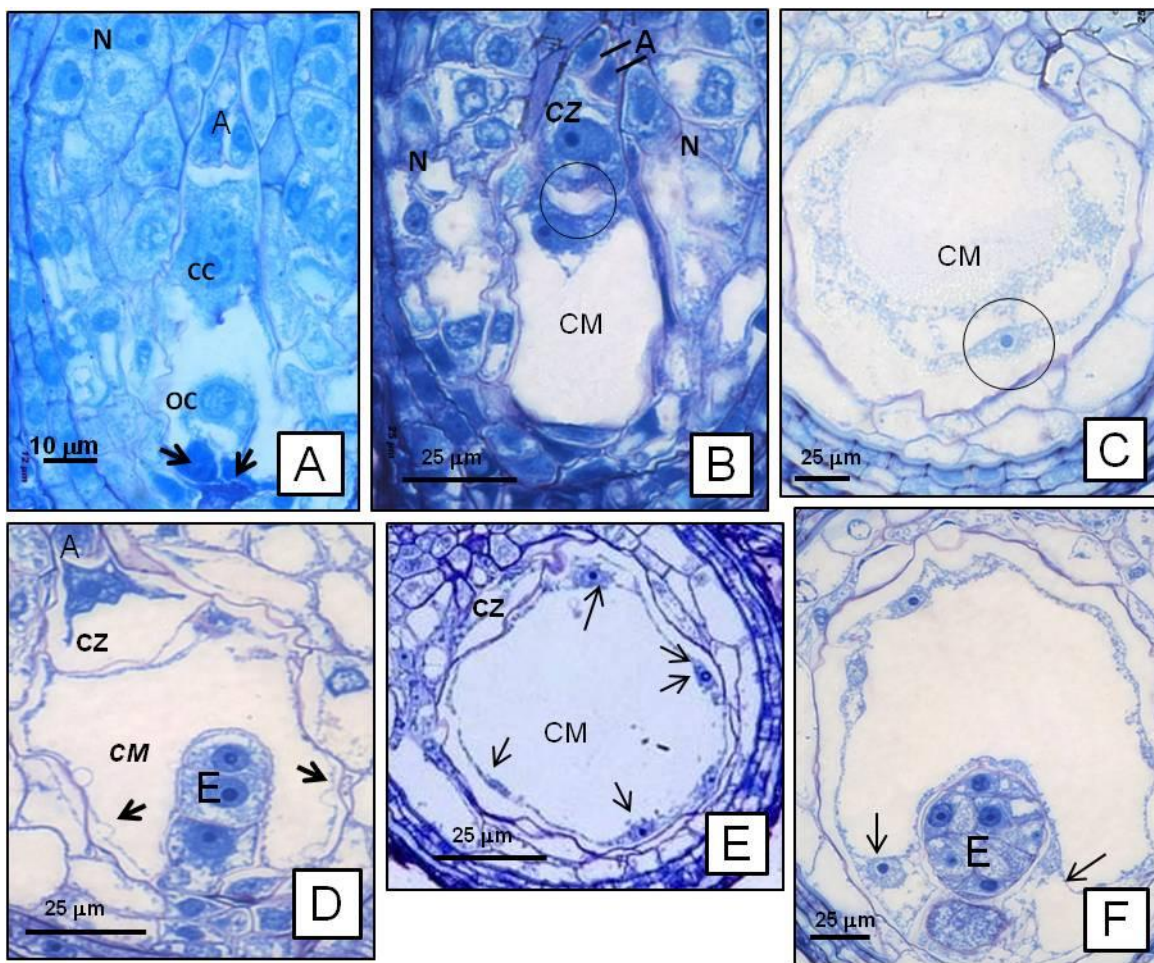


Figura 7. ENDOSPERMOGÉNESIS. Secciones longitudinales de óvulo (A) y semillas (B-F) en estados tempranos de desarrollo de *H. decipiens*. A. Saco embrionario, las flechas señalan las sinérgidas. B. Comienzo del desarrollo del endospermo, cámaras separadas por una pared (círculo). C. Núcleo de la cámara micropilar (círculo) y su protoplasto acomodándose en la periferia. D. Embrión en etapa tricelular. Cámara micropilar con cordón protoplasmático en la periferia (flechas) y cámara calazal degenerada. Las antípodas persisten. E. Núcleos libres (flechas) del endospermo periférico de la cámara micropilar. F. Celularización del endospermo comenzando por el extremo micropilar (flechas).

A—antípodas, CC- célula central, CM-Cámara micropilar, CZ-cámara calazal, E-embrión, N-nucela, OC-ovocélula.

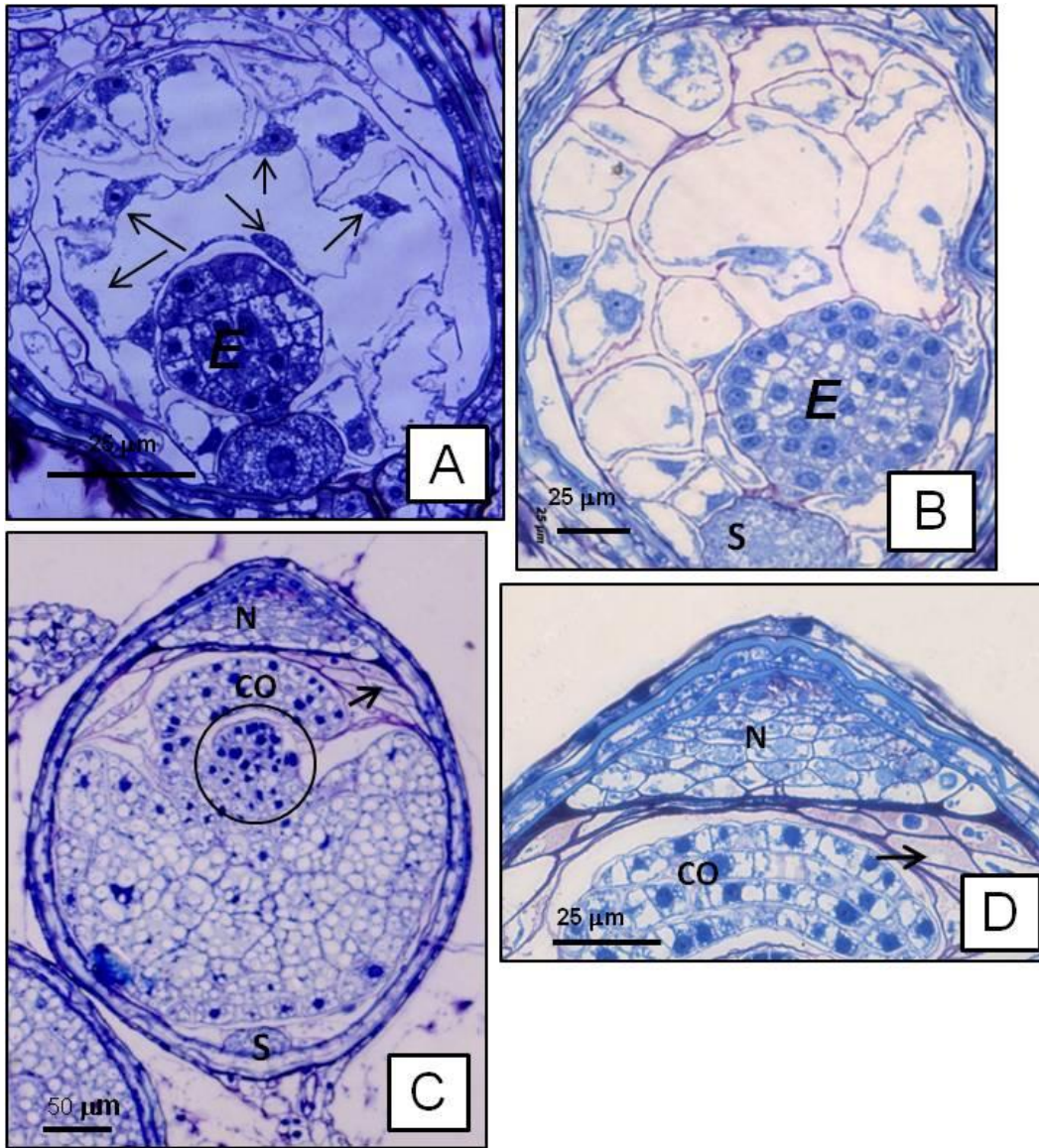


Figura 8. ENDOSPERMOGÉNESIS. Secciones longitudinales de semillas en diferentes etapas de desarrollo. A. Citocinesis del endospermo de afuera hacia adentro, los núcleos del centro todavía no presentan pared (flechas). B. Endospermo totalmente celularizado y embrión globular tardío. C. Semilla en etapa avanzada del desarrollo. Meristemo apical (circulo) y cotiledón diferenciado, restos de endospermo (flecha). D. Extremo calazal de la semilla donde se localiza la nucela y restos de endospermo (flecha).

E-Embrión, CO-cotiledón, N-nucela, S-suspensor.

Embriogénesis

El desarrollo del embrión comienza con la primera división del cigoto que es transversal y forma una célula apical (*ca*) y la basal (*cb*); esta última es de mayor tamaño y presenta un núcleo muy prominente, ya no se divide más y dará origen al suspensor, mientras que la célula apical se encargará de formar el cuerpo del embrión (fig. 9-A).

Posteriormente la célula apical *ca* se divide transversalmente para formar las células *cc* y *cd*, en esta etapa de embrión bicelular, el suspensor unicelular comienza a aumentar su tamaño (fig. 9-B).

En seguida, la célula *cd* tiene una división transversal que forma a las células hijas *m* y *ci* resultando un embrión tricelular, mientras que el suspensor unicelular continúa aumentando su tamaño y es más grande que el cuerpo del embrión (fig. 9-C).

A continuación, la célula *m* tiene una división longitudinal formando una fila de dos células al mismo tiempo que la célula *cc* también presenta una división longitudinal. El resultado es el cuadrante *q*. Poco después de este paso, la célula *ci* se divide para formar las células *n* y *n'*. después de esta etapa, el suspensor posee un núcleo prominente pero la célula ya no aumenta su tamaño (fig. 9-D).

Posteriormente la célula *n* se divide longitudinalmente, mientras que la célula *n'* que se encuentra adyacente al suspensor, se divide transversalmente para formar las células *o* y *p*, lo que resulta en un embrión de 8 células (fig. 9-E).

En estadios posteriores, la fila *n* comienza a dividirse longitudinalmente al igual que la fila *m*, y la fila del cuadrante *q* presenta divisiones longitudinales y transversales (fig. 9-F). En una etapa más avanzada, el embrión comienza a perder su forma globular para iniciar su elongación con una actividad metabólica alta lo que se supone por la presencia de núcleos prominentes. El suspensor unicelular comienza a perder su forma y se va aplastando por el embrión en crecimiento (figs. 9-G, H y 10-A).

En la parte apical del embrión se observan células con núcleos muy teñidos que corresponden a la diferenciación del meristemo apical y el cotiledón, mientras que la parte basal que corresponde a la parte hipocotilar, continúa su crecimiento

radial (fig. 10-B). El cotiledón se alarga y comienza a curvarse cubriendo al meristemo apical, mientras que el hipocótilo, con células más grandes, continúa creciendo (figs. 10-C-E). En estadios más avanzados, el embrión ocupa todo el espacio que correspondía al saco embrionario, el cotiledón cubre completamente al meristemo apical y el hipocótilo conforma la mayor parte del embrión. El suspensor ya no aparece (fig. 10-F).

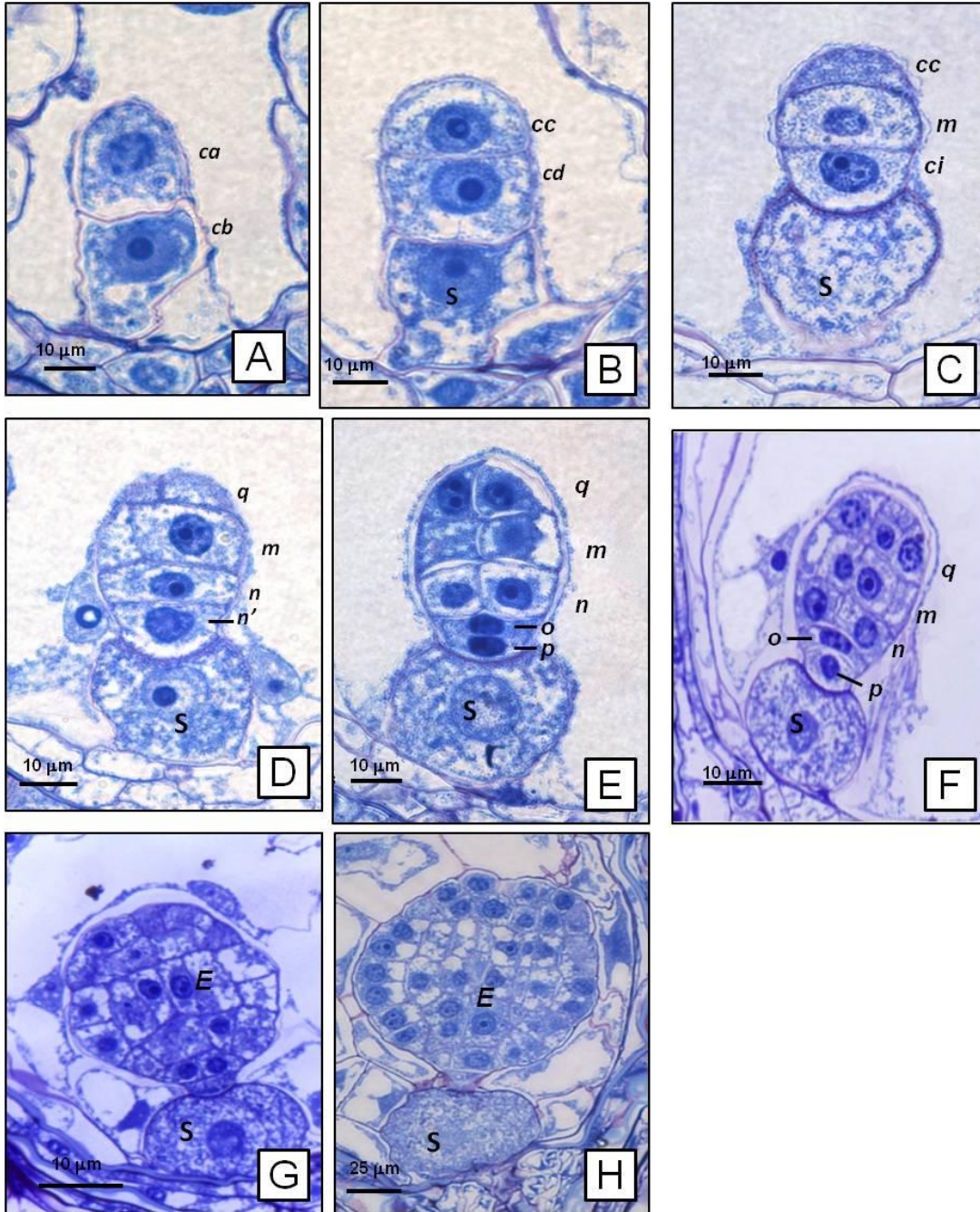


Figura 9. EMBRIOGÉNESIS. Secciones longitudinales de semillas en etapas tempranas de desarrollo. A. Primera división transversal del cigoto originando *ca* y *cb*, *cb* dará origen al suspensor. B. División transversal de la célula *ca* que da origen a la célula *cc* y *cd*, el suspensor comienza a aumentar de tamaño. C. La célula *cd* se divide y forma *m* y *ci*, el embrión es tricelular y el suspensor es más grande que el cuerpo del embrión. D. División longitudinal de la célula *m* y *cc*, poco después la célula *ci* se divide y forma *n* y *n'*. E. División longitudinal de la célula *n*, mientras que la célula *n'* se divide transversalmente para formar *o* y *p*. F. Las filas *n* y *m* se dividen longitudinalmente mientras que el cuadrante *q* se divide longitudinal y transversalmente. G y H. Embrión globular tardío con actividad metabólica alta que iniciará su elongación, mientras que el suspensor degenerará. *ca*-célula apical, *cb*- célula basal, E- embrión globular, S-suspensor.

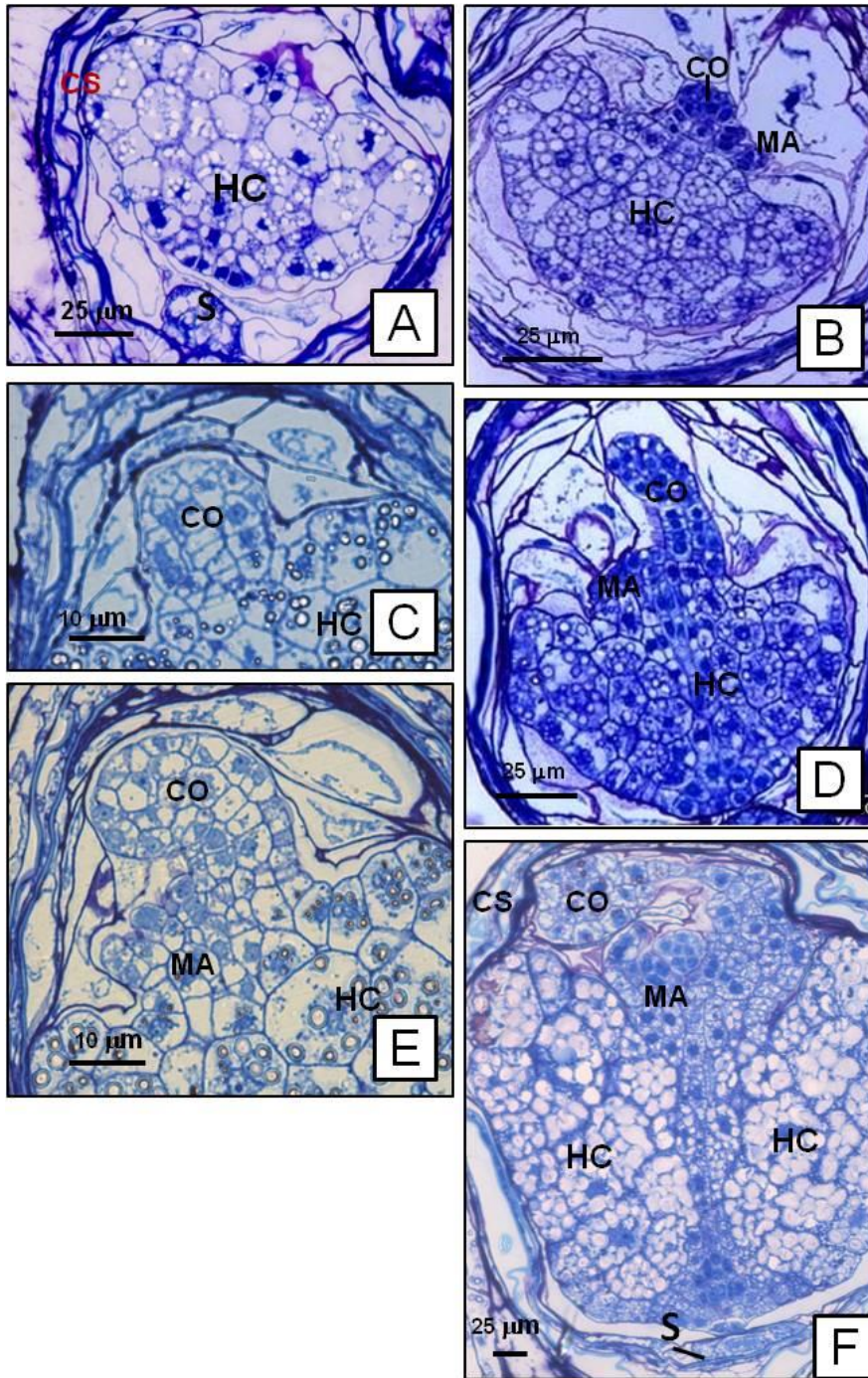


Figura 10. EMBRIOGÉNESIS. Secciones longitudinales de semillas en distintas etapas de desarrollo. A. Alargamiento del embrión y suspensor en degeneración. B. Diferenciación del meristemo apical y el cotiledón, crecimiento radial del hipocótilo. C. Acercamiento al cotiledón que comienza a elongarse. D y F. Crecimiento del cotiledón, comienza a curvarse y a cubrir al meristemo apical. Crecimiento radial del hipocótilo. F. Cotiledón completamente curvado, por debajo de éste está el meristemo apical, el hipocótilo tiene un crecimiento radial y ocupa la mayor parte de la semilla. Suspensor aplastado.

CS-cubierta seminal, CO-cotiledón, HC-hipocótilo, MA-meristemo apical, S-suspensor.

Desarrollo de la semilla

Los óvulos de *H. decipiens* son ánatropos, tienen placentación parietal y son bitégmicos. Cada tegumento está formado por dos estratos celulares y el micrópilo se forma únicamente por el tegumento interno (endóstomo) (Fig. 11-A). Las células del tegumento interno son más grandes en la región micropilar que el resto de las que rodean al saco embrionario. Dentro del óvulo se encuentra un tejido interno abundante que corresponde a la nucela, constituida de células redondeadas con núcleos prominentes y se concentra en la parte calazal (fig. 11-A).

Es común la presencia de óvulos atróficos. En algunos ovarios formaban la mayoría de los óvulos. Estos se observan como óvulos sin presencia de un saco embrionario y tejido adosado a la pared (figs. 11-B y C).

Cuando comienza el desarrollo de la semilla, con la formación de las dos cámaras del endospermo, las células de la nucela se concentran hacia la parte calazal y por su insinuación hacia los tejidos tegumentarios se piensa que podrían tener una función haustorial. Hacia la parte calazal, las células nucelares son más pequeñas y tienen núcleos más prominentes y teñidos (fig. 11-D y E, 12-A).

Conforme avanza el desarrollo, las células de la nucela se van absorbiendo y adosando a las paredes de la cubierta seminal. Las células nucelares más cercanas al embrión son de mayor tamaño, en un embrión globular, donde la cámara calazal de endospermo ya no se observa y células de la cámara micropilar comienza a celularizarse, la nucela comienza a consumirse en la parte cercana al embrión Figs. 12-A-C).

En etapas avanzadas, la zona por debajo del meristemo apical y el cotiledón (hipocótilo) comienza a crecer y está formado de células muy grandes y redondeadas que se expanden radialmente y ocupan la mayor parte de la semilla (fig. 12-D). En esta etapa, el cotiledón se ha curvado y se encuentra por encima del meristemo apical (fig. 13-A). En este momento, el endospermo se ha consumido casi por completo, solo quedan algunas células del endospermo en las orillas (fig. 8-D). Del tejido nucelar sólo quedan restos en la parte calazal (fig. 12-

D) y se observan como un triángulo de células aplanadas y comprimidas (fig. 8-D). El suspensor todavía persiste, pero continúa aplastándose (fig. 12-D).

En esta misma etapa, comienza el desarrollo de la plúmula que se forma por el meristemo apical y los primordios foliares. En una parte lateral del meristemo apical comienza a surgir una pequeña protuberancia que corresponde a un primordio foliar (fig. 12-E). El primordio sigue creciendo y comienza a cubrir el meristemo apical. Por encima de la plúmula se observa el cotiledón (fig. 12-F).

El tejido provascular se distingue en etapas avanzadas, y se distingue como células con citoplasma denso que indica alta actividad mitótica, y el tejido corre desde el meristemo apical y atraviesa por el centro del hipocótilo y terminado en el polo radicular donde se observa mayor cantidad de células expandiéndose en la base (figs. 10-F y 13-A), el suspensor todavía es evidente aunque ya está muy aplastado (fig. 13-A).

Cuando el embrión pierde su forma globular y comienza a distinguirse el cotiledón y el meristemo apical, las células del hipocótilo se comienzan a llenar de gránulos de almidón (fig. 13-B), en etapas avanzadas, el hipocótilo se encuentra repleto de gránulos de almidón (fig. 14-C). El cotiledón y meristemo apical también tienen almidón pero en menor cantidad por lo que el hipocótilo es el principal tejido de reserva (fig. 13-C).

En una semilla madura, los restos de nucela y suspensor ya no están presentes, el crecimiento del cotiledón continúa y comienza a enrollarse alrededor del primordio foliar que es poco evidente debido a que el cotiledón lo envuelve (figs. 13-D y 14-A). El hipocótilo que se expande radialmente, modifica la configuración de la semilla y se encuentra en forma de anillo envolviendo al cotiledón enroscado (figs. 13-D y 14-B).

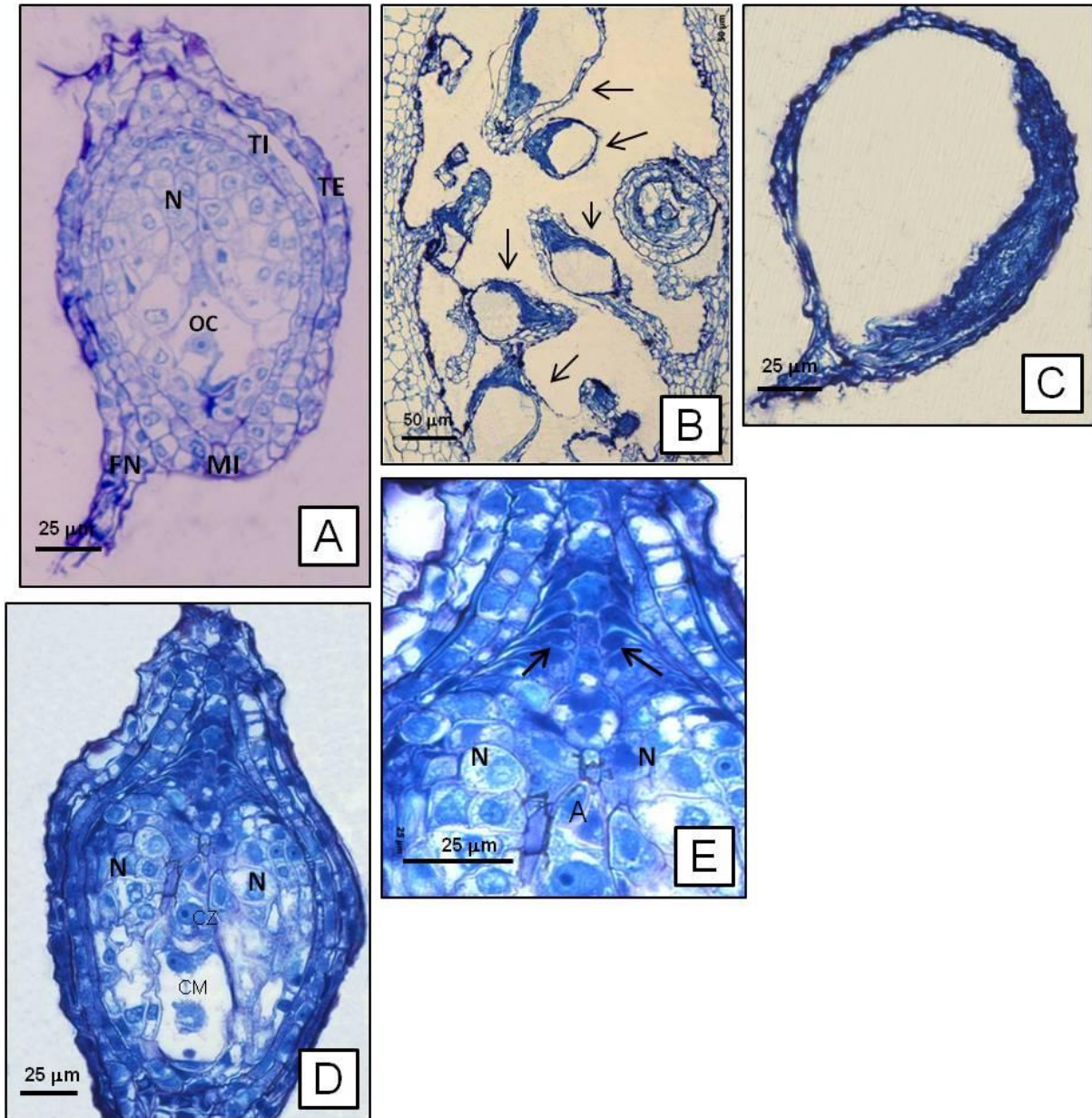


Figura 11. DESARROLLO DE LA SEMILLA. Secciones longitudinales de óvulos y semillas jóvenes. A. Óvulo anátropo, bitégmico, con micrópilo endóstomo. La nucela ocupa la mayor parte del saco embrionario y se concentra en la parte calazal. B. Óvulos atróficos (flechas) dentro del fruto. C. Acercamiento de B, tejido atrofiado pegado a la pared del óvulo. D. Inicio del desarrollo de la semilla, dos cámaras de endospermo, y las células de la nucela abundantes. E. Las células nucelares se introducen hacia la calaza (flechas), las antípodas aún persisten. A-antípodas, CM-cámara micropilar, CZ-cámara calazal, FN-funículo, MI-micrópilo, N-nucela, OC-ovocélula, TI-tegumento interno, TE-tegumento externo.

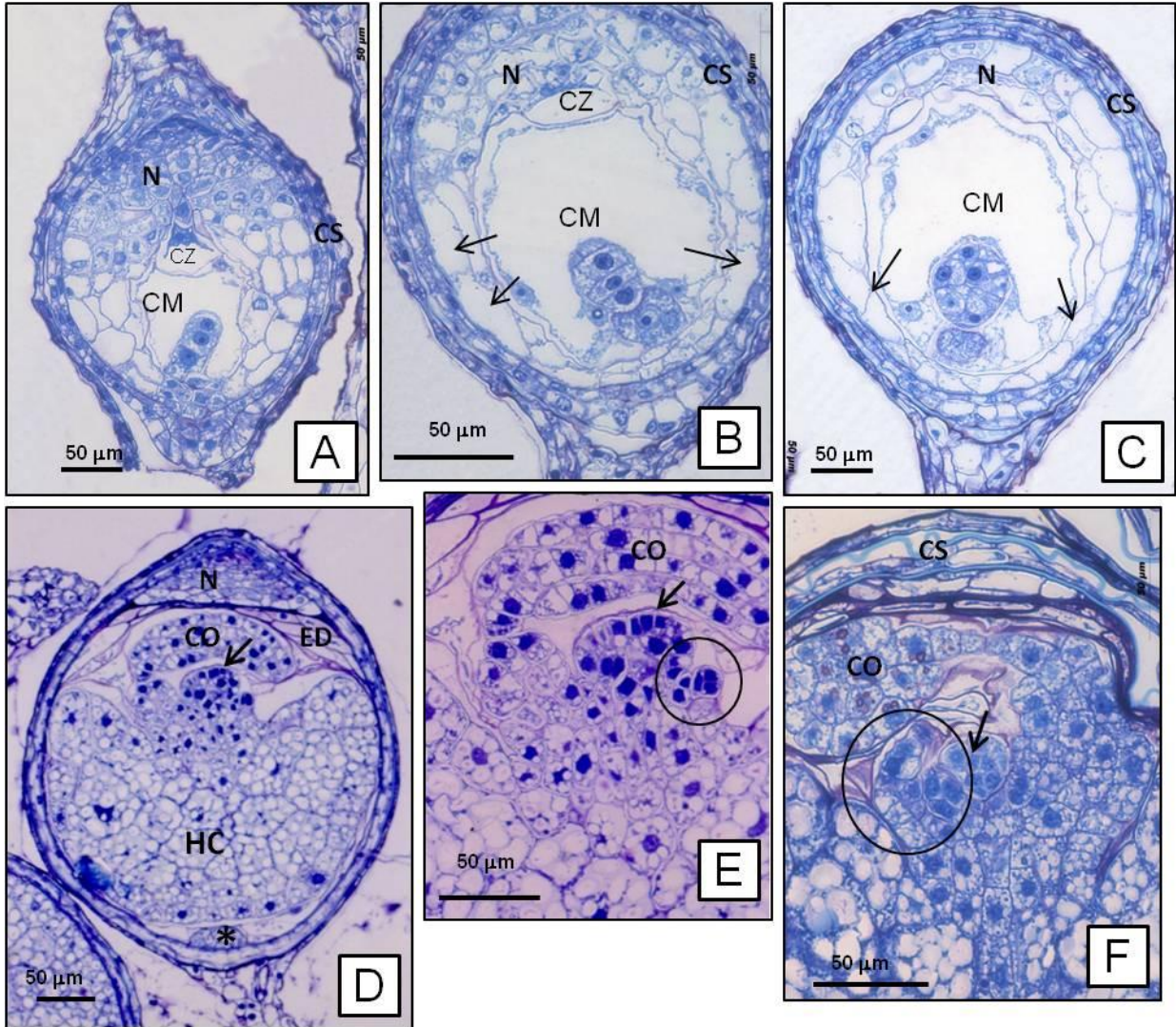


Figura 12. DESARROLLO DE LA SEMILLA. Secciones longitudinales de semillas en distintas etapas de desarrollo. A-C. Tejido nucelar que es absorbido conforme avanza el desarrollo, las células de la nucela más cercanas al embrión son de mayor tamaño y son las primeras en consumirse (flechas). D. Crecimiento radial del hipocótilo, zona calazal con las células restantes de la nucela y del endospermo. El suspensor (asterisco) es absorbido casi por completo. E. Surgimiento de la plúmula, primordio foliar en la parte lateral del meristemo apical (circulo). F. Crecimiento del primordio foliar (circulo) que comienza a envolver el meristemo apical (flecha). Por encima de la plúmula se observa el cotiledón.
 CS-cubierta seminal, CM-cámara micropilar, CO-cotiledón, CZ-cámara calazal, ED-endospermo, HC-hipocótilo, N-nucela.

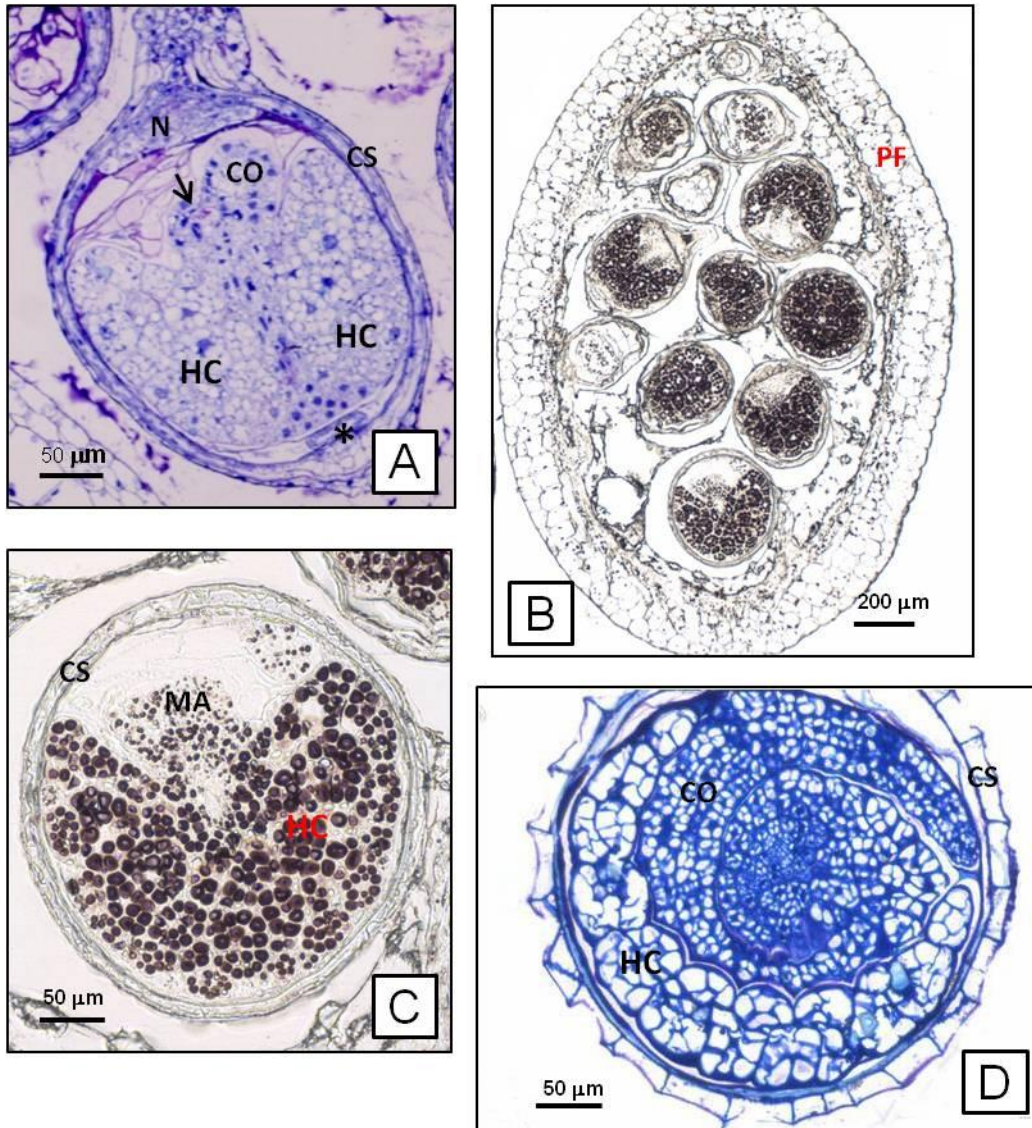


Figura 13. DESARROLLO DE LA SEMILLA. Secciones longitudinales de semillas en distintas etapas de desarrollo. A. Tejido provascular que corre del meristemo apical (flecha) y hacia el polo radicular donde hay mayor concentración. Restos del suspensor (asterisco) y nucela en la zona calazal. B. Semillas en distintas etapas de desarrollo repletas de gránulos de almidón en el hipocótilo (prueba histoquímica con lugol). C. Acercamiento a una semilla de B. D. Semilla madura, el hipocótilo se encuentra expandido radialmente y envuelve parte del cotiledón que está enroscado y envuelve la plúmula. CS-cubierta seminal, CO-cotiledón, HC-hipocótilo, MA-meristemo apical, N-nucela, PF-pared del fruto.

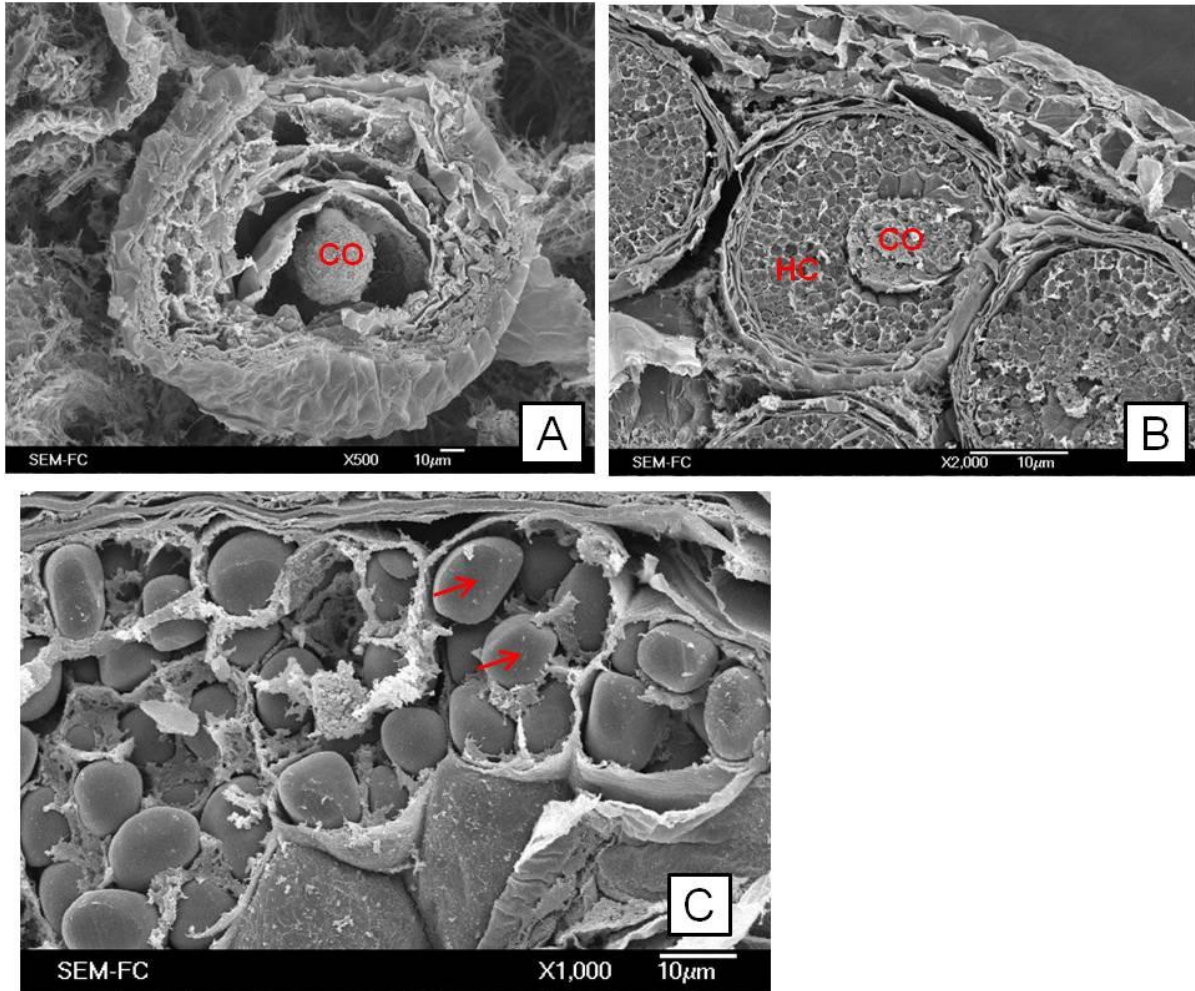


Fig. 14. DESARROLLO DE SEMILLA (MEB). A. Corte transversal y vista apical de la semilla y se observa en el centro el cotiledón curvo. B. Corte longitudinal donde se observa la expansión radial del hipocótilo y el cotiledón en medio. C. Células del hipocótilo repletas de gránulos de almidón (flechas).

DISCUSIÓN

En este trabajo se realizó el estudio de los frutos y las semillas de *Halophila decipiens* (Hydrocharitaceae) durante su desarrollo, y aunque en general, sigue el patrón descrito para los miembros del género, tiene algunas peculiaridades que se señalan así como reinterpretaciones de ciertas estructuras.

FRUTO

En los pastos marinos, los frutos maduros se han estudiado en varias especies: *Phyllospadix japonicus* y *P. iwatensis* (Kuo *et al.*, 1990), *Posidonia oceanica* (Kuo y McCombo, 1989), *Halodule uninervis* y *H. wrightii* (Bragg y Mcmillan, 1986), *Syringodium filiforme* y *S. isoetifolium*. (Bragg y McMillan, 1987), *Enhalus acorioides* (Kuo y McCombo, 1989), *Thalassia hemprichii* (Kuo *et al.*, 1991), *T. testudinum* (Jiménez, 2004), *Halophila decipiens* (McMillan, 1988), *H. ovalis* (Kuo and Kirkman, 1992) y *H. tricostata* (Kuo *et al.*, 1993).

En la familia Hydrocharitaceae, se han descrito frutos en los tres géneros de pastos marinos que la constituyen: *Thalassia*, *Enhalus* y *Halophila* (Cunnington, 1912; Orpurt y Boral, 1964; Kuo *et al.*, 1991; Kuo y Kirkman, 1992; Kuo *et al.*, 1993; Jiménez, 2004; Kausik, 1940; Kuo y McCombo, 1989; Lakshmanan y Poornima, 1991). Sin embargo, la mayoría se refieren a la estructura de frutos maduros (Cunnington, 1912; Orpurt y Boral, 1964; Kuo y McCombo, 1989; Kuo *et al.*, 1991; McMillan, 1988; Kuo y Kirkman, 1992; Kuo *et al.*, 1993) y pocos que dan seguimiento al desarrollo (Lakshmanan y Poornima, 1991; Jiménez, 2004; Kausik, 1940; Laksmanan, 1963; Swamy y Lakshmanan, 1962a).

El pericarpio en el género *Halophila* sólo se ha descrito en frutos maduros y para dos especies: *H. tricostata* (Kuo *et al.*, 1993) y *H. ovalis* (Kuo y Kirkman, 1992). Ambas especies presentan células epidérmicas grandes y células parenquimatosas de menor tamaño. Hay gránulos de almidón con mayor concentración en las células internas del pericarpio. Estas características concuerdan con lo encontrado en este trabajo para *H. decipiens* (figs. 3-C y E), a

excepción de que en *H. tricostata* no se reporta una cubierta cuticular externa (Kuo *et al.*, 1993) que si es muy evidente en *H. decipiens*.

El fruto en *Enhalus* es carnoso y flotante (Kuo y MacCombo, 1989). En *Thalassia testudinum*, en un fruto joven, el exocarpio presenta protuberancias, el endocarpio se forma por varios estratos con espacios intercelulares y el mesocarpio se forma por células alargadas. En un fruto maduro, el exocarpio tiene taninos y en algunas zonas se adelgaza hasta romperse, disminuyen las células del endocarpio hasta volverse gelatinoso y las células del mesocarpio se pierden. En la región basal del fruto presenta aerénquima (Jiménez, 2004). El aerénquima, que es un tejido con espacios intercelulares grandes, le sirve al fruto para flotar y los taninos están relacionados con la defensa de los frutos en contra de herbívoros.

La presencia de aerénquima y taninos no se observa en el fruto de *H. decipiens*. Los frutos son inconspicuos, translúcidos y pequeños (2.15 mm) por lo que no necesitan defensa contra herbívoros. Por otro lado, los frutos y semillas de *H. decipiens* como en el género *Halophila*, generalmente no flotan y se entierran rápidamente en la arena cuando son liberados. Aunque se ha reportado que pueden flotar por periodos breves de tiempo o si se remueve el sustrato (Birch, 1981; McMillan, 1987, 1988).

SEMILLA

El estudio de las semillas en los pastos marinos es un tópico que ha sido estudiado en todas las familias de pastos.

Las semillas maduras en la familia Zosteraceae se han descrito en: *Zostera marina* (Taylor, 1957), *Phyllospadix iwatensis* y *P. japonicus* (Kuo *et al.*, 1990). En Posidoneaceae: *Posidonia australis*, *P. sinuosa*, *P. coriacea* (Kuo and Kirkman, 1996) y *P. oceánica* (Belzunce *et al.*, 2005). En Cymodoceaceae: *Talassodendron pachyrhizum* (Kuo and Kirkman, 1990), *Amphibolis griffithii*, *A. antartica* (Kuo y Kirkman, 1990), *Halodule sp.* (Bragg y Mcmillan, 1986) y *Syringodium sp.* (Bragg y McMillan, 1987). Por último, en la familia Hydrocharitaceae se han descrito semillas en: *Halophila spinulosa* (Birch, 1981), *H. ovalis* (Kuo y Kirkman, 1992), *H. tricostata* (Kuo *et al.*, 1993), *H. decipiens* (McMillan, 1988; Lakshmanan y

Poornima, 1991), *Thalassia hemprichii* (Kuo *et al.*, 1991), *T. testudinum* (Orpurt y Boral, 1964; Jiménez, 2004) y *Enhalus acorioides* (Kausik, 1940).

A pesar de la morfología, la apariencia de las plantas maduras y la apariencia distinta en la superficie de la semilla entre las especies del género *Halophila*, la anatomía y embriología de las semillas al inicio de su desarrollo son similares en las especies que han sido estudiadas (Kuo *et al.*, 1993). Con algunos detalles diferentes y con otras características no descritas y que son observadas en esta investigación.

Micromorfología de la semilla

La ornamentación de la superficie de la semilla en el género *Halophila* es variable. En *H. spinulosa* y *H. tricostata* se ha reportado que la testa está esculpida con pequeñas proyecciones como clavijas (Birch, 1981; Kuo *et al.*, 1993). En *H. engelmannii*, *H. ovalis* y *H. decipiens* la testa es reticulada (McMillan, 1986; 1987; 1988; Birch, 1981; Kuo y Kirkman, 1992)

Este carácter podría ser utilizado con propósitos taxonómicos o filogenéticos en el género *Halophila* y no se conoce si tiene algún significado funcional (Kuo y Kirkman, 1992). Las proyecciones como clavijas en la superficie de la cubierta seminal de *H. spinulosa* se ha mencionado que podrían proveer una superficie de fricción contra el sustrato para la pérdida de la cubierta seminal y posterior germinación (Birch, 1981). Por otro lado, la superficie reticulada de otras especies, incluyendo a *H. decipiens*, puede facilitar la flotabilidad, para propósitos de dispersión por la captura de burbujas de aire (McMillan, 1987).

Cubierta seminal

La presencia de un periodo de latencia en los pastos marinos, parece estar asociado estrechamente con la estructura de la cubierta de la semilla (Kuo *et al.*, 1992). En *Posidonia*, *Thalassia*, *Enhalus*, *Amphibolis* y *Thalassodendron*, las semillas se cubren por restos de pericarpio blando ó material membranoso, pero con ausencia de una cubierta seminal (Kuo y McComb, 1989; Kuo *et al.*, 1991). Mientras que en los géneros con latencia como *Zostera*, *Heterozostera* y *Phyllospadix*, las semillas tienen por una cubierta seminal resistente y pueden además tener restos de pericarpio (Kuo *et al.*, 1990).

La composición de los estratos de la cubierta seminal en el género *Halophila* se han reportado en muy pocas especies y exclusivamente en semillas maduras. Las transformaciones que va sufriendo esta cubierta que permitan conocer el origen de los estratos celulares, en la mayoría de las especies se desconoce, esta situación se traduce muchas veces en asignar nombres incorrectos a las estructuras.

Kuo y Kirkman (1992) reportan que en *Halophila ovalis* las semillas poseen una cubierta externa que se forma por varias capas celulares de pericarpio remanente y por la cubierta seminal que consiste en dos capas cuticulares gruesas las cuales dan positivo a la tinción negro de Sudan (lípidos). Para *Halophila tricostata*, también se menciona que la cubierta de la semilla consiste en restos de pericarpio y dos cutículas que forman la cubierta seminal (Kuo *et al.*, 1993).

Para *H. ovalis* y *H. tricostata*, los restos de pericarpio se describen como varias capas celulares que son aplanadas y paralelas a la superficie de la semilla. Las paredes radiales y las tangenciales de la capa celular más interna están engrosadas y en la parte basal (pared tangencial interna) tienen engrosamientos que se observan como numerosas líneas verticales (Kuo y Kikirman, 1992; Kuo *et al.*, 1993). En este estudio para *H. decipiens*, se demuestra que estas capas celulares no son restos de pericarpio, sino que también forman parte de la cubierta seminal junto con las capas cuticulares (figs.6-A y B), esto es debido a que corresponden a las capas celulares que formaban parte de los tegumentos interno y externo en el óvulo. En una semilla madura, persiste únicamente la capa más externa que corresponde a la exotesta (capa celular externa del tegumento externo) seguida de las dos cutículas y entre las cuales hay restos de paredes celulares del tegmen (lo que era en el óvulo el tegumento interno; fig. 6-F) y lo que la hace parecer como capas pariráceas (Fig.5-C). En adición, *H. decipiens* no presenta los engrosamientos en las paredes tangenciales basales, ni en una semilla joven donde se encuentran el tegmen y la testa, ni en semilla madura donde sólo persiste la exotesta.

La confusión del pericarpio con la cubierta seminal por no realizar estudios del desarrollo de la estructura también se ha presentado en *Thalassia hemprichii* (Kuo *et al.*, 1991).

Lakshmanan (1963), menciona que en una semilla madura de *H. ovata* se observa una cubierta seminal bien definida formada únicamente por la capa externa del tegumento externo con paredes radiales engrosadas. Mientras que la interna del tegumento externo y el tegumento interno degeneran y se reducen a una capa papirácea delgada. Esta descripción concuerda con *H. decipiens* a excepción de la ausencia de bandas de engrosamiento de la exotesta y que no se mencionan los detalles de las capas cuticulares.

En los trabajos realizados en el género *Halophila*, la terminología para nombrar las partes de la cubierta seminal (testa y tegmen) no es utilizada. En este trabajo se introduce dicha terminología.

En otros miembros de Hydrocharitaceae, por ejemplo en *Enhalus acoroides*, el tegumento externo tiene numerosas cavidades llenas de aire para aumentar la flotabilidad de la semilla y más tarde, la cubierta seminal se rompe y el embrión queda expuesto (Kausik, 1940). En *Thalassia testudinum*, la cubierta seminal se forma sólo por la testa y en una semilla madura, la parte basal sólo presenta restos de cubierta seminal y de pericarpio, quedando expuesta una parte del hipocótilo (Jiménez, 2004).

Las semillas de *H. decipiens* presentan latencia (McMillan, 1988). No se sabe si el periodo de latencia es mantenido por el ambiente, cubierta seminal impermeable, por características fisiológicas de las semillas o alguna combinación de las anteriores (Baskin y Baskin, 1998). En los pastos marinos, se ha encontrado que la temperatura, la luz, la escarificación de la cubierta seminal, oxígeno y salinidad pueden ser factores críticos para la germinación de las semillas (Orth *et al.*, 2000) aunque estos factores se han estudiado en condiciones de laboratorio y no se sabe si en el mar ocurran de la misma manera (Orth, *et al.*, 2006). McMillan (1988) reporta que la luz juega un papel muy importante en la germinación de *H. decipiens* y que aún removiendo la cubierta seminal mecánicamente o con baja salinidad, no acelera el proceso de germinación.

La presencia de una cubierta seminal con cutículas gruesas probablemente hace que ésta sea impermeable al agua.

Al examinar la superficie de una semilla joven, se encuentra un depósito de sustancias, como pequeñas gotas que la recubren, mismas que ya no se encuentran en la semilla madura (fig.6-E). El depósito de sustancias durante las primeras etapas de la semilla no se ha reportado en el género *Halophila* ni en otros pastos marinos. No sabemos si estas sustancias son sintetizadas por las células de la cubierta seminal o por las células del pericarpio. Esta sustancia podría corresponder al depósito de ceras epicuticulares, que en las semillas maduras ya no se observan porque ya se han fusionado con otras gotas y han formado una capa continua. En muchas plantas la cera es exudada sobre la superficie de la cutícula, ya sea en láminas lisas, costras o como otras formas que se pueden extender hacia arriba a partir de la superficie cuticular, esta estructura muestra una enorme variabilidad (Barthlott *et al.*, 1998).

EMBRIOLOGÍA

Endospermogénesis

El tipo de desarrollo en la semilla en la familia Hydrocharitaceae es helobial (Tomlinson, 1982). Se caracteriza por la presencia de una pequeña cámara calazal y una micropilar más grande. En semilla madura el endospermo está ausente.

En *H. decipiens* se ha reportado el endospermo helobial (Laksmanan y Poornima, 1991) aunque sólo se muestra una imagen con la división del núcleo primario del endospermo y la producción de las dos cámaras de endospermo sin mostrar el resto del desarrollo.

El endospermo helobial también se ha reportado en *Enhalus acorioides* (Kausik, 1940), *H. ovata* (Lakshmanan, 1963) y en *Thalassia testudinum* (Jiménez, 2004).

Sin embargo, en *H. ovata*, Lakshmanan (1963) reporta que la cámara calazal que es unicelular se rompe y se une con las células de la nucela que tienen actividad meristemática y sus protoplastos forman un coenocito. Este comportamiento de la cámara calazal no se observó en *H. decipiens* y tampoco está reportado en otros miembros de la familia.

El endospermo es un tejido de reserva extraembrionario, que en muchas semillas permanece hasta la madurez, sin embargo en otras semillas, los materiales de reserva presentes en el endospermo son absorbidos por el embrión y en la semilla madura está ausente, Este es el caso de *H. decipiens*.

Embriogénesis

De acuerdo con Maheshwari (1950), según el plano de división de la célula apical y la célula basal en un proembrión bicelular, se pueden distinguir cinco tipos de embriogénesis. El tipo Cariofilado, donde la célula basal no se divide más y forma un suspensor unicelular, concuerda con el tipo de desarrollo del embrión en *H. decipiens* (fig. 9).

Dentro de la familia Hydrocharitaceae, Johansen (1950), reconoce el tipo de desarrollo del embrión Cariofilado variación *Sagittaria*.

El desarrollo de *Najas lacerata* (Swamy y Lakashmanan, 1962b) es uno de los primeros modelos donde se estudió el desarrollo del embrión en monocotiledóneas, actualmente, por evidencia molecular, este género es integrante de la familia Hydrocharitaceae (Les *et al.*, 1997, Tanaka *et al.* 1997). Este tipo de desarrollo comienza con la división transversal del cigoto para formar una célula basal grande (*cb*) y una célula apical pequeña (*ca*); la célula *cb* ya no se divide y forma el suspensor que es haustorial. La célula *ca* se divide y forma *cc* y *cd*. Después, la célula *cd* se divide otra vez transversalmente lo que resulta en un embrión de cuatro células (*cc,m,ci,cb*). Dos divisiones verticales en ángulos rectos de las dos células distales (*cc* y *m*) ocurren, formando dos filas superpuestas (*q* y *m*) de cuatro células cada una. Al mismo tiempo, la célula *ci* se divide transversalmente dando origen a *n* y *n'*. Mientras que la célula *n* se divide verticalmente, *n'* tiene una división transversal y forma *o* y *p*. Más tarde, *p* tiene otra división transversal produciendo *h* y *s*. El desarrollo embrionario de *N. lacerata* concuerda totalmente con *H. decipiens* en este estudio.

Otros estudios que se han hecho en esta familia y también concuerdan con *H. decipiens* son: *N. graminea* (Swamy y Lakshmanan, 1962b), *N. flexis* (Campbell, 1897 en: Swamy y Lakashmanan, 1962) y *Ottelia alismoides* (Murthy, 1935).

En el caso de los tres géneros de pastos marinos de Hydrocharitaceae, el desarrollo del embrión es del tipo Cariofilado pero no es de la misma variedad *Sagittaria*.

En *Enhalus acorioides* (Kausik, 1940), en *H. ovata* (Swamy y Lakshmanan, 1962) y también en *H. decipiens* (Lakshmanan y Poornima, 1991) coincide con el desarrollo Cariofilado variación *Sagittaria* mientras que en *Thalassia testudinum* no (Jiménez, 2004).

Lakshmanan y Poornima (1991) realizan la embriología de *H. decipiens*, el proceso de desarrollo coincide con la de este trabajo, sin embargo, el trabajo muestra un secuencia esquemática del desarrollo y este trabajo muestra los cortes vegetales demostrando la secuencia. Los únicos trabajos que se han hecho en esta familia y que muestran esta secuencia con cortes son Jiménez (2004) en *Thalassia testudinum* y el presente estudio con *H. decipiens*.

El desarrollo del embrión en *Thalassia testudinum* no coincide con el tipo Cariofilado variación *Sagittaria* como el resto de la familia (Jiménez, 2004). Jiménez (2004) lo describe como una nueva variación tipo *Thalassia*. En *T. testudinum*, la primera división es transversal formando la célula apical *ca* y la basal *cb*, *cb* ya no se divide más y formará el suspensor. Después *ca* se divide transversalmente formando *cc* y *cd*, posteriormente cada una se divide longitudinalmente para formar un proembrión de cuatro células. La siguiente división es longitudinal produciendo un proembrión de ocho células por las filas *q* y *cd* (Jiménez, 2004).

A pesar de que el embrión de *Thalassia* no tiene la misma secuencia de desarrollo variedad *Sagittaria* como el resto de la familia, el desarrollo no deja de ser tipo Cariofilado, donde la célula apical da origen al cuerpo del embrión y la basal forma el suspensor, siendo este tipo de desarrollo constante en la familia. Bhojwani y Bhatnagar (1999), mencionan que el tipo de embriogenia generalmente es constante en cada familia.

Desarrollo de la semilla

La mayoría de los trabajos sobre semilla en la familia Hydrocharitaceae se han reportado en semillas maduras.

Las semillas maduras del género *Halophila* se distinguen por la presencia de un embrión con un distintivo primordio foliar protegido por un cotiledón curvo y un hipocótilo muy grande con raíz primaria ausente (den Hartog, 1970). Estas características se han observado en *H. spinulosa* (Birch, 1981), *H. decipiens* (McMillan, 1988), *H. ovalis* (Kuo y Kikirman, 1992) y *H. tricostata* (Kuo *et al.*, 1993) y coincide con *H. decipiens*. En este trabajo se muestra el crecimiento del embrión desde etapas tempranas: el curvamiento del cotiledón, y el crecimiento radial del hipocótilo.

La presencia de óvulos atróficos ya se ha reportado para *H. ovata* (Laksmanan, 1993), *H. engelmannii* (McMillan, 1986 y 1987), *Thalassia testudinum* (Jiménez, 2004) y ahora también para *H. decipiens* (figs. 11-B y C).

Como se mencionó anteriormente en *H. ovata*, la cámara calazal que es haustorial se rompe y se une con las células de la nucela que tienen actividad meristemática y forman un coenocito debido a que sus protoplastos se rompen (Lakshmanan, 1963). En *H. decipiens* se observa la degeneración de la cámara calazal (fig. 7-D). No obstante, la nucela es la que se empuja hacia la parte calazal de la semilla (fig. 11-E) y se puede sugerir que es ésta la que tiene una función haustorial. Probablemente la nucela si presenta actividad meristemática debido a que las células de la nucela más cercanas a la calaza son más pequeñas y tienen núcleos prominentes y muy teñidos lo que indica que son células recién divididas (fig. 11-E). La comparación entre las dos especies es complicada debido a que en el estudio con *H. ovata* se muestran sólo los esquemas.

En *H. ovalis* Kuo y Kirkman (1992) mencionan que se distingue un grupo de células meristemáticas localizadas en la parte basal del hipocótilo lo cual pareciera ser el primordio de la radícula. Este cúmulo de células también se encuentra en *H. decipiens* (fig. 13-A), estas células son una continuación del tejido provascular (eje hipocótilo-radícula) que corre a lo largo del embrión y aunque pudiera ser el primordio radicular nunca se distingue una raíz primaria en el embrión. En otros miembros de la familia como es en *T. testudinum* no se observan raíces primarias ni primordios radiculares, pero si dos primordios de raíces adventicias desarrollándose por debajo del meristemo apical (Jiménez, 2004). En *Enhalus*

acorioides surge una radícula que no es funcional en estados subsecuentes, pero hay una raíz adventicia en la base de la plúmula que emerge durante la germinación (Kausik, 1940).

La parte cercana a la zona micropilar del embrión, la cual ocupa la mayor parte de la semilla madura, corresponde al hipocótilo, en estados tardíos la función de almacenaje corresponde a esta estructura, y aunque el almidón también se presenta en el cotiledón, el hipocótilo es el principal órgano de almacenamiento de materiales de reserva en *H. decipiens* (figs. 13-C y 14-C). Esta característica se ha observado en los géneros marinos de Hydrocharitaceae: *H. ovalis* (Kuo y Kikirman, 1992), *H. tricostata* (Kuo et al., 1993), *Thalassia testudinum* (Jiménez, 2004); excepto en *Enhalus acorioides* donde se menciona que el cotiledón es el que almacena gran cantidad de almidón (Kausik, 1940). Además de almidón, *H. tricostata* y *H. ovata* presentan pocas proteínas y lípidos en el hipocótilo.

La presencia de un hipocótilo expandido ha sido reportado como una característica distintiva en el género *Halophila* (Kuo et al., 1993). El hipocótilo a parte de ser el tejido de almacenaje de reservas energéticas, puede estar relacionado con el proceso de germinación y estabilización de las plántulas; la pérdida de la cubierta de la semilla asegura el desarrollo temprano de estructuras llamadas “pelos hipocotilares” que son estructuras de anclaje al sustrato que provienen de la epidermis del hipocótilo y que son aparentemente típicos en plantas acuáticas (Kaul, 1978). En la familia Hydrocharitaceae se ha reportado la presencia de estas estructuras en *Thalassia* (Orpurt y Boral, 1964), *Halophila tricostata* (Kuo et al., 1993), *H. spinulosa* (Birch, 1981) *H. ovalis* (Kuo y Kirkman, 1992), *H. decipiens* (McMillan, 1988), *H. engelmannii* (McMillan, 1987). Así, la presencia de un hipocótilo expandido, podría asegurar mayor cantidad de “pelos hipocotilares” y por lo tanto, mayor probabilidad de anclaje al sustrato.

CONCLUSIONES

Fruto

- La superficie del fruto es lisa y con ondulaciones dadas por las células del pericarpio.
- La pared del óvulo consta de cuatro estratos celulares, donde las células externas son de mayor tamaño que las internas.
- El pericarpio aumenta de estratos celulares en las capas medias conformándose por una epidermis con cutícula, de dos a tres estratos intermedios y la capa de tres estratos de células aplanadas internas, aunque puede tener una estratificación irregular.
- En la pared interna del fruto hay una zona de una sustancia tipo mucilago adyacente al pericarpio de la cual no sabemos su origen.
- El pericarpio tiene gránulos de almidón en mayor concentración en las células internas.

SEMILLA

Cubierta seminal y micromorfología

- Las semillas son ovoides y apiculadas.
- La microescultura es ligeramente reticulada.
- En una semilla joven, la cubierta seminal se forma por tegmen y testa biestratificados y entre los cuales hay una cutícula ondulada y otra en la pared interna de la semilla. En la superficie se encuentra un depósito de sustancias como pequeñas gotas.
- En etapas tempranas, en la superficie seminal se deposita una sustancia como pequeñas gotas que posiblemente corresponda a ceras epicuticulares y que ya no se presentan en semilla madura.
- En una semilla madura, la cubierta seminal se forma solo por la exotesta y dos cutículas separadas por restos de paredes celulares.

Endospermogénesis

- El desarrollo del endospermo es helobial.
- En una semilla madura, el endospermo ya no es evidente.

Embriogénesis

- El desarrollo del embrión es de tipo Cariofilado variación Sagittaria.
- El embrión tiene un suspensor unicelular que proviene de la célula basal, y en una semilla madura se absorbe por completo.

Desarrollo de la semilla

- Es común la presencia de óvulos atróficos.
- En semillas jóvenes, el tejido nucelar es muy abundante y se concentra en la parte calazal.
- La nucela probablemente presente divisiones meristemáticas, y podría tener una función haustorial por su insinuación hacia los tejidos tegumentarios.
- La nucela ya no está presente en una semilla madura.
- El cotiledón es curvo y envuelve al primordio foliar.
- El hipocótilo está expandido de forma radial y es el principal tejido de reserva.
- El almidón es la principal sustancia de reserva y se encuentra en el cotiledón, meristemo apical y esencialmente en el hipocótilo.
- El embrión no posee radícula pero sí un cúmulo de células meristemáticas en el polo radicular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Annaletchumy L., B. Japar Sidik, Z. Muta Harah y A. Arshad. 2005. Morphology of *Halophila ovalis* (R.Br.) Hook. F. from Peninsular and East Malaysia. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science* 28(1): 1 -11.
- Barthlott W , C. Neinhuis, D. Cutler, F. Ditsch, I. Meusel, I. Theisen y H. Wilhelmi, 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. *Botanical Journal of the Linnean Society* 126: 237-260.
- Baskin C.C. y J. M. Baskin. 1998. *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press, Nueva York.
- Belzunce M., R. M. Navarro y H. F. Rapoport. 2005. Seed and early plantlet structure of the Mediterranean seagrass *Posidonia oceanica*. *Aquatic Botany* 82(4):269-283.
- Bhojwani S. S. y S. P. Bhatnagar. 1999. *The Embryology of Angiosperms*. Vikas Publishing House. Nueva Delhi.
- Birch W. R. 1981. Morphology of germinating seeds of the seagrass *Halophila spinulosa* (R. Br.) Aschers. (Hydrocharitaceae). *Aquatic Botany* 11:79-90.
- Bragg L. H. y C. McMillan. 1986. SEM comparison of fruits of a seagrass, *Halodule* (Cymodoceaceae), from Australian and Texas. *American Journal of Botany* 73(6):815-821.
- Bragg L. H. y C. McMillan. 1987. SEM comparison of fruits and seeds of *Syringodium* (Cymodoceaceae) from Texas, U. S. Virgin Island, and Philippines. *Contributions in Marine Science* 30:91-103.
- Danilova M., E. Nemirovich-Danchenko, G. Komar y M. Lodkina. 1995. The seed structure of Monocotyledons. 461-472. En: Rudall P., P. Cribb, D. Cutler y Humohries (Eds). 1995. *Monocotylecons, systematic and evolution*. Vol. 2. Dickerson. Inglaterra. 750 p.
- den Hartog. 1957. Hydrocharitaceae. *Flora Malesiana* 5:381-413.
- den Hartog. 1970. *The Seagrasses of the World*. Amsterdam. North-Holland Publishing Company, Londres. 268 p.
- den Hartog. 1977. Structure, function and classification in seagrass communities. P.pp. 89-121. En: . McRoy C. P. y C. Helfferich (Eds). *Seagrass ecosystems*. Marcel Dekker Inc., Nueva York 133p.
- den Hartog C. y J. Kuo. 2006. Taxonomy and Biogeography of Seagrasses. En: Larkum A., R. Orth y C. Duarte. 2006. *Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer. Holanda. pp. 1-23.

Desarrollo de fruto y semilla en *Halophila decipiens* Ostenfeld (Hydrocharitaceae)

- Gibs R. E. 1902. *Phyllospadix* as a beach-builder. *The American Naturalist* 36:101-109.
- Hemminga M. y C. Duarte. 2000. *Seagrass Ecology*. Cambridge University Press, Londres. 298 p.
- Jiménez, D. K. 2004. Desarrollo y dispersión de frutos y semillas de *Thalassia testudinum* Banks ex König (Hydrocharitaceae). Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas (Experimental). Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 146 p.
- Johansen D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill. Nueva York. 491 p.
- Johri B. M. 1984. Embryology of Angiosperms. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg 830p.
- Kaul R. B. 1978. Morphology of germination and establishment of aquatic seedling in Alismataceae and Hydrocharitaceae. *Aquatic botany* 5:139-147.
- Kausik. 1940. A contribution to the embryology of *Enhalus acorioides*. *Indian Academy of Sciences B* 11: 83-99.
- Kuo J. y A. J. McComb. 1989. Seagrass taxonomy, structure and development 6–73. En: Larkum A. W., A. J. McComb y S. A. Shepherd, (Eds.). *Biology of the seagrasses: A treatise on the biology of seagrasses with special reference to the Australian region*. Elsevier, Amsterdam. 841 p.
- Kuo, J. y H. Kirkman. 1990. Anatomy of viviparous seagrasses seedlings of *Amphibolis* and *Thalassodendron* and their nutrient supply. *Botanica Marina* 33:117–126.
- Kuo J., H. Lizumi, B. Nielsen y K. Aioi. 1990. Fruit anatomy, seed germination and seedling development on the Japanese seagrass *Phyllospadix* (Zosteraceae). *Aquatic Botany* 37:229-245.
- Kuo, J., H. Lizumi, B. E. Nilsen y K. Aioi. 1990. Fruit anatomy, seed germination and seedling development in the Japanese seagrass *Phyllospadix* (Zosteraceae). *Aquatic Botany* 37:229-245.
- Kuo J., R. Coles, W. Lee Long y J. Mellors. 1991. Fruits and seeds of *Thalassia hemprichii* (Hydrocharitaceae) from Queensland, Australia. *Aquatic Botany* 40:165-173.
- Kuo J. y H. Kirkman. 1992. Fruits, seeds and germination in the seagrass *Halophila ovalis* (Hydrocharitaceae). *Botanica Marina* 35:197-204.
- Kuo J., W. J. Lee Long y R. G. Coles. 1993. Occurrence and fruit and seed biology of *Halophila tricostata* Greenway (Hydrocharitaceae). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 44(1):43-57.
- Kuo, J. y H. Kirkman. 1996. Seedling development of selected *Posidonia* species from southwest Australia. En: Kuo, J., R. C. Phillips, D. Walker, H. Kirkman (Eds.). *Seagrass Biology: Proceedings of an International Workshop Rottnest Island, Western Australia*, pp. 57–64.

- Kuo J. y C. den Hartog. 2001. Seagrass taxonomy and identification key. *En: Short F. T. y R. G. Coles (Eds). Global Seagrass Research Methods*. Elsevier Science, Amsterdam. pp. 31-58.
- Kuo J. y C. den Hartog. 2006. Seagrass Morphology, anatomy, and Ultrastructure. *En: Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer, Netherlands. pp. 51-83.
- Kuo J. y P. Wilson. 2008. Nomenclature of the Seagrass *Halophila baillonis* Ascherson. *Aquatic Botany* 88(2):178-180.
- Kuo, J., Z. Kanamoto, H. Iizumi and H. Mukai. 2006. Seagrasses of the genus *Halophila* Thunberg (Hydrocharitaceae) from Japan. *Acta phytotaxonomica et geobotanica* 57(2): 129–154.
- Lakshmanan K.K. 1963. Embryological studies in the Hydrocharitaceae. II. *Halophila ovata* Gaudich. *Indian Botany Society Journal* 42: 15-18.
- Lakshmanan. 1970. Hydrocharitaceae. *Bulletin of the Indian National Science Academy* 41:336-341.
- Lakshmanan K. y S. Poornima. 1991. Embryology of *Halophila decipiens* Ostenfeld. *Beitraege zur Biologie der Pflanzen* 66:179-187.
- Larkum A., 1995. *Halophila capricorni* (Hydrocharitaceae). A new species of seagrass from the Coral Sea. *Aquatic Botany* 51:319-328.
- Larkum A., R. Orth y C. Duarte. 2006. *Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer. Netherlands. pp. 1-23.
- Les D., D. Garvin y C. Wimpee. 1993. Phylogenetic studies in the monocot subclass Alismatidae: Evidence for a reappraisal of the aquatic order Najadales. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 2:304-314.
- Les D. H., M. Cleland y M. Waycott. 1997. Phylogenetic studies in Alismatidae, II: Evolution of marine angiosperms (seagrasses) and hydrophily. *Systematic Botany* 22(3):443-463.
- Les D.H., M. Moody, y C. Soros. 2006. A reappraisal of phylogenetic relationships in the monocotyledon family Hydrocharitaceae (Alismatidae). *Aliso* 22:211-230.
- Maheshwari P. 1950. An Introduction to the Embryology of Angiosperms. McWGRAU-HILL Nueva York. 453 p.
- McMillan C. 1983. Morphological diversity under controlled conditions for the *Halophila ovalis*-*H. minor* complex and the *Halodule uninervis* complex from Shark Bay, Western Australia. *Aquatic Botany* 17: 29-42.
- McMillan C. 1986. Fruits and seeds of *Halophila engelmannii* (Hydrocharitaceae) in Texas. *Contributions in Marine Science* 29:1-8.

Desarrollo de fruto y semilla en *Halophila decipiens* Ostenfeld (Hydrocharitaceae)

- McMillan C. 1987. Seed germination and seedling morphology of the seagrass *Halophila engelmannii* (Hydrocharitaceae). *Aquatic Botany* 28: 179-188.
- McMillan C. y L. H. Bragg. 1987. Comparison of fruits of *Syringodium* (Cymodoceaceae) from Texas, the US Virgin Islands and the Philippines. *Aquatic Botany* 28(1):97-100.
- McMillan C. 1988. Seed germination and seedling development of *Halophila decipiens* Ostenfeld (Hydrocharitaceae) from Panama. *Aquatic Botany* 31:169-176.
- Murthy. 1935. The life-history of *Ottelia alismoides* Pers. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences Section B*:59-66.
- Orpurt P. y L. Boral. 1964. The flowers, fruits, and seed of *Thalassia testudinum* Koenig. *Bulletin of Marine Science* 14(2):296-302.
- Orth R. J., M. C. Harwell, E. M. Bailey, A. Bartholomew, J. T. Jawad, A. V. Lombana, K. A. Moore, J. M. Rhode y H. E. Woods. 2000. A review of issues in seagrass seed dormancy and germination: Implications for conservation and restoration. *Marine Ecology Progress Series* 2000:277-288.
- Orth R. J., M. C. Herwell y G. J. Inglis. 2006. Ecology of seagrass seeds and seagrass dispersal processes. *En: Seagrasses: biology, ecology and conservation*. Springer, Netherlands. pp. 51-83.
- Philbrick T. y D. Les. 1996. Evolution of aquatic angiosperms reproductive systems. *Bulletin of Marine Science* 46(11):813-826.
- Phillips R. y E. Meñez. 1988. Seagrasses. *Smithsonian Contributions to Marine Science* 34:1-104.
- Ruiz H. y D. L. Ballantine. 2004. Occurrence of the seagrass *Halophila stipulacea* in the tropical west Atlantic. *Bulletin of Marine Science* 75(1): 131-135.
- Shaffer-Fehre M. 1991a. Endotegmen tuberculae. An account of little-known structures from the seed of the Hydrocharitoideae (Hydrocharitaceae) and *Najas* (Najadaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 107:169-188.
- Shaffer-Fehre M. 1991b. The position of *Najas* within the subclass Alismatidae (Monocotyledones) in the light of the new evidence from seed coat structures in the Hydrocharitoideae (Hydrocharitales). *Botanical Journal of the Linnean Society* 107:189-209.
- Short, F.T., R. G. Coles y C. Pergent-Martini. 2001. Global seagrass distribution. *En: Short, F.T., Coles, R.G (Eds.). Global Seagrass Research Methods*. Elsevier Science B.V., Amsterdam. pp. 5–30
- Short F., E. Fernandez, A. Vernon y E. Gaeckle. 2006. Occurrence of *Halophila baillonii* meadows in Belize, Central America. *Aquatic botany* 85:249-251.

- Short, FT, GE Moore & KA Peyton. 2010. *Halophila ovalis* in the tropical Atlantic ocean. *Aquatic Botany* 93: 141–146
- Swamy B. G. y K. K. Lakashmanan. 1962a. The origin of the epicotylary meristem and cotiledon in *Halophila ovata* Gaudich. *Annals of botany* 26:243-249.
- Swamy B. G. y K. K. Lakshmanan. 1962b. Contribution to the embryology of the Najadaceae. *The Journal of the Indian Botanical Society* 41:247-264.
- Tanaka, N., H. Setoguchi y J. Murata. 1997. Phylogeny of the Family Hydrocharitaceae Inferred from *rbcl* and *matK* Gene Sequence Data. *Journal of plant research* 110:329-337.
- Tanaka N., K. Uehara y J. Murata. 2004. Correlation between pollen morphology and pollination mechanisms in the Hydrocharitaceae. *Journal of Plant Research* 117:365-276.
- Taylor A. R. 1957. Studies of development of *Zostera marina* L. I. The embryo and seed. *Canadian Journal of Botany* 35(4): 477-499.
- Thayer, G., D. Wolfe y R. B. Williams. 1975. The impact of man on seagrass systems. *American Scientist* 63: 288--296.
- Tomlinson P. B. 1982. *Anatomy of the Monocotyledons*, VII Helobiae (Alismatidae), Clarendon Press, Oxford. 559 p.
- Troyo B. A. 2009. Contenido de taninos en el fruto de *Thalassia testudinum*. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 45 p.
- Uchimura M., E. Faye, S. Shimada, S. Arai, T. Inoue y Y. Nakamura 2006. A re-evaluation of the taxonomic status of *Halophila euphlebia* Makino (Hydrocharitaceae) based on morfological features and ITS sequence data. *Botanica Marina* 49:111-121.
Uchimura M., E. Jean, S. Shimada, T. Inoue y Y. Nakamura. 2008. A reassessment of *Halophila* species (Hydrocharitaceae) diversity with special reference to Japanese representatives *Botanica Marina* 51(4):258-268.
- Waycott M. D. W. y D. Les. 1996. An Integrated Approach to the evolutionary study of seagrasses. Seagrass biology: proceedings of an international workshop. Rottneest Island, Australia 25-29: 71-78.
- Waycott M., D. W. Freshwater, R. A. York, A. Calladine y W. J. Kenworthy. 2002. Evolutionary trends in the seagrass genus *Halophila* (Thouars): insights from molecular phylogeny. *Bulletin of Marine Science* 71(3):1299-1308.
- Willette D. y R. Ambrose. 2009. The distribution and expansion of the invasive seagrass *Halophila stipulacea* in Dominica, West Indies, with a preliminary report from St. Lucia. *Aquatic Botany* 91(3):137-142.

Desarrollo de fruto y semilla en *Halophila decipiens* Ostenfeld (Hydrocharitaceae)

- York R., M. Durako, W. J. Kenworthy y D. Freshwater. 2008. Megagametogenesis in *Halophila johnsonii*, a threatened seagrass with no known seeds, and the seed-producing *Halophila decipiens* (Hydrocharitaceae). *Aquatic Botany* 88:277-282.