



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

Morfología, estructura e histoquímica de los  
órganos reproductivos de *Brosimum*  
*alicastrum* Sw. (Moraceae) “Ramón”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

KAREN PASILLAS RODRÍGUEZ



DIRECTOR DE TESIS:

DRA. ALICIA ENRIQUETA BRECHÚ FRANCO

Ciudad Universitaria, CD. MX., 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

1. Datos del alumno

Pasillas

Rodríguez

Karen

55 2066 1519

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

304190940

2. Datos del tutor

Dra.

Alicia Enriqueta

Brechú

Franco

3. Datos del sinodal 1

Dra.

Sonia

Vázquez

Santana

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Martha Juana

Martínez

Gordillo

5. Datos del sinodal 3

Dra.

Silvia

Espinosa

Matías

6. Datos del sinodal 4

Dr.

Francisco Alfonso

Larqué

Saavedra

7. Datos del trabajo escrito

Morfología, estructura e histoquímica de los órganos reproductivos de *Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae) "Ramón"

57 p.

2020

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por permitirme ser parte de esta gran institución, de la que estoy orgullosa de pertenecer, y por brindarme las herramientas necesarias para formarme profesionalmente.

A la **Facultad de Ciencias** porque en sus aulas aprendí la vastedad de la biología y conocí gente brillante y maravillosa.

A los **Profesores**, a quienes siempre vi como grandes apasionados por la biología y de quienes me llevo un conocimiento inestimable.

Al **Laboratorio de Estructura y Fisiología de Plantas**, por proporcionarme el espacio, recursos y compañía necesarios para el desarrollo de este trabajo.

A la Doctora Alicia Enriqueta Brechú Franco, por confiar en mí y por brindarme su tiempo, conocimientos, experiencia y paciencia. Este trabajo fue posible gracias a usted.

Al Doctor Guillermo Laguna Hernández por otorgarme su tiempo, disposición, conocimientos, asesorías y revisiones de la tesis. Gracias infinitas.

A la Doctora Lucía Yoscelina Centeno Betanzos por darme su tiempo, sus enseñanzas y paciencia.

Al Doctor Francisco Alfonso Larqué Saavedra por facilitar el material de estudio para esta tesis, así como sus comentarios respecto a esta.

A la Dra. Silvia Espinosa Matias por su colaboración en el procesamiento del material y la posterior toma de imágenes con microscopía electrónica de barrido, así como por sus revisiones y comentarios sobre mi trabajo.

A la Dra. Martha Juana Martínez Gordillo, por sus valiosas correcciones durante la revisión de mi trabajo que me permitieron avanzar.

A la Dra. Sonia Vázquez Santana, por sus observaciones y sugerencias, que ayudaron a mejorar este trabajo.

A la M. en C. Nadia Castro Cárdenas por su amabilidad, disposición e invaluable comentarios sobre mi tesis.

A la M. en F. P. Ana Isabel Bieler Antolín por el apoyo en la toma de fotografías y el buen humor con que siempre trabajamos.

Al Doctor Ricardo García Sandoval por su gran apoyo en la edición de fotografías.

A mis compañeros de laboratorio: Dra. Reyna Osuna, Alma, Katia, Luis, Marco, Pedro y Soley, por su agradable compañía.

A mis padres por su apoyo a través de todos estos años y a mi familia por estar siempre presente.

A mis increíbles amigas que conocí en la facultad: Alejandra, Elva, Lorena y Nidia, con quienes compartí muchas experiencias mientras nos formábamos como biólogos. Gracias por su compañía, apoyo y comprensión.

A mi grandes amigos Mariana, Rocío, Angélica, Francisco y Nelson. Gracias por su amistad, cariño y confianza.

Al C.P. Luis Rivera por el apoyo incondicional que me brindó durante la realización de este trabajo.

# Índice

<b>Resumen</b> .....	<b>1</b>
<b>1. Introducción</b> .....	<b>2</b>
<b>2. Antecedentes</b> .....	<b>6</b>
2.1 Familia Moraceae .....	6
2.2 Género <i>Brosimum</i> .....	8
2.3 <i>Brosimum alicastrum</i> Sw. ....	10
2.3.1 <i>Brosimum alicastrum</i> Sw., subespecie <i>alicastrum</i> y subespecie <i>bolivarense</i> .....	14
2.4 Usos del Ramón .....	14
2.5 Ubicación taxonómica .....	15
<b>3. Objetivos</b> .....	<b>17</b>
3.1 General.....	17
3.2 Específicos .....	17
<b>4. Material y Método</b> .....	<b>18</b>
4.1 Recolección del material vegetal .....	18
4.2 Procesamiento de material vegetal .....	18
4.2.1 Fijación.....	18
4.2.2 Deshidratación .....	18
4.2.3 Inclusión .....	19
4.2.4 Obtención de cortes .....	19
4.2.5 Desparafinación .....	20
4.2.6 Hidratación de los cortes.....	20

4.3 Pruebas Histoquímicas.....	20
4.4 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).....	21
4.5 Macrofotografía y microfotografía.....	21
<b>5. Resultados .....</b>	<b>22</b>
5.1 Inflorescencia pistilada .....	23
5.2 Inflorescencia estaminada.....	26
5.3 Inflorescencia bisexual .....	29
5.4 Fruto.....	32
5.5 Semilla.....	33
<b>6. Discusión.....</b>	<b>37</b>
<b>7. Conclusiones .....</b>	<b>50</b>
<b>8. Referencias .....</b>	<b>51</b>

## Índice de figuras

<b>Fig. 1</b> Distribución geográfica de <i>Brosimum alicastrum</i> en México .....	10
<b>Fig. 2</b> Corteza, hojas, inflorescencias y fruto de <i>Brosimum alicastrum</i> . .....	12
<b>Fig. 3</b> Inflorescencia pistilada.....	24
<b>Fig. 4</b> Cortes longitudinales de inflorescencia pistilada y fruto joven con semilla. ....	25
<b>Fig. 5</b> Inflorescencia estaminada .....	27
<b>Fig. 6</b> Cortes de inflorescencia estaminada.....	28
<b>Fig. 7</b> Cortes de inflorescencia bisexual. ....	31
<b>Fig. 8</b> Fruto .....	32
<b>Fig. 9</b> Semilla .....	34
<b>Fig. 10</b> Cortes de fruto y semilla en diferentes etapas de desarrollo .....	36

## Índice de tablas

<b>Tabla 1</b> Ubicación Taxonómica de <i>Brosimum alicastrum</i> .....	16
---	----

## Resumen

*Brosimum alicastrum* Sw. (Moraceae), es un árbol que se distribuye en México en las vertientes del Golfo y Pacífico, desde Tamaulipas hasta Yucatán, y desde Sinaloa hasta Chiapas, principalmente en regiones tropicales, aunque también se puede encontrar en zonas semiáridas, por lo que es resistente a las sequías. Se conoce comúnmente como Ramón, capomo, ojite y ojoche. Tiene diversos usos alimenticios, medicinales, maderables y ornamentales; en particular, las hojas, frutos y semillas presentan un alto valor nutritivo. Estas características posicionan a la especie como un recurso forestal potencial en la recuperación de suelos, como mitigante del cambio climático y complemento en la demanda nacional de granos alimenticios, por lo que la especie fue integrada dentro del Sistema Nacional para la Cruzada Nacional contra el Hambre. En el presente trabajo se determinó la morfología, estructura e histoquímica de las inflorescencias, fruto y semilla de *B. alicastrum* para determinar las características de los órganos reproductivos de la especie que participan en la constitución de frutos y semillas maduros. Se usó material biológico en diferentes etapas de desarrollo que se procesó utilizando técnicas anatómicas e histoquímicas, de microscopía óptica y de microscopía electrónica de barrido. Se observaron inflorescencias globosas que corresponden a un receptáculo cubierto en la superficie por brácteas peltadas, pubescentes. Se estableció que la especie tiene tres morfos florales; inflorescencia unisexual pistilada con una sola flor sin perianto, representada por un ovario ínfero fusionado en su base con el receptáculo y que deja expuesto un estilo con estigma bifurcado; inflorescencia unisexual estaminada con flores de un estambre sin perianto, filamento recto y grueso, antera bilocular con dehiscencia circunscísil; inflorescencia bisexual con flores estaminadas y una flor pistilada, que no desarrolla semilla. La semejanza estructural entre el tejido del receptáculo de la inflorescencia pistilada y la pulpa del fruto permiten proponer que éste derive del primero. A su vez, el endocarpo se propone que se derive de la pared del ovario y en etapa madura presentó consistencia coriácea sin lignina pero sí con células tanificadas; por ello, al fruto se le consideró como drupáceo, conteniendo una semilla que en la madurez presenta dos cotiledones desiguales con laticíferos, proteoplastos y taninos fenólicos, endospermo ausente o sólo con escasos restos; les rodea una cubierta seminal delgada y lignificada. La pulpa jugosa y dulce tiene laticíferos conteniendo glucoproteínas e idioblastos con taninos. Histoquímicamente se detectó la presencia de glucoproteínas en fruto y semilla y proteínas y almidón en proteoplastos y parénquima de cotiledones.

## 1. Introducción

*Brosimum alicastrum* es un árbol perteneciente a la familia Moraceae que se distribuye en las zonas tropicales y subtropicales de las costas del Golfo y Pacífico en México, a través de Centroamérica hasta Sudamérica en Colombia, Venezuela y Perú y en el Caribe (Carvajal, 2007). Es una de las especies dominantes de las selvas altas perennifolias, medianas subperennifolias y subcaducifolias de México (Pennington y Sarukhán, 1998; CONABIO, 2009). En el estado de Yucatán, la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) ha definido al Ramón como una especie Prioritaria para sus Programas de Conservación y Restauración de Ecosistemas Forestales (Morales Ortiz y Herrera Tuz, 2009).

Es conocido con más de 50 nombres comunes, principalmente de lenguas indígenas de México, el que sobresale es Ramón, por la acción de “ramonear” que se refiere a que el ganado consume las semillas y hojas del árbol (Meiners et al., 2009). También se conoce como ojite, ojoche y capomo (Pardo-Tejeda y Sánchez-Muñoz, 1981).

En la actualidad se aprovechan todas las partes del árbol: las hojas y frutos como forraje para ganado, especialmente en épocas de sequía; productos maderables por sus buenas cualidades físicas; como medicina o bebida, ya que sus frutos maduros tienen un sabor dulce agradable, y las semillas tostadas se usan mezcladas con maíz cuando éste escasea o para hacer una bebida sustituto del café (Pennington y Sarukhán, 1998).

El valor nutricional de las hojas, frutos y semillas es elevado, incluso superior al que se encuentra en granos de cultivo tradicional, como el maíz (Pardo-Tejeda y

Sánchez-Múñoz, 1981; Ramírez-Sánchez et al., 2017). La harina de semilla de Ramón es un recurso natural subutilizado, rico en fibra, minerales y compuestos bioactivos que pueden usarse para mejorar las propiedades de los alimentos ricos en almidón, como la tortilla de harina de trigo (Larqué-Saavedra, 2014; Carter, 2015; Subiria-Cueto et al., 2019).

Debido a su amplia distribución en México, diversidad de usos y valor nutritivo, el árbol de Ramón se ha propuesto como un modelo de recurso forestal que se puede incorporar a las cosechas anuales de granos como una alternativa que contribuya a la alimentación humana y se pueda reincorporar a nivel nacional como una alternativa alimentaria y disminuya la importación de granos (Larqué-Saavedra, 2011).

El establecimiento de plantaciones masivas del árbol de Ramón contribuiría a la recuperación de terrenos abandonados y a la captación de carbono (Larqué-Saavedra, 2011, 2013, 2014), con lo que se pretende mitigar el cambio climático, concepto planteado en la Reunión Nacional sobre *Brosimum alicastrum* “El sector forestal en apoyo a la cruzada contra el hambre y el cambio climático” (Larqué-Saavedra, 2015), basado en el Decreto por el que se establece el Sistema Nacional para la Cruzada contra el Hambre (SEDESOL, 2013).

En cuanto a estudios morfológicos sobre inflorescencias, frutos y semillas de *Brosimum*, Romaniuc-Neto y Wanderley (1992) describen a las inflorescencias de *Brosimum* como globosas u ovoides, con una sola flor femenina inmersa en el receptáculo y rodeada por flores masculinas; así mismo, Barroso et al. (2002, en Oyama y Souza, 2011), mencionan que las inflorescencias son capitadas, bisexuales y que la

superficie externa de la inflorescencia se encuentra revestida por brácteas circulares y peltadas.

Los estudios que enfocan la morfología reproductiva de la familia Moraceae, están concentrados principalmente en los géneros *Ficus*, *Morus*, *Dorstenia* y *Artocarpus* (Jacomassi et al., 2010). En el fruto de *Sorocea bonplandii* (Souza y Rosa, 2005), la pulpa carnosa deriva conjuntamente del perigonio (o perianto) y del hipantio (receptáculo de la flor), definiendo al fruto como pomáceo. En cambio, el fruto *Maclura tinctoria* es múltiple constituido de pequeñas drupas y la pulpa carnosa deriva del perigonio y del eje de la inflorescencia (Oyama y Souza, 2011).

Considerando estos ejemplos, es evidente la variación y las características particulares entre los ejemplares de Moraceae, lo que refleja la dificultad para comparar entre diferentes géneros de la familia. Así, para el presente trabajo se abre la posibilidad de cotejar los resultados con los estudios morfo-anatómicos de *Brosimum gaudichaudii* (Jacomassi et al., 2010; Leite et al., 2018), en los que se caracteriza la estructura e histoquímica de las inflorescencias, fruto y semilla de la especie, donde la flor masculina está formada por un estambre envuelto por bractéola y la flor femenina constituida por un pistilo ínfero con cinco carpelos de los cuales sólo uno se desarrolla; el endocarpo está esclerificado y hay presencia de laticíferos en el receptáculo, pedúnculo, pulpa del fruto maduro y en el embrión; también se encuentran idioblastos fenólicos distribuidos en la inflorescencia y el fruto.

Estos estudios son una muestra de la gran diversidad de estructuras florales en la familia Moraceae, y resalta la importancia de ampliar la información que permita fundamentar de manera más clara cuáles son los órganos y estructuras que participan

en la constitución de los frutos y semillas, así como establecer estructuralmente la riqueza nutricional de los mismos.

El estudio morfológico, anatómico e histoquímico de los órganos reproductores de la especie *Brosimum alicastrum* pretende contribuir al conocimiento preciso de éstos y representa una base fundamental que apoya los estudios previos (Morales Ortiz y Herrera Tuz, 2009), principalmente en la Península de Yucatán.

*B. alicastrum* se ha investigado respecto a su distribución, propagación sexual y asexual (Larqué-Saavedra, 2011), ecología y uso pecuario (Hernández et al., 2014), consumo humano (Carter, 2015; Acosta y Martínez-Ruíz, 2017; Martínez-Ruíz et al., 2019); sin embargo, no se encontraron reportes de estudios estructurales de la inflorescencia, infrutescencia y semilla, por lo que se consideró oportuno realizar el estudio estructural e histoquímico de los órganos reproductores de la especie.

## 2. Antecedentes

### 2.1 Familia Moraceae

La familia Moraceae, incluida dentro del orden Rosales (*sensu* APG IV, 2016), forma el clado Urticoide junto con Urticaceae y Cannabaceae, y tiene como grupo hermano a la familia Ulmaceae (Zhang et al., 2011). Está constituida principalmente por árboles (Berg, 2005), aunque en sus hábitos de crecimiento se encuentran arbustos, hierbas, trepadoras y hemiepifitas (Carvajal, 2012; Simpson, 2019).

Se caracteriza por presentar laticíferos en toda la planta, que son no articulados y ramificados (Marinho y Teixeira, 2019); el látex comúnmente de color blanco (Clement y Weiblen, 2009; Carvajal, 2007). La producción de látex actúa como una defensa de la planta contra los herbívoros (Agrawal y Konno, 2009), contiene proteínas, alcaloides y lípidos, incluyendo terpenos (Marinho y Texeira, 2019).

Está representada por 37 géneros y cerca de 1,100 especies (Rohwer y Berg, 1993; Berg, 2005; Carvajal, 2007), distribuidas en regiones tropicales y subtropicales, donde es una de las familias más exitosas; algunas también, se pueden encontrar en climas templados (Corner, 1976; Niembro, 1989). Presentan inflorescencias axilares, típicamente en pares, cubiertas o no de brácteas (Berg et al., 2006).

Las moráceas exhiben una gran diversidad de rasgos morfológicos, entre los cuales Clement y Weiblen (2009) destacan la arquitectura de las inflorescencias; éstas pueden ser unisexuales o bisexuales, racemosas o cimosas a complejamente capitadas; o pueden ser inflorescencias pistiladas algunas veces unifloras (Rohwer y Berg, 1993); receptáculo carnoso multi a unifloro, bracteado (Berg, 1972, 2005; Carvajal, 2007). Sus

flores se insertan en inflorescencias y son unisexuales (diclinas), libres o connadas o también adnadas al receptáculo (Berg et al., 2006); sin perianto (aclamídeas) o monoclamídeas si está presente.

Las flores estaminadas con (1-) 4 (-6) estambres, poseen de dos a cuatro tépalos libres o connados o perianto diminuto o carente; filamentos libres o connados, rectos o flexionados antes de la antesis, pistilodio presente o ausente; las anteras tetraesporangiadas o biesporangiadas (Leite et al., 2018) con dos tecas (Berg et al., 2006). Las plantas de Moraceae son polinizadas por viento o por insectos (Simpson, 2019).

Las flores pistiladas sincárpicas, 2(3) carpelos (Simpson, 2019), presentan cuatro tépalos libres o connados, sin remanente de estambres, ovario unilocular, súpero a ínfero, estilos y/o estigmas uno o dos (típicamente 2), óvulo (1) anátropo a campilótropo, crasinucelado y bitégmico. Placentación apical o (sub) apical (Rohwer y Berg, 1993; Leite et al., 2018).

El fruto en forma de aquenio o parecido a una drupa, con el perianto carnoso y envolvente; cuando son frutos pequeños pueden agruparse en un sincarpo (conjunto de frutos unidos entre sí, procedente de varias flores distintas), o puede nacer sobre un receptáculo carnoso (Carvajal, 2007; Niembro, 1989; Simpson, 2019).

La semilla es una por unidad de fruto, albuminosa (reserva alimenticia en forma de endospermo) o exalbuminosa (sin endospermo y con el embrión ocupando todo el interior de la semilla) (Simpson, 2019); son grandes sin endospermo, o pequeñas y con endospermo (Niembro, 1989), encerradas por el endocarpo o pericarpo. La cubierta seminal es membranosa, de paredes marrones y delgadas, o con muchas células con

paredes engrosadas y llenas de almidón. El tegmen es aplastado, no especializado o persistente (Corner, 1976).

El embrión es curvo o recto, pequeño o grande, con dos cotiledones planos y delgados, o bien, gruesos y carnosos, iguales o dispares, en donde uno es grande y el otro pequeño, la radícula es corta. El endospermo es nuclear y oleaginoso (Corner, 1976; Niembro, 1989; Carvajal, 2007).

La morfología de los frutos y semillas ha sido ampliamente estudiada, pero no existe un acuerdo general en su clasificación e interpretación, por lo que se necesitan más investigaciones con enfoque estructural para dar un acercamiento primordial al problema (Oyama y Souza, 2011).

Con base en la revisión de literatura, de herbarios y trabajo de campo, Carvajal (2012) propone que, en México, la familia Moraceae está representada por 12 géneros y 62 especies, muchas de ellas con importancia ornamental, alimenticia e industrial.

## **2.2 Género *Brosimum***

Berg (2001) reduce de siete a cinco, el número de tribus de Moraceae del neotrópico: Artocarpeae, Castilleae, Ficeae, Moreae y Dorstenieae, después de haber incluido a la antigua tribu Brosimeae (Berg, 1972) en la Tribu Dorstenieae, donde se encuentra ubicado el género *Brosimum* hasta la actualidad (Stevens, Versión 14, julio 2017). Diversos autores (Berg, 1972; Carbajal, 2007) caracterizan al género con especies de distribución neotropical, como árboles monoicos o dicoicos. Normalmente, los sexos están separados (dioicos), pero en algunos casos se pueden encontrar árboles

monicos (Pardo-Tejeda y Sánchez-Múñoz, 1981). Algunas especies presentan látex blanco o amarillo, dulce o amargo en grandes cantidades (Berg, 1972).

Las inflorescencias son unisexuales o bisexuales, pedunculadas, sub-globosas, entre otras, con el receptáculo al inicio completamente cubierto con brácteas peltadas y redondas. Flores estaminadas varias a numerosas y se distribuyen en la superficie del receptáculo, sumergidas en la inflorescencia. Cada flor estaminada tiene un estambre con antera peltada, dehiscencia circuncísil y está rodeado por brácteas peltadas y circulares; además se puntualiza que algunas veces hay una flor abortiva en la extremidad de las inflorescencias estaminadas (Pardo-Tejeda y Sánchez-Múñoz, 1981).

Las descripciones coinciden en que el perianto va desde bien desarrollado a vestigial o carente; estambres 1 a 4; anteras latrorsas a extrorsas, pistilodio ausente. Las flores pistiladas 1 a varias, embebidas en el receptáculo; ovario con perianto connado o adnado al receptáculo, estigmas 2; testa con partes engrosadas, algunas veces vascularizada; embrión transverso a oblicuo, cotiledones iguales o desiguales (Berg, 1972, 2001; Carvajal, 2007).

El fruto globoso a sub-globoso envuelto por el receptáculo agrandado y envolvente, carnoso, con frecuencia coloreado y manteniendo restos de brácteas en su superficie; endocarpo crustáceo a casi leñoso. Semilla grande y sin endospermo, embrión con cotiledones gruesos, iguales o desiguales (Carvajal, 2007) y cubierto, según Pardo-Tejeda y Sánchez-Muñoz (1981), por una testa delicada y vascularizada.

Este género está compuesto por 13 especies, de las cuales, solo tres están presentes en la República Mexicana: *Brosimum latescens*, *Brosimum guianense* y *Brosimum alicastrum* (Carvajal, 2012).

### 2.3 *Brosimum alicastrum* Sw.

*Brosimum alicastrum*, conocido como Ramón, es un árbol perenne que se distribuye en regiones tropicales y húmedas del país, de las costas del Golfo y Pacífico hasta los 800 metros sobre el nivel del mar; desde el sur de Tamaulipas y San Luis Potosí hasta Quintana Roo y la península de Yucatán y desde Sinaloa hasta Chiapas (Pennington y Sarukhán, 1998). Su distribución se extiende por Centroamérica, desde Belice a Nicaragua y hasta Sudamérica, en Colombia, Venezuela, Perú y Brasil, y en el Caribe, en Cuba y Jamaica (Carvajal, 2012).

Es una de las especies dominantes de las selvas altas perennifolias, medianas subperennifolias y subcaducifolias (Pennington y Sarukhán, 1998). También se puede encontrar en zonas semiáridas. La distribución geográfica de esta especie (Fig. 1) la posiciona como una de las más extensamente distribuidas en México (Pardo-Tejeda y Sánchez Muñoz, 1981).



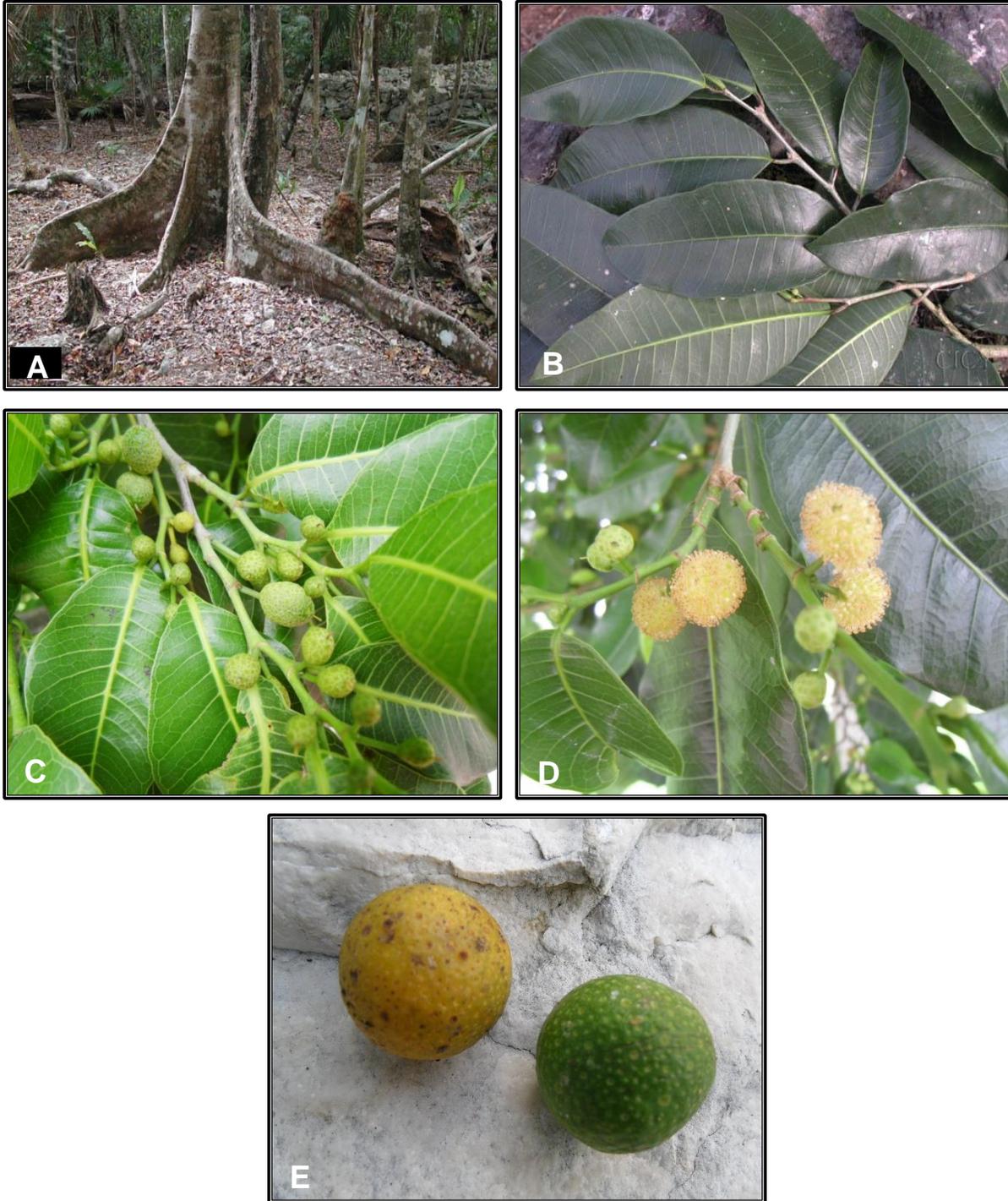
**Fig. 1** Distribución geográfica de *Brosimum alicastrum* en México. Tomado de Pennington y Sarukhán, 2005, en Meiners et al., 2009.

Es un árbol dioico, condición que Berg (1972) pone en duda al marcarlo con interrogación y Pennington y Sarukhán (1998) lo describen como especie monoica o dioica; su altura es de más de 35 m y hasta 40 m, 1.5 m de diámetro en el tronco, con contrafuertes bien formados y corteza de color gris a gris pardo, lisa en árboles jóvenes, o escamosa en individuos antiguos (Fig. 2A) (Pennington y Sarukhán, 1998).

El látex es blanco a amarillo (Berg, 1972). Las hojas presentan estípulas, que dejan una cicatriz en forma de anillo, son alternas, glabras, simples, coriáceas, con nervaduras laterales, ovadas, elípticas o lanceoladas con margen entero, ápice de agudo a acuminado, base de obtusa a aguda (Fig. 2B) (Peters y Pardo-Tejeda, 1982).

Las inflorescencias son axilares, unisexuales, solitarias, generalmente globosas aunque también pueden ser sub-globosas o elipsoidales, pedúnculos de hasta 15 mm de largo, brácteas que varían en tamaño, desde 0.2 a 2 mm de diámetro, con tricomas (Carvajal, 2007, 2012); Pennington y Sarukhán (1998), refieren a las inflorescencias como cabezuelas axilares cuya superficie está cubierta por numerosas escamas peltadas (en vez de brácteas peltadas), persistentes en el fruto; también señalan que en la superficie se insertan muchas flores masculinas e inmersa una sola flor femenina, de ahí su mención de árboles monoicos.

Florece principalmente entre noviembre y febrero y maduran desde marzo hasta junio (Pennington y Sarukhán, 1968); aunque pueden encontrarse flores en otras temporadas (Pardo-Tejeda y Sánchez-Muñoz, 1981).



**Fig. 2 Corteza, hojas, inflorescencias y fruto de *Brosimum alicastrum*.** A. Corteza. B. Hojas. C. Inflorescencia pistilada. D. Inflorescencia estaminada. E. Fruto maduro (amarillo), fruto inmaduro (verde). Fuente: Herbario CICY, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Las inflorescencias pistiladas (Fig. 2C) por lo general unifloras, inmersas en el receptáculo, con un estilo largo, de hasta 8 mm y dos estigmas desiguales en longitud; el extremo del estilo con dos estigmas recurvados se proyecta afuera del receptáculo. El ovario es ínfero, unilocular, con un solo óvulo (Carvajal, 2007; Pennington y Sarukhán, 1998). Berg (2001), menciona que esta especie produce primero inflorescencias predominantemente pistiladas y después predominantemente estaminadas.

Berg (1972) y Carvajal (2007) describen a las inflorescencias estaminadas (Fig. 2D) con una flor pistilada central, abortiva, lo cual corresponde a una inflorescencia bisexual, cuyo desarrollo a menudo es fallido; esta característica hace que Berg (1972) sostenga que la especie no es estrictamente dioica.

Para la descripción de la inflorescencia estaminada indica que está rodeada de numerosas flores masculinas en las que el perianto está ausente o presente pero diminuto. Berg (1972) y Carvajal (2007) describen a nivel de especie, la información que Pardo-Tejada y Sánchez-Muñoz (1981) dieron para el género *Brosimum*: el androceo está representado por un estambre con filamento y conectivo ancho, antera peltada, tecas fusionadas y dehiscencia circunscísil y rodeado de brácteas peltadas.

El fruto es subgloboso de 2 a 2.5 cm de diámetro, las brácteas son persistentes, el pericarpio es carnososo de color amarillo o anaranjado en la madurez (Fig. 2E) (Pardo-Tejada y Sánchez-Muñoz, 1981). La semilla tiene un diámetro de hasta 2 cm, con dos cotiledones, rodeada de una testa papirácea amarillenta (Pennington y Sarukhán, 1968).

### **2.3.1 *Brosimum alicastrum* Sw., subespecie *alicastrum* y subespecie *bolivarense***

La especie *Brosimum alicastrum* Sw., se divide en dos subespecies según una notable diferencia en las anteras (Berg, 1972; Carvajal, 2012): *Brosimum alicastrum* Sw., subespecie *alicastrum*, que se caracteriza por tener anteras peltadas, con tecas fusionadas y dehiscencia circunscísil, y *Brosimum alicastrum* Sw., subespecie *bolivarense*, que posee anteras con tecas libres y dehiscencia lateral.

## **2.4 Usos del Ramón**

Esta especie ha sido y continúa siendo muy atractiva para los habitantes de la Península de Yucatán por sus múltiples usos, ya que todas las partes del árbol son aprovechadas y tiene importancia económica; las hojas y frutos se usan como forraje para ganado, especialmente en las épocas de sequía (Pennington y Sarukhán, 1968), además produce dos veces más forraje que otras especies utilizadas como pasturas. La pulpa del fruto es comestible y las semillas tostadas o molidas se utilizan como sustitutos del café y, se prepara harina para elaboración de pan y tortillas (Larqué-Saavedra, 2013).

A partir de observaciones arqueológicas en ruinas Mayas, donde este árbol domina la vegetación, Puleston (1968) describe la importancia de *B. alicastrum* en esta cultura; menciona que existe evidencia de que los mayas tenían técnicas de arboricultura bien desarrolladas y hacían uso de varios frutos, entre ellos los de *B. alicastrum*, que representaba la base para la subsistencia en temporadas en las que otros cultivos eran escasos.

También tiene usos en la medicina tradicional, donde se usan las hojas, el jugo de los frutos y látex en tratamientos contra la tos, asma y bronquitis. El látex se utiliza con estimulante para la producción de leche durante la lactancia (Berg, 1972). Tiene un menor uso como recurso maderable, donde se utiliza en la construcción de muebles, herramientas, empaques o combustible (Pardo-Tejeda y Sánchez-Muñoz, 1981).

La especie se caracteriza por ser de alto valor nutritivo; las hojas y los frutos contienen un alto porcentaje de proteína cruda, incluso más alto que el maíz; la semilla presenta cuatro veces más triptófano que este grano (Pardo-Tejeda y Sánchez-Muñoz, 1981; Peters y Pardo-Tejeda, 1982), es baja en grasa y posee alto contenido en fibra y ácido fólico (Larqué-Saavedra, 2014).

## **2.5 Ubicación taxonómica**

La tabla 1 muestra la clasificación taxonómica de *Brosimum alicastrum* subsp *alicastrum*, comparando la clasificación tradicional de Cronquist, 1981 y la clasificación de Stevens (Versión 14, Julio 2017) y Berg (1972, 2001), este último autor establece dos subespecies *alicastrum* y *bolivarense*.

**Tabla 1 Ubicación Taxonómica de *Brosimum alicastrum***

<b>Clasificación clásica (Cronquist, 1981)</b>		<b>Clasificación filogenética APG (2017) hasta familia y tribu.</b>	
		<b>Clasificación de Berg (1972, 2001) desde tribu hasta sub-especie.</b>	
<b>Reino</b>	Plantae	<b>Clado</b>	Angiospermae/Magnoliophyta
<b>Subreino</b>	Tracheobionta	<b>Clado</b>	Dicotiledóneas verdaderas
<b>División</b>	Magnoliophyta	<b>Clado</b>	Núcleo de las Dicotiledóneas verdaderas
<b>Clase</b>	Magnoliopsida	<b>Clado</b>	Rosides
<b>Subclase</b>	Hamamelidae	<b>Orden</b>	Rosales Perleb
<b>Orden</b>	Urticales	<b>Familia</b>	Moraceae Gaudichaud
<b>Familia</b>	Moraceae	<b>Tribu</b>	Dorstenieae Dumortier Brosimeae <i>sensu</i> Berg (1972) incluida en Dorstenieae Berg (2001)
<b>Género</b>	<i>Brosimum</i>	<b>Género</b>	<i>Brosimum</i> Swartz
		<b>Subgénero A</b>	<i>Brosimum</i>
		<b>Subgénero A,</b>	<i>Brosimum</i>
		<b>Sección 1</b>	
<b>Especie</b>	<i>Brosimum alicastrum</i> Sw. 1788	<b>Especie</b>	<i>Brosimum alicastrum</i> Swartz
		<b>Subespecies</b>	<i>alicastrum</i> y <i>bolivarense</i>

### 3. Objetivos

#### 3.1 General

- Describir la morfología y estructura de los órganos reproductivos sexuales de *Brosimum alicastrum*.

#### 3.2 Específicos

- Determinar las características morfológicas y estructurales de las inflorescencias estaminada, bisexual y pistilada, antes de la antesis y durante la antesis.
- Describir la anatomía del fruto y semilla en algunas etapas de su desarrollo.
- Caracterizar histoquímicamente los tejidos de las estructuras estudiadas.
- Analizar los resultados anatómicos e histoquímicos para precisar las características estructurales de los órganos reproductivos y la calidad nutricional de los frutos y semillas.

## **4. Material y Método**

### **4.1 Recolección del material vegetal**

El material de estudio comprendió la recolección de inflorescencias pistiladas, estaminadas y bisexuales, y de frutos en tres etapas de desarrollo: inmaduros, maduros y una etapa intermedia. La colecta se realizó en la ciudad de Mérida, Yucatán, en el Parque Científico y Tecnológico, ubicado en Carretera Sierra Papacal Chuburna Puerto km. 5, Sierra Papacal (21°07'44.4"N, 89°46'49.0"W), durante 2016, 2017 y julio de 2018. Las muestras colectadas fueron provenientes de árboles cultivados.

### **4.2 Procesamiento de material vegetal**

#### **4.2.1 Fijación**

Las muestras de inflorescencias y frutos en algunas etapas de desarrollo y maduros, cortados sagital y transversalmente, se fijaron en FAA (Formaldehído 10% – Ácido Acético 5%– Alcohol etílico 50%- Agua 35%) por 10 días. Este material se dividió en tres grupos, con las mismas etapas de desarrollo: una para su estudio macrofotográfico, otra para su inclusión en parafina y su estudio con microscopía óptica, y una más para su estudio con microscopía electrónica de barrido.

#### **4.2.2 Deshidratación**

Las muestras fijadas se lavaron por 4 horas en agua corriente. Se inició el tren de deshidratación con alcoholes etílicos graduales: 30%, 50%, 70%, 85% y 96% y por último

dos cambios con alcohol absoluto (100%); las muestras se mantuvieron en cada agente deshidratante durante 2 horas.

### **4.2.3 Inclusión**

Después del último lavado en alcohol al 100%, los tejidos se colocaron en una mezcla de alcohol absoluto-xileno 1:1 por 1 hora y finalmente en xileno puro, durante 30 minutos. Posteriormente se realizaron cambios en mezclas de xileno-paraplast 1:1 y xileno-paraplast 1:2 por 12 horas cada uno y paraplast puro por 24 horas; estos tres cambios se realizaron en estufa de temperatura controlada de  $50^{\circ}\text{C} \pm 2$ .

La inclusión se realizó en moldes cúbicos de metal sobre una placa de vidrio, para recibir paraplast fundido en una estufa a  $50^{\circ}\text{C}$ , y se colocó la muestra hasta el fondo del cubo orientándola para la obtención de cortes longitudinales o transversales. Para orientar las muestras se utilizó una aguja de disección caliente y al mismo tiempo se eliminaron las burbujas de aire. Los bloques se mantuvieron a temperatura ambiente ( $25^{\circ}\text{C}$ ) por 24 horas, antes de sacarlos del molde.

### **4.2.4 Obtención de cortes**

Los bloques de parafina con las muestras incluidas se separaron de los cubos de metal y se fijaron a una base cúbica de madera adecuada para el microtomo de rotación American Optical modelo 820.

Se obtuvieron cortes de  $10\ \mu\text{m}$  de grosor, los cuales se extendieron sobre un baño de flotación, se recogieron en portaobjetos que fueron marcados con numeración seriada para su posterior selección para las tinciones.

#### **4.2.5 Desparafinación**

Los portaobjetos con cortes secuenciales se seleccionaron alternadamente para las diferentes tinciones. Los portaobjetos seleccionados se mantuvieron en la estufa durante 30 minutos a 50°C, posteriormente se colocaron en xileno puro y se realizaron 3 cambios en este solvente cada 3 minutos.

#### **4.2.6 Hidratación de los cortes**

Los cortes se sumergieron inmediatamente en una serie de alcoholes graduales descendentes, empezando con alcohol absoluto-xileno 1:1 y alcoholes 100%, 96%, 85%, 70%, 50% y 30% hasta agua, durante 3 minutos cada cambio.

### **4.3 Pruebas Histoquímicas**

Las muestras se tiñeron siguiendo las técnicas histoquímicas descritas por Johansen (1940):

- Ácido peryódico- reactivo de Schiff (APS): para la detección de polisacáridos insolubles que se tiñen de rosa o púrpura (Johansen, 1940).
- Azul negro de naftol (ANN): las proteínas se tiñen de azul (López et al., 2005)
- Tinción doble Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS)-Azul negro de naftol (ANN): tiñe los polisacáridos insolubles, entre ellos almidón, de rosa a púrpura y las proteínas en azul.
- Cuádruple de Johansen: tiñe las paredes de células lignificadas de color rojo brillante, las paredes celulares cutinizadas de púrpura rojizo, las paredes suberizadas se tiñen de rojo, de naranja verdoso las paredes celulares de celulosa, el citoplasma de

naranja brillante y los gránulos de almidón purpura con halos verdes o naranjas y los granos de proteína azules (Johansen 1940).

#### **4.4 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)**

Las muestras destinadas a la observación con microscopía electrónica de barrido fueron pasadas después de alcohol absoluto a mezclas de etanol-acetona 1:1, 1:2, para finalizar con tres cambios de acetona pura, cada cambio se realizó durante 15 minutos. Posteriormente se procesó en una desecadora de punto crítico en CO<sub>2</sub> modelo CPD-030 Bal Tec. Luego se colocaron y orientaron sobre los portamuestras de aluminio con cinta conductiva de carbón de doble cara. Posteriormente se cubrieron con una capa fina de iones de oro en una ionizadora Denton Vacuum Desk II. Las observaciones se realizaron en un microscopio electrónico de barrido (MEB) Jeol JSM5310-LV a 15 kV.

#### **4.5 Macrofotografía y microfotografía**

Se separaron muestras de inflorescencias y frutos en diferentes etapas de desarrollo para su registro fotográfico macroscópico utilizando un microscopio estereoscópico Zeiss Stemi SV6 y la captura digital se realizó con una cámara Canon EOS Rebel T6i 24 Mp. Los cortes histológicos se fotografiaron con un microscopio óptico Olympus Provis AX70 con una cámara Evolution 5 Mp.

## 5. Resultados

En la recolección de inflorescencias, se distinguieron inflorescencias lisas, correspondientes a pistiladas, e inflorescencias rugosas, correspondientes a estaminadas y bisexuales.

El análisis de la superficie de las mismas, con el microscópico estereoscópico permitió reconocer, en la inflorescencia lisa, un estilo con estigma bifurcado y la presencia de brácteas peltadas y fimbriadas, en toda la superficie, por lo que se le identificó como una inflorescencia pistilada.

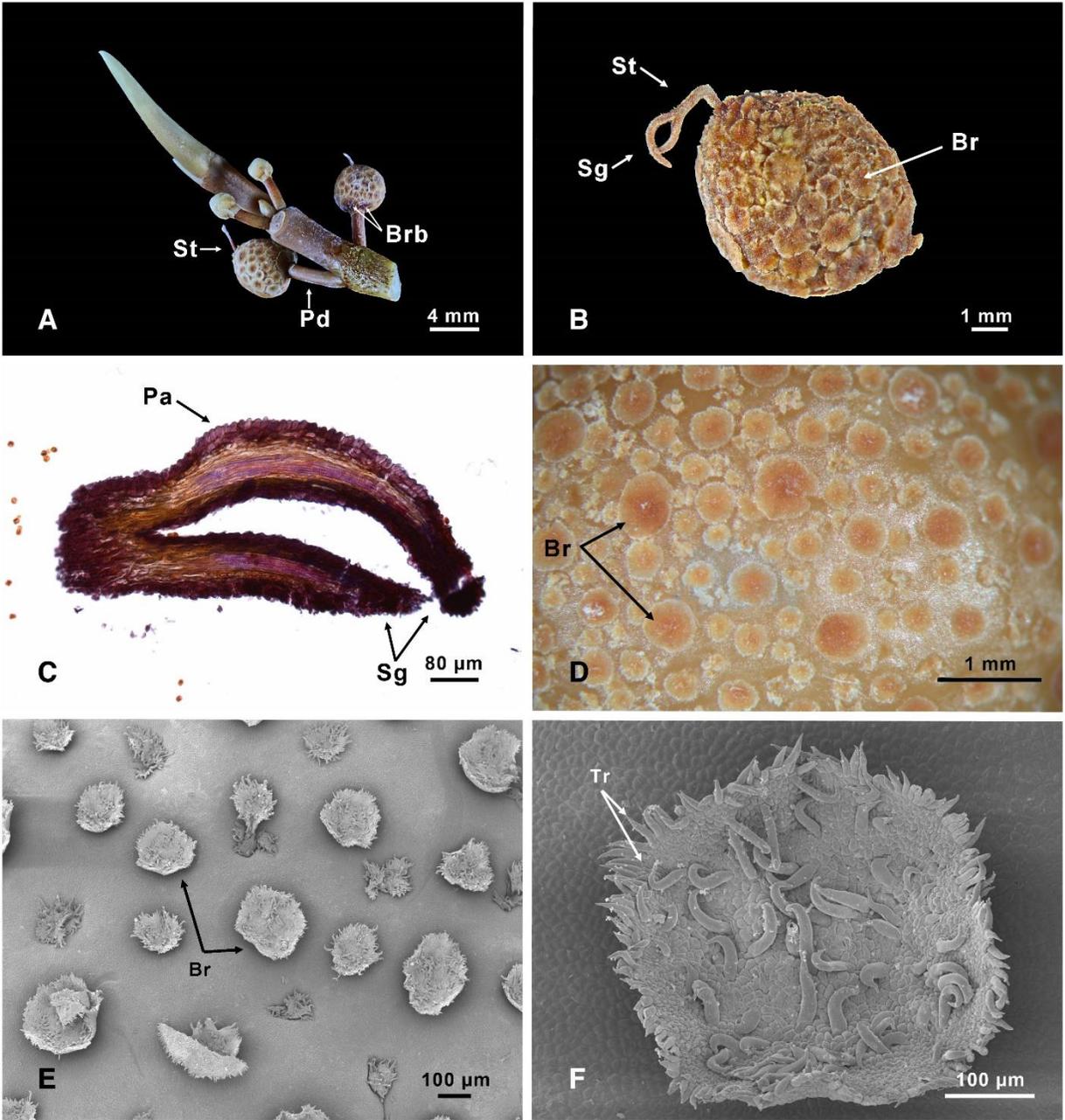
Las inflorescencias rugosas mostraron diferencias entre sí identificándose dos tipos: en uno se observó sólo la presencia de estambres distribuidos en toda la superficie de la inflorescencia, rodeados por brácteas peltadas, con las anteras peltadas, globosas y cerradas o abiertas en forma circular, y se identificó como inflorescencia estaminada. El segundo tipo de inflorescencia rugosa presentó además un estilo con estigma bifurcado rodeado de estambres iguales a los del tipo estaminada, por lo que se le denominó inflorescencia bisexual. En ambas inflorescencias rugosas se observaron brácteas, peltadas y fimbriadas entre los estambres.

El análisis anterior permitió reconocer tres tipos de inflorescencias de *Brosimum alicastrum*: pistiladas, estaminadas y bisexuales que se presentan en cabezuelas axilares, individuales, globosas o subglobosas y pedunculadas.

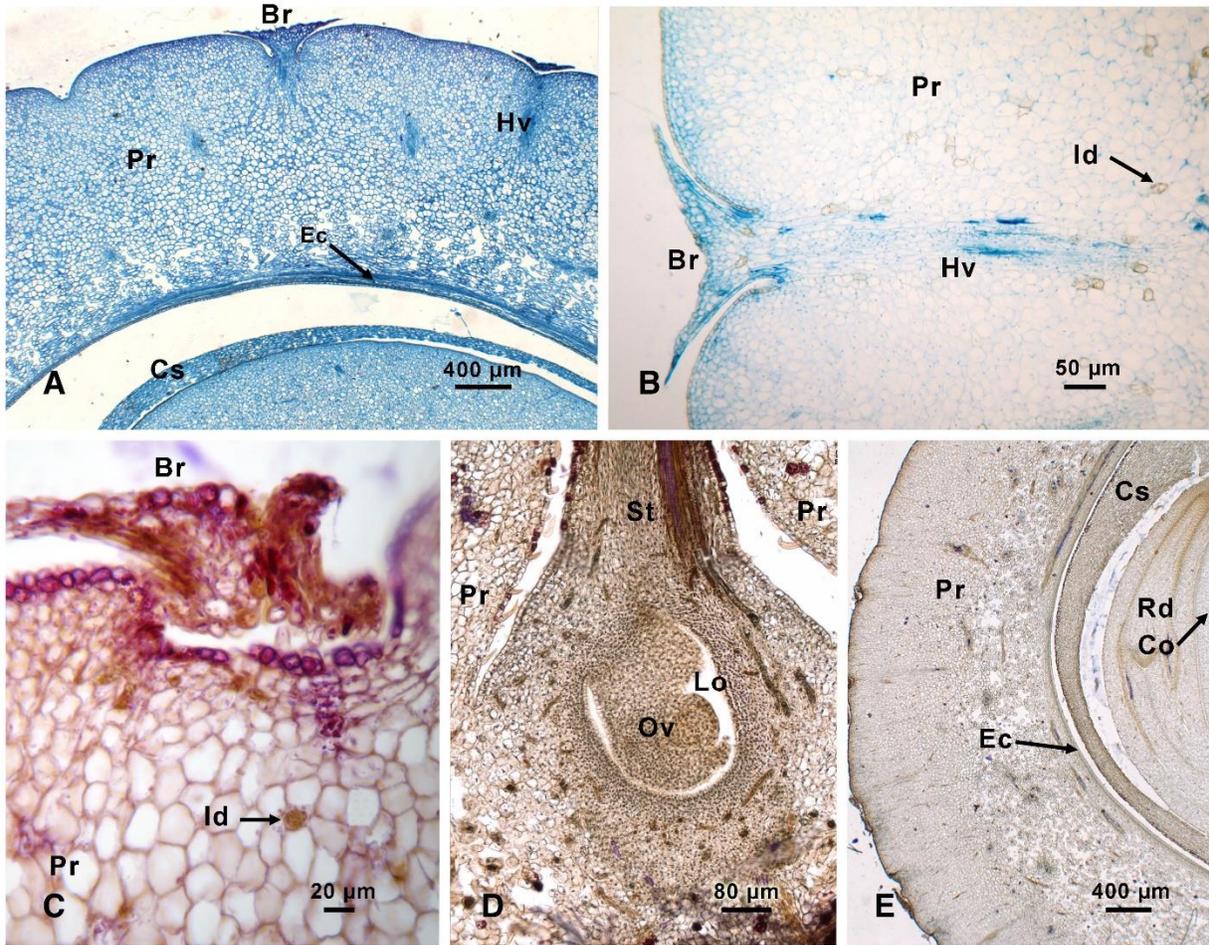
## 5.1 Inflorescencia pistilada

La inflorescencia pistilada de *Brosimum alicastrum* es una cabezuela axilar, individual, globosa, oval o esférica, pedunculada, con cuatro brácteas basales (Fig. 3A). Presentó una flor apical con ovario ínfero incluido y fusionado en su base con el receptáculo; no se observó ninguna estructura que semejara perianto de la flor pistilada (aclamidea), presentó un estilo exerto con un estigma bifurcado recurvado hacia adentro y papiloso (Fig. 3B-C). La superficie del receptáculo se observó cubierta de brácteas circulares, peltadas, pubescentes por la presencia de tricomas unicelulares, no glandulares, tanto en el margen como en la lámina de las brácteas (Fig. 3D-F).

Con el análisis microscópico se observó que el parénquima del receptáculo está constituido por dos regiones: una región de parénquima denso con células sin espacios intercelulares, isodiamétricas y con contenido celular, entre las cuales se encuentran haces vasculares que provienen del haz vascular ramificado del pedúnculo, que conectan con cada una de las brácteas; la otra región del parénquima presenta células con grandes espacios intercelulares, denominado parénquima esponjoso (Fig. 4A). En este último se diferencian laticíferos que por su reacción con la tinción doble Ácido Peryódico-Reactivo de Schiff (APS)-Azul negro de naftol (ANN) contienen glucoproteínas (Fig. 4B) y que van aumentando en número con la maduración del fruto; también se observaron idioblastos que por su reacción con la tinción Cuádruple de Johansen contienen taninos (Fig. 4C).



**Fig. 3 Inflorescencia pistilada.** A. Inflorescencia femenina joven, se observa el pedúnculo, brácteas basales, brácteas peltadas sobre la superficie y el estilo. B. Inflorescencia pistilada con estilo exerto y estigma bilobular, y bracteas en la superficie. C. Estigma bifurcado y papiloso. D. Superficie de inflorescencia pistilada, detalle de las brácteas peltadas. E. Superficie de inflorescencia pistilada con brácteas peltadas y pubescentes (MEB). F. Bráctea peltada de la superficie, con detalle de tricomas unicelulares (MEB). Br, brácteas peltadas; Brb, brácteas basales; Pa, papilas; Pd, pedúnculo; Tr, tricomas; Sg, estigma; St, estilo.



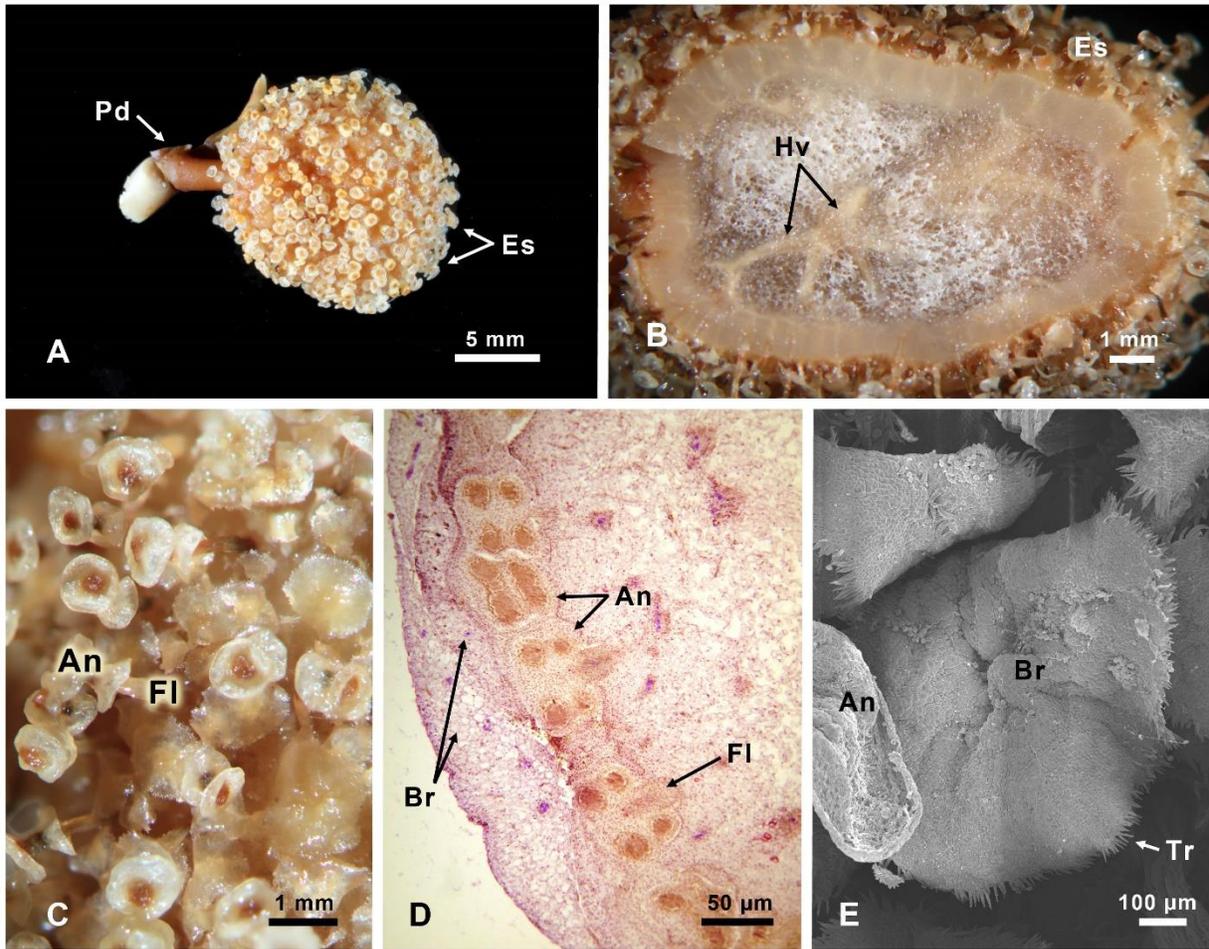
**Fig. 4 Cortes longitudinales de inflorescencia pistilada y fruto joven con semilla.** A. Se observa pared del receptáculo con parénquima denso y esponjoso. El haz vascular de las brácteas se encuentra en el parénquima esponjoso (Tinción Azul Negro de Naftol). B. Detalle de implantación de brácteas, se observan idioblastos con taninos y haces vasculares de la bráctea (Tinción doble Ácido Peryódico-Schiff- Azul Negro de Naftol). C. Bráctea en la superficie del receptáculo (Tinción Cuádruple de Johansen). D. Ovario ínfero inmerso en el receptáculo, con un lóculo ocupado por un óvulo campilótrofo, se observa parte del estilo (Tinción Cuádruple de Johansen). E. Se observa pared del receptáculo; la implantación de las brácteas ocupa la mitad del tejido parenquimático con irrigación vascular y presencia de laticíferos, el endocarpo, como una capa de células compactas, y la cubierta seminal, como una capa de células irregulares, una parte del embrión mostrando radícula y cotiledones (Tinción Cuádruple de Johansen). Br, brácteas peltadas; Co, cotiledones; Cs, cubierta seminal; Ec, endocarpo; Hv, haces vasculares; Id, idioblasto; Lo, lóculo del ovario; Ov, óvulo; Pr, pared del receptáculo; Rd, radícula; St, estilo.

El ovario presentó un lóculo en el cual se observó un óvulo apical, campilótropo, bitégmico, con tegumentos rudimentarios, crasinucelado (Fig. 4D), que prospera y se desarrolla en una semilla con una cubierta seminal correspondiente a una membrana delgada de algunas capas de paredes celulares lignificadas adosadas al embrión (Fig. 4E).

## **5.2 Inflorescencia estaminada**

La inflorescencia estaminada al igual que la pistilada, es una cabezuela axilar, individual, subglobosa, pedunculada, que presenta cuatro brácteas basales. La superficie está cubierta por múltiples flores masculinas (Fig. 5A-B), cada una constituida por un estambre sin perianto (aclamídea), con una antera peltada, bilocular (o diteca), biesporangiada, basifija y con dehiscencia circunscísil (Fig. 5C-D). El filamento de los estambres de las flores masculinas surge de la axila de las brácteas peltadas, que presentan tricomas unicelulares, no glandulares, en su borde (Fig. 5E).

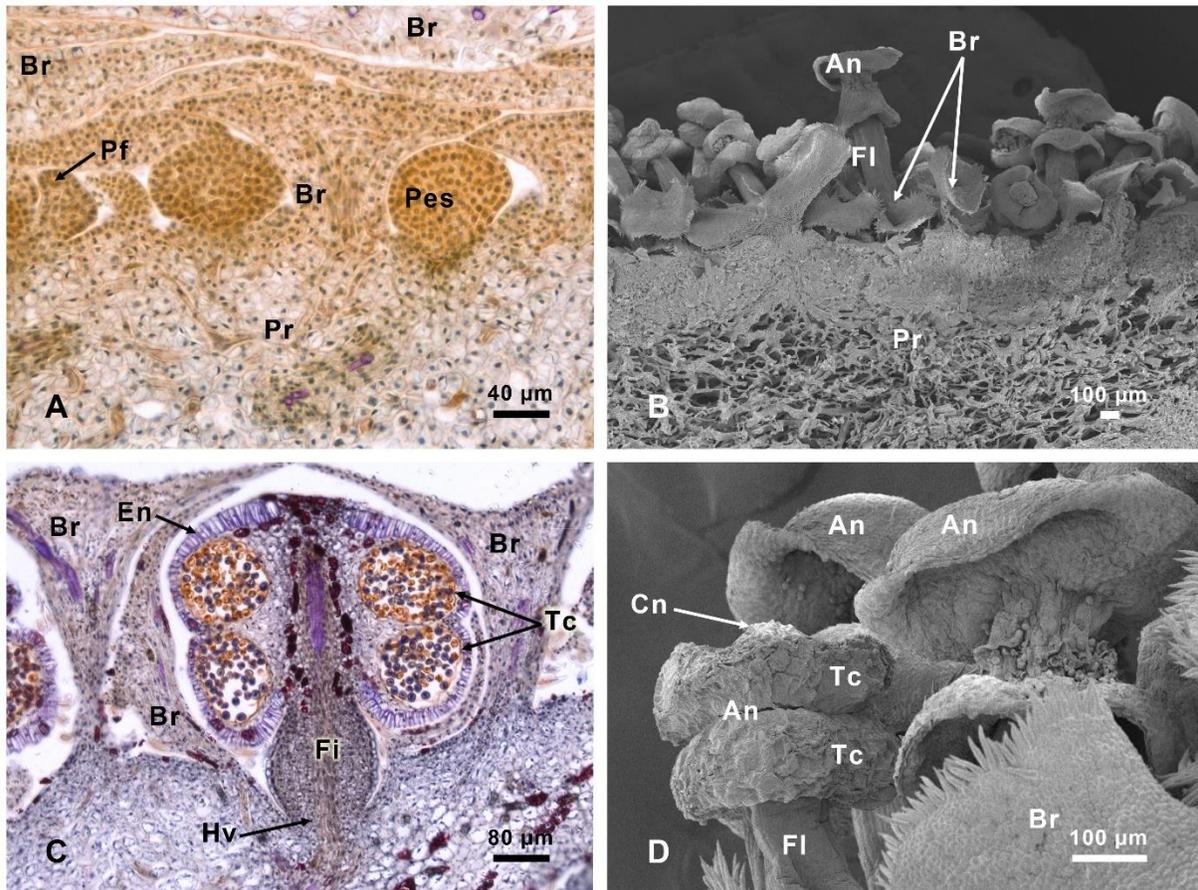
Las inflorescencias masculinas, en las primeras etapas de desarrollo, mostraron primordios de estambres incluidos en el tejido parietal del receptáculo, región donde también se distingue parénquima denso y parénquima esponjoso, y brácteas peltadas sobre la superficie. En esta etapa se observaron en la base de los primordios de estambres, pequeñas estructuras con forma de brotes foliares que pudieran corresponder a un perianto (Fig. 6A), pero cuando las anteras estuvieron bien constituidas, ya no se observaron estas estructuras y los filamentos solamente estaban rodeados por las brácteas peltadas (Fig. 6B).



**Fig. 5 Inflorescencia estaminada.** A. Inflorescencia masculina con pedúnculo y estambres. B. Corte longitudinal de inflorescencia masculina con estambres en la superficie, sin flor femenina. C. Detalle de los estambres con dehiscencia circunscísil. D. Corte longitudinal de inflorescencia masculina, muestra estambres en formación, con anteras biloculadas y biesporangiadas, cubiertos por brácteas peltadas. E. Brácteas peltadas con tricomas en el margen (MEB). An, antera; Br, brácteas peltadas; Es, estambres; Fi, filamento, Hv, haces vasculares; Pd, pedúnculo; St, estilo; Tr, tricomas.

Las anteras están conformadas por dos tecas fusionadas circularmente, cada teca con un solo lóculo sin septos, con un endotecio de grandes células prismáticas de paredes gruesas y un tapete de células aplanadas uninucleadas; el filamento mostró una apariencia recta y gruesa, está vascularizado y presentó idioblastos con taninos en el

tejido conectivo (Fig. 6C); en su ápice presentó el tejido conectivo de la antera rodeado por las dos tecas fusionadas (Fig. 6D). No se pudo concluir si los granos de polen son biporados como se establece en la descripción del género.



**Fig. 6 Cortes de inflorescencia estaminada.** A. Corte longitudinal de inflorescencia masculina que muestra primordios de estambres (Tinción Cuádruple de Johansen). B. Inflorescencia masculina con brácteas peltadas y estambres (MEB). C. Corte longitudinal de antera, detalle de estambre (Tinción Cuádruple de Johansen). D. Detalle de estambres mostrando una antera cerrada y otra en deshiscencia. An, antera; Br, brácteas peltadas; Cn, tejido conectivo; En, endotecio; FI, filamento; Hv, Haz vascular; Pr, pared del receptáculo; Pes, primordio de estambre; Pf, primordio foliar; Tc, teca.

### 5.3 Inflorescencia bisexual

También se encontraron inflorescencias bisexuales que presentan una sola flor femenina apical formada por un pistilo incluido en el receptáculo, este último también se diferencia en parénquima denso y parénquima esponjoso. El estilo es grueso, sobresale del receptáculo y termina en un estigma bifurcado y papiloso (Fig. 7A), similar al pistilo localizado en la inflorescencia pistilada, con ovario unilocular, ínfero, con un solo ovulo.

La inflorescencia también presenta brácteas basales (Fig. 7B). La periferia de la inflorescencia está rodeada por flores masculinas iguales a las descritas en la inflorescencia estaminada (Fig. 7C).

En ninguna de las etapas estudiadas para este tipo de inflorescencia se observó la formación de semilla y fruto pero sí inflorescencias con óvulos abortivos. No se distinguió alguna estructura similar a un perianto (Fig. 7D-E).

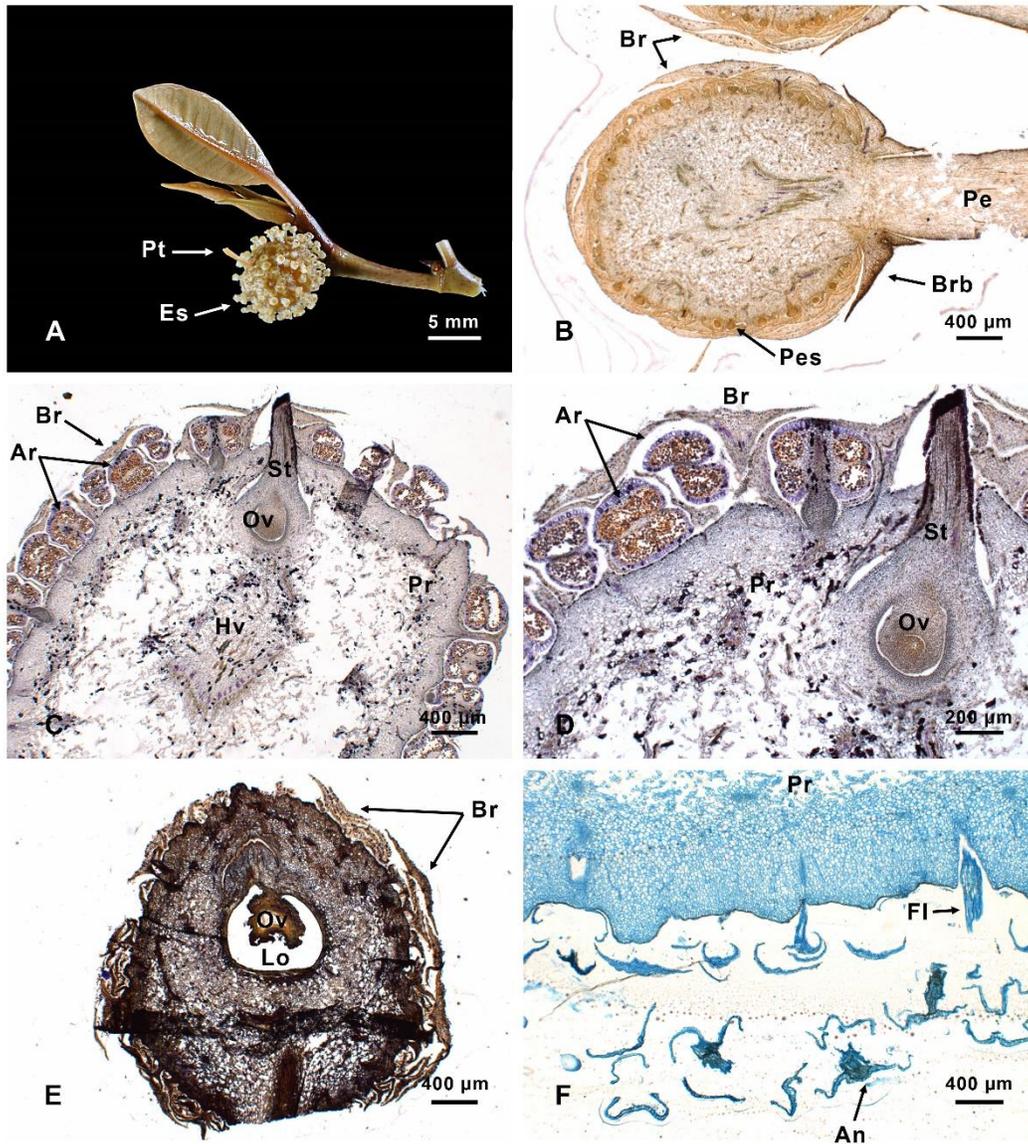
En cortes longitudinales de las inflorescencias estaminada y bisexual se observaron brácteas de diferente tamaño, que, junto con los estambres en anthesis (entiéndase por anthesis cuando el filamento de los estambres se elonga y la antera se abre) le dan a la superficie una apariencia granular a simple vista (Fig. 5A, 7A).

En cortes histológicos, las brácteas y los filamentos se observaron conectados a haces vasculares, estos se prolongan desde el pedúnculo y se ramifican en la pared del receptáculo, en el parénquima denso (Fig. 7E). En etapas tempranas del desarrollo, las brácteas cubren totalmente la superficie del receptáculo, formando hasta tres capas sobre los estambres en diferentes etapas de desarrollo (Fig. 6A-B, 7B-C).

Posteriormente, en las inflorescencias estaminadas y bisexuales, la elongación de los estambres hace que éstos rebasen a las brácteas, las cuales se observan alrededor

de los filamentos (Fig. 7D). Antes de la dehiscencia, la antera se parece a una pequeña perilla en el filamento (Fig. 6D).

El tejido que está por debajo de la epidermis del receptáculo, en los tres tipos de inflorescencia, corresponde a un parénquima de células grandes con espacios intercelulares, donde aparecen haces vasculares de color purpura con la tinción Cuádruple de Johansen, lo que indica la lignificación de los vasos (Fig. 4B, 5D, 6B, 7B-E).

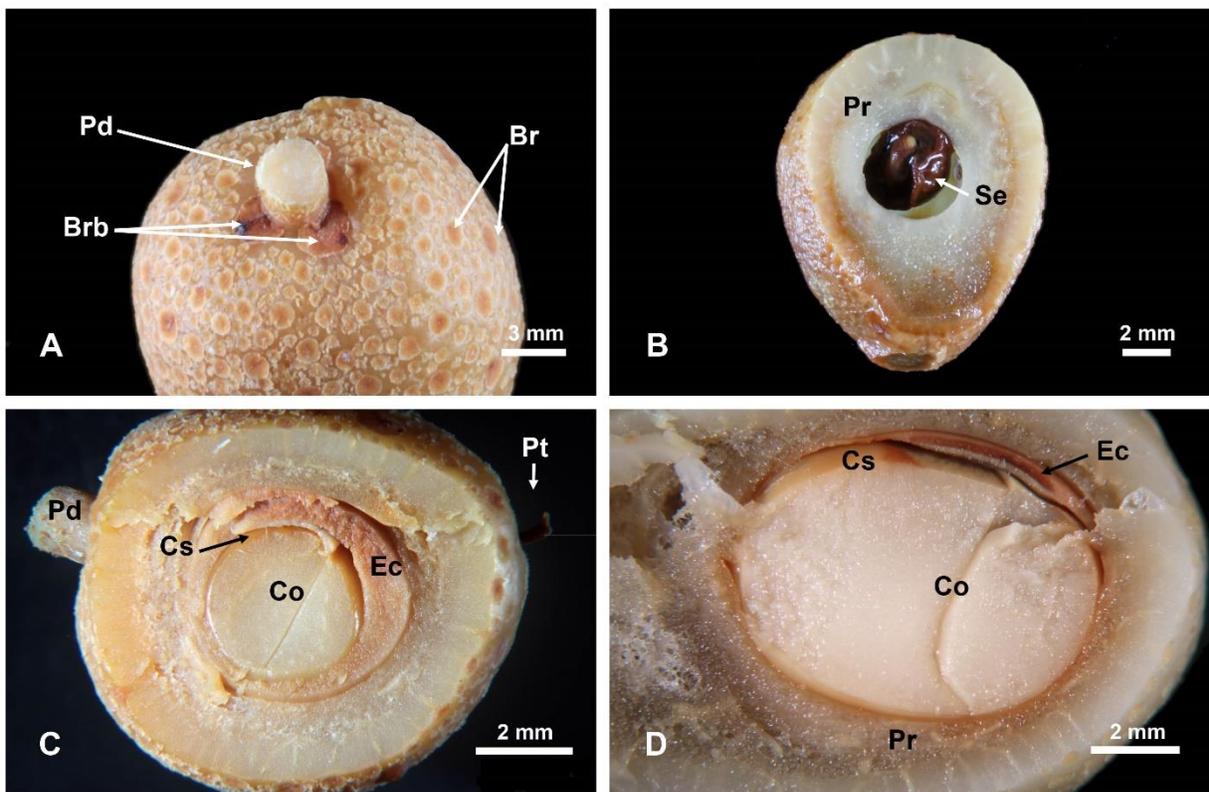


**Fig. 7 Cortes de inflorescencia bisexual.** A. Inflorescencia bisexual con pistilo y estambres. B. Corte longitudinal de inflorescencia bisexual que muestra parte del pedúnculo, brácteas basales y brácteas peltadas que cubren a los primordios de estambres (Tinción Cuádruple de Johansen). C. Corte longitudinal que muestra una panorámica de una inflorescencia bisexual, con ovario incluido en el tejido del receptáculo, este último muestra haces vasculares, la superficie está cubierta por estambres y brácteas (Tinción Cuádruple de Johansen). D. Detalle de inflorescencia bisexual, se observan anteras bilobuladas y biesporangiadas (Tinción Cuádruple de Johansen). E. Inflorescencia bisexual atrofiada con restos de estambres en la superficie y ovario y óvulo atrofiados (Tinción Cuádruple de Johansen). F. Superficie de inflorescencia con estambres que han liberado granos de polen (Tinción Azul Negro de Naftol). An, antera; Br, brácteas peltadas; Brb, brácteas basales; Sg, estigma; Fl, filamento; Lo, lóculo del ovario; Ov, Óvulo; Pes, primordios de estambres; Pt, pistilo; Pr, pared del receptáculo.

## 5.4 Fruto

El fruto maduro es drupáceo, globoso que alcanza hasta 3 cm de diámetro, con pulpa carnososa cuyo tejido coincide con las observaciones anatómicas e histoquímicas del receptáculo realizadas en cortes de inflorescencias pistiladas más jóvenes (Fig. 8A-B). Se observó que las brácteas persisten hasta la madurez de los frutos.

Los tejidos internos del receptáculo están conectados desde el inicio del desarrollo con la base del ovario ínfero (Fig. 8C), cuya pared deriva en la formación del endocarpo durante el desarrollo de la semilla; el endocarpo rodea a la cubierta seminal la cual se forma a partir de los tegumentos del óvulo (Fig. 8D).

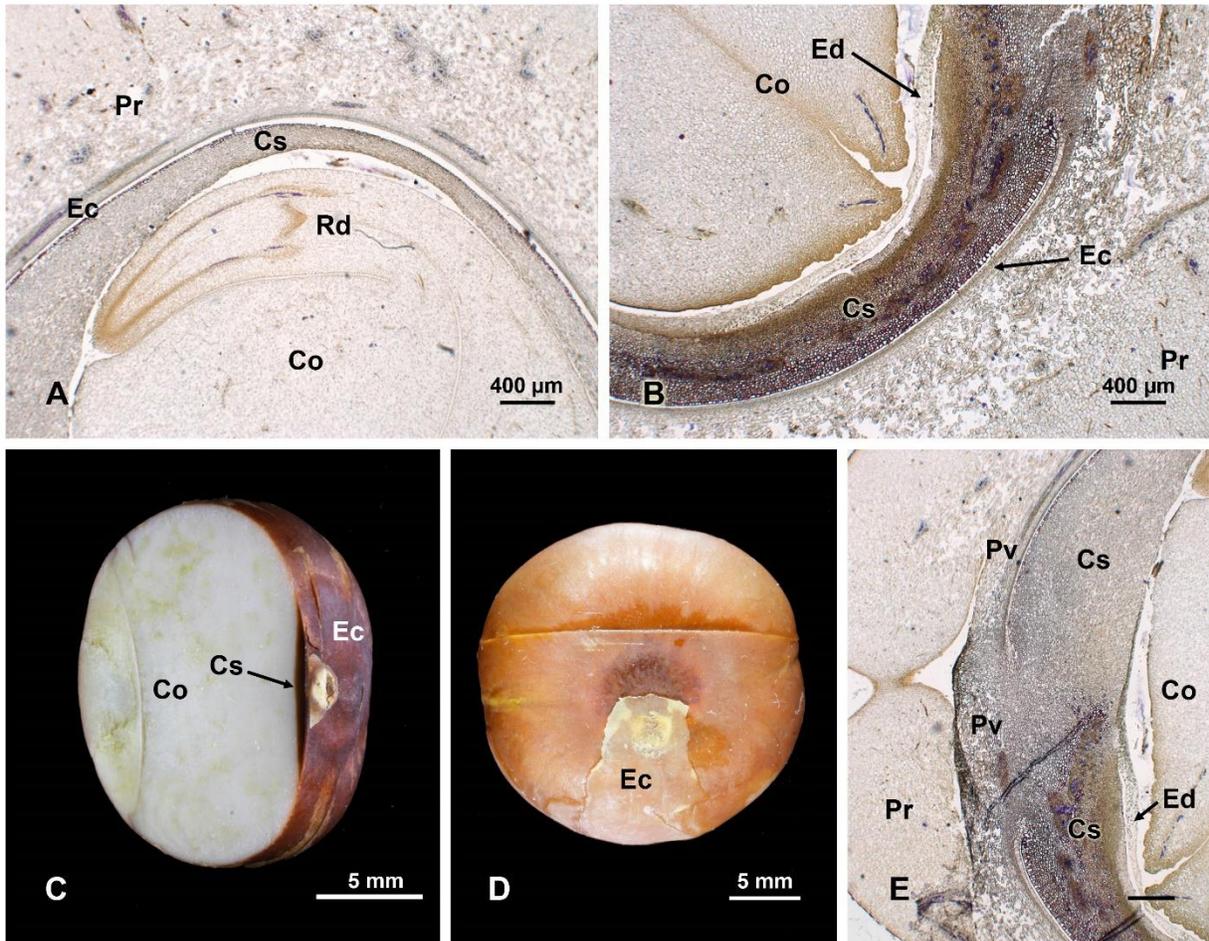


**Fig. 8 Fruto.** A. Fruto globoso con pedúnculo, brácteas basales y brácteas peltadas. B. Corte de fruto que muestra una semilla. C, D. Corte longitudinal de fruto. Se observa pedúnculo persistente de la inflorescencia femenina, y cotiledones. Brb, brácteas basales; Br, brácteas; Co, cotiledones; Cs, cubierta seminal; Ec, endocarpo; Pd, pedúnculo; Pr, pared del receptáculo; Pt, pistilo; Se, semilla.

## 5.5 Semilla

De acuerdo a los cortes de inflorescencias pistiladas en etapa más joven (Fig. 4D), la semilla deriva de un óvulo campilótropo, funiculado, crasinucelado, de placentación apical. Se observó un embrión grande con dos cotiledones gruesos, desiguales, sobrepuestos; el eje embrionario es pequeño, curvo con una radícula corta en proporción a los cotiledones (Fig. 9A). En las primeras etapas del desarrollo, el endospermo celular está compuesto por tres capas celulares, pero en etapa madura no se observaron más que escasos restos en algunas regiones, reflejando que fue consumido por el embrión durante su desarrollo (Fig. 9B). Hacia el exterior le sigue una cubierta seminal delgada, con haces vasculares y adherida a los cotiledones, que se origina de los tegumentos (Fig. 9C).

Sobre ella se encontró el endocarpo, cuyas características estructurales e histoquímicas coinciden con las observadas en la pared del ovario en cortes de inflorescencias más jóvenes, por lo que se propone que derive de ésta; se encuentra representado por una membrana coriácea de color pardo con abundante vascularización (Fig. 9D). En cortes se observó que la pared del ovario está fusionada en su base al parénquima esponjoso quedando como una capa de células sin espacios intercelulares (Fig. 9E).

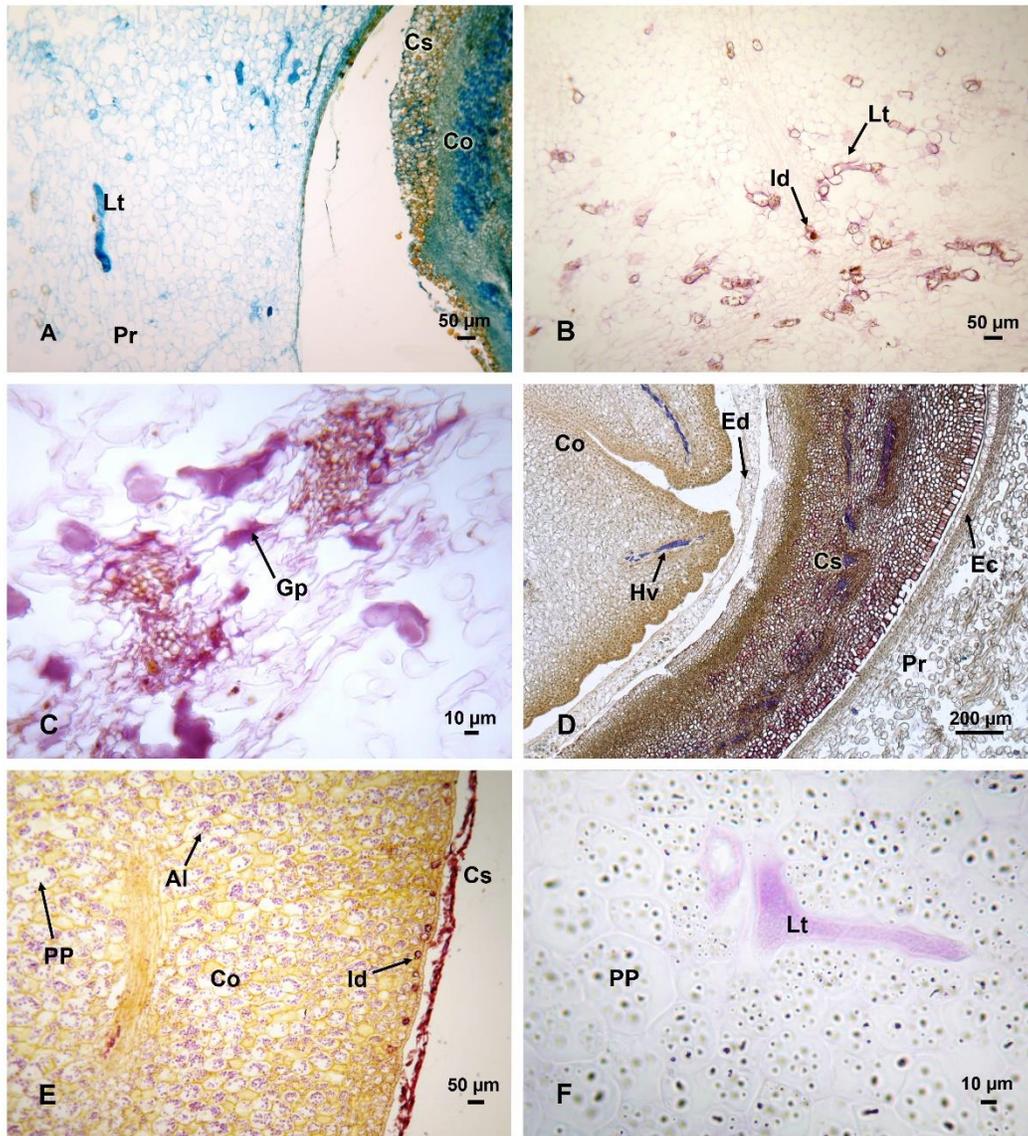


**Fig. 9 Semilla.** A, B. Cortes longitudinales de semilla, se observa pared del receptáculo, endocarpo, cubierta seminal, endospermo y cotiledones. C. Corte de semilla que muestra el endocarpo coriáceo, la cubierta seminal muy delgada y los cotiledones. D. Semilla cubierta por el endocarpo. E. Corte de semilla, se observa pared del receptáculo cuyo parénquima esponjoso se fusiona con la base de la pared del ovario, cubierta seminal, endospermo, parte de cotiledones y radícula. Co, cotiledones; Cs, cubierta seminal; Ed, endospermo; Ec, endocarpo; Pr, pared del receptáculo; Pv; pared del ovario.

En cortes de muestras de frutos de algunas etapas se observó que las células del parénquima del receptáculo aumentaron de tamaño y presentaron espacios intercelulares amplios, aparentemente ocupados por agua, lo que en cortes de etapas maduras se reconoció como la pulpa, jugosa y dulce.

Este tejido también presentó cambios importantes en su contenido, ya que se diferenciaron laticíferos con glucoproteínas así como la presencia de idioblastos con taninos, evidenciadas por la reacción con los colorantes de las tinciones Azul Negro de Naftol (Fig. 10A) y Ácido peryódico- reactivo de Schiff (Fig. 10B-C).

Los laticíferos son no-articulados y ramificados. En los cotiledones de la semilla, las tinciones Azul Negro de Naftol y Cuádruple de Johansen permitieron observar abundantes gránulos de almidón y de proteína, idioblastos con taninos (Fig. 10A, D-E), y laticíferos con contenido glucoprotéico, con la tinción Ácido peryódico- reactivo de Schiff (Fig. 10F).



**Fig. 10 Cortes de fruto y semilla en diferentes etapas de desarrollo.** A. Región de diferenciación de tejido interno en cotiledones, endocarpo y pared del receptáculo (Tinción Azul Negro de Naftol). B. Pared de receptáculo con presencia de idioblastos y laticíferos. (Tinción Ácido peryódico- reactivo de Schiff). C. Pared de receptáculo con depósito de glucoproteínas. (Tinción Ácido peryódico- reactivo de Schiff). D. Corte longitudinal de fruto, muestra pared de receptáculo, endocarpo, se observa extremos de cotiledones rodeados por endospermo celular y cubierta seminal (Tinción Cuádruple de Johansen). E. Cotiledón. Células con proteoplastos, gránulos de almidón e idioblastos con taninos (Tinción Cuádruple de Johansen). F. Cotiledón con laticíferos con reacción positiva a polisacáridos insolubles (Tinción Ácido peryódico-reactivo de Schiff). Al; almidón; Co, cotiledones; Cs, cubierta seminal; Ec, endocarpo; Ed, endospermo; Gp, glucoproteínas; Hv, haces vasculares; Id, ideoblastos; Lt, laticíferos; PP, proteoplasto; Pr, pared del receptáculo.

## 6. Discusión

*Brosimum* es un género neotropical de la familia Moraceae, cuya delimitación y agrupación ha cambiado a través del tiempo. Desde 1847, Trécul (1847 en Berg, 1972) lo incluye en la tribu Brosimeae; sin embargo, esta tribu queda contenida en 2001 dentro de la tribu Dorstenieae (Berg, 2001), y desde entonces el género *Brosimum* ha permanecido en este clado hasta la clasificación más reciente de Stevens (Versión 14, Julio 2017). En el presente estudio se tomó como referencia al trabajo de Berg (1972), debido a que ofrece información más detallada de la especie y las subespecies *Brosimum alicastrum* subesp *alicastrum* y *Brosimum alicastrum* subesp *bolivarense*.

### **Inflorescencias estaminadas, pistiladas y bisexuales; árboles dioicos y monoicos**

El género *Brosimum* incluye especies dioicas como *Brosimum costaricarum*, *Brosimum lactescens* y *Brosimum acutifolium* (Berg, 1972), para los que sólo se reportan inflorescencias estaminadas y pistiladas. En cambio, en el presente trabajo con *Brosimum alicastrum*, además de las inflorescencias estaminadas y pistiladas, se registró la presencia de inflorescencias bisexuales, coincidiendo con la descripción de Berg (1972) quien señala que la especie no es estrictamente dioica, ya que en las inflorescencias estaminadas se puede encontrar una flor pistilada, más o menos desarrollada o reducida. Este mismo autor establece que si fueran monoicos, entonces las flores estaminadas carecerían de perianto o éste sería vestigial, lo cual quedó establecido en los resultados de inflorescencias estaminadas del presente estudio.

Los árboles de Ramón seleccionados en el presente estudio, se reconocieron principalmente como dioicos: unos con inflorescencias femeninas o pistiladas y otros con inflorescencias masculinas o estaminadas; sin embargo, algunos de los árboles con inflorescencias estaminadas, presentaron inflorescencias bisexuales, confiriéndole al árbol la condición de monoico. Estas observaciones entran en conflicto con la descripción de Pennington y Sarukhán (1998), quienes señalan que lo común para la especie *B. alicastrum* es que las inflorescencias sean bisexuales, lo que implica que los árboles sean comúnmente monoicos. Carbajal (2007) también abre la posibilidad de dioicidad en el género *Brosimum* cuando se presentan inflorescencias unisexuales, que se identifican por tener receptáculo globoso con numerosas brácteas peltadas; estas características coinciden con las inflorescencias pistiladas y estaminadas observadas en el presente trabajo.

Ribeiro (2007) señala que el estado ancestral de las inflorescencias bisexuales es ambiguo, pero se propone que aparecieron dos veces en el pasado, una de ellas en especies representantes de la Tribu Dorsteneae, con reversiones a inflorescencias unisexuadas en algunas especies de *Brosimum*. El mismo autor apunta que en la familia Moraceae, las inflorescencias bisexuales pueden ocurrir de formas distintas, de acuerdo a la sexualidad de las flores, una de ellas es como en la flor estaminada de *Brosimum gaudichaii* (Leite et al., 2018), en la cual se presenta un primordio de carpelo que no se elonga ni se diferencia, manteniéndose como una estructura rudimentaria llamada pistilodio, por lo que la flor es funcionalmente masculina; y otra forma de inflorescencias bisexuales es como el caso de *B. alicastrum*, correspondiente a la presencia de flores

estaminadas y flores pistiladas en la misma inflorescencia, pero que también en este caso, la inflorescencia es funcionalmente masculina.

A partir de los resultados histológicos del presente estudio, se evidenció que, en todas las muestras de inflorescencias bisexuales, el óvulo estaba atrofiado desde etapas tempranas a tardías, o no progresaba su desarrollo hacia semilla. La condición de falta de desarrollo del gineceo en las inflorescencias bisexuales de Ramón, refleja un proceso evolutivo de senescencia, que en las Moraceae ha llevado a la reducción en la estructura de la flor (Leite et al., 2018); en el caso de *B. alicastrum* se puede suponer una tendencia de la inflorescencia bisexual hacia un comportamiento primordialmente como inflorescencia estaminada, reforzando la condición dioica de los árboles. De esta manera, los hallazgos en este trabajo apoyan a despejar la duda planteada por Berg (1972) de que la especie *B. alicastrum* sea dioica ¿siempre?, pues en las inflorescencias bisexuales, las únicas flores funcionales son las estaminadas y, por lo tanto, se comporta como inflorescencia unisexual estaminada.

### **Fusión de estructuras**

El estudio de las inflorescencias de *B. alicastrum* las ha revelado con un grado de complejidad, que de acuerdo a Berg et al. (2006) deriva de procesos como la condensación de los ejes o la fusión de estructuras homólogas (connación) o adyacentes (adnación). Un ejemplo de ello se encontró en las muestras de inflorescencias bisexuales del presente estudio, que correspondieron a las etapas más jóvenes respecto a las muestras de inflorescencias estaminadas o pistiladas, donde se observó el gineceo como

una entidad, sin distinción de dos carpelos, aunque su estigma bifurcado refleja el antecedente bicarpelar.

Este carácter del pistilo lo describen Berg (1973) y Leite et al. (2020) en las Moraceae, como derivado de gineceo bicarpelar, unilocular y uniovulado, y lo denominan gineceo pseudomónomero (unidad derivada de la fusión de más de una). Las tendencias evolutivas mencionadas en la familia Moraceae han promovido la formación de inflorescencias complejas que Berg (2006) ha relacionado con la funcionalidad respecto a la polinización y a la dispersión en etapa de fruto.

Otro ejemplo de unión integral de órganos diferentes o partes de órganos diferentes (adnación) es la fusión de la base del gineceo de *B. alicastrum* con la pared del receptáculo en la inflorescencia pistilada, convirtiéndose en un pseudocarpo o fruto falso (Font Quer, 1965) que contiene mucho tejido carnoso además del proveniente del ovario maduro. Gracias al seguimiento de distintas etapas de inflorescencias pistiladas, en el presente estudio se logró reconocer que el tejido de la pared del ovario presenta características estructurales e histoquímicas que permiten sugerir que éste se convirtió en el endocarpo, a diferencia del estudio en *B. gaudichaudii* (Jacomassi et al., 2010), donde no se aclara el origen del endocarpo, a pesar de haber trabajado con etapas inmaduras.

### **Flores estaminada y pistilada aclamideas**

En la flor pistilada no se registró la presencia de perianto como lo mencionan Berg (1972) y Penington y Sarukhán (1998), sino que se observó al gineceo adnado al

receptáculo, como en la flor pistilada de *Dorstenia arifolia* que sólo cuenta con ovario, estilo y dos ramas del estilo (Araujo et al., 2017).

Con el análisis de microscopía óptica, microscopía de barrido y las técnicas histoquímicas en las flores estaminadas, llamó la atención que en inflorescencias jóvenes de *B. alicastrum* se observaron estructuras foliosas en la base de los primordios de estambres, que corresponderían a esbozos de perianto; pero en flores estaminadas con las anteras desarrolladas, los filamentos de los estambres carecieron de ellas. Berg (1972) indica que la especie no presenta perianto o algunas veces lo presenta diminuto.

Considerando estos resultados en la flor estaminada y dado que el análisis histoquímico con microscopía óptica de la flor pistilada permitió establecer que tampoco ésta presentó ninguna estructura semejante a perianto, a ambas se les consideró como aclamídeas. En *Brosimum gaudichaudii* (Leite et al., 2018) también se describen a las flores estaminada y pistilada como aclamídeas, aunque la flor estaminada desarrolla una bractéola que envuelve a la flor estaminada de un único estambre y a un primordio de carpelo; en *B. alicastrum* no se presentó ninguna estructura de ese tipo.

## **Brácteas**

Llamó la atención que en las inflorescencias estaminadas, desde las etapas más jóvenes recolectadas hasta aquellas maduras con las flores estaminadas en antesis, la superficie del receptáculo se mantuvo cubierta completamente por brácteas interflorales; en cambio, en las inflorescencias pistiladas sólo en las etapas más jóvenes se observaron brácteas sobrelapadas, pero en la madurez se distinguió una amplia separación entre ellas. Las brácteas no son consideradas órganos florales, pero

sostienen a una flor o al meristemo floral, y en el caso de las inflorescencias estaminadas, están cumpliendo una función de protección en la formación de las flores masculinas de un solo estambre (Endress, 1994).

Las brácteas interflorales, que en etapas tempranas se apilan en al menos 3 capas cubriendo a los estambres en formación, son rebasadas en etapas posteriores por la elongación del filamento de los estambres y ocurre la consecuente dehiscencia circunscísil que deja expuesto el tejido conectivo del filamento y los granos de polen.

Las observaciones con las técnicas histoquímicas y las imágenes de fotografía macro y de microscopía electrónica de barrido dieron claridad sobre la estructura de la flor estaminada, con lo cual se logró establecer que el material biológico para el presente estudio, correspondió a la especie *B. alicastrum* subespecie *alicastrum* (Berg, 1972) ya que las flores estaminadas tienen un solo estambre cuya antera forma un ángulo de 90° con el filamento, dando una antera peltada que en antesis se abre de forma circunscísil, y como carácter distintivo: antera peltada con tecas fusionadas, que la separa de la subespecie *bolivarense* porque ésta presenta anteras libres.

### **Antera biesporangiada bilocular**

La perspectiva de antera biesporangiada en *B. alicastrum* se logró por la integración de las técnicas empleadas en etapas de inflorescencias jóvenes y maduras, antes y después de la antesis, que permitieron reconocer una continuidad en el espacio interno de cada teca y sin huella de la existencia de algún septo ni restos de alguna pared dentro de los lóculos. Llama la atención la diferencia con el reporte de Leite et al. (2018) donde las anteras de la especie *B. gaudichaudii* del mismo género, son

tetraesporangiadas, así como las cuatro especies de Moraceae, de géneros y tribus diferentes, analizadas en el mismo trabajo.

Batygina (2002) explica que, en un caso típico, en las primeras etapas del desarrollo de la antera, el primordio de antera forma cuatro protuberancias y en cada una de ellas se desarrolla una célula arquesporrial que formará la pared de un microsporangio (saco polínico) y al tejido esporógeno. Derivado de este proceso se forma una antera tetraesporangiada que es característica de la mayoría de las plantas con flores; pero en algunas especies, el número de microsporangios por antera puede ser menor.

En el presente trabajo no se contó con una inflorescencia tan joven de *B. alicastrum* que permitiera distinguir si las anteras presentaban dos o cuatro sacos polínicos, sin embargo, considerando la puntualización de Esau (1977) y Batygina (2002), se podría proponer que en etapas tempranas del desarrollo de las anteras de *B. alicastrum*, la reducción en el número de microsporangios pudo deberse a: 1) la fusión de primordios de anteras en etapas tempranas, 2) la fusión de un par de microsporangios en una etapa temprana del desarrollo de la antera, 3) la degradación del septo que separa a los microsporangios dentro de una teca, de tal manera que los lóculos de dos microsporangios se unen, haciendo que una antera tetrasporangiada apareciera como si fuera biesporangiada con un lóculo en cada mitad de la antera.

### **Estambres rectos**

En la familia Moraceae se ha reportado gran diversidad en la morfología de los estambres y en particular para el filamento se habla de la forma recta o flexionada (Berg, 1972; Leite et al., 2018). La presencia de estambres rectos observados en el presente

trabajo desde las muestras de inflorescencias más jóvenes hasta aquellas en antesis, sugiere polinización por insectos, como se ha propuesto para otras especies de Moraceae (Datwyler y Weiblein, 2004) como en el género *Dorstenia* (Araujo et al., 2017) de la misma tribu que *Brosimum*.

## **Polen**

Berg (2006) señala que el polen en el género *Brosimum* es bipoado, con una exina indiferenciada más gruesa que la de los géneros *Helianthostylis* y *Trymatococcus*, y los poros pueden tener un anillo y un opérculo. Sin embargo, las imágenes de los granos de polen obtenidas en el presente estudio, al microscopio electrónico de barrido y al microscopio de luz, no permitieron distinguir los detalles morfológicos del polen, por lo que no se logró concluir si los granos de polen son bipoados.

## **Inflorescencia pistilada diferente a inflorescencia estaminada**

El estudio histoquímico, con microscopía de barrido y macrofotografía permitieron establecer que las inflorescencias unisexuales pistilada y estaminada son muy diferentes unas de otras. En el caso de la inflorescencia pistilada, ésta es uniflora y se observó inmersa en el receptáculo; por definición, el hecho de que una inflorescencia sea uniflora es desconcertante, sin embargo, considerando a la familia Moraceae y su historia filogenética, Rohwer y Berg (1993) y Ribeiro (2007) explican que la característica de inflorescencia uniflora se deriva probablemente de un proceso de reducción, que Classen-Bockhoff (1990) denomina pseudantia floral, que es un tipo especial de inflorescencia resultado de agregación y disminución de las flores, lo que da lugar a la

formación de una unidad de atracción para la polinización por animales. En cambio, la inflorescencia estaminada sí cumple con la definición de inflorescencia de ser un sistema de ramificación que se resuelve en numerosas flores (Font Quer, 1965), que en el presente caso fueron pequeñas y reducidas a un estambre libre, recto, con anteras basifijas, biesporangiadas y fusionadas.

### **Óvulo y ovario, semilla y endocarpo**

La descripción del grupo Brosimeae por Berg (1972) refiere que el óvulo es anátropo; sin embargo, Berg (2006) y Clement y Weiblen (2009) indican que en la familia Moraceae se pueden encontrar óvulos anátropos o campilótropos, lo que coincide con lo observado en este trabajo. El óvulo en etapas maduras se mostró como una semilla de embrión grande con dos cotiledones gruesos, conteniendo abundantes gránulos de almidón, plastos y así como idioblastos, cuya composición química, revelada histoquímicamente, se discute más adelante.

Los cambios que presentaron los tegumentos del óvulo hasta la cubierta seminal delgada y con su capa más externa lignificada, se lograron observar sólo en las muestras de inflorescencias pistiladas en etapas avanzadas, por lo que sólo se puede sugerir que la cubierta seminal derive del tegumento externo, como ocurre en *Sorocea bonplandii* (Sousa y da Rosa, 2005) donde se refiere que es el tegumento externo el que se vuelve masivo y origina la testa.

## **Pseudocarpo**

Por los hallazgos estructurales y el estudio histoquímico de las etapas tempranas de frutos en desarrollo y la estructura de los frutos maduros, en los que se reconoció la presencia de un endocarpo coriáceo y una cubierta seminal reducida a una membrana delgada, se propone que el fruto de *Brosimum alicastrum* subesp *alicastrum* corresponde con la organización que ha sido escrita por Berg (1972) como fruto grande adnado al receptáculo pulposo, que en conjunto Berg (2005) denomina pseudocarpo.

## **Fruto drupáceo**

A través de las tinciones empleadas se reveló presencia de taninos pero ausencia de lignina en el endocarpo por lo que no hay endurecimiento de esta capa, solo una textura coriácea, y entonces el fruto sería drupáceo, como lo designa Carvajal (2007) y Niembro (1989) y no como drupa o drupas agregadas reportadas para otras especies de Moraceae (Datwyler y Weiblen, 2004).

Romaniuc-Neto y Wanderley (1992) comentan que es difícil enmarcar este tipo de fruto en la clasificación convencional, ya que la descripción de la drupa (Roth, 1977) se refiere al fruto que se origina de una flor, con un ovario súpero que se desarrolla de un único carpelo, de mesocarpo carnoso, coriáceo o fibroso que rodea un endocarpo leñoso. En cambio, en el presente caso, el fruto de *B. alicastrum* se origina de una inflorescencia monoflora, donde el ovario es ínfero al receptáculo y este último está fusionado con el endocarpo no endurecido. Por sus características coriáceas (crustáceas), el endocarpo ha sido señalado por Berg (1972) como probable sustituto funcional de la delgada testa.

## Taninos como defensa y antioxidante

Coincidiendo con lo descrito para *B. gaudichaudii* (Jacomassi et al., 2010), en el receptáculo pulposo de *B. alicastrum* se distinguieron dos tipos de parénquima: el más interno esponjoso con presencia de haces vasculares, laticíferos e idioblastos y el parénquima más externo con células más compactas, en las cuales se presentaron idioblastos con taninos, semejantes a los del parénquima esponjoso.

La presencia de idioblastos con taninos (polifenoles) en el receptáculo y en el filamento recto y grueso de los estambres, puede representar una defensa bioquímica contra luz ultravioleta (Leite et al., 2018) o contra depredadores, tanto de las flores masculinas en su formación y maduración (Schmid, 1976), como de la flor femenina (Leite et al., 2018). Además, el receptáculo pulposo también juega un papel protector de la flor femenina, envolviéndola de tal manera que sólo una pequeña porción del estilo y estigma bifurcado permanecen expuestos al proceso de polinización (Leite et al., 2018).

Cabe resaltar que, a través de la Tinción Cuádruple de Johansen, se localizó la presencia de idioblastos con taninos también en los cotiledones de la semilla de Ramón. Las propiedades bioquímicas de los taninos como compuestos polifenoles, propuestas con una función de defensa para las plantas, a su vez, han sido reconocidas farmacológicamente como benéficas para el ser humano por su capacidad antioxidante en la captura de radicales libres.

La harina de la semilla de *B. alicastrum*, usada desde tiempos prehispánicos por los habitantes de la Península de Yucatán (Peters y Pardo-Tejeda, 1982), presenta un mayor contenido de fenoles totales (2467 mg GAE / 100 g) que las nueces comerciales nuez, almendra y cacahuete, y una potente capacidad de eliminación de radicales libres

(Ozer, 2017), con 11.7% veces más compuestos fenólicos y de 33% a 50% más capacidad antioxidante, que la harina de trigo; se identificaron cinco ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido vanílico, ácido cafeico y ácido p-cumarico), un flavonoide y se detectó resveratrol (Subiria-Cueto et al., 2019).

### **Pulpa del receptáculo palatable, glucoproteínas en laticíferos**

La pulpa del fruto de *B. alicastrum*, se propone que se derive del tejido del receptáculo dada la concordancia de sus características estructurales e histoquímicas observadas en cortes de inflorescencias pistiladas más jóvenes. En el fruto de *B. alicastrum*, la pulpa tiene la cualidad de ser grata al paladar y es apreciada por las poblaciones humanas de la Península de Yucatán (Solereeder y Scott, 1908), lo cual se puede relacionar con la abundancia de laticíferos con contenido de glucoproteínas. Al describir las características del látex en el género *Brosimum*, Berg (1972) señala que es amargo en *Brosimum lactescens* y *Brosimum acutifolium*, pero tiene un sabor dulce al menos en *B. alicastrum*.

### **Reservas nutritivas**

El estudio histoquímico de algunas etapas del desarrollo del fruto y la semilla de *B. alicastrum* permitió comprobar en etapa madura, la presencia de reservas glucoproteicas en laticíferos tanto en la pulpa como en los cotiledones de la semilla, así como reservas proteicas y almidón en proteoplastos en parénquima de cotiledones de semilla. Estos hallazgos son similares a los reportados para la semilla de *B. gaudichaudii*

especie natural de Brasil, donde se relata la ocurrencia de glúcidos y proteínas para los frutos de esta especie (Silva et al., 2001).

Baleroni et al. (2002), en el trabajo realizado sobre la composición química de semillas, entre ellas *B. gaudichaudii*, destacaron la presencia de proteínas, lípidos y carbohidratos, quedando por encima de la media en cuanto a la concentración de almidón y proteínas. Al respecto, *B. alicastrum* contiene además de minerales y vitaminas, 13% de proteínas, lo que le da un alto valor nutritivo (Larqué-Saavedra, 2014).

Las poblaciones humanas de la Península de Yucatán consumen las semillas en forma de harina, mezclada con harina de trigo para preparar pan y galletas y con maíz en la elaboración de tortillas y otros productos, que resulta muy nutritiva por la abundancia de gránulos de proteína. La concentración de triptófano en las semillas es 4 veces mayor que la del maíz, lo que eleva la calidad de la proteína (Peters y Pardo-Tejeda, 1982). La evaluación de una bebida de Ramón sensorialmente aceptada, mostró que aporta proteína, fibra dietética, es libre de gluten, lactosa y cafeína.

Los resultados histoquímicos contribuyeron a reforzar la evidencia del valor nutritivo del fruto y la semilla de *B. alicastum* subesp *alicastrum* y junto con los diversos usos de la especie, la posicionan como un recurso agroforestal que se puede incluir como una alternativa alimentaria a los granos que se cultivan de manera extensiva, con alto potencial económico, alimenticio y ambiental.

## 7. Conclusiones

- Se identificaron tres tipos de inflorescencias: pistiladas unisexuales, estaminadas unisexuales, y bisexuales.
- Las inflorescencias pistiladas desarrollan semilla.
- Las inflorescencias bisexuales presentaron estambres, ovario y óvulo, que no desarrolla semilla.
- Los estambres están inmersos en el receptáculo hasta la madurez, cuando se elonga el filamento, se encuentran en la superficie, rodeados por brácteas peltadas, pubescentes.
- Las flores estaminadas fueron aclamídeas, de un solo estambre constituido por un filamento recto y grueso y una antera con dos tecas fusionadas, cada teca con un solo lóculo sin septos.
- Se reconoció, histológicamente, con macro- y microfotografía y con microscopia electrónica de barrido, la morfología de las anteras cerradas y en anthesis con dehiscencia circunscísil, en las flores estaminadas de las inflorescencias estaminadas y bisexuales.
- Las técnicas histoquímicas evidenciaron la presencia de glucoproteínas en fruto y semilla y proteínas en proteoplastos en parénquima de cotiledones.
- Se confirmó que el tipo de fruto es drupáceo.

## 8. Referencias

- Acosta, A., y Martínez-Ruiz, N. (2017). Desarrollo de una bebida nutritiva y sensorialmente agradable como suplemento en el desayuno de niños escolares. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*, 23 (1), 1–9.
- Agrawal, A., y Konno, K. (2009). Latex: A model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of plant defense against herbivory. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 40 (1), 311-331.
- Araujo, L. M., Valentin-Silva, A., Fernandes, G. W., y Viera, M. F. (2017). From anthesis to diaspore dispersal: reproductive mechanisms of rare herbaceous Moraceae species endemic to Brazil. *Darwiniana*, 5 (1), 83-92.
- Baleroni, C. R. S., Moraes, M. L. T., Moraes, S. M. B., Souza, C. S., y Sá, M. E. (2002). Composição química de sementes das espécies florestais mamica-de-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Trec), marolo arbóreo (*Annona crassiflora* Mart.), Marolo rasteiro (*Annona dióica* St. Hil.), chichá-do-cerrado (*Sterculia* A St. Hil. ex Turpin) e imbuia (*Ocotea porosa* (Nees) L. Barroso). *Ciências Agrárias e da Saúde*, 2 (1), 28-32.
- Batygina, T. B. (Ed.) (2002). *Embryology of Flowering Plants. Terminology and concepts. Vol 1. Generative Organs of flower*. Shropshire, UK. Science Publishers.
- Berg, C. C. (1972). Olmedieae Brosimeae (Moraceae). *Flora Neotropica*, 7, 1-228.
- Berg, C. C. (1973). Some remarks on the classification and differentiation of Moraceae. *Mededelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijksuniversiteit te Utrecht*, 386(1), 1-10.

- Berg, C. C. (2001). Moreae, Artocarpeae, and Dorstenia (Moraceae): with introductions to the family and Ficus and with additions and corrections to Flora Neotropica monograph 7. *Flora Neotropica*, 83, 1-346.
- Berg, C. C. (2005). Moraceae diversity in a global perspective. *Biologiska Skrifter*, 55, 423-440.
- Berg, C. C., Corner, E. J. H., y Jarrett, F. M. (2006). Moraceae, genera other than *Ficus*. *Flora Malesiana*, 17, 1-152.
- Carter, C. T. (2015). Chemical and functional properties of *Brosimum alicastrum* seed powder (Maya nut, Ramón nut) (Tesis de maestría). Clemson University, USA.
- Carvajal, S. (2007). Moraceae. *Flora del Bajío y de Regiones adyacentes*, 147, 1-59.
- Carvajal, S. (2012). Sistema para la familia Moraceae en México. *Ibugana*, 3, 3-103.  
Recuperado de <http://ibugana.cucba.udg.mx>.
- Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (s.f.). Árbol de Ramón. (Fotografía).  
Recuperado de <https://www.cicy.mx/sitios/arbol-de-ramon>.
- Classen-Bockhoff, R. (1990). Pattern analysis in pseudanthia. *Plant Systematics and Evolution*, 171 (1-4), 57-88.
- Clement, W.L. y Weiblen, G.D. (2009). Morphological Evolution in the Mulberry Family (Moraceae). *Systematic Botany*, 34 (3), 530-552.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad- Comisión Nacional Forestal (CONABIO-CONAFOR). (2009) *Brosimum alicastrum* Swartz. Paquetes tecnológicos. Disponible en Sistema de Información para la Reforestación (SIRE)- Paquetes Tecnológicos.

- Corner, E. J. H. (1976). *The seeds of dicotyledons*. (Vol. 1, 2). London, UK: Cambridge University Press.
- Datwyler, S. L., y Weiblen, G. D. (2004). On the origin of the fig: phylogenetic relationships of Moraceae from ndhF sequences. *American Journal of Botany*, 91 (5), 767-777.
- Endress, P.K. (1994). *Diversity and Evolutionary Biology of Tropical Flowers*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Esau, K. (1977). *Anatomy of seed plants*. New York, USA: Wiley.
- Font Quer, P. (1965). *Diccionario de Botánica*. Barcelona, España: Labor.
- Herbario Centro de Investigación Científica de Yucatán. (2010 en adelante). Flora de la Península de Yucatán. (Fotografía). Recuperado de [https://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ficha\\_virtual.php?especie=1835](https://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ficha_virtual.php?especie=1835).
- Hernández, G. O., Vergara, Y. S., y Larqué, S. A. (2014). Studies on the productivity of *Brosimum alicastrum* a tropical tree used for animal feed in the Yucatan Peninsula. *Bothalia a Journal of bothanical and life Sciences Research*, 44 (6), 70-81.
- Jacomassi, E., Moscheta, I.S. y Rodrigues Machado, S. (2010). Morfoanatomía e histoquímica de órgãos reprodutivos de *Brosimum gaudichaudii* (Moraceae) *Revista Brasil*, 33 (1), 115-129.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. New York, USA: McGraw-Hill Book Company, Inc.
- Larqué-Saavedra, F.A. (6 de abril de 2011). Propuesta de un sistema forestal productor de semillas para reducir la importación de granos. *La crónica de Hoy*. Recuperado de <http://www.cronica.com.mx/notas/2011/571026.html>.

- Larqué-Saavedra, F.A. (24 de julio de 2013). El árbol Ramón, una alternativa alimentaria. *El Economista*. Recuperado de <https://www.eleconomista.com.mx/arteseideas/El-arbol-ramon-una-alternativa-alimentaria-20131023-0076.html>
- Larqué-Saavedra, F.A. (Junio de 2014). El sector forestal en apoyo a la “Cruzada contra el Hambre”. *Forestal*, 17 (2), 11-12.
- Larqué-Saavedra, F.A. (Diciembre de 2015). *El sector forestal en apoyo a la cruzada contra el hambre y el cambio climático*. Simposio llevado a cabo en el Parque Científico Tecnológico, Mérida, Yucatán.
- Leite, V. G., Freitas Mansano, V., y Pádua Texeira, S. (2018). Floral development of Moraceae species with emphasis on the perianth and androecium. *Flora*, 240, 116-132.
- Leite, V. G., Basso-Alves, J. P., Gualberto, A. R. S., y Teixeira, S. P. (2020). A comparative ontogenetic approach to understanding the pseudomonomerous gynoecium in Moraceae. *International Journal of Plant Sciences*, 181 (2), 241-245.
- López, M., Márquez, J., y Murguía, G. (2005). *Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas*. Ciudad de México, México: Las prensas de Ciencias.
- Marinho, C. R., y Teixeira, S. P. (2019). Novel reports of laticifers in Moraceae and Urticaceae: revisiting synapomorphies. *Plant Systematics and Evolution*, 305, 13-31.
- Martínez-Ruiz N. R., Torres L. E. J., del Hierro-Ochoa J. C., Larqué-Saavedra, A. (2019). Bebida adicionada con *Brosimum alicastrum* Sw.: una alternativa para requerimientos dietarios especiales. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 18 (3), 1-10.

- Meiners, M., Sánchez Garduño, C., y De Blois, S. (2009). El ramón: fruto de nuestra cultura y raíz para la conservación. *Biodiversitas*, 87, 7-10.
- Morales Ortiz, R., y Herrera Tuz, L. G. (2009). RAMON (*Brosimum alicastrum* Swartz.) *Protocolo para su Colecta, Beneficio y Almacenaje*. Comisión Nacional Forestal. Departamento de Conservación y Restauración de Ecosistemas forestales. Programa de Germoplasta Forestal. Yucatán, 1-18.
- Niembro, A. (1989). *Semillas de plantas leñosas. Morfología comparada*. Editorial Limusa. México, D. F., México.
- Oyama, S. O., y Souza, L. A. (2011). Morphology and anatomy of the developing fruit of *Maclura tinctoria*, Moraceae. *Revista Brasil*, 34 (2), 187-195.
- Ozer, H. K. (2017). Phenolic compositions and antioxidant activities of Maya nut (*Brosimum alicastrum*): Comparison with commercial nuts. *International Journal of Food Properties*, 20 (11), 2772-2781.
- Pardo-Tejeda, E., y Sánchez-Muñoz, C. (1981). *Brosimum alicastrum: a potentially valuable tropical forest resource*. Xalapa, México: Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos.
- Pennington, T.D., y Sarukhán, J. (1998). *Árboles Tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies*. D.F., México: Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica.
- Pennington, T.D., y Sarukhán, J. (1968). *Manual para la identificación de campo de los principales Árboles Tropicales de México*. D.F., México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales.

- Peters, C. M., y Pardo-Tejeda, E. (1982). *Brosimum alicastrum* (Moraceae): Uses and Potential in Mexico. *Economic Botany*, 36 (2), 166-175.
- Puleston, D. (1968). *Brosimum alicastrum as a subsistence alternative for the classic Maya of the Central Southern lowlands* (Tesis de maestría). University of Pennsylvania, USA.
- Ramírez-Sánchez, S., Ibañez-Vázquez, D., Gutiérrez-Peña, M., Ortega-Fuentes, M. S., García-Ponce, L. L., y Larqué-Saavedra, A. (2017). El Ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz) una alternativa para la seguridad alimentaria en México. *Agroproductividad*, 10 (1), 80-84.
- Ribeiro, J. E. L. S. (2007). *Studies on the phylogeny, taxonomy and evolution of reproductive characters in Moraceae Gaudich* (Tesis de Doctorado). Universidade Estadual de Campinas. Brasil.
- Romaniuc-Neto, S. y Wanderley, M. G. L. (1992). Flora fanerogâmica da reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil) 19-Moraceae. *Hoehnea*, 19 (1/2), 165-169.
- Rohwer, J. G., y Berg, C. C. (1993). Moraceae. En K. Kubitzki, J. G. Rohwer, V. Bittrich. (Eds.), *Flowering Plants. Dicotyledons. The Families and Genera of Vascular Plants* (pp. 438-452). Berlin, Alemania: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Roth, I. (1977). *Fruits of Angiosperms. Encyclopedia of Plant Anatomy*. Berlin: Gebruder Borntraeger.
- Schmid, R. (1976). Filament histology and anther dehiscence. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 73, 303-315.

- Secretaría de Desarrollo Social. (2013). Cruzada Nacional Contra el Hambre. Recuperado de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/120919/CruzadaNacionalContraElHambre.pdf>
- Silva, D. B., Vieira, R. F., Cordeiro, M. C. T., Pereira, E. B. C., y Pereira, A. V. (2011). Propagação vegetativa de *Brosimum gaudichaudii* Tréc. (mama-cadela) por estacas de raízes. *Revista Brasileira de Plantas Medicinales*, 13 (2), 151-156.
- Simpson, M.G. (2019). *Plant Systematics*. Burlington, USA: Elsevier.
- Solereder, H., y Scott, D. H. (1908). *Systematic anatomy of the dicotyledons: a handbook for laboratories of pure and applied botany (Vol. 2)*. Oxford, UK: Clarendon Press.
- Stevens, P.F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017. [and more or less continuously updated since]. Recuperado de <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>
- Subiria-Cueto, R., Larqué-Saavedra, A., Reyes-Vega, M. L., de la Rosa, L. A., Santana-Contreras, L. E., Gaytán-Martínez, M.,... Martínez-Ruíz., N. R. (2019). *Brosimum alicastrum* Sw. (Ramón): An Alternative to improve the Nutritional Properties and functional Potential of the Wheat Flour Tortilla. *Foods*, 8 (12), 2-18.
- Souza, L. A., y da Rosa, S. M. (2005). Morfo-anatomia do fruto em desenvolvimento de *Sorocea bonplandii* (Baill.) Burger, Lanjow & Boer (Moraceae. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 27(4), 423-428.
- Zhang, S. D., Soltis, D. E., Yang, Y., Li, D. Z., y Yi, T. S. (2011). Multi-gene analysis provides a well-supported phylogeny of Rosales. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60 (1), 21-28.