

Micropropagación clonal del achiote

El achiote, *Bixa orellana* L. es una especie originaria de América del Sur. Sus semillas producen el pigmento llamado bixina, muy utilizado en la industria alimenticia. En México, las plantaciones se establecen a partir de semillas germinadas, por lo que presentan una gran heterogeneidad y el contenido de bixina en las semillas varía de 0.7–2.5 %, lo cual es atribuido a un alto índice de polinización cruzada. La micropropagación de plantas a partir de un solo individuo con un mayor contenido de bixina es una alternativa para establecer plantaciones genéticamente homogéneas y, con su manejo en campo, producir probablemente una mayor cantidad de bixina.

Palabras clave:
Apocarotenoides, *Bixa*,
bixina, morfotipos.

ADOLFO A. GUZMÁN-ANTONIO, ELIDÉ AVILÉS-BERZUNZA,
JESÚS R. LLANES-COCOM Y GREGORIO GODOY-HERNÁNDEZ

Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas. Centro
de Investigación Científica de Yucatán A.C. Calle 43 No. 130 x
32 y 34, Colonia Chuburná de Hidalgo, 97205,
Mérida, Yucatán, México.

ggodoy@cicy.mx

Introducción: El género *Bixa* L. pertenece a la familia Bixaceae. Baer en 1976 reportó la existencia de cinco especies de achiote: *Bixa orellana* L., *B. platycarpa* Ruiz & Pav. ex G. Don, *B. arborea* Huber, *B. excelsa* Gleason & Krukoff y *B. urucurana* Willd., todas silvestres. Sin embargo, *B. urucurana* fue reclasificada como el ancestro de *B. orellana* reconociéndose actualmente cuatro especies (Moreira *et al.* 2015). La planta del achiote es un arbusto de rápido crecimiento y el fruto es una cápsula de color pardo rojizo que contiene de 30 a 45 semillas (Figura 1). Es muy apreciada por producir en sus semillas el pigmento llamado bixina, un compuesto tipo apocarotenoide de la familia de los isoprenoides. El contenido de bixina puede variar entre los diversos morfotipos de un 0.7 a un 2.5 % por peso seco de la semilla (Akshatha *et al.* 2011).

Los apocarotenoides constituyen un gran número de compuestos volátiles, los cuales sirven, entre otras cosas, como atrayentes para insectos involucrados en la polinización de las plantas. Algunos pigmentos apocarotenoides tienen valor económico, como la bixina del achiote y la crocetina del azafrán (Rodríguez-Bustamante y Sánchez 2007, Stange 2016).

En México, existe una alta demanda de achiote. Sin embargo, la principal problemática del cultivo es la gran diversidad genética en las plantaciones actuales, con contenidos de bixina muy variables, debido a que son establecidas a partir de semillas. Esta característica es atribuida al alto índice de polinización cruzada y el bajo porcentaje de autopolinización de la planta. Por ello, en la

@CICYoficial    

 GOBIERNO DE
MÉXICO

    gob.mx



Figura 1. Morfotipos de *Bixa orellana* L. **A.** Planta de morfotipo PV. **B.** Flores de morfotipo PV. **C.** Frutos inmaduros morfotipo PV. **D.** Frutos dehiscentes de morfotipo PV. **E.** Planta de morfotipo PR. **F.** Flores de morfotipo PR. **G.** Frutos inmaduros de morfotipo PR. **H.** Fruto dehiscente de morfotipo PR. **I.** Planta de morfotipo NE. **J.** Flor de morfotipo NE. **K.** Frutos inmaduros morfotipo NE. **L.** Frutos indehiscente de morfotipo NE. **M.** Planta de morfotipo YUC. **N.** Flor de morfotipo YUC. **O.** Frutos inmaduros de morfotipo YUC. **P.** Frutos dehiscentes de morfotipo YUC. (Fotografías: **A-B., D-F., H., L., P.** Adolfo A. Guzmán-Antonio. **C., G.** Gregorio Godoy-Hernández. **I-K., M-O.** Luis Pinzón).

actualidad en México se encuentra una gran diversidad de morfotipos en las plantaciones (Figura 1). Por lo anterior, se requiere contar con nuevas estrategias para satisfacer el abasto de achiote. Una de ellas es la micropropagación *in vitro* de plantas a partir de un solo individuo, cual asegura su homogeneidad genética y por consiguiente plantaciones

más homogéneas para la producción de un mayor contenido de bixina (Teixeira *et al.* 2019).

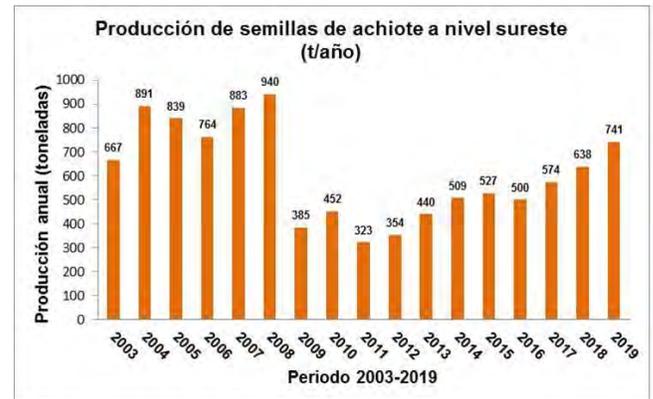
Importancia del achiote: A nivel internacional, existe una gran demanda del achiote en la industria alimenticia, ya que el colorante obtenido de las semillas del achiote se utiliza en las industrias de los derivados lácteos, cárnicos, grasas, helados, entre

otros (Pineda y Calderón 2012). La bixina de la planta de achiote también posee un gran potencial en la industria farmacéutica, ya que presenta una gran diversidad de propiedades biológicas: antifúngico, antibacteriano, antiprotzoario, antiinflamatorio, antidiabético, anticancerígeno, entre otras (Vilar *et al.* 2014, Rivera-Madrid *et al.* 2016).

Las semillas de achiote poseen el más alto contenido de tocotrienoles ($\delta T3$) [isómeros de la vitamina E] conocido hasta el momento en plantas. Ente las especies estudiadas, hay un número limitado que conocemos que contienen estos compuestos en la naturaleza: palma, arroz y achiote (Peh *et al.* 2016). Faltan muchas por explorar. Actualmente, diversas evaluaciones reportan que los tocotrienoles presentan actividad antioxidante, neuroprotectora, anticancerígena y anti-inflamatoria. La presencia de los tocotrienoles en el extracto de achiote en conjunto con la bixina le confiere propiedades antioxidantes, para la prevención de enfermedades cardíacas causadas por grasas saturadas, lo que le da un mayor valor agregado a esta especie (Aggarwal *et al.* 2010, Rivera-Madrid *et al.* 2020).

De igual manera, por su alto contenido de carotenoides, el aceite del achiote provee propiedades antioxidantes a productos que se utilizan en la industria de cosméticos: cremas, filtros solares y repelentes de insectos. En la industria textil, este aceite también se utiliza para la coloración de prendas. Estas propiedades han renovado un gran interés en el cultivo del achiote, para diversas industrias y en nuevos mercados (Vilar *et al.* 2014). Esto es relevante considerando que en los últimos años los colorantes sintéticos han estado sometidos a un cuestionamiento constante, debido a que se han detectado efectos cancerígenos, alergias y otros daños en la piel. Es de esperarse que en pocos años desaparezcan del mercado y sean remplazados por colorantes naturales que están exentos de certificación, porque no se han encontrado efectos dañinos sobre la salud de los seres humanos (Pineda y Calderón 2012).

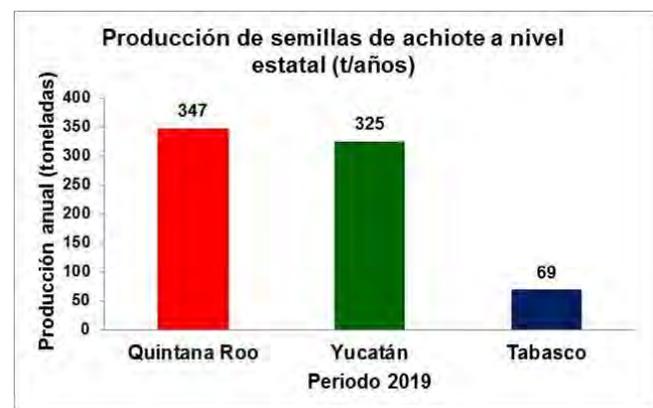
Producción internacional: La producción mundial de achiote es de aproximadamente 14,500 toneladas de semillas en peso seco por año, que representaría cerca de 21,400 toneladas del peso seco del pericarpio que normalmente es considerado desecho. Latinoamérica produce cerca del 60%, seguido por



Gráfica 1. Producción de semillas de *Bixa orellana* a nivel nacional en un periodo de 17 años. (Adolfo A. Guzmán-Antonio).

África (27%) y Asia (12%), aumentando año con año. Si el pericarpio del achiote pudiera emplearse como fuente energética para la cocción de sus alimentos, no sólo se estaría reduciendo la tala de árboles, sino contribuyendo a mejorar el ambiente (Parimalan *et al.* 2007, Raddatz-Mota *et al.* 2017).

Producción nacional: A pesar de la gran importancia de la especie, la producción de semillas de achiote a partir del periodo 2009-2019 ha presentado una disminución promedio de 50%, con respecto al periodo 2003-2008 (Gráfica 1). En los estados de Quintana Roo, Yucatán y Tabasco se concentra la mayor producción de semillas con 347, 324.90 y 68.90 t/año, respectivamente, hasta el año 2019; sin embargo, en este último estado se puede observar una diferencia muy marcada a la baja (Gráfica 2), en comparación con los otros dos estados (SIAP 2019). Lo anterior se puede explicar



Gráfica 2. Producción de semillas de *Bixa orellana* a nivel estatal, periodo 2019. (Adolfo A. Guzmán-Antonio).



Figura 2. Brotes en etapa de proliferación de cuatro morfotipos de *Bixa orellana* L. **A.** Morfotipo PV, **B.** Morfotipo PR. **C.** Morfotipo NE. **D.** Morfotipo YUC. (Fotografías: Gregorio Godoy-Hernández).

debido a que se produce básicamente como un cultivo de solar o traspatio, así como a la gran heterogeneidad genética de las plantaciones (Valdez-Ojeda *et al.* 2010, Pech-Hoil *et al.* 2017). También, es posible atribuir tal descenso a que se propaga mediante semillas cuya viabilidad en promedio es del 20% de acuerdo a datos tomados de una publicación hindú, y con un porcentaje de germinación menor a 5%, lo cual probablemente sucede igual en el Neotrópico (Parimalan *et al.* 2011).

¿La problemática actual del achiote? La planta de achiote presenta un alto índice de polinización cruzada (57%) y un bajo porcentaje de autopolinización (31.4%), (Rivera-Madrid *et al.* 2006, Pech-Hoil *et al.* 2017), mientras que otros autores aseguran lo opuesto, es decir: menor índice de polinización cruzada (12%) y alto porcentaje (88%) en la autopolinización (Joseph *et al.* 2012). Otra problemática por resolver a futuro en esta especie es que los morfotipos que producen un mayor contenido de bixina en sus semillas presentan dehiscencia (apertura del fruto), con lo que se pierde un porcentaje de semillas, por lo cual se requiere encontrar morfotipos con frutos indehiscentes y altos contenidos de bixina (Valdez-Ojeda *et al.* 2008).

Solución: Debido a las problemáticas que se presentan para el establecimiento del cultivo de achiote, se requiere buscar nuevas alternativas para contribuir al establecimiento de plantaciones comerciales en corto tiempo y con un mayor valor agregado. Una alternativa la ofrece la técnica de micropropagación vegetal, ya que se podrían micropropagar individuos genéticamente idénticos con alta producción de bixina, a partir de un solo

individuo y así satisfacer en un menor tiempo y a bajo costo, el establecimiento de plantaciones comerciales homogéneas. Recientemente en el Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C. (CICY), en la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, se desarrolló el proyecto “Establecimiento de plantaciones élite de achiote para la producción de semillas con altos contenidos de bixina”, financiado por el CONACYT. El objetivo del trabajo fue la micropropagación de cuatro morfotipos de achiote con altos contenidos de bixina (Cuadro 1), obtenidos a partir de la proliferación masiva de brotes inducidos a partir de los hipocótilos de achiote de una plántula obtenida de una semilla germinada *in vitro* (Figura 2). Se trasplantaron 200 plantas de los morfotipos de *Bixa orellana* PV, PR, NE y YUC (Cuadro 1) (media hectárea/morfotipo), en el Instituto Tecnológico de Conkal. La fidelidad genética de las plantas regeneradas por morfotipo se determinó mediante pruebas moleculares SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism = Polimorfismo Amplificado de Secuencias Relacionadas), las cuales consisten en la detección de genes funcionales en el genoma vegetal y se demostró que no hay variación genética en los morfotipos regenerados *in vitro* (Gallegos-Brito

MORFOTIPO	COLOR DE LA FLOR	COLOR DEL FRUTO	FRUTO
PV	Blanca	Verde	Dehiscente
PR	Rosada	Rojo	Dehiscente
NE	Blanca	Verde	Indehiscente
YUC	Rosada	Café	Dehiscente

Cuadro 1. Principales características de los cuatro morfotipos de *Bixa orellana*. (Gregorio Godoy-Hernández).

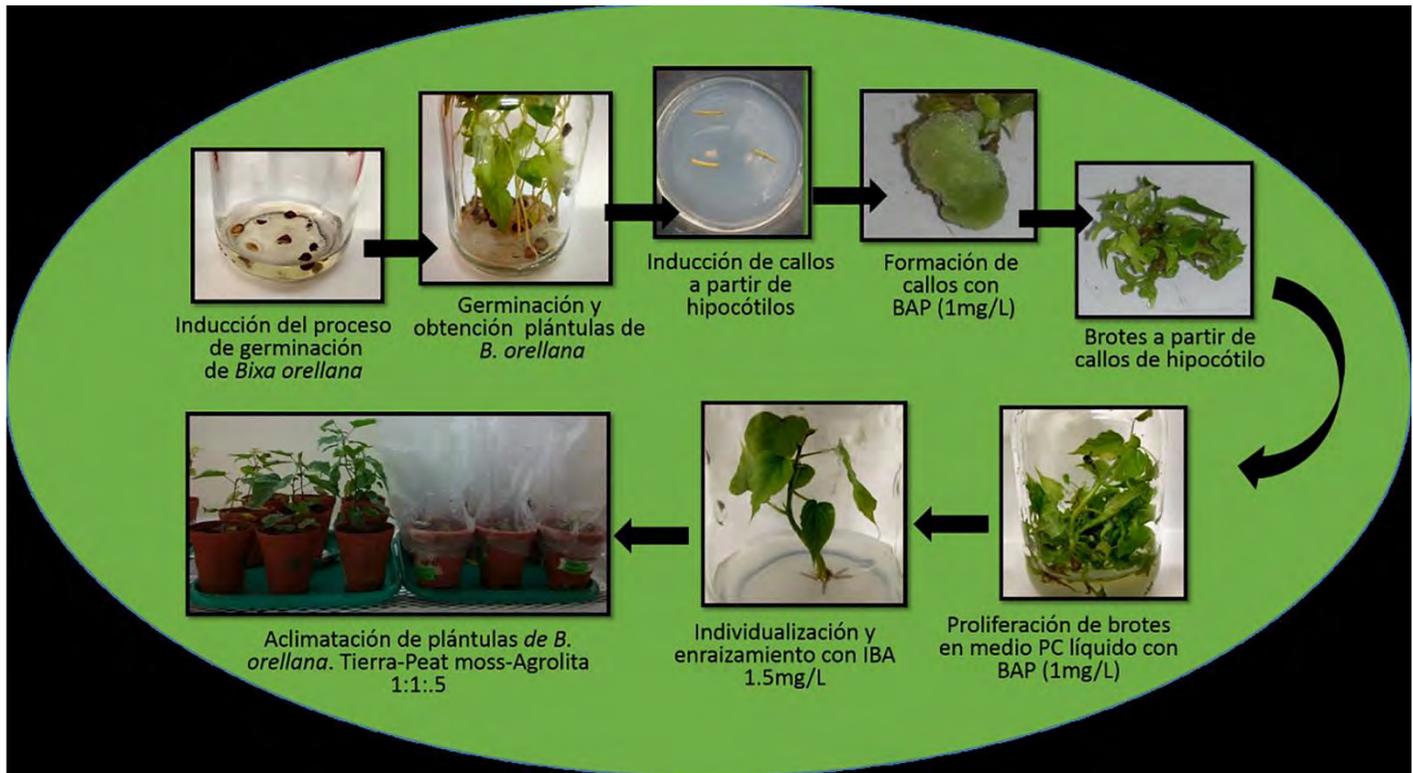


Figura 3. Regeneración de plantas de achiote a partir de explantes de hipocótilo (porción del tallo de un embrión o de la plántula situada entre los cotiledones y la radícula) de semillas germinadas *in vitro*. (Fotografías: Gregorio Godoy-Hernández).

2020). Lo anterior es esencial para posteriormente evaluar diferentes condiciones nutrimentales en campo y con ello tratar de obtener los valores superiores a 2.7% en contenido de bixina que se requieren para su exportación (Giridhar *et al.* 2012) y/o posteriormente, coleccionar las semillas para que sean la fuente para el establecimiento de plantaciones comerciales de achiote en la producción de bixina de una forma más estable.

El protocolo de regeneración establecido es sencillo y económico ya que utiliza como fuente de carbono azúcar comercial y consiste en hacer germinar las semillas *in vitro*, y de las plantas se obtienen los hipocótilos para inducir la formación de brotes y su posterior proliferación en un medio líquido, para proceder a su enraizamiento y adaptación *ex vitro* de plántulas obtenidas de una sola semilla (Figura 3).

Referencias

Aggarwal B.B., Sundaram C., Prasad S. y Kannappan R. 2010. Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: It's potential against cancer and

other chronic diseases. *Biochemical Pharmacology* 80(11): 1613–1631.

Akshatha V., Giridhar P. y Ravishankar G.A. 2011. Morphological diversity in *Bixa orellana* L. and variations in annatto pigment yield. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 86(4): 319–324.

Baer D.F. 1976. Systematics of the genus *Bixa* and geography of the cultivated annatto tree. Unpublished Ph.D. Dissertation, Department of Botany, University of California, Los Angeles. USA.

Gallegos-Brito C.J. 2020. Análisis de la variación somaclonal de plantas micropropagadas de achiote (*Bixa orellana* L.) Tesis de Maestría, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C.

Giridhar P., Mahendranath G., Venugopalan A. y Ravishankar G.A. 2012. Enhanced yield of food colourant annatto from seeds of *Bixa orellana* L.: The efficacy of polyamines floral spray. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences* 82(4): 553–556.

Joseph N., Siril E.A. y Nair G.M. 2012. Reproductive characterization and preliminary studies

- on controlled breeding of Annatto (*Bixa orellana* L.). *Plant Systematics and Evolution* 298(1): 239–250.
- Moreira P.A., Lins J., Dequigiovanni G., Veasey E.A. y Clement C.R. 2015.** The Domestication of Annatto (*Bixa orellana*) from *Bixa urucurana* in Amazonia. *Economic Botany* 69(2): 127–135.
- Parimalan R., Giridhar P., Rajasekaran T. y Ravishankar G.A. 2007.** Annatto fruit pericarp: newer source as a potential fuel. *Energy & Fuels* 21(2): 1181–1182.
- Parimalan R., Venugopalan A., Giridhar P. y Ravishankar G.A. 2011.** Somatic embryogenesis and *Agrobacterium*-mediated transformation in *Bixa orellana* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 105(3): 317–328.
- Peh H.Y., Tan W.D., Liao W. y Wong W.F. 2016.** Vitamin E therapy beyond cancer: Tocopherol versus tocotrienol. *Pharmacology & Therapeutics* 162: 152–169.
- Pech-Hoíl R., Ferrer M.M., Aguilar-Espinosa M., Valdez-Ojeda R., Garza-Caligaris L.E. y Rivera-Madrid R. 2017.** Variación en el sistema de apareamiento de *Bixa orellana* L. (achiote) bajo tres sistemas agronómicos diferentes. *Scientia Horticulturae* 223: 31–37.
- Pineda J.E.D. y Calderón L.S. 2012.** Planta piloto para obtener colorante de la semilla del achiote (*Bixa orellana*). *Revista Universidad EAFIT* 39(131): 8–22.
- Raddatz-Mota D., Pérez-Flores L.J., Carrari F., Mendoza-Espinoza J.A., de León-Sánchez F.D., Pinzón-López L.L., Godoy-Hernández G. y Rivera-Cabrera F. 2017.** Achiote (*Bixa orellana* L.): a natural source of pigment and vitamin E. *Journal of Food Science and Technology* 54(6): 1729–1741.
- Rivera-Madrid R., Escobedo-Gracia-Medrano R.M., Balam-Galera E., Vera-Ku M., y Harries H. 2006.** Preliminary studies toward genetic improvement of annatto (*Bixa orellana* L.). *Scientia Horticulturae* 109(2): 165–172.
- Rivera-Madrid R., Aguilar-Espinosa M., Cárdenas-Conejo Y. y Garza-Caligaris L.E. 2016.** Carotenoid derivatives in achiote (*Bixa orellana* L.) seeds: synthesis and health promoting properties. *Frontiers in plant science* 7: 1406.
- Rivera-Madrid R., Carballo-Uicab V.M., Cárdenas-Conejo Y., Aguilar-Espinosa M. y Siva R. 2020.** Overview of carotenoids and beneficial effects on human health. In: Galanakis C.M. (Ed.). *Carotenoides: propiedades, procesamiento y aplicaciones*, p.p. 1-40. Academic Press.
- Rodríguez-Bustamante E. y Sánchez S. 2007.** Microbial production of C13-norisoprenoids and other aroma compounds via carotenoid cleavage. *Critical Reviews in Microbiology* 33(3): 211–230.
- SIAP 2019.** Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. Estadística de Producción Agrícola. http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap/icultivo/index.jsp
- Stange C. 2016.** *Carotenoids in Nature Biosynthesis, Regulation and Function* (1st Ed.). Chapter 9, pp. 239–272. Springer, New York.
- Teixeira-Silva J.A., Zeng S., Godoy-Hernández G., Rivera-Madrid R. y Dobránszki J. 2019.** *Bixa orellana* L. (achiote) tissue culture: a review. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 55(3): 231–241.
- Valdez-Ojeda R., Hernández-Stefanoni J.L., Aguilar-Espinosa M., Rivera-Madrid R., Ortiz R. y Quiros C.F. 2008.** Assessing morphological and genetic variation in annatto (*Bixa orellana* L.) by sequence-related amplified polymorphism and cluster analysis. *HortScience* 43 (7): 2013–2017.
- Valdez-Ojeda R., Quiros C.F., Aguilar-Espinosa M.L. y Rivera-Madrid R. 2010.** Outcrossing rates in annatto determined by sequence-related amplified polymorphism. *Agronomy Journal* 102(5): 1340–1345.
- Vilar D.D.A., Vilar M.S.D.A., Raffin F.N., Oliveira M.R.D., Franco C.F.D.O., de Athayde F.P.F., y Barbosa F.J.M. 2014.** Traditional uses, chemical constituents, and biological activities of *Bixa orellana* L.: a Review. *The Scientific World Journal* 2014: 1–11.

Desde el Herbario CICY, 13: 56–62 (11-marzo-2021), es una publicación semanal editada por el Herbario CICY del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., con oficinas en Calle 43 x 32 y 34 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México. Tel. 52 (999) 942-8330 Ext. 110, www.cicy.mx/Sitios/Desde_Herbario/, webmas@cicy.mx. Editores responsables: Rodrigo Duno de Stefano y Lilia Lorena Can Itzá. Reserva de Derechos al Título Exclusivo No. 04-2016-041413195700-203, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, ISSN: 2395-8790. Responsable de la publicación: José Fernely Aguilar Cruz, Calle 43 x 32 y 34 No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, C.P. 97205, Mérida, Yucatán, México. Fecha de última modificación: 11 de marzo de 2021. Las opiniones expuestas por los autores no necesariamente expresan la postura del editor de la publicación. De la misma manera, la responsabilidad sobre la veracidad y la precisión de los contenidos, le corresponde totalmente a los autores de los ensayos.