

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABLAS	vi
RESUMEN	vii
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES	2
1.1 Sistemática de <i>Bixa orellana</i> .	2
1.2 Nomenclatura de <i>B. orellana</i> .	2
1.3 Localización <i>B. orellana</i> .	3
1.4 Descripción de <i>B. orellana</i> .	3
1.5 Importancia de <i>B. orellana</i> .	4
1.5.1 Industria alimenticia.	4
1.5.2 Usos medicinales.	5
1.6 Germinación de las semillas de <i>B. orellana</i> .	6
1.7 Cultivo agrícola de <i>B. orellana</i> .	6
1.7.1 Sistema de cultivo.	6
1.7.2 Plagas y enfermedades.	7
1.8 Pigmentos carotenoides.	7
1.8.1 Carotenoides.	7
1.8.2 Pigmentos en las semillas de <i>B. orellana</i> .	8
1.8.3 Bixina.	9
1.8.4 Métodos de extracción de bixina.	10
1.8.5 Determinación de pigmentos en <i>B. orellana</i> .	11
1.9 Cultivo <i>in vitro</i> .	11
1.9.1 Medio de cultivo.	11
1.9.1.1 Sales inorgánicas.	12
1.9.1.2 Fitorreguladores.	12
1.9.1.3 Vitaminas.	13
1.9.1.4 Carbohidratos.	13
1.9.1.5 Hexitoles.	13
1.9.1.6 Agente gelificante.	13

1.9.1.7 Agua.	14
1.9.1.8 Otros componentes.	14
1.9.2 Cultivo de callos.	14
1.9.3 Curva de crecimiento.	16
1.9.4 Importancia del cultivo <i>in vitro</i> .	16
1.9.5 Cultivo <i>in vitro</i> de <i>B. orellana</i> .	18
OBJETIVO GENERAL	19
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
2. MATERIALES Y MÉTODOS	20
2.1 Material vegetal.	20
2.2 Medio de cultivo.	20
2.3 Asepsia y germinación de las semillas de <i>B. orellana</i> .	21
2.3.1 Asepsia de las semillas de <i>B. orellana</i> .	21
2.3.2 Incisión en la base de la testa de la semilla para su germinación.	23
2.4 Crecimiento y desarrollo de plantas <i>in vitro</i> .	23
2.4.1 Cultivo <i>in vitro</i> de plantas de <i>B. orellana</i> en diferentes medios de cultivo.	23
2.5 Inducción y mantenimiento de callos.	24
2.5.1 Inducción y mantenimiento de callos de hoja y cotiledón.	24
2.5.1.1 Variación de las concentraciones de fitorreguladores en la inducción de callos de hoja y cotiledón.	24
2.5.2 Inducción y mantenimiento de callos de tallo.	25
2.5.2.1 Variación de las concentraciones de fitorreguladores en la inducción de callos de tallo.	25
2.5.2.2 Efecto del origen del explante sobre la inducción de callos de tallo.	26
2.6 Selección de cultivos.	28
2.7 Curvas de crecimiento.	28
2.8 Análisis de pigmentos.	29
2.8.1 Extracción de pigmentos.	29
2.8.2 Cuantificación de pigmentos totales y bixina.	30
2.8.3 Identificación de pigmentos.	31
3. RESULTADOS	32
3.1 Asepsia y germinación de las semillas de <i>B. orellana</i> .	32
3.1.1 Asepsia de las semillas de <i>B. orellana</i> .	32

3.1.2 Incisión en la base de la testa de la semillas en su germinación.	33
3.2 Crecimiento y desarrollo de plantas <i>in vitro</i> .	34
3.2.1 Cultivo <i>in vitro</i> de <i>B. orellana</i> en diferentes medios de cultivo.	34
3.3 Inducción y mantenimiento de callos.	40
3.3.1 Inducción y mantenimiento de callos de hoja y cotiledón.	40
3.3.1.1 Efecto de la variación de las concentraciones de fitorreguladores en la inducción de callos de hoja y cotiledón.	40
3.3.2 Inducción y mantenimiento de callos de tallo.	41
3.3.2.1 Efecto de la variación de las concentraciones de fitorreguladores en la inducción de callos de tallo.	41
3.3.2.2 Efecto del origen del explante sobre la inducción de callos de tallo.	42
3.4 Selección de cultivos.	44
3.4.1 Cultivos de callos de hoja.	44
3.4.2 Cultivos de callos de tallo.	44
3.5 Curvas de crecimiento.	48
3.5.1 Peso fresco.	48
3.5.1.1 Curva de crecimiento de callos de hoja a partir de los valores de peso fresco.	48
3.5.1.2 Curva de crecimiento de callos de tallo a partir de los valores de peso fresco.	48
3.5.2 Peso seco.	48
3.5.2.1 Curva de crecimiento de callos de hoja a partir de los valores de peso seco.	48
3.5.2.2 Curva de crecimiento de callos de tallo a partir de los valores de peso seco.	49
3.6 Regeneración.	52
3.6.1 Regeneración en callos de hoja.	52
3.6.2 Regeneración en callos de tallo.	52
3.7 Análisis de pigmentos.	52
3.7.1 Cuantificación de carotenos totales y bixina.	52
3.7.2 Identificación de pigmentos.	54
4. DISCUSIÓN	57
4.1 Asepsia y germinación de las semillas de <i>B. orellana</i> .	57
4.1.1 Asepsia de las semillas de <i>B. orellana</i> .	57
4.1.2 Incisión en la base de la testa de las semillas en la germinación.	58

RESUMEN

Se optimizó la germinación de las semillas de *Bixa orellana* L. mediante un tratamiento de asepsia y una incisión en la base de la testa de la semilla después de lavar con etanol e hipoclorito de sodio, y un lavado con hipoclorito de sodio después de dicha incisión. Se demostró que el porcentaje de germinación es mayor cuando se realiza la incisión en la base de la testa de las semillas. Se observó también que las semillas crecen y se desarrollan diferencialmente en los medios de cultivo experimentados (PC, MS y B₅), encontrando que el medio de cultivo B₅ (Gamborg *et al*, 1968) es el más recomendable para *B. orellana*.

Por otro lado se establecieron dos cultivos de callos a partir de un explante de hoja y un cultivo de callos a partir de un explante de tallo, los cuales se caracterizaron mediante curvas de crecimiento evaluadas en función de sus pesos fresco y seco. Se realizaron ensayos variando las concentraciones de fitorreguladores, basándose en las reportadas por Minero-García (1993), pero se encontró que las concentraciones reportadas son las más adecuadas para el cultivo de callos en *B. orellana*. Se encontraron las concentraciones adecuadas de fitorreguladores para inducir callos a partir de explantes de cotiledón. Se observó la regeneración de brotes en callos a partir de hoja .

Se identificó la presencia de bixina mediante cromatografía en capa delgada, encontrándose en todo el material vegetal analizado, y se cuantificó la cantidad de carotenos totales y bixina, por espectrofotometría en los diferentes cultivos *in vitro* de *B. orellana*.