

RECOLECCIÓN SEMINAL INTRACAPSULAR, UNA VARIABLE A CONSIDERAR EN LA GERMINACIÓN *IN VITRO* DE SEMILLAS DE ACHIOTE (*Bixa orellana* L), PLANTA CON ACTIVIDAD ANTIOFÍDICA

INTRACAPSULAR SEED COLLECTION, AN IMPORTANT VARIABLE IN *IN VITRO* ANNATTO (*Bixa orellana* L) GERMINATION, PLANT TO TREAT SNAKEBITES

ALARCÓN P. Juan C.^{1*}, QUINCHIA B. Lida A.², CIRO G. Gelmy L.², JIMÉNEZ R. Silvia L.¹ y DÍAZ C. Abel¹

Recibido: junio 01 de 2005 Aceptado: agosto 23 de 2005

RESUMEN

Para establecer la incidencia del momento de la colección y de algunos tratamientos de desinfección e imbibición sobre la germinación seminal *in vitro* de *Bixa orellana* L, se colectan intracapsularmente o postextrusión semillas maduras, con escasa variación en peso (25.57 ± 0.01 mg.). Una vez desinfectadas y en algunos casos expuestas a procesos adicionales de imbibición, las semillas se transfieren a cajas de cultivo en las que se mantienen en completa oscuridad a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, por espacio de siete semanas. La germinación resulta influenciada por el tratamiento de imbibición, por las semanas de cultivo empleadas y por el momento de la colección, pues las semillas extracapsulares germinan en muy bajo porcentaje mientras que en las colectadas previamente a la ruptura de la cápsula, la germinación se manifiesta desde la primera semana de cultivo y con incrementos estadísticamente significativos en la extrusión. Asimismo, y dependiendo del tratamiento de imbibición y desinfección que se emplee, se logran aumentar los porcentajes de germinación, hasta un 78%, evitando la escasa o caprichosa tasa de germinación evidenciada por algunos autores para esta promisoriosa especie vegetal.

Palabras clave: *Bixa orellana*, germinación seminal, achiote

ABSTRACT

To establish the incidence of the time of collection and some disinfections and imbibition treatment on the seed germination *in vitro* of *Bixa orellana* L, mature seeds are collected via intracapsule or postextrusion, with a little weight variation (25.57 ± 0.01 mg.). Once the seeds are disinfected and in some case exposed to imbibition process, they are transferred to culture medium and are kept in complete darkness to $25 \pm 1^\circ\text{C}$, for seven weeks. The germination is influenced by the imbibition treatment, the growing time and the collection moment. On the other hand, the extracapsular seeds have a lower germination percent than those collected prior to rupture since in this the germination manifests during the first week of growing with significant statistical increases in the extrusion. Likewise, depending on the imbibition and disinfections treatment that is used, the germination percents can increase up to 78%, avoiding the poor germination rate showed by some authors from this promising vegetable species.

Keywords: *Bixa orellana*, seed germination, annatto

¹ Grupo de Ofidismo y Escorpionismo. Universidad de Antioquia. AA 1226. Medellín, Colombia.

² Estudiante Ingeniería de Alimentos. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. AA 1226. Medellín, Colombia.

* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: jalarcon@farmacia.udea.edu.co

INTRODUCCIÓN

La *Bixa orellana*, arbusto americano conocido generalmente como “achiote”(1), es una planta multipropósito por su adaptabilidad a diferentes sistemas agroforestales, el enorme potencial reforestador de tierras pobres o ácidas y el notable crecimiento en diferentes pisos térmicos que le proporcionan variedades en el color de las cápsulas (negro, colorado y amarillo) e incluso, en el contenido del colorante natural característico, que es considerando el segundo tinte natural más importante del mundo, y con amplias aplicaciones en las industrias relacionadas con alimentos, bebidas, cosméticos, textiles y diversos productos químicos (2). Esta planta de corteza parda, presenta pecíolos delgados, hojas simples que se acompañan de flores hermafroditas agrupadas en panículas de diferentes colores con numerosos estambres y frutos capsulares globosos u ovoides con tonalidad roja, púrpura o carmelita y en cuyo interior se destacan hasta 50 semillas triangulares, comprimidas y recubiertas de un arilo de color amarillo rojizo o anaranjado (1).

A la planta completa, propagada rutinariamente por semillas, estacas o injertos (3), o a algunas de sus partes, se le atribuyen efectos en la medicina tradicional, de hecho, la infusión de flores se utiliza como purgante, el macerado de la corteza contra la ictericia (4), mientras que las decocciones de algunos de sus órganos son consideradas diuréticas, antidisentéricas, antivenéreas, abortivas, antiinflamatorias, antimaláricas, antimicrobianas, digestivas, laxantes suaves, antieméticas, hipoglucemiantes, repelentes de insectos, afrodisíacas, digestivas, expectorantes, antipiréticas, antigonorréicas e incluso contra las quemaduras y la lepra (1,4,6). Adicionalmente, el achiote se constituye en una gran alternativa para nuestro medio y comunidad, pues además de las actividades farmacológicas referenciadas, se ha hecho evidente que sus componentes metabólicos resultan útiles como antiedematizantes, anti-hemorragicos y neutralizantes del veneno de *Bothrops atrox asper* (mapaná), serpiente causante del 50% al 70% de las mordeduras en nuestro país (7,8,9,10). Con esta consideración, la producción *in vitro* de los metabolitos con actividad neutralizante y demás efectos adicionales, se hace necesaria, pues estos compuestos aislados pueden constituirse en una alternativa de atención primaria en accidentes ofídicos o en una fuente generadora de moléculas con importancia farmacéutica, ya que seguramente

las actividades neutralizantes están mediadas por el efecto que alguno(s) de ellos tienen sobre las enzimas fosfolipasas A₂ (PLA₂), que son responsables de algunos eventos farmacológicos adicionales tales como, el neurotóxico, el miotóxico, el cardiotóxico y el agregante plaquetario (11).

Lamentablemente, la producción metabólica -colorante y todos los demás secundarios- no se obtiene de manera temprana, pues la producción de semillas se inicia después del primero o segundo año de la plantación; pero solo hasta el tercero, e incluso el cuarto año del cultivo, se alcanzan unos rendimientos adecuados de producción (12,13). Esta tardanza en producción metabólica, sumada a diversos factores como variación en el número cromosómico de la especie (2n= 14, 16), la disminución en porcentaje de germinación cuando las semillas pierden humedad (14), la necesidad de escarificación mecánica como mecanismo de recuperación del porcentaje de germinación (15), la alta exigencia de suelos ricos en manganeso y la escasa viabilidad seminal (16), son razones suficientemente poderosas para considerar que las alternativas de propagación, como promoción *in vitro* de la germinación y las técnicas de manipulación que incluyen desdiferenciación tisular, optimización y masificación de suspensiones celulares son las principales estrategias a desarrollar en la masificación y producción metabólica de esta planta con enorme potencial farmacológico (17). Por lo anterior, este trabajo intenta optimizar las condiciones necesarias para facilitar y promover la germinación seminal de *Bixa orellana* L., como insumo mínimo para obtener plántulas libres de patógenos, tejidos indiferenciados con origen en diferentes explantos y suspensiones celulares potencialmente generadoras de metabolitos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Dos mil cuatrocientas semillas (2400) maduras de *Bixa orellana* L, variedad roja, provenientes del municipios de San Luis (1050 m.s.n.m., Departamento de Antioquia), con alta homogeneidad en el peso (25.57 ± 0.01 mg) e identificadas por personal del Herbario de la Universidad de Antioquia sirven como material de partida para los protocolos de germinación seminal en los que se incluyen modificaciones en el momento de la colección (postextrusión seminal (ensayo 1) o intracapsularmente (ensayos 2 y 3)), y en los tratamientos de desinfección e imbibición (véase tabla 1). Las semillas desinfectadas y

sometidas o no, al proceso de imbibición, se transfieren a cajas de cultivo (50 mm Φ) dispuestas con un medio nutritivo (pH: 5.7) preparado con las sales y vitaminas propuestas por Murashige y Skoog (1962; MS) (18), un suplemento de sacarosa (30 gl^{-1}), agar (7 gl^{-1})(Oxoid[®]) y previamente esterilizado con calor húmedo (121°C/15min/1atm). Una vez transferidas a las cajas de cultivo, las semillas (10 por caja) se

mantienen en completa oscuridad a $25 \pm 1^\circ C$, por espacio de siete semanas en las que se incluye un subcultivo rutinario en la cuarta de ellas.

Una vez germinadas, las plántulas en formación se transfieren a tubos de vidrio dispuestos con el medio de cultivo descrito e incubadas a $25 \pm 1^\circ C$ con fotoperiodicidad larga (16h luz/8h oscuridad, $50 \mu mol m^{-2} s^{-1}$) y subcultivos rutinarios cada cuatro semanas.

Tabla 1. Tratamientos de desinfección e imbibición empleados en la promoción de germinación seminal de *Bixa orellana* L.

Ensayo	No. Semillas	Momento de la colección	Desinfección*	Tratamiento de Imbibición (48 horas)	Medio de cultivo Pos-imbibición
1	1200	Colección tras la extrusión seminal de la cápsula y almacenamiento a 23°C y sequedad por espacio de 45 a 60 días antes del ensayo	Tto 1	Sin imbibición (300 semillas) Agua (300 semillas) GA₃ (2.88x10⁻⁴M) (300 semillas) * GA₃ (5.77x10⁻⁴M) (300 semillas) *	MS
2	600	Intracapsular y previo a la extrusión seminal	Tto 2 (300 semillas en Tipo A y 300 en Tipo B)	Sin imbibición: <i>Tratamiento C:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento D:</i> con desinfección previa tipo A Agua (temperatura ambiente) <i>Tratamiento E:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento F:</i> con desinfección previa tipo A Agua a 4°C <i>Tratamiento G:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento H:</i> con desinfección previa tipo A GA₃ (temperatura ambiente) (5.77x10⁻⁴M) <i>Tratamiento I:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento J:</i> con desinfección previa tipo A GA₃ (5.77x10⁻⁴M) a 4°C <i>Tratamiento K:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento L:</i> con desinfección previa tipo A	MS
3	600	Intracapsular y previo a la extrusión seminal	Tto 2 (300 semillas en Tipo A y 300 en Tipo B)	Sin imbibición <i>Tratamiento C:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento D:</i> con desinfección previa tipo A Agua (temperatura ambiente) <i>Tratamiento E:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento F:</i> con desinfección previa tipo A Agua a 4°C <i>Tratamiento G:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento H:</i> con desinfección previa tipo A GA₃ (temperatura ambiente) (2.88x10⁻⁴M) <i>Tratamiento M:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento N:</i> con desinfección previa tipo A GA₃ (2.88x10⁻⁴M) a 4°C <i>Tratamiento O:</i> con desinfección previa tipo B <i>Tratamiento P:</i> con desinfección previa tipo A	MS

GA3: Ácido giberélico - giberelina A3 (Sigma G7645)

* Tratamientos de desinfección empleados : Tratamiento 1: jabón líquido 30 min + isodine[®] 60min+ solución de bavistin[®] (1%) y cloranfenicol[®] (400 ppm) 180 min + etanol 70% 1 min. + hipoclorito de sodio (2 %) 20 min. + 3 lavados sucesivos con agua destilada estéril. Tratamiento 2: Tipo A: Isodine[®] 60 min + etanol absoluto 1 min. + hipoclorito de sodio (2 %) 20 min + 3 lavados sucesivos con agua destilada estéril Tipo B: Agua caliente 75°C (60 min) + Isodine[®] 60 min + etanol absoluto 1 min + hipoclorito de sodio (2 %) 20 min + 3 lavados sucesivos con agua destilada estéril.

Los diferentes tratamientos se comparan mediante un análisis de varianza de medidas repetidas en el tiempo. Tanto las pruebas estadísticas (error $\alpha = 0.05$) como los cálculos de las medidas descriptivas se realizan con el paquete STATISTICA98 (Statsoft Inc., Tulsa, OK).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La germinación seminal *in vitro* de *Bixa orellana* L., resulta influenciada por el tratamiento de imbibición ($p = 0.007$), y por las semanas de cultivo empleadas ($p = 0.000$) (Véanse figura 1, tablas 2 y 3), sin ser éste último, un factor *per se* para la extrusión, simplemente es una consecuencia directa del primero de ellos. Estos, sumados a la colección seminal (intracapsular o postextrusión), se convierten en los factores determinantes del proceso, pues de las semillas colectadas tras la extrusión de la cápsula (ensayo 1) y almacenadas bajo condiciones controladas de temperatura y humedad, sólo germinaron una cantidad inferior al 3% de ellas, lo cual sugiere en concordancia con Belfort *et al.* (14) y Yogeeshia *et al.* (15), que en esta

especie vegetal la germinación se ve disminuida, considerablemente, por la pérdida de humedad y por ello se hace necesaria una escarificación mecánica como protocolo alternativo de recuperación del porcentaje de germinación (15,16).

En las semillas colectadas intracapsularmente (ensayos 2 y 3) la germinación se hace manifiesta desde la primera semana de cultivo con la mayoría de los tratamientos imbibitorios utilizados (Véase figura 1), con incrementos estadísticamente significativos en el porcentaje de germinación durante el período de tiempo comprendido entre la segunda y cuarta semana de cultivo, a pesar de presentar alta variabilidad en estos porcentajes, como consecuencia de lo caprichosa que es la germinación en esta especie vegetal (14,16,17).

Además, dependiendo del tratamiento de imbibición y desinfección empleados (Véanse tablas 2 y 3) se alcanzan porcentajes de germinación que superan el 70% y son totalmente contrarios a la baja viabilidad y tasa de germinación propuesta por Eira y Mello (17).

Tabla 2. Germinación seminal acumulada (media \pm DE) por tratamiento en cada una de las semanas de cultivo

Tratamiento*	Semanas							% germinación
	1	2	3	4	5	6	7	
D	1.0 \pm 1.6	4.1 \pm 4.9	9.8 \pm 6.6	12.5 \pm 4.2	12.5 \pm 4.2	12.8 \pm 4.4	13.1 \pm 4.1	65. .8
H	0.1 \pm 0.4	2.6 \pm 2.5	7.0 \pm 5.9	8.6 \pm 6.4	8.6 \pm 6.7	11.0 \pm 6.6	12.1 \pm 7.6	60. 8
F	2.5 \pm 2.8	5.5 \pm 6.2	6.5 \pm 7.2	7.1 \pm 8.1	7.1 \pm 7.6	8.5 \pm 6.9	9.1 \pm 6.4	45. 8
L	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	1.6 \pm 1.5	1.6 \pm 1.5	1.6 \pm 2.5	2.6 \pm 2.5	2.6 \pm 2.5	13. .3
P	2.3 \pm 1.5	9.6 \pm 3.5	13.6 \pm 3.5	15.0 \pm 2.6	15.0 \pm 2.6	15.3 \pm 3.0	15.6 \pm 3.5	78. .3
J	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.6 \pm 1.1	0.6 \pm 1.1	3. 3
N	5.6 \pm 2.5	11.6 \pm 2.0	13.6 \pm 1.5	14.3 \pm 2.0	14.3 \pm 2.0	14.3 \pm 2.0	14.6 \pm 2.3	73. .3

* ver Tabla 1. Tratamientos de desinfección e imbibición empleados en la promoción de germinación seminal de *Bixa orellana* L.

Tabla 3. Newman-Keuls para homogeneidad de grupos experimentales que muestran similitud y diferencias entre tratamientos

Tratamiento	Semillas germinadas ^a
J	0.19 ± 0.32 ^b
L	1.61 ± 1.51 ^{bc}
F	6.73 ± 6.48 ^{bcd}
H	7.42 ± 5.20 ^{bcd}
D	9.42 ± 4.32 ^{cd}
P	12.38 ± 2.91 ^e
N	12.66 ± 2.09 ^e

^a Los resultados son las medias ± DE para las réplicas (10 semillas por caja/ 120 cajas) correspondientes a los ensayos 2 y 3. Las letras iguales identifican grupos homogéneos ($p \geq 0.05$).

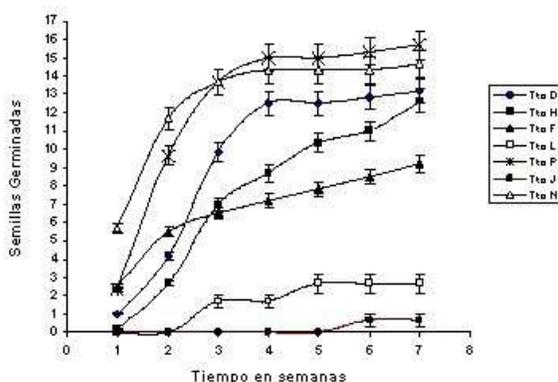


Figura 1. Germinación seminal acumulada (media ± DE) por tratamiento en cada una de las semanas de cultivo

El empleo de agua caliente dentro de los protocolos de desinfección no resulta benéfico y, contrario a lo propuesto por D`Souza y Sharon (20), en este estudio se evidencia una disminución considerable en la capacidad de germinación, pues en ninguno de los casos se supera el 10 % de germinación en aquellas semillas sometidas a este tratamiento. En estos resultados, como en los de Yogeesh et al. (15), los tratamientos que incluyen imbibición a 4°C presentan un leve incremento en los porcentajes de germinación (sin significancia estadística), pero a diferencia de lo observado por ellos, en este estudio el aumento en ningún caso representa una ventaja con relación a la utilización de temperaturas diferentes a la ambiental (22-23°C), y probablemente, en

concordancia con lo propuesto por Yogeesh et al. (15), no se constituya en un factor con importancia para evitar la dormancia seminal que se presenta en las estructuras colectadas posextrusión.

Las semillas correspondientes a los ensayos 2 y 3 (semillas colectadas intracapsularmente) con esquema de desinfección tipo A (no incluye agua caliente), muestran tasas germinatorias hasta del 78% (Véase tabla 2), cuando no se someten a imbibición, o cuando ésta se realiza a una concentración baja de ácido giberélico ($2.88 \times 10^{-4} M$). A una concentración más alta ($5.77 \times 10^{-4} M$), los porcentajes de germinación descienden incluso a niveles más bajos que los observados en las semillas colectadas postextrusión (ensayo 1), probablemente como consecuencia directa del regulador, pues es bien conocido que las concentraciones exógenas bajas, generalmente inferiores a $10^{-4} M$, causan un mayor desprendimiento de etileno (21). Sin embargo, la inhibición manifiesta al utilizar una concentración de $5.77 \times 10^{-4} M$, permite suponer que con esta adición, sumada a los niveles endógenos seminales, se podrían alcanzar los niveles inhibitorios o la pérdida de la capacidad de las células para responder al efecto de esta hormona (22,23), pues es conocido su efecto sobre algunos genes relacionados con expresiones enzimáticas involucradas en la germinación seminal (24,25,26,27,28).

CONCLUSIONES

La germinación *in vitro* de *Bixa orellana* L., se encuentra influenciada por el momento de la colección seminal, pues si la semilla pierde humedad tras su salida de la cápsula, esta disminuye progresivamente la capacidad de germinar. Asimismo, si la colección se realiza posextrusión, los organismos contaminantes oportunistas dificultan considerablemente los protocolos de desinfección necesarios para implementar los procesos *in vitro*.

Las semillas colectadas intracapsularmente no requieren protocolos exigentes de desinfección, y su germinación alcanza porcentajes muy elevados, sin que en ello importe proceso alguno de imbibición, pues aquellas semillas que no la tuvieron, germinaron en proporciones estadísticamente similares a las que la tuvieron con ácido giberélico a una concentración de $2.88 \times 10^{-4} M$.

En caso de imbibición, no se recomienda utilizar ácido giberélico a una concentración de $5.77 \times 10^{-4} M$,

pues los niveles de extrusión se reducen a tasas inferiores a todos los demás tratamientos empleados y solo comparadas con las que disminuyen progresivamente su capacidad germinativa como consecuencia de la pérdida de humedad. Sin embargo, aunque en ninguno de los casos es significativa la diferencia, vale la pena mencionar que en este tratamiento, y en los demás, los porcentajes de germinación tuvieron un leve incremento cuando la imbibición se realizó a baja temperatura (4°C).

No se deben incluir procesos de desinfección o imbibición que involucren el uso de temperaturas superiores a la ambiental, pues en este estudio se hizo evidente que el agua caliente como parte del protocolo de desinfección no mejora el proceso y por el contrario, incide desfavorablemente en el porcentaje de germinación. Asimismo, la utilización de temperaturas bajas en la imbibición no muestra efectos favorecedores que permitan considerar este como un factor promotor de germinación en *Bixa orellana* L.

La germinación de semillas en esta especie vegetal resulta estadísticamente influenciada por las semanas de cultivo, pero no porque este constituya un factor determinante *per se*, sino porque, en la medida en que el tiempo de cultivo avanza se obtiene un mayor porcentaje de germinación; de hecho, la extrusión seminal durante las primeras dos semanas es significativamente inferior a las restantes y por tanto, en ensayos posteriores relacionados se deberán considerar un mínimo de dos, o incluso tres semanas, para evaluar cualquier efecto progerminativo.

Ensayos adicionales (datos no presentados), muestran que el efecto continuado de estos reguladores en los medios de cultivo, no mejoran el porcentaje de germinación presentado en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

Al Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) y a la Universidad de Antioquia por la financiación del proyecto CIQF-066.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fonnegra, R., Jiménez, S. L. (1999) Plantas medicinales aprobadas en Colombia, (Ed.) Universidad de Antioquia, serie Yuluka, 1° ed pp 15-17.
2. Mercadante, A.Z., Pfander, H. (1998) Carotenoids from annatto: a review. *Recent Research Developments in Agriculture and Food Chemistry*, 2 (1): 79-91
3. Cáceres, A., (1996) Plantas de uso medicinal en Guatemala, (Ed) Universidad de San Carlos de Guatemala 1 ed. pp 55-56
4. Rodríguez, P.M. (1983) Plantas de la medicina popular Venezolana de venta en herbolarios. Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales, (Ed) Sucre Caracas pp. 25-27
5. Bernal, H., Bernal, Y., Correa, J.E. (1989) Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello. Tomo II. (Ed.) Secretaría ejecutiva del convenio Andrés Bello, Ministerio de Educación y Ciencia de España y la Junta del Acuerdo de Cartagena. pp. 260-289.
6. Parrotta, J.A. (2001) Healing plants of peninsular India, CAB International, Wallingford, U.K., 944 p
7. Otero, R., Fonnegra, R., Jiménez, S. (2000*) Plantas utilizadas contra mordedura de serpientes en Antioquia y Chocó, Colombia. Otero, Fonnegra y Jiménez Editores, 1° ed. Medellín, Colombia. 402 p
8. Otero, R., Núñez, V., Jiménez, S., Fonnegra, R., Osorio, R., García, M., et al. (2000b) Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia, Part II: Neutralization of letal and enzymatic effects of *Bothrops atrox* venom. *J. Ethnopharmacology* 71: 505-511
9. Otero, R., Núñez, V., Barona, J., Fonnegra, R., Jiménez, S., Osorio, R. G., et al. (2000c) Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia, Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. *J. Ethnopharmacology* 73: 233-241
10. Otero, R., Núñez, V., Barona, J., Saldarriaga, M., Fonnegra, R., Osorio, R., et al. (2000d) Neutralization of edema-forming and defibrinating effects of *Bothrops atrox* venom by extracts of plants used by healers in Antioquia and Chocó, Colombia, En: Cordovez, J.M. Abstracts XV International Congress for Tropical Medicine and Malaria, Corcas (Ed.) Bogotá pp. 186
11. Gowda, T.V. (1997) Interaction of snake venom phospholipases A₂ with plant isolates. En: Kini, R.M. (Ed.) Venom phospholipase A₂ enzymes, John Wiley&Sons, Chichester. Pp. 124-127
12. Nepstad, D.C., Uhl, C., Serrao, E.A.S. (1991) Recuperation of a degraded amazonian landscape: forest recovery and agricultural restoration. *Ambio* 20(6): 248-255
13. Kanjilal, P.B., Singh, R.S. (1995) Agronomic evaluation of annatto (*Bixa orellana* L.) by five grafting methods. *Revista Ceres* 38: (218): 340-344
14. Belfort, A.J.L., Kato, O.R., Kato, M. do S.A. (1992) Practical method of drying annatto seeds for seedling production, Circular Técnica 67, Centro de Pesquisa Agropecuaria do Tropicó Umido, EMBRAPA-CPATU, Belem, Brazil, 14 pp
15. Yogeasha, HS, Shivananda, TN, Bhanuprakash, K. (2005) Effect of seed maturity, seed moisture and various pre-treatments on seed germination of annatto (*Bixa orellana* L.) *Seed Science and technology*. 33(1) 97-104.
16. Amaral, L.I.V., Pereira, de F.A., Cortelazzo, A.L (1995). Dormancy breaking in seeds of *Bixa orellana*. *Revista Brasileira de Fisiología Vegetal*. 7(2): 151-157
17. Eira, M.T.S., Mello, C.M.C. (1997) *Bixa orellana* L., Seed germination and conservation. *Seed Sci., Tech.*, 25: 373-380.
18. Liogier, H.A. (1990) Plantas medicinales de Puerto Rico y del Caribe, Iberoamericana de Ediciones, Inc. San Juan P.R. 563
19. Murashige, T., Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497
20. D'Souza, M.C., Sharon, M. (2001) *In vitro* clonal propagation of Annatto (*Bixa orellana* L.). *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 37: 168-172
21. Ketring, D.L., Morgan, P.W. (1970) Physiology of oil seeds. I. Regulation of dormancy in Virginia-type peanut seeds. *Plant Physiol.* 45: 268-273
22. Richards, D.E., King, K.E., Ait-ali, T., and Harberd, N.P. (2001) How gibberellin regulates plant growth and development: A molecular genetic analysis of gibberellin signaling. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 67-88.

23. Kepczynski, J. (1986) Ethylene-dependent action of gibberellin in seed germination of *Amaranthus caudatus*. *Physiol. Plant.* 67: 584-587.
24. Nonogaki, H., Gee, O.H., and Bradford, K.J. (2000) A germination-specific endo- β -mannanase gene is expressed in the micropylar endosperm cap of tomato seeds. *Plant Physiol.* 123: 1235-1245.
25. Chen, F., Nonogaki, H., and Bradford, K.J. (2002) A gibberellin-regulated xyloglucan endotransglycosylase gene is expressed in the endosperm cap during tomato seed germination. *J. Exp. Bot.* 53: 215-223.
26. Chen, F., and Bradford, K.J. (2000) Expression of an expansin is associated with endosperm weakening during tomato seed germination. *Plant Physiol.* 124: 1265-1274.
27. Chen, F., Dahal, P., and Bradford, K.J. (2001) Two tomato expansin genes show divergent expression and localization in embryos during seed development and germination. *Plant Physiol.* 127: 928-936
28. Wu, C.-T., Leubner-Metzger, G., Meins, F., Jr., and Bradford, K.J. (2001) Class I β -1,3-glucanase and chitinase are expressed in the micropylar endosperm of tomato seeds prior to radicle emergence. *Plant Physiol.* 126, 1299-1313.

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA

PLANTA DE PRODUCCIÓN DE MEDICAMENTOS ESENCIALES Y AFINES

MISIÓN

La Planta de Producción de Medicamentos Esenciales y Afines con su Laboratorio Especializado de análisis (LEA) tiene como misión:

Prestar servicios de docencia, investigación y extensión a la comunidad universitaria y a la comunidad en general, a través de un grupo de profesionales y personal altamente calificado, quienes con los recursos tecnológicos disponibles, alta calidad, ética, responsabilidad y confidencialidad, fortalecen la política de medicamentos en el país.

VISIÓN

La Planta de Producción de Medicamentos Esenciales y Afines con su Laboratorio Especializado de Análisis (LEA) de la Facultad de Química Farmacéutica al lograr la certificación en BPM, BPL e ISO 9000 será el centro con mayor aporte social en el ámbito de productos y servicios, por su apoyo al fortalecimiento de la industria farmacéutica nacional, a los organismos de vigilancia y control, y a las instituciones de salud.



INFORMES

Dirección: Cll 67 N° 53 - 108 of 1-149

Tel/Fax: 2105469

E-mail: plantamed@farmacia.udea.edu.co