

## Morfología floral del achiote, *Bixa orellana* L. (Bixaceae)\*

Dora I. Rivera.

Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Eugenia M. Flores

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

(Rec. 14-VI-1988, Acep. 21-VII-1988)

**Abstract:** In a reinvestigation of the floral morphology of *Bixa orellana*, it was found that several organs such as stamens and gynoecium needed a new description. Anthers are folded, horseshoeshaped, with 4 locules and lateral dehiscence. The ovary is inferior and at maturity is raised by a gynophore. The flower has a network of laticifers and gum channels.

Bixaceae es una familia pantropical originaria del continente americano. Se distribuye desde México hasta Brasil y Argentina y en la actualidad, se cultiva extensamente en otras regiones tropicales y subtropicales (Jiménez 1947, Little y Dixon 1969). Muchos autores (Lawrence 1951, Hutchinson 1959, Cronquist 1968), consideran la familia unigenérica y uni-específica, con una sola especie *Bixa orellana* L. León (1968), señaló el probable origen amazónico de la especie; esta hipótesis es apoyada por Record y Hess (1949) y Molau (1983).

Se cultiva entre las latitudes 25°N y 25°S (Cevallos 1978), a una altitud de 300 a 1000 m.s.n.m. (Rivera 1967, Cevallos 1978). El ámbito de temperatura óptimo para su crecimiento oscila entre 24-30°C, en zonas con una precipitación anual mayor a 1000 mm (Cevallos 1978).

El achiote es una planta doméstica, que se siembra en los patios de las casas campesinas como planta ornamental y en cercas o pequeñas parcelas para la obtención de colorante para uso familiar. No obstante, en Costa Rica

hay pequeñas plantaciones con fines comerciales o de estudio agrocomercial (Ocampo 1982, Arce 1984). También crece silvestre y abunda en pequeños parches boscosos naturales situados en Puntarenas (Esparza) y Guana-caste (sobre todo en la zona norte). Además se encuentra en el Pacífico Sur y el Atlántico. Estas plantas silvestres reciben el nombre de achiotillo; tienen frutos pequeños y no se utilizan para la extracción de pigmento pues no contienen suficiente cantidad. Producen abundancia de frutos con pocas semillas y son poco susceptibles al ataque de insectos y hongos.

El conocimiento de la biología de las plantas cultivadas es necesario para su manejo como cultivo y su fitomejoramiento. Este trabajo pretende contribuir al estudio de la morfología floral de esta especie, ya que existe un renovado interés en intensificar su cultivo.

### MATERIAL Y METODOS

Se colectó material reproductivo (flores y frutos) de *Bixa orellana* L., en San José (centro), Heredia (centro, San Rafael), Alajuela (centro, San Carlos), Puntarenas (Laurel de Osa, Venecia de Osa, Santa Clara de Osa, Esparza),

\* Parte de la tesis presentada para obtener el grado de Magister Scientiae de la primera autora.

Guanacaste (Liberia, Cañas, Bebedero, Nicoya, Filadelfia, Santa Rosa, Cuajiniquil), Cartago (Tres Ríos, Turrialba) y Limón (Cahuíta, Puerto Viejo, Hone Creek). Se consideró solamente aquellas plantas cultivadas en casas campesinas, las sembradas en cercas o que crecían en el bosque natural. No se colectó en plantaciones para no utilizar plantas que hubiesen sido sometidas a mejoramiento genético.

Las muestras para microscopía de luz se fijaron en formalina aceto-alcohol (Johansen 1940) y se deshidrataron en una batería ascendente de alcohol butílico terciario, después de lo cual se procedió a infiltrar en parafina (Paraplast de punto de fusión 56-57 C). Todas las muestras se seccionaron a 15  $\mu\text{m}$  y la tinción se hizo según el método de Sharman (1943), se usó también una cámara lúcida.

Para el estudio al microscopio electrónico de barrido, se fijaron muestras de los órganos en glutaraldehído al 4%; luego se transfirieron a tetraóxido de osmio y se deshidrataron en una serie ascendente de alcohol etílico. Las muestras deshidratadas se llevaron a punto de secado crítico y se cubrieron con una capa de oro durante tres minutos.

## RESULTADOS

### A. Morfología general

*Bixa* es un árbol de 2-10 m de altura, con copa piramidal, redondeada o irregular y ramificación dicotómica. La corteza del tallo es lisa o poco fisurada, de color pardo-rojizo, pardo-oscuro, pardo-verdoso o pardo-grisáceo, con pocas o muchas lenticelas de color pardo claro o amarillento. Las hojas son simples, dorsiventrales, alternas, de textura cartácea, forma deltoide, cordiforme o lanceolada, lámina simétrica o asimétrica y pubescentes.

Las flores se producen en panículas terminales de 10-25 cm de longitud, con 5-60 primordios florales, la mayoría de los cuales no alcanza la madurez (Fig. 1). La producción y maduración de las inflorescencias ocurre en forma basípeta (Fig. 1). Las flores son bisexuales y la antesis floral, a lo largo de la inflorescencia, ocurre en sentido acrópeta; maduran 1-2 flores al mismo tiempo (Figs. 2 y 3). Todas las yemas vegetativas se convierten en yemas florales durante la época reproductiva (Fig. 1); se observan, simultáneamente,

primordios florales, flores y frutos en varias etapas de maduración (Fig. 4). Las flores son pentámeras (Fig. 3), dialipétalas, dialisépalas, de perianto caedizo. Los pétalos son imbricados y su color varía de blanco a rosado intenso; los sépalos son cóncavos, de color pardo-rojizo o pardo-verdoso, con 5 glándulas basales persistentes aún en el fruto maduro. Los estambres son numerosos (Fig. 3), con anteras de color blanco o amarillo y se curvan en la temprana ontogenia adoptando forma de herradura; los filamentos son delgados, blancos, amarillos o violeta en su porción proximal y amarillo en la distal. La dehiscencia de la antera se efectúa por pequeñas hendiduras laterales; al estar la antera doblada semejan poros de forma biconvexa. El ovario es ínfero, pero durante la ontogenia es elevado por un ginóforo y adopta la apariencia de un ovario súpero. Es bicarpelar (en ocasiones tricarpelar), unilocular, de placentación parietal, con pocos o numerosos rudimentos seminales.

La floración ocurre de junio a setiembre, excepto en el achiotillo cuya floración ocurre de octubre a diciembre. En los meses lluviosos, el follaje es abundante y de color verde oscuro o verde claro, pero en la época seca, cuando los frutos están maduros (o secos), hay una tendencia a perder parte del follaje; el que permanece es de color verde-rojizo y de hojas más pequeñas. Al seccionarse algún órgano se observa una secreción de color amarillo-anaranjado y si se colocan fragmentos de cualquier órgano, en agua o algún fijador, se libera una cantidad considerable de mucílago.

### B. Inflorescencia

Los ápices vegetativos se transforman en ápices florales terminales (Fig. 1); el ensanchamiento y alargamiento del ápice ocurre por múltiples divisiones periclinales y oblicuas en la periferia del cuerpo y divisiones periclinales en la túnica; el cuerpo es una masa central de células isodiamétricas.

La inflorescencia es una sinflorescencia monotética, bracteada, que corresponde al tipo cerrado de Troll (1964); en ella se produce una flor terminal, que es la última en madurar. Es racemosa, indeterminada, de desarrollo centrífugo y con ramas laterales primarias, helicoidalmente distribuidas, largas y cortas, con tres flores por ramita terminal (lateral). Las ramas secundarias muestran un patrón de ramifica-

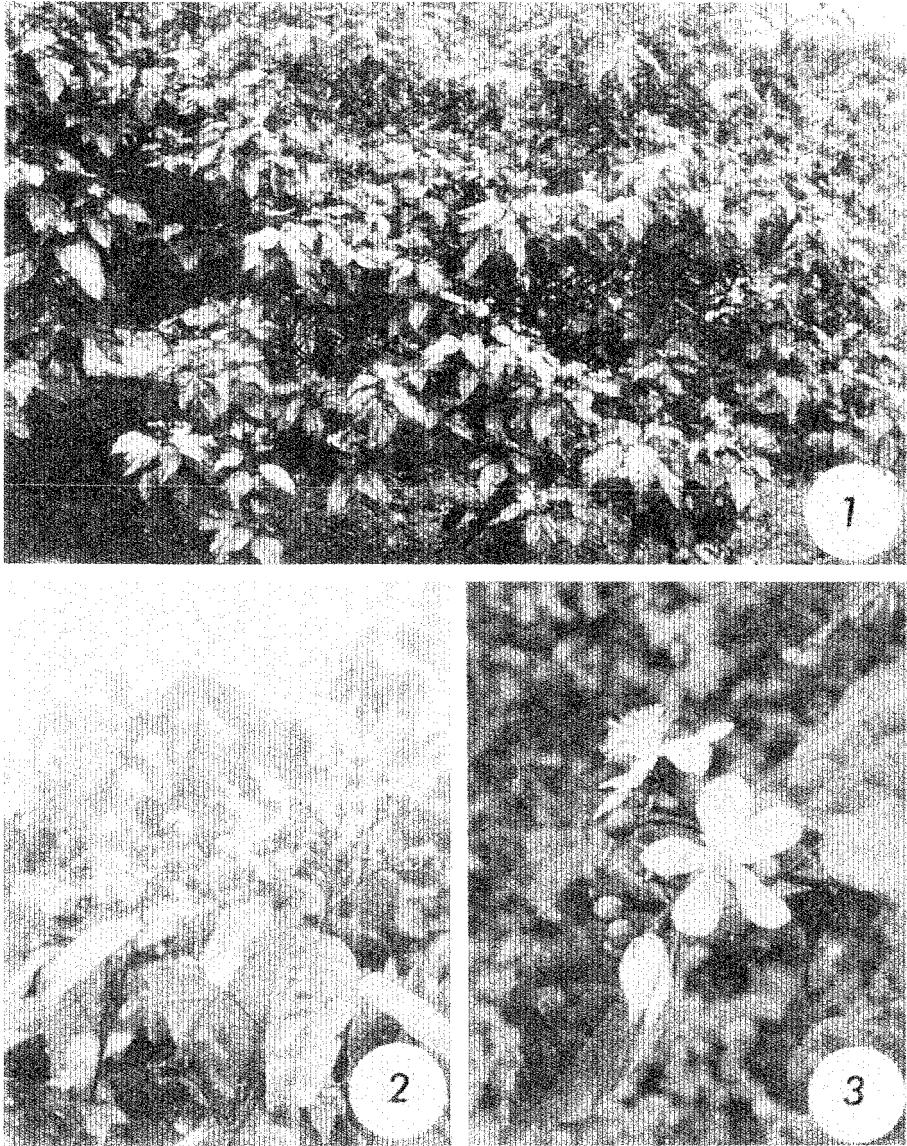


Fig. 1. Arbol de *Bixa orellana* (achiote). Véase el patrón de ramificación basal y la floración basípetamente escalonada.

Fig. 2. Inflorescencia que muestra la maduración de las flores; nótese que en este caso solo madura una flor.

Fig. 3. Flor pentámera de *B. orellana*; en la flor de perfil pueden observarse los numerosos estambres y el estigma prominente.

ción delicuescente. La inflorescencia puede medir de 15-25 cm de largo y el número de primordios varía de 20-60 cuando están muy jóvenes. Hacia la antesis, este número inicial disminuye y a la madurez llegan aproximadamente 5-15 de los primordios iniciales. La producción de inflorescencias es acrópeta (Fig. 1).

La antesis floral también es acrópeta y maduran 1-2 flores a la vez, excepcionalmente

3-4. Así se puede observar en el mismo eje, primordios florales, flores maduras y frutos en diferentes etapas de maduración (Figs. 3 y 4).

El eje de la inflorescencia tiene abundante tomento de color pardo, constituido por desprendimientos de la peridermis. Los entrenudos son cortos o largos y los nudos tienen un nectario extrafloral, de color pardo-amarillento



Fig. 4. Inflorescencia de *B. orellana*. Primordios florales, flores y frutos en distintas etapas de maduración.

o pardo-oscuro, brillante, de superficie lisa, similares a los del tallo.

a. Vascularización del pedúnculo y las ramas laterales de la inflorescencia.

Los pedúnculos tienen una eustela de crecimiento secundario precoz con un xilema secundario bien definido, una zona cambial angosta y otra floica, muy discreta, hacia el exterior. El parénquima del floema primario se alarga intrusivamente y forma grupos de fibras que constituyen un anillo alrededor del cilindro vascular. En cada nudo se origina una traza de buen tamaño, que entra a la base de la rama lateral; esta traza mayor es precedida por una traza menor que penetra en la bráctea que subtiende la rama. El haz de las ramas primarias es una estructura eustélica oscurecida por algún crecimiento secundario. En cada nudo, la eustela se divide y da origen a dos ramas

similares que constituyen las trazas de una rama secundaria y un pedicelo floral. Las ramas secundarias, a su vez, se dividen simpodialmente y dan origen a dos trazas que suplen a un pedúnculo y a una rama terciaria que da origen, en su extremo distal, a una flor terminal y a una yema abortiva.

b. Anatomía del pedúnculo y las ramas laterales de la inflorescencia.

La epidermis peduncular es reemplazada por una peridermis laxa, que se desprende y forma un tomento parduzco. La corteza está formada por células parenquimáticas y gran cantidad de canales secretores distribuidos al azar. Hacia el interior hay una eustela y una médula parenquimática recorrida por un número variable de canales gomíferos de tamaño similar a los corticales. Los canales

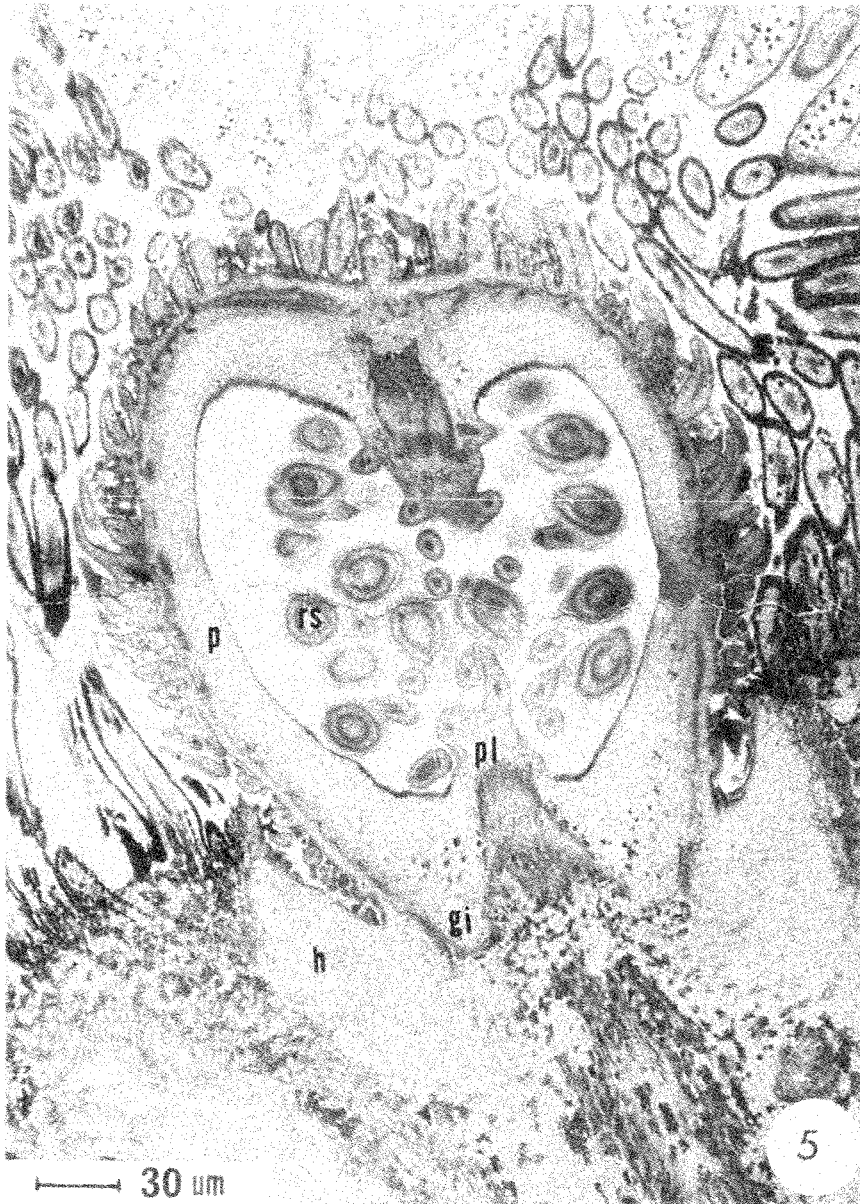


Fig. 5. Corte longitudinal de un ovario fertilizado de *Bixa* (4X), al inicio de la formación del ginóforo. rs. rudimento seminal. p. pericarpo. pl. placenta. gi. ginóforo. h. hipantio.

gomíferos corticales y los medulares carecen de epitelio.

La anatomía de las ramas laterales es similar a la del pedúnculo; no obstante, se observa una reducción en el número de canales gomíferos conforme aumenta el nivel de ramificación.

### c. Morfología floral

El receptáculo floral es discoide en el extremo distal, de forma piramidal, con una depresión central que aloja al gineceo. Tiene tendencia a hacerse convexo en la madurez. Las piezas florales son verticiladas; el perianto es-

tá constituido por un cáliz de 5 sépalos (ocasionalmente 6 ó 7) quinciales, alternantes con la corola, de color pardo-verdoso, pardo-rojizo o pardo oscuro, cóncavos y caducos en etapas muy tempranas de la antesis floral. Hay 5 glándulas en el extremo proximal de los sépalos, distribuidas así: dos en cada uno de los sépalos externos y una en el sépalo interno. La corola tiene 5 (algunas veces 6 ó 7) pétalos, blancos o rosados, deciduos, que caen después de los sépalos. El androceo es polistémono con un número variable de estambres, aún en flores del mismo individuo; no obstante siempre hay 9 verticilos, distribuidos en grupos de tres. Estos grupos se caracterizan por la diferente longitud del filamento. Las anteras son versátiles, arqueadas en forma de herradura y tienen 4 lóculos. En sección transversal, parecen tener 8 lóculos debido al doblez de la antera. El gineceo es bicarpelar, de placentación parietal; el ovario es ínfero y sésil en etapas ontogenéticas tempranas, desarrolla un ginóforo a medida que madura (Fig. 5).

#### d. Sistema vascular floral

La base del pedicelo recibe una traza que se extiende a lo largo y forma una eustela que penetra al receptáculo y se extiende en dirección acrópeta, dando origen a 5 trazas que penetran en la base de los sépalos. Ahí se ramifican y producen una serie de 10-12 haces menores, que recorren el sépalo longitudinalmente (Fig. 6). Luego dan origen a 10 trazas que se anastomosan en pares y vascularizan los 5 sépalos de la flor (Fig. 7). El número de estambres es variable y en apariencia nunca es inferior a 200, por lo que después de originar las trazas de los pétalos, se produce un número de trazas vasculares equivalente al número de estambres que caracteriza la flor. Continuando en sentido acrópeta, la eustela da origen a las dos trazas que penetran los carpelos.

En los sépalos, la traza original se ramifica y produce 20-22 haces vasculares, por lo general asociados con un canal de mucílago, que recorren la pieza longitudinalmente. En los sépalos también se observan canales de mucílago contiguos a los haces vasculares. El filamento del estambre tiene un haz anfifloico (Fig. 9); el carpelo consta de una vena dorsal y dos ventrales que se ramifican numerosas veces cerca de la base y producen un sis-

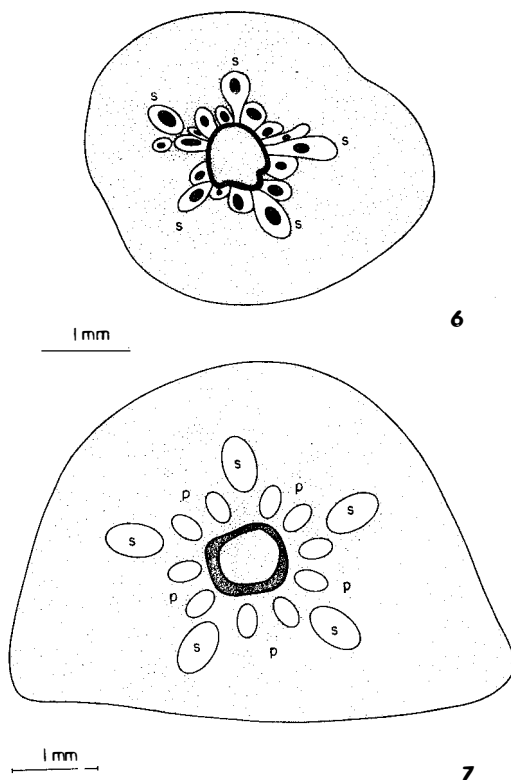


Fig. 6. Corte transversal de la porción media del receptáculo floral de *Bixa*, con el patrón de vascularización de los sépalos (4X).

Fig. 7. Corte transversal de la porción distal del receptáculo floral de *Bixa*, con el patrón de vascularización de los pétalos (4X).

s. sépalos. p. pétalos.

tema de vascularización muy complejo, que abarca incluso la emisión de pequeñas trazas vasculares que penetran a las emergencias que caracterizan a la superficie externa del gineceo (Fig. 5).

#### e. Anatomía floral

##### i. Perianto

Los sépalos tienen una epidermia unicelular, formada por células rectangulares en sección transversal. Se observan algunos tricomas de tipo peltado distribuidos al azar. Hacia el interior se observa una masa de parénquima, interrumpida periódicamente por canales gomíferos de origen lisígeno y por haces vasculares colaterales. El haz original que vasculariza al sépalo se trifurca a un nivel más alto y da ori-

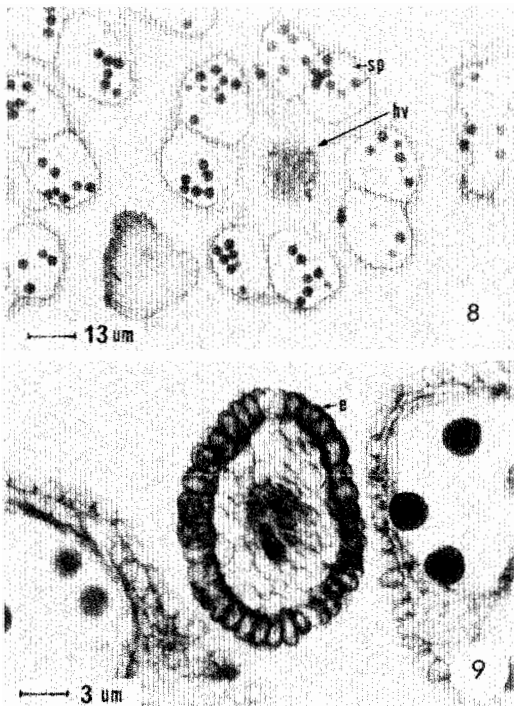


Fig. 8. Corte transversal de una antera de *Bixa* (20X); se observa la antera doblada, mostrando sus lóculos y el haz del filamento en la porción central.

Fig. 9. Corte transversal de un filamento de *Bixa* (40X), con sus células epidérmicas y su haz vascular central.

sp. saco polínico. hv. haz vascular. e. epidermis.

gen a un haz central y dos ramas que se fusionan formando un anillo; este anillo basal de los sépalos produce una serie de 10-12 haces que recorren el sépalo longitudinalmente. Los haces están compuestos por elementos helicoidales y a veces anulares. También se observan algunos idioblastos.

Los pétalos son un tanto sinuosos. La epidermis consta de células rectangulares en la superficie adaxial y células muy irregulares en la superficie abaxial. En el interior del pétalo se observa un tejido parenquimatoso interrumpido por haces vasculares asociados con canales gomíferos hacia la superficie adaxial. La traza vascular que suple cada pétalo se ramifica en la base de la pieza floral y da origen a numerosos haces paralelos que recorren la pieza en sentido acrópeta. Las trazas divergen de la eustela en un patrón antotático no discernible.

## ii. Androceo

El filamento del estambre es terete. La epidermis está formada por células redondeadas y en el interior hay parénquima, 1-2 canales gomíferos de pequeño diámetro y un haz anfifloico central (Fig. 9).

Las anteras se doblan por completo (Fig. 10) y adquieren forma de "u" o de herradura. Constan de 4 lóculos (Figs. 8, 12). El filamento es versátil (Fig. 8, 11).

La dehiscencia de la antera es apical (morfológicamente lateral) y poricida (Fig. 13). Los septos entre los lóculos pares se adelgazan y pueden desintegrarse durante la época de la dehiscencia. Los grupos de polen son tectados, tricarpados, triaperturados (triporados), redondeados (Fig. 14). La epidermis de la antera tiene células con pared ornamentada (Fig. 15)

## iii. Gineceo

El gineceo está formado por un ovario globoso elevado por un ginóforo que se desarrolla en etapas ontogénicas tardías. El estilo es filamentos; en el primordio floral se encuentra doblado sobre los estambres. Es relativamente largo, dorsiventralmente aplastado, de forma casi espatulada y se expande hacia el estigma. Su porción proximal es terete. La abertura estigmática es alargada (ojival) y ocupa toda la superficie interna del estigma; esta forma ranurada continúa por todo el canal estilar. El estigma es bilabiado, liso en la superficie externa; el canal estilar está cubierto por numerosas protuberancias papilares. En la pared estilar se observan canales secretores de látex y mucílago. El número de carpelos es de dos, a veces tres. La placentación es parietal. El número de rudimentos seminales varía de 10 a 60 por fruto; son ortótropos en las primeras etapas ontogénicas y se curvan durante el desarrollo hasta alcanzar una posición cercana a la anátropa en la época de la antesis.

## DISCUSION

La anatomía de *B. orellana* ha sido poco estudiada. La descripción de Metcalfe y Chalk (1950) es la más conocida y se refiere principalmente a los órganos vegetativos. Muchos de los caracteres anatómicos encontrados en esta investigación no fueron previamente descritos, otros fueron reevaluados.

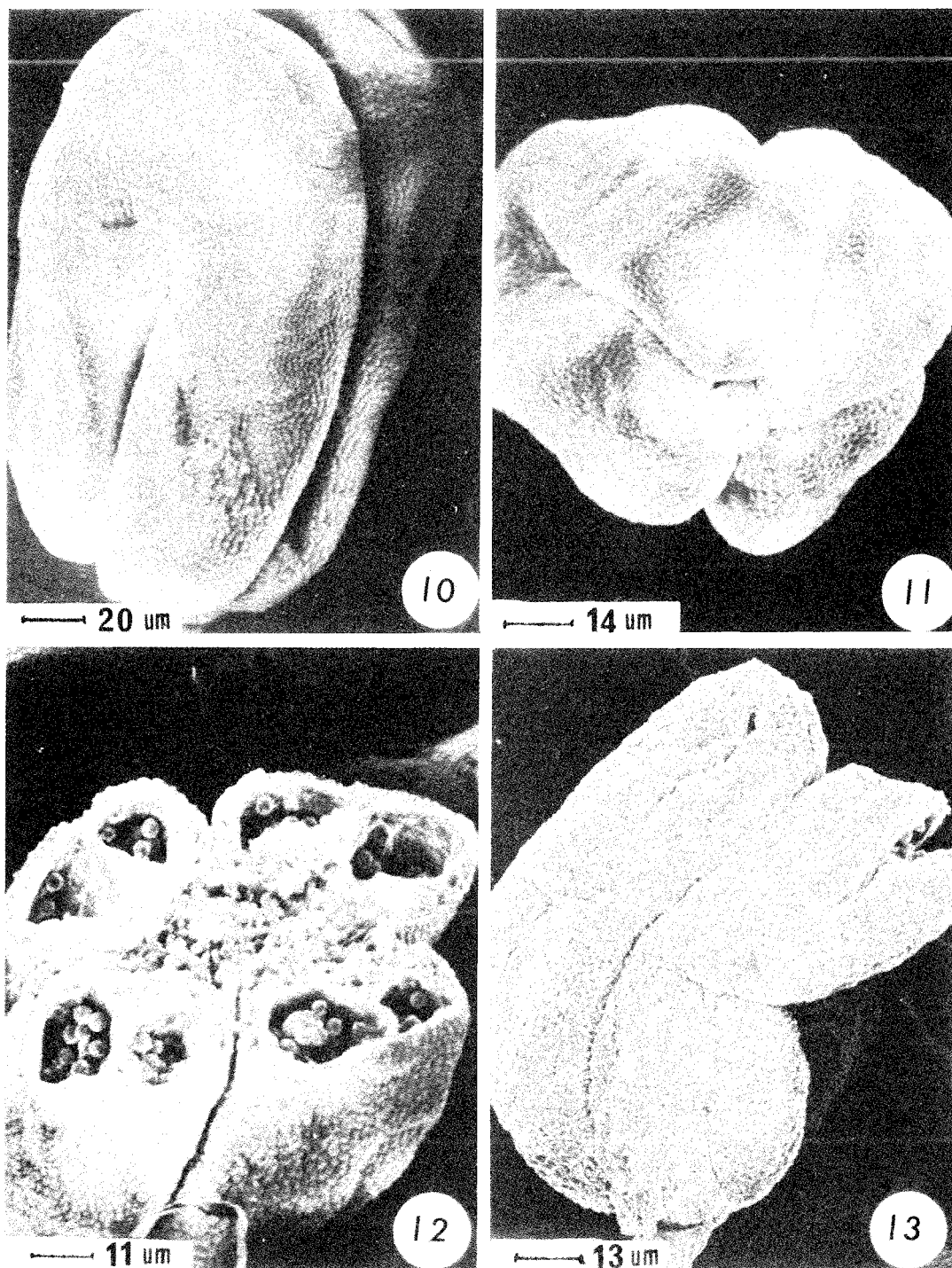


Fig. 10. Antera doblada de *Bixa* (70X).

Fig. 11. Vista inferior de una antera de *Bixa* (70X); se observa la inserción del filamento.

Fig. 12. Corte transversal de una antera de *Bixa* (70X); se observan los lóculos.

Fig. 13. Antera de *Bixa*. Obsérvese el tipo de dehiscencia.



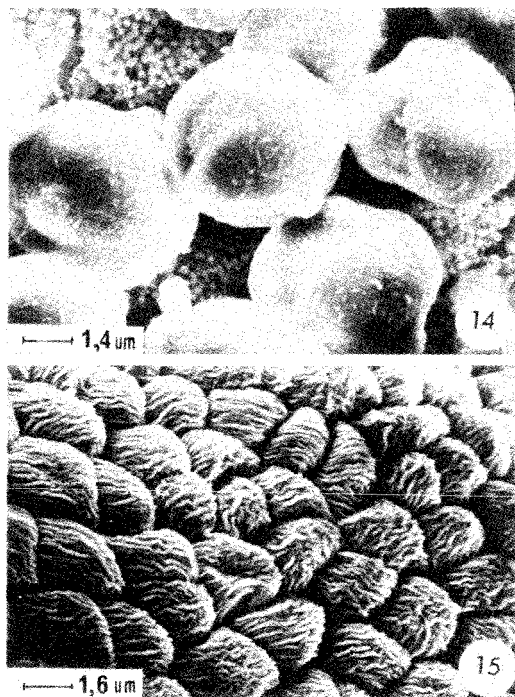


Fig. 14. Granos de polen de *Bixa*.

Fig. 15. Detalle de la superficie de la antera de *Bixa*. Obsérvese la ornamentación de la pared.

La época reproductiva es de junio a octubre para la mayoría de las poblaciones: no obstante, en algunas puede ocurrir de noviembre a febrero. Este período puede variar de un período anual a otro y se correlaciona con los regímenes de lluvia. Por ejemplo, en el año 1985, la floración manifestó una variación y se inició en el Valle Central durante el mes de agosto.

Solamente un 50% (o menos) de las flores que se producen llegan a fruto maduro. Bentley (1977), observó un fenómeno similar en la región de Guanacaste. La producción de flores y la antesis floral ocurren en forma acrópeta (Rivera 1979); esto garantiza una producción de flores por un tiempo bastante prolongado (2-3 meses o más).

La inflorescencia pertenece al tipo racemoso (racimo o panícula) o tipo cimoso según diferentes autores (Lawrence 1950, Chopra y Kaur 1965; León 1968; Little y Dixon 1969). No obstante se considera que la clasificación de Troll (1964), permite definir mejor la inflorescencia. Según Troll (1964), las inflorescencias (sinflorescencias) son de dos tipos: polité-

licas si terminan en un grupo de flores (tipo abierto), o monotélicas cuando terminan en una sola flor (tipo cerrado). En ambos tipos, los patrones propios se repiten para todas las ramificaciones laterales. La inflorescencia de *Bixa* es de tipo monotélico o cerrado, porque el eje termina en una sola flor. Además, el desarrollo es de tipo centrífugo o indeterminado y la flor central (terminal) es la última en madurar. Las ramas laterales de la inflorescencia son de tipo delicuescente, o sea que, su ramificación tiende a ser simpodial. El tamaño de los pedicelos de las flores individuales determina que la inflorescencia sea corta o larga. El número de flores por inflorescencia no es constante.

Cada flor está subtenida por una bráctea precozmente caduca, que al igual que las estípulas de las hojas, también deja una cicatriz en forma de anillo alrededor de todos los nudos del eje; también en cada nudo se observa un nectario extrafloral. Bentley (1977) informó que estos nectarios secretan una sustancia azucarada que atrae hormigas, de comportamiento muy agresivo, que protegen a la planta contra la acción de algunos insectos herbívoros depredadores.

El sistema vascular del eje de la inflorescencia es similar al del tallo.

El receptáculo floral tiene una depresión central, subdistal, que aloja el gineceo; éste, en etapas ontogenéticas muy tempranas está casi inmerso en él. Esto hace que el ovario sea medio, casi con tendencia a ínfero. De acuerdo a la clasificación que hacen Radford *et al.* (1974), el ovario vendría a ser epihiperígino que es una combinación de periginia y epiginia, ya que el resto de las partes florales forman un tubo, a manera de hipantio, que rodea al ovario. Esta interpretación difiere de la que hacen los autores consultados (ver referencias).

El gineceo en etapas ontogenéticas tempranas está inmerso dentro del receptáculo y es sésil; conforme avanza en su desarrollo, se inicia la formación de un ginóforo que paulatinamente eleva el ovario, hasta alcanzar una altura que lo coloca por encima de la base del resto de las partes florales; así, en la etapa madura, aparenta ser un ovario súpero (flor hipógina). Es posible observar el ginóforo cuando los frutos están maduros.

De acuerdo con Puri (1952), Douglas (1957) e Eames (1961), el ovario ínfero de *Bixa* se forma

por el método axial (pseudohundimiento) del gineceo dentro del receptáculo floral; éste se produce por un crecimiento diferencial de la masa formada por la fusión (en la base y a nivel del receptáculo), del androceo y el perianto, que envuelven parcialmente al ovario, rodeándolo, pero sin fusionarse con él. Esto también se observa en la anastomosis parcial de los haces vasculares a ese nivel (Fig. 5).

Los sépalos y pétalos muestran gran cantidad de canales secretores de látex y mucílago; en estas piezas florales los canales se localizan contiguos a los haces vasculares.

Los nectarios se encuentran en la base de los sépalos externos. De acuerdo con Eames (1961), éstos pueden considerarse como áreas localizadas, formadas por masas subepidérmicas de tejidos secretores, cubiertos por una cutícula, generalmente delgada. En algunos nectarios hay estomas y es por ahí por donde sale el néctar. En *Bixa*, no se observó la presencia de estomas en estos nectarios; es probable que el néctar difunda a través de la epidermis y la cutícula.

Los estambres son numerosos, pero se encuentran colocados en verticilos al igual que el resto de las piezas florales; los verticilos parecen ser 9 de acuerdo con la distribución de los haces vasculares que suplen los estambres. Por las observaciones hechas respecto a la anatomía de esta pieza floral, se infiere que la antera es versátil y no basifija como lo indican Chopra y Kaur (1965) y se fusione al conectivo formando una sola pieza central después de que ocurre el doblez de la antera. La ontogenia de los estambres no fue estudiada en detalle y no hay referencias en la literatura que documenten las razones de ese doblamiento de las anteras. Según Eames (1961), el número de tecas presentes en las anteras de las angiospermas es en general de 2, con 2 lóculos cada una; o sea que en un corte transversal la antera madura tiene 4 sacos polínicos. Excepcionalmente hay anteras que pueden presentar 2 sacos polínicos o reducirse a uno solo, pero una antera con dos tecas nunca presenta 8 sacos polínicos; esto último ocurre sólo cuando hay fusión de dos anteras contiguas. En *Bixa*, las anteras también tienen 2 tecas, cada una con 2 sacos polínicos. En un corte transversal, aparenta tener 8 sacos polínicos, pero esto se debe al doblez de la antera sobre sí misma. Es probable que esta "distorsión" histológica indujera a Rodríguez y En-

riquez (1983), a describir la antera de *Bixa* como compuesta de 8 lóculos, cuando en realidad solo tiene 4 (Figs. 8 y 12). Respecto a la dehiscencia, también se ha dicho que ocurre por medio de poros apicales (Rodríguez y Enríquez 1983); en realidad se comprobó que se efectúa a través de hendiduras laterales que están más o menos a la mitad de la longitud de la antera (Fig. 13).

En el primordio floral, tanto los estambres como el estilo se encuentran muy recurvados, pero adquieren una posición vertical durante la antesis. La forma del estigma es bastante singular y ha sido definida como de "boca abierta" por Rodríguez y Enríquez (1983); aún sin ser ésta la terminología adecuada, ilustra de manera sencilla esta estructura

## RESUMEN

Esta es una reinvestigación de la morfología floral de *Bixa orellana*. Se encontró que varios órganos como androceo y gineceo requerían una descripción nueva. Los estambres tienen anteras dobladas; la dehiscencia es lateral. El ovario es inferior y durante el desarrollo es elevado por un ginoforo. La flor tiene una complicada red de laticíferos y canales gomíferos, en todas las piezas florales.

## REFERENCIAS

- Arce, J. 1984. Caracterización de 81 plantas de achiotte (*Bixa orellana*) de la colección del CATIE procedentes de Honduras y Guatemala y propagación vegetativa por estacas. Tesis de Magister Scientiae, Sistema de Estudios de Posgrado, UCR/CATIE. 170 p.
- Bentley, B. L. 1977. The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* (Bixaceae). *J. Ecol.* 65: 27-38.
- Cevallos, M. 1978. Achiotte. Lima, Ministerio de Agricultura y alimentación, 16 p.
- Cronquist, A. 1968. The evolution and classification of flowering plants. Houghton Mifflin Co.; Boston, New York. 397 p.
- Douglas, G. E. 1957. The inferior ovary. II. *Bot. Rev.* 23: 1-46.
- Eames, J. A. 1961. Morphology of the angiosperms, McGraw-Hill Book Co., New York, p. 30-37.

- Hutchinson, J. 1959. The families of flowering plants. Vol. I. Sec. Ed., Oxford University Press, Oxford. p. 205-206.
- Jiménez, D. 1947, El achiote, *Bixa orellana* Linn. Fam. Bixaceae. Rev. Inst. Def. Café de C. R. 155-156 (23): 361-367.
- Johansen, D. A. 1940. Plant Microtechnique. McGraw Hill Book Co., New York, 523 p.
- Lawrence, G. H. M. 1951. Taxonomy of vascular plants. MacMillan Pub. Co., New York. pp. 609-610.
- León, J. 1968. Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA, San José, Costa Rica. pp. 448-450.
- Little, E. L. & R. G. Dixon. 1969. Arboles comunes de la provincia de Esmeraldas, Ecuador, Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Roma. pp. 408-411.
- Metcalf, C. & R. L. Chalk. 1950. Anatomy of the Dicotyledons. Vol. I. Clarendon Press, Oxford, pp. 112-113.
- Molau, U. 1983. 127. Bixaceae En: Flora of Ecuador, Ed. G. Harlin y B. Spare, 20: 1-7. University of Göteborg, Suecia.
- Ocampo, R. 1982. Algunos aspectos agronómicos sobre el cultivo del achiote (*Bixa orellana* L.) en los cantones de Aguirre, Dota y Tarrazú. En: Proyecto: Aprovechamiento industrial del achiote (*Bixa orellana* L.) Etapa I. Universidad de Costa Rica, Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA), San José, Costa Rica, pp. 1-16.
- Puri, V. 1952. Floral anatomy and inferior ovary. Phytomorphol. 2: 122-129.
- Radford, A. E., W. C. Dickinson, J. R. Massey & R. Bell. 1974. Vascular plant systematics. Harper & Row, Publishers, New York, 891 p.
- Record, S. & R. Hess, 1949. Timbers of the New World. New Haven University Press, London. pp. 89-90.
- Rivera, D. I. 1979. Estudio de la semilla y del desarrollo del embrión en *Bixa orellana* L., Bixaceae (achiote). Tesis de Licenciada en Biología, Universidad de Costa Rica, 62 p.
- Rivera, R. 1967. El achiote, una promesa para El Salvador, Santa Tecla, El Salvador, CENTA/MAG. Circular No. 80, 12 p.
- Rodríguez, R. & G. A. Enríquez. 1983. Estudio preliminar del desarrollo de ramas y la biología floral en *Bixa orellana*. En: Aspectos sobre el achiote y perspectivas para Costa Rica. Ed. J. Arce, CATIE, Serie Técnica, Informe Técnico No. 47, pp. 58-76.
- Sharman, B. C. 1943. Tannic acid iron alum safranin and orange G in studies of the shoot apex. Stain, Tech. 18: 105-111.
- Troll, W. 1964. Die Infloreszenzen. Vol. I. Gustav Fisher. Stuttgart.