

Características germinativas de semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) “cacao”

Germination characteristics of seeds of *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) “cacao”

Segundo Eloy López Medina & Armando Efraín Gil Rivero

Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos, Facultad de Ciencias Biológicas,
Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II, Trujillo, PERÚ.

seellome88@gmail.com

a.gr108@hotmail.com

Resumen

Las semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) son llamadas alimento de los dioses debido a su elevado contenido energético y por ser rica fuente de vitaminas, minerales y antioxidantes. Debido a que el chocolate es el principal producto de sus semillas, su cultivo se ha extendido en el mundo y es importante conocer las diferentes vías de propagación para generar poblaciones uniformes y vigorosas, para optimizar la producción. Ante ello, se tomó como objetivo de investigación determinar las características germinativas de semillas de *T. cacao* L. "cacao". El material vegetal (semillas) provino de la campiña La Merced-Laredo y la fase experimental se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos de la Universidad Nacional de Trujillo, mediante un diseño estadístico completamente al azar, con tres repeticiones por tratamiento. Se determinó el porcentaje de germinación, emergencia y vigor germinativo, además se estimó la viabilidad empleando el reactivo 2, 3, 5-trifeniltetrazolio. Se concluye que el lote evaluado de semillas de *T. cacao* L. presentó un 88,9 % de germinación y un 71,1 % de emergencia. Su vigor germinativo fue de 80,3 %, mientras que el ensayo de viabilidad discriminó la existencia de un 40% de semillas viables de alto vigor, un 35 % de semillas viables de bajo vigor y un 25 % de semillas no viables.

Palabras clave: características germinativas, semillas, *Theobroma*, cacao.

Abstract

The seeds of *T. cacao* L. (Malvaceae) are called the food of the gods because of their high energy content and their provision of vitamins, minerals and antioxidants. As the chocolate is the main product of its seeds, its cultivation has spread in the world and it is important to know the different ways of propagation to generate uniform and vigorous populations, to optimize production. The objective of this research was to determine the germinative characteristics of seeds of *T. cacao* L. "cacao". The plant material (seeds) came from the La Merced-Laredo countryside and the experimental phase was carried out in the Biotechnology Laboratory of the Potato and Andean Crops Institute of the National University of Trujillo, with a completely random statistical design, with 3 replicates per treatment. The germination percentage, emergence and germinative vigor was determined and viability was also estimated using the reagent 2, 3, 5-triphenyltetrazolium. As conclusion, the evaluated seed lot of *T. cacao* L. showed 88.9 % of germination and 71.1 % of emergence. Its germinative vigor was 80.3 %, while the viability study showed the existence of 40% of viable seeds with high vigor, 35 % of viable seeds with low vigor and 25 % of non-viable seeds.

Keywords: germination characteristics, seeds, *Theobroma*, cacao.

Citación: López, S. E. & A. E. Gil. 2017. Características germinativas de semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) "cacao". Arnaldoa 24(2): 609-618. doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.242.24212>

Introducción

Theobroma cacao L. es originario del bosque húmedo tropical de América del Sur, cultivándose comercialmente desde el nivel del mar hasta los 1200 metros de altitud. De acuerdo a su distribución geográfica, la mayor concentración de áreas de cacao está entre los 10° de latitud norte y 10° de latitud sur de la línea ecuatorial, distribuidos en

el oeste africano, América Latina y sureste de Asia. La planta del cacao crece entre 5-8 metros. Sus hojas son lanceoladas, mientras que las flores son pequeñas y se ubican en el tejido maduro, de tronco y ramas. El fruto es una baya grande denominada mazorca, llamado "alimento de los dioses" por los aborígenes americanos. Dentro del fruto es posible encontrarse más de 20 semillas de color violeta y blanco incrustadas en una

masa de pulpa (Ganoza *et al.*, 2012; De la Cruz & Pereira, 2009).

El "cacao" es uno de los productos agrícolas de mayor importancia en el mundo, debido a que se obtienen subproductos de gran valor nutritivo. Es considerado como un superalimento debido a su capacidad antioxidante y el contenido de compuestos tales como polifenoles, los cuales están vinculados con potenciales beneficios para la salud. Además, posee otros compuestos orgánicos de utilidad farmacológica, por ejemplo, la cafeína, la teofilina y la teobromina. Siendo este último un potente estimulante cardiovascular y del sistema nervioso central. De igual manera, el ácido genístico se comporta como un potente antirreumático y analgésico (Crozier *et al.*, 2011; Waizel *et al.*, 2012).

Como un método común de propagación, se utiliza semilla botánica. Es importante considerar que las semillas de *T. cacao* no toleran la desecación por ser recalcitrantes, reduciéndose su energía germinativa si son almacenadas. Las semillas son la unidad de reproducción sexual de las plantas y tienen la función de multiplicar y perpetuar la especie a la que pertenecen. Al emplearlas es necesario conocer el biotipo y las principales características de las plantas productoras de dichas semillas para que reciban un adecuado tratamiento, con la finalidad de que estas puedan crecer uniformes y con alta producción (Rangel *et al.*, 2011; Doria, 2010; Ganoza *et al.*, 2012).

En los últimos años se han producido importantes avances en el mundo de las semillas, lo que ha conllevado a una agricultura más tecnificada, asegurándonos que la germinación y nascencia de la plántula sean correctas. Los ensayos de germinación ofrecen una primera información respecto a la calidad de las semillas, al evaluar el poder

germinativo de las semillas y estimar su valor potencial para la siembra en campo. Estimar un porcentaje de germinación y emergencia no basta para expresar la calidad de una semilla, sino más bien es necesario conocer su calidad fisiológica a través de la determinación de la vitalidad y del vigor germinativo (Rodríguez *et al.*, 2008; CATIE. 2000). Considerando lo anteriormente mencionado, se propuso como objetivo la determinación de las características germinativas de semillas de *Theobroma cacao* L. "cacao".

Material y métodos

La especie *T. cacao* L. empleada en el presente trabajo se encuentra registrada en el Herbarium Truxillense (HUT), con registro N° 59056. La fase experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de la Papa y Cultivos Andinos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo. El experimento contó con 180 semillas de *T. cacao* L. con capacidad de germinar, colectadas de los árboles de la campiña La Merced-Laredo, provincia de Trujillo. Primero se procedió a colectar frutos maduros (mazorcas), de los cuales se obtuvieron las semillas. Fueron seleccionadas las semillas de en medio del fruto, por ser de mayor tamaño y no presentar defectos. Posteriormente, se eliminó la pulpa que rodea la semilla frotándola con arena y realizando lavados con agua limpia. Una vez que estuvieron listas se sumergieron en una solución de Benlate a 1 g por litro, durante 5 minutos.

Determinación del porcentaje de germinación (% G) de semillas de *T. cacao* L.

Para la prueba de germinación, se seleccionaron al azar tres bloques de semillas con tres repeticiones cada uno.

Cada repetición constó de diez semillas, las cuales fueron distribuidas en placas de Petri, previa colocación de ocho discos de papel filtro estériles humedecidos con agua destilada estéril. El porcentaje de germinación se determinó con la siguiente fórmula: $% G = (Sg/Ss) \times 100$, donde $Sg = n^{\circ}$ de semillas que germinan y $Ss = n^{\circ}$ total de semillas sembradas (Gómez, 2004; Hartmann & Kester, 1980).

Determinación del porcentaje de emergencia (% E) de semillas de *T. cacao* L.

Para la prueba de emergencia se utilizó como sustrato arena, previamente desinfección con lejía al 2 % y solarización. Se seleccionaron tres bloques de semillas con tres repeticiones cada uno. Cada repetición constó de diez semillas, las cuales fueron sembradas en una bandeja de germinación. El porcentaje de emergencia se determinó con la siguiente fórmula: $% E = PE/TS \times 100$, donde: PE = Plántulas emergidas durante el ensayo y TS = Total de semillas sembradas. Se consideró la plántula emergida cuando se observaron los cotiledones fuera de la envoltura seminal (Navarro *et al.*, 2012).

Determinación de la vitalidad de semillas *T. cacao* L. a través del índice de índice de Czbator.

Para obtener el índice de Czbator, se utilizó la información proveniente del ensayo

de porcentaje de germinación, estimándose su porcentaje promedio acumulativo, para obtener un gráfico. Los valores obtenidos se remplazaron en la fórmula $IC = VA \times GMD$, donde: VA es el valor más alto del porcentaje de germinación dividido entre el número de días que se requirió para llegar a ese punto y GMD es la germinación media diaria, que es el porcentaje final de la germinación dividido entre el número de días de posible duración de la prueba (Hartmann & Kester, 1980).

Determinación de la viabilidad de las semillas con 2, 3, 5-trifeniltetrazolio

Se empleó la siguiente metodología: 1) Se remojaron en agua diez semillas de *T. cacao* L.; 2) Se preparó 2, 3, 5-trifeniltetrazolio al 0,1% en un frasco ámbar; 3) Las semillas fueron cortadas por la mitad y se distribuyeron en dos placas de Petri; 4) Se colocaron las placas de Petri en cámara oscura donde se agregaron 10 ml de la solución de 2, 3, 5-trifeniltetrazolio, observándose que las semillas estén embebida en la solución; 5) Se dejó reposar por un periodo de 30 minutos y se tomaron los resultados, de acuerdo a la coloración del embrión. El porcentaje de viabilidad se determinó con la siguiente fórmula $NR/NT \times 100$, donde NR = n° de semillas teñidas de rojo, NT = n° total de semillas evaluadas (Hartmann & Kester, 1980).

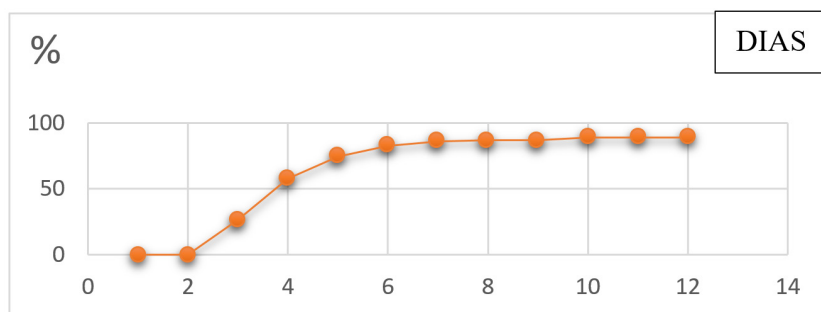


Fig. 1. Porcentaje promedio acumulativo de germinación de semillas *T. cacao* L. a los 12 días de evaluación.

Tabla 1: Resumen de las características germinativas de semillas de *T. cacao*, donde: (A): % semillas viables de alto vigor, (B): % semillas viables de bajo vigor y (C): % semillas no viables.

Germinación (%)	Emergencia (%)	Vigor (Czbator)	Viabilidad (%)		
			A	B	C
88.9	71.1	80.3	40	35	25



Fig. 2. Viabilidad de semillas de *T. cacao*, utilizando el reactivo 2, 3,5-trifeniltetrazolio. De acuerdo al grado de tinción del embrión, se observa: una semilla viable y de alto vigor (izquierda), una semilla viable de bajo vigor (derecha) y una semilla no viable (centro).

Resultados y discusión

Se arribó a los siguientes resultados para determinar las características germinativas de las semillas de *T. cacao* L. "cacao" y después de los análisis correspondientes.

La Fig. 1 y la Tabla 1 presentan los resultados del porcentaje promedio acumulativo de germinación y emergencia de semillas *T. cacao* L. Se puede observar un elevado porcentaje de germinación (88,9%) y un buen porcentaje de emergencia (71,1%), lo cual es indicador de una buena energía germinativa asociada a la rapidez en que una semilla puede germinar. Sin embargo, es importante considerar que las

semillas frescas de "cacao" están cubiertas por una gran cantidad de mucílago, el cual desempeña papeles ecológicos importantes; pero, a su vez, puede afectar adversamente la germinación. Investigaciones han demostrado que la demucilización de las semillas de cacao confiere varias ventajas, incrementándose el porcentaje de germinación entre un 80-100 %, comparado con las semillas de mucílago no removido (Adu *et al.*, 2017).

En lo referente al índice de Czbator (Tabla 1), el 80,3 % es indicador de un buen vigor germinativo. Estudios afirman que un elevado vigor es sinónimo de una elevada tasa de crecimiento, reflejada en la

producción de plantulas normales. En base a este parámetro se corroboran los resultados obtenidos anteriormente, pues el vigor determina el nivel de actividad y capacidad de las semillas durante la germinación y emergencia (Aristizábal & Álvarez, 2006; Pérez & Pita, 2001).

La mayor y la menor viabilidad es evidenciada por el test de tetrazolio (Tabla 1 y Fig. 1), según la intensidad y grado de tinción, y se observa un 40 % de semillas viable de alto vigor más un 35 % de semillas viables de bajo vigor. Debido a la declinación de la energía germinativa, se observa un 25 % de semillas no viables. Investigaciones demuestran que este ensayo es muy sensible para evaluar calidad en lotes de semillas, estableciéndose diferentes niveles de vigor, según la coloración debido a una reacción de óxido-reducción entre el 2, 3, 5-trifeniltetrazolio con los tejidos vivos que respiran, originándose la formación de trifenil formazán. Por ello, las semillas cuyo embrión es rojo carmín son las de alto vigor. Estudios han considerado al test de tetrazolio como el más rápido y confiable para evaluar la calidad de lotes de semillas, de allí, las recomendaciones del empleo de esta técnica en múltiples trabajos de investigación (Hartmann & Kester, 1980; Pérez, 1997).

Conclusión

Respecto a las características germinativas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) "cacao", se concluye que presentan un elevado porcentaje de germinación (88,9 %) y un buen porcentaje de emergencia (71,1 %). Su vigor germinativo fue de 80,3 %, mientras que el ensayo de viabilidad, a través del test de tetrazolio, discriminó la existencia de un 40 % de semillas viables de alto vigor, un 35% de semillas viables de bajo vigor y un 25 % de semillas no viables.

Contribución de los autores

S. López.: Concepción de la idea del trabajo de investigación, interpretación de los datos y aprobación de la versión final del informe. E. Gil.: Ejecución del trabajo de campo, recolección y procesamiento de los datos, preparación y redacción de informe.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen ni se registran intereses financieros, de posición ni de otra clase.

Literatura citada

- Adu, M.; T. Cobbinah; A. Asare; O. Yawson & J. Taah. 2017. Demucilaging Freshly Stored Seeds of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Improves Seedling Emergence and Growth. *Journal of Botany*. 10 pp.
- Aristizábal, L. & P. Álvarez. 2006. Efecto del deterioro de la semilla sobre el vigor, crecimiento y producción del "maíz" (*Zea mays*). *Agronomía* 14:17 -24.
- CATIE. 2000. Técnicas para la escarificación de semillas forestales. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=l7hnbki4BI0C&printsec=frontcover&dq=germinacion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj9r2R_vrUAhUMET4KHZR6DV4Q6AEIKzAC#v=onepage&q=germinacion&f=false [accedido 20.04.2017].
- Crozier, S.; A. Preston; J. Hurst; M. Payne; J. Mann; L. Hainly & D. Miller. 2011. "Cacao" seeds are a "Super Fruit": A comparative analysis of various fruit powders and products. *Chemistry Central Journal* 5(1):5.
- De la Cruz, E. & I. Pereira. 2009. Historias, saberes y sabores en torno al "cacao" (*Theobroma cacao* L.) en la subregión de Barlovento, Estado Miranda. *Revista Universitaria de Investigación* 10 (2): 97-120.
- Doria, J. 2001. Generalidades sobre las semillas: Su producción, Conservación y su Almacenamiento. *Cultivos Tropicales* 31: 74-85.
- Ganoza, R.; E. Normando; J. Rojas; U. Olguín; M. Zegarra, M. Moscol & R. Ganoza. 2012. Manual del cultivo de cacao blanco en Piura. Edit. Atheneas, comunicación y cultura: Perú.
- Gómez, R. 2004. Estimación de la capacidad germinativa y el vigor de las semillas de *Diomedea graveolens* Jacq.) sometidas a diferentes tratamientos y condiciones de almacenamiento. *Re-*

sum. Inf. investigac. Univ.Nac. de Colombia. 57 pp.

Hartmann, H. & D. Kester. 1980. Propagación de plantas principios y prácticas. Edit. Continental: México.

Navarro, M.; G. Febles & T. Verena. 2012. Bases conceptuales para la estimación del vigor de las semillas a través de indicadores del crecimiento y el desarrollo inicial. Pastos y Forrajes 35(3): 233-246.

Pérez, M. & A. Arguello. 1997. Determinación del vigor por tetrazolio en semillas de maní (*A. hypogaea* L.) bajo condiciones distintas de almacenamiento. Agriscientia 14:19-24.

Pérez, G. & V. Pita. 2001. Viabilidad, vigor, longevidad y conservación de las semillas. Edit. SALJEN: Madrid.

Rangel, M.; L. Córdova; A. López; A. Delgado; H. Zavaleta & A. Villegas. 2011. Tolerancia a la desecación en semillas de tres orígenes genéticos de cacao (*Theobroma cacao* L.). Revista fitotecnia mexicana 34(3): 175-182.

Rodríguez, I.; G. Adam & M. Durán. 2008. Ensayos de germinación y análisis de viabilidad y vigor de las semillas. Agricultura. 912, 836-838. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/275328970_Ensayos_de_germinacion_y_analisis_de_viabilidad_y_vigor_en_semillas [accedido 12 .04.2017].

Waizel, S.; B. Waizel; J. Magaña; P. Campos & J. San Esteban. 2012. "Cacao" y chocolate: seducción y terapéutica. Revista Anales Médicos 57(3): 236-245.

ANEXOS



Fig. 1. *Theobroma cacao* L. "cacao", fruto (mazorca).



Fig.2. *Theobroma cacao* L. "cacao", semillas en placa de Petri.



Fig. 3. *Theobroma cacao* L. “cacao”, indicador de emergencia de plántula.

