

## **Lapso de viabilidad de semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) “cacao” en condiciones de laboratorio, La Libertad, Perú**

### **Viability lapse of seeds of *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) “cacao” in conditions of laboratory, La Libertad, Peru**

***Segundo Eloy López Medina, José Mostacero León, Armando Efraín Gil Rivero, Angélica López Zavaleta & Anthony De la Cruz Castillo***

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

seellome88@gmail.com jobril1990@yahoo.com a.gr108@hotmail.com  
angylz@outlook.es jdelacruzcastillo@hotmail.com

## Resumen

*Theobroma cacao* L. (Malvaceae) "cacao" es considerado como el "alimento de los dioses" por su delicioso sabor y su gran aporte nutricional de polifenoles, teobromina y ácido genístico, contenidos en sus semillas. El "cacao" peruano ha sido catalogado como el mejor del mundo en cuanto a sabor y aroma, lo cual ha conllevado a que este producto sea valorado y cotizado internacionalmente, trayendo como consecuencia la propagación masiva de variedades comerciales, con la intención de satisfacer la demanda internacional. Ante la necesidad de conocer el periodo dentro del cual sus semillas mantienen su capacidad de germinación, se propuso como objetivo de investigación determinar el lapso de viabilidad de semillas de *T. cacao* L. "cacao". El material vegetal (semillas) provino de la campaña 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. Se aplicó un diseño estadístico completamente al azar, con 20 unidades muestrales y tres repeticiones por tratamiento. Se determinó el porcentaje de germinación y la viabilidad empleando el reactivo 2, 3, 5-trifeniltetrazolio, encontrando al tercer día un porcentaje de germinación de 81,7 % y una viabilidad de 80 %. Se concluye que el lapso de viabilidad de semillas de *T. cacao* L. "cacao" es de tres días tomados a partir de la cosecha.

**Palabras clave:** lapso de viabilidad, semillas, cacao, laboratorio.

## Abstract

*Theobroma cacao* L. (Malvaceae) "cacao" is considered as the "food of the gods" for its delicious flavor and its great nutritional contribution of polyphenols, theobromine and genistic acid, contained in their seeds. Peruvian cacao has been ranked as the best in the world in terms of flavor and aroma, which has led to this product to be valued and quoted internationally, bringing as a consequence the mass propagation of commercial varieties, with the intention of satisfying international demand. Given the need to know the period in which their seeds maintain their germination capacity, it was proposed as a research objective to determine the viability lapse of seeds of *T. cacao* L. "cacao". The plant material (seeds) came from La Merced-Laredo countryside and the experimental phase was carried out in the Biotechnology Laboratory of the Institute of Potato and Andean Crops of the National University of Trujillo. A completely randomized statistical design was applied, with 20 sample units and three repetitions per treatment. The percentage of germination and the viability were determined using reagent 2, 3, 5-triphenyltetrazolium, finding on the third day a percentage of germination of 81.7 % and a viability of 80 %. It is concluded that the lapse of viability of seeds of *T. cacao* L. "cacao" is three days starting from the harvest.

**Key words:** viability lapse, seeds, cacao, laboratory.

**Citación:** López, S.; J. Mostacero; A. Gil; A. López & A. De la Cruz. 2018. Lapso de viabilidad de semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) "cacao" en condiciones de laboratorio, La Libertad, Perú. *Arnaldoa* 25 (2): 481-488. doi: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25208>

## Introducción

*Theobroma cacao* L. (Malvaceae), es una planta arbórea que alcanza los 10 metros de altura; presenta hojas lanceoladas a casi ovaladas y de nervadura pinada. La inflorescencia es una cima decasiforme, la cual crece en el tronco y ramas del árbol. La flor es hermafrodita, mientras que el fruto es una drupa grande comúnmente llamada

mazorca, de forma elipsoidal u oval. Pudiendo contener entre 30 a 40 semillas, las cuales presentan una testa gruesa y coriácea (MINAGRI, 2016; Mostacero *et al.*, 2009; Batista, 2009).

Su centro de origen está confinado a las cuencas de los ríos Caquetá, Putumayo y Napo del río Amazonas del Perú. En esta área se han reportado la presencia

de especies silvestres y nativas. Diversos hallazgos arqueológicos han llegado a la conclusión que el consumo de las semillas de "cacao" se remonta a cuatro mil años, en los actuales territorios de Chiapas y Guatemala. Siendo el pueblo Mokaya los primeros en incluir en sus dieta el "cacao". Posteriormente, los Mayas y los Aztecas lo utilizaron con fines medicinales, religiosos y alimenticios (MINAGRI, 2016; García, 2000).

El "cacao" es considerado por muchos como el fruto de los dioses, por su elevado contenido nutricional de vitaminas, minerales, fibra y antioxidantes como los polifenoles, teobromina y ácido genístico. La teobromina es un estimulante del sistema nervioso y cardiovascular, mientras que el ácido genístico, es un antiinflamatorio y analgésico (Crozier *et al.*, 2011; Waizel *et al.*, 2012). Actualmente el "cacao" peruano es considerado producto exportable, debido a que nuestro país es el segundo productor en el mundo. Llegando a conquistar mercados internacionales, al ser catalogado como el mejor "cacao" del mundo en cuanto a sabor y aroma. Ante ello, ha aumentado la visibilidad del producto peruano en el extranjero, a través del comercio de alimentos gourmet y la estrategia de promover el consumo de productos orgánicos (MINAGRI, 2016).

La necesidad de mantener como cultivo extensivo al "cacao", aplicando el método más común de propagación mediante el empleo de semilla botánica, para la siembra de almácigos, hace imprescindible ahondar estudios respecto al comportamiento de sus semillas, consideradas como unidades de reproducción sexual por permitir perpetuar y mantener las características de las plantas madres (Rangel *et al.*, 2011; Doria, 2010; Ganoza *et al.*, 2012). En la actualidad se busca una agricultura de precisión que garantice

una buena viabilidad y vigor germinativo, el cual se ve reflejado en la germinación y nascencia de la plántula, siendo de vital importancia conocer el lapso de viabilidad de las semillas, entendiéndose como tal, al tiempo en el cual las semillas conservan su capacidad técnica para germinar utilizando como indicadores el porcentaje de germinación y la viabilidad de las mismas. El porcentaje de germinación no basta para expresar la calidad de una semilla, sino más bien es necesario complementar con otras pruebas que determinen la vitalidad y del vigor germinativo. Siendo importante considerar que estos indicadores de calidad tienden a disminuir en el tiempo, debido ya que el "cacao" presenta semillas recalcitrantes (Rodríguez *et al.*, 2008; CATIE, 2000). Considerando lo anteriormente mencionado, se propuso como objetivo de investigación determinar el lapso de viabilidad de las semillas de *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) "cacao" en condiciones de Laboratorio.

## Material y métodos

El material biológico procedió de la campiña La Merced, Laredo, Trujillo, La Libertad, Perú. La muestra botánica, de la planta de la cual procede dicho material se encuentra registrado en el Herbarium Truxillense (HUT), con el N° 59471. La fase experimental se realizó 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 210 semillas colectadas de frutos maduros, de los cuales se seleccionaron semillas de la parte media, por ser más uniformes y de mayor tamaño. Estas fueron escarificadas frotándolas con arena de textura entre 2 y 0,2 mm, seguido de continuos lavados con agua corriente. Luego de la escarificación,

se dejaron secar al ambiente sobre papel toalla. Para luego seleccionar 3 grupos de 70 semillas. De cada grupo 60 semillas se destinaron para evaluar porcentaje de germinación, mientras que las otras 10 semillas se emplearon para evaluar la viabilidad, empleando el reactivo 2, 3,5 - Trifeniltetrazolio, metodología aplicada por tres veces con un intervalo de 3 días.

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

Para la prueba de germinación se empleó 3 grupos de semillas. El primer grupo se colocó a germinar en el día 1, el grupo 2 en el día 3 y el grupo 3 en el día 6. Cada grupo estuvo constituido por 60 semillas distribuidas al azar en 3 repeticiones, con 20 unidades muestrales cada repetición, las cuales fueron colocadas en placas de Petri, previa colocación de ocho discos de papel filtro estériles humedecidos con agua destilada estéril. Las semillas fueron tratadas con fungicida Benlate (1g por litro), durante 5 minutos. Una vez instalado el experimento se contabilizó el número de semillas germinadas de cada placa Petri. El porcentaje de germinación se determinó con la siguiente formula:  $\%G = (Sg/Ss) \times 100$ , donde Sg = n° de semillas que germinan y

Ss = n° total de semillas sembradas (Gómez, 2004; Hartmann & Kester, 1980).

**Determinación de la viabilidad de las semillas de *T. cacao* L. (Malvaceae) con 2, 3,5 -Trifeniltetrazolio**

Se empleó la siguiente metodología: 1). Se remojaron en agua 10 semillas de *T. cacao* L.; 2). Se preparó 2, 3,5-Trifeniltetrazolio al 0,1% en un frasco ámbar 3). Cada Semilla del lote de las 10, fue cortada por la mitad, distribuyendo una mitad en una placa de Petri y la otra mitad en otra placa de Petri 3). Se colocaron las Placas de Petri en cámara oscura donde se agregó 10 ml de la solución de 2, 3,5-Trifeniltetrazolio, teniendo en cuenta que las semillas estén sumergidas en la solución; 4). Se dejaron 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). Esta metodología se empleó en los 3 grupos de 10 semillas cada uno, según los intervalos de días indicados.

**Resultados y discusión**

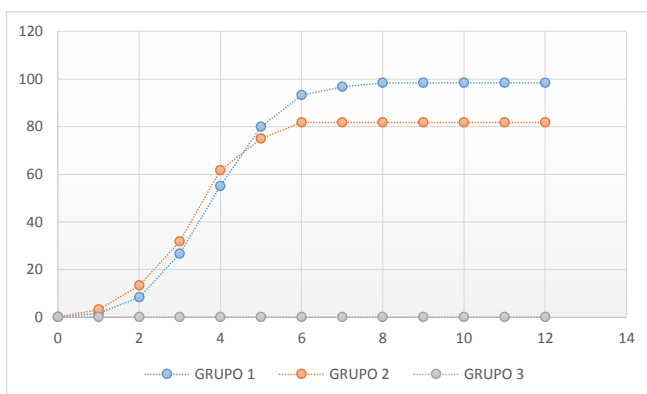


Fig. 1. Representación gráfica del porcentaje de germinación de *T. cacao* L.

**Tabla 1:** Resumen de los indicadores de viabilidad, en las semillas de *T. cacao* L

Día	PG	Viabilidad (%)		
	(%)	VEV	VBV	NV
1	98.3	50	50	0
3	81.7	40	40	10
6	0	0	20	80

Leyenda: PG: Porcentaje de germinación; VEV: Viables de elevado vigor; VBV: Viables de bajo vigor; NV: No viables.

La Fig.1 y la Tabla 1. presentan los resultados tanto del porcentaje de germinación y la viabilidad de semillas de *T. cacao* L. Se puede observar que las semillas procedente del primer día de siembra, manifiestan un elevado porcentaje de germinación (98,3%) y viabilidad, expresada en un 50% viables de elevado vigor y un 50% viables de bajo vigor, lo cual es indicador de una buena energía germinativa asociada a la rapidez y a la uniformidad en que un lote de semillas pueden germinar (Adu *et al.*, 2017; López & Gil, 2017). Por otro lado, es posible observar apartir del día 3, el porcentaje de germinación fue de un 81,7 %, lo cual es indicador de que la semilla va perdiendo su poder germinativo debido a la reducción de su capacidad de germinar (Rodríguez *et al.*, 2008).

El test de tetrazolio (Tabla 1), permitió establecer diferentes niveles de vigor y viabilidad, según la declinación de la intensidad y grado de tinción (Anexo 1 y 2). Investigaciones afirman que esta prueba es importante realizar acompañado de una prueba de germinación, ya que nos brinda información sobre las semillas que no son capaces de germinar. Permitiendo conocer si las semillas presentan dormición, si están

inhibidas o si están deterioradas, ya que el hecho de que una semilla no germine no siempre quiere decir que se trate de una semilla muerta (Hartmann & Kester, 1980; Pérez ,1997; Rodríguez *et al.*, 2008).

Si bien las semillas de alto vigor se conservan más tiempo, germinan más rápido y resisten condiciones adversas, en el caso del "cacao" es algo excepcional, pues sus semillas resultan inviables apartir del 6<sup>to</sup> día (Rodríguez *et al.*, 2008). Este resultado corrobora el conocimiento empírico de muchos agricultores, que siembran las semillas de preferencia el mismo día que abren los frutos, lo que garantiza una mejor germinación y posterior emergencia de plantulas.

### Conclusión

El lapso de viabilidad de semillas de *T. cacao* L. (Malvaceae) "cacao", es de 3 días tomados a partir de la cosecha.

### Contribución de los autores

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

preparación de informe. A. De la Cruz:  
Redacción de informe.

### Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

### Literatura citada

- Adu, M.; T. Cobbinah; A. Asare; O. Yawson & J. Taah.** 2017. Demucilaging Freshly Stored Seeds of Cacao (*Theobroma cacao* L.) Improves Seedling Emergence and Growth. *Journal of Botany*. 10 pp.
- Batista, L.** 2009. Guía Técnica el Cultivo de Cacao en la República Dominicana. Santo Domingo, República Dominicana. CEDAF. 250 pp. Disponible en: <http://www.cedaf.org.do/publicaciones/guías/download/cacao.pdf> [accedido 10.10.2017].
- CATIE.** 2000. Técnicas para la escarificación de semillas forestales. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=I7hnbki4BI0C&printsec=frontcover&dq=germinacion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKewjq9r2R\\_vUMET4KHZR6DV4Q6AEIKzAC#v=onepage&q=germinacion&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=I7hnbki4BI0C&printsec=frontcover&dq=germinacion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKewjq9r2R_vUMET4KHZR6DV4Q6AEIKzAC#v=onepage&q=germinacion&f=false)[accedido 12.11.2017].
- 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.
- 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. Olgún; M. Zegarra, M. Moscol & R. Ganoza.** 2012. Manual del cultivo de cacao blanco en Piura. Edit. Athenea, comunicación y cultura: Perú.
- García, C.** 2010. Catálogo de cultivares de Cacao del Perú. Edit. R&F Publicaciones y servicios S.A.C. Lima, Perú. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/313320173/cultivares-de-cacao-en-el-peru-pdf>
- Gómez, R.** 2004. Estimación de la capacidad germinativa y el vigor de las semillas de Diomate (*Astrotrium graveolens* Jacq.) Sometidas a diferentes tratamientos y condiciones de almacenamiento. *Resum. Inf. investigac. Univ.Nac. de Colombia*.
- Hartmann, H. & D. Kester.**1980. Propagación de plantas principios y prácticas. Edit. Continental: México.
- 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>[accedido 09.12.2017].
- MINAGRI.** 2016. Estudio del cacao en el Perú y en el mundo. Dirección de Estudios Económicos eInformación Agraria.Primer Edición. Disponible en: [http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:GC30WFeu\\_JMJ:repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/handle/MINAGRI/478/cacao.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy+%&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:GC30WFeu_JMJ:repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/handle/MINAGRI/478/cacao.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy+%&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=pe)
- Mostacero, L.; Mejia, F. & T. Gamarra.** 2009. Fane Rogamas del Perú. GRAFICART (Eds.). Trujillo, Perú.1331p.
- 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](https://www.researchgate.net/publication/275328970_Ensayos_de_germinacion_y_analisis_de_viabilidad_y_vigor_en_semillas)[accedido 10.12.2017].
- 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

### Anexo 1.



**Fig. 2.** Semillas viables de elevado vigor de *T. cacao* L., en el 1<sup>er</sup> día de evaluación con 2, 3,5 -Trifeniltetrazolio

### Anexo 2.



**Fig. 3.** . Semillas inviables de *T. cacao* L., en el 6to día de evaluación con 2, 3,5 - Trifeniltetrazolio

