

# Almacenamiento y tolerancia a la desecación en semillas de la arbórea tropical *Clathrotropis brunnea* Amshoff de Colombia

Seed storage and desiccation tolerance of the tropical tree *Clathrotropis brunnea* Amshoff from Colombia

Andrés Iván Prato  <sup>1\*</sup>, Luís Felipe Daibes  <sup>2</sup>, Jairo Rojas-Molina  <sup>3</sup>

- Received: 12/06/2024
- Accepted: 24/04/2025
- Online Publishing: 20/08/2025

Citación: Prato AI, Daibes LF, Rojas-Molina J. 2025. Almacenamiento y tolerancia a la desecación en semillas de la arbórea tropical *Clathrotropis brunnea* Amshoff de Colombia. Caldasia 47:e113766. doi: <https://doi.org/10.15446/caldasia.v47.113766>

## RESUMEN

*Clathrotropis brunnea* (sapán o *blackheart sapan*) es una leguminosa arbórea endémica del bosque húmedo tropical de Colombia, con atributos farmacológicos y maderables. Sin embargo, la propagación de la especie mediante semillas presenta desafíos debido a su comportamiento potencialmente recalcitrante. El objetivo de este estudio fue evaluar la sensibilidad a la desecación de semillas de *C. brunnea* como método para prolongar su viabilidad. Se colectaron semillas de *C. brunnea* en un área de la cuenca del Magdalena Medio (Santander, Colombia) y, en condiciones de vivero (4 x 15 semillas por tratamiento), se realizaron tres experimentos para evaluar la emergencia y el vigor de plántulas según: 1) métodos de secado de semillas (rápido o natural), 2) masa de semilla x contenido de humedad (CH), y 3) semillas secadas (CH = 30,8 %) y almacenadas en ambiente refrigerado de 11 °C por 21 y 42 días. Independiente del método de secado, no hubo pérdida de viabilidad de las semillas cuando el CH se redujo de 44,5 hasta 23,4 % (promedio = 63 % de emergencia), pero la desecación resultó letal para el CH alrededor de 6 %. El CH de 15,7 % redujo la emergencia para semillas con masa menor a 7,6 g. La viabilidad de las semillas fue nula cuando se secaron y almacenaron durante 21 días. Debido a la rápida pérdida del CH y baja tolerancia a la desecación, se sugiere una selección previa de semillas frescas de *C. brunnea* por masa para incrementar la emergencia.

**Keywords:** *blackheart sapan*, conservación *ex situ*, semilla recalcitrante, vivero

<sup>1</sup> Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia), Centro de Investigación La Suiza, Km 32 vía al mar 687527, Rionegro, Santander, Colombia / Universidade Federal de Viçosa Programa de Pos graduação em Ciência Florestal, Avenida Purdue, s/nº, Campus Universitário, Edif. Reinaldo de Jesus Araújo 36.570-900, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. [aprato@agrosavia.co](mailto:aprato@agrosavia.co)

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Rio Claro, Departamento de Biodiversidade, Avenida 24A-1515 13506900, Rio Claro, São Paulo, Brasil. [luipedaibes@gmail.com](mailto:luipedaibes@gmail.com)

<sup>3</sup> Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia), Centro de Investigación La Suiza, Km 32 vía al mar 687527, Rionegro, Santander, Colombia. [jrojas@agrosavia.co](mailto:jrojas@agrosavia.co)

\* Autor para correspondencia



## ABSTRACT

*Clathrotropis brunnea* (sapán or blackheart sapan) is a tree legume endemic to the tropical rainforest of Colombia, with pharmacological and timber attributes. However, propagating the species through seeds presents challenges due to its potentially recalcitrant behavior. This study aimed to evaluate the desiccation sensitivity of fresh *C. brunnea* seeds as a method to prolong their viability and conservation. Seeds of *C. brunnea* were collected from an area of the Magdalena Medio basin (Santander, Colombia) and, under nursery conditions (4 x 15 seeds per treatment), three independent experiments were conducted to evaluate seedling emergence and vigor according to: 1) seed drying methods (rapid or natural), 2) seed mass x seed moisture content (MC) and 3) dried seeds (MC = 30,8 %) and stored in a refrigerator at 11 °C for 21 and 42 days. Regardless of the drying method, there was no loss of seed viability when MC was reduced from 44,4 to 23,4 % (average emergence = 63 %), but desiccation was lethal under a MC around 6 %. The MC of 15,7 % decreased the emergence of seeds weighing less than 7,2 g. Seed viability was null when they were dried and stored for 21 days. Due to the rapid loss of MC and low desiccation tolerance, a preliminary selection of fresh *C. brunnea* seeds by mass is suggested to enhance emergence.

**Keywords:** blackheart sapan, *ex situ* conservation, nursery, recalcitrant seed

## INTRODUCCIÓN

La tolerancia a la desecación de las semillas es clave para determinar el comportamiento durante la conservación bajo diferentes condiciones. De esta manera, el mejor conocimiento sobre el comportamiento de las semillas nativas contribuye a mejorar los proyectos de restauración ecológica y la propia conservación en bancos de germoplasma, ya sea *in situ* (en su entorno natural) o *ex situ* (en condiciones controladas) (Kai et al. 2023). Así, se han definido tres grupos de acuerdo con el contenido de humedad (CH) crítico en que la viabilidad disminuye al 50 % (Hong y Ellis 1996). Las semillas recalcitrantes, o sensibles a la desecación, presentan un CH crítico entre 20 y 25 % y, frecuentemente, las semillas de especies del bosque tropical no soportan el almacenamiento a una temperatura inferior a 15 °C (Becerra-Vázquez et al. 2018, Athugala et al. 2021). Por otro lado, las semillas ortodoxas son tolerantes a la desecación, con un CH crítico inferior al 5 %, siendo posible almacenarlas por períodos prolongados y temperaturas debajo de 0 °C. El tercer grupo presenta un comportamiento intermedio.

El CH crítico puede ser influenciado por la tasa y método de desecación (Prajith y Anilkumar 2017, Marques et al. 2018). Un método para prolongar la viabilidad es reducir el CH inicial hasta un nivel que no resulte perjudicial para la viabilidad de las semillas y promueva una reducción del

metabolismo, incidencia de plagas o enfermedades (Prajith y Anilkumar 2017, Freire et al. 2021). Otro desafío en el proceso de propagación y conservación de las semillas es el cambio climático global, que amenaza la conservación de estas especies sensibles a la desecación, especialmente en los bosques tropicales (Marques et al. 2018, Becerra-Vázquez et al. 2020).

La región andina, una de las seis regiones naturales en las que se divide Colombia, ha registrado, desde el proceso de colonización española durante el siglo XVI, altas tasas de disminución de la cobertura forestal nativa, ocasionando la pérdida de biodiversidad y una intensa degradación del suelo (Armenteras et al. 2011, UDCA y IDEAM 2015). Además de la expansión de los asentamientos humanos, los principales factores históricos que han propiciado este fenómeno son la agricultura y la ganadería (Vanegas-Cubillos et al. 2022). Específicamente, en la cuenca del río Magdalena, entre la cordillera Central y Oriental de los Andes colombianos, la cobertura forestal original (estimada en 66 % en 1980) disminuyó al 13 % en 2010 (Negret et al. 2019). Esta cuenca puede ser considerada uno de las más deforestadas del mundo (Restrepo y Escobar 2018).

El género *Clathrotropis* (Benth.) Harms lo conforman siete especies con ocurrencia en las islas de Trinidad y Tobago, occidente y norte de Sudamérica - cuenca del Amazonas,

Escudo Guayanés y la región del valle del río Magdalena-Chocó – pero todas son típicas del bosque húmedo tropical. Algunas especies tienen importancia etnobotánica (Sagen *et al.* 2002; Gregório *et al.* 2024). *Clathrotropis brunnea* Amshoff (sapán o *blackheart sapan*) es una leguminosa endémica de las tierras bajas (0 a 1200 m de altitud) de la cuenca de los ríos Cauca y Magdalena en la región Andina de Colombia (Amshoff 1968, Roa-Fuentes *et al.* 2022). Su madera es usada para la construcción y la ebanistería por las comunidades locales, mientras que el aserrín tiene potencial farmacológico contra la leishmaniasis y tripanosomiasis (Arévalo *et al.* 2019, Torres *et al.* 2020). Aunque el estado de conservación de *C. brunnea* no ha sido oficialmente evaluado (IUCN 2024), en Colombia la especie se encuentra clasificada en la categoría de amenazada (Cárdenas y Salinas 2007).

Estudios previos identificaron que la viabilidad de las semillas de *C. brunnea* se redujo del 82 % hasta entre 1 y 38 % dependiendo del tipo de embalaje o ambiente de almacenamiento luego de tres semanas, lo que fue acompañada por una progresiva pérdida del CH (Prato *et al.* 2021). Esta respuesta sugiere un comportamiento recalcitrante de las semillas. Sin embargo, la desecación de las semillas con un CH inicial 47 % hasta 25 % para luego ser inmediatamente sembradas, no afectó la emergencia de plántulas de *C. brunnea* en vivero. Además, las semillas de mayor masa incrementaron la emergencia (Daibes *et al.* 2023). En este último experimento no se evaluó la viabilidad con niveles de CH inferiores a este límite.

Los individuos adultos de *C. brunnea* se encuentran probablemente en mayor medida en áreas de relictos de bosque (Roa-Fuentes *et al.* 2022). El tiempo transcurrido entre la colecta de semillas, beneficiamiento, transporte y el recibimiento del productor puede llevar varios días o más, si el acceso a las áreas de colecta es difícil. En términos prácticos, un periodo de tiempo tan corto para la siembra, sin que se reduzca la viabilidad de las semillas de *C. brunnea*, dificulta la producción masiva de plántulas. La desecación de las semillas en condiciones naturales (sombra o sol) puede resultar inviable en ambientes muy húmedos, como ocurre en la subregión del Magdalena Medio. Al mismo tiempo, el método rápido de desecación que se proponga debería ser simple de conducir, sin equipos e infraestructura costosa, para que sea adoptado por el productor promedio. Considerando lo anterior, el objetivo del

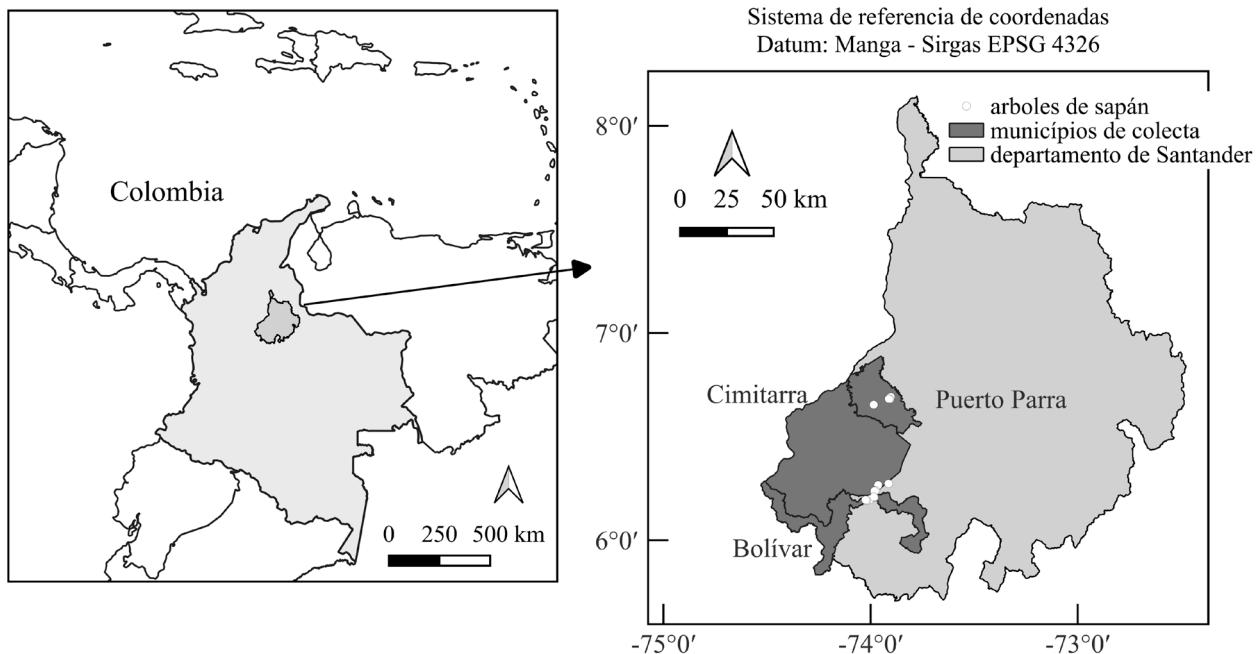
presente estudio fue evaluar la tolerancia a la desecación de las semillas de *C. brunnea* según el rango de masa de semilla y método de desecación, como una posible estrategia para prolongar su conservación en el tiempo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de colecta y material vegetal:** En marzo y abril de 2022 se colectaron frutos de las copas de los árboles de *C. brunnea*, quince y cinco individuos, respectivamente (promedio  $\pm$  desviación estándar de altura = 12,8  $\pm$  3,8 m y diámetro a la altura del pecho = 28,4  $\pm$  16,1 cm), los cuales se localizaban en área rural de los municipios de Cimitarra, Bolívar y Puerto Parra. Esta área abarcó unos 600 km<sup>2</sup> y hace parte de la subregión del Valle del Magdalena Medio (región Andina), departamento de Santander, oriente de Colombia, con una altitud < 300 m (Fig. 1). La vegetación corresponde al bosque tropical húmedo en el sistema de clasificación de zonas de vida de Holdridge *et al.* (1971). El régimen bimodal de las precipitaciones y registros históricos (1993-2021) indican promedios de 27,5  $\pm$  0,4 °C y 2810  $\pm$  539 mm año<sup>-1</sup>. Los meses más húmedos son marzo a abril y septiembre a noviembre (Material suplementario, Fig. S1; IDEAM, 2022). Los criterios de madurez de los frutos colectados se basaron en el seguimiento fenológico iniciado un año antes, la dehiscencia natural y cambios en el color del fruto de verde para café oscuro.

Los frutos colectados en campo fueron transportados al día siguiente al Centro de Investigación La Suiza de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia) localizada en Rionegro, Santander (7° 22' 10" Norte y 73° 10' 39" Oeste; 550 m de altitud). El material vegetal se mezcló para componer una muestra compuesta que se mantuvo en un lugar aireado hasta por cuatro días (27,9  $\pm$  9,7 °C y 67,7  $\pm$  19,4 % de humedad relativa). A continuación, se realizó la extracción manual de las semillas que se dejaron en frascos plásticos en condición de laboratorio (19,7  $\pm$  1,2 °C y 57,5  $\pm$  4,2 % de humedad relativa) hasta la siembra en vivero.

**Biometría de frutos y semillas:** Para la colecta de marzo de 2022 se tomaron 100 frutos al azar midiéndose la masa fresca con una balanza analítica (precisión= 0,01 g) y el largo desde la base al ápice, ancho y grosor, en la parte mediana del fruto con un calibrador digital (precisión= 0,01 cm). Se contó el número de semillas viables por fruto



**Figura 1.** Localización geográfica de los árboles donde fueron colectados los frutos de *Clathrotropis brunnea*.

(descartando las vanas o con síntomas visibles de ataques de plagas) y se promedió el largo, ancho y grosor de todas contenidas para obtener un solo valor por fruto. El número de semillas por kilo y la masa de 1000 semillas se determinó por el promedio de ocho repeticiones de 100 semillas.

**Experimento 1. Métodos de secado de semilla:** Se usaron semillas frescas de *C. brunnea* (CH inicial= 44,5 %) para evaluar dos métodos de secado: lento o en condición ambiental de laboratorio hasta un CH definido de 25 % y rápido o en desecador con sílica gel hasta un CH definido de 10 %. En ambos métodos de secado, el lote de semilla fue pesado sucesivamente en balanza con precisión de 0,01 g en intervalos de tres a cuatro horas hasta alcanzar el CH definido (25 % o 10 %), según la ecuación de Hong y Ellis (1996). Se adoptó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, en arreglo factorial  $2 \times 2 + 1$  (dos métodos de secado x dos niveles de CH + un tratamiento control o sin secado). Se evaluó el porcentaje de plántulas emergidas, tiempo medio de emergencia e índice de velocidad de emergencia.

**Experimento 2. Masa de semilla x contenido de humedad de semilla:** A una muestra seleccionada al azar de 100 semillas frescas se le determinó de forma indi-

vidual su masa, longitud, ancho y grosor. De acuerdo con la distribución de frecuencias, se seleccionaron del lote cuatro clases de acuerdo a la masa de semilla: M1 = < 5,44 g (valores promedios = 4,4 cm longitud, 2,7 cm ancho y 0,6 cm grosor); M2 = 5,45 – 7,62 g (valores promedios = 4,5 cm longitud, 2,9 cm ancho y 0,8 cm grosor); M3 = 7,63 – 9,20 g (valores promedios = 4,6 cm longitud, 3,0 cm ancho y 0,9 cm grosor) y M4 = > 9,21 g (valores promedios = 4,7 cm longitud, 3,2 cm ancho y 1,2 cm grosor). Inmediatamente, la mitad de las semillas frescas de cada clase se secaron utilizando el método de secado lento hasta un rango de CH definido de 25 %.

Se adoptó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, en arreglo factorial  $4 \times 2$  (cuatro rangos de masa de semilla x dos niveles de CH). Se evaluó el porcentaje de plántulas emergidas, tiempo medio de emergencia e índice de velocidad de emergencia. La conductividad eléctrica de las semillas fue estimada usando tres repeticiones de cinco semillas al azar siendo pesadas con balanza de precisión (0,01 g) y luego colocadas en recipientes de vidrio con 250 mL de agua desionizada. Después de 24 horas a temperatura de laboratorio, la solución fue homogeneizada y la conductividad eléctrica se midió usando un conductímetro (Oakton PC 450). Los resultados se expresaron en  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

**Experimento 3. Viabilidad de semillas en el almacenamiento:** Considerando los resultados de los dos experimentos anteriores, se realizó una selección de semillas frescas con masa individual  $> 7$  g, las cuales se secaron con sílica gel hasta un valor de CH definido de entre 25 y 30 %. Posteriormente, las semillas se almacenaron hasta por 42 días en cámara fría ( $11,0 \pm 0,6$  °C y  $62,7 \pm 8,1$  % de humedad relativa) usando bolsas de papel kraft de 1 kg de capacidad y fungicida Captan (2 g kg<sup>-1</sup> semilla). Se adoptó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones y tres períodos de almacenamiento: testigo o sin almacenamiento, 21 y 42 días. Se evaluó el porcentaje de plántulas emergidas, tiempo medio de emergencia e índice de velocidad de emergencia. El CH al final de cada tratamiento de almacenamiento fue verificado mediante el secado de las semillas en horno a 105 °C por 24 horas (tres repeticiones de cinco semillas cortadas a la mitad).

**Secado de las semillas:** Despues del secado de las semillas, el CH que había sido definido teóricamente en los tres experimentos fue verificado en horno como explicado previamente. En el caso de los tratamientos donde se usó el secado rápido (Experimento 1 y 3), las semillas fueron distribuidas entre dos capas de sílica gel activada (granos de 1 a 3 mm) que fue reemplazada cuando perdió el color azul. La relación de sílica / semilla fue 2:1 (masa / masa). Entonces, el lote de semilla fue pesado cada tres a cuatro horas hasta alcanzar el CH definido según la ecuación de Hong y Ellis (1996).

Condiciones de propagación y variables evaluadas: Los tres experimentos fueron evaluados en vivero del C.I La Suiza con cobertura plástica antitérmica del 50 % de sombreado y riego automatizado por microaspersión. Las semillas se dispusieron en bandejas portatubetes cónicas

(8 cm diámetro x 24 cm altura, 700 cm<sup>3</sup>) que contenían arena. El factor de bloqueo fue la ubicación de las semillas por gradiente de luz. Durante el periodo experimental se registraron promedios de  $25,3 \pm 5,1$  °C y  $92,5 \pm 15$  % de humedad relativa. A cada dos días se registró el número de plántulas emergidas, es decir, cuando el epicótilo fue visible en la superficie del sustrato. Los experimentos finalizaron hasta constatar que el proceso había cesado luego de dos semanas sin emergencia y el cual ocurrió a los 60 días después de siembra. Todas las semillas que no germinaron estaban en proceso de descomposición (embrión muerto). El tiempo medio de emergencia (TME) y porcentaje de plántulas emergidas fueron calculadas través de las fórmulas de Ranal y Santana (2006). El índice de velocidad de emergencia (IVE) fue calculado según la fórmula de Maguire (1962).

**Análisis de datos:** Se usó la estadística descriptiva (promedio, desviación estándar, valor máximo, valor mínimo y coeficiente de variación) y correlación lineal de Spearman para analizar los datos biométricos de frutos y semillas. En los experimentos de emergencia de plántulas, las variables fueron sometidas a análisis de varianza de una y dos vías para el Experimento 1 y 2, respectivamente. Debido a que la emergencia de plántulas fue cero en los tratamientos de almacenamiento, no se realizó análisis estadístico en el Experimento 3. Algunas variables no atendieron los supuestos de normalidad (prueba Shapiro – Wilk) y homocedasticidad de las varianzas (prueba Levene) y se procedió al análisis no paramétrico Kruskall – Wallis. Para la comparación de medias entre los tratamientos se usó la prueba Tukey (datos paramétricos) o la prueba Dunn (datos no paramétricos). Todos los análisis adoptaron un nivel de significancia del 5 % y se realizaron en el programa estadístico SAS 9.4. No fue posible aumentar el número de

**Tabla 1.** Promedio ± desviación estándar (de), mínimo (min), máximo (max) y coeficiente de variación (CV) de la masa fresca de fruto (MF), largo de fruto (LF), ancho de fruto (AF), grosor de fruto (GF), número de semilla por fruto (NS), masa fresca de semilla (MS), largo de semilla (LS), ancho de semilla (AS) y grosor de semilla (GS), en la arbórea *Clathrotropis brunnea*.

Parámetro	MF (g)	LF (cm)	AF (cm)	GF	NS	MS (g)	LS (cm)	AS (cm)	GS
promedio ± de	$85,4 \pm 24$	$19,1 \pm 2,5$	$7,1 \pm 0,9$	$1,5 \pm 0,3$	$1,4 \pm 0,5$	$6,9 \pm 2,4$	$4,5 \pm 0,5$	$2,9 \pm 0,3$	$0,8 \pm 0,2$
Min	32,2	13,2	4,9	0,7	1	3,3	3,4	2,0	0,4
Max	125,7	23,8	8,8	1,9	2	13,2	5,7	3,7	1,2
CV (%)	28,2	13,2	12,5	19,6	35,2	35,1	27,7	27,8	33,9

**Tabla 2.** Matriz de correlación de Spearman (valor  $\rho$ ) para las variables masa fresca de fruto (MF), largo de fruto (LF), ancho de fruto (AF), grosor de fruto (GF), número de semilla por fruto (NS), masa fresca de semilla (MS), largo de semilla (LS), ancho de semilla (AS) y grosor de semilla (GS) para la arbórea *Clathrotropis brunnea*.

	MF	LF	AF	GF	NS	MS	LS	AS	GS
MF	-	<b>0,87 ***</b>	0,56 ***	0,56 **	0,00	0,08	0,07	0,00	0,04
LF		-	<b>0,47***</b>	<b>0,45***</b>	-0,07	0,05	0,12	-0,01	-0,01
AF			-	<b>0,39**</b>	-0,18	0,00	0,06	0,10	-0,12
GF				-	0,01	0,07	0,06	0,00	0,08
NS					-	-0,06	-0,15	-0,20*	0,04
MS						-	<b>0,65 ***</b>	<b>0,54 ***</b>	<b>0,85 ***</b>
LS							-	<b>0,53 ***</b>	0,29 *
AS								-	0,28 *
GS									-

\*, \*\*, \*\*\* significativo a  $P > 0,05$ ,  $P < 0,01$  y  $P < 0,01$ , respectivamente. En negrita las correlaciones fuertes ( $\rho > 0,80$ ).

repeticiones o tratamientos (por ejemplo, niveles de desecación) por la baja densidad de árboles semilleros que sobreviven en el área de estudio y que es común al estudiar especies silvestres o raras (Chandima *et al.* 2024). Al tratarse de una especie amenazada la cantidad de semilla colectada para propósitos de investigación fue restringida y se decidió limitar la colecta hasta un máximo de 70 % de las vainas maduras observadas por árbol.

## RESULTADOS

**Biometría de frutos y semillas:** Se constató mayor variación de las variables biométricas de los frutos que de las semillas de *C. brunnea*, 18,4 % versus 31,7 %. La longitud y grosor del fruto fueron las más uniformes con un coeficiente de variación menor del 13 % (Tabla 1). Los frutos mostraron valores promedios en la masa fresca individual, longitud, ancho y grosor de 85,4 g, 19,1 cm, 7,1 cm y 1,5 cm, respectivamente, mientras que las semillas fueron de 6,9 g, 4,4 cm, 2,9 cm y 0,8 cm, respectivamente. Cada fruto tuvo entre una a dos semillas por fruto (promedio = 1,4 semillas) y por kilo se determinaron 143 semillas. El peso de 1000 semillas fue de 7014 g.

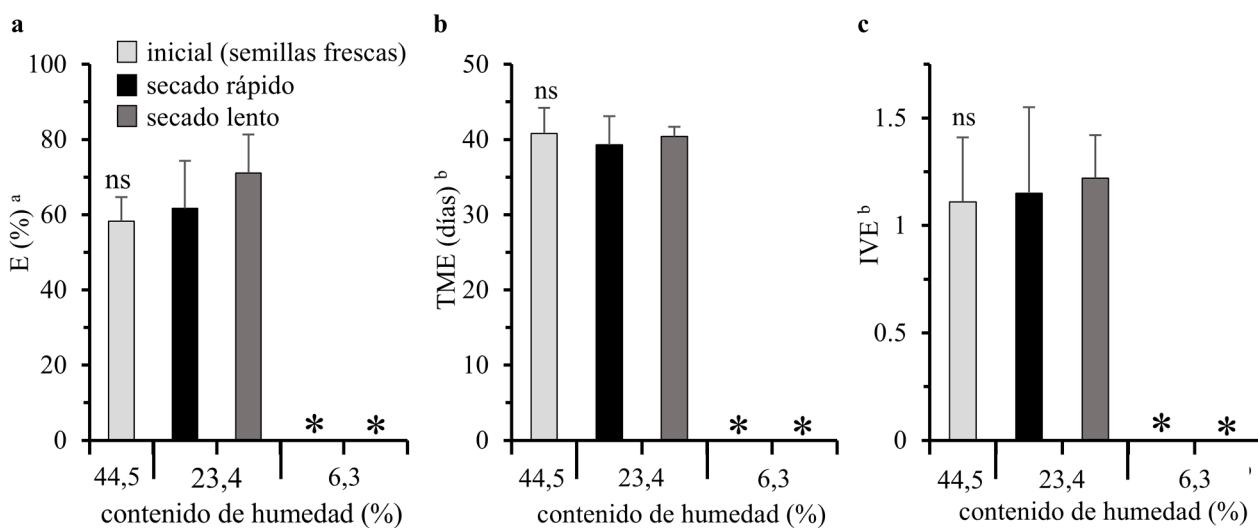
Las variables biométricas de semillas se correlacionaron positiva y significativamente entre sí y lo mismo ocurrió con las variables de los frutos. El largo del fruto con la masa del fruto ( $R^2 = 0,87$ ) y el grosor de la semilla con la masa de semilla ( $R^2 = 0,85$ ) fueron las correlaciones más

fuertes. No hubo dependencia ( $P > 0,05$ ) entre las dimensiones de frutos y semillas. El número de semilla por fruto no se correlacionó con ninguna variable (Tabla 2).

**Experimento 1. Métodos de secado de semilla:** Se verificó con el secado en horno de las semillas que el nivel de CH definido teóricamente de 25 % fue 23,4 % y de 10 % fue 6,3 %. El tiempo necesario para alcanzar el CH de 23,4 % desde un CH inicial (semillas frescas) de 44,5 % fue de 52 horas en la condición natural y con la sílica gel fue de 30 horas. El CH de 6,3 % se alcanzó a los 32 días en ambos métodos. El CH de 23,4 % no afectó la emergencia de plántulas ( $P > 0,05$ ) independiente del método de secado alcanzando un promedio de 63,7 %. Cuando el secado de las semillas se redujo a un CH de 6,3 % resultó letal en ambos métodos. El TME (promedio = 40,2 días) y IVE (promedio = 1,16) fueron similares ( $P > 0,05$ ) entre los tratamientos antes y después del secado (Fig. 2 y Material Suplementario, Tabla S1).

**Experimento 2. Masa de semilla x contenido de humedad de semilla:** Inicialmente, el CH de las semillas frescas y la emergencia de plántulas de *C. brunnea* fueron similares ( $P > 0,05$ ) entre los rangos de la masa de semilla M1 (< 5,44 g) y M2 (5,45 – 7,62 g), con un promedio de 46,8 y 49,1 %, respectivamente (Fig. 3a).

Los rangos M3 (7,63 – 9,20 g) y M4 (> 9,21 g) presentaron valores de CH inferiores (promedio = 38,1 %;  $P > 0,05$ ) y de



**Figura 2.** Promedios de (a) emergencia de plántula - E, (b) tiempo medio de emergencia - TME e (c), índice de velocidad de emergencia - IVE de la arbórea *Clathrotropis brunnea* según el contenido de humedad de semilla y método de secado. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) de acuerdo con la prueba Dunn (a datos no paramétricos) y Tukey (b datos paramétricos). \* fue excluido del análisis estadístico porque la emergencia de plántula fue cero en los tratamientos. Líneas sobre las barras indican la desviación estándar. ns – no significativo.

emergencia de plántulas superiores (promedio= 84,2 %;  $P > 0,05$ ) frente a los rangos M1 y M2 (Fig. 3b). Después del secado de las semillas, la CH disminuyó en todos los rangos de masa de semilla, sin embargo, se verificó un menor valor en los rangos M1 y M2 (promedio= 15,7 %;  $P > 0,05$ ) que en los rangos M3 y M4 (promedio= 23,4 %;  $P > 0,05$ ). La emergencia de plántulas continúo siendo superior en los rangos M3 y M4 (promedio= 80 %;  $P > 0,05$ ) y fueron similares a los valores observados antes del secado (Material Suplementario, Tabla S2). En los rangos M2 y M1 cayó a 13 y 0 %, respectivamente, muy por debajo de lo registrado con las semillas frescas en estos mismos tratamientos (emergencia entre 43 e 55 %; Fig. 3a y Fig. 3b).

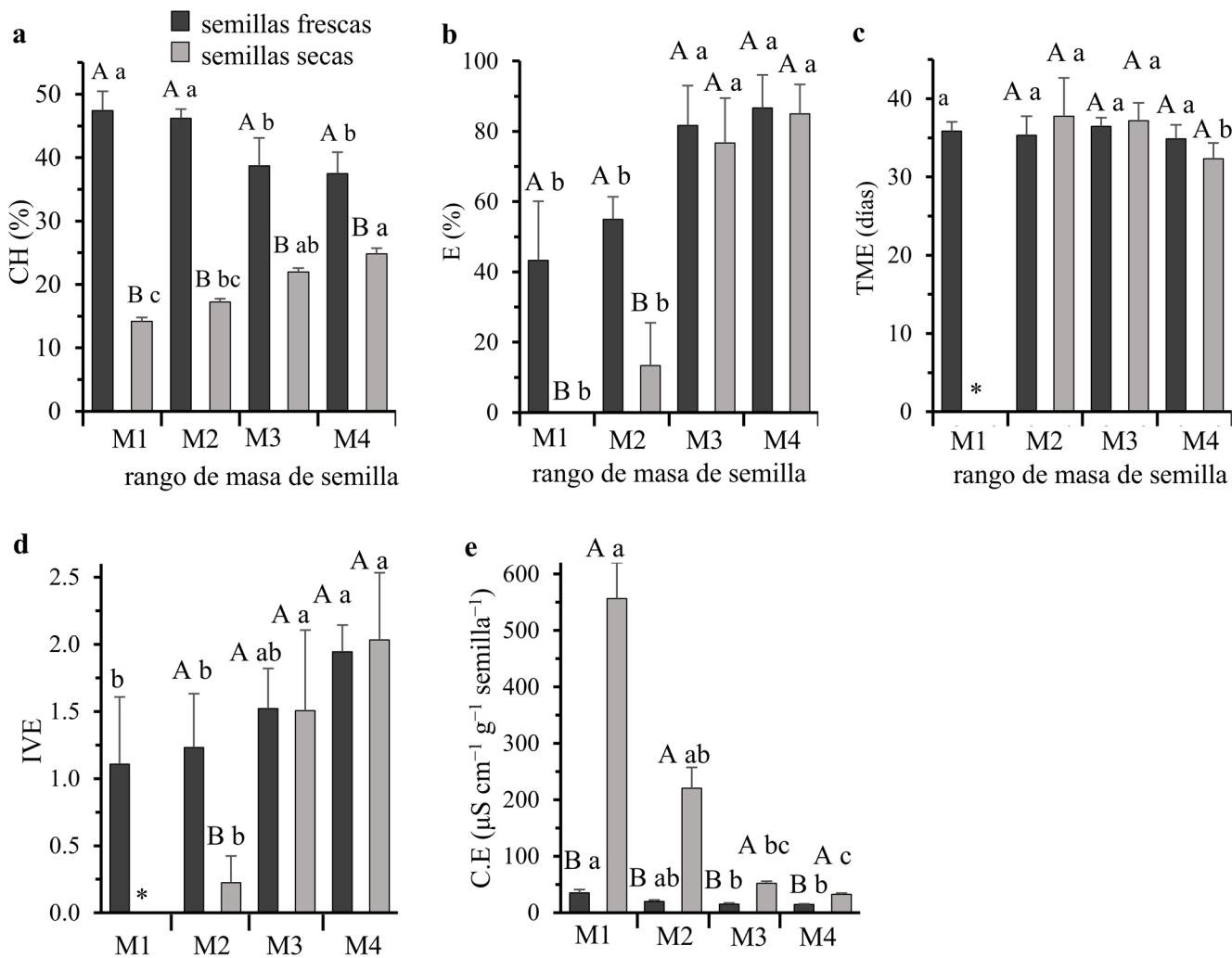
El TME permaneció constante (promedio= 35,6 días;  $P > 0,05$ ) entre los rangos de masa de las semillas frescas, pero luego del secado hubo una reducción significativa de hasta cinco días para el rango M4 en relación con M2, 37 días versus 32 días. No hubo efecto significativo del secado entre el mismo rango de masa de semilla (Fig. 3c). Antes del secado, el IVE fue superior en el rango M4 (1,94) con respecto a los rangos M2 y M1 (promedio= 1,17;  $P > 0,05$ ). Despues del secado, el valor de M4 continúo siendo superior a M2, que fue también el único rango que disminuyó su vigor (Fig. 3d). La conductividad eléctrica de las semillas frescas en los rangos M1 y M2 fueron similares entre

sí (promedio=  $P > 0,05$ ), siendo M1 superior a los rangos M3 y M4 (promedio=  $14,8 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1} \text{semilla}^{-1}$ ;  $P > 0,05$ ). Cuando se analiza el efecto del secado entre cada rango, se constató un incremento de 13 a 15 veces frente a los valores de las semillas frescas en los rangos M1 y M2 ( $252$  y  $556 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1} \text{semilla}^{-1}$ , respectivamente), superior al aumento observado con los rangos M3 y M4 ( $32$  y  $52 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1} \text{semilla}^{-1}$ , respectivamente; Fig. 3e).

**Experimento 3. Viabilidad de semillas posterior a la conservación.** Las semillas frescas (CH inicial = 49 %) luego del secado alcanzaron un CH de 30,8 % con una emergencia de plántulas de  $73,3 \pm 5,4$  %. Independiente del periodo de tiempo, la viabilidad de las semillas posterior a la conservación resultó en la mortalidad de las semillas que registraron a los 21 y 42 días un CH de 16,6 y 9,1 %, respectivamente (datos no mostrados).

## DISCUSIÓN

Hong y Ellis (1996) sugirieron que especies cuya masa de 1000 semillas sea mayor a 1000 g y entre 30 y 70 % de CH al momento de la dispersión probablemente serán sensibles a la desecación. Las semillas frescas de *C. brunnea* en los tres experimentos cumplieron estas dos condiciones ( $7014$  g; entre 38 y 49 % de CH, respectivamente). Ade-



**Figura 3.** Promedios de: (a) contenido de humedad de semilla - CH antes (semillas frescas) y después (semillas secas) del secado con sílica gel, (b) emergencia de plántula - E, (c) tiempo medio de emergencia - TME, (d) índice de velocidad de emergencia - IVE y (e) conductividad eléctrica de semillas de la arbórea *Clathrotropis brunnea*, según la clase de masa de semilla y contenido de humedad de semilla. Para cada rango de masa (M1 < 5,44 g, M2= 5,45 – 7,62 g, M3= 7,63 – 9,20 g y M4 > 9,21 g) y CH, letras mayúsculas y minúsculas diferentes, respectivamente, indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) según la prueba Dunn. \* fue excluido del análisis estadístico porque la emergencia fue cero. Líneas sobre las barras indican la desviación estándar.

más, el menor vigor (TME y IVE) y emergencia (< 50 %) después de los tratamientos de desecación (Experimento uno y dos) sugieren el comportamiento recalcitrante de las semillas. Esta misma tendencia se observó en los tratamientos de almacenamiento (Experimento tres) que fue también acompañado por una reducción del CH a través del tiempo. Los valores iniciales del CH encontrados son cercanos a los reportados en otras especies tropicales con semillas recalcitrantes también grandes y de alto CH como *C. brunnea* (Bonjovani y Barbedo 2014, Becerra-Vázquez *et al.* 2018). Sin embargo, que las semillas de *C. brunnea*

sean recalcitrantes no necesariamente se relaciona por su ocurrencia en los bosques tropicales de Colombia. Otros estudios han demostrado que el hábitat no siempre predice el comportamiento de las semillas porque pueden existir diferencias adaptativas entre y dentro de especies para un mismo hábitat (Bonjovani y Barbedo 2014, Becerra-Vázquez *et al.* 2018, Athugala *et al.* 2021, Chandima *et al.* 2024).

El histórico de precipitación anual para el área de colecta muestra que no existen dos meses con menos de 60 mm y durante el tiempo de desarrollo de las semillas del año

2022 fue un 31 % más lluvioso, 3699 mm versus 2822 mm (Fig. 1). En otros estudios publicados (Prato *et al.* 2021, Daibes *et al.* 2023), la colecta de semillas de *C. brunnea* realizadas en el año 2018 (diciembre), 2019 (enero y abril) y 2020 (octubre) para la misma área del Magdalena Medio, la precipitación anual fue entre 14 % menos lluviosa y 17 % más lluviosa. En esos estudios, el CH de las semillas frescas fue entre 38 y 52,7 % y la emergencia se mantuvo alta, entre 71 y 86 %. Es decir, si bien hubo algunas variaciones de la precipitación anual entre el 2018 y 2022, se trata de un hábitat históricamente muy húmedo. Estas condiciones no expondrían las semillas de *C. brunnea* a periodos de sequía intensa o prolongada que ejerzan una presión natural de déficit hídrico para la germinación en prácticamente cualquier época del año.

Los estudios publicados hasta ahora sugieren que no parece existir una relación entre la época del año en que las semillas de *C. brunnea* fueron colectadas y su comportamiento recalcitrante. Aun así, el grado de sensibilidad podría variar entre otras áreas geográficas de ocurrencia de *C. brunnea*, como fue demostrado con otras especies tropicales (Marques *et al.* 2018, Kai *et al.* 2023). En un estudio con 42 especies arbóreas y arbustos nativos del bosque tropical de Sri Lanka, 67 % de ellas presentó semillas recalcitrantes y fue atribuido al ambiente super húmedo con largos periodos de humedad y a la dispersión de las semillas en el pico de los periodos húmedos del año (Chandima *et al.* 2024). Cuando se comparó la tolerancia a la desecación de semillas de *Copaifera langsdorffii* (Jacq.) L. provenientes de dos localidades del bioma Cerrado en Brasil, el área con clima más cálido y seco produjo semillas con mayor grado de tolerancia (Pereira *et al.* 2017). En general, especies más restringidas en su distribución tienden a ser más sensibles a la desecación en ambientes tropicales (Rodrigues *et al.* 2022). Esta sería una de las siguientes líneas de estudio de *C. brunnea* para evaluar los posibles efectos del cambio climático (por ejemplo, reducción de las lluvias) en las áreas de distribución natural.

Podría suponerse que el menor CH inicial de las semillas de mayor masa ( $> 7,63$  g) frente a las de menor ( $< 7,62$ ), se debió a un menor grado de maduración de estas últimas porque es común observar una reducción del CH justo antes de la dispersión (Bonjovani y Barbedo 2014, Becerra - Vázquez *et al.* 2020, Lawrence *et al.* 2022). Posiblemente, lo anterior explica porque la emergencia fue más alta en las semillas de mayor masa. Esta diferencia de viabilidad

también fue reportada en semillas frescas de *C. brunnea* con masa  $> 6,1$  g frente aquellas semillas  $< 6$  g, 93 % versus 79 %, respectivamente (Daibes *et al.* 2023). Otros factores no evaluados en el presente estudio, por ejemplo, la posición de las vainas en el árbol o las semillas en fruto, periodo de maduración de las vainas o condiciones edáficas y topográficas del sitio de colecta deberían incluirse en estudios futuros. La pérdida del CH a través del tiempo y en consecuencia la disminución de la viabilidad supone que la conservación *ex situ* de las semillas frescas de *C. brunnea* continúa siendo problemática, inclusive después de la desecación previa al 30 % de CH. Como se ha afirmado, la desecación artificial y refrigeración de las semillas no induce necesariamente mecanismos de protección contra la sensibilidad a la desecación en semillas recalcitrantes (Prajith y Anilkumar 2017).

El presente estudio confirma que una selección por masa de semilla es la mejor estrategia para la conservación *ex situ* porque promueve un aumento de la viabilidad (sin almacenamiento), al menos si el CH se mantiene por encima del 23 %. El incremento de las tasas de emergencia observado en las semillas frescas de mayor masa podría contrarrestar parcialmente las pérdidas debido a la rápida disminución del CH en pocos días. Además, semillas más vigorosas presentan una mejor competencia ante factores abióticos y bióticos incrementando la sobrevivencia de las plántulas (Rodrigues *et al.* 2022, Daibes *et al.* 2023). Como no se encontró ( $P > 0,05$ ) ninguna variable del fruto más fácil de medir que se relacionaría con la masa de semilla, esta estrategia debe conducirse directamente por el pesaje de las semillas. Otro estudio con *C. brunnea* también había encontrado resultados muy similares al presente estudio (Prato *et al.* 2021).

Los valores más altos de la conductividad eléctrica luego de la desecación, es decir, menor vigor o viabilidad, mostraron el aumento de lixiviados de electrolitos debido probablemente al daño de la membrana celular de las semillas. Del mismo modo, las semillas de mayor vigor tienen una mejor organización de la membrana celular, lo cual explicaría los resultados más bajos de conductividad eléctrica en las semillas frescas de mayor masa (Prajith y Anilkumar 2017). Por estas razones, la conductividad eléctrica se mostró como un buen indicador de calidad de las semillas. Cuando se evaluó la conservación de semillas de *C. brunnea* en diferentes ambientes y embalajes, aquellos tratamientos con la viabilidad más alta tenían los menores

valores de conductividad eléctrica (Prato *et al.* 2021). También, la menor viabilidad de semillas de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T. D. Penn que fueron sometidas a la desecación se relacionó con aumentos en los valores de conductividad eléctrica (Bonjovani y Barbedo 2014). El IVE, una variable asociada al vigor de las semillas (Maguire 1962) fue precisamente mayor en hasta 0.7 veces para las semillas frescas de mayor masa. La reducción de la viabilidad (13 %) en el rango M2 luego de la desecación fue acompañada por una reducción del IVE en 0.8 veces reafirmando el menor vigor.

## CONCLUSIÓN

El acondicionamiento por desecación a un nivel de 30 % de CH en las semillas frescas de *C. brunnea* aplicando los dos métodos evaluados en este estudio resultó en nula emergencia a las tres semanas posterior a la conservación. Una selección por masa de semilla si aumenta la eficiencia de la producción de plántulas y contrarresta parcialmente las perdidas debido a la elevada sensibilidad a la desecación de las semillas. Esto puede ser muy relevante en un contexto de cambio climático con períodos secos más fuertes y prolongados. Se sugiere más estudios para profundizar la relación entre la desecación y conservación de las semillas de *C. brunnea*

## AGRADECIMIENTOS

A Agrosavia adscrita al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia (MADR) y Ministerio de Ambiente de Portugal por el apoyo financiero e infraestructura para desarrollar esta investigación. El estudio fue financiado por el Fondo Ambiental-Portugal a través del proyecto “Mejoramiento de la sostenibilidad ambiental mediante vinculación de opciones tecnológicas en el marco de la estrategia nacional para el cultivo del cacao” (AGROSA-VIA 1002031 Convenio 2035). Al Herbario de la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander por la identificación taxonómica de la especie (número de colección 22224). A la Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por la concesión de la beca postdoctoral (código #2022/01560-9).

## CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

AIP: Concepción de la idea del trabajo de investigación, ejecución del trabajo en campo, interpretación de los datos y aprobación final de informe. LFD: interpretación de los datos y aprobación final de informe. JRM: interpretación de datos y aprobación final de informe.

## CONFLICTO DE INTERÉS

No existe conflicto de interés.

## LITERATURA CITADA

Amshoff GJH. 1968. A new species of *Clathrotropis* from Colombia (Papilionaceae). *Acta Bot. Neerl.* 17(2): 103-104. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1968.tb00110.x>

Arévalo J, Espinel EE, Cabellos MI. 2019. Analysis of the biomass produced in the furniture factories of the municipality of Ocaña. *J. Phys. Conf. Ser.* 1257(012004): 1-5. doi: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1257/1/012004>

Armenteras D, Rodríguez N, Retana J, Morales M. 2011. Understanding deforestation in montane and lowland forests of the Colombian Andes. *Reg. Environ. Change.* 11(3): 693-705. doi: <https://doi.org/10.1007/s10113-010-0200-y>

Athugala YS, Jayasuriya KMG, Gunaratne AMTA, Baskin CC. 2021. Desiccation tolerance and sensitivity of selected tropical montane species in Sri Lanka. *Seed Sci. Res.* 31(2): 1-7. doi: <https://doi.org/10.1017/S0960258521000088>

Becerra-Vázquez AG, Sánchez-Nieto S, Coates R, Flores-Ortiz CM, Orozco-Segovia A. 2018. Seed longevity of five tropical species from south-eastern Mexico: changes in seed germination during storage. *Trop. Conserv. Sci.* 11(1): 1-17. doi: <https://doi.org/10.1177/1940082918779489>

Becerra-Vázquez AG, Coates R, Sánchez-Nieto S, Reyes-Chilpa R, Orozco-Segovia A. 2020. Effects of seed priming on germination and seedling growth of desiccation-sensitive seeds from Mexican tropical rainforest. *J. Plant Res.* 133(6): 855-872. doi: <https://doi.org/10.1007/s10265-020-01220-0>

Bonjovani MR, Barbedo CJ. 2014. Induction of tolerance to desiccation and to subzero temperatures in embryos of recalcitrant seeds of *inga*. *J. Seed. Sci.* 36(4): 419-426. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v36n41027>

Cárdenas D, Salinas N. 2007. Especies Maderables Amenazadas: Primera parte. Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 4. Serie de Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Bogotá, Colombia: SINCHI, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.

Chandima BR, Samarasinghe P, Jayasuriya KMG, Gunaratne TA, Dixon KW, Senanayaka MC. 2024. Diversity of seed storage behavior of tree species from tropical lowland rainforests in Sri Lanka, a global biodiversity hotspot. *Ecol. Res.* 39(1): 15-26. doi: <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12421>

Daibes LF, Prato AI, Carvalho FE. 2023. Aspects of seedling production of *Clathrotropis brunnea* Amshoff, a threatened legume tree from Colombian rainforests. *Floresta*. 53(4): 477-486. doi: <https://doi.org/10.5380/rf.v53i4.85577>

Freire JM, Rouws JRC, Breier TB, Ataíde GM. 2021. Drying and storage of *Melanoxylon brauna* Schott. *Seeds. Braz. J. Biol.* 81(2): 464-473. doi: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.232578>

Gregório B, Carvalho CS, Ramos G, Rocha L, Stirton CH, de Lima H, Zartman CE, Lewis GP, Torke BM, Snak C, Higuita HAD, Queiroz L, Cardoso D. 2024. A molecular phylogeny of the early-branching Genistoid lineages of papilionoid legumes reveals a new Amazonian genus segregated from *Clathrotropis*. *Bot. J. Linn. Soc.* 205(1): 1-14. doi: <https://doi.org/10.1093/botlinean/boad059>

Holdridge L, Grenke W, Hatheway W, Liang T, Tosi J. 1971. Forest environments in tropical life zones: a pilot study. Fort Belvoir, Estados Unidos: Pergamon Press.

Hong T, Ellis R. 1996. A protocol to determine seed storage behavior. Technical Bulletin No. 1. Roma, Italia: IPGRI.

[IUCN] International Union for Conservation of Nature. c2024. The IUCN red list of threatened species. Version 2023-1. [Revisada en: 27 marzo 2024]. <https://www.iucnredlist.org>

Kai Y, Pinto AA, McCormick AC, Nadarajan J, He XZ, MacKay M, McGill C. 2023. Seed desiccation sensitivity varies with geographic distribution in two New Zealand native *Pittosporum* species. *Seeds.* 2(3): 370-381. doi: <https://doi.org/10.3390/seeds2030028>

Lawrance S, Deth GS, Kumara K, Rajua P, John S, Nair S. 2022. Status of moisture and sugar during embryogenesis and embryo desiccation in the desiccation-intolerant seeds of *Humboldtia vahliana* wight. *Russ. J. Plant Physiol.* 69(124): 1-7. doi: <https://doi.org/10.1134/S1021443722060176>

Maguire JD. 1962. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop. Sci.* 2(2): 176-177. doi: <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X00020020033X>

Marques A, Buijs G, Ligterink W, Hilhorst H. 2018. Evolutionary ecophysiology of seed desiccation sensitivity. *Funct. Plant Biol.* 45(11): 1083-1095. doi: <https://doi.org/10.1071/FP18022>

Pereira WVS, Faria JMR, José AC, Tonetti OAO, Ligterink W, Hilhorst HWM. 2017. Is the loss of desiccation tolerance in orthodox seeds affected by provenance. *S. Afr. J. Bot.* 112: 296-302. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.06.008>

Prajith TM, Anilkumar C. 2017. Seed desiccation responses in *Sarcaca asoca* (Roxb.) W.J. de Wilde. *Curr. Sci.* 112(12): 2462-2466. doi: <https://doi.org/10.18520/cs/v112/i12/2462-2466>

Prato A, Daibes LF, Pabón MA, Castaño AA, Santos-Heredia C, Fior CS. 2021. Seedling emergence of the tree legume *Clathrotropis brunnea* Amshoff, endemic from a Colombian tropical rainforest. *J. For. Sci.* 67(4): 457-467. doi: <https://doi.org/10.1093/forsci/fxab013>

Ranal MA, Santana D. 2006. How and why to measure the germination process? *Rev. Bras. Bot.* 29(1): 1-11. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>

Restrepo JD, Escobar HA. 2018. Sediment load trends in the Magdalena River basin (1980–2010): Anthropogenic and climate-induced causes. *Geomorphology.* 302: 76-91. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.geomorph.2016.12.013>

Rodrigues G, Silva D, Ribeiro M, Loaiza-Loaiza OA, Alcantara S, Komatsu RA, Barbedo CJ, Steiner N. 2022. What affects the desiccation tolerance threshold of Brazilian *Eugenia* (Myrtaceae) seeds?. *J. Plant. Res.* 135(4): 579-591. doi: <https://doi.org/10.1007/s10265-022-01396-7>

Roa-Fuentes L, Villamizar-Peña LA, Mantilla-Carreño JA, Jaramillo MA. 2022. Functional diversity and species diversity in flooded and unflooded tropical forests. *Acta Oecol.* 114(103814): 1-6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.actao.2022.103814>

Sagen AL, Gertsch J, Becker R, Heilmann J, Sticher O. 2002. Quinolizidine alkaloids from the curare adjuvant *Clathrotropis glaucocephala*. *Phytochemistry.* 61(8): 975-978. doi: [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(02\)00394-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(02)00394-1)

Torres F, Robledo SM, Quiñones W, Escobar G, Archbold R, Correa E, Gil JF, Arbeláez N, Murillo J, Echeverri F. 2020. Exploring antiparasitic molecule sources from timber by-product industries-leishmanicidal and trypanocidal compounds from *Clathrotropis brunnea* Amshoff. *Front. Pharmacol.* 11: 1-10. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2020.584668>

UDCA, IDEAM. 2015. Estudio nacional de la degradación de suelos por erosión en Colombia. Bogotá, Colombia: IDEAM.

Vanegas-Cubillos M, Sylvester J, Villarino E, Pérez-Marulanda L, Ganzenmüller R, Lohr K, Bonatti M, Castro-Nunez A. 2022. Forest cover changes and public policy: A literature review for post-conflict Colombia. *Land Use Policy.* 114: 1-13. doi: <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2022.105981>