

Predicción de la conducta de almacenamiento de semillas de *Calycophyllum candidissimum* (Rubiaceae) por sus rasgos funcionales

Prediction of storage behavior in seeds of *Calycophyllum candidissimum* (Rubiaceae) by their functional traits

Alejandra Gutiérrez¹, Mayté Pernús² y Jorge A. Sánchez^{2,*}

¹Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Calle 25, N° 455, e/ I y J, Vedado, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba. C.P. 10400. ²Instituto de Ecología y Sistemática, Agencia de Medio Ambiente, CITMA, Carretera de Varona, N° 11835, e/ Oriente y Lindero, Reparto Parajón, Boyeros, La Habana, Cuba. C.P. 11900. *Autor para correspondencia (e-mail: jasanchez@ecologia.cu).

Palabras clave: árbol tropical pionero, modelo predictivo, semillas tolerantes a desecación
Keywords: tropical pioneer tree, predictive model, desiccation-tolerant seeds

Citación: Gutiérrez, A., Pernús, M. & Sánchez, J.A. 2021. Predicción de la conducta de almacenamiento de semillas de *Calycophyllum candidissimum* (Rubiaceae) por sus rasgos funcionales. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 42: 221-223.

Recibido: 16 de julio de 2021. **Aceptado:** 20 de agosto de 2021. **Publicado en línea:** 18 de octubre de 2021. **Editor encargado:** José Angel García-Beltrán.

Calycophyllum candidissimum (Vahl) DC. es un árbol pionero endémico del Neotrópico, que forma parte de la flora nativa de Cuba (Herrera-Peraza & al. 1997, González-Torres & al. 2016) y presenta una gran importancia ecológica y económica (Gutiérrez & al. 2020). En Cuba, esta especie se conoce por el nombre común de dagame (Roig 2014) y en la actualidad se encuentra Casi Amenazada (González-Torres & al. 2016). Por consiguiente, conocer la conducta de almacenamiento de sus semillas podría facilitar la disponibilidad de las mismas para llevar a cabo acciones de manejo y conservación. Este rasgo seminal, además, aporta información valiosa sobre los mecanismos de regeneración de las especies vegetales (Marques & al. 2018, Sánchez & al. 2018). Existen dos categorías principales para discriminar las semillas en cuanto a este criterio: tolerantes a la desecación u ortodoxas, y sensibles a la desecación o recalcitrantes (Hong & Ellis 1996); estas últimas, a diferencia de las primeras, no pueden ser almacenadas en bancos de semillas.

Las investigaciones acerca de la conducta de almacenamiento de las semillas de *Calycophyllum candidissimum* son muy escasas. En Cuba, a pesar de los beneficios que puede brindar esta especie y de su estado de conservación, no existe ningún estudio que ayude a esclarecer esta incógnita. Por estas razones, el objetivo del presente trabajo es identificar la posible conducta de almacenamiento de semillas de *C. candidissimum*, mediante tres métodos predictivos sobre la base de los rasgos funcionales de las mismas, según proponen Hong & Ellis (1996), Daws & al. (2006) y Pelissari & al. (2018).

La recolecta de los frutos tuvo lugar en mayo de 2019 en áreas de Río Cristal, La Habana, Cuba (23°01'55,8" lat. N, 82°24'08,7" long. W). El clima del sitio es subtropical húmedo, con un período seco que se extiende de noviembre a abril

(Borhidi 1996). Las semillas se obtuvieron de frutos maduros que se recolectaron sobre cinco plantas madre, con ayuda de una vara telescópica. El trabajo de laboratorio fue realizado a partir de un lote único, en el que se encontraban todas las semillas recolectadas. A partir de este lote único, se seleccionaron al azar dos grupos de 1 000 semillas cada uno: el primero se empleó para determinar inmediatamente su contenido de humedad y la masa seca total, y el segundo para determinar la fracción de la masa seminal destinada a la cubierta. Las semillas del último grupo se almacenaron en condiciones de laboratorio, a 25 ± 2 °C y 45 % de humedad relativa, durante 10 meses, en frascos herméticos hasta su uso en marzo de 2020.

La masa seca y el contenido de humedad inicial de la semilla se obtuvieron por el método de secado a temperatura constante, en una estufa a 150 °C, durante tres horas (ISTA 2007). El contenido de humedad se calculó a partir del peso fresco por la siguiente fórmula: (Peso fresco – Peso seco) / Peso fresco * 100 (ISTA 2007). Para ello, se tomó una muestra de 25 réplicas de 15 semillas cada una, a las cuales se les determinó la masa fresca (g) y la masa seca (g). Luego, los valores obtenidos se dividieron entre 15 para obtener los de cada semilla independiente. Para determinar la masa fresca y la masa seca se empleó una balanza digital Sartorius, con una incertidumbre de 0,0001 g.

Para calcular la fracción de la masa seca de la semilla destinada a la cubierta, se dividió el valor de este componente seminal entre la masa seca total de la semilla (Sánchez & al. 2009). En este caso, del grupo de semillas almacenadas se tomaron 25 réplicas de 15 semillas cada una y se separaron las cubiertas de las reservas (embrión + endospermo). Para ello, las semillas fueron humedecidas previamente con el fin

de facilitar la disección, que se realizó bajo un microscopio estereoscópico con ayuda de un bisturí. Posteriormente, se tomaron las cubiertas de cada réplica y se midió la masa seca (g), mediante el método descrito anteriormente para la masa seca total. Después, cada valor obtenido se dividió entre 15 para estimar la masa seca destinada a la cubierta de una semilla.

La conducta de almacenamiento de las semillas se evaluó según la metodología predictiva de combinación de múltiples rasgos, propuesta por Hong & Ellis (1996). En correspondencia con tales autores, se emplearon las variables peso fresco de 1 000 semillas (peso fresco medio de una semilla multiplicado por 1 000) y contenido de humedad inicial. Las semillas de la especie serían clasificadas como ortodoxas si presentaban un valor de peso fresco de 1 000 semillas inferior a 25 g y un contenido de humedad inicial inferior al 20 %; en caso contrario, serían identificadas como recalcitrantes.

Para una mayor precisión de esta clasificación fueron corroborados los resultados con dos modelos probabilísticos: uno propuesto por Daws & al. (2006) y el otro por Pelissari & al. (2018). Ambos miden la sensibilidad/tolerancia a la desecación de las semillas con datos biométricos y han sido validados en especies arbóreas tropicales con un amplio rango de masa de la semilla (0,01 mg a 24 g) (e.g., Lan & al. 2014, Sánchez & al. 2018). La probabilidad de la sensibilidad a la desecación $P(D-S)$ de las semillas se obtuvo de acuerdo a la fórmula propuesta por Daws & al. (2006): $P(D-S) = e^{3,269-9,974a+2,156b} / 1+e^{3,269-9,974a+2,156b}$, donde a representa la fracción de la masa seminal destinada a las cubiertas seminales (MSC) y b es el \log_{10} de la masa seca total de la semilla (g). Por otra parte, según el modelo de Pelissari & al. (2018), la probabilidad de la tolerancia a la desecación $P(TD)$ de las semillas se calculó mediante la siguiente fórmula: $P(TD) = 1 / [1 + (-0,1627245A + 1,372784B - 0,4599876C + 4,348336)]$, donde A representa el contenido de agua de la semilla, B la MSC y C es la masa seca total de la semilla. En ambos modelos se considera probable que las semillas sean sensibles a la desecación, si los valores de P son superiores a 0,5; y tolerantes a la desecación, si los valores de P son inferiores a 0,5. Cada variable se informó con su valor promedio y el error estándar.

La masa seca total media de las semillas fue de $0,00033 \pm 0,00005$ g y la destinada a cubiertas $0,00023 \pm 0,00002$ g; lo que representó más del 60 % de la masa seca total. De acuerdo a la metodología predictiva de combinación de múltiples rasgos, propuesta por Hong & Ellis (1996), se obtuvo un valor de peso fresco de mil semillas de $0,34 \pm 0,05$ g (< 25 g) y un contenido de humedad inicial de $9,25 \pm 2,78$ % (< 20 %). En cuanto a los dos modelos probabilísticos utilizados, el de Daws & al. (2006) y el de Pelissari & al. (2018), en ambos se obtuvieron índices de sensibilidad/tolerancia a la desecación inferior al 0,5, con un valor de 0,000014 y 0,022, respectivamente.

Según el criterio de Hong & Ellis (1996), las semillas de *Calycophyllum candidissimum* son potencialmente tolerantes a la desecación. Esto, unido a los valores inferiores a 0,5 de los índices de sensibilidad/tolerancia a la desecación, sugiere que las semillas se pudieran clasificar según su conducta de almacenamiento como potencialmente ortodoxas o tolerantes a la deshidratación y a las bajas temperaturas. En semillas de la especie estudiada, este tipo de conducta de almacenamiento se ha propuesto por Cordero & Boshier (2003), quienes plantearon que semillas almacenadas a 4°C con contenidos de humedad de 5-6 % mantuvieron su viabilidad por tres años. Por su parte, Sautu & al. (2006) notificaron para esta especie un contenido de humedad inicial inferior al 15 %, y declararon la longevidad de sus semillas a más de 15 meses. Además, *C. candidissimum* es nativa de bosques tropicales semidecíduos, formación vegetal que se caracteriza por la presencia de un gran número de especies con semillas ortodoxas, debido a las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrollan estos bosques (Daws & al. 2006, Marques & al. 2018).

Sánchez & al. (2009), en siete árboles pioneros cubanos, encontraron una correlación negativa entre el tamaño de las semillas y el espesor de su recubrimiento, lo que podría explicar por qué en semillas tan pequeñas, como las de este árbol pionero, la masa seca destinada a cubiertas representó más de la mitad de la masa seca total de la semilla. Por otra parte, Daws & al. (2006) y Sánchez & al. (2018) demostraron que existe una relación significativa entre la masa de las cubiertas seminales y la conducta de almacenamiento, siendo característico de las semillas ortodoxas una tendencia a que las cubiertas representen un elevado porcentaje de la masa total de la semilla. Esto último coincide con las proporciones de masa seca total y destinada a cubiertas que se obtuvieron en el presente estudio para el dagame.

También se conoce que la producción de un gran número de semillas pequeñas con cubiertas gruesas (con respecto a la masa total de la semilla) y que toleran la desecación son características de plantas pioneras tropicales (Daws & al. 2006, Sánchez & al. 2018). Esta estrategia regenerativa permite que las semillas de dicho grupo funcional ocupen mayor número de ambientes desprovistos de vegetación (Marques & al. 2018, Pelissari & al. 2018) y, por consiguiente, jueguen un papel significativo en los mecanismos de regeneración de las sucesiones forestales secundarias (Herrera-Peraza & al. 1997, Chen & al. 2020).

En conclusión, la identificación de la posible conducta de almacenamiento por métodos sencillos y rápidos permitió predecir la tolerancia a la desecación (o comportamiento ortodoxo) de las semillas de *Calycophyllum candidissimum*. Además, los resultados obtenidos sugieren la posibilidad de almacenarlas por métodos tradicionales en bancos de germoplasma, luego de ser deshidratadas. En consecuencia, para el futuro se recomienda desarrollar experimentos que permitan conocer las condiciones óptimas de temperatura y porcentaje de deshidratación bajo las cuales esto puede ser posible.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada en el marco del proyecto "Gestión integrada del humedal al sur de las provincias de Artemisa y Mayabeque, como alternativa para el enfrentamiento al cambio climático". Los autores agradecen a los revisores anónimos y editores de la Revista del Jardín Botánico Nacional por sus sugerencias y comentarios.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

A. Gutiérrez ejecutó la investigación, procesó los datos y escribió la primera versión del manuscrito. M. Pernús concibió la idea original, diseñó la investigación y recolectó el material vegetal. J.A. Sánchez recolectó el material vegetal y supervisó la investigación. Todos los autores contribuyeron en el trabajo de laboratorio, la discusión de los resultados y revisión crítica del manuscrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Borhidi, A. 1996. Phytogeography and vegetation ecology of Cuba. Budapest, Akadémiai Kiadó. Budapest, Hungary.

Chen, S.-C., Wu, L.-M., Wang, B. & Dickie, J.B. 2020. Macroevolutionary patterns in seed component mass and different evolutionary trajectories across seed desiccation responses. *New Phytol.* 228: 770-777. <https://doi.org/10.1111/nph.16706>

Cordero, J. & Boshier, D.H. 2003. Árboles de Centroamérica. Un manual para extensionistas. OFI/CATIE. Turrialba, Costa Rica.

Daws, M.I., Garwood, N.C. & Pritchard, H.W. 2006. Prediction of desiccation sensitivity in seeds of woody species: a probabilistic model based on two seed traits and 104 species. *Ann. Bot.* 97: 667-674. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl022>

González-Torres, L.R., Palmarola, A., González-Oliva, L., Bécquer, E.R., Testé, E., Castañeira-Colomé, M.A., Barrios, D., Berazaín, R., Gómez-Echavarría, J.L., García-Beltrán, J.A., Granado, L., Rodríguez-Cala, D., & Regalado, L. (comp.). 2016. Lista Roja de la flora de Cuba. *Bissea* 10 (número especial 1): 33-283.

Gutiérrez, A., Pernús, M. & Sánchez, J.A. 2020. Rasgos funcionales de semillas de *Calycophyllum candidissimum* (Rubiaceae), árbol pionero del Neotrópico. *Revista Jard. Bot. Nac. Univ. Habana* 41: 71-77.

Herrera-Peraza, R.A., Ulloa, D.R., Valdés-Lafont, O., Priego, A.G. & Valdés, A.R. 1997. Ecotechnologies for the sustainable management of tropical forest diversity. *Nat & Resour.* 33: 2-17.

Hong, T.D. & Ellis, R.H. 1996. A protocol to determine seed storage behaviour. International Plant Genetic Resources Institute, Technical Bulletin No. 1. Italy.

ISTA (International Seed Testing Association). 2007. International rules for seed testing. Bassersdorf, Suiza.

Lan, Q.Y., Xia, K., Wang, X.F., Liu, J.W., Zhao, J. & Tan, Y.H. 2014. Seed storage behavior of 101 woody species from the tropical rainforest of southern China: test of the seed-coat ratio-seed mass (SCR-SM) model for determination of desiccation sensitivity. *Aust. J. Bot.* 62: 305-311. <https://doi.org/10.1071/BT14037>

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

Pelissari, F., Cleiton, A., Leite, M.A., Batista, A.C., Souza, W.V. & Rocha, J.M. 2018. A probabilistic model for tropical tree seed desiccation tolerance and storage classification. *New For.* 49: 143-158. <https://doi.org/10.1007/s11056-017-9610-8>

Roig, J.T. 2014. Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos. Editorial Científico-Técnica. La Habana, Cuba.

Sánchez, J.A., Muñoz, B. & Montejo, L. 2009. Rasgos de semillas de árboles en un bosque siempreverde tropical de la Sierra del Rosario, Cuba. *Pastos y Forrajes* 32: 141-161.

Sánchez, J.A., Pernús, M., Torres-Arias, Y., Furrázola, E., Oviedo, R. & Álvarez, J.C. 2018. Características regenerativas de árboles tropicales para la restauración ecológica de ecosistemas limítrofes al manglar. *Acta Bot. Cub.* 217: 170-188.

Sautu, A., Baskin, J.M., Baskin, C.C. & Condit, R. 2006. Studies on the seed biology of 100 native species of tree in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. *Forest Ecol. Manag.* 234: 245-263. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.07.006>