



Enseñar la explotación de la tierra,
no la del hombre

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DIVISIÓN DE CIENCIAS FORESTALES

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS, EN CIENCIAS FORESTALES

**VARIACIÓN ALTITUDINAL EN GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE
PLANTAS DE *LUPINUS CAMPESTRIS* CHAM. & SCHLTDL.,
LUPINUS EXALTATUS ZUCC. Y *LUPINUS MONTANUS* H.B.K.**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS, EN CIENCIAS FORESTALES

PRESENTA

BIOL. YASMÍN GARDUÑO HERNÁNDEZ



DIRECCIÓN GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

Chapingo, Edo. de México Enero 2012

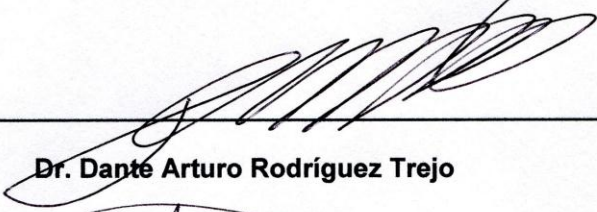


VARIACIÓN ALTITUDINAL EN GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE PLANTAS
DE *LUPINUS CAMPESTRIS* CHAM. & SCHLTDL., *LUPINUS EXALTATUS* ZUCC. Y
***LUPINUS MONTANUS* H.B.K.**

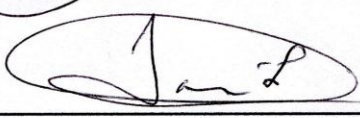
Tesis realizada por la bióloga Yasmín Garduño Hernández bajo la dirección del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

Codirector: _____


Dr. Dante Arturo Rodríguez Trejo

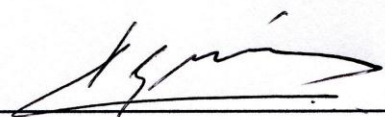
Codirector: _____


Dr. Javier López Upton

Asesor: _____


Dr. Carlos Ramírez Herrera

Asesor: _____


Dr. Enrique Guízar Nolasco

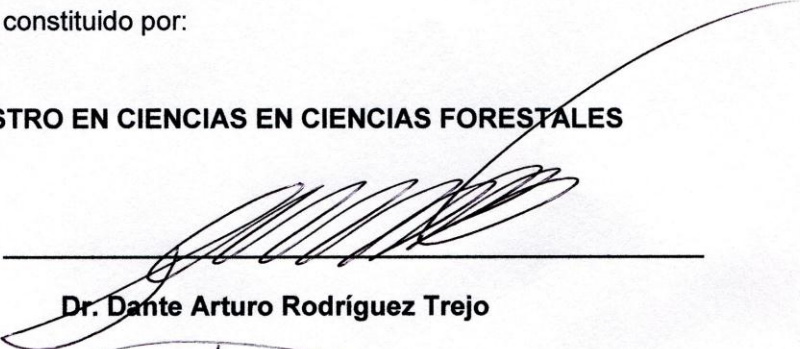
Chapingo Estado de México a 28 de enero de 2012

**VARIACIÓN ALTITUDINAL EN GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE PLANTAS
DE *LUPINUS CAMPESTRIS* CHAM. & SCHLTDL., *LUPINUS EXALTATUS* ZUCC. Y
LUPINUS MONTANUS H.B.K.**

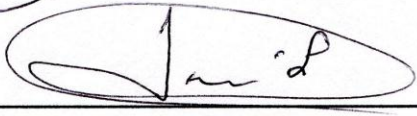
El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de la bióloga Yasmín Garduño Hernández, autora de la presente tesis de Maestría en Ciencias, en Ciencias Forestales, estuvo constituido por:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

Codirector: _____


Dr. Dante Arturo Rodríguez Trejo

Codirector: _____


Dr. Javier López Upton

Asesor: _____


Dr. Carlos Ramírez Herrera

Asesor: _____


Dr. Enrique Guízar Nolasco

Chapingo Estado de México a 28 de enero de 2012

AGRADECIMIENTOS

A Dios por brindarme la vida, pertenecer en este maravilloso mundo y a demás de otorgarme la fe para cumplir mis metas y mis sueños profesionales.

A la Universidad Autónoma Chapingo en especial al posgrado de la División de Ciencias Forestales por el apoyo brindado para la realización de este proyecto de investigación.

Al Colegio de Posgrado por el apoyo brindado para la realización de este proyecto de investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado a la presente investigación, para culminar con mi formación de postgrado.

Al Dr. Dante Arturo Rodríguez Trejo por la dirección, por toda la motivación y la confianza que me brindaba día con día; por su invaluable apoyo y conocimientos, así como consejos, observaciones y su valioso tiempo depositado que me motivaron en el desarrollo y culminación de la presente tesis.

Al Dr. Javier López Uptón por su apoyo para la elaboración de esta tesis, por la confianza que me dio en la parte experimental de campo, por proporcionarme el espacio y las semillas, por el tiempo dedicado en la revisión, sugerencias, correcciones muy oportunas.

Al Dr. Carlos Ramírez Herrera por todo el apoyo y sugerencias enfocadas al mejoramiento de este trabajo.

Al Enrique Guizar Nolasco y en identificar de que el género de Lupinus se estaba trabajando, por su apoyo en la revisión de la tesis y por sus observaciones tan certeras.

A los profesores que me impartieron clases por proporcionarme sus valiosos conocimientos, consejos e invaluable experiencia.

Por parte de la Universidad Autónoma Chapingo

Al Sr. Gerardo Mendoza Ángeles

y

A la Sra. María Marcos Martínez Campos

Por el gran apoyo brindado en la fase de laboratorio de este proyecto.

Por parte del Colegio de Postgraduados campus Montecillo Estado de México

Al Sr. Asunción Hernández Nequiz

Al Sr. Lauro Guadalupe Franco Mejía

Al Sr. Máximo Juárez Zarate

Al Sr. Raúl Eduardo López Lozano

Por su valioso apoyo al establecer en campo este proyecto en el Colegio de Posgraduados; por sus aportaciones para que esta investigación tuviera éxito.

A los compañeros

M. en C. Cesar San Martín Hernández

Ing. Cirilo Rodríguez Méndez

Biól. Gabriel Ramírez González

Ing. Jesús Germán De la Mora Castañeda

Ing. Joel Zúñiga Reyes

Ing. Jorge Valderrama Benítez

Ing. Juana Eliud Juárez Bravo

Biól. Leobardo Méndez Valerio

M. en C. Mauricio Orozco Méndez

M. en C. María Guadalupe Carrillo Benitez

Dr. Víctor Manuel Perea Estrada

AGRADECIMIENTOS ESPECIALES

AL MAESTRO EN CIENCIAS

RAMIRO RÍOS GOMEZ

Por la facilidad que otorgo para realizar los análisis de suelo, en el Laboratorio de la UNAM, en la Facultad de Estudios Superiores de Zaragoza.

También por el apoyo y la confianza que me brindo, y su motivación para seguir con la elaboración de la tesis.

AL DOCTOR

ALFONSO DELGADO SALINAS

Por el apoyo y la confianza que me brindo, y su motivación para seguir con la elaboración de la tesis del Instituto de biología de la UNAM.

AL DOCTOR

DANTE ARTURO RODRÍGUEZ TREJO

Agradezco la confianza que deposito en mí persona para realizar esta investigación, que permite cumplir con los objetivos de esta etapa de mi formación profesional.

DEDICATORIA

A Dios por estar presente que todo una vida me ha indicado el camino correcto para continuar mi vida profesional.

A mis padres, su incondicional apoyo y amor, además de sus consejos y confianza que depositaron en mí.

A mis hermanos Miguel Ángel, Joel y Hiram Misael que con su cariño, gran apoyo, por su motivación para seguir siempre hacia adelante.

A mis tíos más cercanos Asención, María y Victoria dedicada a ellos con todo mi cariño y respeto.

A mis primos Julio, Rene, Edgar, Silvia, Cristina y a la más pequeña de ellos a Brenda.

A mis sobrinos Jesús, Vanesa, Cristian, Valeria y la pequeñita Marlen que con inocencia nos alegran la vida.

A mis amigas y amigos por los momentos de alegría y tristeza que compartimos, además de su invaluable apoyo, cariño y consejos que mejoraron mi estancia en Chapingo.

DATOS BIOGRÁFICOS

Nombre: Yasmín Garduño Hernández

La autora nació el 07 de octubre en Ilhuicamina que pertenece a la delegación de Coyoacán del Distrito Federal.

Realizó estudios del Nivel Medio Superior en la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo (AUACH). Dirección: km 38.5 carretera. México - Texcoco. CP 56230, **Chapingo**, Estado de México. Tel (595)9521500. Texcoco, Estado de México,

Continuó sus estudios a Nivel Superior en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) obteniendo el título de Bióloga con la tesis titulada “**Efecto de *Tagetes lucida* Cav. como antimicrobiano sobre diversos patógenos**”

Actividades académicas

- 1 er. Congreso Internacional de Plantas Medicinales en Tabasco, México 2005; 12, 13 y 14 de septiembre. Villa Hermosa, Tabasco.
- V. Congreso Latinoamericano de Medicina Natural y Tradicional; en el Centro Médico Nacional Siglo XXI el 7, 8 y 9 de Octubre del 2005. México Distrito Federal.

Actividad laboral

En la empresas de Comisión Federal de Electricidad (CFE).

Participaba en la elaboración de Manifestaciones de Impacto Ambiental.

- Manifestación de Impacto Ambiental de líneas eléctricas en la región de Nayarit: Guaybel Mesa del Nayar.
- Manifestación de Impacto Ambiental de líneas eléctricas en la región de Jilotlan de los Dolores en la Zona del Mariz.
- Manifestación de Impacto Ambiental de líneas eléctricas en la región de Jilotlán de los Dolores Jalisco Zona Limoncito de Castrejón.

Ingrese en el 17 de agosto del 2009 a la maestría en Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) y egrese el 15 de julio del 2011, que se encuentra en la Dirección: km 38.5 carretera. México - Texcoco. CP 56230, **Chapingo**, Estado de México. Tel (595)9521500. Texcoco, Estado de México.

VARIACIÓN ALTITUDINAL EN GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE PLANTAS DE *LUPINUS CAMPESTRIS* CHAM. & SCHLTDL., *LUPINUS EXALTATUS* ZUCC. Y *LUPINUS MONTANUS* H.B.K.

ALTITUDINAL VARIATION IN GERMINATION AND GROWTH OF *LUPINUS CAMPESTRIS* CHAM. & SCHLTDL., *LUPINUS EXALTATUS* ZUCC. AND *LUPINUS MONTANUS* H.B.K. PLANTS

Yasmín Garduño-Hernández¹, Dante Arturo Rodríguez-Trejo², Javier López-Uptón³, Carlos Ramírez-Herrera⁴, Enrique Guizar-Nolazco⁵

RESUMEN

El género *Lupinus* tiene el potencial de emplearse en plantaciones forestales y sistemas agroforestales. Sus semillas presentan latencia física. En el presente estudio se realizó una prueba de imbibición para determinar el método para eliminar la latencia física, porque se tiene evidencia que la testa impone restricción al paso de agua. Se aplicaron cuatro tratamientos de escarificación química, utilizando ácido sulfúrico (H_2SO_4), por 15, 25, 35 y 45 minutos, uno de escarificación mecánica y se tuvo un lote testigo. Se determinó como mejor tratamiento la prueba de escarificación mecánica, cortando una sección de la testa en el lado opuesto de la inserción de embrión, con una navaja de disección. Se evaluó la germinación bajo diferentes regímenes de temperatura de varias localidades de *Lupinus campestris* Cham. & Schltdl., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K., utilizando la escarificación anteriormente señalada. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar, con los bloques anidados dentro del factor temperatura. Se utilizaron tres cámaras de ambiente controlado con diferentes regímenes de temperatura (día/noche): 15/10 °C, 20/15 °C y 25/20 °C y termoperíodo de 12 horas luz. Se determinaron diferencias significativas para los factores temperatura, especie y población. Las interacciones no fueron significativas. Se obtuvo mayor germinación con las temperaturas de 15/10 y 20/15°C (91.5 y 90.1%), sin diferencias estadísticas entre ambas. No hubo significancia para la interacción población con temperatura.

ABSTRACT

The genus *Lupinus* has the potential to be utilized in forest plantations and agroforestry systems. Its seeds have physical dormancy. In the present study was performed an imbibition test to determine the method to remove physical dormancy, because there is evidence that the seed coat imposes restrictions on water absorption. Four treatments were applied: chemical scarification using sulfuric acid (H_2SO_4), for 15, 25, 35 and 45 minutes, a mechanical scarification and a control. The best treatment was the mechanical scarification, cutting a section of the seed on the opposite side of the insertion of embryo, with a dissection razor. Germination of *Lupinus campestris* Cham. & Schltdl. *L. exaltatus* Zucc. and *L. montanus* H.B.K. seeds from different localities, using the scarification mentioned above, was evaluated. The experimental design was a randomized complete block, with blocks nested within the temperature factor. We used three controlled environmental chambers with different temperature regimes (day / night): 15/10 °C, 20/15 °C and 25/20 °C with 12 light-hours. Significant differences for the factors temperature, species and population were found. The interactions were not significant. The highest germination was obtained with temperatures of 15/10 and 20/15 °C (91.5 and 90.1%), with no statistical differences between both of them. There was no interaction of population with temperature.

ÍNDICE

REVISIÓN DE LITERATURA	1
Descripción botánica de las especies	5
<i>Lupinus campestris</i> Schltld. (<i>L. pulchellus</i> Sweet)	5
<i>Lupinus exaltatus</i> Zucc. (<i>L. grandis</i> Rose)	6
<i>Lupinus montanus</i> H.B.K (<i>L.vaginat</i> Cham. & Schltld., <i>L. glabrior</i> Rose)	7
Semillas	8
Germinación	8
Síntesis de enzimas	9
El suelo y su importancia	10
Interrelación ambiente-especies	12
CAPITULO I	14
Germinación de semillas de <i>Lupinus campestris</i> Cham. & Schltld., <i>Lupinus exaltatus</i> Zucc. y <i>Lupinus montanus</i> H.B.K.	
RESUMEN	15
ABSTRACT	16
INTRODUCCIÓN	17
Objetivos	20
Hipótesis	21
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Ubicación de la zona de recolección de semillas	22
Recolecta de germoplasma	25
Prueba de imbibición	26
Germinación	29
Diseño experimental	29
Análisis estadístico	34
RESULTADOS	36
Pruebas de imbibición	36
Germinación	39
DISCUSIÓN	43

Efecto de tratamiento de escarificación	43
Germinación a diferentes temperaturas	43
Germinación de las diferentes especies	44
Germinación de las poblaciones	45
CAPITULO II	47
Variación en el crecimiento de tres especies y poblaciones de <i>Lupinus</i> en un ambiente común	
RESUMEN	48
ABSTRACT	49
INTRODUCCIÓN	50
Objetivos	51
Hipótesis	51
MATERIALES Y MÉTODOS	52
Experimento de camas	52
Diseño experimental	52
Análisis estadístico	55
Muestreo de suelo	56
RESULTADOS	59
DISCUSIÓN	73
CONCLUSIONES GENERALES	76
RECOMENDACIONES	78
ANEXO	79
LITERATURA CITADA	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Lupinus campestris</i> Cham. & Schltdl.	6
Figura 2. <i>Lupinus montanus</i> H.B.K.	8
Figura 3. Localización de las zonas de recolección de <i>Lupinus</i> en el estado de Puebla	22
Figura 4. Principales tipos de climas en los Valles de Libres y Serdán, Puebla	23
Figura 5. Precipitación media anual en la zona de Valle de Libres y Serdán, Puebla	24
Figura 6. Principales tipo de suelos en la zona de Valle de Libres y Serdán, Puebla	25
Figura 7. Conteo de semillas de <i>Lupinus</i> .	27
Figura 8. Determinación del peso de semillas de <i>Lupinus</i> .	27
Figura 9. Prueba de imbibición de las semillas de <i>Lupinus</i> .	28
Figura 10. Establecimiento con diferentes regímenes de temperatura en las cámaras de ambiente.	29
Figura 11. Conteo y escarificación mecánica de semillas del género <i>Lupinus</i> .	30
Figura 12. Disposición de 50 semillas (izquierda) y las cajas (derecha) que sirvieron como bloques para la prueba de germinación de siete localidades de tres especies de <i>Lupinus</i> .	30
Figura 13. Preparación del funguicida y la siembra de semillas de tres especies de <i>Lupinus</i> .	31
Figura 14. Muestra de disposición de las siete poblaciones de las semillas de <i>Lupinus</i> .	32
Figura 15. Semillas germinadas de <i>Lupinus</i> .	32
Figura 16. Diagrama del diseño experimental utilizado en la prueba de germinación en cada régimen de temperatura.	34
Figura 17. Curva de imbibición de agua de semillas de <i>Lupinus campestris</i> Cham. & Schltdl.	37
Figura 18. Curva de imbibición de agua de semillas de <i>Lupinus montanus</i> H.B.K.	38
Figura 19. Efecto de la temperatura 15/10 °C en la germinación de las semillas de las distintas poblaciones de <i>Lupinus</i> . Población 1 (Xipes 6), Población 2 (Xipes 7), Población 3 (Zoapan), Población 4 (Sitio B 13), Población 5 (Sitio C-2), Población 6 (Guadalupe Victoria), Población 7 (Cañada).	41
Figura 20. Efecto de la temperatura 20/15 °C a en la germinación de las semillas de	42

las distintas poblaciones de *Lupinus*. Población 1 (Xipes 6), Población 2 (Xipes 7), Población 3 (Zoapan), Población 4 (Sitio B 13), Población 5 (Sitio C-2), Población 6 (Guadalupe Victoria), Población 7 (Cañada)

Figura 21. Efecto de la temperatura 25/20 °C en la germinación de las semillas de las distintas poblaciones de *Lupinus*. Población 1 (Xipes 6), Población 2 (Xipes 7), Población 3 (Zoapan), Población 4 (Sitio B 13), Población 5 (Sitio C-2), Población 6 (Guadalupe Victoria), Población 7 (Cañada). 42

Figura 22. Esquema del diseño experimental de las camas de crecimiento empleadas para probar diferencias en crecimiento entre especies y localidades de recolecta. 53

Figura 23. Obtención de muestras compuestas de suelo donde se desarrollaron plantas de 10 poblaciones de tres especies de *Lupinus*. 56

Figura 24. Parámetros biológicos evaluados a las especies de *Lupinus*. 62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Localización y tipo de suelos de las poblaciones de <i>Lupinus campestris</i> Cham. & Schltdl., <i>L. exaltatus</i> Zucc. y <i>L. montanus</i> H.B.K. usadas para esta investigación.	26
Cuadro 2. Semillas de <i>Lupinus campestris</i> Cham. & Schltdl. y <i>L. montanus</i> H.B.K. escarificadas para las pruebas de imbibición.	28
Cuadro 3. Semillas de <i>Lupinus</i> escarificadas por corte en la testa para el experimento de germinación.	31
Cuadro 4. Resultados del análisis de varianza para la prueba de germinación bajo diferentes regímenes de temperatura para tres especies de <i>Lupinus</i> y varias localidades dentro de éstas.	39
Cuadro 5. Valores medios y error estándar para la germinación a diferentes temperaturas de todos los lotes de tres especies de <i>Lupinus</i>	39
Cuadro 6. Valores medios y error estándar para la germinación de tres especies de <i>Lupinus</i>	40
Cuadro 7. Valores medios y error estándar para la germinación de siete poblaciones de tres especies de <i>Lupinus</i>	41
Cuadro 8. Resultados del análisis de suelo al inicio de la prueba de crecimiento de las tres especies de <i>Lupinus campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> y <i>L. montanus</i> en el ambiente común	59
Cuadro 9. Resultados del análisis de suelo al final de la prueba de crecimiento de las tres especies de <i>Lupinus campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> y <i>L. montanus</i> .	61
Cuadro 10. Resumen del análisis de significancia y prueba de diferencia mínima significativa para las seis mediciones de altura por especie	65
Cuadro 11. Prueba de diferencia mínima significativa para las tres mediciones del daño por especie	67
Cuadro 12. Prueba de diferencia mínima significativa para las tres mediciones de número de hojas por especie	69
Cuadro 13. Prueba de diferencia mínima significativa para las tres mediciones de número de folíolos por especie	71

REVISIÓN DE LITERATURA

El género *Lupinus* presenta una amplia adaptabilidad a nivel mundial, se distribuye en el continente americano, en los países que constituyen la región del Mediterráneo en Europa y en el Norte de África (Käss y Wink 1997).

Las semillas de *Lupinus* han sido estudiadas para su aprovechamiento en la producción de alimentos para consumo humano, algunos de los más sobresalientes son:

Jiménez-Martínez *et al.* (2001) trabajaron con semillas de *Lupinus campestris* para retirar o eliminar los alcaloides, taninos y oligosacáridos, para esto utilizaron tratamientos termo-alcalinos y termo-acuosos. Ellos lograron retirar los oligosacáridos en un 70 y 90% respectivamente, reduciendo los alcaloides a niveles inofensivos. El tratamiento termo-alcalino resulto ser más eficiente que el termo-acuoso. El contenido de taninos también tuvo una reducción del 71% con el tratamiento acuoso y del 77% con el termo-alcalino. Los resultados demostrarán que el tratamiento termo-alcalino es más eficiente en la eliminación de los ANFs.

Jiménez-Martínez *et al.* (2003) obtuvieron a partir de las semillas de *Lupinus campestris* un producto similar a la leche de vaca, con un 6.3% de proteínas utilizando un tratamiento termo-alcalino. Cuando esta leche fue pasteurizada e incubada con un cultivo de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* ssp *delbrueckii*, se obtuvo un rico yogurt con viscosidad similar al comercial y con pH de 4.02, 0.8% de ácido láctico y un contenido de bacterias ácido-lácticas de 3.2×10^8 CFU mL⁻¹. Las propiedades palatables y nutricionales de estos productos son comparable a otros productos comerciales.

Por la alta capacidad de fijación de nitrógeno que algunas de las especies del género *Lupinus* tiene y por su uso potencial para la restauración de suelos degradados, han llama la atención de profesionales de las Ciencias Forestales, de

este modo se han realizado investigaciones para su germinación con fines de manejo, como el realizado por Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo (2005) con *Lupinus montanus*. Ellos germinaron semillas previamente escarificadas con ácido sulfúrico a diferentes tiempos y las expusieron a distintas temperaturas y condiciones de luz. Encontraron un 100% de germinación en el régimen de temperatura 20/15 °C, luz y escarificación durante 15 minutos. La germinación se redujo a 98% bajo las mismas condiciones antes mencionadas excepto luz.

Martínez *et al.* (2008) trabajaron con *Lupinus bilineatus* Benht. para conocer su germinación y viabilidad considerando factores de escarificación natural por fuego y humo, además de escarificación artificial por inmercian a ácido sulfúrico a diferentes tiempos, a diferentes temperaturas y con luz y sin luz. Encontraron una pureza de 97%, viabilidad de 98% y una germinación máxima de 82.5% en el tratamiento de escarificación química de 30 o 40 minutos a 25-20 °C y con luz. A mayor tiempo de escarificación química mayor porcentaje de germinación.

Por otra parte, Hernández *et al.* (2008) sometieron semillas de *Lupinus montanus* a tratamientos pregerminativos con ácido y escarificación mecánica con desinfección y sin ella (70% de etanol y 0,5% de solución de cloro activo). Encontraron que la escarificación mecánica sin desinfección tuvo un 90% de germinación y que la desinfección después de la escarificación reduce el porcentaje de germinación a un 65%.

En América del Sur, Antúnez de Mayolo (1982), presenta varias evidencias de la importancia alimenticia que tuvo *Lupinus mutabilis* Sweet en la época prehispánica, pues el contenido de proteína en esta especie varía entre 41 y 51 % y el contenido de grasa entre 14 y 24 %.

Estas plantas presentan en sus semillas y follajes altos contenidos de alcaloides (Jiménez *et al.* 2001), sin embargo, los niveles de estos presentan una amplia variabilidad entre especies del género, lo que debe considerarse en la domesticación en programas de mejoramiento genético futuros.

Con relación a su distribución edáfica, Aldrete-Chavez *et al.* (2008) estudiaron cinco especies de *Lupinus* (*L. leptophyllus* Cham. & Schltdl., *L. montanus* H.B.K., *L. potosinus* Rose, *L. uncinatus* Schltdl., *L. versicolor* Sweet.) que crecen en la cara oriental de la montaña de Tlálloc en la Sierra Nevada, México. Encontraron que estas especies se distribuyen entre 2800 y 3700 m de altitud, en suelos migajón a migajón arcillo arenoso y diferentes características físicas y químicas en cada sitio en pH ligeramente ácido.

México es rico en recursos naturales, el crecimiento poblacional exige cada vez más contar con otras opciones para cubrir las demandas de alimentos (Jiménez *et al.*, 2003), lo que implica que se establezcan nuevos planes emergentes de producción y la apertura de nuevas áreas de producción para la siembra de especies agrícolas. No obstante, se ha explorado escasamente la posibilidad de utilizar otras especies que ofrezcan los productos obtenidos de las tradicionalmente cultivadas (Jiménez *et al.* 2003).

Tal es el caso del género *Lupinus* que crece en poblaciones densas de manera silvestre en México, en caminos, laderas de cerros, terrenos abandonados y en ecosistemas naturales perturbados (Aldrete *et al.*, 2008). Por su alto contenido de proteína en el grano (35-48%) y bajos niveles de proteína cruda (6-8%), estas leguminosas pueden ser aprovechadas previa eliminación de alcaloides, en la alimentación animal como suplementos forrajeros (Jiménez *et al.*, 2001) e incrementar la producción acuícola y ganadera en comunidades rurales de México (Aldrete *et al.*, 2010). Además, el género *Lupinus* al ser leguminosas, puede ser utilizado para la recuperación de suelos degradados por su capacidad de asociación micorrízica y bacteriana que le confieren la capacidad de fijación de nitrógeno (Stepkowski *et al.*, 2007).

Existen evidencias de domesticación de algunas especies de este género para su utilización como forraje en Europa (Stepkowski *et al.*, 2007), también para la

obtención de variedades mejoradas orientadas en la producción de granos para la alimentación animal en Europa y en Australia (Gladstone *et al.*, 1998; Jul *et al.*, 2003). En México se ha utilizado en la elaboración de yogurt empleando un procedimiento económico para eliminar los alcaloides (Jiménez-Martínez *et al.*, 2001).

Con base en lo anterior, se plantea iniciar estudios para la domesticación de *Lupinus campestris* Cham. & Schltl., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K. para tal fin se recolectaron semillas a diferentes altitudes y se evaluó, su crecimiento en un ambiente común para determinar diferencias que sería genéticas al eliminar el factor ambiental.

Descripción botánica de las especies

Lupinus campestris Cham. & Schltdl. (*L. pulchellus* Sweet)

Planta anual, bianual o perenne de vida corta; tallos con médula sólida, de 1.5 a 6 dm de alto. Densa y finamente canescentes a tomentosos, erectos, ramificados en la parte superior a manera de arbustos; estípulas a menudo moradas de 5 a 12 mm de largo, peciolo más largo de 4 a 8 cm de largo, esparcidamente canescente, folíolos de las hojas más grandes 6 a 8, folíolos más grandes de 4.5 a 8 cm de largo, de 9 a 15 mm de ancho, elípticos a elíptico-oblancheolados, ápice generalmente agudo, en ocasiones obtuso, mucronado, de color verde intenso en el haz y esparcidamente estrigosos, pálidos en el envés y fina a densamente canescente; racimos densos, las yemas jóvenes formando un cono compacto, brácteas pequeñas, filiformes, apenas visibles de 3 a 5.4 mm de largo, caducas; cálices finamente canescentes por fuera, con pocos pelos marginales por dentro, labio superior de 3.4 a 4.8 mm de largo, entero o con hendidura de 0.1 mm de profundidad, anchamente triangular; estandartes orbiculares, sus ápices emarginados, de 10.5 a 12.5 mm de largo, de 9 a 12.5 mm de ancho, alas de 11.5 a 14 mm de largo, quillas con ángulos de 80 a 90°, en apariencia glabras, pero con pocos cilios o esparcidamente ciliados a lo largo de márgenes superiores debajo del acumen; óvulos 7 a 9; legumbres de 4 a 5 cm de largo, de 8 a 9 mm de ancho, densamente canescente. Considerada como maleza en altitudes inferiores. También conocida en terrenos abandonados y orillas de camino en los estados de Jalisco; Michoacán, México, Morelos, Veracruz y Oaxaca. La cantidad de antocianinas en los tallos y en las estípulas varía con la altitud, puesto que las fomentan las noches frías (Calderón y Rzedowski, 2005) (Figura 1).



Figura 1. *Lupinus campestris* Cham & Schltdl.

Lupinus exaltatus Zucc. (*L. grandis* Rose)

Planta perenne, subfrutescente, de 1 a 2 m de alto; tallos de las ramas de 3 a 3.5 mm de diámetro, huecos fina y densamente hispídulos, con pelos extendidos de 0.2 mm de largo, invisibles sin ayuda de una lente; estipulas subulado setáceas, de 8 a 10 mm de largo, unidas a lo largo de 2 a 3 mm, peciolos de 2.5 a 5 cm de largo, foliolos 5 ó 6, elíptico-oblongos, finamente puberulentos en ambas caras, de color verde intenso en el haz, pálidos en el envés, los mayores de 5.5 a 6 cm de largo, de 16 a 20 mm de ancho, ápices agudos a obtusos y mucronados; racimos de 6 a 11 mm de largo, densamente verticilados, distantes 8 a 12 mm, brácteas caducas, pedicelos hispídulos, de 3 mm de largo en la floración, de 5 mm de largo en fruto; cáliz finamente seríceo a hispídulo, labio superior de 3.3 a 5.4 mm de largo, entero o con una hendidura de 0.2 mm de profundidad, anchamente triangular, la base por completo gibosa; estandarte obcordado, glabro, de 10.2 a 11.8 mm de largo, de 10 a 12.5 mm de ancho, alas

glabras, de 11 a 13 mm de largo, de 6 a 7.8 mm de ancho, quilla esparcida y finamente papilosa a ciliada en la parte superior hacia el acumen, en ángulo de 87 a 90°; óvulos 6 a 9; legumbres de 4 a 4.5 cm de largo, de 8 a 9 mm de ancho, finamente vellosas con pelos de 1.5 mm de largo. Se distribuye en Tlalpan, Tlalmanalco y Amecameca, a Altitudes de 2600-3700 m, en claros en medio de bosques de coníferas. También conocida de Morelos y Puebla y otras zonas de Estado de México (Calderón y Rzedowski, 2005).

Lupinus montanus. H.B.K (*L.vaginatus* Cham. & Schltdl., *L. glabrior* Rose)

Planta perenne, de 30 a 100 cm de alto; tallo hueco, de 4 a 15 mm de diámetro, puberulento con pelos finos, estipulas de 3 a 10 cm de largo, anchamente membranosas, peciolos de 6 a 20 cm de largo, foliolos 10 a 14, linear-elípticos a oblanceolados, agudos, mucronados, los mayores de 5.5 a 14 cm de largo, de 6 a 30 mm de ancho, en el haz esparcida y extendidamente estrigosos, esparcidamente noduloso-canescientes a pilosos en el envés; racimo de 8 a 30 cm de largo, con las flores verticiladas o esparcidas, brácteas de la parte inferior de 16 a 30mm de largo, las superiores reducidas; labio inferior del cáliz delgado, arqueado, de 8 a 9 mm de largo, lanceolado, canescente por fuera, finamente seríceo por dentro cerca del ápice, labio superior ovado, bidentado, de 7 mm de largo, bractéolas de 1.5 a 3 mm de largo; estandarte glabro, suborbicular, de 11.5 a 14 mm de largo, de 11 a 12 mm de ancho, más ancho por encima de la parte media, aplicando a lo largo de 8 mm, reflejo en 6.5 mm, a las de 12.8 a 15 mm de largo, quilla con papilas diminutas por encima de las uñas en la mitad inferior del margen del arco, el ángulo de 95 a 100°; óvulo 6 a 8; legumbres de 4 a 5 cm de largo, de 9 a 10 mm de ancho, encorvándose hacia arriba y hacia a fuera, finamente canescientes a pilosas. Se le encuentra en los Bosques de *Pinus*, *Quercus* y pradera alpina, conocida de Chihuahua a Guatemala (Calderón y Rzedowski, 2005) (Figura 2).



Figura 2. *Lupinus montanus* H.B.K

Semillas

Es un óvulo maduro, que consiste en embrión, su reserva alimenticia almacenada y sus cubiertas protectoras. El término semilla se usa también comúnmente para designar a los óvulos de frutos secos, indehiscentes, de una sola semilla, como cariósides, aquenios y nueces. Para esas semillas un término podría ser unidades de dispersión de semillas (Hartmann y Kester, 1992).

Germinación

Es el proceso de reactivación de la maquinaria metabólica de la semilla y la emergencia de la radícula (raíz) y de la plúmula (tallo), conducentes a la producción de una plántula (Hartmann y Kester, 1992). La germinación se inicia sólo si la semilla está suficientemente hidratada, lo cual ocurre por imbibición de agua por difusión, capilaridad o presión osmótica que produce un incremento del volumen, de tal manera que se crea una presión de turgencia hasta la ruptura de los tegumentos, situación importante y necesaria para que el proceso continúe y se inicie la respiración, la síntesis de proteínas y el metabolismo del embrión; este último se inicia con la remoción o degradación del ácido abscísico, que inhibe el

metabolismo y continua con la activación de enzimas y hormonas del crecimiento (giberelinas, auxinas y citocininas), finalmente se acelera la respiración que genera la energía metabólica y tiene lugar la asimilación de de compuestos simples por parte del embrión (López, 2005).

Síntesis de enzimas

La actividad de las enzimas empieza muy rápida después del inicio de la germinación, a medida que se hidrata la semilla. La activación resulta en parte de la reactivación de enzimas previamente almacenadas que se formaron durante el desarrollo del embrión y en parte de la síntesis de nuevas enzimas al comenzar la germinación.

El desarrollo de la semilla y su germinación representa un fenómeno biológico en el cual la maquinaria metabólica de la célula es “activada” o “suspendida” mediante el control del flujo de información genética del ADN de la célula. Expresada en forma simple, el proceso implica dos pasos básicos. Uno de ellos es la transcripción de instrucciones genéticas del ADN para formar moléculas específicas de ARN mensajero (ARNm). El segundo paso consiste en la traducción de esa información por medio de otro grupo de moléculas de ARN de transferencia (ARNt) para sintetizar proteínas específicas. Esas proteínas son enzimas que controlan las complejas reacciones bioquímicas que intervienen en el metabolismo y el crecimiento. La energía necesaria para esos procesos se obtiene de los enlaces fosfáticos de alta energía del trifosfato de adenosina (ATP) presente en los mitocondrios. La síntesis de enzimas durante la germinación requiere de moléculas de ARN que están presentes en el eje del embrión. (Hartmann y Kester, 1992). El agua que la semilla requiere para la germinación es proporcionada por el suelo, ésta no es sin embargo la única influencia de este recurso natural en la semilla, su germinación y establecimiento y desarrollo de la plántula. De acuerdo con Altamirano y Aparicio-Renteria (2002) la supervivencia y

crecimiento de las plántulas depende de factores proporcionados por el suelo como: fertilidad, humedad, temperatura y oxígeno entre otros factores.

El suelo y su importancia

El suelo es un cuerpo natural de profundidad variable, resultado del equilibrio dinámico que se establece entre los materiales geológicos que cubren la superficie terrestre y los factores externos, principalmente el clima y la vegetación; tiene materia orgánica y es capaz de soportar el crecimiento vegetal. Esto hace que los suelos nunca permanezcan estáticos y más bien están continuamente cambiando en estructura y en los procesos dinámicos internos (Mayer, 2005). Este recurso natural es el sistema clave para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres, dado que cumple con las importantes funciones de promover el crecimiento de las plantas, reciclar carbohidratos y nutrimentos por medio de la mineralización, transferir energía en la cadena alimenticia detritivora, actuar como un buffer ambiental, recibe, almacena y libera agua (Larson y Pierce, 1991), además de ser hábitat de una vasta diversidad de organismos y por ello, un reservorio de genes en su mayor parte desconocidos (Morrás, 2008). De estas funciones se derivan servicios ambientales indispensables para el sostenimiento tanto del ecosistema como de la vida humana.

Las plantas dependen del suelo para adquirir agua y sus nutrimentos esenciales excepto C, H y O. Hoy se reconoce la interdependencia de las actividades biológicas junto con las características físicas y químicas del suelo en el mantenimiento de su fertilidad (Manlay *et al.*, 2007). El agua y el suministro de nutrimentos por el suelo, particularmente N y P, determinan el crecimiento de las plantas en los ecosistemas naturales y agroecosistemas, desde luego la vegetación influencia las comunidades microbianas y las propiedades del suelo (Orwin y Wardale, 2005). Existe pues una realimentación positiva entre el suelo y la vegetación para el mantenimiento de la productividad.

En el ecosistema el suelo recicla carbohidratos y nutrimentos por medio de la mineralización. Los ciclos anuales de carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y de la mayoría de los nutrimentos esenciales, tienen lugar por los microorganismos en los primeros 10 cm del perfil de suelo (Murphy *et al.*, 2007), la magnitud y naturaleza química de estos ciclos está controlada por los organismos del suelo y de la rizósfera. Los microorganismos son responsables de muchas funciones y procesos que median las transformaciones químicas asociados con el ciclamiento de nutrimentos en el suelo, en este trabajo referiremos únicamente al importante proceso de fijación simbiótica del N₂ citado por (Murphy *et al.*, 2007) por estar involucradas especies de la familia Fabaceae, particularmente el género *Lupinus* que establecen simbiosis con bacterias del género *Rhizobium* para hacer posible la fijación del N₂ y con ello influenciar el crecimiento de las plantas en el ecosistema.

Es muy conocido y aceptado que en todo ecosistema, la fertilidad del suelo depende de los patrones de biodiversidad en virtud de que afectan las propiedades del suelo (Fu *et al.*, 2004) y de los almacenes orgánicos de las plantas y de la materia orgánica aportada al suelo (Wang *et al.*, 2004). Por otra parte, hay acuerdo de que la fertilidad del suelo en los ecosistemas agrícolas usualmente depende de la efectividad de los ciclos de nutrimentos dentro de los almacenes presentes en los ecosistemas naturales aledaños. He *et al.*, (1997) puntualizaron que en suelos muy intemperizados, la liberación de nutrimentos para las plantas por el intemperismo de los materiales geológicos está muy limitada y los procesos biológicos como la fijación biológica del nitrógeno juegan un papel clave en la sustentabilidad de su fertilidad.

El suelo en el ecosistema es el organizador central y sus procesos físicos químicos y biológicos, tienen un impacto determinante en la productividad, en su propia integridad y en los servicios ambientales que proporciona para el bienestar humano. A pesar de que, el suelo por su origen es un recurso natural intrínsecamente heterogéneo en tiempo y espacio (Orwin y Wardale. 2005).

Interrelación ambiente-especies

Para mejorar nuestro conocimiento científico sobre los recursos del suelo, es necesario estudiar la organización y función de este recurso natural a través de aproximaciones interactivas. El estudio de las interacciones físicas, químicas y biológicas del suelo, ha sido considerado a diferentes escalas, desde el nivel molecular hasta sistemas paisajísticos y su aproximación es esencial para impulsar investigaciones posteriores a fin de comprender las dinámicas y mecanismos de los procesos del suelo. Una alternativa es el estudio de la interacción suelo-planta, lo cual permitirá comprender su impacto ecológico pues esta interacción puede ser una retroalimentación positiva o negativa (Baver, 2003). La realimentación suelo-planta negativa, es definida como la condición negativa para el establecimiento, crecimiento y reproducción de plantas inducidas por las plantas mismas. Los mecanismos propuestos para explicarla incluyen disminución de nutrientes en el suelo (Ehrendfeld *et al.*, 2005), desarrollo de poblaciones de patógenos, el reemplazo de la composición de la comunidad de microorganismos del suelo, liberación de compuestos alelopáticos durante la descomposición de la materia orgánica que causa fitotoxicidad (Bonanomi *et al.*, 2006).

La realimentación positiva suelo-planta, es definida como la condición positiva para el establecimiento, crecimiento y reproducción de plantas inducidas por los vegetales mismos. Por ejemplo, árboles y arbustos con sistemas radicales extensos capturan nutrientes de los alrededores, conduciendo el ciclamiento local de nutrientes y acumulación de materia orgánica (Schlesinger *et al.*, 1996). Esto conduce a una distribución local de los nutrientes bajo el dosel llamada islas de fertilidad (Schlesinger *et al.*, 1990), que afecta positivamente el desarrollo de las especies (Rietkerk *et al.*, 2004). Lo cual demuestra los efectos positivos sobre otras especies (Callaway, 1995), y la progenie de las especies mismas (Wied y Galen, 1997).

En muchos ecosistemas es necesario conocer las especies que tienen una interacción positiva, las leguminosas son especies clave por introducir a esté cantidades importantes de nitrógeno, un macronutriente esencial que incrementa

la fertilidad del suelo y la productividad del ecosistema (Groos, 1982; Nieto *et al* 1997). La dinámica de nutrimentos en el suelo y en general el ciclo interno de nutrimentos del ecosistema, están frecuentemente determinados por el nitrógeno, de este modo tener un dominio sobre la reproducción *ex situ* de leguminosas como las del género *Lupinus* es de importancia en el manejo de ecosistemas naturales e inducidos para conservar su fertilidad, elevar su productividad o bien cuando se requiera conseguir su restauración (Rietkerk *et al.*, 2004).

La presente tesis se divide en dos capítulos, uno dedicado a Germinación de semillas de *Lupinus campestris* Cham. & Schltdl., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K. y en el otro se trabajó la Variación en el crecimiento de tres especies y poblaciones de *Lupinus* en un ambiente común.

CAPITULO I

Germinación de semillas de *Lupinus*
campestris Cham. & Schltdl., *L. exaltatus*
Zucc. y *L. montanus* H.B.K.

RESUMEN

El género *Lupinus* tiene el potencial de emplearse en plantaciones forestales y sistemas agroforestales. Sus semillas presentan latencia física. En el presente estudio se realizó una prueba de imbibición para determinar el método para eliminar la latencia física, porque se tiene evidencia que la testa impone restricción al paso de agua. Se aplicaron cuatro tratamientos de escarificación química, utilizando ácido sulfúrico (H_2SO_4), por 15, 25, 35 y 45 minutos, una de escarificación mecánica y un lote testigo. Se determinó como mejor tratamiento la prueba de escarificación mecánica cortando una sección de la testa en el lado opuesto de la inserción de embrión, con una navaja de disección.

Se evaluó la germinación bajo diferentes regímenes de temperatura de varias localidades de *Lupinus campestris* Cham. & Schltdl., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K., utilizando la escarificación anteriormente señalada. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar, con los bloques anidados dentro del factor temperatura. Se utilizaron tres cámaras de ambiente controlado con diferentes regímenes de temperatura (día/noche): 15/10 °C, 20/15 °C y 25/20 °C y termoperíodo de 12 horas luz. Se determinaron diferencias significativas para los factores temperatura, especie y población.

Las interacciones no fueron significativas. Se obtuvo mayor germinación con las temperaturas de 15/10 y 20/15°C, 91.5 y 90.1% sin diferencias estadísticas entre ambas. No hubo significancia para la interacción poblaciones con los niveles de temperatura.

Palabras clave: *Lupinus campestris*, *Lupinus exaltatus*, *Lupinus montanus*, germinación, temperatura.

ABSTRACT

The genus *Lupinus* has the potential to be used in forest plantations and agroforestry systems. Its seeds have physical dormancy. In the present study was performed an imbibition test to determine the method to remove physical dormancy, because there is evidence that the seed coat imposes restrictions on the passage of water. Four treatments were applied chemical scarification using sulfuric acid (H_2SO_4), for 15, 25, 35 and 45 minutes, a mechanical scarification and a control. The best treatment was the mechanical scarification, cutting a section of the seed on the opposite side of the insertion of embryo, with a dissection razor.

Germination of *Lupinus campestris* Cham. & Schltdl. *L. exaltatus* Zucc. and *L. montanus* H.B.K. seeds from different localities, using the scarification mentioned above, was evaluated. The experimental design was a randomized complete block, with blocks nested within the temperature factor. We used three controlled environmental chambers with different temperature regimes (day / night): 15/10 °C, 20/15 °C and 25/20 °C with 12 hours light. Significant differences for the factors temperature, species and population were found. The interactions were not significant. The highest germination was obtained with temperatures of 15/10 and 20/15 °C (91.5 and 90.1%), with no statistical differences between both of them. There was no interaction populations with levels of temperature.

Key words: *Lupinus campestris*, *Lupinus exaltatus*, *Lupinus montanus*, germination, temperature.

INTRODUCCIÓN

El género *Lupinus*, perteneciente a la familia Fabaceae, comprende entre 300 a 500 especies distribuidas en la región mediterránea y en las Américas. Las plantas de este género son herbáceas o arbustos, anuales o bianuales, con hojas palmeadas que son típicamente compuestas, y las inflorescencias forman flores dispuestas en racimos terminales pedunculados, que normalmente sobresalen del follaje (Rzedowski *et al.*, 1979). Las plantas del género *Lupinus* son conocidas por diversos nombres comunes, así en España recibe el nombre de *Lupino*, mientras que en América del Sur se les llama: lupin, lupino, chocho o tarwi (Hernández *et al.*, 2008). En el centro de México se le conoce mayormente como Flor de San Juan.

El género *Lupinus* es común en localidades con pinares y zacatones, previamente incendiados, en zonas como el Estado de México (Rzedowski, 1981), Colima, Guadalajara, Morelos, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Tlaxcala y Veracruz (Mc Vaugh, 1987; Calderón y Rzedowski, 2005). Se han reportado hasta 150 especies ampliamente distribuidas en toda América (Sánchez, 1984), pero a pesar de la existencia de varias especies en México, éstas han sido poco estudiadas.

La semillas de los *Lupinus* tienen una latencia de carácter físico; como en muchas otras leguminosas, la semilla tiene una germinación óptima después de aplicarle un tratamiento pregerminativo, destinado a reblandecer la cubierta seminal (Baskin y Baskin, 2001).

Para conseguir el uso exitoso de especies nativas de *Lupinus*, ya sea en sistemas agrosilvopastoriles, restauración ecológica y reforestación en general, o bien su domesticación por los niveles altos de proteínas que presentan las semillas, es necesario el conocimiento sobre la biología, la ecología, la propagación y el manejo de las especies encontradas en México.

Los *Lupinus* se asocian en simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno, en particular del género *Bradyrhizobium*. Esta asociación puede utilizarse en la rehabilitación de suelos marginales por incrementar los contenidos de nitrógeno disponibles para las plantas, además la biomasa de *Lupinus* también puede ser utilizada como abono verde (Groos, 1982; Nieto *et al.*, 1997).

En Nueva Zelanda y en Sudamérica, el género *Lupinus* se ha empleado como fijador de nitrógeno (N), para incrementar el contenido de este nutrimento en los suelos de plantaciones forestales, así como en la producción melífera (Shepherd, 1986). Por su gran adaptación y por que el contenido de proteínas y de aceite, superior al de otras especies cultivadas se podrían aprovechar para la alimentación del ganado y consumo humano, previa eliminación de los alcaloides (Martínez *et al.*, 2001), además tiene la ventaja de poder ser cultivada en altitudes superiores los 2,000 m.

El género *Lupinus* tiene altos contenidos de proteína en las semillas (hasta un 48%) y un aporte adecuado de fibra, carbohidratos y minerales (Groos y Von Baer, 1977; Ruiz López *et al.*, 2006), las semillas de variedades amargas, dulces y semi dulces de *Lupinus* se han utilizado desde tiempos remotos en la alimentación humana y animal. Sin embargo, existe un interés en el estudio y utilización de especies silvestres, en especial como fuente genética y de metabolitos secundarios. Cuando se trata de semillas, lo deseable es obtener una alta respuesta de germinación. Sin embargo, los *Lupinus* muestran latencia física, asociada al endurecimiento de la testa de la semilla, por lo que es impermeable al agua (Rodríguez y Rojo, 1997). Existen diversos métodos de escarificación para romper la latencia física, los más habituales son los químicos y mecánicos. Con el fin de producir las plántulas de *Lupinus campestris* Cham. & Schltdl., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K., para este trabajo se probaron algunos métodos de escarificación para obtener una mejor germinación para estas especies. Además las pruebas de germinación se practicaron en tres temperaturas, asumiendo que el

origen altitudinal afectará la capacidad y velocidad germinativa de las semillas de dichas especies.

Esta propuesta de investigación incluye determinar un método pregerminativo apropiado para realizar una prueba de germinación bajo tres diferentes temperaturas para *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, procedentes de distintas localidades a diferentes elevaciones.

Objetivos generales

- ❖ Determinar diferencias en la germinación de las semillas entre las tres principales especies de *Lupinus* de la región de Valles de Libres y Serdán, Pue, *L. campestris* Cham. & Schltdl., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K. bajo diferentes regímenes de temperaturas.
- ❖ Determinar si el origen altitudinal entre especies y localidades de *Lupinus campestris*., *L. exaltatus* y *L. montanus* influyen la germinación de semillas bajo diferentes temperaturas.

Objetivos específicos

- ❖ Determinar el mejor método pre-germinativo para las tres especies a través de la tasa de imbibición.
- ❖ Determinar el porcentaje de germinación de semillas de algunas localidades de *Lupinus campestris*., *L. exaltatus* y *L. montanus* a diferentes regímenes de temperaturas.

Hipótesis

Por lo menos uno de los tratamientos escarificatorios promoverá la imbibición de las semillas de *Lupinus*.

La semilla de *Lupinus* tendrá diferencias en su germinación debidas a la temperatura de germinación, la especie, la población y a las interacciones entre tales factores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de las zonas de recolección de semillas

La región de los Valles de Libres y Serdán coincide con el área territorial del Distrito de Desarrollo Rural número 4 de Libres, Puebla, que se localiza en la parte central de este estado (Figura 3), entre las coordenadas 18°44' y 19°36' de latitud norte y entre los 97°04' y 97°49' de longitud oeste, a una altitud que varía de 1,800 a 5,545 m (INEGI, 2004).

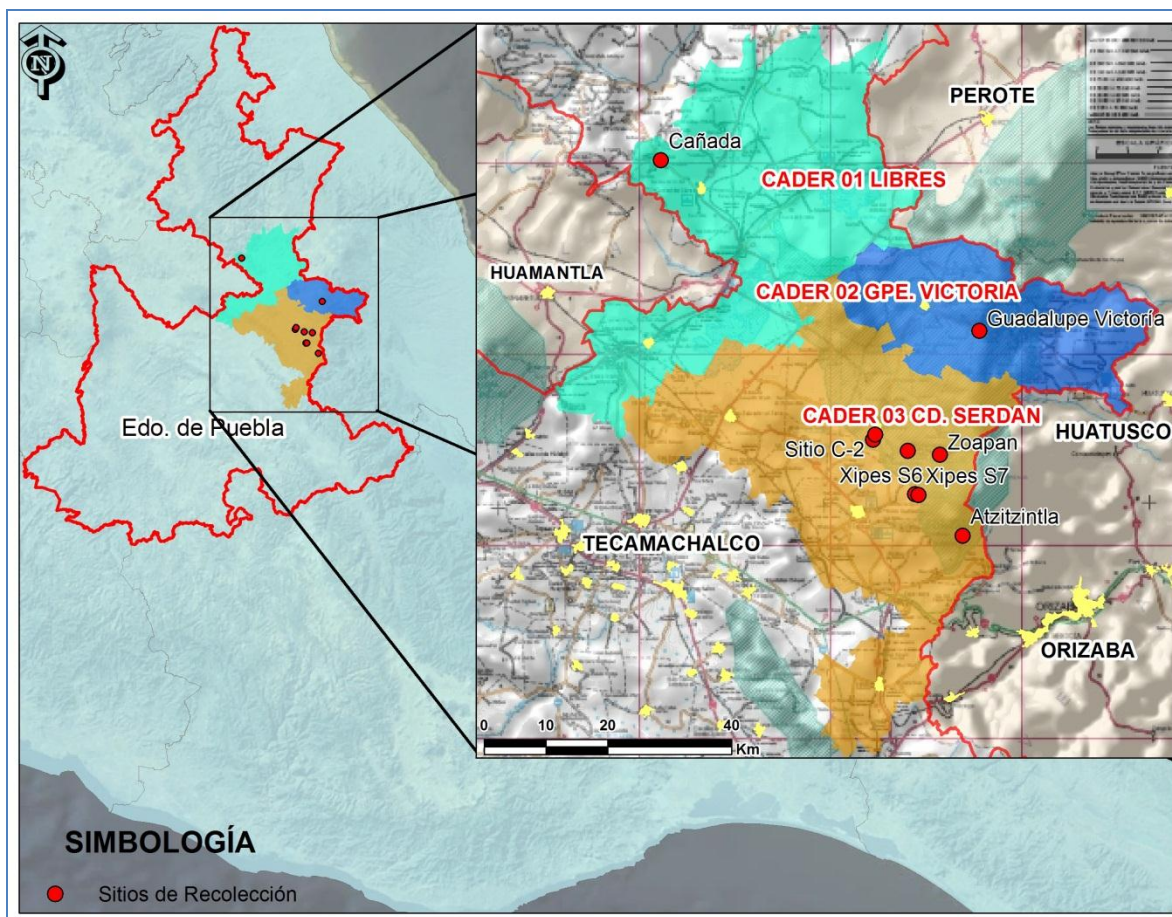


Figura 3. Localización de las zonas de recolección de *Lupinus* en el estado de Puebla (Puntos rojos) (SNIARN 2008).

El Plan Llanos de Serdán (1994) cita que el clima presenta una amplia variabilidad, que va desde el semiseco templado (BS kw), en la parte centro sur; el templado subhúmedo (C(Wo)(W)) localizado en parte de Serdán, y el clima de humedad media (C(W)(W)) situado en las áreas de lomeríos o faldas de los volcanes (Figura 4).

La temperatura en la parte de Valle de Libres, tiene un intervalo de 14-16 °C, en las partes intermedias de 12-14 °C y en los volcanes la temperatura varía de 0-4 °C. La temperatura media anual de la región es de 13.6 °C.

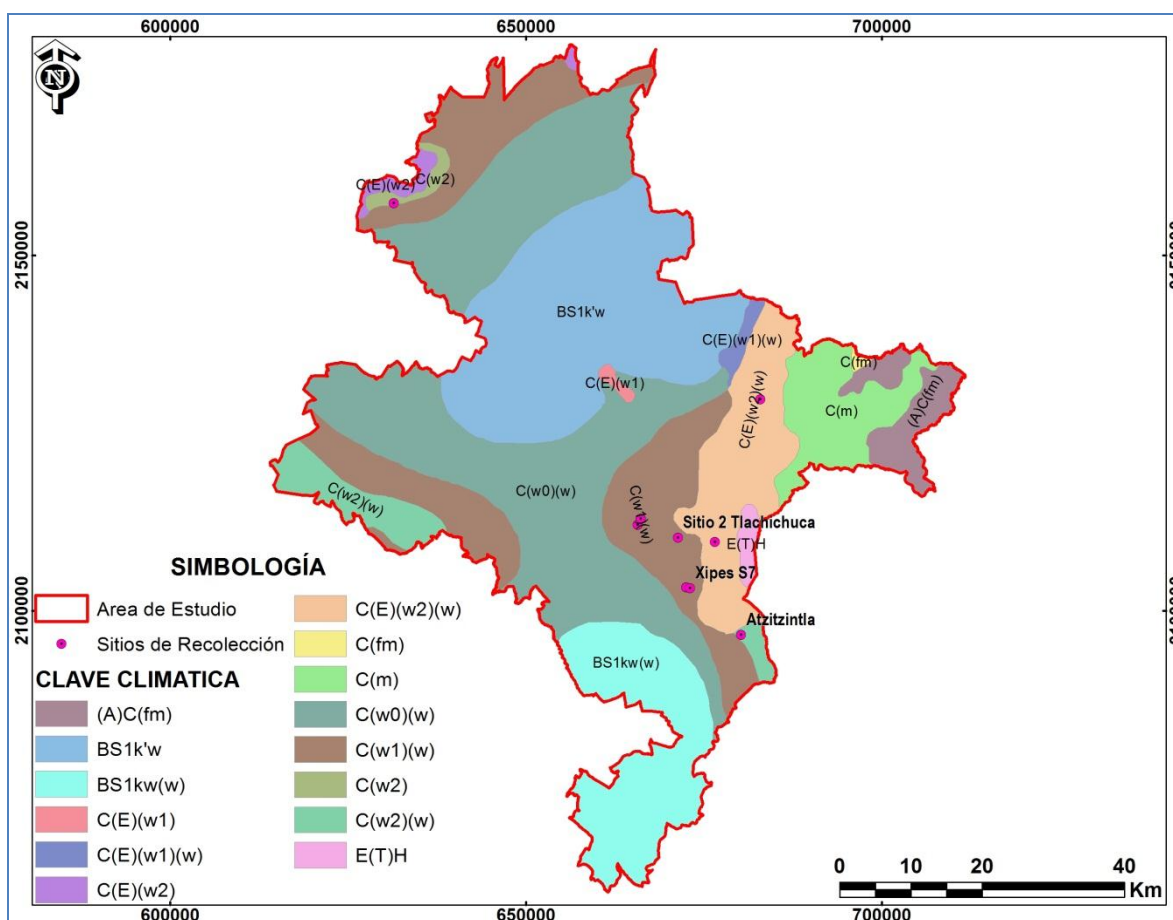


Figura 4. Principales tipos de climas en los Valles de Libres y Serdán, Puebla (SNIARN 2008).

La temperatura en la parte de Valle de Libres tiene un intervalo de 14-16 °C, en las partes intermedias de 12-14 °C y en los volcanes la temperatura varía de 0-4 °C. La temperatura media anual es de 13.6 °C. La temperatura media anual que se presenta en la mayor parte del área corresponde a una de tipo templado y en menor proporción se tienen temperaturas frías y cálidas.

La precipitación oscila entre 400-1,500 mm anuales. Las precipitaciones más altas se presentan en las inmediaciones de los volcanes, de 1,000-1,500 mm anuales. La precipitación promedio anual es de 596 mm. Las precipitaciones totales anuales más frecuentes son de los 400 a 800 mm (Figura 5).

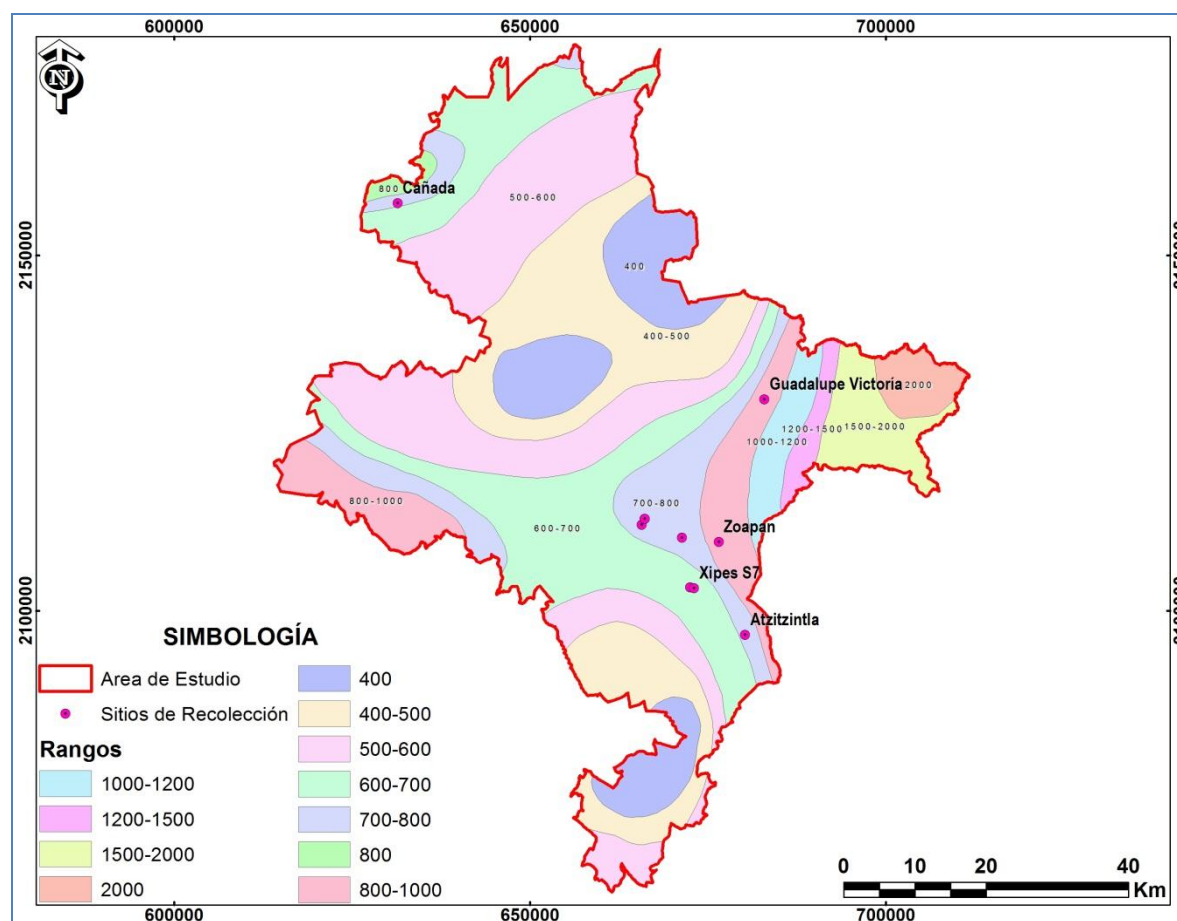


Figura 5. Precipitación media anual en la zona de Valle de Libres y Serdán, Puebla (SNIARN 2008).

En los sitios de recolecta del germoplasma de *Lupinus*, los principales grupos de suelo de referencia que se presentan de acuerdo con la Base Referencial Mundial del Recurso Suelo (WRB por sus siglas en inglés), versión 2007 son: Regosol, Andosol y Leptosol (Figura 6 y Cuadro 1).

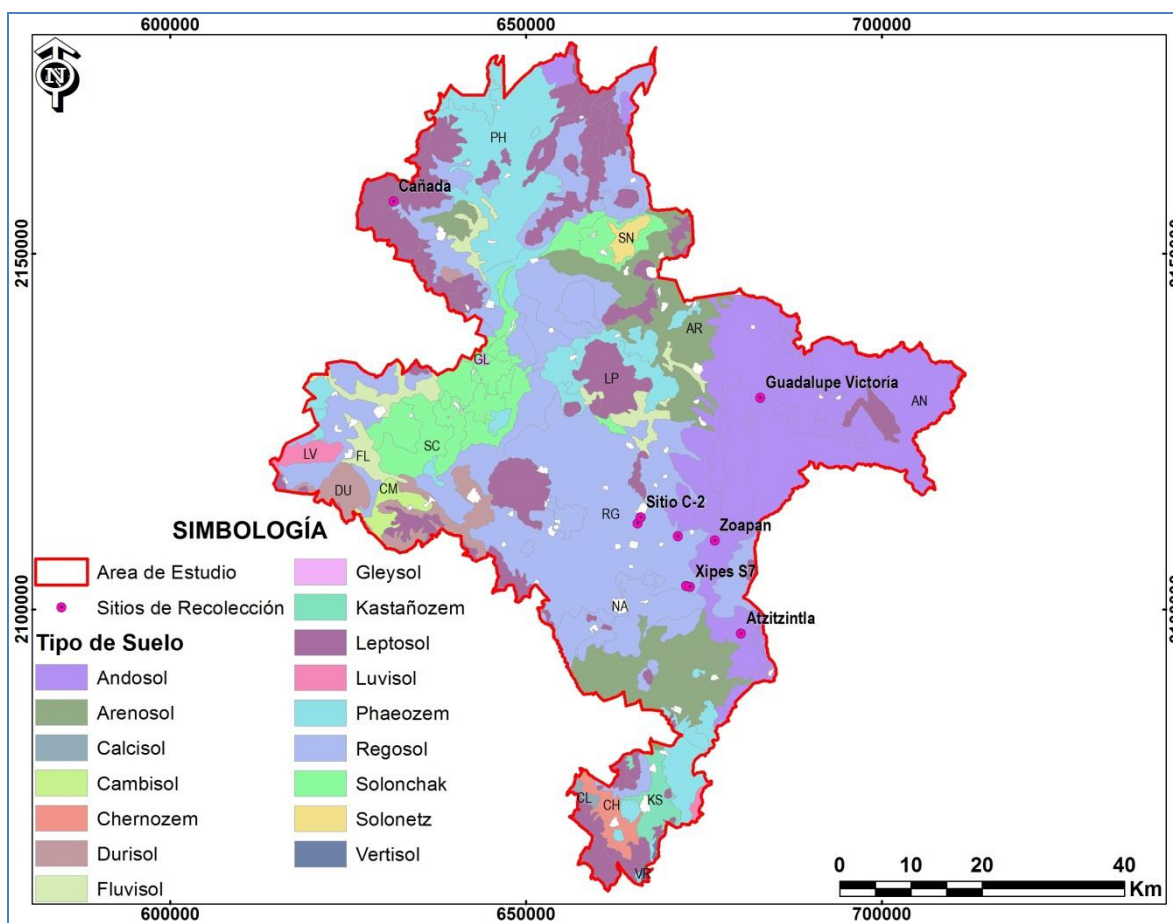


Figura 6. Principales tipo de suelos en la zona de Valle de Libres y Serdán, Puebla (SNIARN 2008).

Recolecta de germoplasma

Se realizaron recolectas en 10 poblaciones del género *Lupinus* en la región del Valle de Libres y Serdán en el estado de Puebla (Cuadro 1). En cada localidad se recolectaron vainas maduras de al menos 30 plantas, en un número suficiente para obtener al menos 5 000 semillas de cada una de las 10 poblaciones.

Cuadro 1. Localización y tipo de suelos de las poblaciones de *Lupinus campestris* Cham. & Schltld., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K. usadas para esta investigación.

Zona de recolecta	Especie	Latitud	Longitud	Elevación (msnm)	Tipo de suelo
Guadalupe Victoria	<i>L. campestris</i>	19°15'08.9"	97°15'33.4"	3115	Andosol
Sitio 2	<i>L. campestris</i>	19°04'40.1"	97°22'16.0"	2865	Regosol
Sitio B 13	<i>L. campestris</i>	19°05'40.5"	97°25'28.3"	2642	Regosol
Sitio C2	<i>L. campestris</i>	19°06'08.4"	97°25'14.7"	2637	Regosol
Sitio C	<i>L. campestris</i>	19°06'08.4"	97°25'14.7"	2637	Regosol
Cañada	<i>L. campestris</i>	19°30'21.2"	97°44'50.3"	2615	Leptosol
Xipes 6	<i>L. exaltatus</i>	19°00'52.0"	97°21'38"	3080	Regosol
Zoapan	<i>L. montanus</i>	19°04'19.5"	97°19'18.9"	3300	Andosol
Xipes 7	<i>L. montanus</i>	19°00'48.0'	97°21'20.0"	3200	Regosol
Atzitzintla	<i>L. montanus</i>	18°57'12.0"	97°17'16.5"	3100	Andosol

Las vainas recolectadas se colocaron y se conservan en bolsas de papel de estraza por dos o tres días en un invernadero para que abrieran completamente. Una vez obtenidas las semillas fueron almacenadas en un recipiente hermético que se colocó en un refrigerador a 4-5°C. De cada localidad se recolectaron algunos ejemplares para cotejar la identificación de la especie en el herbario de MEXU.

Prueba de imbibición

Con el fin de determinar el mejor método para eliminar la latencia física, ya que se tiene evidencia que la testa impone restricción al paso de agua (Rodríguez *et al.*, 2008; Hernández *et al.*, 2008), se realizó una prueba con cuatro tratamientos de escarificación química, uno de escarificación mecánica y un testigo (Cuadro 2). Por cada tratamiento se utilizaron 100 semillas de cada lote de *L. campestris* y *L. montanus* (Figura 7).



Figura 7. Conteo de semillas de *Lupinus*.



Figura 8. Determinación del peso de semillas de *Lupinus*.

Se contaron 100 semillas y se pesó cada muestra para tener el peso seco inicial de la semilla usando una balanza electrónica con aproximación de 0.01 g (Figura 8). Cada uno de cuatro lotes de 100 semillas se sometieron a una escarificación química con ácido sulfúrico (H_2SO_4) a una concentración de 97.9 % por 15, 25, 35 y 45 minutos. Después de la escarificación, cada lote de semillas se lavó con abundante agua destilada hasta eliminar los residuos de ácido, en seguida se eliminó el exceso de agua de las semillas con papel secante. Un quinto lote de 100 semillas fue pesado y se procedió a escarificarlo mecánicamente, realizando un corte de la testa de 1 a 1.5 mm de largo en el lado opuesto a la inserción del embrión. Finalmente se pesó un lote de 100 semillas que no recibió tratamiento de escarificación (lote testigo).

Todas las semillas de los distintos lotes se sometieron a imbibición en agua destilada por 12 horas, cada 60 minutos se registró el peso de cada lote de 100 semillas, previa eliminación del exceso de agua con papel secante. Con los datos

obtenidos se construyó una curva de imbibición de agua para *L. campestris* y *L. montanus* (Figura 9).



Figura 9. Prueba de imbibición de las semillas de *Lupinus*.

La tasa de imbibición se calculó tomando el peso inicial del lote de semilla y el peso de cada hora de evaluación:

$$I = P_h - P_i$$

Donde:

I = imbibición

Ph = peso de 100 semillas húmedas, cada 60 minutos

Pi = peso inicial de las 100 semillas de cada lote

Cuadro 2. Semillas de *Lupinus campestris* Cham. & Schldl. y *L. montanus* H.B.K. escarificadas para las pruebas de imbibición.

Especies	Población	Semillas
<i>L. campestris</i> escarificada	Guadalupe Victoria	500
<i>L. campestris</i> testigo	Guadalupe Victoria	100
<i>L. montanus</i> escarificada	Xipes 7	500
<i>L. montanus</i> testigo	Xipes 7	100
Total		1200

Germinación

Diseño del experimento

Se utilizaron tres cámaras de ambiente controlado, cada una se programó con diferentes regímenes de temperatura (día/noche): 15/10 °C, 20/15 °C y 25/20 °C, todas con un termoperiodo de 12 horas luz. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar, con los bloques anidados dentro del factor temperatura (Figura 10).



Figura 10. Establecimiento con diferentes regímenes de temperatura en las cámaras de ambiente controlado.

Para este experimento se utilizaron 50 semillas por unidad experimental, para un total de 8400 semillas en el experimento. Fueron desinfectadas con agua oxigenada, se continuó con su escarificación mecánica, la cual consistió en realizar un corte de la testa de 1 a 1.5 mm de largo en el lado opuesto a la inserción del embrión (Figura 11).



Figura 11. Conteo y escarificación mecánica de semillas del género *Lupinus*.

Para la prueba de germinación se utilizaron cajas de plástico previamente desinfectadas con una solución de cloro al 1%. Cada caja representó un bloque y contuvo a las siete poblaciones (Figura 12 y 13). Se utilizaron ocho bloques y 50 semillas por población-bloque (caja), es decir un total de 400 semillas por población en cada temperatura, y un total de 8400 semillas en el experimento (7 poblaciones x 50 semillas x 8 bloques x 3 temperaturas). Como sustrato de germinación se usó tela fieltro (Figura 14 y 15) y (Cuadro 3).



Figura 12. Disposición de 50 semilla (izquierda) y las cajas (derecha) que sirvieron como bloques para la prueba de germinación de siete localidades de tres especies de *Lupinus*.

Cuadro 3. Semillas de *Lupinus* escarificadas por corte en la testa para el experimento de germinación.

Especie	Población	Semillas
<i>Lupinus campestris</i>	Guadalupe Victoria	400
<i>Lupinus campestris</i>	Sitio B13	400
<i>Lupinus campestris</i>	Sitio C2	400
<i>Lupinus campestris</i>	Cañada	400
<i>Lupinus exaltatus</i>	Xipes 6	400
<i>Lupinus montanus</i>	Zoapan	400
<i>Lupinus montanus</i>	Xipes 7	400
Total		2800
Total para las tres temperaturas 2800 x 3		8400



Figura 13. Preparación del fungicida y la siembra de semillas de tres especies de *Lupinus*



Figura 14. Muestra de disposición de las siete poblaciones de las semillas de *Lupinus*.



Figura 15. Siembra y semillas germinadas de *Lupinus*.

La figura 16 exhibe la disposición del diseño experimental. En el cuadro 1 se proporciona los datos de las áreas de recolección de semillas, las cuales son mostradas en la figura 3.

Régimen de temperatura 15/10 °C.

Bloque 1						
4	5	7	2	1	3	6
Bloque 2						
2	6	1	7	5	3	4
Bloque 3						
7	4	5	1	3	6	2
Bloque 4						
7	5	2	6	4	1	3
Bloque 5						
6	1	2	3	4	5	7
Bloque 6						
1	5	6	7	3	4	2
Bloque 7						
3	1	4	6	7	2	5
Bloque 8						
2	1	6	5	3	7	4

Régimen de temperatura 20/15 °C.

Bloque 1						
5	6	4	7	1	3	2
Bloque 2						
4	3	2	1	7	5	6
Bloque 3						
6	7	4	2	5	1	3
Bloque 4						
1	4	5	7	2	3	6
Bloque 5						
2	3	6	1	7	4	5
Bloque 6						
6	7	5	3	1	4	2
Bloque 7						
4	7	2	5	6	3	1
Bloque 8						
4	3	1	5	2	6	7

Régimen de temperatura 25/20 °C.

Bloque 1						
7	6	4	2	3	1	5
Bloque 2						
3	4	1	7	2	5	6
Bloque 3						
1	2	3	4	5	6	7
Bloque 4						
2	3	5	6	1	7	4
Bloque 5						
3	7	6	5	4	1	2
Bloque 6						
5	1	7	6	3	2	4
Bloque 7						
4	2	5	7	6	3	1
Bloque 8						
2	4	6	1	3	5	7

Figura 16. Diagrama del diseño experimental utilizado en la prueba de germinación en cada régimen de temperatura. Los números representan las poblaciones según en cuadro 1.

Análisis estadístico

Los datos de la germinación fueron transformados mediante la función arco seno. A continuación se les practicó el análisis de varianza utilizando el procedimiento mixto (Proc Mixed) del programa SAS (Statistical Analysis System Institute, 2002), para microcomputadoras, también se hicieron comparaciones de medias utilizando el mismo programa.

Modelo estadístico

Para el porcentaje de germinación, se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + \beta_{j(i)} + S_k + TS_{ik} + \beta S_{ijk} + P_{l(k)} + TP_{ilk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = porcentaje de germinación de parcela que incluye la población l de la especie k en la repetición j en la temperatura i .

μ = media general

T_i = efecto fijo del i -ésimo nivel del factor temperatura.

$\beta_{j(i)}$ = efecto aleatorio del j -ésimo bloque anidado dentro del i -ésimo nivel del factor temperatura.

S_k = efecto fijo del k -ésimo nivel del factor especie.

TS_{ik} = efecto fijo de interacción entre el i -ésimo nivel del factor temperatura y la k -ésima especie.

βS_{ijk} = efecto aleatorio de la interacción entre el j -ésimo bloque anidado en temperatura por la k -ésima especie.

$P_{l(k)}$ = efecto fijo nivel del factor población anidado en especie.

TP_{ilk} = efecto fijo de la interacción entre el i -ésimo nivel de temperatura por la l -ésima población.

ε_{ijkl} = error experimental

RESULTADOS

Pruebas de imbibición

De los tratamientos de escarificación probados, las semillas en ambas especies con escarificación mecánica son las que presentaron un incremento rápido en su peso en relación a los demás tratamientos probados (Figura 17). Se encontró un incremento en peso de 2.05 g, que corresponde a agua de imbibición, en las 100 semillas respecto al testigo al cabo de tan solo 60 minutos. A las cinco horas las semillas habían absorbido el 88.2% del agua que son capaces de absorber. Cuando las semillas de estas especies no son escarificadas, no incrementan su peso cuando son colocadas en agua, es decir, presentan una cubierta que es impermeable al agua pues no se encontró incremento de peso por imbibición en las 26 horas que duró el experimento. Esta es una adaptación de las semillas a fuego, seguía bajas temperaturas del ambiente en el que se han desarrollado, pues la latencia física asegura que el embrión esté quiescente, pero se encuentra cerrado dentro de una cubierta impermeable que puede preservar a la semilla con bajo contenido de humedad durante varios años en la naturaleza (Baskin y Baskin, 2001).

Por otra parte, los tratamiento de escarificación con H_2SO_4 al 97.9% incrementan la permeabilidad de la cubierta de las semillas a medida que el tiempo de escarificación se incrementa sin embargo, una exposición de 45 minutos al ácido concentrado tan sólo permitió incrementar la imbibición de agua por parte de la en únicamente 1.1g de agua en las 26 horas que duró el experimento. Esta cantidad de agua que ha sido absorbida, no asegura una germinación de la semilla, menos aun si consideramos que en la naturaleza el entorno edáfico, particularmente la materia orgánica, las arcillas, las raíces vivas de las plantas y los electrolitos en solución entre otros factores, compiten por el agua con las semillas y difícilmente el ambiente edáfico del hábitat de las especies de *Lupinus* se encontrará en un contenido de agua tan elevado como se han puesto las semillas en el laboratorio.

Tanto en *Lupinus campestris* como en *L. montanus* los resultados fueron similares, es decir, la escarificación mecánica fue la que mostró la mejor imbibición con respecto a cualquiera de los tratamientos con ácido y el testigo (Figuras 17 y 18). Con base en esta prueba, se tomó la decisión de utilizar la escarificación mecánica.

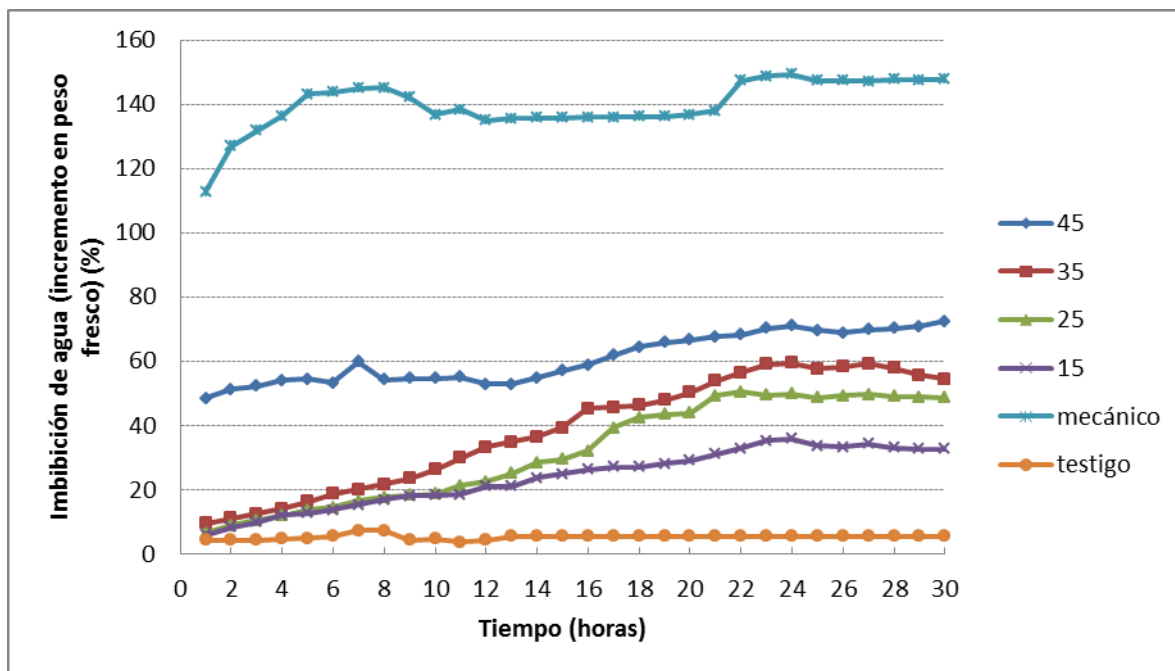


Figura 17. Curva de imbibición de agua de semillas de *Lupinus campestris* Cham. & Schldl. Los números de la leyenda representan tiempos (min) de escarificación en ácido.

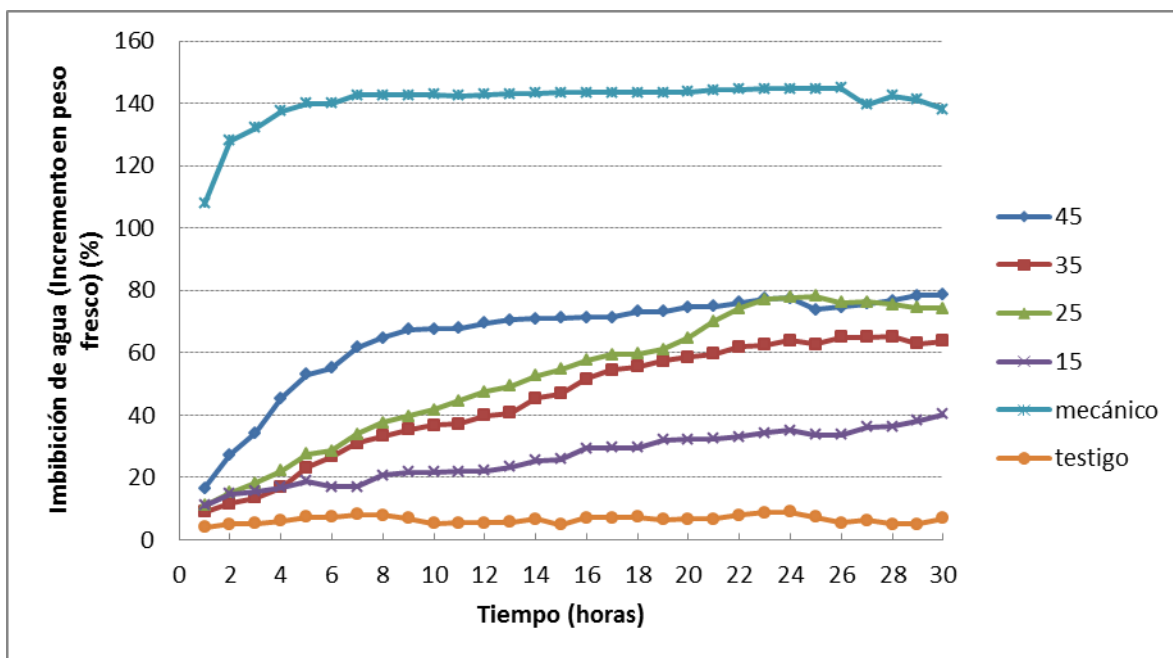


Figura 18. Curva de imbibición de agua de semillas de *Lupinus montanus* H.B.K. Los números de la leyenda representan tiempos (min) de escarificación en ácido.

En resumen, para las dos especies en que se realizó la prueba de imbibición, el tratamiento de escarificación mecánica fue donde se obtuvo una mayor absorción de agua, en este mismo tratamiento es donde se registró a los tres días la ruptura de las cubiertas de la semilla y consecuentemente se observó el desarrollo de la radícula, haciendo evidente el proceso de germinación.

Germinación

Con base en el análisis estadístico, se encontraron diferencias significativas para los factores temperatura, especie y población. Las interacciones no fueron significativas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados del análisis de varianza para la prueba de germinación bajo diferentes regímenes de temperatura para tres especies de *Lupinus* y varias localidades dentro de éstas.

Factor o interacción	F	P
Temperatura	21.74	<.0001
Especie	10.20	0.0002
Temperatura * Especie	0.81	0.5271
Población (especie)	11.62	<.0001
Temperatura*Población (Especie)	0.86	0.5543

A continuación se analiza individualmente cada factor que resultó significativo. Respecto al factor temperatura, los regímenes de temperatura intermedio (20/15 °C) y bajo (15/10 °C), mostraron mayor germinación que el régimen con temperaturas más elevadas (25/20 °C) (Cuadro 5 y Figuras 19, 20 y 21).

Cuadro 5. Valores medios y error estándar para la germinación a diferentes temperaturas de todos los lotes de tres especies de *Lupinus*.

Temperatura° C	Germinación media (%)
20/15	91.5 ± 2.2 a
15/10	90.5 ± 2.2 a
25/20	72.9 ± 2.2 b

La germinación de las semillas de *Lupinus campestris* no resultó diferente a la obtenida en *L. exaltatus*, y ambas superaron significativamente a la capacidad germinativa de *L. montanus* (Cuadro 6).

Cuadro 6. Valores medios y error estándar para la germinación de tres especies de *Lupinus*.

Especie	% de Germinación
<i>Lupinus campestris</i>	87.4 ± 1.5 a
<i>Lupinus exaltatus</i>	86.6 ± 2.2 a
<i>Lupinus montanus</i>	79.4 ± 1.8 b

Respecto al factor población, la prueba de comparación de medias arrojó que la población 4 (Sitio B 13) tuvo una mayor germinación que las poblaciones 2 (Xipes 7), 5 (Sitio C2) y 3 (Zoapan). Sin embargo, dicha población 4 (Sitio B 13) no mostró diferencias significativas con respecto a las poblaciones 1 (Xipes 6), 6 (Guadalupe Victoria) y 7 (Cañada). Por otra parte, la menor germinación se registró para la población 3 de *L. montanus* (Zoapan), que tuvo diferencias estadísticamente significativas con cada una de las restantes poblaciones. Finalmente, la población 5 (Sitio C2) exhibió la segunda menor germinación, pero sin diferencias con las poblaciones 1 (Xipes 6), 2 (Xipes 7), 5 (Sitio C2) y 6 (Guadalupe Victoria) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Valores medios y error estándar para la germinación de siete poblaciones de tres especies de *Lupinus* promediando los tres regímenes de temperatura.

Especie	Población	Media de la germinación
<i>L. campestris</i>	4 (Sitio B13)	92.2 $\pm$ 2.2 a
<i>L. campestris</i>	7 (Cañada)	90.0 $\pm$ 2.2 ab
<i>L. exaltatus</i>	1(Xipes 6)	86.6 $\pm$ 2.2 abc
<i>L. campestris</i>	6 (Guadalupe Victoria)	86.4 $\pm$ 2.2 abc
<i>L. montanus</i>	2 (Xipes 7)	85.5 $\pm$ 2.2 bc
<i>L. campestris</i>	5 (Sitio C2)	80.8 $\pm$ 2.2 c
<i>L. montanus</i>	3 (Zoapan)	73.3 $\pm$ 2.2 d

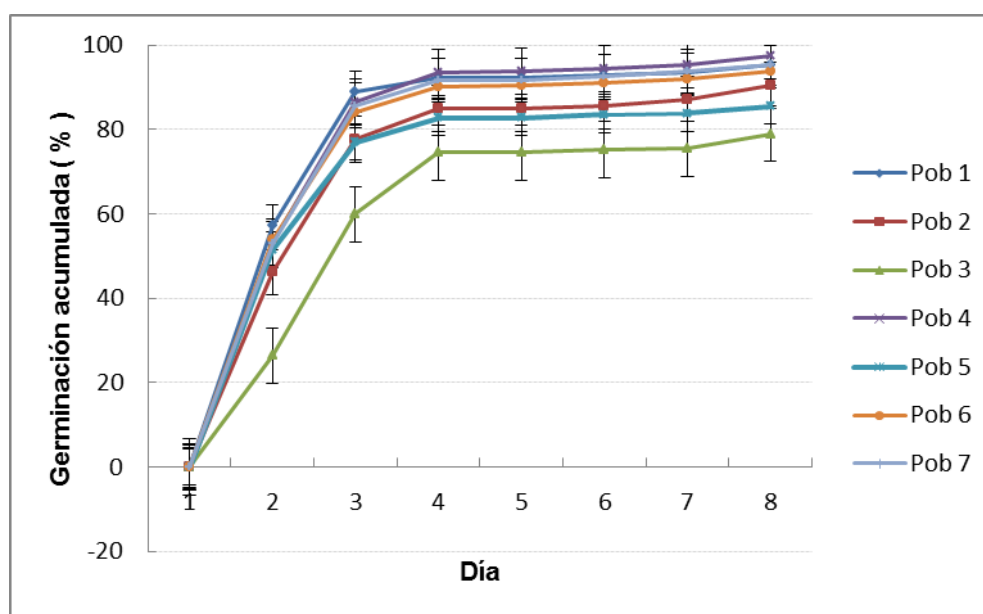


Figura 19. Efecto de la temperatura 15/10 °C en la germinación de las semillas de las distintas poblaciones de *Lupinus*. Población 1 (Xipes 6), Población 2 (Xipes 7), Población 3 (Zoapan), Población 4 (Sitio B 13), Población 5 (Sitio C2), Población 6 (Guadalupe Victoria), Población 7 (Cañada).

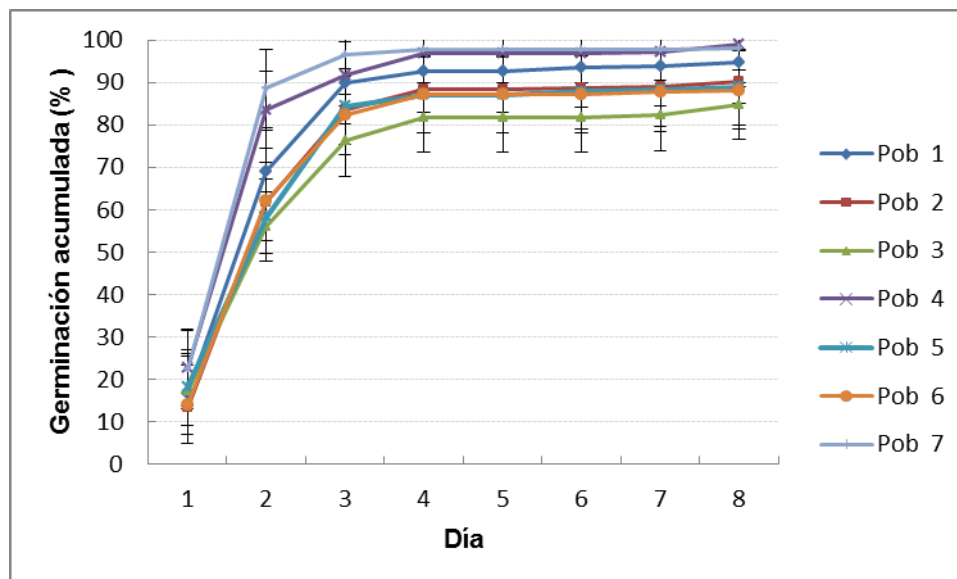


Figura 20. Efecto de la temperatura 20/15 °C en la germinación de las semillas de las distintas poblaciones de *Lupinus*. Población 1 (Xipes 6), Población 2 (Xipes 7), Población 3 (Zoapan), Población 4 (Sitio B 13), Población 5 (Sitio C2), Población 6 (Guadalupe Victoria), Población 7 (Cañada).

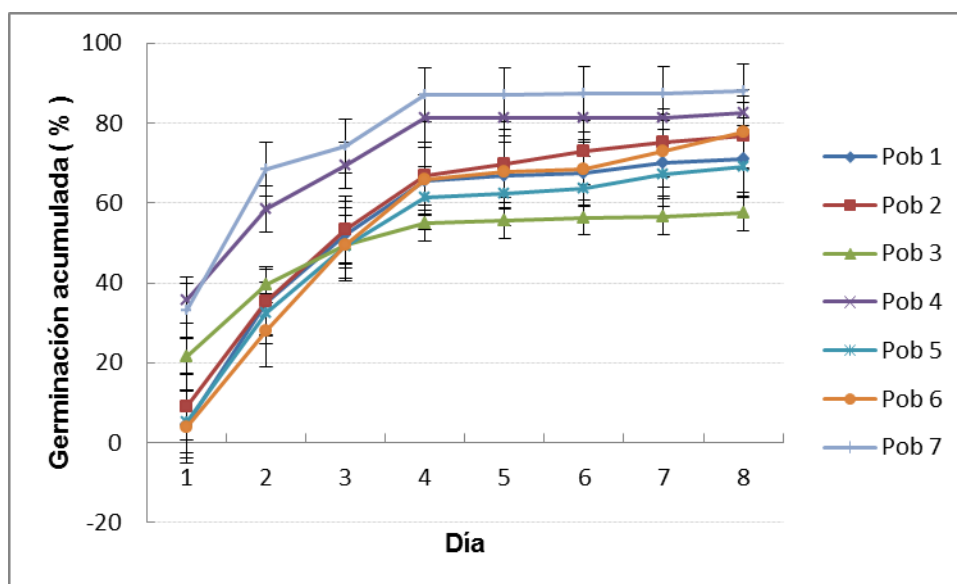


Figura 21. Efecto de la temperatura 25/20 °C en la germinación de las semillas de las distintas poblaciones de *Lupinus*. Población 1 (Xipes 6), Población 2 (Xipes 7), Población 3 (Zoapan), Población 4 (Sitio B 13), Población 5 (Sitio C2), Población 6 (Guadalupe Victoria), Población 7 (Cañada)

DISCUSIÓN

Efecto de tratamientos de escarificación

Como se muestra en las Figuras 12 y 13 en la prueba de imbibición, se encontró que en la escarificación mecánica se tienen los mejores resultados, con base en ellos, este tratamiento es el más recomendable para practicarlo en las semillas de *Lupinus* para las pruebas de germinación.

Estos resultados corroboran que uno de los mejores tratamientos de escarificación es la mecánica, ya que no daña al embrión, estos resultados concuerdan con los reportados por Hernández *et al.* (2008), Kaye y Kuykendall (2001) en *L. montanus* quienes demostraron que la escarificación mecánica es el mejor método para superar la latencia de la semilla. Sin embargo, Acosta y Rodríguez (2005) informaron que la escarificación química fue también un método eficaz para superar la latencia física. Cabe mencionar que la escarificación mecánica aquí utilizada consume mucho tiempo y será probablemente un poco más costosa por el uso de mano de obra, y deberá serlo al aumentar la cantidad de semillas para ser germinadas. Podría diseñarse emplearse algún aparato que escarifique la semilla de manera rápida y quiebre debidamente la testa de las semillas de los *lupinus*.

Germinación a diferentes temperaturas

En el régimen de mayor temperatura (25/20 °C) se observó la menor germinación de las especies de *Lupinus* estudiadas. Una tendencia similar se encontró para *L. montanus*, cuya semilla se recolectó a 3,200 m s.n.m. y que fue escarificada químicamente (Acosta y Rodríguez, 2005). En este último caso, la germinación fue del orden de 80% a 15/10 °C, de 98% a 20/15 °C, pero se redujo significativamente a mayores temperaturas, con poco más de 20% para los regímenes 25/20 °C y 30/25° C (Acosta y Rodríguez, 2005).

De manera semejante, en *L. polyphyllus* Lindl. y *L. albicaulis* Dougl. ex Hook de Washington, Estados Unidos, la mejor germinación se obtuvo a bajas temperaturas (5 a 15 / 7 °C), reduciéndose a 20 °C (Elliott et al., 2011). Cabe destacar que la temperatura óptima de germinación para las dos especies de *Lupinus* anteriores fue menor que la del presente trabajo debido a que dichas especies habitan a mayores latitudes.

Germinación de las diferentes especies

La germinación de *L. montanus* resultó menor que la de *L. campestris* y *L. exaltatus*. Las diferencias en germinación entre especies de zonas templadas, pueden estar relacionadas con la importante variación genética entre especies que se presenta en tales regiones. Acorde con Millar et al. (2001), la variación genética entre especies disminuye de las zonas boreales hacia las tropicales. Las diferencias en la germinación en distintas especies de *Lupinus* son comunes. Por ejemplo, (Elliott et al., 2011) las consigna para *Lupinus polyphyllus* y *L. albicaulis* en Washington, Estados Unidos.

Por otra parte, la distribución altitudinal de las tres especies estudiadas es amplia, pues hay una diferencia de 1,100 m entre la mayor y la menor altitud para *L. exaltatus* (Calderón y Rzedowski, 2005) y tal cifra aumenta a 1,600 m de diferencia para *L. montanus* (Benítez, 1986). Debido a esta amplia variabilidad en la distribución altitudinal, además de diferencias en tipos de suelo y otros factores, cabe esperar una relevante variación genética dentro de cada especie, por lo que en cualquier estudio que intente comparar la germinación de las especies, estará presente la influencia de las poblaciones de las que se hayan obtenido las muestras.

Germinación de las poblaciones

Los resultados del presente trabajo evidencian variación en la germinación tanto entre especies como entre poblaciones de la misma especie y poblaciones de diferentes especies. *L. montanus* fue recolectado de dos poblaciones, con poca diferencia en altitud, 3,300 y 3,200 m s.n.m., respectivamente, en zonas con suelos andosol y regosol, también respectivamente, arrojando una diferencia significativa en la germinación de ambas poblaciones. Es claro que otros factores limitativos no incluidos en el presente estudio, pueden influir para que tales diferencias se presenten. La población de Zoapan (a 3,300 m) resultó ligeramente con menos germinación que la de Xipes 7 (3,200 m) y fue relativamente más lenta, ya que el 50% de la germinación total obtenida se logró a 2.5 días, mientras que en la segunda lo fue a 2 días. Usualmente, poblaciones en lugares más limitativos presentan menores valores germinativos, por ejemplo de su intervalo de distribución en *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, las poblaciones en el extremo sur presentaron menor capacidad y energía germinativa (Juárez *et al.*, 2006).

La diferencia entre poblaciones de una especie, queda aún más clara con las poblaciones 4 (Sitio B 13) y 5 (Sitio C2) de *L. campestris*, que obtuvieron una germinación de 92.2% y 80.8%. Ambas son vecinas, corresponden a la misma altitud (2,642 y 2,637 m s.n.m.) y al mismo tipo de suelo (regosol). Sin embargo, la primera mostró una mayor germinación. Esta población presentó mayor número de individuos al momento de la recolecta, y podría suponerse que debe tener menos efectos de endogamia que las poblaciones de menor tamaño, como es la del Sitio C2 en Tlachichuca, Pue. (Cruz *et al.*, 2008).

Por otra parte, las poblaciones 6 (Guadalupe Victoria) y 7 (Cañada) también de *L. campestris*, con una distancia de aproximadamente 60 km entre sí, con diferentes altitudes (3,115 y 2,615 m s.n.m.) y tipos de suelo (andosol y leptosol, respectivamente), no tuvieron diferencias estadísticamente significativas en su

germinación obteniendo una germinación de 86.4% y 90.0%, siendo poblaciones de similar número de individuos al momento de la recolecta de semilla.

Además, estas dos últimas poblaciones no mostraron diferencias con respecto a la población 4, pero solamente la población 6 (Guadalupe Victoria) no mostró diferencias con respecto a la 5 (Sitio C-2) obteniendo una germinación de 92.2%, 86.4 y 80.8%. Todo esto evidencia una gama de niveles de variación para la germinación en *L. campestris*.

De acuerdo con Millar *et al.* (2001), la variación genética entre las poblaciones de una especie es mayor cuando la forma de vida es herbácea y menor para las leñosas; más elevada cuando la dispersión de las semillas es por gravedad que cuando se realiza por otros medios; mayor cuando se trata de especies de etapas sucesionales tempranas; de mayor cuantía en las dicotiledóneas que en las monocotiledóneas; y más importante en las especies de regiones templadas que en las boreales. Es interesante destacar que las especies de *Lupinus* viven un año o pocos años, dispersan su semilla por gravedad, son típicas de etapas sucesionales tempranas, son dicotiledóneas y de ambientes templados, lo que ayuda a explicar su variabilidad en germinación. Dentro de cada especie y población, diversos factores no considerados en este trabajo inciden en la germinación, como los factores climáticos y los fenológicos. Así, acorde con Garnczarska *et al.* (2009). la semilla de *Lupinus luteus* recolectada 35 días después de la floración en Polonia, mostró una germinación cercana al 20%, en tanto que aquella obtenida 50 días luego de la floración, alcanzó el 90%.

CAPITULO II

Variación en el crecimiento de tres
especies y poblaciones de *Lupinus* en un
ambiente común

RESUMEN

El género *Lupinus* se distribuye en varios estados de México; tiene un alto porcentaje de proteínas en sus semillas, similar al de la soya. Se realizó un cultivo de tres especies que habitan la zona este del estado de Puebla; *Lupinus campestris* Cham. & Schltdl., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K. en un vivero en condiciones de ambiente común, para encontrar diferencias de crecimiento entre y dentro de estas especies recolectadas a diferentes altitudes. Se probaron plantas de diez localidades de las tres especies. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar, con 6 repeticiones. Cada parcela tuvo diez plantas. Se determinaron la altura, daño, número de hojas y número de folíolos.

Se realizó un análisis de suelo al inicio y final del ciclo de *Lupinus*. Al inicio el pH fue de 7.30 ya al final fue de 7.82 debido al aporte de sodio de los riegos practicados, y la conductividad eléctrica oscila entre 0.60 y 1.44 dSm⁻¹; el porcentaje de MO es alto, para el caso de los nutrimentos al inicio resultó de N= 13.0 mg kg⁻¹, P= 126 mg kg⁻¹ y K=127 mg kg⁻¹ y al finalizar el ciclo del cultivo fueron de N= 21.5 mg kg⁻¹, P= 44 mg kg⁻¹ y K=917 mg kg⁻¹. En el caso del cultivo de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* se midieron las variables de altura, daño, número de hoja y número de folíolos, donde la mayor altura fue alcanzada por *L. montanus* y la de menor altura fue *L. campestris*.

Palabras clave: *Lupinus campestris* Cham. & Schltdl., *Lupinus exaltatus* Zucc. *Lupinus montanus* H.B.K. adaptación, ambiente común

ABSTRACT

The genus *Lupinus* is distributed in several states of Mexico; this plant contains a high percentage of protein in their seeds, similar to soy bean. Three species of lupins from eastern Puebla state: *Lupinus campestris* Cham & Schltdl., *L. exaltatus* Zucc. y *L. montanus* H.B.K. were grown in a greenhouse study (common environment). Ten populations from this three species growing in different conditions and elevation were tested. The design was of randomized complete block with 6 replications. Each plot contained ten plants. Total height, damage after low temperatures, leaf number and number of leaflets were measured. An analysis of soil at the beginning and end of the cycle of *Lupinus* were performed, pH value was at the beginning of 7.30 and 7.82 to the end of the test due to sodium intake of irrigation practiced; electrical conductivity changed from 0.60 to 1.44 dSm¹. Percentage of organic matter was high; concentration values were N =13 mg kg⁻¹, P = 126 mg kg⁻¹ and K = 127 mg kg⁻¹ and at the end N = 21.5 mg kg⁻¹, P = 44 mg kg⁻¹ and K = 917 mg kg⁻¹. The highest size was reached by *L. montanus* and the lowest height was *L. campestris*.

Key words: *Lupinus campestris*, *Lupinus exaltatus*, *Lupinus montanus* adaptation, common environment.

INTRODUCCIÓN

El género *Lupinus* es un complejo de especies que se distribuye en varios estados de la República Mexicana, entre estos Puebla. Las plantas de este género son herbáceas ó arbustivas anuales, bianuales o perennes (Calderon y Rzedowski, 2001) y contienen un porcentaje alto de proteínas en las semillas (Perdomo, 1996). Con frecuencia se compara al *Lupinus* con la soya por su alto valor nutritivo en los granos, aunque algunos ecotipos de *Lupinus* la superan en proteína y grasa (Perdomo, 1996; Jiménez *et al.*, 2003). Además las especies del género *Lupinus* pueden ser domesticadas y aprovechadas como forrajes y como fuente de nitrógeno para el suelo, en beneficio de la agricultura en aquellas áreas donde habitan diversas especies de este género, como ocurre a diferentes altitudes del Valle de Libres y Serdán, en el estado de Puebla.

La domesticación y uso extensivo de una planta, debe iniciar con debida identificación taxonómica de la especie, la recolecta de semillas y su prueba de aclimatación bajo distintos ambientes para determinar su adaptabilidad a diferentes condiciones de cultivo. Una forma efectiva y de bajo costo es probar diferencia adaptativas creciendo plantas bajo las mismas condiciones ambientales, para igualmente proceder a la descripción morfológica con el fin de clasificarlas taxonómicamente cuando hay problemas de identificar. Su cultivo en un mismo ambiente permitió eliminar la variación ambiental, lo que permite identificar diferencia genéticas manifestadas en el desarrollo de las plantas, incluyendo su fenología.

Estos estudios constituyen el preámbulo para continuar con proyectos de investigación básica y aplicada que permitan la valoración de este género en nuestro país y puede constituir una alternativa económica para los agricultores del Valle de Libres y Serdán en el estado de Puebla.

Objetivo general

- ❖ Determinar el comportamiento morfológico preliminar de plantas, provenientes de diferentes elevaciones de las poblaciones de tres especies de *Lupinus*, obtenidas en la región Valles de Libres de Sérđan, Puebla.

Objetivos específicos

- ❖ Determinar variación entre e intra especies de *Lupinus* en variables de crecimiento y adaptabilidad en un ambiente común.
- ❖ Determinar diferencias entre y dentro de especies del género *Lupinus*, ubicadas en varias localidades a diferentes elevaciones, en el crecimiento inicial de las plantas, hasta la edad de seis meses bajo un mismo ambiente.

Hipótesis

Las plantas de *Lupinus* tendrán diferencias en la supervivencia, crecimiento y daños por bajas temperaturas en el cultivo de éstas, debido a que las semillas fueron recolectadas de diez poblaciones en diferentes ambientes a diferentes elevaciones y porque pertenecen a tres especies diferentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento de camas

Durante el 2009 y 2010 se pudo obtener semilla de 10 poblaciones de tres especies de *Lupinus* de las cinco que se han detectado en la zona de los Valles de Libres y Serdán, Puebla (Cuadro 1). Dichas especies son las más abundantes y prolíficas de la zona, que pudieran tener potencial como cultivo por su abundante producción de semilla en relación a los demás *lupinus*.

Se escarificaron 200 semillas por población. Las diasporas se colocaron por 10 minutos en una solución de agua destilada con agua oxigenada al 4%. Inicialmente las semillas se colocaron en cajas de germinación dentro de una cámara de ambiente controlado para promover la germinación. Por otra parte, se prepararon cuatro estructuras que sirvieron como camas de crecimiento, las cuales miden de 1.5 m de ancho por 6 a 8 m de largo y 80 cm de profundidad, mismas que se llenaron con suelo agrícola, de textura areno-limoso previamente tratado con bromuro de metilo.

Diseño del experimento

Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar, con 6 repeticiones. En cada repetición se formaron diez surcos a lo ancho de la cama, 20 cm entre cada uno, cada surco tenía el ancho de la cama. En cada hilera se transplantaron diez semillas previamente germinadas distanciadas 15 cm entre ellas, más una plántulas de bordo al inicio y final del surco y al final e inicio de las camas de crecimiento, entre repeticiones no hubo bordo experimental. Las diez localidades se distribuyeron completamente al azar en cada repetición (Figura 22).

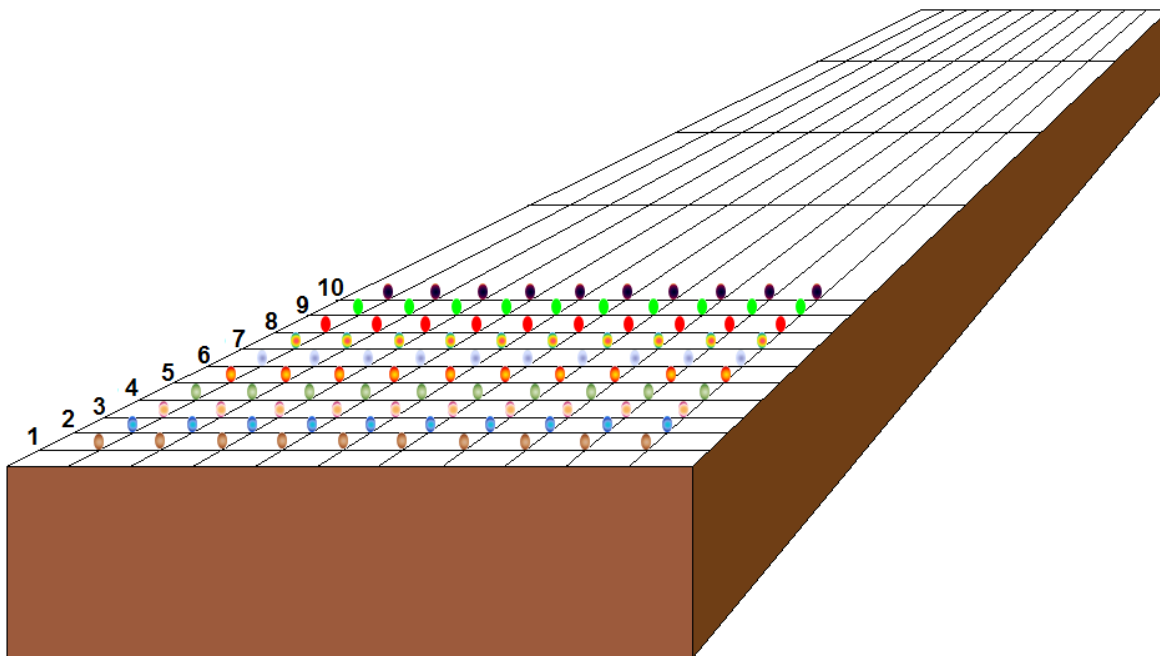


Figura 22. Esquema del diseño experimental de las camas de crecimiento empleadas para probar diferencias en crecimiento entre especies y localidades de recolección.

1. Guadalupe Victoria (*Lupinus campestris* Cham. & Schltdl); 2. Sitio 2 (*Lupinus campestris* Cham. & Schltdl); 3. Sitio B13 (*Lupinus campestris* Cham. & Schltdl); 4. Sitio C2 (*Lupinus campestris* Cham. & Schltdl); 5. Sitio C (*Lupinus campestris* Cham. & Schltdl); 6. Cañada (*Lupinus campestris* Cham. & Schltdl); 7. Xipes 6 (*Lupinus exaltatus* Zucc); 8. Zoapan (*Lupinus montanus* H.B.K.); 9. Xipes 7 (*Lupinus montanus* H.B.K.); 10. Atzitzintla (*Lupinus montanus* H.B.K.)

Después del transplante a las camas de crecimiento se aplicó un riego con Captán a 3 gr por lt para prevenir infecciones por hongos y se realizaron deshierbes manuales en forma periódica; se colocó malla sombra como medida protectora durante tres meses.

El inicio de la germinación de las semillas de las tres especies de *Lupinus* estudiadas, tuvo lugar a las 72 horas aproximadamente, el transplante se realizó el 22 de julio del 2010 a los tres días de iniciada la germinación. Cuarenta días después de la siembra se registró un desarrollo uniforme de las plantas indistintamente de la especie. En noviembre 4 del 2011 las plantas tenían una

altura aproximadamente de 20 cm, momento en que una fuerte helada dañó severamente su follaje; sin embargo, éstas se recuperaron en 30 días manteniendo riego de manera regular, la dinámica del desarrollo se muestra en la Figuras 2 y 24.

La primera medición se realizó en día 18 de noviembre del 2010, las mediciones tomadas fueron altura, daño en esta medición fue tomada de 1 al 5 donde se considero 1 viva la planta y la 5 se considero como planta muerta, Número de hojas y número de foliolos.

La segunda medición se realizó en día 18 de enero del 2011, las mediciones tomadas fueron altura, daño en esta medición fue tomada de 1 al 5 donde se considero 1 viva la planta y la 5 se considero como planta muerta, Número de hojas y número de foliolos.

La tercera medición se realizó en día 18 de febrero del 2011, las mediciones tomadas fueron altura, daño en esta medición fue tomada de 1 al 5 donde se considero 1 viva la planta y la 5 se considero como planta muerta, Número de hojas y número de foliolos.

La cuarta medición se realizó en día 26 de mayo del 2011, las mediciones tomadas fueron altura, Estado en esta medición fue tomada de 1 al 5 donde se considero 1 viva la planta y la 5 se considero como planta muerta, espiga condición , fenología y el número de tallos.

La quinta medición se realizó en día 06 de julio del 2011, las mediciones tomadas fueron altura, Estado en esta medición fue tomada de 1 al 5 donde se considero 1 viva la planta y la 5 se considero como planta muerta, espiga condición , fenología y el número de tallos.

La sexta medición se realizó en día 29 de julio del 2011, las mediciones tomadas fueron altura, Estado en esta medición fue tomada de 1 al 5 donde se considero 1

viva la planta y la 5 se considero como planta muerta, espiga condición , fenología y el número de tallos.

A los 50 días postemergencia, se procedió a evaluar el desarrollo de los individuos de las distintas especies de *Lupinus* estudiadas. Las variables de respuesta que se evaluaron en las plantas fueron: altura, número de hojas y número de foliolos, para estas mediciones lo que se hizo fue tomar la altura de cada una de las diez plantas, se conto el total de hojas a cada planta y el número de foliolos se tomo el número que fue más repetido en esta medición, esto fue para las primeras tres mediciones en las fechas de 18 de noviembre del 2010, 18 de enero del 2011 y 18 de febrero del 2011. Estas variables fueron tomadas en las fechas de 26 de mayo del 2011, 06 de julio del 2011 y 29 de julio del 2011.

Estos parámetros se midieron seis veces a lo largo de los ocho meses que duró el experimento.

Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza utilizando el procedimiento mixto (Proc Mixed) del programa SAS (Statistical Analysis System Institute, 2002), para microcomputadoras.

Modelo estadístico

A los datos se analizaron con el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + E_j + RE_{ij} + P_{k(j)} + RP_{ijk} + E_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = es el valor observado del l -ésimo individuo de la k -ésima población dentro de la j -ésima especie en el i -ésimo bloque.

μ = media general.

R_i = efecto aleatorio del i -ésimo bloque.

E_j = efecto fijo de la j -ésima especie.

RE_{ij} = efecto aleatorio de interacción repetición por especie.

$P_{k(j)}$ = efecto fijo del j -ésima población anidada en especie.

RP_{ijk} = efecto aleatorio de la interacción repetición por población anidada en especie.

E_{ijkl} = error experimental.

Muestreo de suelo

Se recolectó una muestra compuesta del suelo donde se cultivó a las especies de *Lupinus*, para ello se tomaron 10 submuestras de 0 a 20 cm de profundidad de diferentes puntos de las camas, con la finalidad de obtener una muestra compuesta. Las muestras de suelo fueron transportadas al laboratorio para análisis.



Figura 23. Obtención de muestras compuestas de suelo donde se desarrollaron plantas de 10 poblaciones de tres especies de *Lupinus*.

Tratamiento preliminar de las muestras de suelo

Primeramente las muestras compuestas del suelo fueron secadas al aire, molidas y tamizadas en una malla con abertura de 2.00 mm de diámetro (malla 10) de acero inoxidable (Diario Oficial de la Federación-NOM-021-SEMARNAT-2003).

A cada muestra se le realizaron las siguientes determinaciones:

pH por el método electrométrico en agua relación 1:2 (Jackson, 1964); que consiste en reposar 10 g de suelo en 20 ml de agua, agitando cada 5 minutos, con lo cual los iones H^+ que están fácilmente disponibles van a pasar a la solución al lavar el suelo. Posteriormente se midió el pH con un potenciómetro calibrado con dos soluciones amortiguadoras (pH 4 y pH 7).

Materia orgánica (MO) por el método de Walkley-Black (1934) vía húmeda. Que se basa en la reducción del Cr: $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4 \rightarrow K_2SO_4 + Cr_2(SO_4)_3 + 4H_2O + 3/2O_2$; una reacción parcial con un agente oxidante, considerando que la MO se comporta como un hidrato de carbono se tiene: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$ y por último la valoración del exceso de oxidante con una sal ferrosa.

Conductividad eléctrica (CE) por medio de su extracto de saturación (Jackson, 1970); que está basado en la ley de Ohm, que dice que la resistencia eléctrica de una solución es inversamente proporcional a su concentración de sales. Se realizó obteniendo la solución del suelo a partir de su punto de saturación, determinando la conductividad del extracto con electrodos de constante (K) conocida y calculando la CE con la corrección de su temperatura.

Nitrógeno total, por el método semi-micro Kjeldhal que utiliza una mezcla catalizadora que contiene SO_4 para formar NH_4SO_4 , H_2SO_4 y ácido salicílico para reducir los nitratos del suelo a iones NH_3 . Seguido de una destilación con

NaOH que desplaza a los iones NH_4 que se cuantifican con una valoración en presencia de H_2SO_4 0.05N.

Fósforo (PO_4^{3-}), por el método de Olsen (1965) donde el fósforo del suelo se extrae con una solución de NaHCO_3 a pH 8.5. El procedimiento también puede utilizarse en suelos ácidos, ya que el carbonato amortiguado reduce la solubilidad del aluminio y el hierro, por lo que se incrementa la concentración del fósforo.

K extraíble; la extracción de estos nutrimentos se realizó en un extracto de acetato de amonio con DTPA a pH 4,8 con agitación durante dos horas (Gerding y Rivas, 2006) y se prosiguió a su cuantificación por espectrofotometría de emisión de flama

RESULTADOS

Caracterización del suelo y su evolución después del crecimiento de plantas de *lupinos*

La caracterización química del suelo fue realizada al inicio de la siembra de las tres especies: *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* en las camas de crecimiento (Cuadro 8). Tal caracterización indica que es ligeramente alcalino, propiedad que se incrementó durante el periodo del cultivo entre 0.4 y 0.7 unidades (Cuadro 9), esto se debe al aporte de sodio durante los riegos practicados con agua potable en el periodo de cultivo, se recomienda mejorar la calidad del agua para evitar la degradación del suelo. Por otro lado, la conductividad eléctrica que oscila entre 0.60 y 1.44 indicó que el suelo no es salino y no fue un factor edáfico limitante para la germinación de las semillas, establecimiento y desarrollo de las especies de *Lupinus* estudiadas.

El mismo análisis practicado al suelo, indica que los niveles de materia orgánica (MO) son altos, la materia orgánica contribuye a mejorar la capacidad del suelo para almacenar nutrimentos y ponerlos a disposición para la planta (Diario Oficial de la Federación-NOM-021-SEMARNAT-2000).

Cuadro 8. Resultados del análisis de suelo al inicio de la prueba de crecimiento de las tres especies de *Lupinus campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* en el ambiente común.

CAMAS	pH	CE (dS m ⁻¹)	MO (%)	N (mg kg ⁻¹)	P (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)
1	7.64	1.44	3.50	10.4	113.4	1250
2	7.29	0.78	4.57	15.6	76.4	840
3	6.93	1.09	5.38	10.4	200.6	890
4	7.33	1.27	6.32	15.6	113.7	1130
Promedio	7.30	1.15	4.94	13.0	126.0	127.5

El análisis del N, P y K ubica a este suelo como pobre en nitrógeno, alto en fósforo y en potasio (Diario Oficial de la Federación-NOM-021-SEMARNAT-2000). Con base en esto y dado que las especies de *Lupinus* son eficientes en la fijación de nitrógeno y que la simbiosis con las respectivas *Rhizobium* tiene lugar con más alta efectividad en ambiente edáficos pobres en nitrógeno (Diario Oficial de la Federación-NOM-021-SEMARNAT-2000), los suelos que se tiene en las camas son apropiados para la producción de estas leguminosas. Cabe señalar que el fósforo es un nutrimento altamente demandado por especies productoras de semilla, porque este órgano generalmente requiere fósforo, de este modo los suelos al tener altos contenidos de este nutrimento fueron adecuados para la reproducción de las *Lupinus* (Ver el Anexo).

Es importante señalar que el análisis de laboratorio de las muestras de suelo al finalizar el ciclo del cultivo de las especies de *Lupinus* (Cuadro 9) indica un empobrecimiento del suelo en fósforo de 63.4 %, por esta razón de seguir empleándose estas camas para la producción de semilla de *Lupinus* se recomienda fertilizarlo con este nutrimento en las dosis apropiadas para mantener su fertilidad.

El potasio se incrementa, esto debe disminuir el riego con agua potable. Cabe señalar que el nitrógeno muestra un incremento en el suelo después del cultivo del *Lupinus*, este nutrimento no debe ser adicionado en el suelo de las camas pues inhibiría la simbiosis de las plantas con *Rhizobium*, lo cual afectaría negativamente la fijación biológica. Esto no es motivo para sospechar que se reduciría la productividad primaria, pues de presentarse baja eficiencia en la simbiosis, la planta aprovecharía el nitrógeno mineral presente en el suelo. Cabe destacar que de seguir cultivando a las *Lupinus* en estas camas, el nitrógeno continuará incrementándose como resultado de la fijación biológica de nitrógeno en cada ciclo y en algún momento se alcanzarán concentraciones suficientemente altas que inhibirán la simbiosis entre las leguminosas y las bacterias *Rhizobium* (Encarnación *et al.*, 1992).

Cuadro 9. Resultados del análisis de suelo al final de la prueba de crecimiento de las tres especies de *Lupinus campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*.

CAMAS	pH	CE (dS m⁻¹)	MO (%)	N (mg kg⁻¹)	P (mg kg⁻¹)	K (mg kg⁻¹)
1	8.18	0.61	3.90	18.2	37.57	1150
2	7.90	0.60	4.57	26.0	18.92	692
3	7.60	0.63	4.71	26.0	43.40	666
4	7.60	0.63	5.51	15.6	76.04	1160
Promedio	7.82	0.62	4.67	21.5	43.98	917

Desarrollo de las plantas de *Lupinus* cultivadas en las camas

Cuarenta días después del transplante se registró un desarrollo uniforme de las plantas indistintamente de la especie. El 4 de noviembre del 2010, las plantas tenían una altura de 20 cm, momento en que una fuerte helada dañó severamente su follaje, sin embargo, éstas se recuperaron en 30 días mediante la aplicación regular de riego. La dinámica del desarrollo se muestra en la Figura 24.

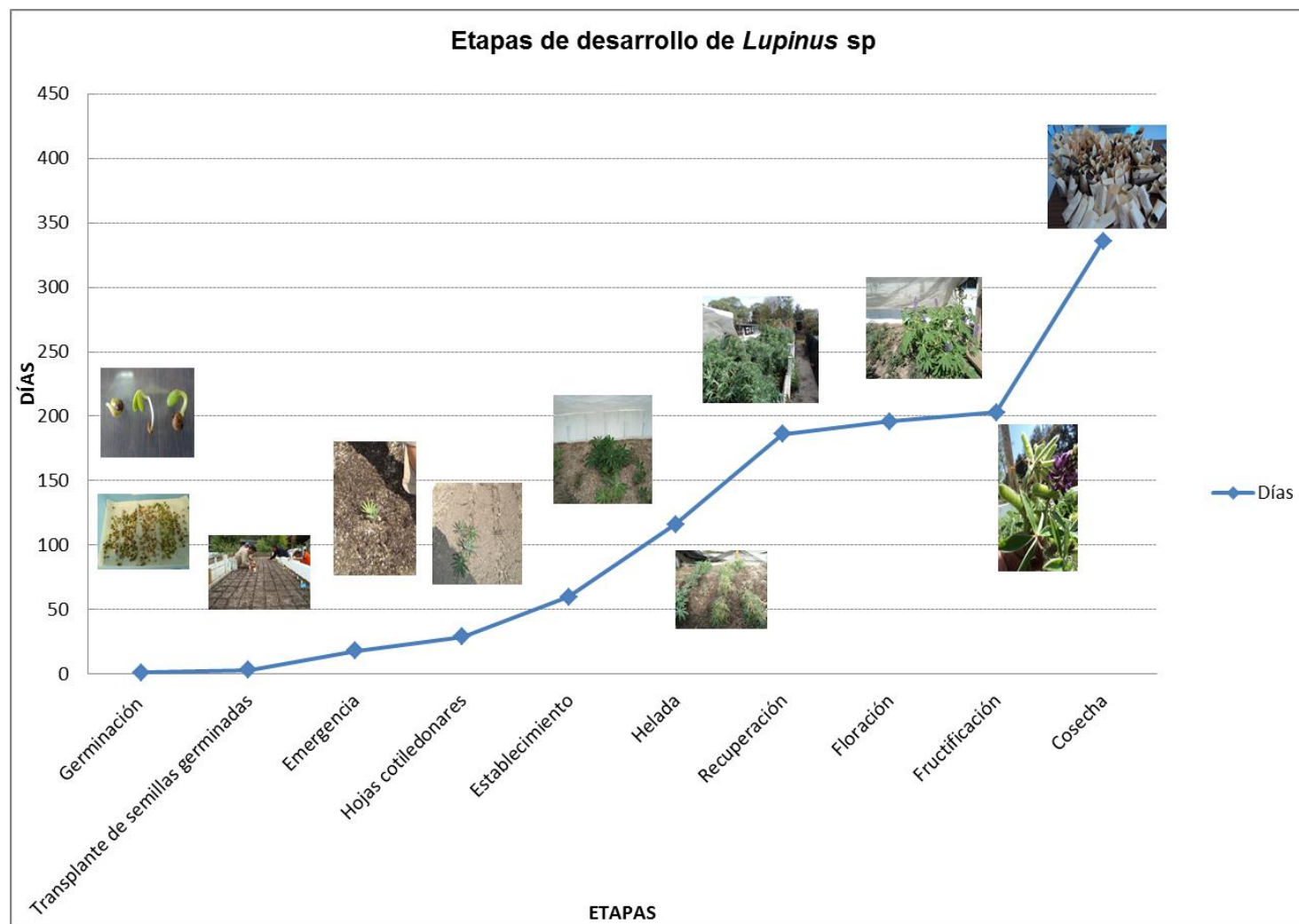


Figura 24. Parámetros biológicos evaluados a las especies de *Lupinus*.

Debe observarse que la planta bajo las condiciones experimentales de este estudio, alcanza la madurez fisiológica para la floración a los 190 días y diez días después es observable el fruto incipiente. El desarrollo del fruto tiene lugar en aproximadamente 130 días, es decir, cuando la planta tiene una edad de 330 días, entonces es factible la madurez de las semillas, momento en que es posible cosecharlas.

Estos datos fueron tomados para la especie de *Lupinus campestris* Cham. & Schltld., ya que esta especie fue la primera en desarrollarse y se registraron los días en que se presentaron la germinación, el momento de transplante de las semillas germinadas, emergencia, primeras hojas cotiledonares y establecimiento. Para esta especie las poblaciones que estuvieron representadas fueron: sitio B 13, Sitio C-2, Sitio C y la Cañada.

Altura

Para la primera medición en altura (a los 150 días), del análisis estadístico se desprende que hubo diferencias significativas entre especies, aunque también entre repeticiones, pero no de la interacción entre ambas (Cuadro 10).

En relación a la segunda medición en altura (a los 211 días), no hubo diferencias entre especies probablemente debido a que los *lupinus* presentan un estado de roseta, con una altura baja pero similar entre todas (para *Lupinus campestris* 29.23, $\pm$ 4.48; *Lupinus exaltatus* 37.63, $\pm$ 5.50; *Lupinus montanus* 33.65, $\pm$ 33.65). Nuevamente se hallaron diferencias significativas en la altura debida al factor especie en la tercera medición (a los 242 días), (para *Lupinus campestris* 41.77, $\pm$

4.31; *Lupinus exaltatus* 53.31, $\pm$ 5.46; *Lupinus montanus* 47.19, $\pm$ 4.51 mismas que desaparecen en la cuarta medición (a los 339 días).

En la primera medición y respecto al análisis por especie, la altura de *L. exaltatus* y *L. montanus* superó la de *L. campestris*. No obstante, en las segunda y tercera mediciones no hubo diferencias entre especies. Las alturas de las tres especies se reducen en la cuarta medición debido al daño que por las heladas sufrieron las plantas, si bien las especies tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sí (Cuadro 10).

En la segunda medición no se registraron diferencias entre especies, pero en la tercera sí (a 242 días), con *L. campestris* exhibiendo menor altura que las otras dos especies (para *Lupinus campestris* 29.23 $\pm$ 4.78; *Lupinus exaltatus* 37.63, $\pm$ 5.50; *Lupinus montanus* 33.65, $\pm$ 4.91) que, a su vez, no mostraron diferencias entre sí (para *Lupinus campestris* 41.77, $\pm$ 4.31; *Lupinus exaltatus* 53.31, $\pm$ 5.46; *Lupinus montanus* 47.19, $\pm$ 4.51).

Hacia la cuarta medición desaparecen las diferencias, luego de la recuperación del daño por bajas temperaturas, nuevamente aparecen las diferencias entre especies.

Cuadro 10. Resumen del análisis de significancia y prueba de diferencia mínima significativa para las seis mediciones de altura por especie.

ESPECIE	FECHA 1	FECHA 2	FECHA 3	FECHA 4	FECHA 5	FECHA 6
Probabilidad	Especie 0.0306	Especie 0.1277	Especie 0.0263	Especie 0.1434	Especie 0.0028	Especie 0.1277
<i>Lupinus campestris</i>	11.72 ± 2.42 b	29.23 ± 4.48 a	41.77 ± 4.31 b	86.40 ± 4.88 a	1.44 ± 0.12 b	0 ± 0.12 a
<i>Lupinus exaltatus</i>	17.38 ± 3.13 a	37.63 ± 5.50 a	53.31 ± 5.46 a	73.54 ± 8.61 a	0.22 ± 0.26 a	
<i>Lupinus montanus</i>	15.40....± 2.55 a	33.65 ± 4.91 a	47.19 ± 4.51 a	73.29...± 5.82 a	0.57 ± 0.21 a	0.33 ± 0.17 a
<i>Lupinus campestris</i>	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACION	POBLACION
 	0.2835	0.0140	0.0182	<0.0001	0.0001	
Cañada	17.37 ± 1.85 a	36.04 ± 5.19 a	50.00 ± 5.41 a	56.00 ± 8.25 a		
Guadalupe Victoria	8.28 ± 2.92 b	23.90 ± 5.17 ab	35.21 ± 5.19 b	89.57 ± 8.37 a	1.51 ± 0.20 a	
SB13	10.22 ± 2.80 b	30.62 ± 5.03 ab	41.71 ± 5.27 a	71.01 ± 7.56 a	0.27 ± 0.19 a	
Sitio 2	10.14 ± 2.77 b	24.29 ± 4.89 b	35.87 ± 4.85 ab	106.31 ± 6.63 a	2.00 ± 0.15 a	
Sitio C	11.81 ± 2.84 a	27.29 ± 5.02 b	41.66 ± 5.10 a	103.93 ± 6.91 a	2.00 ± 0.17 a	
Sitio C2	13.69 ± 3.11 a	36.62 ± 5.33 a	50.83 ± 5.54 a	68.36 ± 9.00 a		
<i>Lupinus montanus</i>	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACION	POBLACION
Probabilidad	0.0875	0.0321	0.0453	0.5313	0.2424	
S12	13.98 ± 4.16 a	30.60 ± 6.21 b	43.25 ± 6.52 a	72.59 ± 9.87 a	-0.01 ± 0.34 a	
Xipes 7	20.12 ± 4.11 a	41.37 ± 6.11 a	55.66 ± 6.38 a	77.22 ± 8.28 a	0.57 ± 0.22 a	0.33 ± 0.33 a
Zoapan	8.73 ± 4.77 b	24.12 ± 6.77 b	35.95 ± 7.22 a	66.22 ± 9.40 a	0.96 ± 0.34 a	

Por cuanto toca al análisis de poblaciones por especie, en el caso de *Lupinus campestris* no hubo diferencias en altura durante la primera medición. No obstante, en la segunda medición, la altura de las poblaciones de la Cañada fue de 36.04 ± 5.19 y en sitio C2 su valor es 36.62 ± 5.33 , que fue diferente a la de las poblaciones sitio 2 (24.29 ± 4.89) y sitio C (27.29 ± 5.02).

Para la tercera medición, sólo la población de Guadalupe Victoria exhibió diferencias con respecto a la Cañada, Sitio B13, Sitio C y Sitio C2.

En la cuarta medición ya no hubo diferencias significativas entre poblaciones.

Lupinus montanus, solamente tuvo diferencias en altura entre sus poblaciones en la segunda medición, con la población Xipes 7 superando a las otras dos.

Daño

Para la primera medición en daño (a los 150 días), del análisis estadístico se desprende que no hubo efectos de la especie, repetición, ni de la interacción entre ambas (Cuadro 11).

En relación a la segunda medición en daño (a 211 días), no hubo efectos de la especie, y también de la repetición ni en la interacción entre ambas. Para la tercera medición de daño, tampoco hubo efectos de ningún factor ni de la interacción entre ellos.

Cuadro 11. Prueba de diferencia mínima significativa para las tres mediciones del daño por especie.

ESPECIE	FECHA 1	FECHA 2	FECHA 3
Probabilidad	Especie 0.4923	Especie 0.3849	Especie 0.7174
<i>Lupinus campestris</i>	2.82 ± 0.12a	0.36 ± 0.12a	1.44 ± 0.18a
<i>Lupinus exaltatus</i>	3.23 ± 0.30a	1.00 ± 0.25a	1.26 ± 0.30a
<i>Lupinus montanus</i>	2.86 ± 0.17a	1.19 ± 0.15a	1.32 ± 0.20a
<i>Lupinus campestris</i>	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN
Probabilidad	0.0018	0.4315	0.1689
Cañada	3.66 ± 0.30a	1.46 ± 0.30ab	1.46 ± 0.35a
Guadalupe Victoria	3.03 ± 0.30a	1.66 ± 0.29a	1.30 ± 0.33a
SB13	2.42 ± 0.30b	1.54 ± 0.27b	2.08 ± 0.30a
Sitio 2	1.83 ± 0.30b	1.00 ± 0.26b	1.17 ± 0.30b
Sitio C	2.43 ± 0.30ab	1.18 ± 0.28ab	1.37 ± 0.31b
Sitio C2	3.50 ± 0.30a	1.42 ± 0.31a	1.17 ± 0.36a
<i>Lupinus montanus</i>	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN
Probabilidad	0.2948	0.2239	0.2231
S12	2.77 ± 0.37a	1.18 ± 0.18a	1.54 ± 0.26a
Xipes 7	2.50 ± 0.37a	1.00 ± 0.17b	0.99 ± 0.25b
Zoapan	3.33 ± 0.37a	1.53 ± 0.22a	1.55 ± 0.31a

Respecto al análisis por especie, no se detectaron diferencias entre especies en las fechas de medición, en el daño. Por cuanto toca al análisis de localidades por especie, en el caso de *Lupinus campestris* hubo diferencias en daño en la primera medición. En este caso el daño por heladas fue menor en la localidad Sitio 2 y Sitio B13. En *L. montanus* no hubo diferencias en daño en las tres mediciones entre localidades de recolecta.

Número de hojas

Para la primera medición en el número de hojas (a los 150 días), del análisis estadístico se desprende que no hay efectos de la especie, si hay diferencias entre repeticiones, y en la interacción entre ambas no hubo diferencia significativa.

En relación a la segunda medición en el número de hojas (a los 211 días), no hubo efectos de la especie, pero si de la repetición, y en la interacción entre ambas no hubo significancia. Para la tercera medición en el número de hojas (a los 242 días), no hubo efectos de la especie, repetición, ni en la interacción entre ambas.

Cuadro 12. Prueba de diferencia mínima significativa para las tres mediciones de número de hojas por especie.

ESPECIE	FECHA 1	FECHA 2	FECHA 3
Probabilidad	0.4070	0.8856	0.9160
<i>Lupinus campestris</i>	16.41 ± 3.49a	54.75 ± 9.62a	93.05 ± 9.85a
<i>Lupinus exaltatus</i>	16.39 ± 4.15a	58.26 ± 13.76a	84.28 ± 19.74a
<i>Lupinus montanus</i>	18.61 ± 3.60a	60.83 ± 10.44a	93.40 ± 11.95a
<i>Lupinus campestris</i>	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN
Probabilidad	0.1022		
Cañada	15.57 ± 3.50b	±	±
Guadalupe Victoria	15.42 ± 3.30ab	±	±
SB13	12.43 ± 3.17b	±	±
Sitio 2	20.37 ± 3.12a	±	±
Sitio C	15.87 ± 3.23ab	±	±
Sitio C2	19.04 ± 3.57ab	±	±
<i>Lupinus montanus</i>	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN
Probabilidad	0.4160	0.8782	0.4315
S12	18.18 ± 5.50a	61.99 ± 17.70a	97.21 ± 20.71a
Xipes 7	21.02 ± 5.45a	63.87 ± 17.01a	105.05 ± 19.13a
Zoapan	14.45 ± 6.04a	52.94 ± 21.05a	64.91 ± 25.40a

Respecto al análisis por especie, en la primera fecha, para *L. exaltatus*, *L. montanus* y *L. campestris*, en las tres mediciones no hay diferencia significativa. Por cuanto toca al análisis de localidades por especie, en el caso de *Lupinus campestris* no hubo diferencias entre localidades en la primera y única medición. En el caso de *Lupinus montanus* no hubo diferencias significativa en ninguna de las mediciones (Cuadro 12).

Número de foliolos

Respecto al número de foliolos, en las tres mediciones se presentaron efectos de la especie, con *L. campestris* presentando el menor número de foliolos en las tres oportunidades. Las otras dos especies no arrojaron diferencias significativas entre si en ningún caso (Cuadro 13).

Cuadro 13. Prueba de diferencia mínima significativa para las tres mediciones de número de foliolos por especie.

ESPECIE	FECHA 1	FECHA 2	FECHA 3
Probabilidad	0.0045	0.0008	0.0007
<i>Lupinus campestris</i>	7.62 ± 0.34 b	9.08 ± 0.25 b	9.88 ± 0.25 b
<i>Lupinus exaltatus</i>	9.58 ± 0.52 a	11.43 ± 0.50 a	13.00 ± 0.60 a
<i>Lupinus montanus</i>	8.56 ± 0.38 a	10.45 ± 0.31 a	11.60 ± 0.33 a
<i>Lupinus campestris</i>	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN
Probabilidad	0.0003	<.0001	<.0001
Cañada	7.49 ± 0.52 b	6.96 ± 0.53 b	7.20 ± 0.55 b
Guadalupe Victoria	6.85 ± 0.51 b	9.35 ± 0.53 b	10.47 ± 0.52 a
SB13	8.97 ± 0.49 a	10.72 ± 0.50 a	12.48 ± 0.53 a
Sitio 2	6.93 ± 0.48 a	8.20 ± 0.47 b	8.64 ± 0.46 b
Sitio C	6.60 ± 0.50 b	8.38 ± 0.49 b	8.83 ± 0.50 b
Sitio C2	8.98 ± 0.55 a	11.08 ± 0.55 a	12.30 ± 0.57 a
<i>Lupinus montanus</i>	POBLACIÓN	POBLACIÓN	POBLACIÓN
Probabilidad	0.0339	0.0250	0.1587
S12	8.47 ± 0.68 a	10.58 ± 0.51 a	11.78 ± 0.80 a
Xipes 7	9.61 ± 0.68 a	11.22 ± 0.50 a	12.49 ± 0.78 a
Zoapan	6.68 ± 0.81 b	8.79 ± 0.62 b	9.95 ± 0.92 a

Por cuanto toca al análisis de localidades por especie, en el caso de *Lupinus campestris* hubo diferencias en el número de foliolos en todas las mediciones. En general el Sitio 13 tuvo más foliolos. En el caso de *Lupinus montanus*, para la tercera medición no hubo diferencias significativas, aunque la de Zoapan tuvo menos foliolos en la primera y segunda medición.

DISCUSIÓN

Como se muestra en los cuadros 8 y 9, el análisis de suelo indicó un pH ligeramente alcalino, de 7.30 y 7.82 debido al aporte de sodio por los riegos practicados con agua potable. Los *Lupinus* típicamente están en suelos ácidos, como Alderete *et al.* (2008) reportaron para cinco especies de este género.

La conductividad eléctrica, que fue de 0.62 dS m^{-1} y 1.15 dS m^{-1} , implica que el suelo no es salino y por lo tanto no es un factor edáfico limitante para el desarrollo de *Lupinus*. En el caso de la materia orgánica, ésta resultó alta, con valores de 7.30 % y 7.82 %, lo que contribuyó a mejorar la capacidad para almacenar nutrimentos en el suelo. Mientras que el contenido de nitrógeno al inicio fue de 13 mg kg^{-1} y en el análisis final fue de 21.5 mg kg^{-1} ; este aumento se debió a que se trata de especies leguminosas fijadoras de nitrógeno. Los *Lupinus* son eficientes en la fijación de nitrógeno gracias a su simbiosis con *Rhizobium* (Encarnación *et al.*, 1992).

Para el fósforo, el análisis inicial fue de 126.0 mg kg^{-1} y el final fue de 43.98 mg kg^{-1} ; al inicio fue alto el contenido y al final disminuye. La demanda de fósforo por parte de las plantas incluye, entre otras necesidades, el que se requiere de este elemento para el desarrollo y germinación de las semillas, específicamente en los procesos de los enlaces fosfáticos de alta energía del trifosfato de adenosin (ATP) presentes en la mitocondria, así como en la síntesis de enzimas durante la germinación (Hartmann y Kester, 1992). Además el fósforo es demandado en la fijación de nitrógeno (Vance *et al.*, 2003).

El potasio al inicio fue de 127 mg kg^{-1} y al finalizar el ciclo del cultivo, aumentó a 917 mg kg^{-1} . De manera similar, junto *Lupinus montanus* hubo más potasio

disponible que en sitios sin este arbusto, implicando mayor contenido foliar de tal elemento en las hojas de *Pinus hartwegii* Lindl. plantados junto a esta planta, con respecto a controles (Ramírez y Rodríguez, 2009).

La mayor altura alcanzada por *L. exaltatus* y *L. montanus*, con respecto a *L. campestris* en la primera y tercera mediciones, corresponde con la altura que esas especies pueden alcanzar, y que Calderón y Rzedowski (2005) señalan es de hasta 2 m, 1 m y 0.6 m, respectivamente. Cabe señalar que en el presente estudio *L. campestris* superó la altura referida por Calderón y Rzedowski (2005). Diferencias en las tasas de crecimiento en etapas juveniles pueden ser las responsables de las no diferencias en la segunda medición, así como en la última, que correspondió a rebrotes luego del daño por bajas temperaturas. Dada la altura que las dos primeras especies pueden alcanzar, según los autores citados, de haberse continuado el experimento se esperaría que continuasen su crecimiento, rebasando a *L. campestris*.

Para el caso de la medición de daño presente en estas tres especies, *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, no existió diferencia significativa en las tres mediciones, aunque las plantas sufrieron daño por la bajas temperaturas que se presentaron en noviembre del 2010; *L. campestris*, se encuentra a una altitud de 2600m, *L. exaltatus* está en un rango de 2600 a 3700 m de altitud y la especie *L. montanus* de 2500 a 4100 de altitud (Calderón y Rzedowski, 2005). Se esperaba tener menor daño por bajas temperaturas en las especies y en las poblaciones procedentes de localidades más altas, pero no fue así, probablemente por la intervención de otros factores, además de la altitud, que afectan la presencia de heladas en los distintos sitios.

El número de foliolos encontrado en el presente trabajo, es distinto al señalado en trabajos de corte taxonómico en las tres especies. Así, en *L. campestris*, se registraron de 7.6 a 9.9 foliolos, de la primera a la tercera fechas, evidenciando un aumento que cualitativamente se liga al crecimiento en altura. De forma parecida, *L. exaltatus* tuvo de 9.6 a 13 foliolos y *L. montanus* de 8.6 a 11.6. Estas cifras difieren en parte de las señaladas por Calderón y Rzedowski (2005), quienes consignan 6-8, 5-6 y 10-14 foliolos, respectivamente, para las especies estudiadas.

CONCLUSIONES GENERALES

Las semillas de las especies de *Lupinus* presentan latencia física y es necesaria la escarificación mecánica para estimular su germinación.

Los mejores resultados de germinación de las semillas para las tres especies de *Lupinus* se obtuvieron al combinar la escarificación mecánica y régimen de temperatura día/noche 20/15 o 15/10.

La germinación de *Lupinus montanus* se reduce a medida que la semilla procede de mayor altitud.

Lupinus campestris mostró variabilidad en la germinación de semillas procedentes de distintas localidades, pues tuvo desde diferencias en germinación entre dos poblaciones muy cercanas hasta no diferencias en germinación entre dos poblaciones distantes.

En el cultivo de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* el pH fue ligeramente alcalino, en cual no tuvo alguna influencia negativa para el desarrollo de estas especies.

La conductividad eléctrica indicó que el suelo utilizado no es salino y por lo tanto no representó un factor edáfico limitante para el desarrollo de *Lupinus*.

Al inicio del experimento el contenido de nitrógeno fue menor y al final aumentó, lo que pudo deberse a que se trata de especies leguminosas fijadoras de nitrógeno.

Respecto al fósforo, al inicio fue alto su contenido y al final disminuyó. La demanda de fósforo por parte de las plantas se aduce como la causa de este fenómeno.

En cambio, el contenido potasio fue menor al inicio de las pruebas y al finalizar el cultivo, aumentó.

En la primera y tercera mediciones, la altura alcanzada por *L. exaltatus* y *L. montanus*, fue mayor con respecto a *L. campestris*, lo que corresponde con las alturas que dichas especies pueden alcanzar, si bien se considera que de continuar cultivando las dos primeras, hubieran alcanzado aún mayor altura.

Contra lo que se esperaba, no se hallaron diferencias en el nivel de daños entre las especies estudiadas en las tres mediciones.

El número de foliolos de la primera a la tercera medición, evidencia un aumento que cualitativamente se liga al crecimiento en altura, en *L. exaltatus* y *L. montanus*.

RECOMENDACIONES

Para el manejo en la germinación se recomienda usar la escarificación mecánica y regímenes de temperatura de 20/15 o 15/10°C.

Estudiar la eficiencia en la fijación de nitrógeno de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*.

Para el manejo en la germinación se recomienda usar la escarificación química, y cultivarla para observar su desarrollo de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*.

ANEXO

TIPOS DE LATENCIA

Latencia

Una semilla es esencialmente una diáspora cuyas actividades vitales están reducidas al mínimo. A medida que está madura en la planta, paulatinamente se presenta esta reducción de actividades. Las semillas secas están en condiciones para tenerlas de reserva, almacenarlas y presévalas hasta que el tiempo y el lugar sean convenientes para originar una nueva planta, sin embargo, existen semillas con requerimientos especiales para su germinación que se han denominado latentes (Tool y Kearns, 1986).

En la naturaleza se presenta varios tipos de latencia a saber como los definen Patiño *et al.* (1988) y Willan (1991): Latencia física, Latencia mecánica y latencia química. La latencia física es causada por **la cubierta de las semillas y también se le llama exógena** (Hartmann y Kester, 1988)

Latencia física

Es característica de las semillas de un gran número de especies de plantas, en las cuales la testa o secciones endurecidas de otras cubiertas de las semillas son impermeables. El embrión esta quiescente, pero se encuentra cerrado dentro de una cubierta impermeable que puede preservar a las semillas con bajo contenido de humedad durante varios años, aun con temperaturas elevadas.

Latencia mecánica

En esta categoría la cubierta de semillas es demasiado dura (aunque no impermeable) para permitir que el embrión se expanda durante la germinación, este factor no es la única causa de la latencia, ya que en la mayoría de los casos se combina con otros tipos para retardar la germinación.

Latencia química

Corresponde a la producción y acumulación de sustancias químicas que inhiben la germinación, ya sea en el fruto o en la cubierta de las semillas.

Latencia morfológica o endógena

Se presenta en aquellas familias de plantas cuyas semillas, de manera característica en el embrión no se han desarrollado por completo en la época de maduración. Como regla general, el crecimiento del embrión es favorecido por temperaturas cálidas, pero la respuesta puede ser complicada por la presencia de otros mecanismos de letargo.

Existen dos grupos en esta categoría

➤ Embiones rudimentarios

Se presenta en semillas cuyo embrión es algo más que un proembrión embebido en un endosperma, al momento de la maduración del fruto. También en el endospermo existen inhibidores químicos de la germinación, que se vuelven en particular activos con altas temperaturas.

➤ Embiones no desarrollados

Algunas semillas, en la madurez del fruto tienen embiones poco desarrollados, con forma de torpedos, que pueden alcanzar un tamaño de hasta la mitad de la cavidad. El crecimiento posterior del embrión se efectúa antes de la germinación.

Latencia interna

En muchas especies se presenta la latencia interna de los tejidos. En el control interno de la germinación están implicados dos fenómenos separados. El primero es el control ejercido por la semipermeabilidad de las cubiertas de las semillas, y el segundo es un letargo presente en el embrión, misma que se supera con exposiciones a enfriamiento en húmedo.

- Fisiológica. Corresponde aquella en que la germinación es impedida por un mecanismo fisiológico inhibidor.
- Interna intermedio. Esta latencia es inducida principalmente por las cubiertas de las semillas y los tejidos de almacenamiento circundante, características de las coníferas.
- Del embrión: Se caracteriza principalmente porque para llegar a la germinación se requiere un periodo de enfriamiento en húmedo y por la incapacidad del embrión separado de germinar con normalidad.

Latencia combinada o morfofisiológica

Consiste en la combinación de subdesarrollo del embrión con mecanismos fisiológicos inhibidores fuertes.

Latencia combinada exógena-endógena

Se denomina así a diversas combinaciones de latencia de la cubierta o el pericarpio con latencia fisiológica endógena.

Los tratamientos para eliminar la latencia son:

Escarificación

Es cualquier proceso de romper, rayar, alterar mecánicamente o ablandar las cubiertas de las semillas para hacerlas permeables al agua y a los gases.

Mecánica

Consiste en raspar la cubierta de las semillas con lijas, limas o quebrarlas con un martillo. Si es a gran escala se utilizan maquinas especiales como tambores giratorios recubiertos en su interior con papel lija o combinaciones con arena gruesa o grava.

- Con agua caliente. Se colocan las semillas en un recipiente en una proporción de 4 a 5 veces su volumen de agua caliente a temperatura entre 77 y 100 °C. De inmediato se retira la fuente de calor y las semillas se dejan remojar durante 12 a 24 horas en el agua que se enfría gradualmente. Las semillas se deben sembrar inmediatamente después del tratamiento.
- Con ácido. Las semillas secas se colocan en recipientes no metálicos y se cubren con ácido sulfúrico concentrado en proporción de una parte de semilla por dos de ácido. Durante el periodo de tratamiento las semillas deben agitarse regularmente con el fin de obtener uniformidad en el tratamiento. Al final del periodo de tratamiento se escurre el ácido y las semillas se lavan con agua abundante para eliminar el exceso de ácido (Patiño *et al.*, 1983; Hartmann y Kester, 1988).

Estratificación

Consiste en colocar semillas embebidas de agua, en capas o estratos húmedos, usando como sustrato arena. El periodo de estratificación varía según la especie. Se utiliza para superar latencias provenientes del embrión.

- Cálida. Si la estratificación se realiza a temperaturas altas (22 a 30°C)
- Fría. Si la estratificación se realiza a temperaturas bajas (0 a 10°C)

LITERATURA CITADA

Acosta de la Luz, L. 2003. Principios agroclimáticos básico para la producción de las plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* **8**(1): 0-0.

Acosta P., J. and D. A. Rodríguez T. 2005. Factors effecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia* **30** (9): 576-579.

Aldrete Ch. A and H. V. Espinosa 2008. Natural Distribution and Principal Characteristis of *Lupinus* in the Oriental Fase of Tlalóc Mountain in Sierra Nevada, México. *Journal of Biological Sciences* **8**(3): 604-609.

Aldrete Ch., A., D.A. Rodriguez-Trejo, V. Espinosa-Hernández, E. Ojeda-Trejo and N. de la Cruz-Landero, 2010. Effects of different scarification treatments on the germination of *Lupinus leptophyllus* seeds. *International Journal of Botany* **6**: 64-68.

Atlas Digital Geográfico del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2008. Información digital disponible del Sistema Nacional de Información Ambiental y de Recursos Naturales (SNIARN).

Altamirano Q., M.T. y A. R. Altamirano. 2002. Efecto de la lombricomposta como sustrato alterno en la germinación y sobrevivencia inicial de *Pinus Oaxacana* Mirov y *Pinus rudis* Endl. *Foresta Veracruzana* **4**(1):35-40.

Banks, J. A. and C. W. Birky. 1985. Chloroplast DNA diversity is low in a wild plant, *Lupinus texensis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (Proc. Natl. Acad. Sci.)* **82**:6950-6954.

Baskin, C.C and J.M. Baskin. 2001. *Seeds* Academic Press. San Diego. 666 p.

Benítez B. G. 1986. Árboles y Flores del ajusco. MAB-IE-MHNCM. México. 183 pp.

Bever, J.D. 2003. Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests. *New Phytologist* **157**:465–473.

Bonanomi, G.,M. G. Sicurezza, S. Caporaso, A. Esposito, and S. Mazzoleni, 2006. Phytotoxicity dynamics of decaying plant materials. *New Phytologist* **169**:571–578.

Boul, S.W. y R. J. Craeken 1990. Génesis y clasificación de suelos. 2a ed. Trillas, México, D.F. 417p.

Calderón de R. G. y J. Rzedowski. 2005. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México. 1406 p.

Callaway, R.M. 1995. Positive interaction among plants. *The Botanical Review* **61**:306–349.

Cruz-Nicolas, J., J. J. Vargas H., P. Ramírez-Vallego y J. López Upton. 2008. Patrón de cruzamiento en las poblaciones naturales de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco en México. *Agrociencia* **42**: 367-378

Diario Oficial de la Federación. 2003. Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. México.

Ehrenfeld J., G. B. Ravit and K. Elgersma. 2005. Feedback in the plant–soil system. *Annual Review of Environment and Resources* **30**:75–115.

Elliott C. W, G. Fischer D. and J.L. Carri. 2011. Germination of three native *Lupinus* species in response to temperature. *Field and Ecosystem Ecology* **85**(2): 403-410.

Encarnación Corona, A., J. Antonio Munive, A. Cuellar Sánchez, M.L. Corona Rangel, F.C. Salinas Pérez, E. Montes Hernández y K. Bermúdez Torres. 2010. Identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno en nódulos de plantas de *Lupinus montanus* HBK. 7 Encuentro Nacional de Biotecnología, IPN. 11-13 de Octubre del 2010. Mazatlán, Sinaloa, México.

Fildes, R.A. and H. Harris. 1966. Genetically determined variation of adenylate kinase in man. *Nature* 209:261-263.

Fu, B.J., L.D.Chen, K.M. Ma, H.F. Zhou and J. Wang. 2000. The relationships between land use and soil conditions in the hilly area of the loess plateau in northern Shaanxi, China. *Catena* **39**:69–78.

Garnczarska, M., W. Bednarski and M. Jancelewicz M. 2009. Ability of lupine seeds to germinate and to tolerate desiccation as related to changes in free radical level and antioxidants in freshly harvested seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* **47**:56–62

Gerding, V. y T.Y. Rivas. 2006. Desarrollo de plantaciones experimentales jóvenes de *Fitzroya cupressoides* establecidas en el arboreto de la Universidad Austral de Chile, Valdivia. *Bosque* **27**(2):155-162.

Gladstone, J.S., C.A. Atkins and J. Hamblin (Eds). 1998. *Lupinus* as Crop Plants: Biology, Production and Utilization. CAB International, South Perth. pp: 437–454.

Gross, R. 1982. El cultivo y la utilización de *Lupinus mutabilis*. *Producción y Protección Vegetal* 36. FAO. Rome, Italy. 239 p.

Groos, R y E. von Baer. 1997. Posibilidades del *Lupinus mutabilis* y *Lupinus albus* en los países andinos. Arch. Latin. Nutri. **25**:451-471.

Hartmann H y D. Kester. 1992. Propagación de Plantas. 6ta reimpresión; Compañía Editorial Continental, México D.F. 760 p.

He, Z. L., H. Yao, G. Chen, J. Zhu y C. Huang. 1997. Relationship of crop yield to microbial biomass in highly weathered soil of China. *In*: T. Ando. *et al.* eds. Plant Nutrition for Sustainable Food Production and Environment. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, the Netherlands pp: 751–752.

Helpern, S.L. 2005. Sources and consequences of seed size variation in *Lupinus perennis* (Fabaceae): Adaptive and non-adaptive hypotheses. American Journal of Botany **92**:205- 213.

Hernández F., E. R.K. Rivera M., O.J. Ramos H., F.C. Salinas P., M. Rodríguez M. y K. Bermúdez T. 2008. Effect of scarification treatments on germination of *Lupinus montanus* H.B.K seeds. In J.A. Palta and J.B. Berger. *Lupinus* for Health and Wealth Proceedings of the 12 International Lupin Conference, Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. pp: 405-409.

INEGI. 2004. Anuario estadístico de Puebla. Tomo II. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Puebla, Pue., 1004 p.

ISTA (International Seed Testing Association). 2007. International Rules for Seed Testing. Seed Testing Association, Switzerland. 321 p.

Jackson, M. L. 1964. Soil Clay Mineralogical Analysis. Soil Clay Mineralogy. The University of North Carolina Press. 330pp.

Jiménez M., C., H. Hernández S. y G. Dávila O. 2003. Production of a yogurt-like product from *Lupinus campestris* seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture 83:515–522.

Jiménez M., C., H. Hernández S., G. Álvarez m., N. Robledo Q., J. Martínez H. y G. Dávila O. 2001. Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide, alkaloid and tannin contents of *Lupinus campestris* seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture **81**:421–428.

Juárez A., A., J. López U., J. J. Vargas H., y C. Sáenz R. 2006. Variación geográfica en la germinación y crecimiento inicial de plántulas de *Pseudotsuga menziesii* de México. Agrociencia **40**(6):783-792

Jul, L.B., P. Flengmark, M. Gylling and K. Itengy. 2003. *Lupinus* seed (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*) as a protein source for fermentation use. Industrial Crops and Products **18**(3):199-211.

Kässl, E. and M. Wink 1997. Molecular phylogeny and phylogeography of *Lupinus* (Leguminosae) inferred from nucleotide sequences of rbcL gene and ITS 2 region of rDNA. Plant. Syst. Evol. **208**:139-167.

Kaye, T.N. and K. Kuykendall. 2001. Effects of scarification and cold stratification on seed germination of *Lupinus sulphureus* ssp. *kincaidii*. Seed Science and Technology 29(3): 663-668.

Larson, W.E. and F.J. Pierce. 1991. Conservation and enhancement of soil quality. In: IBSRAM Proc. 12 (2). Evaluation for Sustainable Land Management in the Development World. Volume 2. Bangkok, Thailand. International Board for Soil Research and Management. pp: 175- 203.

López R., G. 2005. Ecofisiología de Árboles. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, Estado de México. 484 p.

Manlay, R.J., C. Feller and M.J. Swift. 2007. Historical evolution of soil organic matter concepts and their relationships with the fertility and sustainability of cropping systems. *Agriculture. Ecosystems and Environment* **119**:217–233

Martínez, J.M., D.A. Rodríguez T. E. Guíza N. y R. Bonilla B. y 2008. Escarificación artificial y natural de la semilla de *Lupinus bilineatus* Benth. *Revista Chapingo. Serie: Ciencias Forestales y del Ambiente* **14**(2):73-79.

Martínez, H.J., N. Robledo Q., R. Mora E., and G. Davila O. 2001. Alkaloids composition of *Lupinus campestris* from Mexico. *Journal of food Biochemistry*. **25**: 117–125.

Mayer, R. 2005. Soil resources and SEA. *In: Implementing Strategic Environmental Assessment*. M. Schmidt, E. João and E. Albrtdl. Springer-Verlag pp: 474-493.

McVaugh R. (1987). *Lupinus*. En *Flora Novogaliciana. A Descriptive Accoun of the Vascular Plants of Western Mexico*. Vol. 5. Legumonosae. University of Michigan Press. Ann Arbor, MI, Estados Unidos. Pp 580-599.

Millar C. I. 2001. Genetic diversity. *In: Hunter Jr., M. Ed. Miantaining Biodiversity in Forest Ecosystems*. Cambridge University Press. Cambridge pp 460-497.

Morrás, H.J. M. 2008. El suelo, la delgada piel del planeta. *Ciencia Hoy* 103:22-27.

Murphy, D.V., E.A. Stockdale, P.C. Brookes and K.W.T. Goulding. 2007. Impact of Microorganisms on chemical transformations in soil. *In*: L.K. Abbott and D.V. Murphy (eds). Soil Biological Fertility - A Key to Sustainable Land Use in Agriculture Springer. pp: 37-59.

Nieto-Cabrera, C., C. Francis, C. Caicedo, P.F. Gutiérrez and M. Rivera. 1997. Response of four andean crops to rotation and fertilization. *Mountain Research and Development* **17**(3): 273-282.

Olsen, R. and L.A. Dean. 1965. Phosphorus. *In*: Methods of soil analysis. C.A. Black, (ed.) part 2. Madison, Wisconsin. pp: 1035-1049.

Ortega, T.E. 1981. Química de Suelos. Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. 417p.

Orwin, K.H. and D.A. Wardle. 2005. Plant species composition effects on belowground properties and the resistance and resilience of the soil microflora to a drying disturbance. *Plant and Soil* **278**:205–221.

Patiño V., F., P. de la Garza, Y. Villagómez, I. Talavera y F. Camacho. 1983. Guía para la recolección y manejo de semillas de especies Forestales. México D.F Boletín Divulgativo del Instituto Nacional de Investigación Forestal N° 63. México. 181 p.

Perdomo M., A.C. 1996. El papel de los Chochos (*Lupinus* spp.) en el agrosistema ganadero de los Rodeos (Tenerife-Islas Canarias) <http://www.agroecologia.net/./congreso/pamplona/45.pdf>

Ramírez C., A., y Rodríguez T., D. A. 2009. Plantas nodriza en la reforestación con *Pinus hartwegii* Lindl. Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente **XV** (1):43-48.

Reino, J., y González. y J.A. Sánchez. 2008. Temperatura óptima de germinación y patrones de imbibición de las semillas de *Albizia lebbbeck*, *Gliricidia sepium* y *Bauhinia purpurea*. Pastos y Forrajes **31**(3): 209-216.

Rietkerk, M., S.C. Dekker, P.C. de Ruiter y J. van de Koppel. 2004. Self-organized patchiness and catastrophic shifts in ecosystems. Science **305**:1926–1929.

Rodríguez T., D. A. 1996. Incendios Forestales. Mundi Prensa. UACH-INIFAP. México, D.F 630 p.

Rodríguez T., D. A. y Z.C. Rojo. 1997 Estudio de la semilla del arbusto *Lupinus montanus* H.B.K. (Leguminosae). Revista Chapingo, Serie: Ciencia Forestal **1** (3):39-45.

Ruíz L., M.A., R. Rodríguez M. and S. Navarro P. 2006. Chemical nutritional evaluation of *Lupinus exaltatus* Zucc. from Nevado de Colima, México, as potential source forage. Interciencia **31** (10): 758-761.

Rzedowski, J. 1979. Flora Fanerogámica del Valle de México. CECSA, México. pp: 35-71.

Rzedowski, J. 1981. Vegetación de México. Limusa, México D.F. 432 p.

SAGARPA. 2005. Plan de desarrollo distrital: Libres. Distrito de Desarrollo Rural 04 Libres. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Agosto, 2005. Puebla, Pue. 60p.

SAS Institute Inc. 2001. SAS/PC for Windows Version 8.2. SAS Institute, Cary, NC, USA.

Sánchez, J.A., B., Muñoz, J. Reino, y L. Montejo. 2003. Efectos combinados de escarificación y de hidratación parcial en la germinación de semillas envejecidas de leguminosas. *Pastos y Forrajes* **26** (26): 27-33.

Sánchez S., O. 1984. La Flora del Valle de México. Editorial Herrero. México, D.F 519 p.

Schaal, B.A. 1980. Reproductive capacity and seed size in *Lupinus texensis*. *American J. Botany* **67**(5):703-709.

Schlesinger, W. H., J.F. Reynolds, G.L. Cunningham, L.F. Huenneke, W. M. Jarrell, R.A Virginia and W.G. Whitford. 1990. Biological feedbacks in global desertification. *Science* **247**:1043–1048.

Schlesinger, W.H., J.A. Raikes, A.E. Hartley y A.F. Cross. 1996. On the spatial pattern of soil nutrients in desert ecosystems. *Ecology* **77**:364–374.

Stepkowski, T., C.E. Hughes, I.J. Law, L. Markiewicz, D. Gurda, A. Chlebicka and L. Moulin. 2007. Diversification of Lupine Bradyrhizobium strains: Evidence from nodulation gene trees. *Applied and Environmental Microbiology* **73**:3254–3264.

Stone, E.L. 1975. Effects of species on nutrients cycles and soil change. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* **271**:149-162.

Talhinhas P., J. Neves-Martins and J. Leitaó. 2003. AFLP, ISSR and RAPD markers reveal high levels of genetic diversity among *Lupinus* spp. *Plant Breeding* **122**:507-510.

Toole, E.H. y T.B. Kearns 1986. Hasta que el tiempo y el lugar sean favorables. *In*: Semillas. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. CECOSA México, D.F pp: 190-201.

Vance, C.P.; Uhde-Stone, C.; Allan, D. L. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist* **157**:423-447.

Wang, F. E., Y.X. Chen, G.M. Tian, S. Kumar, Y.F. He, Q.L. Fu and Q. Lin. 2004. Microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus in the soil profiles of different vegetation covers established for soil rehabilitation in a red soil region of southeastern China. *In*: Nutrient Cycling in Agroecosystems. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands **68**:181–189.

Walkley, A. and A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* **37**:29-38.

Wiedm, A. and C. Galen. 1997. Plant parent care: conspecific nurse effects in *Frasera speciosa* and *Cirsium scopulorum*. *Ecology* **79**:1657–1668.

Wright. S. 1969. Evolution and the genetics of populations. Volume 2: The Theory of Gene Frequency. The University of Chicago Press, Ltd., London. USA. 511 p