



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME FINAL

PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

CAPACIDAD GERMINATIVA DE POBLACIONES DEL GÉNERO *Lupinus sp.* DE LA
REGIÓN DE LOS VALLES DE SERDAN Y LIBRES DEL ESTADO DE PUEBLA.

QUE PRESENTA LA ALUMNA

BARRERA ORTEGA DAISY

Matrícula
204353978

Asesor interno:

Dr. Javier Aldeco Ramírez
Lab. Procesos Costeros DEHA, CBS
26805

Asesor externo:

Dr. Javier López Upton
Posgrado en Ciencias Forestales
40172

Ciudad de México

Fecha: abril 2021

Índice

Índice de cuadros	3
Índice de figuras	4
Introducción	5
Revisión de la literatura	7
Tratamientos para eliminar la latencia.....	10
Descripción botánica de <i>Lupinus montanus</i> HBK.....	11
Descripción botánica de <i>Lupinus campestris</i> Cham & Schldl.	11
Justificación	12
Objetivo general	12
Objetivos específicos	12
Materiales y Métodos	12
Colecta y procedencia del material botánico	12
Viabilidad de las semillas de <i>Lupinus</i>	13
Tratamientos pregerminativos aplicados a las semillas de <i>Lupinus</i>	13
Resultados y discusión	16
Porcentaje de germinación por grupo de tratamiento	16
Porcentaje promedio de germinación por grupo de tratamiento.....	20
Conclusiones.....	28
Recomendaciones	29
Referencias	29
Anexo fotográfico.....	33

Índice de cuadros

Cuadro 1. Lugares de colecta de las semillas de <i>Lupinus</i> , número de tratamientos y número de repeticiones.....	13
Cuadro 2. Tratamientos aplicados a las semillas de <i>Lupinus</i> procedentes de los 18 sitios.....	14
Cuadro 3. Fechas de conteo de las plántulas germinadas.....	16

Índice de figuras

Figura 1. Características importantes para la identificación de las especies de <i>Lupinus</i>	8
Figura 2. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T1, T2 y T3.....	16
Figura 3. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T4, T5 y T6.....	17
Figura 4. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T7, T8.	17
Figura 5. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T10 y T11.	18
Figura 6. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T12 y T13.	19
Figura 7. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T14 y T15	19
Figura 8. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T16, T17.	20
Figura 9. Promedio del porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T1, T2 y T3...	21
Figura 10. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T4, T5 y T6..	22
Figura 11. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T7, T8.	23
Figura 12. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T10 y T11	24
Figura 13. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T12 y T13	25
Figura 14. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T14 y T15. ...	26
Figura 15. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T16 y T17	27

Introducción

Aunque nuestro país es rico en recursos naturales, el crecimiento poblacional exige cada vez más contar con otras opciones para cubrir las demandas de alimentos, lo que implica que se implementen nuevos planes emergentes de producción. Desde sus inicios, el ser humano se ha servido de la gran variedad de servicios ambientales que los recursos naturales le ofrecen, sin embargo, estos se han venido degradando con el paso del tiempo, debido al hombre y a otros factores diversos, que han afectado en diferente escala estos recursos naturales, como plagas y enfermedades facilitadas por disturbios antrópicos (Martínez, 2005).

Para la restauración de tales ecosistemas es trascendental considerar especies con capacidad de fijar nitrógeno al suelo para coadyuvar en la aceleración de la sucesión ecológica (Martínez, 2005). Existen múltiples especies a elegir, una de las alternativas es el género *Lupinus*, una leguminosa nodriza potencial. No obstante, una de las dificultades de este género es su reproducción natural; la mayor parte de las leguminosas de semilla pequeña tienen semilla con la cubierta seminal dura y no pueden absorber agua con prontitud (Pedersen, Jones y Rogers, 1986). El *Lupinus*, como otras leguminosas, posee semillas que permanecen en estado latente durante mucho tiempo.

Las semillas de muchas especies, especialmente de plantas cultivadas, comienzan a germinar tan pronto como son sembradas bajo ciertas condiciones de humedad, otras no lo hacen, aunque no les falte agua, ni aire y se hallen a una temperatura adecuada. Tales semillas no germinan hasta que ciertos obstáculos se suprimen, a este fenómeno se le denomina "latencia" (Toole y Toole, 1986). De aquí que los factores naturales y/o la intervención del hombre para estimular este proceso son de gran importancia.

La palabra *Lupinus* procede del término latino lupus=Lobo, haciendo referencias a la voracidad que tienen estas plantas en utilizar nutrientes del suelo que no están disponibles para otras plantas que crecen en el mismo suelo (Meredith, 1988). El género *Lupinus* agrupa aproximadamente 500 especies, la mayoría de estas se localizan en América. En Europa y el Norte de África se han reportado más de 110 especies lo que representa un 22% de las reportadas para el mundo (Bermúdez-Torres, Robledo-Quintos, Martínez-Herrera, Tei y Wink, 2000).

Por otro lado, existen más de 200 especies del género *Lupinus* reconocidas por su importancia ecológica, debido a su capacidad de fijar nitrógeno (N_2) a través de la asociación mutualista con bacterias, así como de solubilizar fósforo por medio de sus raíces denominadas proteoides. Además de estas características, se suma el potencial económico que brindan sus propiedades nutrimentales debido a su alto porcentaje de proteína y aceite (Vazquez-Cuecuecha, 2017).

Las semillas de los lupinos presentan un alto contenido de proteínas (36 - 42% dependiendo de la especie), con un alto valor nutritivo. La principal limitante para el uso de *Lupinus* es su alto contenido,

alrededor de 1.5% a 2.5%, de alcaloides quinolozidínicos en las semillas (Ruiz y Sotelo, 2001), que confieren un sabor amargo. La presencia de estos compuestos es mayor en las especies silvestres, que son consideradas tóxicas (Keeler, 1989).

Por otro lado, el gran poder de aclimatación que tiene *Lupinus* a condiciones de estrés extremos, tales como suelos extremadamente pobres, secas, heladas, o altas concentraciones de aluminio, hacen de esta planta un material de extraordinario valor de cara hacia la denominada agricultura sostenible, basada en la mínima entrada de fertilizantes, pesticidas, o correctores de crecimiento (Foy, 1992, 1993)

El género *Lupinus* ha sido cultivado en el mundo como legumbre para grano desde hace más de tres mil años, por la capacidad de estas plantas para crecer en suelos pobres y apenas cultivados, junto con su utilidad para mejorar el suelo y el alto contenido de proteína y aceite en sus semillas (Perdomo-Molina, 1996), citado en (Martínez, Rodríguez-Trejo, Guizar-Nolasco, Bonilla-Beas, 2008).

La producción de *Lupinus* está incrementándose en Australia, Chile y Estados Unidos, al amparo de programas de mejoramiento genético, ya que las autoridades de esos países han considerado la gran importancia agrícola y económica que tiene esta planta. Por ejemplo, se han utilizado en áreas donde las condiciones no permiten el crecimiento de la soya (Rahman y Gladstones, 1974).

En Nueva Zelanda y en Sudamérica, esta planta se ha empleado como fijador de nitrógeno (N), en la fertilización de plantaciones forestales (Shepherd, 1986), así como en la producción melífera (Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo, 2005). Debido a su rápido crecimiento, sirve de protección a los árboles pequeños ante la acción del viento y animales.

En las superficies aprovechadas forestalmente, el género *Lupinus* preserva la fertilidad de los suelos mediante la fijación de nitrógeno. Así mismo, funciona como abono verde mejorando la disponibilidad de materia orgánica y reteniendo la humedad, lo que es una alternativa real para mejorar la capacidad productiva de los suelos optimizando su rentabilidad (Martínez *et al.*, 2008).

No obstante, debido a su diversidad y utilidad, el género *Lupinus* ha sido poco estudiado en el país. De acuerdo con Baskin y Baskin (1998), las semillas de este género presentan latencia física, por lo que es necesario conocer como cesarla a efecto de producir estas especies in vitro (Martínez *et al.*, 2008).

En este sentido, existen diferentes mecanismos de latencia en las plantas. La latencia previene que las semillas germinen durante estaciones desfavorables, permitiendo su supervivencia durante largos periodos, en espera de condiciones más favorables. Lo anterior, hace que las semillas toleren determinadas perturbaciones, como el fuego (Baskin y Baskin, 1998). El estudio de los factores naturales que ayuden a finalizar los diferentes tipos de latencia contribuye a un mejor conocimiento de la ecología de las especies que las presentan. Esto permitirá que las semillas encuentren las condiciones adecuadas

para germinar y producir una planta normal, de tal forma que se logre evaluar su calidad y potencial de propagación comercial (Moreno, 1984).

Para obtener información sobre la capacidad de las semillas para producir plántulas, es necesario realizar pruebas de germinación bajo condiciones artificiales. Estas pruebas también permiten realizar comparaciones entre diferentes lotes de semillas de la misma especie. En el caso del género *Lupinus* existe evidencia de que algunas concentraciones de ácido conducen a la escarificación de las semillas con cierto porcentaje de éxito (Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo, 2005). Por otro lado, existe variabilidad en los valores de germinación, entre y dentro de especies, que puede influenciar el tratamiento pregerminativo más apropiado a utilizar, además de vislumbrar la posibilidad de domesticar una especie en particular.

Por lo tanto, es necesario identificar y evaluar los problemas más comunes que determinan la capacidad germinativa de las poblaciones de *Lupinus*. En este trabajo se evalúan dos especies provenientes de diferentes sitios muestreados para determinar su capacidad germinativa aplicando diferentes tratamientos pregerminativos. El objetivo principal es identificar el mejor tratamiento pregerminativo para cada especie y por localidad si hubiera diferencia en esto. Así como obtener información con respecto a la capacidad de las semillas para producir plántulas normales.

Revisión de la literatura

De acuerdo con Perdomo-Molina (1996), citado en Martínez *et al.* (2008) el género *Lupinus* se distribuye en dos grandes regiones genéticas, una corresponde a gran parte de América, con la mayoría de las especies, y la otra a Europa y a la mitad del Norte de África, con una decena de especies silvestres y algunas cultivadas (Gross, 1982).

Las especies del género *Lupinus* son plantas dicotiledóneas, anuales o perennes, herbáceas o leñosas, con hojas digitadas, generalmente compuestas por 8-12 folíolos que varían entre ovalados a lanceolados (aunque también existen especies unifoliadas). Las inflorescencias son muy vistosas, de colores variados, dispuestas en espigas o en racimos (Barney-Duran, 2011) (Figura 1).

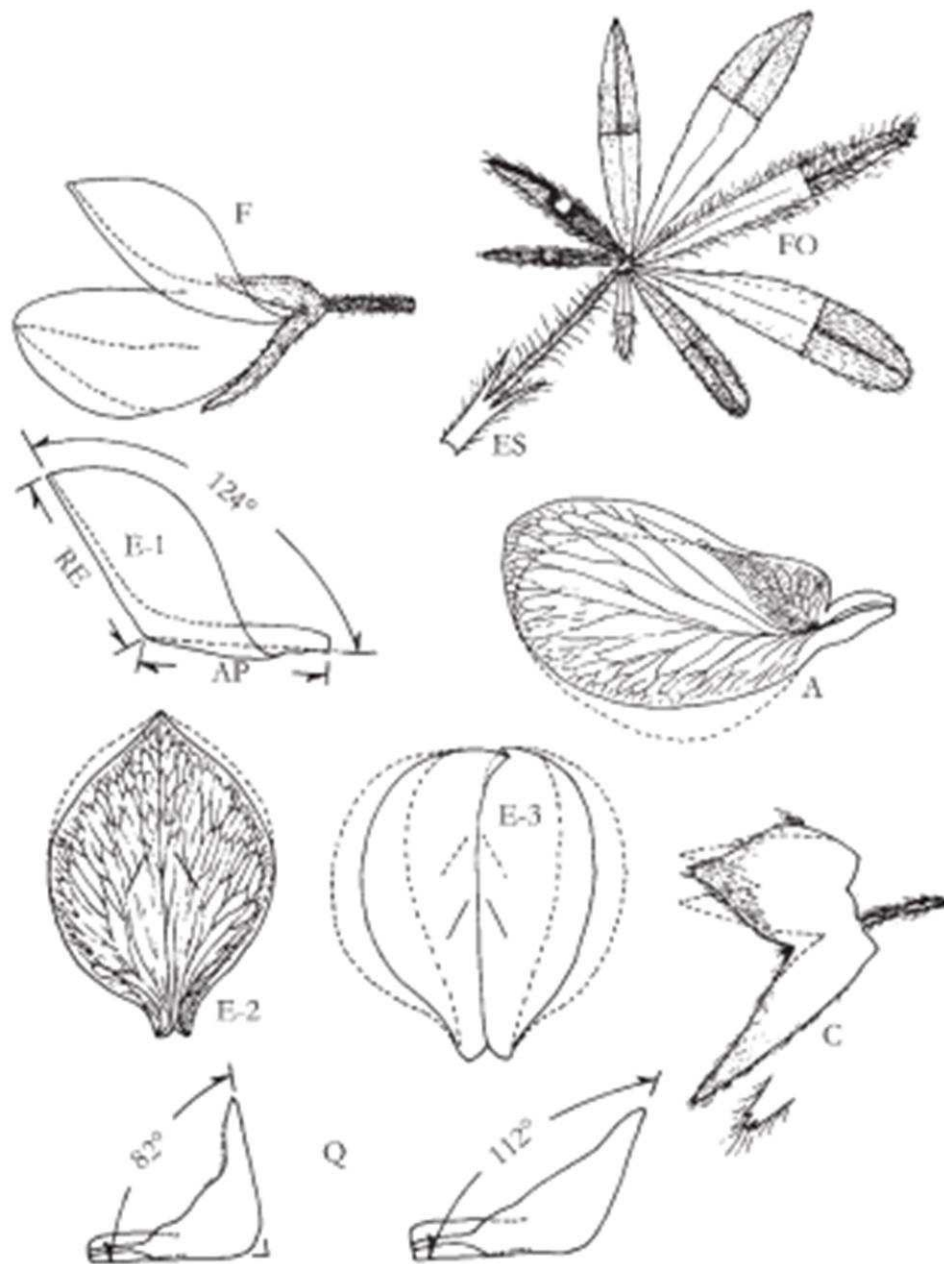


Figura 1. Características importantes para la identificación de las especies de Lupinus. A. alas; AP. parte aplicada del estandarte; C. cáliz, vista interior al cortarse por el seno izquierdo; E-1. Estandarte visto de perfil, mostrando su ángulo de flexión sobre el punto medio; E-2. Estandarte puntiagudo, las líneas inclinadas indican la flexión sobre el punto medio; E-3. Estandarte orbicular u oblongo con ápice redondeado o emarginado, las líneas inclinadas indican la flexión por debajo o por arriba del punto medio; ES. Estípulas; F. flor, vista lateral; FO. Foliolos, dos de ellos conduplicados, los otros extendidos; las diferentes formas, tipos de pubescencia y disposición de la misma pueden estar en cualquier combinación; Q. quilla mostrando dos diferentes ángulos, a la izquierda ciliado, a la derecha glabra; RE. Parte flexionada del estandarte.

Las semillas de *Lupinus* tiene un contenido de proteínas de 40% y 20% de grasas, lo cual es similar a la soya, pero mayor que otras leguminosas. El contenido de alcaloides de las semillas parece ser el único elemento anti-nutricional que tiene la semilla (Jiménez-Martínez *et al.*, 2001).

Los Lupinos utilizan alcaloides quinolizidínicos como defensa contra depredadores, pero es un factor limitativo para el consumo humano. Las concentraciones elevadas de estos componentes producen un sabor amargo (Roberts y Wink, 1998; Bermúdez-Torres *et al.*, 2000; Przybylak *et al.*, 2005). Sin embargo, se ha probado que estos alcaloides no son tóxicos a bajas concentraciones (Ballester *et al.*, 1980). Cualquier efecto potencial negativo de los alcaloides en los lupinos se elimina durante la obtención de proteínas ya que estos son solubles en agua y se remueven durante el proceso de obtención de alimentos (Gueguen y Cerletti, 1994).

Las especies de *Lupinus* son de gran importancia económica por la calidad nutrimental que contienen sus semillas y follaje. El alto porcentaje de proteína reportado en las semillas de *L. montanus* Kunth, *L. campestris* Cham. & Schlttdl. y *L. exaltatus* Zucc., oscila entre 32 a 48 % (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2012; Lagunes-Espinoza, Pablo-Pérez, Aranda-Ibáñez, López-Upton y Ramos-Juárez, 2013). Así mismo, contiene altos niveles de Nitrógeno (N), Fósforo (P), Potasio (K), Hierro (Fe) y Zinc (Zn), elementos que pueden ser aprovechados en la industria alimenticia (Pablo-Pérez, Lagunes-Espinoza, López-Upton, Ramos-Juárez, Aranda-Ibáñez, 2013).

La capacidad de las semillas para germinar y producir una planta normal es el principal atributo que considerar para evaluar su calidad y potencial. Es así que la germinación se define como la emergencia y desarrollo de aquellas estructuras esenciales que provienen del embrión, y que manifiestan la capacidad de la semilla para producir una planta normal bajo condiciones favorables (Moreno, 1984). Por lo tanto, es necesario implementar experimentos controlados en laboratorio para intervenir sobre la mayoría de condiciones externas y precisar que factor promueve o limita la capacidad germinativa de una semilla. Esto permite obtener resultados uniformes y rápidos sobre la germinación de semillas de una determinada especie.

Normalmente es limitante probar la germinación bajo condiciones de campo, ya que no es posible repetir con seguridad los resultados. Por lo tanto, los métodos de laboratorio han sido desarrollados para controlar la mayoría de las condiciones externas, y definir con precisión que factor promueve o limita más la capacidad germinativa de una semilla. Esto permite obtener resultados uniformes y rápidos sobre la germinación de muestras de semillas de una determinada especie.

En este sentido, los mecanismos de control de la germinación existen como una adaptación para la supervivencia natural de las especies. Estos mecanismos son particularmente importantes para plantas que crecen en condiciones ambientales extremas, como desiertos o regiones frías, en donde, después

de la diseminación de las semillas pueden no ser favorables para la germinación inmediata (Hartmann y Kester, 1987; Willian, 1991).

Para terminar con la latencia, algunas semillas necesitan estar húmedas y a bajas temperaturas por un período de varios meses, esta condición se podría cumplir en lugares donde cae nieve en invierno. En zonas áridas, para ciertas especies, las semillas sólo germinan si se presenta una lluvia lo suficientemente abundante para asegurar el establecimiento de las plántulas. Otras especies requieren de iluminación para germinar, evitando así que el proceso se desarrolle cuando las semillas están enterradas profundamente o son muy sombreadas por otras plantas (Patiño-Valera, La Garza, Villagomez, Talavera, Camacho, 1983; Willian, 1991). Otras más presentan testas duras que deben ser abiertas o producirles algún daño para permitir la entrada de agua y oxígeno al embrión; a este proceso se le ha llamado escarificación. En resumen, la latencia de las semillas termina cuando existe algún estímulo ambiental que anuncie que las condiciones favorables para el desarrollo de la planta.

Tratamientos para eliminar la latencia

Autores como Patiño-Valera *et al.* (1983) y Hartmann y Kester (1987) señalan que los tratamientos para eliminar la latencia son:

a) Estratificación

Consiste en colocar las semillas embebidas de agua, en capas o estratos húmedos, usando como sustrato arena. El período 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).

b) 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 combinados 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 va enfriando 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 período de tratamiento las semillas deben agitarse regularmente con el fin de obtener resultados uniformes. El tiempo de tratamiento varía según la especie. Al final del período de tratamiento se escurre el ácido y las semillas se lavan con abundante agua para quitarles el restante.

A continuación, se menciona la descripción botánica de las especies evaluadas en el presente trabajo, de acuerdo con la publicación de (Calderón y Rzedowski, 2001): "Flora fanerogámica del Valle de México".

Descripción botánica de *Lupinus montanus* HBK.

Es una planta perenne, de 3 a 10 dm de alto. Su tallo es hueco, puberulento con pelos finos y aplicados. Las estípulas van de los de 3 a los 10 cm de largo y son anchamente membranosas. Los peciolos van de los 6 a los 20 cm de largo. Las hojas tienen de 10 a 14 foliolos linear-elípticos a oblanceolados, agudos y mucronados, con el haz esparcida, con pelos extendidamente estrigosos, y esparcidamente noduloso-canescientes a pilosos en el envés. Los racimos tienen de 8 a 30 cm de largo. Las flores son verticiladas o esparcidas, con las brácteas de la parte inferior de 16 a 30 mm de largo y las superiores reducidas. El labio inferior del cáliz es delgado, arqueado, de 8 a 9 mm de largo, lanceolado, canescente por fuera, finamente seríceo por dentro cerca del ápice, con el labio superior ovado, bidentado, de 7 mm de largo y bracteolas de 1.5 a 3 mm de largo. El estandarte de la flor es glabro, suborbicular, de 11.5 a 14 mm de largo, más ancho por encima de la parte media. Las alas tienen de 12.8 a 15 mm de largo. La quilla tiene papilas diminutas encima de las uñas, en la mitad inferior del margen del arco, y con un ángulo de 95 a 100°. Las flores tienen de 6 a 8 óvulos. Las legumbres van de los 4 a los 5 cm de largo, se encorvan hacia arriba y hacia afuera, y van de finamente canescientes a pilosas.

Descripción botánica de *Lupinus campestris* Cham & Schldtl.

Es una planta anual, bienal o perenne de vida corta, de 1.5 a 6 dm de alto. Tiene tallos con médula sólida, densa y finamente canescientes a tomentosos, erectos, ramificados en la parte superior a manera de arbusto. Las estípulas, a menudo moradas, van de los 5 a los 12 mm de largo y los peciolos van de los 4 a los 8 cm de largo. Las hojas más grandes tienen de 6 a 8 foliolos elíptico-oblanceolados, con ápice generalmente agudo y en ocasiones obtuso, mucronado, de color verde intenso en el haz y esparcidamente estrigosos, pálidos en el envés y fina a densamente canescientes. Los racimos de la especie son densos, las yemas jóvenes formando un cono compacto con brácteas pequeñas, filiformes, apenas visibles, de 3 a 5.4 mm de largo, caducas. Los cálices son finamente canescientes por fuera, con pocos pelos marginales por dentro, con el labio superior de 3.4 a 4.8 mm de largo, entero o con hendidura de 0.1 mm de profundidad, anchamente triangular. Los estandartes de la corola son orbiculares, con ápices emarginados, de 10.5 a 12.5 mm de largo, las alas van de 11.5 a 14 mm de largo y las quillas tienen un ángulo de 80 a 90°, en apariencia glabras, pero con pocos cilios o esparcidamente ciliadas a lo

largo de los márgenes superiores debajo del acumen. Las flores tienen de 7 a 9 óvulos. Las legumbres van de los 4 a los 5 cm de largo y de los 8 a los 9 mm de ancho; son densamente canescentes.

Justificación

Aunque existe una amplia diversidad de especies silvestres de *Lupinus* en México con potencial alimenticio, no se cuenta con estudios para su domesticación y manejo, se ha demostrado que especies de *Lupinus* presentan altos contenidos en proteína y minerales, pero también de compuestos que podrían afectar la salud, sin embargo, el aprovechamiento de este recurso se encuentra limitado porque sus semillas presentan diversos grados de latencia. Es necesario generar información sobre los diferentes tratamientos pregerminativos químicos o de calor que pueden romper la latencia de las semillas de especies de *Lupinus* incrementando el porcentaje de germinación.

Objetivo general

- Evaluar la capacidad de germinación de dos especies de *Lupinus* en dos localidades diferentes en el estado de Puebla.

Objetivos específicos

- Determinar la existencia de diferencias entre localidades de una misma especie en sus valores germinativos.
- Determinar la germinación de semillas entre poblaciones del género *Lupinus* que crecen en el Valle de Libres y Serdan, Puebla, por medio de 18 tratamientos pre-germinativos.

Materiales y Métodos

Colecta y procedencia del material botánico

El material botánico se colectó en diferentes puntos de la región de los Valles de Serdán y Libres del Estado de Puebla los cuales se describen en el **Cuadro 1**. Se indica también el número de tratamientos que se aplicaron por sitio, así como el número de repeticiones.

Cuadro 1. Lugares de colecta de las semillas de *Lupinus*, número de tratamientos y número de repeticiones.

Clave	Lugar de procedencia	Especie <i>Lupinus</i>	No. tratamientos	No. repeticiones
*S1	Sitio B Carretera a Tlalchichuca	<i>campestris</i>	18	4
S2	Sitio C Carretera a Tlalchichuca	<i>campestris</i>	18	4
S3	Sitio C-2	<i>campestris</i>	18	4
S4	Zoapan	<i>montanus</i>	18	4
S5	Tlalmotolo	<i>montanus</i>	18	3
S6	Xipes 1	<i>montanus</i>	18	4
S7	Xipes 2	<i>montanus</i>	18	4
S8	Cañada	<i>montanus</i>	18	4
S9	Gpe. Victoria	<i>campestris</i>	18	2
S10	Gpe. Victoria 1 y 2	<i>campestris</i>	18	4
S11	Atzitzintla 3100 msnm	<i>montanus</i>	18	3
S12	Atzitzintla 3300 msnm	<i>montanus</i>	18	4
S13	Atzitzintla 3500 msnm	<i>montanus</i>	18	3
S14	Atzitzintla 3700 msnm	<i>montanus</i>	18	4
S15	Atzitzintla 3900 msnm	<i>montanus</i>	18	2
S16	Hidalgo -1	<i>montanus</i>	18	3
S17	Hidalgo-2	<i>montanus</i>	18	3
S18	Hidalgo-3	<i>montanus</i>	18	3

*S: Sitio.

Viabilidad de las semillas de *Lupinus*

Para cada muestra se seleccionaron 30 semillas de cada población, para determinar si las semillas eran viables, es decir, si tenían posibilidad de germinar. Se llenó un vaso con agua al cual se le agregaron las semillas, algunas de las semillas se hundieron y otras quedaron sobre la superficie. Se utilizaron las que se hundían, puesto que la flotación de las semillas suele deberse a que no ha finalizado su desarrollo correctamente, lo que significa que en su interior puede no haber nada (Varela y Arana, 2011); o por el contrario, puede haber un embrión que no ha terminado su desarrollo (Vega-Villasante, Nolasco, Montaña, Romero-Schmidt, Vega-Villasante, 1996). Dichas semillas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0.35% por 5 minutos.

Tratamientos pregerminativos aplicados a las semillas de *Lupinus*

Se aplicaron 18 tipos de tratamientos para llevar a cabo la germinación de las semillas de *Lupinus* (Cuadro 2), con variaciones que se enlistan y se describen a continuación.

Cuadro 2. Tratamientos aplicados a las semillas de Lupinus procedentes de los 18 sitios.

Clave	Tratamiento
T1	Escarificación mecánica (2 min.) + humedecer sustrato con agua destilada
T2	Escarificación mecánica (4 min.) + humedecer sustrato con agua destilada
T3	Escarificación mecánica (6 min.) + humedecer sustrato con agua destilada
T4	Escarificación mecánica (2 min.) + humedecer sustrato con solución de KNO ₃ al 0.2 %
T5	Escarificación mecánica (4 min.) + humedecer sustrato con solución de KNO ₃ al 0.2 %
T6	Escarificación mecánica (6 min.) + humedecer sustrato con solución de KNO ₃ al 0.2 %
T7	Escarificación (lija) + humedecer sustrato con agua destilada
T8	Escarificación (lija) + humedecer sustrato con solución de KNO ₃ al 0.2 %
T9	Testigo sin escarificar + humedecer sustrato con agua destilada
T10	Escarificación con H ₂ SO ₄ por 15 minutos + agua destilada
T11	Escarificación con H ₂ SO ₄ por 30 minutos + agua destilada
T12	Estratificación por 5 ^o C por 7 días + agua destilada
T13	Estratificación por 5 ^o C por 7 días + humedecer sustrato con solución de KNO ₃ al 0.2 %
T14	Agua caliente (ebullición y tiempo) + humedecer sustrato con agua destilada
T15	Agua caliente (ebullición y tiempo) + humedecer sustrato con solución de KNO ₃ al 0.2 %
T16	Calor seco a 40 ° x 72 hrs. + humedecer sustrato con agua destilada
T17	Calor seco a 70 ° x 72 hrs. + humedecer sustrato con solución de KNO ₃ al 0.2 %
T18	Testigo sin escarificar + humedecer sustrato con agua destilada

*T: Tratamiento

En la escarificación mecánica (T1, T2 y T3) se utilizó un aparato para revolver semilla, el cual se cubrió con lija y se mantuvo girando con la semilla por dos, cuatro y seis minutos, posteriormente éstas se colocaron en cajas pequeñas de plástico con algodón, el cual se humedeció con agua destilada.

En la escarificación mecánica (T4, T5 y T6) se utilizó un aparato para revolver semilla, se cubrió con lija y se mantuvo girando con la semilla por dos, cuatro y seis minutos, posteriormente éstas se colocaron en cajas pequeñas de plástico con algodón, el cual se humedeció con solución de KNO_3 al 0.2%

En la escarificación con lija (T7, T8) se utilizó una lija de grano medio para madera, donde cada semilla se lijó de forma manual hasta que se descubrió el cotiledón, posteriormente se colocaron en pequeñas cajas de plástico con algodón humedecido en agua destilada y con solución de KNO_3 al 0.2%, respectivamente

T9 Testigo sin escarificar + humedecer sustrato con agua destilada

En la escarificación con H_2SO_4 (T10 y T11) las semillas se mantuvieron remojándose por 15 y 30 minutos en la solución, posteriormente se colocaron en pequeñas cajas de plástico con algodón humedecido con agua destilada.

En la estratificación por 5°C (T12) las semillas se mantuvieron remojándose por 7 días en agua destilada posteriormente se colocaron en pequeñas cajas de plástico con algodón humedecido con agua destilada.

En la estratificación por 5°C (T13) las semillas se mantuvieron remojándose por 7 días en agua destilada posteriormente se colocaron en pequeñas cajas de plástico con algodón humedecido con solución de KNO_3 al 0.2%.

En los T14 y T15, las semillas se sumergieron en agua en ebullición por 15 min. y 25 min., posteriormente se colocó en pequeñas cajas de plástico y se humedeció el algodón con solución de KNO_3 al 0.2%.

Para el T16 se utilizó una estufa Lab-line modelo 3478M, en la cual se colocaron las semillas a 70°C durante 72 h, y posteriormente se colocaron en pequeñas cajas de plástico y se humedeció el algodón con agua destilada.

En el T17 se utilizó una estufa Lab-line modelo 3478M en la cual se colocaron las semillas a 70°C durante 72 h, y posteriormente se colocó en cajas de plástico y se humedeció el algodón con solución de KNO_3 al 0.2%.

T18 Testigo sin escarificar + humedecer sustrato con agua destilada

Después de aplicar cada tratamiento al grupo de semillas, y al cabo de una semana se contaron las plántulas que emergían en las cajas de plástico para cada repetición. Se registró la germinación en las fechas indicadas en el Cuadro 3, considerando germinadas las semillas cuando la radícula alcanzó un

tamaño igual a la longitud de la misma semilla, eliminando los casos en que las plántulas presentaron defectos.

Cuadro 3. Fechas de conteo de las plántulas germinadas.

	Conteo 1	Conteo 2	Conteo 3	Conteo 4
Tratamientos 1 al 9	29-sep-17	01-oct-17	05-oct-17	15-oct-17
Tratamientos 10 al 18	12-nov-17	20-nov-17	27-nov-17	

Los tratamientos que se aplicaron a las semillas ablandaron su capa protectora de tal forma que el tiempo de germinación disminuyó. Como se mencionó anteriormente, los tratamientos incluyen diferentes mecanismos que aceleran el proceso como condiciones mecánicas de frío, calor, aplicación de ácidos, lijadura de la cubierta, entre otros. Lo que finalmente permitió identificar el tratamiento con el cual la velocidad de germinación fue más rápida y eficiente.

Resultados y discusión

Porcentaje de germinación por grupo de tratamiento

Con relación a los tratamientos que tienen en común la escarificación mecánica y el humedecimiento con agua destilada (T1, T2 y T3), se observó que el T2 presentó el mayor porcentaje de germinación con un 80% en las semillas procedentes del sitio 1 - Carretera a Tlalchichuca (2600 msnm). Y el menor porcentaje (1.7%) se observó en el sitio 15 - Atzitzintla 3900 msnm, con ese mismo tratamiento (Figura 2).

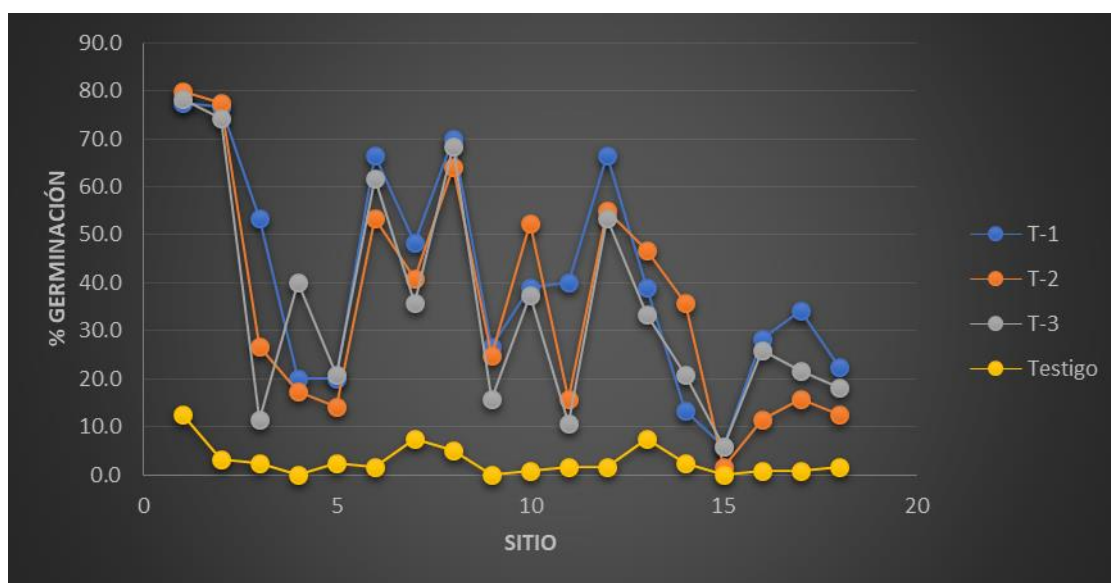


Figura 2. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T1, T2 y T3

En el caso de los tratamientos T4, T5 y T6 (Escarificación mecánica 2, 4 y 6 min humedecido el sustrato con solución de KNO_3 al 2%) se observó que el porcentaje más alto de germinación se presentó empleando el tratamiento T6 (82.5%) utilizando nuevamente las semillas del sitio 1 - Carretera a Tlalchichuca (2600 msnm). Y el menor porcentaje de germinación se observó en el sitio 14 (Atzitzintla 3700 msnm) con 1.7% aplicando el mismo tratamiento T6 (Figura 3).

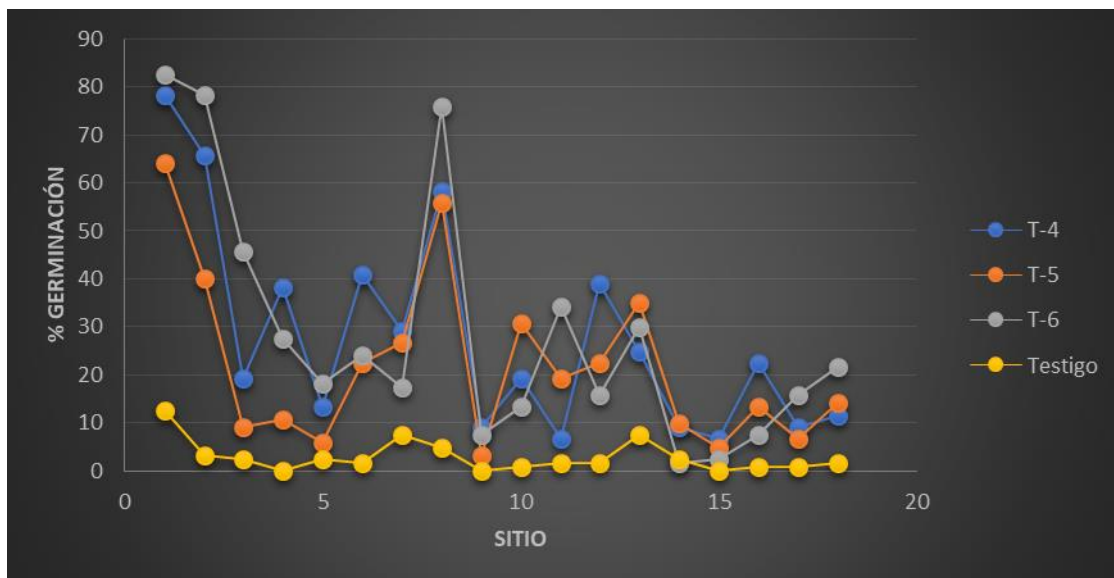


Figura 3. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T4, T5 y T6

En el caso de los tratamientos T7 y T8 (Escarificación mecánica con lija con sustrato humedecido en agua destilada y con solución de KNO_3 al 0.2%), se observó que el porcentaje de germinación más alto fue 74.2% para la misma especie (*Lupinus campestris*) pero en diferentes sitios.

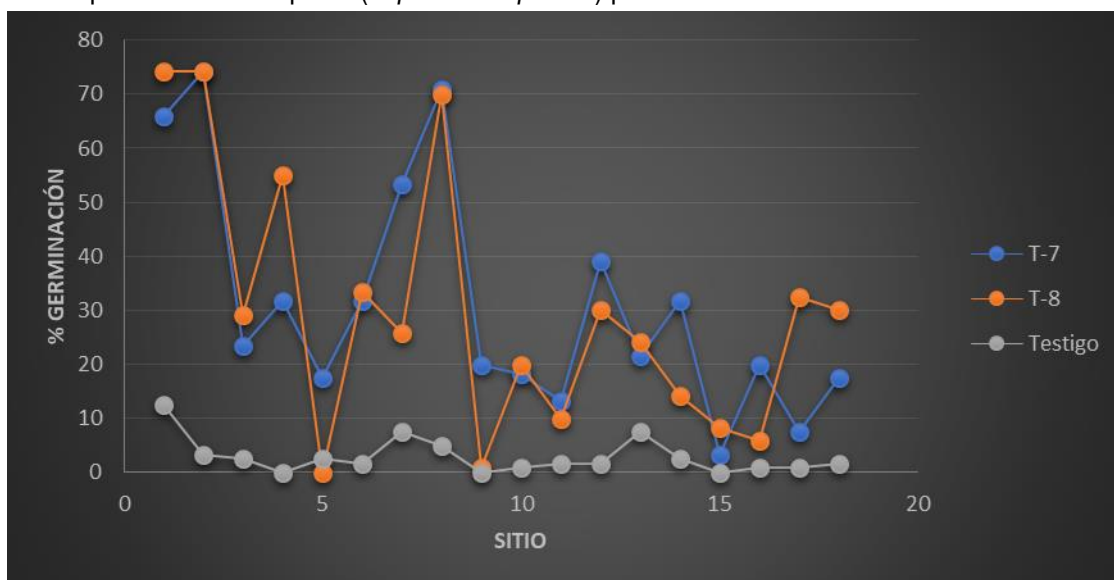


Figura 4. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T7, T8.

En todos los tratamientos que involucraron algún tipo de escarificación mecánica, sobresale el hecho de que el porcentaje de germinación incrementó cuando se aplicó un tratamiento que permitió que la testa y otras estructuras fueran permeables al agua y aire. Esto queda de manifiesto cuando se compararon los diferentes tratamientos con el testigo (semillas sin escarificar + humedecer sustrato con agua destilada) que 2.9% de germinación promedio en los 18 sitios.

Con relación a los tratamientos T10 y T11 (Escarificación con H_2SO_4 por 15 y 30 min, humedeciendo el sustrato con agua destilada), el porcentaje más alto de germinación se observó en las semillas procedentes del sitio 7 – Xipes 2 con la aplicación del tratamiento T11, lo que reflejó 81.7% de germinación. Cabe resaltar que el mismo tratamiento aplicado en semillas de *Lupinus montanus* procedentes del sitio 14 (Atzitzintla 3700 msnm) presentó el mínimo porcentaje de germinación (4.2%) (Figura 5).

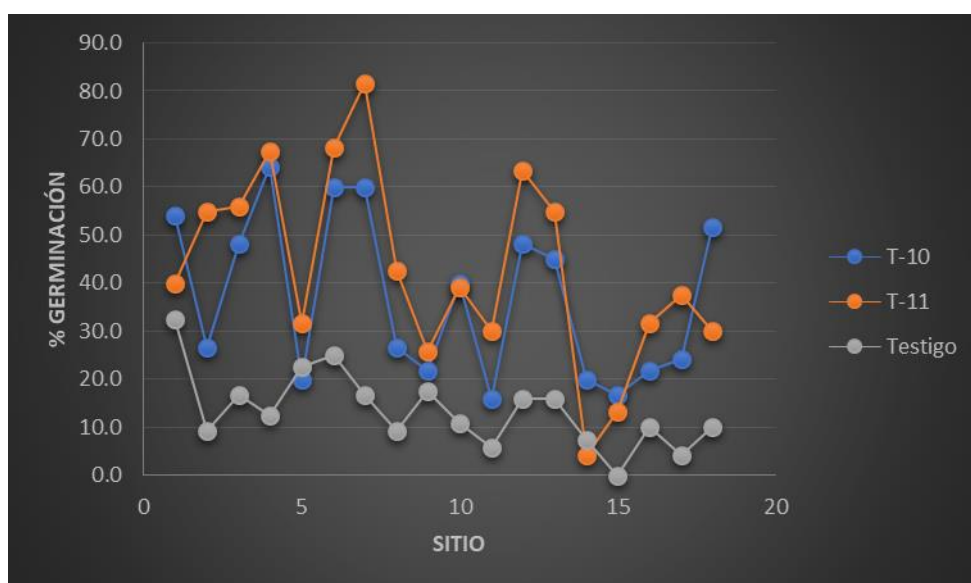


Figura 5. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T10 y T11.

Para los tratamientos T12 y T13 (Escarificación con H_2SO_4 con sustrato humedecido con agua destilada), en la Figura 6 se observa que en ambos casos el mayor porcentaje de germinación (46.7%) se presentó para las semillas provenientes del sitio 1 - Carretera a Tlalchichuca (2600 msnm. Los menores porcentajes (<5%) se presentaron en las semillas originarias del sitio 8 (T12) y 2 (T13).

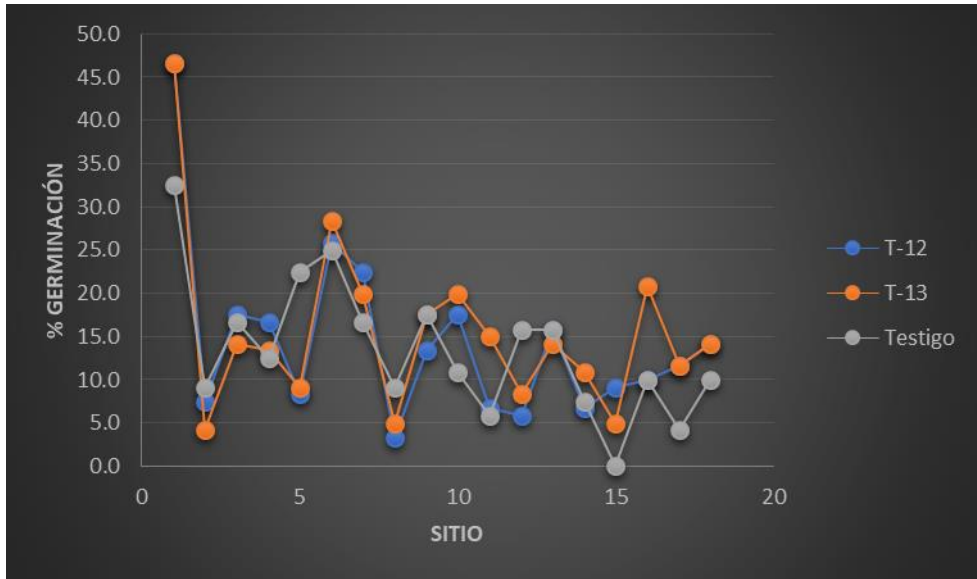


Figura 6. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T12 y T13.

En la Figura 7 se observa el comportamiento de los porcentajes de germinación aplicando los tratamientos T14 y T15 (Agua caliente humedeciendo con solución de KNO_3 al 0.2%). El porcentaje de germinación más alto se obtuvo empleando el tratamiento T14, en semillas procedentes del sitio 7 - Xipes 2, lo que reflejó un 36.7% de germinación. Una nula germinación se presentó en aquellas semillas provenientes del sitio 5 con el T15 y del sitio 15 aplicando el T14, este último coincidió además con los resultados aplicando el tratamiento testigo.

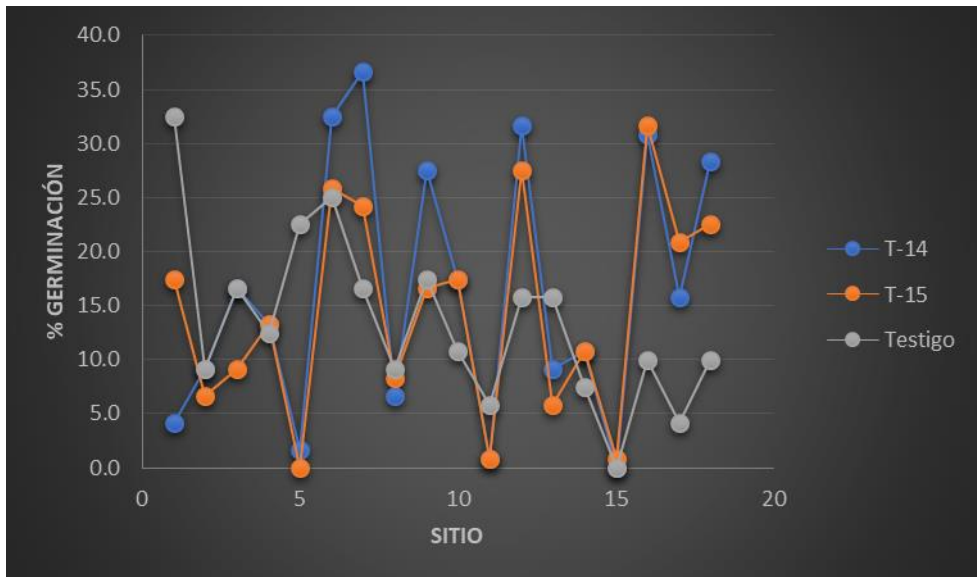


Figura 7. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T14 y T15.

Finalmente, el comportamiento de la germinación aplicando los tratamientos T16, T17 (Calor seco a 40 y 70 °C humedeciendo el sustrato con agua destilada y solución de KNO3 al 0.2%, respectivamente) se presenta en la Figura 8. El porcentaje de germinación más alto se observó en semillas provenientes del sitio 1 - Carretera a Tlalchichuca, con 45% empleando el T17. Nuevamente, a las semillas procedentes del sitio 15 y con la aplicación de ambos tratamientos incluyendo el testigo no presentaron germinación alguna.

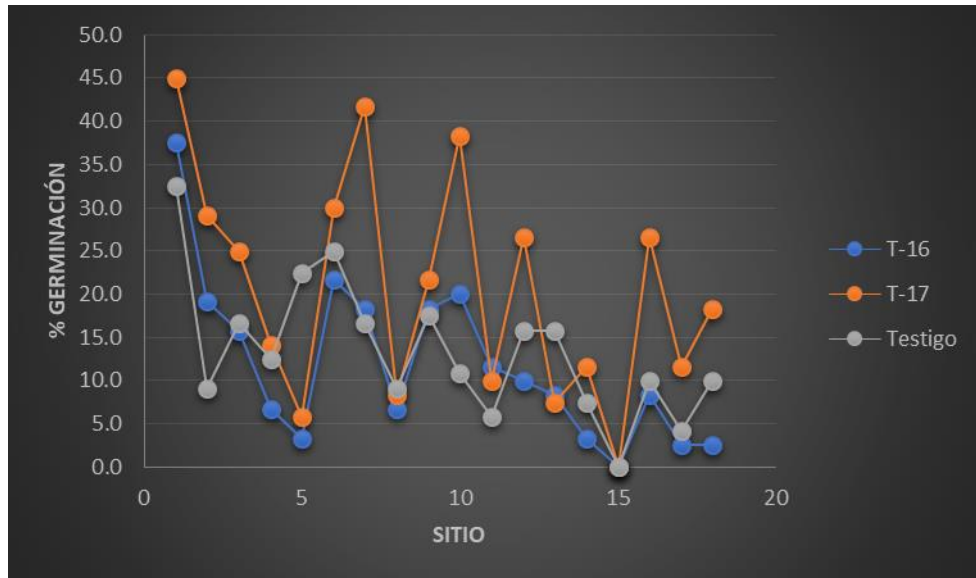


Figura 8. Porcentaje de germinación en los 18 sitios con los tratamientos T16, T17.

Porcentaje promedio de germinación por grupo de tratamiento

Para ver el comportamiento del porcentaje promedio de germinación por tipo de tratamiento aplicado a los 18 sitios, se construyeron gráficas Boxplot.

En la Figura 9, se observa que el porcentaje promedio más alto se presentó en el T1 (41.6%), aunque no fue con este tratamiento donde se encontró el porcentaje de germinación más alto, sino en el T2 sitio 1 (Figura 2). Los otros dos promedios se mantuvieron similares con 35.8% y 35.2% para el T2 y T3, respectivamente.

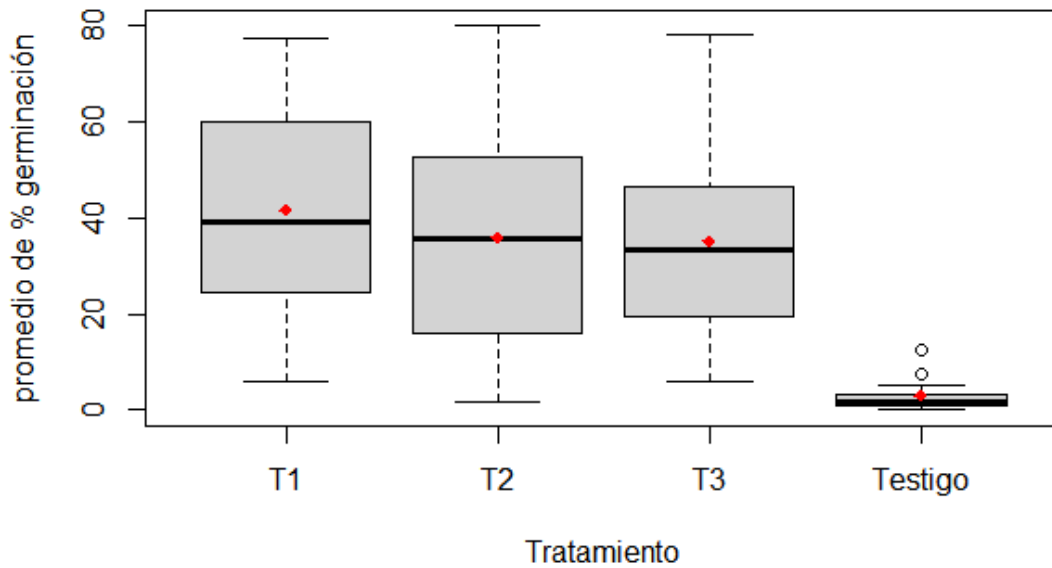


Figura 9. Promedio del porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T1, T2 y T3.

En el caso de los tratamientos T4, T5 y T6 (escarificación mecánica 2, 4 y 6 min humedecido el sustrato con solución de KNO_3 al 2%) se observó que el promedio más alto fue con el T6 con un porcentaje 28.9% de germinación, en comparación con T4 (27.8%) y T5 (21.9%) (Figura 10). Cabe resaltar que aplicando el T6 en semillas provenientes del sitio 1 - Carretera a Tlalchichuca se registró el mayor porcentaje de germinación de este estudio (82.5%) por sitio (Figura 3).

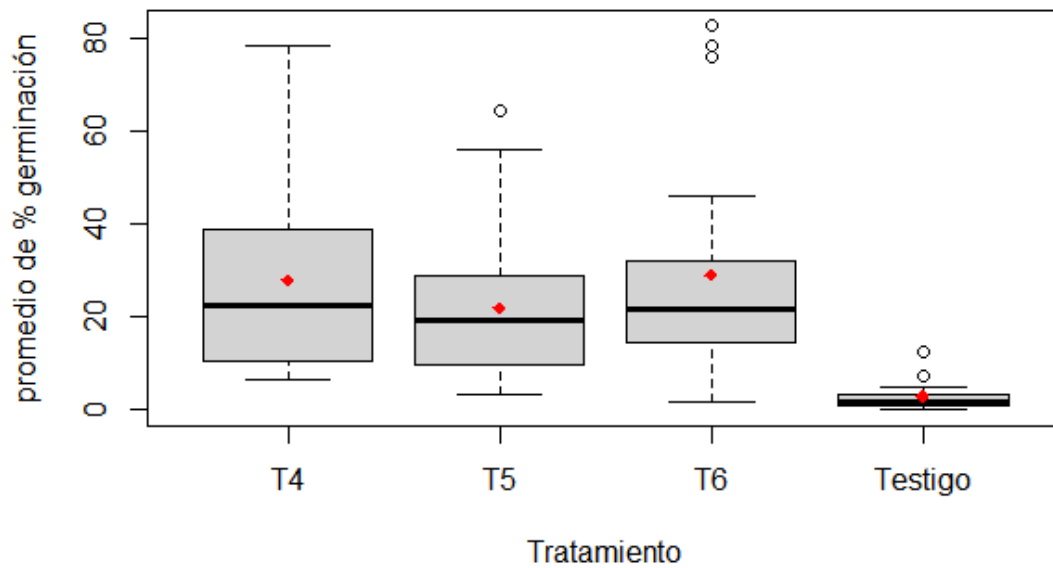


Figura 10. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T4, T5 y T6

En el caso de los tratamientos T7 y T8 (escarificación mecánica con lija con sustrato humedecido en agua destilada y con solución de KNO_3 al 0.2%) se observó que el promedio de porcentaje de germinación más alto fue en T7 (31.2%) (Figura 11).

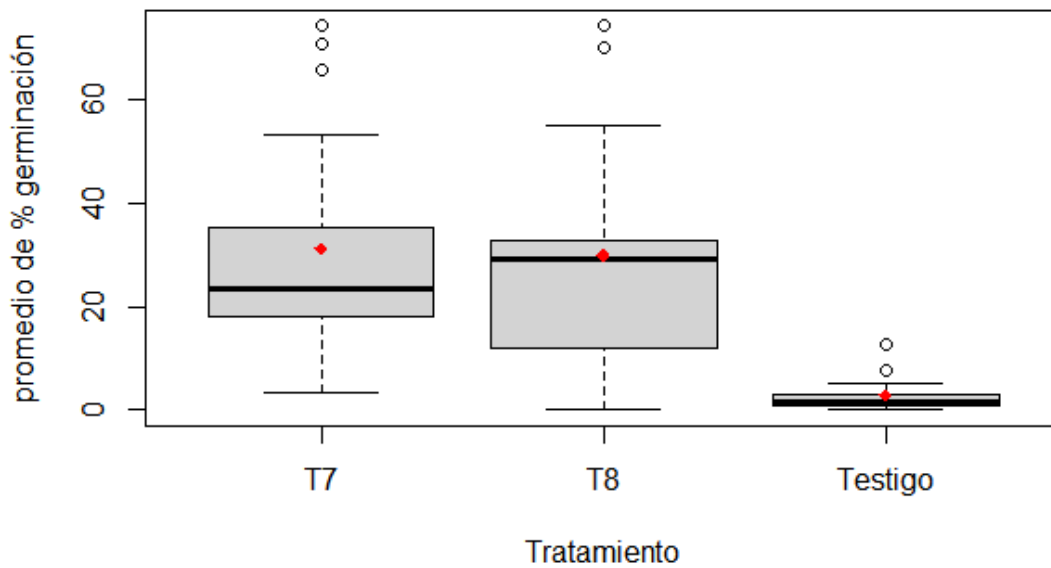


Figura 11. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T7, T8.

En el caso de los tratamientos T10 y T11 (escarificación con H_2SO_4 por 15 y 30 min, humedeciendo el sustrato con agua destilada) se observó que el promedio más alto fue en T11 con un porcentaje de germinación de (42.9%) (Figura 12), en comparación con T10 (36.9%). Aplicando el T11 en semillas procedentes del sitio 7 se registró uno de los mayores porcentajes de germinación (81.7%) de este estudio (Figura 4).

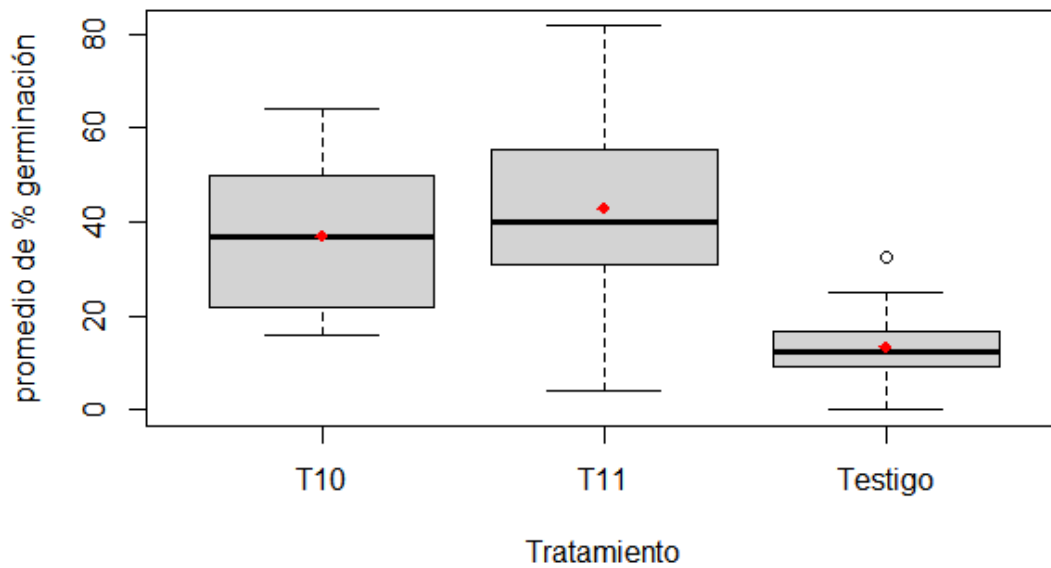


Figura 12. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T10 y T11

En el caso de los tratamientos T12 y T13 (escarificación con H_2SO_4 con sustrato humedecido con agua destilada) se observó que los porcentajes promedios fluctúan en el orden de 1 y 2% con relación al tratamiento testigo. 14.4%, 15.4%, 13.4%, para T12, T13 y T18, respectivamente (Figura 13).

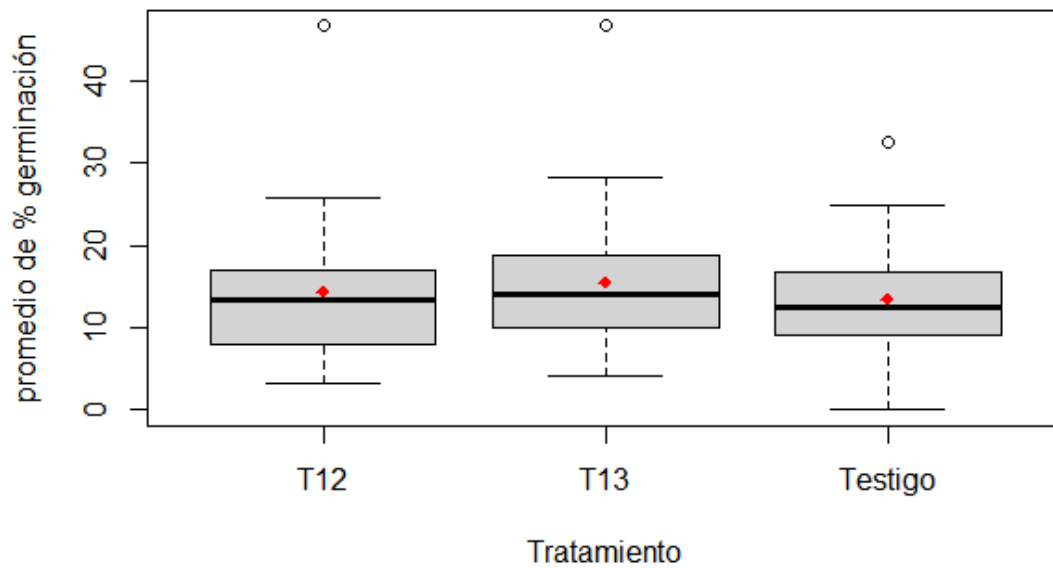


Figura 13. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T12 y T13

En el caso de los tratamientos T14 y T15 (agua caliente humedeciendo con solución de KNO_3 al 0.2%) se observó que el promedio más alto fue en T14 con un porcentaje de germinación de (16.3%), en comparación con T15 (14.4%) siendo que el T14 presentó el mayor porcentaje de germinación (36.7%) en semillas procedentes del sitio siete Xipes 2 (Figura 14).

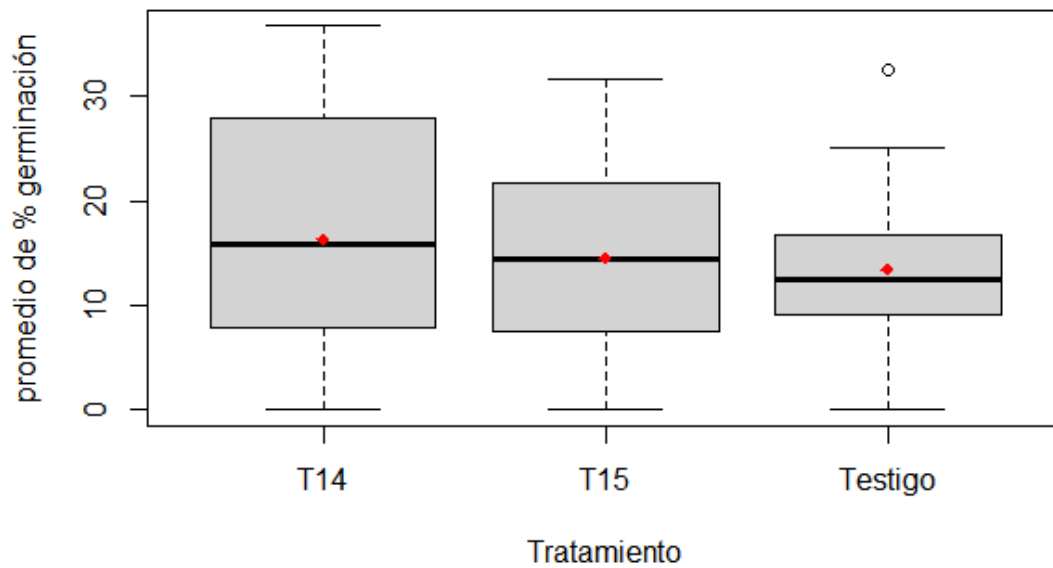


Figura 14. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T14 y T15.

En la Figura 15 se observa el comportamiento del porcentaje promedio de germinación aplicando los tratamientos T16, T17 (Calor seco a 40 y 70 °C humedeciendo el sustrato con agua destilada y solución de KNO₃ al 0.2%) a las semillas de los 18 sitios. Se observó que el promedio más alto fue con el tratamiento T17 con un porcentaje de germinación de (20.6%), en comparación con el tratamiento testigo (13.4%) que incluso superó al tratamiento T16 (11.9%).

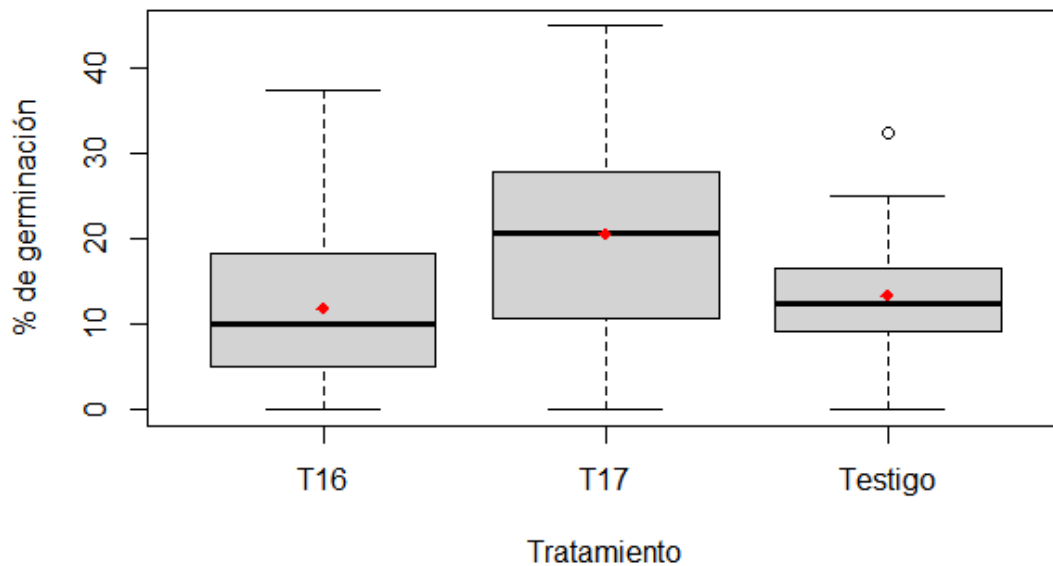


Figura 15. Promedio de porcentaje de germinación aplicando los tratamientos T16 y T17

Esta investigación tuvo como propósito evaluar la capacidad de germinación de dos especies de *Lupinus* aplicando diferentes tratamientos pregerminativos. Se identificó que las semillas de *L. campestris* provenientes del sitio 1 - Carretera a Tlalchichuca fueron las que respondieron mejor en la mayoría de los tratamientos superando en promedio el 50% de germinación. En 14 sitios el porcentaje de germinación fue entre 37.5% y hasta 82.5%. De forma general, estos resultados son similares a lo reportado en el estudio de Gutiérrez-Nava, De León-González, Etchevers-Barra y Casas-Fernández (2010), en donde alcanzaron un 50% de germinación en semillas de la misma especie escarificadas con ácido sulfúrico.

En este sentido, la escarificación con ácido sulfúrico se mantiene como el tratamiento pregerminativo idóneo para eliminar la latencia de las semillas de *Lupinus*. Este trabajo confirma lo reportado por Hernández-Ferretiz, Rivera-Meléndez, Salinas-Pérez, Rodríguez-Monroy y Bermúdez-Torres (2008) donde realizaron varias pruebas con ácido sulfúrico y escarificación mecánica en semillas de *L. montanus*, reportando 95% de germinación final. En este trabajo, el tratamiento T11 (Escarificación con ácido sulfúrico (H_2SO_4) por 30 minutos + agua destilada) aplicado a las semillas provenientes de 18 sitios logró el mayor porcentaje promedio de germinación (42.9%). Sin embargo, a nivel de especie, *Lupinus campestris* alcanzó el mayor porcentaje promedio de germinación (54.7%) cuando se le aplicó el tratamiento T1 (Escarificación mecánica (2 min.) + humedeciendo el sustrato con agua destilada), a diferencia de *Lupinus montanus* que logró el mayor porcentaje promedio (42.8%) escarificando con (H_2SO_4).

En el estudio de Pablo-Pérez et al. (2013), las semillas de varias especies de lupinos silvestres sin escarificación mostraron un bajo porcentaje de germinación. Al aplicar el tratamiento de escarificación, la germinación incremento a 48% en *Lupinus montanus* y 91.6% en *Lupinus exaltatus*. Los autores señalan una reducción en el tiempo total de la germinación, cuando realizan tratamientos de escarificación. Un comportamiento similar se identificó en este estudio, con un porcentaje de germinación de hasta 82.5% para *Lupinus campestris*.

Las semillas de diferentes especies de *Lupinus* tienen testas duras o poco permeables, lo que influye en la latencia que presentan y limita su desarrollo. El uso de escarificación mecánica en semillas de lupino, aunque laborioso, ha demostrado ser efectivo para incrementar el porcentaje de germinación hasta 90% en *Lupinus montanus* (Hernández-Ferretiz et al., 2008) y hasta en 100% en *Lupinus varius* (Karaguzel, Cakmakci, Ortacesme y Aydinoglu, 2004). En este estudio, las semillas de *Lupinus montanus* lograron un 36.5% de germinación en promedio con escarificación mecánica (T1) y hasta 42.8% con escarificación química (T11).

En este sentido, Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo (2005), hallaron una interacción significativa entre regímenes de temperatura, tratamientos con luz y tratamiento escarificador químico en *Lupinus montanus*, obteniendo una germinación de 100%, con escarificación con ácido sulfúrico durante 35 minutos, y con luz. Cabe señalar que dichos autores refieren el 98% de germinación en el mismo régimen y tratamiento escarificador, pero sin luz. Los resultados de Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo (2005) en *Lupinus montanus*, son semejantes para la mayor germinación en condiciones de luz (presencia de esta) y tratamiento escarificador químico (35 minutos de inmersión en el presente trabajo se usaron 30 minutos).

La principal forma de propagación de las leguminosas es por semilla; sin embargo, muchas semillas viables son incapaces de germinar inmediatamente después de madurar, aunque se les coloque en condiciones favorables, característica denominada latencia o germinación diferida, y una de las causas es la impermeabilidad del tegumento (Corral, Pita y Pérez-García, 1990). Aparentemente la latencia es un mecanismo de supervivencia ante la presencia de determinadas condiciones climáticas: temperaturas muy bajas, alternancias de épocas secas y húmedas y climas desérticos (Cruz y Takaki, 1983).

Conclusiones

Los resultados de esta investigación cumplieron con los objetivos planteados, los cuales fueron evaluar la capacidad de germinación de dos especies de *Lupinus* en dos localidades diferentes en el estado de Puebla. Se determinó la existencia de diferencias entre localidades de una misma especie en sus valores germinativos y se comparó el porcentaje de germinación de semillas entre poblaciones del género *Lupinus* que crecen en el Valle de Libres y Serdan, Puebla, por medio de 18 tratamientos pregerminativos.

El tratamiento pregerminativo que rindió los mejores porcentajes de germinación fue T11 que consistió en escarificar las semillas con H₂SO₄ por 30 minutos + agua destilada con 42.9% promedio de germinación en los 18 sitios. Así mismo, las semillas provenientes del sitio 1 (Sitio B Carretera a Tlalchichuca) de la especie *Lupinus campestris* fueron las que mayormente germinaron con un promedio de 52.1%.

En general, las semillas de *Lupinus campestris* rindieron un porcentaje de germinación promedio de 54.7% cuando se les aplicó el T1, mientras que *Lupinus montanus* rindió su mayor porcentaje promedio (42.8%) cuando se le aplicó el T11.

Se comprobó la existencia de latencia física en las semillas de las especies estudiadas. Por lo tanto, es necesario someterlas a tratamientos escarificatorios para estimular su germinación.

Recomendaciones

Es importante que se continúen los estudios sobre germinación en las especies de *Lupinus* ya que permitirá enriquecer el conocimiento explorando nuevos métodos que permitan incrementar la eficiencia germinativa, se debe de aprovechar sus características, una de ellas es que provee Nitrógeno al suelo, también debería de utilizarse para recuperar suelos deficientes en nutrientes, regenerar las áreas degradadas y para incrementar el contenido nutricional en especies forestales o como nodrizas para especies de importancia económica, esto podría permitir reducir el uso de fertilizantes minerales, así como el impacto ecológico al ambiente.

Referencias

- Acosta-Percástegui, J., & Rodríguez-Trejo, D. A. (2005). Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia*, 30(9), 576-579.
- Ballester, D., Yanez, E., Garcia, R., Erazo, S., Lopez, F., Haardt, E., . . . Chichester, C. O. (1980). Chemical composition, nutritive value, and toxicological evaluation of two species of sweet lupine (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(2), 402-405. doi:10.1021/jf60228a056
- Barney Duran, V. E. (2011). *Biodiversidad y ecografía del género Lupinus L. (Leguminosae) en Colombia*. (Tesis de Maestría), Universidad Nacional de Colombia, Valle del Cauca, Colombia. Retrieved from <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8205>
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (1998). *Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. San Diego, California, U.S.A: Academic Press Elsevier.
- Bermúdez-Torres, K., Robledo-Quintos, N. R., Martínez-Herrera, J., Tei, A., & Wink, M. (2000). Patrón de acumulación de alcaloides en hojas y semillas de *Lupinus aschenbornii* crecidos en México. *Revista Latinoamericana de Química*, 27(3), 101-105.

- Calderón, G., & Rzedowski, J. (2001). Flora fanerogámica del Valle de México. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Corral, R., Pita, J. M., & Pérez-García, F. (1990). Some aspects of seed germination in four species of *Cistus* L. *Seed Science and Technology*, 18, 321-325.
- Cruz, M. S., & Takaki, M. (1983). Dormancy and germination of seed of *Cloris urthonothon*. *Seed Science and Technology*, 11(2), 323-329.
- Foy, C. D. (1992). Soil chemical factors limiting plant root growth. In *Limitations to plant root growth* (pp. 97-149). New York, NY: Springer.
- Foy, C. D. (1993). *Role of the soil scientist in genetic improvement of plants for problem soils*. Paper presented at the Adaptation of plants to soil stresses, University of Nebraska, Lincoln, NE.
- Gross, R. (1982). *El cultivo y la utilización del Tarwi (Lupinus mutabilis Sweet)*. Roma Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: FAO. 236 p.
- Gueguen, J., & Cerletti, P. (1994). Proteins of some legume seeds: soybean, pea, fababean and lupin. In *Hudson B.J.F. (eds) New and developing sources of food proteins* (pp. 145-193): Springer, Boston, MA, U.S.A.
- Gutiérrez-Nava, P., De León-González, F., Etchevers-Barra, J., & Casas-Fernández, A. (2010). Effect of scarification, self-inhibition, and sowing depth on seed germination of *Lupinus campestris*. *Chilean journal of agricultural research*, 70(3), 365-371. doi:10.4067/S0718-58392010000300003
- Hartmann, H. T., & Kester, D. E. (1987). *Propagación de plantas: principios y prácticas* (6ta ed.). México D.F. Compañía Editorial Continental S.A. de C.V. 810 p.
- Hernández-Ferretiz, E., Rivera-Meléndez, R. K., Salinas-Pérez, O. J. R. H. F. d. C., Rodríguez-Monroy, M., & Bermúdez-Torres, K. (2008). *Effect of scarification treatments on germination of Lupinus montanus HBK seeds*. Paper presented at the Lupins for health and wealth. Proceedings of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, Western Australia.
- Jiménez-Martínez, C., Hernández-Sánchez, H., Álvarez-Manilla, G., Robledo-Quintos, N., Martínez-Herrera, J., & Dávila-Ortiz, G. (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(4), 421-428.
- Karaguzel, O., Cakmakci, S., Ortacesme, V., & Aydinoglu, B. (2004). Influence of seed coat treatments on germination and early seedling growth of *Lupinus varius* L. *Pakistan Journal of Botany*, 36(1), 65-74.
- Keeler, R. F. (1989). *Quinolizidine alkaloids in range and grain lupins*. Paper presented at the Toxicants of plant origin, Boca Raton, FL, USA.
- Lagunes-Espinoza, L. d. C., López-Upton, J., García-López, E., Jasso-Mata, J., Delgado-Alvarado, A., & García de Los Santos, G. (2012). Diversidad morfológica y concentración de proteína de *Lupinus* spp. en la región centro-oriental del estado de Puebla, México. *Acta botánica mexicana*(99), 73-90.
- Lagunes-Espinoza, L. d. C., Pablo-Pérez, M., Aranda-Ibáñez, E. M., López-Upton, J., & Ramos-Juárez, J. (2013). *Potencial nutritivo para alimentación animal de leguminosas silvestres del género Lupinus*

- del estado de Puebla*. Paper presented at the XII Simposio Internacional y VII Congreso Nacional de Agricultura Sostenible. F. Álvarez G., F. Bahena J., I. Carranza C., R. Díaz R., I. Ocampo. F, E. Ortiz T., A. Pérez M., E. Pérez R., JA Villanueva J. y LA Villareal M.(eds.). Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible. Puebla, México. 7 p.
- Martínez, M. J. (2005). *Ecología de la semilla de Lupinus bilineatus Benth.* (Tesis de Licenciatura), Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Edo de México. 55 p.
- Martínez, M. J., Rodríguez-Trejo, D. A., Guizar-Nolazco, E., & Bonilla-Beas, R. (2008). Escarificación artificial y natural de la semilla de *Lupinus bilineatus* Benth. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 14(2), 73-79.
- Meredith, H. L. (1988). *Lupin field nutrition studies*. Paper presented at the Proceedings 5th International Lupine Conference, Radzikow, Poland. Institute Plant Breeding and Acclimatization. 11 p.
- Moreno, E. (1984). *Análisis físico y biológico de semillas agrícolas*: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. 103 p.
- Pablo-Pérez, M., Lagunes-Espinoza, L. d. C., López-Upton, J., Ramos-Juárez, J., & Aranda-Ibáñez, E. M. (2013). Morfometría, germinación y composición mineral de semillas de *Lupinus silvestres*. *Bioagro*, 25(2), 101-108.
- Patiño-Valera, F., La Garza, P., Villagomez, Y., Talavera, I., & Camacho, F. (1983). *Guía para la recolección y manejo de semillas de especies forestales*. México D. F. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. Subsecretaría Forestal. Boletín Divulgativo No 63. 181 p.
- Pedersen, M., Jones, L. G., & Rogers, T. H. (1986). *Producción de semilla de leguminosas*. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. CECSA. México, D. F. pp. 317-335.
- Perdomo-Molina, A. C. (1996). *El papel de los chochos (Lupinus spp.) en el agrosistema ganadero de Los Rodeos (Tenerife-Islands Canarias)*. Paper presented at the AGRICULTURA ECOLÓGICA Y DESARROLLO RURAL, II Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. Pamplona-Iruña. 489-500.
- Przybylak, J. K., Ciesiołka, D., Wysocka, W., García-López, P. M., Ruiz-López, M. A., Wysocki, W., & Gulewicz, K. (2005). Alkaloid profiles of Mexican wild lupin and an effect of alkaloid preparation from *Lupinus exaltatus* seeds on growth and yield of paprika (*Capsicum annuum* L.). *Industrial Crops and Products*, 21(1), 1-7.
- Rahman, M. S., & Gladstones, J. S. (1974). Differences among *Lupinus* species in field response to superphosphate. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, 14(67), 214-223.
- Roberts, M. F., & Wink, M. (1998). *Alkaloids: biochemistry, ecology, and medicinal applications*: Plenum Press, New York, U.S.A.
- Ruiz, M. A., & Sotelo, A. (2001). Chemical composition, nutritive value, and toxicology evaluation of Mexican wild lupins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5336-5339.
- Shepherd, K. R. (1986). *Silviculture*. Martinus Nijhoff Pub. . Dordrecht. 322 p.
- Toole, E., & Toole, V. (1986). Hasta que el tiempo y lugar sean favorables. *Semillas*. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América. *Semillas*. CECSA, 190-201.

- Varela, S. A., & Arana, V. (2011). *Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos*. Retrieved from <http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Latenciaygerminaci%C3%B3ndesemillas.pdf>:
- Vazquez-Cuecuecha, O. G. (2017). *Variabilidad morfológica y genética de especies del género Lupinus en el Estado de Puebla*. (Tesis de Doctorado), Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 131p.
- Vega-Villasante, F., Nolasco, H., Montaña, C., Romero-Schmidt, H., & Vega-Villasante, E. (1996). Efecto de la temperatura, acidez, iluminación, salinidad, irradiación solar y humedad sobre la germinación de semillas de *Pachycereus pecten-aboriginum* "cardón barbón"(Cactaceae). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 41, 51-61.
- Willian, R. L. (1991). *Guía para la manipulación de semillas forestales, con especial referencia a los trópicos*. Retrieved from FAO. Roma, Italia. 502p:

Anexo fotográfico



1



2



3



4



5



6



7



8



9



10



11



12



13



14



15



16



17



18



19



20



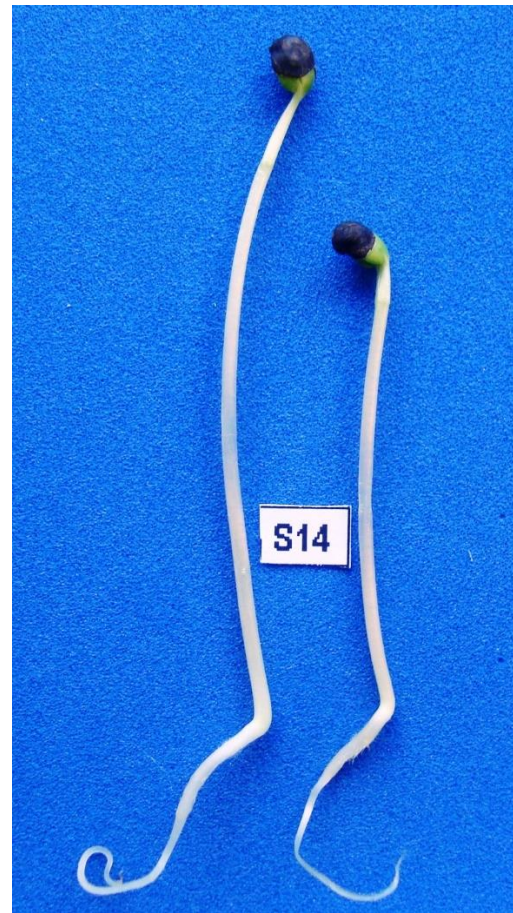
21



22



23



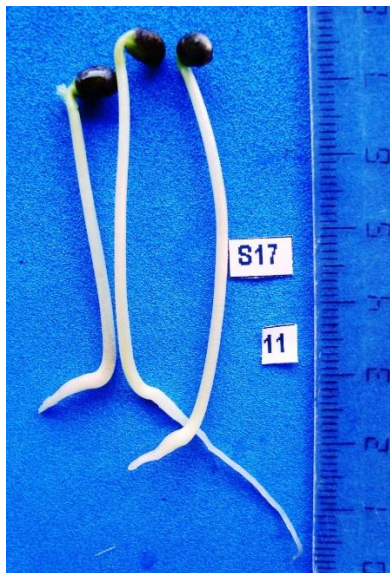
24



25



26



27



28