



# **INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

## **POSGRADO EN CIENCIAS APLICADAS**

### **Identificación del “huevo de agua” y su relación con la latencia física en semillas del género *Lupinus* spp. de Jalisco, México**

Tesis que presenta  
**Erika Robles Díaz**

Para obtener el grado de  
**Maestra en Ciencias Aplicadas**

En la opción de  
**Ciencias Ambientales**

**Director de la Tesis:**  
**Dr. Joel David Flores Rivas**

**Asesores:**  
**Dr. Enrique Jurado Ybarra**  
**Dr. Mario Alberto Ruiz López**

**San Luis Potosí, S.L.P., septiembre de 2011**



## Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Identificación del “huevo de agua” y su relación con la latencia física en semillas del género *Lupinus* spp. de Jalisco, México**” presentada para obtener el Grado de Maestro(a) en Ciencias Aplicadas en la opción de Ciencias Ambientales fue elaborada por **Erika Robles Díaz** y aprobada el **07 de septiembre de 2011** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

---

Dr. Joel David Flores Rivas  
Director de la tesis

---

Dr. Enrique Jurado Ybarra  
Asesor de la tesis

---

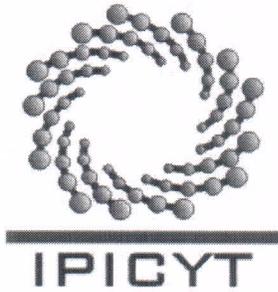
Dr. Mario Alberto Ruiz López  
Asesor de la tesis



## **Créditos Institucionales**

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Ecología y Cambio Ambiental Global de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Joel David Flores Rivas, asesoría del Dr. Enrique Jurado Ybarra (UANL) y Dr. Mario Alberto Ruiz López (UdeG).

Durante la realización del trabajo la autora recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-232512).



# Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

## Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 049 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Aplicadas en la opción de Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 23 días del mes de septiembre del año 2011, se reunió a las 14:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

<b>Dr. Mario Alberto Ruiz López</b>	<b>Presidente</b>	<b>U. de G.</b>
<b>Dr. Ernesto Iván Badano</b>	<b>Secretario</b>	<b>IPICYT</b>
<b>Dr. Joel David Flores Rivas</b>	<b>Sinodal</b>	<b>IPICYT</b>

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS APLICADAS  
EN LA OPCION DE CIENCIAS AMBIENTALES**

sustentó la C.

**Erika Robles Díaz**

sobre la Tesis intitulada:

*Identificación del "hueco de agua" y su relación con la latencia física en semillas del género  
Lupinus spp. de Jalisco, México*

que se desarrolló bajo la dirección de

**Dr. Joel David Flores Rivas**

El Jurado, después de deliberar, determinó

**APROBARLA**

Dándose por terminado el acto a las 15:30 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 23 días del mes de septiembre de 2011.

**Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez**  
Jefa del Departamento del Posgrado

**Dr. Marcial Bonilla Marín**  
Secretario Académico



## **Dedicatoria**

A mi mamá María Robles Díaz por apoyarme siempre en todos los proyectos que he realizado y brindarme su apoyo incondicional cuando decidí estudiar fuera de la ciudad. A mi tía Ana María Robles Díaz por también ser un gran apoyo tanto para mi mamá como para mí. A toda mi familia los cuales siempre me han apoyado.

A mis amigas Alma y Maricruz que siempre estuvieron conmigo en estos dos años y me acompañaron en toda la travesía de este proceso.

A Rosalba, Brenda e Isela por el apoyo que siempre me han dado en estos años y por sus porras.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

Al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT), en especial a la División de Ciencias Ambientales por el apoyo obtenido para la realización de este proyecto.

Al Laboratorio de Biología Molecular de Hongos y Plantas del Dr. Juan Francisco Jiménez Bremont por el uso de instalaciones.

Al Dr. Joel Flores por sus enseñanzas, ayuda, asesorías, apoyo, su amistad y sobre todo por haber creído en este proyecto desde un principio.

Al Dr. Enrique Jurado por sus consejos y recomendaciones realizadas para mejorar este proyecto.

Al Dr. Mario Ruiz por su apoyo, ayuda, amistad y enseñarme el amor por los *Lupinus* además de todos, todos sus consejos.

A la Dra. Laura Yáñez por el apoyo que me brindó a lo largo de la realización de este trabajo y compartir conmigo sus conocimientos.

A la Dra. Claudia González Salvatierra y al M. en C. Pablo Delgado por su apoyo técnico, consejos y sacarme de apuros varias veces.

A los técnicos: M. en C. Juan Pablo Rodas de la División de Ciencias Ambientales y la M. en I. Gladis Labrada de la División de Materiales Avanzados por el apoyo técnico recibido.

A los investigadores del área de Ecología por los conocimientos que me compartieron durante la maestría y que ayudaron a mi formación.

A mis amigas Maricruz y Alma por el gran apoyo que me dieron durante estos dos años y acompañarme en las buenas, en las malas y en las peores.

A Litza, Claudia, Ale, José Luis, Jorge, Memo, Luis, Liz, al Dr. Vladimir Escobar por sus consejos y a todas y cada una de las personas que me acompañaron a lo largo de esta travesía.

A mis amigas de la licenciatura: Rosalba, Isela y Brenda porque aun a pesar de la distancia siempre estuvieron apoyándome como siempre.

## Contenido

	<b>Pág.</b>
CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE TESIS.....	ii
CRÉDITOS INSTITUCIONALES.....	iii
ACTA DE EXAMEN.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vi
ÍNDICE.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi

## Índice.

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>11</b>
<b>3. HIPÓTESIS .....</b>	<b>13</b>
<b>4. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>14</b>
<b>4.1 Objetivos específicos .....</b>	<b>14</b>
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>15</b>
<b>5.1 Descripción taxonómica, botánica y morfológica del género</b>	
<b>Lupinus .....</b>	<b>15</b>
<b>5.2 Especies de estudio.....</b>	<b>16</b>
<b>5.3 Sitios de colecta.....</b>	<b>18</b>
<b>5.4 Diseño experimental .....</b>	<b>20</b>
<b>5.5 Pre-tratamientos para romper la latencia .....</b>	<b>20</b>
<b>5.5.1 Agua hirviendo.....</b>	<b>20</b>
<b>5.5.2 Arena húmeda .....</b>	<b>21</b>
<b>5.6 Anatomía del hueco de agua.....</b>	<b>21</b>
<b>5.6.1 Micrografías en Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) .....</b>	<b>21</b>
<b>5.7 Análisis estadísticos.....</b>	<b>22</b>
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
<b>6.1 Pre-tratamientos para romper la latencia y germinación .....</b>	<b>23</b>
<b>6.1.1 Agua hirviendo.....</b>	<b>23</b>
<b>6.1.1.1 <i>L. elegans</i>.....</b>	<b>23</b>
<b>6.1.1.2 <i>L. exaltatus</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>6.1.1.3 <i>L. mexicanus</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>6.1.1.4 <i>L. montanus</i> .....</b>	<b>25</b>
<b>6.1.1.5 <i>L. reflexus</i>.....</b>	<b>26</b>

6.1.1.6 <i>L. rotundiflorus</i> .....	27
6.1.2 Arena húmeda y arena seca .....	28
6.1.2.1 <i>L. elegans</i> .....	28
6.1.2.2 <i>L. exaltatus</i> .....	29
6.1.2.3 <i>L. mexicanus</i> .....	30
6.1.2.4 <i>L. montanus</i> .....	31
6.1.2.5 <i>L. reflexus</i> .....	32
6.1.2.6 <i>L. rotundiflorus</i> .....	33
6.2 Anatomía del hueco de agua .....	34
6.2.1 Micrografías del hueco de agua .....	34
6.2.1.1 <i>L. elegans</i> .....	34
6.2.1.2 <i>L. exaltatus</i> .....	35
6.2.1.3 <i>L. mexicanus</i> .....	36
6.2.1.4 <i>L. montanus</i> .....	38
6.2.1.5 <i>L. reflexus</i> .....	39
6.2.1.6 <i>L. rotundiflorus</i> .....	39
7. DISCUSIÓN .....	41
8. CONCLUSIONES .....	46
9. PERSPECTIVAS .....	47
10. BIBLIOGRAFÍA .....	48

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Estudios reportados sobre el efecto del fuego.....	4
<b>Tabla 2.</b> Relación de especies estudiadas y años de colecta de semillas....	18

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1:</b> Sitios de colecta.....	18
<b>Figura 2:</b> Germinación de semillas de <i>L. elegans</i> de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15s = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.....	23
<b>Figura 3:</b> Germinación de semillas de <i>L. exaltatus</i> de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15s = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control. ....	24
<b>Figura 4:</b> Germinación de semillas de <i>L. mexicanus</i> de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15S = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.....	25
<b>Figura 5:</b> Germinación de semillas de <i>L. montanus</i> de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15S = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.....	26
<b>Figura 6:</b> Germinación de semillas de <i>L. reflexus</i> de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15S = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.....	27
<b>Figura 7:</b> Germinación de semillas de <i>L. rotundiflorus</i> de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15S = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.....	28
<b>Figura 8:</b> Germinación de semillas de <i>L. elegans</i> bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.....	29
<b>Figura 9:</b> Germinación de semillas de <i>L. exaltatus</i> bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.....	30
<b>Figura 10:</b> Germinación de semillas de <i>L. mexicanus</i> bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.....	31
<b>Figura 11:</b> Germinación de semillas de <i>L. montanus</i> bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.....	32
<b>Figura 12:</b> Germinación de semillas de <i>L. reflexus</i> bajo pre-tratamientos de	

arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.....	33
<b>Figura 13:</b> Germinación de semillas de <i>L. rotundiflorus</i> bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento...	34
<b>Figura 14:</b> Micrografías electrónicas del hueco de agua en <i>L. elegans</i> . A: 2008; B: 2009; C: 2010 (control); E: 2010 (pre-tratamiento) y D: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 1.41$ mm). e = estrofiolo; t = testa; f = fisura.....	35
<b>Figura 15:</b> Micrografías electrónicas del hueco de agua en <i>L. exaltatus</i> . A: 2007; B: 2008; C: 2009; D: 2010 y E: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 1.45$ mm). e = estrofiolo; t = testa.....	36
<b>Figura 16:</b> Micrografías electrónicas del hueco de agua en <i>L. mexicanus</i> . A: 2006; B: 2007; C: 2008; D: 2009; E: 2010 y F: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 895.1$ $\mu$ m). e = estrofiolo; t = testa.....	37
<b>Figura 17:</b> Micrografías electrónicas del hueco de agua en <i>L. montanus</i> . A: 2007; B: 2008; C: 2009; D: 2010 y E: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 977.90$ $\mu$ m). e = estrofiolo; t = testa.....	39
<b>Figura 18:</b> Micrografías electrónicas del hueco de agua en <i>L. reflexus</i> . A: 2008; B: 2009; C: 2010 y D: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 1.26$ mm). e = estrofiolo; t = testa.....	39
<b>Figura 19:</b> Micrografías electrónicas del hueco de agua en <i>L. rotundiflorus</i> . A: 2006; B: 2007; C: 2008; D: 2009; E: 2010 y F: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 928.56$ $\mu$ m). e = estrofiolo; t = testa.....	40

## Abreviaturas.

<	Menor que
>	Mayor que
°C	Grados Celsius.
%	Por ciento o porcentaje.
±	Más/menos.
$\bar{X}$	Media
µm	Micrómetros
10s	10 segundos
15s	15 segundos
5s	5 segundos
aprox.	Aproximadamente.
C	Control
cm	Centímetros
H	Arena húmeda
AH60min	Arena húmeda a 60 min
AH90min	Arena húmeda a 90 min
km	Kilómetros.
km/h	Kilómetros por hora.
km <sup>2</sup>	Kilómetros cuadrados
m	Metros
min	Minutos
mm	Milímetros
msnm	Metros sobre el nivel del mar.
s	Segundos
S	Arena seca
S 60min	Arena seca a 60 min
S 90min	Arena seca a 90 min
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
spp	Especie

## RESUMEN.

### **Identificación del “hueco de agua” y su relación con la latencia física en semillas del género *Lupinus* del estado de Jalisco.**

Latencia de semillas es el estado en el cual una semilla viable no germina aunque se le coloque en condiciones de humedad, temperatura y concentración de oxígeno idóneas para hacerlo. Se considera que la función principal de la latencia de semillas es el impedir la germinación durante periodos que son inadecuados para el establecimiento de las plántulas. Se ha sugerido que la impermeabilidad de la cubierta de las semillas es ocasionada por una estructura anatómica de capas impermeables al agua, conocida como “hueco de agua”. Dicha estructura se encuentra cerrada cuando la semilla está madura y abre en respuesta a una señal ambiental apropiada, como altas temperaturas, humedad o fuego. En muchas especies con latencia física, el “hueco de agua” sirve como un detector de señales ambientales para la germinación y una vez que la latencia es rota es la ruta inicial de entrada de agua hacia el interior de la semilla.

El objetivo principal de este trabajo es determinar los factores que afectan el rompimiento de la latencia física de semillas de seis especies del género *Lupinus* (*L. elegans* L. *exaltatus*, *L. mexicanus*, *L. montanus*, *L. reflexus* y *L. rotundiflorus*) de diversas localidades del Estado de Jalisco (Sierra de Quila, Lagos de Moreno, Ojuelos, Tapalpa y Nevado de Colima) y de distintos años de almacenamiento. Se realizaron dos pre-tratamientos con diferentes niveles, que consistieron en: a) sumergir las semillas en agua hirviendo por 5, 10 y 15 segundos y b) incubar en arena húmeda y arena seca a 100°C por 60 minutos, además del tratamiento control. Se evaluó también la anatomía del “hueco de agua”. Los resultados mostraron que el pre-tratamiento mas efectivo para romper la latencia física en *Lupinus* fue el de agua hirviendo sin importar el tiempo al cual fueron expuestas, seguidos por arena húmeda, arena seca y por último los controles. Con relación al tiempo de almacenamiento, para *L. elegans* en agua hirviendo las semillas frescas

germinaron menos que las semillas de uno y dos años de edad, tanto en arena húmeda y seca las semillas de 1 año tuvieron mayor germinación (%) que las semillas de otros años (0 años y dos años); en *L. exaltatus* las semillas de un año germinaron en mayor porcentaje (%) en agua hirviendo comparado con semillas frescas, dos y tres años de edad y la germinación fue mayor en semillas (%) de tres años en arena (húmeda y seca); *L. mexicanus* mostró mayor germinación en semillas de todas las edades (un, dos, tres y cuatro años) que en semillas frescas en agua caliente y con respecto a arena (húmeda y seca) las semillas frescas y de dos años tuvieron mayor germinación (%) que las otras edades. En *L. montanus*, tanto las semillas frescas y de dos años mostraron mayor porcentaje de germinación (%) que las semillas de uno y tres años de en agua caliente, y mayor germinación (%) en semillas frescas que las uno, dos y tres años en arena (húmeda y seca). Para *L. reflexus* en ambos pre-tratamientos el mayor porcentaje (%) se encontró en semillas de un año de edad y finalmente para *L. rotundiflorus* la mayor germinación (%) fue en semillas frescas que en otros años de edad (uno, dos, tres y cuatro), en todos los pre-tratamientos.

En conclusión, el “huevo de agua” está presente en las seis especies de *Lupinus* pero hay variaciones morfológicas (hundida, protuberancia o plana) entre las especies. Se encontró un mayor porcentaje de germinación y el rompimiento de la latencia por el efecto de las altas temperaturas y la humedad; por consiguiente, se sugirió que este pre-tratamiento promueve la apertura del huevo de agua, entrada del agua al embrión y ruptura de la latencia de la semilla, aunque la apertura del huevo de agua fue más evidente en *L. elegans*.

PALABRAS CLAVE: *Lupinus*, germinación, latencia física, huevo de agua.

## **ABSTRACT.**

### **Identification of the “water gap” and its relationship with the physical dormancy in seeds of the genus *Lupinus* from the state of Jalisco.**

Seed dormancy is the state in which a viable seed does not germinate although it has enough humidity, temperature and oxygen concentration. It is considered that the principal function of dormancy is the prevention of seed germination during periods that might be unsuitable for seedling establishment. It has been suggested that the impermeability of the seed coat is caused by an anatomical structure of waterproof layers, known as "water gap". This structure is closed when the seed is ripe and open in response to appropriate environmental signals, such as high temperatures, humidity or heat. In many species with physical dormancy, the "water gap" serves as a sensor of environmental signals for germination and once dormancy is broken it is the initial route of water entry into the seed.

The main aim of this study is to determine the factors affecting the breaking of physical dormancy of seeds of six species of the genus *Lupinus* (*Lupinus elegans*, *L. exaltatus*, *L. mexicanus*, *L. montanus*, *L. reflexus* and *L. rotundiflorus*) from different localities of the State of Jalisco (“Sierra de Quila”, “Lagos de Moreno”, “Ojuelos”, “Tapalpa” y “Nevado de Colima”) and several years of storage. There were two pre-treatments with different levels, which consisted of: a) soaking the seeds in boiling water for 5, 10 and 15 seconds and b) incubating on dry sand and wet sand at 100°C for 60 minutes, as well as a control set. We also evaluated the anatomy of the "water gap". The results showed that the best treatment to break physical dormancy in *Lupinus* was boiling water regardless of the time at which they were exposed, followed by wet sand, dry sand, and controls. Fresh seeds of *L. elegans* after treatment in boiling water germinated less than seeds with one and two years of storage, in both wet and dry sand 1-year stored seeds had higher seed germination (%) than seeds of other ages (0 years and two years). For *L. exaltatus* 1-year stored seeds had higher seed germination (%) after

treatment with boiling water compared with fresh seeds, two and three years of age. In addition, it was higher seed germination (%) of 3-year seeds in sand (wet and dry). *L. mexicanus* showed higher germination in all aged seeds (one, two, three and four years) than in fresh seeds in hot water, and compared to sand (wet and dry) fresh and 2-year seeds had higher germination (%) than other aged seeds. For *L. montanus*, both fresh and 2-year stored seeds showed higher germination (%) than seeds stored for 1 and 3 yr after treatment with hot water, and higher germination (%) in fresh seeds than the one, two and three in sand (wet and dry). For *L. reflexus* in both pre-treatments the highest germination (%) was found in seeds stored for 1-year. Fresh seeds of *L. rotundiflorus* showed higher germination in all pre-treatments.

In conclusion, the "water gap" was found in the six species of *Lupinus*, but there were morphological variations (sunken, bumps, or flat) between species. Higher seed germination percentages and seed dormancy breaking occurred by the effect of high temperatures and humidity; thus, it is suggested that this pre-treatment promotes the opening of the water gap, allowing water to become in contact with the embryo and thus breaking seed dormancy, although the opening of the water gap was more evident in *L. elegans*.

KEY WORDS: *Lupinus*, germination, physical dormancy, water gap

## 1. INTRODUCCIÓN.

La semilla es la unidad de propagación de las plantas, como resultado del proceso de reproducción sexual que es la principal fuente de variabilidad genética (Fenner y Thompson, 2005). Esta variabilidad es necesaria para que la población pueda afrontar los cambios ambientales. En respuesta a la presión ambiental, las semillas han desarrollado características morfológicas (color, rugosidad y tamaño) y fisiológicas (longevidad, requerimientos de germinación y latencia) específicas, las cuales les permiten enfrentar diferentes situaciones de estrés. Una característica de gran importancia ecológica es el lapso de tiempo que la semilla permanece viable en la comunidad. La capacidad de las semillas para retener su viabilidad por periodos prolongados es adquirida durante el proceso de desecación que ocurre durante la etapa de maduración de la semilla (Priestley, 1986; Murdoch y Ellis, 1992; Bewley y Black, 1994). Por otra parte, como la función de una semilla es el establecimiento de una nueva planta, parece que la latencia fuera un obstáculo intrínseco para la germinación, sin embargo en realidad ofrece beneficios de supervivencia para las plantas (Bewley y Black, 1994).

El término latencia se refiere a la ausencia casi total de actividad metabólica y/o la falta de desarrollo y crecimiento en una planta completa, o bien, en órganos de la planta, como semillas, bulbos, tubérculos y yemas. La latencia es una característica adaptativa que ha evolucionado por selección debido a la capacidad para sobrevivir a condiciones ambientales desfavorable, tales como calor, frío y sequía (Baskin y Baskin, 1998). Se considera que el fenómeno de latencia es una estrategia adaptativa de las plantas muy común en ambientes hostiles e impredecibles, tales como los áridos y semiáridos (Jurado y Moles, 2003; Jurado y Flores, 2005). El origen evolutivo de la latencia puede estar asociado con los cambios climáticos durante la historia de la tierra y el número de plantas con latencia parece aumentar desde el ecuador hacia los polos (Baskin y Baskin, 1998). Se considera que la función principal de la latencia en semillas es el

impedir la germinación durante periodos que son inadecuados para el establecimiento de las plántulas (Black *et al.*, 2006).

De acuerdo a Baskin y Baskin (2008) la latencia puede ser clasificada en tres tipos: latencia fisiológica (PD, por sus siglas en inglés de “physiological dormancy”), latencia morfofisiológica (MPD, por sus siglas en inglés de “morpho-physiological dormancy”) y latencia física (PY, por sus siglas en inglés de “physical dormancy”). A continuación se describen los tipos de latencia:

Latencia fisiológica (PD): es causada por un mecanismo de inhibición fisiológica del embrión que impide que emerja la radícula; las estructuras que cubren el embrión, incluyendo el endoespermo, testa y paredes del fruto indehiscente, pueden jugar un papel en el impedimento de la germinación. Se distinguen tres tipos de PD: no profunda, intermedia y profunda (Baskin y Baskin, 1998). De acuerdo a Baskin *et al.*, (2000) las familias con PD son: Anacardiaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Malvaceae, Rhamnaceae y Sapindaceae.

Latencia morfofisiológica (MPD): ocurre en semillas con embriones rudimentarios o lineales, y como su nombre lo indica es una combinación de latencia morfológica y fisiológica. MPD se da en varias familias de plantas, incluyendo las Apiaceae, Aquifoliaceae, Araceae, Araliaceae, Aristolochiaceae, Berberidaceae, Fumariaceae, Illiciaceae, Lardizabalanceae, Liliaceae, Magnoliaceae, Papaveraceae, Ranunculaceae y Schisandraceae. Sin embargo, hay muchas familias cuyas semillas tienen embriones subdesarrollados, pero su germinación no ha sido estudiada (Baskin y Baskin, 1998).

Latencia física (PY): es causada por una capa impermeable al agua en la semilla o fruto; en todos los casos, la PY está asociada con capa(s) de células (macroesclereidas) (Baskin y Baskin, 2004; Baskin *et al.*, 2000). Baskin y Baskin (1998, 2000) enlistan 15 familias de angiospermas que tienen PY: Anacardiaceae,

Bombacaceae, Cannaceae, Cistaceae, Convolvulaceae (incluyendo Cuscutaceae), Curcubitaceae, Geraniaceae, Fabaceae (incluyendo subfamilias Caesalpinioideae, Mimosoideae y Papilionoideae), Malvaceae, Musaceae, Nelumbonaceae, Rhamnaceae, Sapindaceae, Sterculiaceae y Tiliaceae. De éstas, 13 son dicotiledóneas y solo dos, Cannaceae y Musaceae (ambos en el Orden Zingiberales) son monocotiledóneas.

La adquisición de la latencia física durante el desarrollo está bien estudiada en especies de algunas familias, incluyendo Anacardiaceae (*Rhus aromatica* y *Rhus glabra*) (Li *et al.*, 1999b), Bixaceae (*Bixa orellana*) (Yogeesha *et al.*, 2005), Convolvulaceae (*Ipomoea lacunosa*) (Jayasuriya *et al.*, 2007b), Cucurbitaceae (*Sicyos angulatus*) (Qu *et al.*, 2010), Fabaceae (*Vicia faba* y *Peltophorum pterocarpum*) (Ellis *et al.*, 1987; Mai-Hong *et al.*, 2003) y Malvaceae (*Sida spinosa*) (Egley, 1976).

Existen diferentes métodos artificiales para romper la latencia física, entre los que se encuentran: escarificación mecánica, escarificación ácida, enzimas, solventes orgánicos, golpeteo, altas presiones atmosféricas, calor húmedo, calor seco, almacenamiento seco, radiación, ultrasonido y bajas temperaturas como la congelación. En la naturaleza, los factores que ayudan al rompimiento son: altas temperaturas, fluctuaciones amplias de temperatura, fuego, secado, congelamiento/descongelamiento y paso por el tracto digestivo de animales (Baskin y Baskin, 1998).

Como se mencionó anteriormente, el fuego es un agente externo que estimula la germinación en muchas especies en los diversos tipos de vegetación, y esto se ha interpretado como un rasgo de adaptación al fuego. Sin embargo, a menudo es difícil saber qué características son adaptaciones al fuego, ya que muchos de ellos parecen ser ventajas para las plantas en respuesta a otras alteraciones o a fuerzas del medio ambiente (González-Rabanal y Casal, 1995).

La respuesta de germinación a altas temperaturas por fuego (choque térmico) es una estrategia de establecimiento de las plantas en ecosistemas adaptados a los incendios (Auld, 1986, 1987; Bolin, 2009).

La breve exposición de las semillas a elevadas temperaturas (choque térmico) rompe una barrera física en la testa de la semilla que normalmente inhibe la absorción de humedad. La barrera física es rota, ya sea por grietas de la capa cuticular o la apertura del estrofiolo en la cubierta de la semilla (Egley, 1979; Bell *et al.*, 1993, 1999). El choque térmico también puede influir en los procesos fisiológicos del embrión (Bell y Williams, 1998).

Se han reportado diversos estudios en los cuales se observa el efecto que tiene el fuego o choques de calor en la germinación de diferentes especies (Tabla 1). En dichos estudios se reportaron temperaturas de análisis entre los 40°C a 140°C por distintos tiempos de exposición que iban desde segundos hasta minutos u horas; trabajando con calor húmedo y calor seco.

**Tabla 1: Estudios reportados sobre el efecto del fuego.**

<b>Autor (es).</b>	<b>Especies.</b>
Cushwa <i>et al.</i> (1968)	<i>Cassia nictitans</i> , <i>Lespedeza intermixta</i> , <i>L. daurica</i> , <i>L. cyrtobotrya</i> , <i>L. cuneata</i> *, <i>L. virgata</i> , <i>L. japonica</i> *, <i>L. daurica</i> var. <i>schimidae</i> *, <i>L. capitata</i> *, <i>L. hedysaroides</i> *, <i>L. tomentosa</i> *, <i>L. bicolor</i> *, <i>L. hirta</i> , <i>L. hirta</i> var. <i>curtissii</i> , <i>Desmodium ciliare</i> , <i>D. cuspidatum</i> , <i>D. fernaldii</i> y <i>Galactica volubilis</i> .
Hanna (1984)	<i>Acacia kempeana</i>
Washitani (1988)	<i>Rhus javanica</i>
González-Rabanal y Casal (1995)	<i>Halimum alyssioides</i> , <i>Tuberaria guttata</i> , <i>Cistus psilosepalus</i> , <i>Daboecia cantabrica</i> , <i>Erica umbellata</i> , <i>E. ciliaris</i> , <i>Calluna vulgaris</i> , <i>Agrostis curtisii</i> , <i>A. delicatula</i> y <i>A. marginata</i>
Macunguzi y Oryem-Origa (1996)	<i>Acacia gerrardii</i> y <i>A. sieberiana</i>
Morrison <i>et al.</i> (1998)	<i>Acacia elongata</i> , <i>A. longifolia</i> , <i>A. longissima</i> , <i>A. suaveolens</i> , <i>A. ulicifolia</i> , <i>Daviesia alata</i> , <i>Pultenaea linophylla</i> , <i>Pultenaea stipularis</i> , <i>Aotus ericoides</i> , <i>Pultenaea flexilis</i> , <i>Bossiaea heterophylla</i> , <i>B. obcordata</i> , <i>B. rhombifolia</i> , <i>B. stephensonii</i> , <i>Glycine clandestina</i> , <i>Platylobium formosum</i> (azul) y <i>P. formosum</i> (naranja).

Herranz <i>et al.</i> (1998)	<i>Cytisus striatus</i> , <i>C. reverchonii</i> , <i>C. patens</i> , <i>Dorycnium pentaphyllum</i> , <i>Argyrolobium zanonii</i> , <i>Scorpiurus muricatus</i> y <i>Psoralea bituminosa</i> .
Kenny (2000)	<i>Grevillea sericea</i> , <i>G. speciosa</i> y <i>G. buxifolia</i>
Gashaw y Michelsen (2002)	<i>Acacia albida</i> , <i>A. senegal</i> , <i>A. seyal</i> , <i>Cassia obtusifolia</i> , <i>Clerodendrum capitatum</i> , <i>Combretum collinum</i> , <i>Desmodium sp.</i> , <i>Eleusine coracana</i> , <i>Entada abyssinica</i> , <i>Hyparrhenia conningii</i> , <i>Piliostigma thonningii</i> , <i>Sorghum arundinaceum</i> , <i>Tamarindus indica</i> , <i>Tylosema fassoglensis</i> y <i>Ziziphus mauritiana</i>
Valbuena y Vera (2002)	<i>Erica arborea</i> , <i>E. australis</i> , <i>Daboecia cantabrica</i> y <i>Genistella tridentata</i>
Williams <i>et al.</i> (2003)	<i>Chamaecrista absus</i> , <i>C. mimosoides</i> , <i>Crotalaria calycina</i> , <i>C. lanceolata</i> , <i>C. montana</i> , <i>C. pallida</i> , <i>Galactia tenuiflora</i> , <i>Glycine tomentella</i> , <i>Indigofera hirsuta</i> y <i>Tephrosia juncea</i>
Bolin (2009)	<i>Galactia regularis</i> , <i>Lupinus perennis</i> y <i>Rhus copallinum</i>
Carrington (2010)	<i>Eriogonum floridanum</i> y <i>Garberia heterophylla</i>

Se ha sugerido que la impermeabilidad de la cubierta de las semillas es ocasionada por una estructura anatómica de capas impermeables, conocida como “hueco de agua”, la cual difiere morfológica y anatómicamente del resto de la semilla (o fruto) (Baskin y Baskin, 1998; Baskin *et al.*, 2000; Baskin, 2003; Jayasuriya *et al.*, 2007a, 2008; Hu *et al.*, 2008; Turner *et al.*, 2009). Dicha estructura se encuentra cerrada cuando la semilla está madura y abre en respuesta a una señal ambiental apropiada, como las altas temperaturas, humedad o fuego (Baskin y Baskin, 2000; Baskin, 2003; Jayasuriya *et al.*, 2007a, 2008). En muchas especies con latencia física, el “hueco de agua” sirve como un detector de señales ambientales para la germinación y una vez que la latencia es rota es la ruta inicial de entrada de agua hacia el interior de la semilla (Baskin y Baskin, 2000; Baskin *et al.*, 2000). Así, ecológicamente el hueco de agua es un componente importante de las semillas con latencia física, el cual se encuentra identificado y documentado en 12 de las 15 familias con este tipo de latencia (Baskin *et al.*, 2000, 2006; Jayasuriya *et al.*, 2007a, 2008).

Estudios recientes reportan el desarrollo anatómico del hueco de agua a

partir de los primeros días después de la polinización en *Ipomoea lacunosa* (Convolvulaceae) y *Geranium carolinianum* (Geraniaceae) (Jayasuriya *et al.*, 2007b; Gama-Arachchigüe *et al.*, 2011).

Asimismo, se han reportado en diferentes especies la relación del rompimiento de la latencia física con la apertura del “hueco de agua” utilizando diferentes tratamientos: agua hirviendo (Hanna., 1984; Li *et al.*, 1999a; Jayasuriya *et al.*, 2007a, 2008; Hu *et al.*, 2008; Turner *et al.*, 2009), calor seco o húmedo (Jayasuriya *et al.*, 2007a, 2008, 2009a; Turner *et al.*, 2009; Gama-Arachchigüe *et al.*, 2010), ácido sulfúrico (Li *et al.*, 1999a; Hu *et al.*, 2008), escarificación mecánica (Gama-Arachchigüe *et al.*, 2010) y exposición en campo sin tratamiento previo (Hu *et al.*, 2008). Además, se ha caracterizado la morfología y anatomía del hueco de agua por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM) (Jayasuriya *et al.*, 2007a, 2008, 2009b; Hu *et al.*, 2008; Turner *et al.*, 2009; Gama-Arachchigüe *et al.*, 2010) y cortes histológicos observados en microscopio óptico (Jayasuriya *et al.*, 2007, 2008, 2009b; Turner *et al.*, 2009; Gama-Arachchigüe *et al.*, 2010).

Por otra parte, se ha reportado el tipo de hueco de agua en varias familias: protuberancias en el micrópilo en Convolvulaceae (Jayasuriya *et al.*, 2007a), “lentes” o estrofiolo en Fabaceae (Burns, 1959; Egley, 1979; Hanna, 1984, Morrison *et al.*, 1998; Baskin, 2003; Hu *et al.*, 2008), “ampolla” en Sapindaceae (Turner *et al.*, 2009) y chalaza en Geraniaceae (Gama-Archchigüe *et al.*, 2010). En el caso de las fabáceas, se han realizado diversos estudios enfocados en la función del estrofiolo como el sitio principal de entrada de agua a las semillas y su relación con la pérdida de latencia (Hagon y Ballard, 1970; Ballard, 1973; Ballard *et al.*, 1976; Egley, 1979; Morrison *et al.*, 1998; De Souza y Marcos-Fillo, 2001; Hu *et al.*, 2008).

La familia Fabaceae incluye aproximadamente 18,000 especies distribuidas

en todo el mundo, adaptadas a una gran variedad de hábitats (Sousa y Delgado, 1993; Black *et al.*, 2006). Las fabáceas son la tercera familia más grande de las plantas con flores y la segunda después de los cereales en importancia económica (Heywood *et al.*, 2007). Además, tienen alta importancia ecológica por el enriquecimiento de nutrientes que aportan al suelo a través de la fijación de nitrógeno en simbiosis con las bacterias *Rhizobium* o *Bradyrhizobium* (Castañeda, 2006). Los miembros de esta familia son fácilmente reconocidos por tres características particulares: hojas compuestas, flores regulares o irregulares y un fruto en forma de vaina. Los granos de las fabáceas son importantes en la alimentación humana después de los cereales (en muchas zonas rurales son los principales y en algunas ocasiones la única fuente de proteínas en la dieta) y diversas especies también sirven como alimento para animales (Black *et al.*, 2006; Heywood *et al.*, 2007).

La Fabaceae es una familia cosmopolita, ausente solo en la Antártida. En esta familia encontramos herbáceas, arbustos, árboles, trepadoras, geófitas y raramente acuáticas de agua dulce, usualmente con hojas alternadas. Entre las especies más utilizadas en la fertilización del suelo se encuentran: trébol (*Trifolium repens*), alfalfa (*Medicago sativa*) y lupino (*Lupinus polyphyllus*). Además, varios géneros de esta familia son altamente apreciados como plantas ornamentales (Heywood *et al.*, 2007).

El género *Lupinus*, comprende entre 300-500 especies distribuidas en la región mediterránea y en América. Las plantas de este género son herbáceas o arbustos, anuales o perennes, las hojas son típicamente compuestas palmeadas, aunque hay de hojas simples y las flores forman inflorescencias. Las plantas del género *Lupinus* son conocidas con diversos nombres comunes: en España es altramuz, mientras que en Sudamérica se le llama lupino, chocho o tarwi (Hernández *et al.*, 2008) y en México se le conoce como garbancillo, moco de guajolote, jilotillo, cantues y zapotillo (Espinosa y Sarukhán, 1997; Ruiz Moreno *et*

al., 2000; Calderón de Rzedowski y Rzedowski, 2001), coruco (*L. reflexus*) (McVaugh, 1987).

En México se han reportado aproximadamente 100 especies silvestres, de las cuales 15 son nativas del estado de Jalisco (Ruiz y Sotelo, 2001). Las especies que se encuentran en este estado del occidente del país son: *Lupinus ascherbornii*, *L. elegans*, *L. exaltatus*, *L. leptocarpus*, *L. madrensis*, *L. mexicanus*, *L. montanus*, *L. reflexus*, *L. rotundiflorus*, *L. simulans*, *L. splendens* y *L. stipulatus*. También existen tres especies de *Lupinus* aún no identificadas. Se distribuyen en su mayoría en la Sierra Madre Occidental y Sierra Volcánica Transversal; localizadas en los municipios de Tapalpa y Chiquilistlán (Sierra de Halo), Mezquitic (San Juan Peyotán y San Andrés Cohamiata), Tequila (Volcán de Tequila), Mascota (Cerro del Molcajete y Lago de Juanacatlán), Autlán (Sierra de Manantlán), San Martín de Bolaños (San Miguel de la Sierra), Mazamitla (Sierra del Tigre), Cuquio (cerca del Río Aguacaliente), Jocotepec (Sierra de Tecuán), Tonila (Volcán de Fuego), Talpa (cumbre del Cerro Tejamanil y Sierra de la Campana), Ciudad Guzmán (Nevado de Colima), Lagos de Moreno y Ojuelos (Bañuelos y Jiménez, 2006; Ruiz y Zamora, 2006).

Las especies de *Lupinus* tienen diversos usos; por ejemplo, alimento para humanos y forraje para rumiantes. En el aspecto ecológico, se considera que varias especies de lupino son colonizadoras de áreas perturbadas (Alvarado-Sosa *et al.*, 2007). Además, como la mayoría de las leguminosas, ayudan a mejorar las condiciones del suelo y restablecer el ciclo del nitrógeno, por lo que se les utiliza para restaurar suelos erosionados. Sin embargo; las especies de *Lupinus* que se utilizan son en su mayoría cultivadas, aún y cuando existen muchas especies silvestres de este género. Una de las razones para que no se usen los *Lupinus* silvestres es por la latencia física presente en sus semillas, la cual les impide germinar de manera rápida (Dehgan *et al.*, 2003; Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo, 2005; Hernández *et al.*, 2008; Martínez *et al.*, 2008; Aldrete-Chávez *et al.*,

2010).

Se han realizado algunos trabajos sobre los métodos para romper la latencia física de las semillas de *Lupinus* spp. nativos de México, entre ellos, el uso de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado a distintos tiempos, como en *Lupinus montanus* (Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo, 2005; Hernández *et al.*, 2008), *L. bilienatus* (Martínez *et al.*, 2008) y *L. leptophyllus* (Aldrete-Chávez *et al.*, 2010). Sin embargo; este método no simula ningún proceso ecológico, pues el uso de escarificación química simula el paso de las semillas por el tracto digestivo, y las semillas de *Lupinus* difícilmente son consumidas por animales, ya que los frutos no poseen pulpa atractiva para éstos.

También se han utilizado tratamientos que no han logrado romper la latencia de semillas, como el uso de escarificación mecánica para *L. montanus* (Hernández *et al.*, 2008); temperaturas alternantes, como 20/15°C para *L. montanus* (Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo, 2005), 15/10, 20/15, 25/20 y 30/25°C para *L. bilienatus* (Martínez *et al.*, 2008) e incluso altas temperaturas (80, 110 y 140°C) pero con tiempos muy cortos 0, 1, 2 y 5 minutos para *L. leptophyllus* (Aldrete-Chávez *et al.*, 2010).

Las altas temperaturas se relacionan con los incendios, por lo que también se ha utilizado fuego y humo durante 20 minutos para *L. bilienatus* (Martínez *et al.*, 2008); sin embargo, ninguno de los estudios anteriores han logrado resultados exitosos de rompimiento de latencia. Por lo tanto, es necesario realizar investigación que simule los factores que ayuden a romper la latencia física de las semillas de especies de este género, como por ejemplo el uso de altas temperaturas pero a mayores tiempos de exposición (Zuloaga-Aguilar *et al.*, 2010; 2011). Es probable que el calor de las altas temperaturas ocasionen la apertura del estrofiolo y que esto incremente la impermeabilidad de la cubierta de la semilla y, por ende, se rompa la latencia, como fue reportado para *Lupinus varius*

(Quinlivan, 1968).

La literatura parece sugerir que las altas temperaturas ayudan a romper la latencia de las semillas, pero hay que considerar que las altas temperaturas del suelo también pueden afectar la viabilidad de las semillas debido a que promueven el envejecimiento de las mismas (Daws *et al.*, 2007). Así, sería interesante investigar si las semillas almacenadas por hasta tres o cuatro años, envejecidas por el paso del tiempo y no por las altas temperaturas, rompen la latencia y presentan mayor germinación que las semillas recién colectadas.

## 2. JUSTIFICACIÓN.

El fuego se ha convertido en una importante herramienta de gestión, para volver a crear o mantener determinadas comunidades de vegetación (sabana de encinos, pastizales, bosques de pinos, praderas de hierbas altas, chaparral, etc.), para mantener las especies, la diversidad y a las especies amenazadas o raras y para controlar a las especies invasoras (Le Fer y Parker, 2005).

Las semillas que sobreviven al fuego contribuyen al establecimiento post-fuego en diversos grados en las comunidades. La capacidad de las especies en estas comunidades para establecer plántulas después del fuego puede estar influenciada por algunos factores, incluyendo (1) magnitud y duración de las altas temperaturas durante un incendio en las profundidades del suelo y en micrositios donde las semillas viables se encuentran, y (2) respuestas de germinación de las semillas a elevadas temperaturas (Carrington, 2010).

La latencia de las semillas puede incrementar la oportunidad del establecimiento de plántulas por retraso del tiempo de germinación hacia condiciones climáticas o micrositios más favorables. Un breve choque de calor entre 80°C a 120°C es suficiente para inducir la imbibición debilitando las células en regiones localizadas, como el hilo, chalaza, estrofíolo, o posiblemente desnaturalizando inhibidores. El choque térmico ha estimulado la germinación en especies de las familias Fabaceae, Rhamnaceae, Convolvulaceae, Malvaceae, Cisteaceae y Sterculiaceae, presentándose de manera natural en muchos ecosistemas (Keeley y Fotheringham, 1998).

Debido a lo anterior es importante conocer como las altas temperaturas pueden abrir el “hueco de agua” en semillas con latencia física, en forma de calor húmedo o calor seco (Baskin *et al.*, 2000, 2006; Jayasuriya *et al.*, 2007, 2008). En el caso de las semillas de *Lupinus* es trascendental conocer su comportamiento de

germinación dado que se encuentran en hábitats con incendios naturales o de origen antropogénico en época de sequía seguidos por la época de lluvias y si estas con diferentes años de almacenamiento sobreviven a estas condiciones y así contribuyen al banco de semillas en dichos hábitats.

El uso de las fabáceas en la restauración ecológica es una práctica cada vez más frecuente, debido a su capacidad de fijar nitrógeno, a las altas tasas de crecimiento, a que resisten condiciones adversas tales como suelos erosionados, alta salinidad y sequías, y a su capacidad de generar grandes cantidades de hojarasca que mejoran las condiciones del suelo, lo que permite el re-establecimiento de condiciones favorables para reiniciar procesos sucesionales en sitios severamente degradados y el re-establecimiento de ciclos de nitrógeno (Ruiz *et al.*, 2009).

En este proyecto se pretende determinar la capacidad de germinación en semillas de seis especies de *Lupinus* (*Lupinus elegans*, *L. exaltatus*, *L. mexicanus*, *L. montanus*, *L. reflexus* y *L. rotundiflorus*) bajo diferentes pre-tratamientos de calor combinados con humedad para romper la latencia física que tienen sus semillas y así tener un mayor conocimiento de sus características ecológicas. Asimismo, realizar la ubicación anatómica del “hueco de agua” en la semilla por medio de Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) y relacionar su presencia con un aumento en la germinación.

### 3. HIPÓTESIS.

- Las semillas del género *Lupinus* presentan la estructura llamada “hueco de agua”, la cual está involucrada con la ruptura de la latencia física.
- Las semillas de *Lupinus* germinan con altas temperaturas en combinación con humedad, como consecuencia de la apertura del “hueco de agua”.
- El envejecimiento natural de las semillas fomenta la apertura del hueco de agua y promueve el rompimiento de la latencia, germinando más las semillas almacenadas por uno o más años que las semillas recientes.

#### **4. OBJETIVO GENERAL.**

- Determinar los factores que afectan el rompimiento de la latencia física de semillas de seis especies del género *Lupinus*, de diferentes edades.

#### **4.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS.**

- Identificar la ubicación del hueco de agua (estrofíolo, micrópilo, chalaza ó hilo) presente en seis especies del género *Lupinus* de distintas edades.
- Evaluar el efecto de pre-tratamientos combinados de alta temperatura y humedad, en el rompimiento de latencia física y germinación de semillas del género *Lupinus* de distintas edades.
- Determinar si existe una relación entre la apertura del hueco de agua y el rompimiento de latencia física, así como entre la apertura del hueco de agua y la edad de las semillas.

## 5. Materiales y Métodos.

### 5. 1 Descripción taxonómica, botánica y morfológica del género *Lupinus*.

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Rosidae.

Superorden: Fabanae.

Orden: Fabales.

Familia: Fabaceae.

Subfamilia: Papilionoideae.

Tribu: Genistea.

Género: *Lupinus*.

Los integrantes de este género son plantas herbáceas o arbustivas, anuales o perennes con tallos solitarios, cespitosos o abundantemente ramificados de 0.5 a 3 m de altura. Hojas alternas, estipuladas, palmeadamente compuestas, rara vez simples, de 4 a 12 folíolos; libres en racimos terminales pedunculados que normalmente sobresalen del follaje, racimos de 0.3 a 0.5 m o mas largos; brácteas florales caducas o persistentes, usualmente deciduas en anthesis de largo variable, flores con pedicelos de 2 a 12 mm de largo; bractéolas comúnmente presentes, adnadas a la base del cáliz, linear-subuladas; cáliz fuertemente bilabiado, labios enteros o dentados, el superior (adaxial), bífido, e inferior (abaxial), tridentado; corolas zigomorfas, generalmente azules o azul-moradas con una mancha blanca a amarilla en el centro del estandarte por encima del ángulo producido por su mitad exterior que es refleja, ocasionalmente las flores son rosadas, rojas, blancas o amarillas; corolas glabras, excepto en la quilla; quilla glabra o ciliada a lo largo de los bordes superiores, falcadas o bien el margen superior casi recto, 10 estambres, monadelfos, anteras dimórficas, alternando las mas largas con las mas cortas; fruto dehiscente mas o menos compreso lateralmente, con diversos tipos

de pubescencia, a menudo torulosa entre las semillas; de 4 a 12 óvulos; semillas de tamaño y color variable, generalmente semejante al color del suelo del área en que viven (Rzedowski y Calderón, 1979).

## 5.2 Especies de estudio.

La investigación se realizó con seis especies del género *Lupinus* nativas del estado de Jalisco: *L. elegans* H. B. K., *L. exaltatus* Zucc., *L. mexicanus* Cerv. ex Lag., *L. montanus* H. B. K., *L. reflexus* Rose. y *L. rotundiflorus* M.E. Jones., siendo estas las más comunes del género en el estado.

- *Lupinus elegans* es una leguminosa arbustiva característica de los sitios con disturbio en bosques de pino y pino-encino en la región central de México en altitudes desde los 1,700 a 3,000 msnm. Es abundante en campos abandonados ya que es tolerante a condiciones adversas, tiene la capacidad de fijar nitrógeno y un gran potencial en la restauración ecológica y agroforestería (Alvarado-Sosa *et al.*, 2007). En el estado se encuentra distribuido en: Autlán, Bolaños, Ciudad Gúzman, Cuahutitlán, Gómez Farías, Mezquitic y Tecolotlán (Ruiz Moreno *et al.*, 2000; Ruiz y Zamora, 2006).

- *Lupinus exaltatus* se localiza en zonas abiertas en bosque de pino-encino y es la especie mas abundante del estado; comúnmente se encuentra como maleza en zonas perturbadas o cultivadas, así como al borde de los caminos en las montañas de la Sierra Volcánica Transversal entre los 1,800- 2,000 msnm. Su época de floración es entre enero y agosto (McVaugh, 1987). Se distribuye en Autlán, Atemajac de Brizuela, Ciudad Gúzman, Mezquitic, San Gabriel, Tecalitlán y Tonila (Ruiz y Zamora, 2006).

- *Lupinus mexicanus* se encuentra en pastizales, matorrales áridos con especies de *Acacia*, *Mimosa* y *Opuntia*; se adapta fácilmente a hábitats con

disturbio. Se encuentra entre los 1,800 a 2,200 msnm en la meseta central y en la cuenca alta del Río Santiago; su floración ocurre entre mayo y septiembre (McVaugh, 1987). En el estado de Jalisco lo podemos encontrar en Acatic, Arandas, Ciudad Guzmán, Cuquío, Etzatlán, Gómez Farías, Juanacatlán, Lagos de Moreno, Ojuelos, Talpa, Teuchitlán, Villa Obregón, Yahualica y Zapopan (Ruiz y Zamora, 2006).

- *Lupinus montanus* se encuentra en los bosques de pino (*Pinus hartwegii*), encinares (*Quercus spp.*), abetos (*Abies religiosa*) y praderas alpinas entre 2,500 y 4,100 msnm. Está presente en sitios quemados, lo que hace que esta especie sea candidata para la restauración de las zonas forestales quemadas (Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo, 2005). La especies se encuentra en Bolaños, Ciudad Gúzman, Mezquitic, San Gabriel, Tonila y Zapotitlán (Ruiz y Zamora, 2006).

- *Lupinus reflexus* está localizado en laderas y cumbres de montañas, en bosques de abeto (*Abies*) o pino (*Pinus hartwegii*), o con zacates amacollados y alisos (*Alnus*); también en suelos volcánicos por encima de la vegetación arbórea a alturas de 2,700 a 3,600 msnm con floración de marzo a septiembre (McVaugh, 1987). En el estado se encuentra distribuido en Ciudad Guzmán, Chiquilistlán, Gómez Farías, Mascota, Mazamitla, Ojuelos, San Gabriel, Talpa, Tonila y San Juan de los Lagos (Ruiz y Zamora, 2006).

- *Lupinus rotundiflorus* se puede encontrar en laderas abiertas, apertura de hierbas, colinas áridas con arbustos (*Acacia spp.*, *Leucaena spp.*), y con plantas arborescentes del género *Ipomoea*; algunas veces en bosque de pino-encino, se adapta fácilmente a hábitats con disturbio. Se encuentra desde los 1,500-2,500 msnm en el interior y en las montañas de la vertiente del Pacífico, florece de septiembre a junio (McVaugh, 1987). Se distribuye en Ciudad Guzmán, Mascota, Talpa y Tapalpa (Ruiz y Zamora, 2006).

Se analizaron diferentes años de colecta para las especies de estudio; los cuales se muestran en la Tabla 2.

**Tabla 2: Relación de especies estudiadas y años de colecta de semillas.**

<b>Especies/años.</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>
<i>Lupinus elegans</i>			X	X	X
<i>Lupinus exaltatus</i>		X	X	X	X
<i>Lupinus mexicanus</i>	X	X	X	X	X
<i>Lupinus montanus</i>		X	X	X	X
<i>Lupinus reflexus</i>			X	X	X
<i>Lupinus rotundiflorus</i>	X	X	X	X	X

### 5.3 Sitios de colecta.

Este trabajo se realizó con semillas de diferentes localidades del estado de Jalisco (Fig. 1).



**Figura 1. Sitios de colecta.**

Sierra de Quila (1): Fue declarada Área de Protección de Flora y Fauna el 4 de agosto de 1982 (DOF, 1982). En este sitio se colectó *L. elegans* entre los meses de julio a octubre. Es una región boscosa situada a unos 100 Km al SO de la ciudad de Guadalajara, Jalisco, México, con una extensión de 15,192 ha. de las

32000 ha. de superficie boscosa. Geográficamente se localiza entre los paralelos 20°12'10" y 20°23'23" de latitud norte y 103°53'25" y 104°11'35" de longitud oeste (Anónimo, 1982). Esta zona montañosa está dentro de la región fisiográfica denominada Neovolcánica. La sierra presenta una altitud que varía de los 1300 msnm en su zona más baja y los 2560 msnm en su punto más alto. Su clima es templado subhúmedo con lluvias en verano, en sus partes más altas, mientras que en las partes más bajas es templado semicálido. De acuerdo a Guerrero (1994) y Guerrero-Nuño y López-Coronado (1997), la Sierra de Quila presenta seis tipos de vegetación siguiendo el criterio de Rzedowski (1981), *L. elegans* se encuentra en dos de ellos, Bosque de encino y Bosque de pino-encino.

Lagos de Moreno (2): ubicado al noroeste de Jalisco a 1,942 msnm. Su clima es extremo y semiseco. Las lluvias caen en verano de junio a septiembre con precipitación media anual de 860 mm. Se observa que no existen áreas forestales; sólo pequeños manchones de especies maderables y no maderables que no se explotan para fines comerciales. En el municipio se presentan los siguientes tipos de vegetación: selva baja caducifolia, bosque aciculi-esclerófilo, bosque esclerófilo caducifolio, pastizal medio abierto, pastizal mediano arbofrutescente y bosque caducifolio espinoso (INAFED, 2010). La especie colectada fue *L. mexicanus* entre los meses de abril a junio.

Ojuelos (3): se localiza al noreste del estado a una altura de 2,100 msnm. El clima es seco, con invierno benigno. Su vegetación es matorral micrófilo, izotal, pastizal natural (García-Sánchez y Monroy-Ata, 2010). La especie colectada fue *L. mexicanus* entre los meses de abril a junio.

Tapalpa (4): se encuentra en el suroeste de Jalisco aprox. a 118 km de Guadalajara a una altura de 1,950 msnm. El clima es semiseco. En la flora se dan las especies de pino, roble, encino, fresno, oyamel, sauce, madroño, nopal, hizache, palo dulce, y granjeno (INAFED, 2010). En este sitio se colectó *L.*

*rotundiflorus* entre los meses de junio a septiembre.

Nevado de Colima (5): ubicado en el municipio de Ciudad Guzmán cabecera municipal del municipio de Zapotlán el Grande, a aproximadamente 139 km de Guadalajara. Su altura es de 4340 msnm y no presenta actividad volcánica. La vegetación del Nevado es de bosques templados y fríos de pino-encino, oyamel y juníferos. A partir de la cota de los 4,000 msnm existe el ecosistema conocido como tundra alpina, donde los zacatonales y los musgos son las principales plantas, pues los árboles (pinos, oyameles) dejan de crecer a esta altura. El área donde se localiza este volcán está protegida por el gobierno mexicano con el decreto de *Parque Nacional Nevado "El Colima"* otorgado el 5 de septiembre de 1936 (CONANP, 2011). En el Nevado se colectaron tres especies: *L. exaltatus* (julio a septiembre), *L. reflexus* (octubre a diciembre) y *L. montanus* (octubre a febrero).

#### **5.4 Diseño experimental**

Se realizaron pre-tratamientos de agua hirviendo y de arena húmeda y arena seca. El diseño experimental para la germinación fue de 20 semillas X pre-tratamiento X repetición, con cinco repeticiones para cada pre-tratamiento. La temperatura de germinación fue de 25 °C, con fotoperiodo de luz/oscuridad de 12/12 horas. Se utilizó una cámara de germinación modelo Lumistell ICP-19d-c/iv, por 30 días.

#### **5.5 Pre-tratamientos para romper la latencia.**

##### **5.5.1 Agua hirviendo.**

Se utilizaron semillas de los distintos años de colecta de las seis especies de *Lupinus*. Se colocó agua destilada hirviendo en una placa de calentamiento y las semillas fueron sumergidas con ayuda de una coladera metálica esférica, por

tres tiempos (5, 10 y 15 segundos). Después se procedió a realizar una desinfección de las semillas con alcohol etílico al 70% agitando por 3 min, cloro al 20% agitando 3 min y cuatro lavados con agua destilada; posteriormente se realizó la siembra en agar (Bioxon 1%, Cat. 150-1, Becton Dickinson, México) como sustrato dentro de cajas Petri.

### **5.5.2 Arena húmeda y arena seca.**

Se colocaron semillas de cada especie y año de colecta en charolas de aluminio con arena en una estufa (Binder, modelo FED400-UL) con los siguientes pre-tratamientos: para *L. elegans* y *L. rotundiflorus* a 100, 120 y 150°C por 60 y 90 minutos y el resto de las especies (*L. exaltatus*, *L. mexicanus*, *L. montanus* y *L. reflexus*) sólo a 100 °C por 60 minutos. Para el pre-tratamiento de arena húmeda se depositó primero una capa de arena como sustrato, después se colocaron las semillas y luego otra capa fina de arena; finalmente se dio un riego con agua destilada. Para arena seca se colocó una capa de arena y sobre ésta se pusieron las semillas. Asimismo se procedió a la desinfección de las semillas y posteriormente su germinación. Para todos los pre-tratamientos se tuvieron semillas sin ningún tratamiento, siendo éstas los controles.

Se establecieron intervalos de temperatura y exposición de tiempo con el fin de simular el efecto de la intensidad y tiempo de residencia del fuego en un incendio forestal en la germinación (Jones, 1963; Clemens *et al.*, 1977).

## **5.6 Anatomía del “hueco de agua”.**

### **5.6.1 Micrografías en Microscopio Electrónico de Barrido (SEM).**

Las semillas se fijaron en una cinta adhesiva de carbón de doble cara en pines metálicos sin la necesidad de recubrir las muestras con oro. Las muestras fueron observadas en un FEI, Quanta™ 200 Microscopio Electrónico de Barrido

(SEM, por sus siglas en inglés). Este microscopio forma la imagen con los electrones secundarios que se generan en la interacción de la radiación electrónica con una capa depositada en la superficie del material y de un reducido espesor, efectuándose un proceso de rastreo. Cada observación se realizó en semillas sin pre-tratamiento (control) para lograr la ubicación del “hueco de agua”.

### **5.7 Análisis estadísticos.**

Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para el porcentaje de germinación de cada especie, en donde los factores fueron la edad de las semillas o tiempo de almacenamiento (el nivel varió dependiendo de la especie) y el pre-tratamiento. Después se realizaron pruebas de Tukey para la comparación de medias entre tratamientos, años y tratamiento por año. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico JMP®.

La anatomía del hueco de agua fue descriptiva, tomando micrografías en SEM de semillas sin pre-tratamiento alguno con la finalidad de ubicar la localización del “hueco de agua”.

## 6. Resultados.

### 6.1 Pre-tratamientos para romper latencia y germinación.

#### 6.1.1 Agua hirviendo.

##### 6.1.1.1 *Lupinus elegans*.

Se encontraron efectos de los pre-tratamientos, de la edad de las semillas y de la interacción entre ambos factores en el porcentaje de germinación de semillas. Los pre-tratamientos de agua hirviendo a 5, 10 y 15s obtuvieron mayor germinación ( $59\pm 3.66$ ,  $58.33\pm 3.66$  y  $57.33\pm 3.66$  respectivamente) en comparación con el control ( $7.33\pm 3.66$ ) ( $F = 48.19$ ;  $P < 0.001$ ). Con respecto al efecto en la edad de las semillas, las recientes germinaron en menor porcentaje ( $30\pm 3.17$ ) que las de uno ( $57\pm 3.17$ ) y dos años ( $49.5\pm 3.17$ ) de edad ( $F = 19.26$ ;  $P < 0.001$ ).

La interacción pre-tratamiento X año de colecta de semillas no fue significativa, pero hubo una tendencia de menor germinación en las semillas recientes que en las semillas de uno y dos años de almacenamiento, así como de mayor germinación en los pre-tratamientos que en el control ( $F = 1.55$ ;  $P = 0.18$ ; Fig. 2).

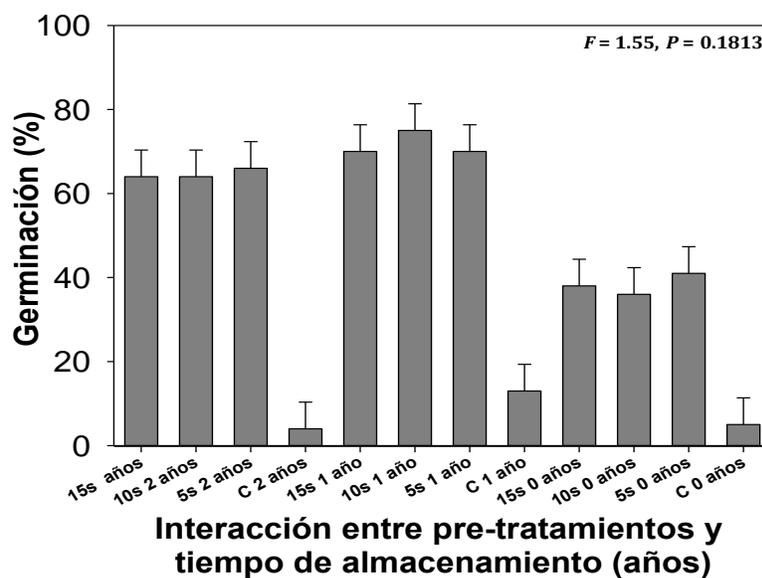


Figura 2. Germinación de semillas de *L. elegans* de distintas edades bajo pre-tratamientos

de exposición en agua hirviendo. 15s = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.

### 6.1.1.2 *Lupinus exaltatus*.

Las semillas de los tres pre-tratamientos (5, 10 y 15 segundos en agua hirviendo) presentaron mayor porcentaje de germinación ( $80.75 \pm 2.26$ ,  $81 \pm 2.26$  y  $77.5 \pm 2.26$ , respectivamente) que el control ( $16.25 \pm 2.26$ ), obteniendo diferencias significativas ( $F = 125.38$ ,  $P < 0.0001$ ). Las semillas de un año de edad mostraron mayor germinación ( $74.5 \pm 2.26$ ) que las recientes ( $57.5 \pm 2.26$ ), así como que las de dos ( $60 \pm 2.26$ ) y las de tres años ( $63.5 \pm 2.26$ ;  $F = 15.37$ ,  $P < 0.001$ ).

Con respecto a la interacción pre-tratamientos X año, las semillas pre-tratadas de un año de edad mostraron mayor germinación que en los otros años ( $F = 5.51$ ,  $P < 0.0001$ ; Fig. 3).

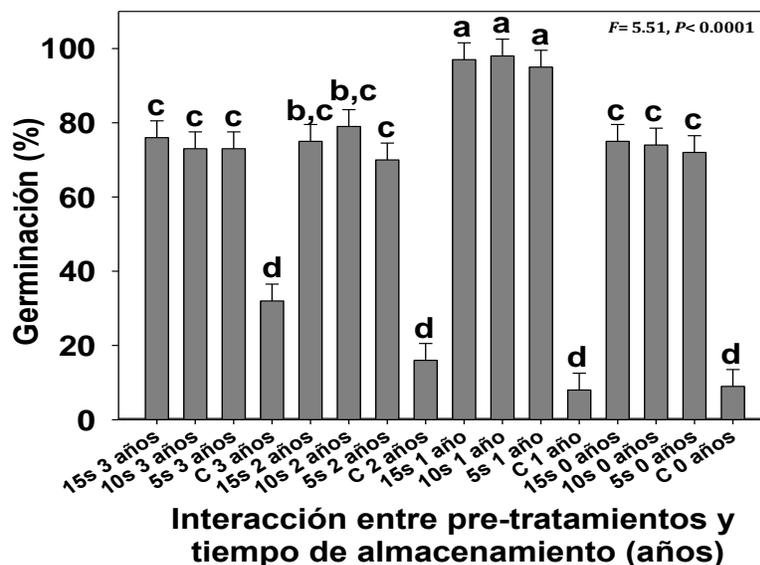


Figura 3. Germinación de semillas de *L. exaltatus* de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15s = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.

### 6.1.1.3 *Lupinus mexicanus*.

Se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de exposición: 15 s ( $29.2 \pm 2.26$ ), 10 s ( $30.2 \pm 2.26$ ) y 5 s ( $25.4 \pm 2.26$ ) con respecto al control ( $12.2 \pm 2.26$ ) ( $F = 13.48$ ,  $P < 0.0001$ ). Las semillas recientes presentaron menor

germinación que las de uno, dos, tres y cuatro años de edad ( $F = 9.61$ ;  $P < 0.001$ ). No se encontraron efectos significativos de la interacción pre-tratamiento X tiempo de almacenamiento ( $F = 1.49$ ,  $P = 0.14$ ; Figura 4).

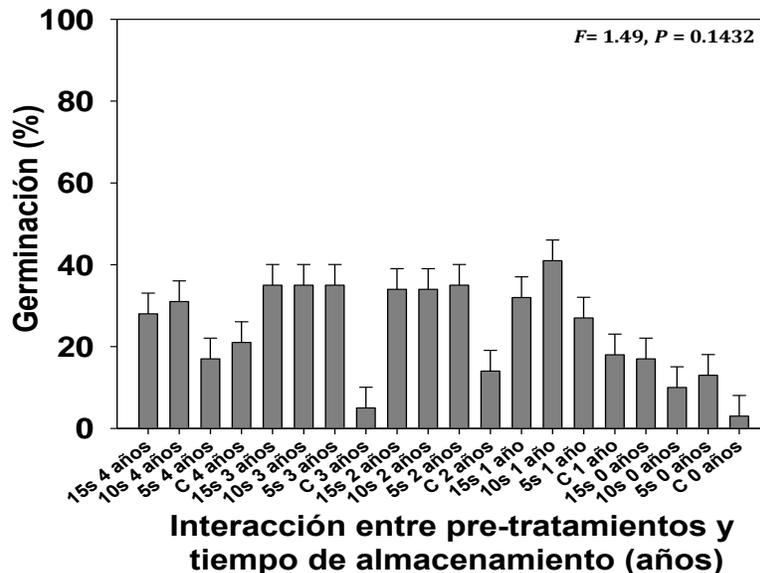


Figura 4. Germinación de semillas de *L. mexicanus* de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15s = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.

#### 6.1.1.4 *Lupinus montanus*.

Las semillas en agua hirviendo mostraron mayor porcentaje de germinación a 10s ( $58.75 \pm 2.44$ ) seguidas por 15s ( $58 \pm 2.44$ ) y 5s ( $57.77 \pm 2.44$ ) comparadas con las semillas sin pre-tratamiento siendo en este  $10.25 \pm 2.44$  ( $F = 96.20$ ,  $P < 0.0001$ ). El tiempo de almacenamiento fue significativo para la germinación ( $F = 32.64$ ,  $P < 0.0001$ ). Las semillas recientes ( $55 \pm 2.44$ ) y las de dos años de edad ( $59 \pm 2.44$ ) germinaron más que las de un año de edad ( $42.75 \pm 2.44$ ), y estas últimas a su vez mostraron mayor germinación que las semillas de tres años ( $28 \pm 2.44$ ).

Con respecto a la interacción pre-tratamiento X tiempo de almacenamiento, las semillas recientes y de dos años de edad que fueron pre-tratadas, mostraron mayor germinación que los controles y que las semillas de uno y tres años ( $F = 2.17$ ,  $P = 0.04$ , Fig. 5).

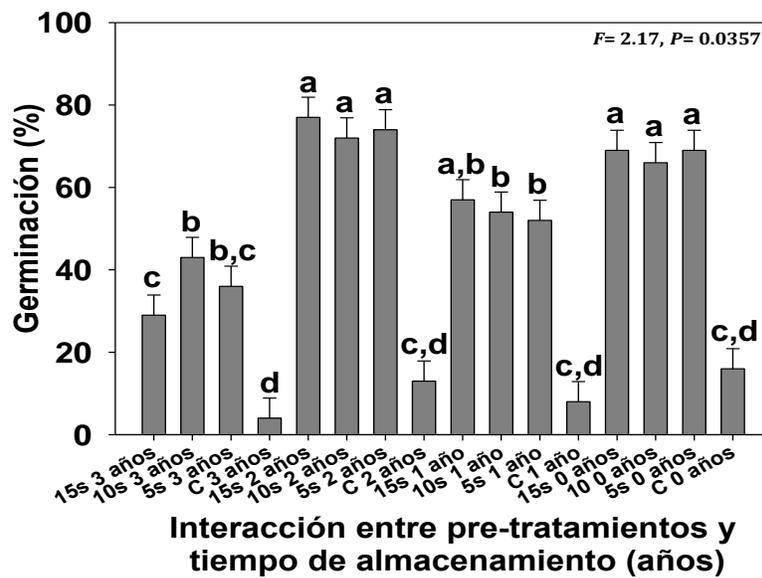


Figura 5. Germinación de semillas de *L. montanus* de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15s = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.

#### 6.1.1.5 *Lupinus reflexus*.

El mayor porcentaje de germinación fue mayor en 10 ( $44.33 \pm 3.15$ ) seguido por 5 ( $42.66 \pm 3.15$ ) y 15 segundos ( $38.66 \pm 3.15$ ) de exposición en agua hirviendo, en comparación con el control ( $21.33 \pm 3.15$ ,  $F = 11.31$ ,  $P < 0.0001$ ). Las semillas de un año de edad mostraron mayor porcentaje de germinación ( $65.7 \pm 2.72$ ) que las recientes ( $25.25 \pm 2.72$ ) y que las de dos años de almacenamiento ( $19.25 \pm 2.72$ ) ( $F = 63.60$ ,  $P < 0.0001$ ).

Con respecto a la interacción entre pre-tratamientos y tiempo de almacenamiento, las semillas de un año de edad con pre-tratamiento germinaron más que las semillas recientes y de dos años ( $F = 18.99$ ,  $P < 0.0001$ ; Fig. 6).

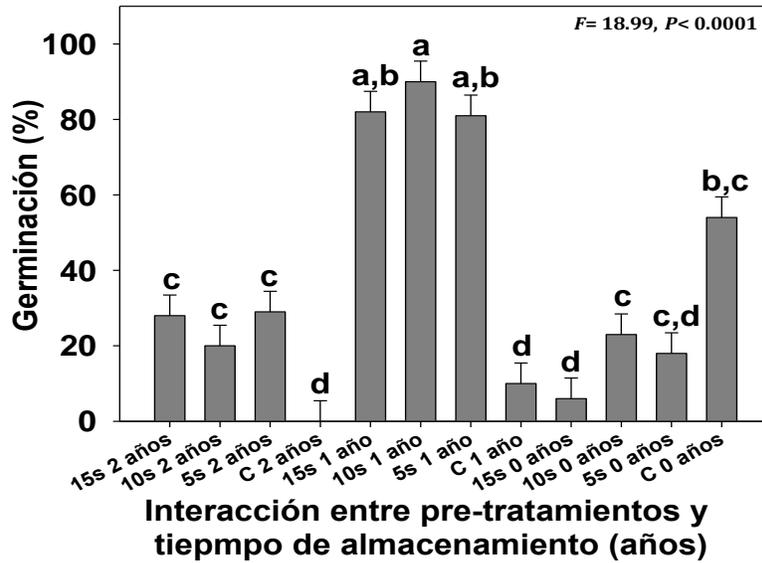
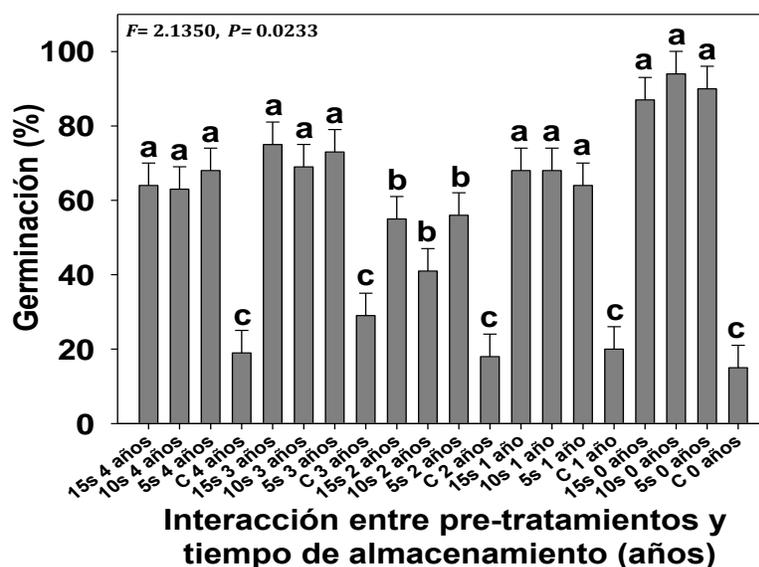


Figura 6. Germinación de semillas de *L. reflexus* de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15s = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.

#### 6.1.1.6 *Lupinus rotundiflorus*.

Para esta especie las semillas de los tres pre-tratamientos de agua hirviendo mostraron mayor porcentaje germinación a los 5s ( $70.2 \pm 2.69$ ) seguido por 15s ( $69.8 \pm 2.69$ ) y 10s ( $67 \pm 2.69$ ) de exposición en agua hirviendo que las semillas control ( $20.2 \pm 2.69$ ) ( $F = 82.00$ ;  $P < 0.0001$ ). Con respecto al tiempo de almacenamiento, hubo mayor germinación en las semillas recientes ( $71.5 \pm 3.01$ ) que en las semillas almacenadas por un año ( $55 \pm 3.01$ ), dos años ( $42.5 \pm 3.01$ ), tres años ( $61.5 \pm 3.01$ ) y cuatro años ( $53.5 \pm 3.01$ ) ( $F = 12.54$ ;  $P < 0.0001$ ).

En relación a la interacción de la exposición a calor en agua hirviendo X tiempo de almacenamiento, se encontraron diferencias significativas ( $F = 2.135$ ;  $P = 0.0233$ ; Figura 7). Independientemente del tiempo de almacenamiento, las semillas bajo pre-tratamiento germinaron en mayor porcentaje que las semillas control. Sin embargo; las semillas recientes mostraron mayor germinación que las demás semillas.



**Figura 7. Germinación de semillas de *L. rotundiflorus* de distintas edades bajo pre-tratamientos de exposición en agua hirviendo. 15s = 15 segundos; 10s = 10 segundos; 5s = 5 segundos en agua hirviendo; C = control.**

## 6.1.2 Arena húmeda y arena seca.

### 6.1.2.1 *Lupinus elegans*.

Para esta especie se realizaron dos exposiciones de tiempo (60 min y 90 min) en los pre-tratamientos de arena húmeda y arena seca. Los pre-tratamientos afectaron de manera significativa ( $F = 10.69$ ;  $P < 0.0001$ ). La germinación fue mayor en los pre-tratamientos de arena húmeda por 60 y 90 minutos ( $29 \pm 2.35$  y  $32.33 \pm 2.35$ , respectivamente) que en los de arena seca por los mismos tiempos ( $13.33 \pm 2.35$  y  $22.66 \pm 2.35$ , respectivamente). En el control la germinación fue menor ( $7.33 \pm 2.35$ ) que en los pre-tratamientos. El tiempo de almacenamiento también fue importante para la germinación ( $F = 83.83$ ;  $P < 0.0001$ ); obteniéndose el mayor porcentaje de germinación ( $42 \pm 1.82$ ) en las semillas de un año de edad, seguido de las semillas de dos años ( $17.2 \pm 1.82$ ) y finalmente las recientes ( $3.6 \pm 1.82$ ).

Con respecto a la interacción pre-tratamiento X tiempo de almacenamiento, las semillas recientes presentaron menor germinación que las semillas de uno y dos años de edad ( $F = 5.38$ ;  $P < 0.0001$ ). No se encontró efecto significativo de los

pre-tratamientos en la germinación de semillas recientes, pero sí en las semillas almacenadas (Fig. 8).

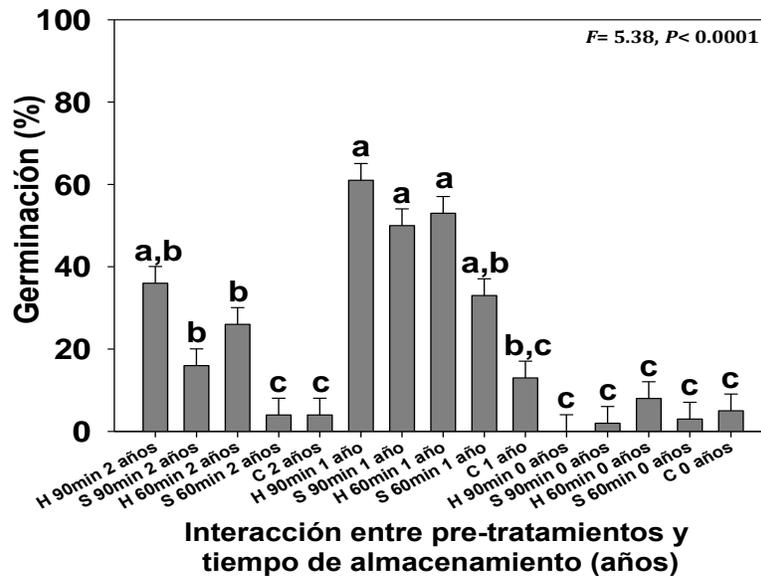


Figura 8. Germinación de semillas de *L. elegans* bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.

#### 6.1.2.2 *Lupinus exaltatus*.

Para esta especie solo se trabajó con el tiempo de exposición en arena húmeda y seca de 60 minutos. El pre-tratamiento de arena húmeda tuvo el mayor porcentaje de germinación ( $76.5 \pm 2.32$ ), seguido de arena seca ( $27.25 \pm 2.32$ ) y el control ( $16.25 \pm 2.32$ ) ( $F = 126.69$ ,  $P < 0.0001$ ). El tiempo de almacenamiento también fue importante para la germinación ( $F = 22.04$ ;  $P < 0.0001$ ); el porcentaje de germinación aumentó conforme aumentó el tiempo de almacenamiento de las semillas; teniendo el mayor porcentaje las semillas de tres años ( $60 \pm 2.68$ ), seguido de la de dos ( $39.66 \pm 2.68$  %), un año de edad ( $33 \pm 2.68$ ) y finalmente las semillas recientes ( $27 \pm 2.68$ ).

La interacción de exposición a calor en arena húmeda o seca X tiempo de almacenamiento afectó de manera significativa a la germinación ( $F = 6.30$ ;  $P < 0.0001$ ). Se encontró mayor germinación en las semillas calentadas en arena húmeda con tres años ( $79 \pm 4.64$ ), dos años ( $81 \pm 4.64$ ), un año ( $81 \pm 4.64$ ) y recién colectadas ( $65 \pm 4.64$ ), así como en las semillas de tres años puestas en arena

seca ( $70 \pm 4.64$ ) (Fig. 9).

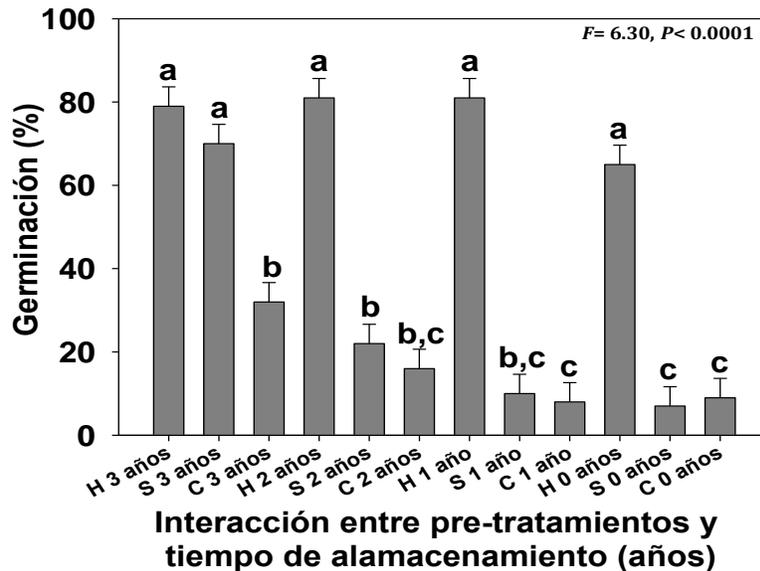


Figura 9. Germinación de semillas de *L. exaltatus* bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.

### 6.1.2.3 *Lupinus mexicanus*.

Únicamente se trabajó con 60 min de exposición. No se encontraron efectos significativos de los pre-tratamientos de calor en arena húmeda y arena seca ( $F = 1.50$ ,  $P = 0.22$ ). Los porcentajes de germinación fueron de  $12.6 \pm 1.37$  con calor en húmedo,  $20.6 \pm 1.37$  con calor en seco y  $12.2 \pm 1.37$  en el control. La edad de las semillas afectó la germinación de esta especie ( $F = 28.04$ ,  $P < 0.0001$ ); las semillas recientes y de dos años de edad presentaron mayor germinación ( $30.33 \pm 1.77$  y  $21.33 \pm 1.77$ , respectivamente) que las semillas de uno ( $7 \pm 1.77$ ), tres ( $10 \pm 1.77$ ) y cuatro ( $7 \pm 1.77$ ) años de almacenamiento.

Con respecto a la interacción pre-tratamiento X tiempo de almacenamiento, las semillas recientes del pre-tratamiento en arena seca mostraron alta germinación ( $80 \pm 3.07$ ) en comparación con que las semillas de las demás combinaciones pre-tratamiento X año ( $F = 40.78$ ,  $P < 0.0001$ ; Fig. 10).

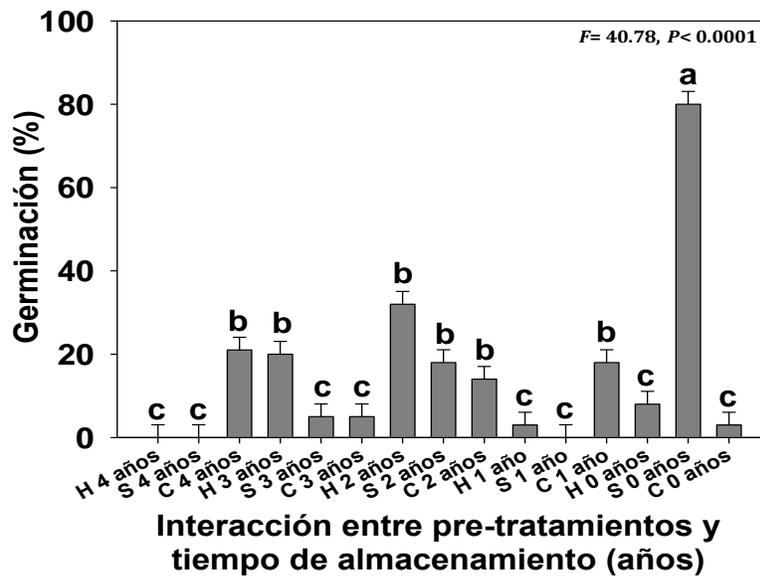


Figura 10. Germinación de semillas de *L. mexicanus* bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.

#### 6.1.2.4 *Lupinus montanus*.

Se realizó un solo tiempo de exposición (60 min). El factor pre-tratamiento afectó de manera significativa la germinación de semillas ( $F = 8.11$ ,  $P = 0.0009$ ), aunque la germinación fue baja en general. Hubo mayor germinación con el pre-tratamiento de arena húmeda ( $9 \pm 1.41$ ) y el control ( $10.25 \pm 1.41$ ) que en el pre-tratamiento de arena seca ( $2.75 \pm 1.41$ ). El tiempo de almacenamiento también fue importante para la germinación de esta especie ( $F = 3.54$ ,  $P = 0.02$ ). En general, la germinación fue baja en todos los años; el mayor porcentaje se encontró en semillas recientes ( $11.33 \pm 1.62$ ) seguido por las de un año ( $7.66 \pm 1.62$ ), dos años ( $6.33 \pm 1.62$ ) y finalmente cuatro años ( $4 \pm 1.62$ ).

Con respecto a la interacción pre-tratamiento de calor en arena X tiempo de almacenamiento, el porcentaje de germinación fue mayor en las semillas recientes del pre-tratamiento de arena húmeda ( $17 \pm 2.82$ ) y en el control de estas mismas ( $16 \pm 2.82$ ) que en las demás combinaciones ( $F = 2.49$ ,  $P = 0.03$ ; Fig. 11).

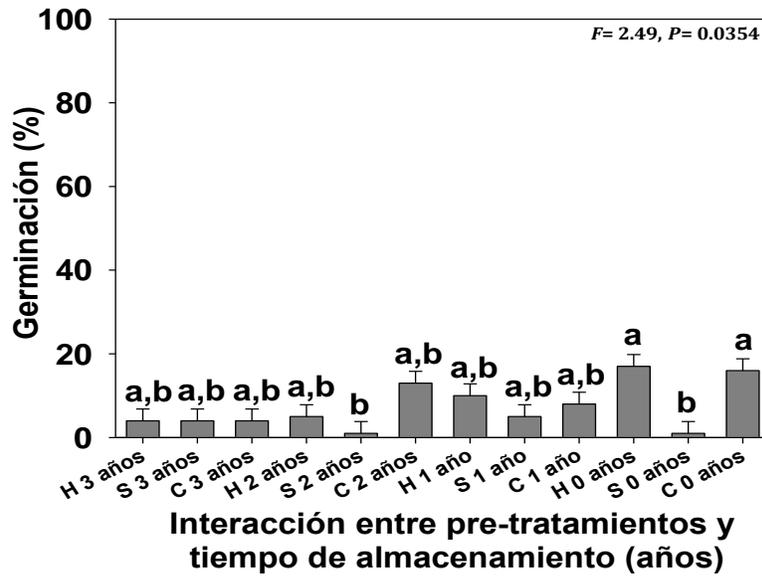


Figura 11. Germinación de semillas de *L. montanus* bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.

#### 6.1.2.5 *Lupinus reflexus*.

El tiempo de exposición a calor húmedo y seco fue de 60 minutos únicamente. No se encontraron diferencias significativas ( $F = 1.68$ ,  $P = 0.19$ ) en la germinación bajo los tratamientos de arena húmeda ( $27.33 \pm 2.43$ ), arena seca ( $26 \pm 2.43$ ) y el control ( $21.33 \pm 2.43$ ). Con respecto al tiempo de almacenamiento, las semillas de un año de edad presentaron mayor germinación ( $40 \pm 2.43$ ) que las semillas recientes, las cuales germinaron  $23.66 \pm 2.43$ ; estas últimas, a su vez, germinaron más que las semillas de dos años de almacenamiento, las cuales tuvieron  $11 \pm 2.43$  de germinación solamente ( $F = 35.89$ ,  $P < 0.0001$ ).

La interacción tiempo de almacenamiento X pre-tratamiento de calentamiento en arena húmeda o seca afectó de manera significativa a la germinación de esta especie ( $F = 49.54$ ;  $P < 0.0001$ ). Las semillas recientes sin pre-tratamiento ( $54 \pm 4.20$ ) y las de un año de almacenamiento expuestas a calor en arena seca ( $69 \pm 4.20$ ) germinaron en mayor porcentaje que las demás semillas (Figura 12).

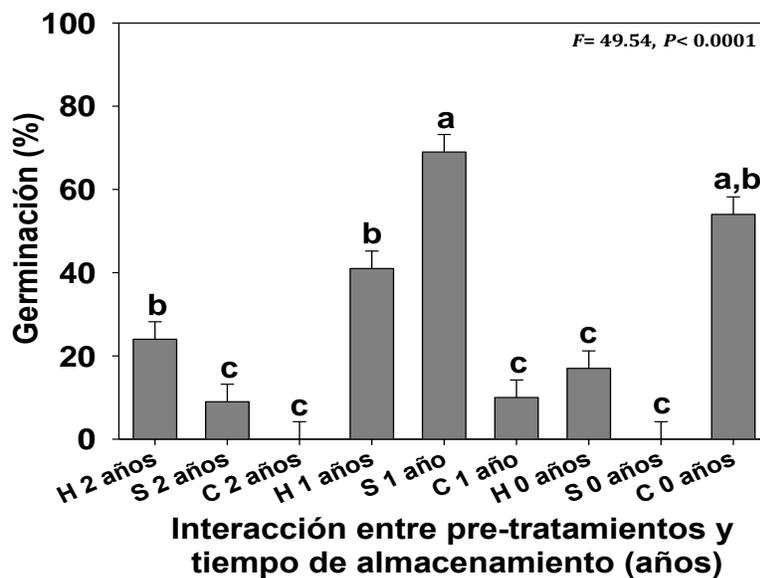


Figura 12. Germinación de semillas de *L. reflexus* bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.

#### 6.1.2.6 *Lupinus rotundiflorus*.

Se realizaron dos tiempos de exposición (60 min y 90 min). En los pre-tratamientos de arena húmeda por 60 minutos ( $55.8 \pm 2.46$ ) y arena seca por 60 ( $60.6 \pm 2.46$ ) y 90 minutos ( $54 \pm 2.46$ ) se obtuvieron los mayores porcentajes de germinación, en comparación con arena húmeda por 90 minutos ( $32.4 \pm 2.46$ ) y el control ( $20.2 \pm 2.46$ ;  $F = 50.248$ ,  $P < 0.0001$ ). El tiempo de almacenamiento también afectó la germinación; las semillas recientes presentaron mayor germinación ( $73.4 \pm 2.46$ ) que las semillas con 1 ( $38.6 \pm 2.46$ ), 2 ( $27.6 \pm 2.46$ ), 3 ( $45.8 \pm 2.46$ ) y 4 años ( $37.6 \pm 2.46$ ) de almacenamiento ( $F = 49.870$ ;  $P < 0.0001$ ).

Con respecto a la interacción tiempo de almacenamiento X pre-tratamiento de exposición a calor húmedo o seco, las semillas recientes con pre-tratamiento germinaron más ( $>80\%$ ) que las semillas recientes control ( $<20\%$ ), y que las semillas pre-tratadas y control de 1, 2, 3 y 4 años de almacenamiento ( $F = 4.86$ ;  $P < 0.0001$ ; Figura 13).

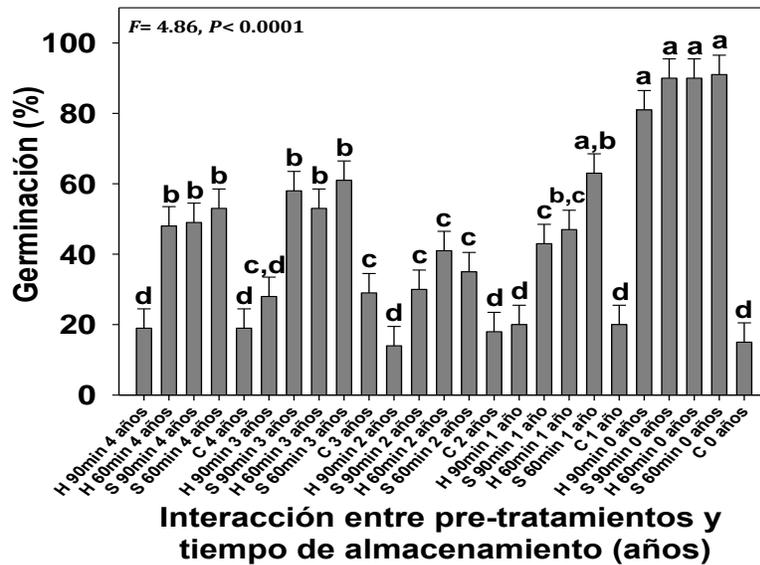


Figura 13. Germinación de semillas de *L. rotundiflorus* bajo pre-tratamientos de arena húmeda (H) y seca (S), con distintos tiempos de almacenamiento.

## 6.2 Anatomía del hueco de agua.

### 6.2.1 Micrografías del hueco de agua.

#### 6.2.1.1 *L. elegans*.

En la Figura 14 se observan las micrografías del hueco de agua en semillas control de *L. elegans*. En dichas micrografías se puede observar el hueco de agua como una protuberancia en todos los años. A: 2008; B: 2009; C: 2010 (control), D: 2010 (pre-tratamiento) y E: distancia del hilo al hueco de agua ( $\bar{X} = 1.41$  mm). En A y B se destaca el estrofiolo por ser una estructura prominente y de forma elipsoidal; su textura es rugosa a diferencia de la superficie lisa de la testa. En C no se observan diferencias en la textura del estrofiolo y la testa. En las semillas con pre-tratamiento de calor se observan fisuras (f) en el estrofiolo (D) por donde entra el agua, en comparación con las semillas control (C).

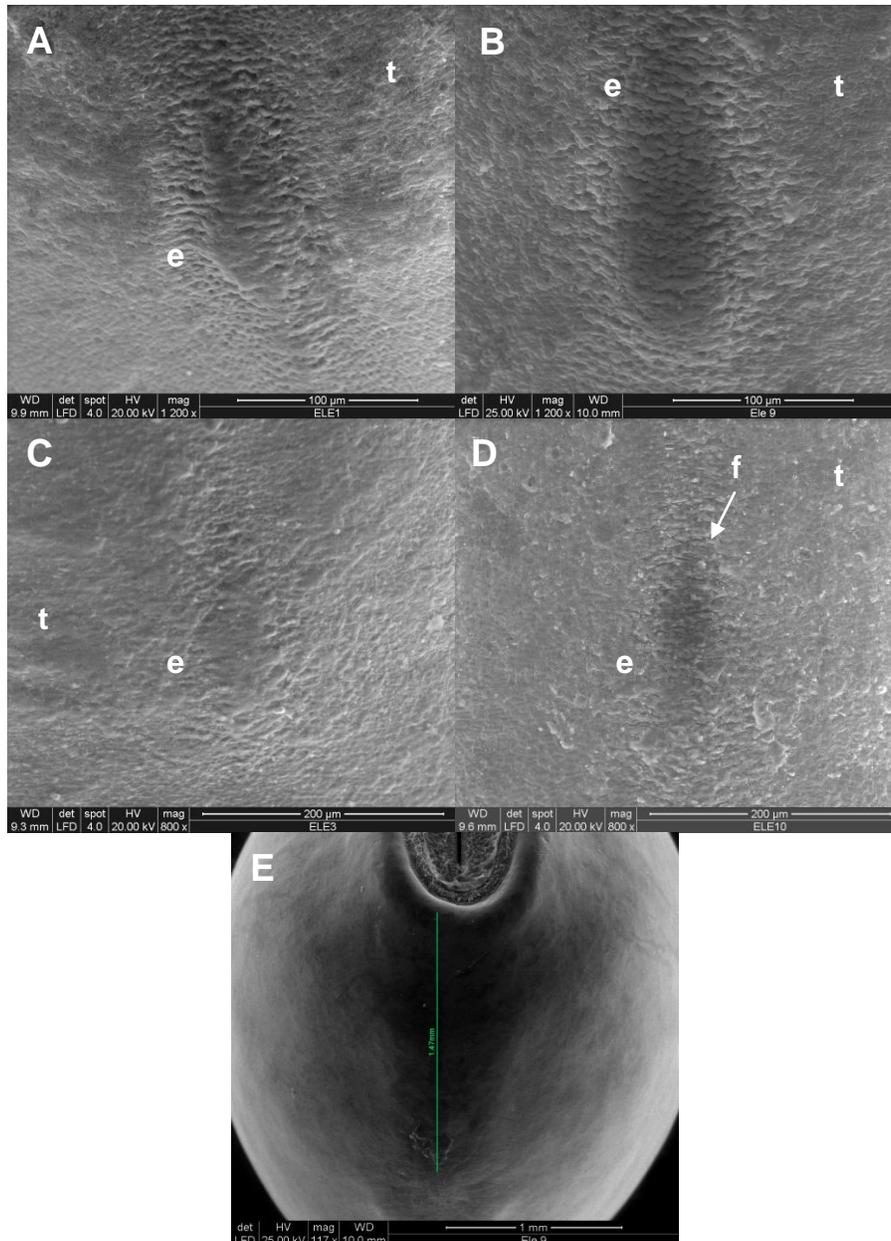


Figura 14. Micrografías electrónicas del hueco de agua en *L. elegans*. A: 2008; B: 2009; C: 2010 (control); D: 2010 (pre-tratamiento) y E: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X}$  = 1.41 mm). e = estrofiolo; t = testa; f = fisura.

### 6.2.1.2 *L. exaltatus*.

En la Figura 15 se muestra al hueco de agua en semillas control de *L. exaltatus*. Se observa el hueco de agua como una protuberancia pronunciada en todos los años. A: 2007; B: 2008; C: 2009; D: 2010 y E: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X}$  = 1.45 mm). En A a D se destaca el estrofiolo (e) por ser una

estructura elevada y de forma elipsoidal; su textura es rugosa a diferencia de la superficie lisa de la testa (t).

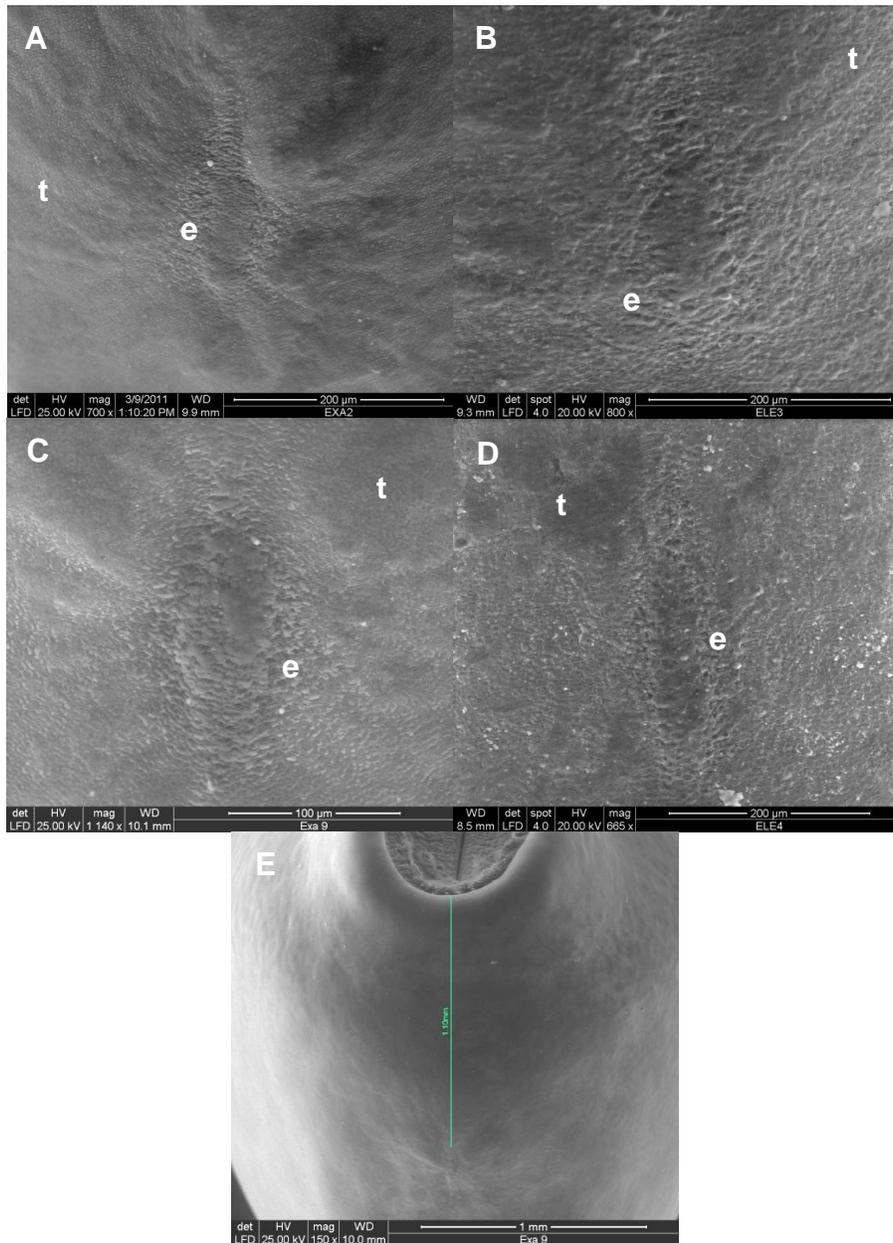
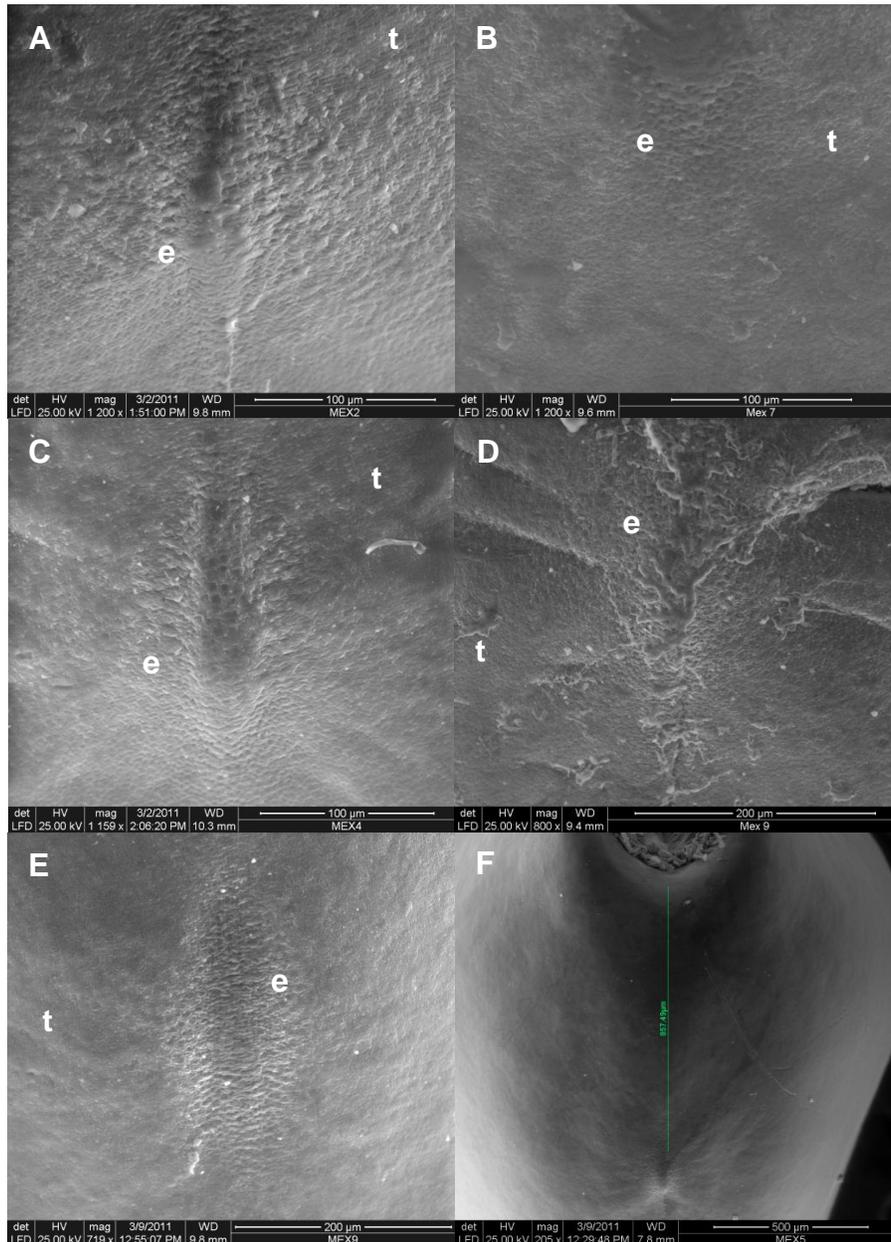


Figura 15: Micrografías electrónicas del hueco de agua en *L. exaltatus*. A: 2007; B: 2008; C: 2009; D: 2010 y E: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\dot{X} = 1.45$  mm). e = estrofiolo; t = testa.

### 6.2.1.3 *L. mexicanus*.

El hueco de agua en *L. mexicanus* correspondiente a los controles se pueden observar en la Figura 16. Se observa el hueco de agua como una

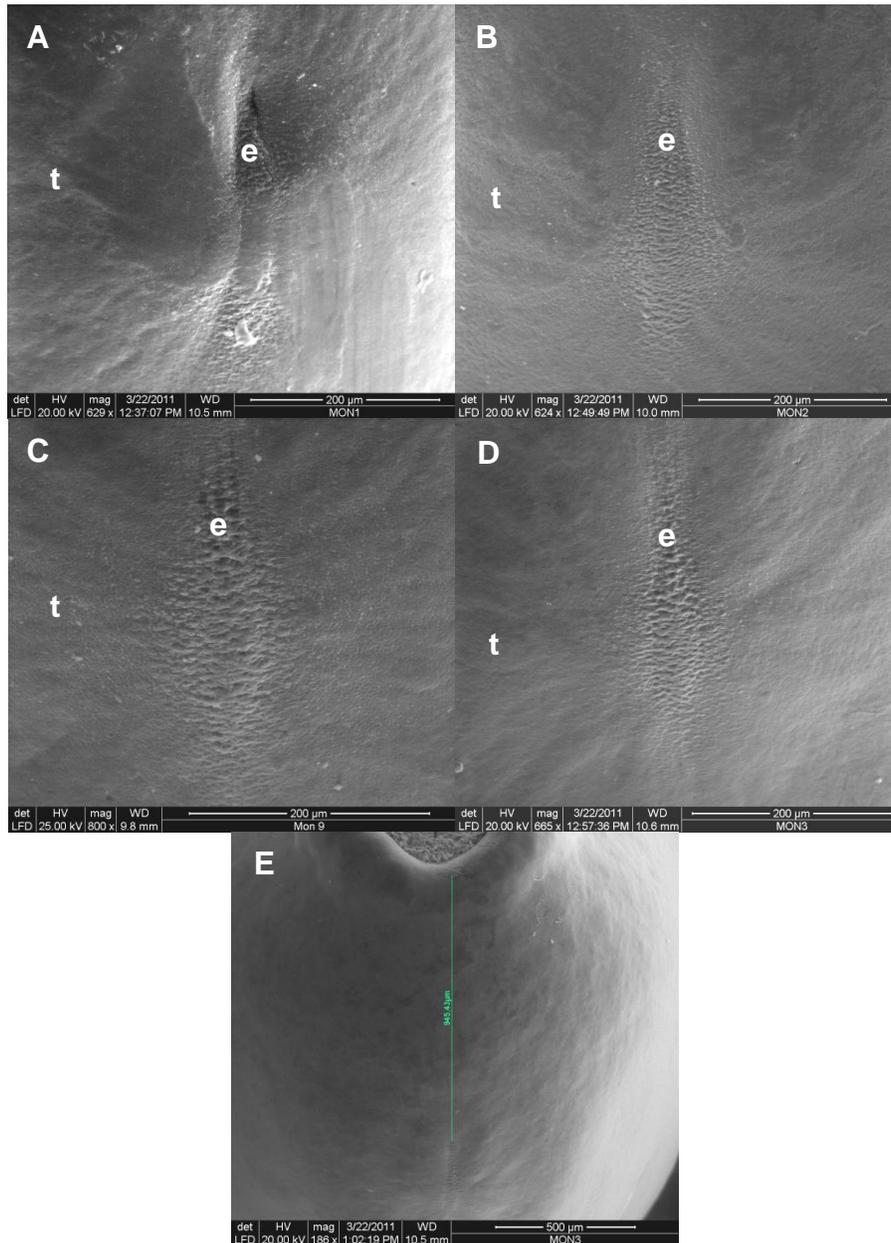
protuberancia en todos los años. A: 2006; B: 2007; C: 2008; D: 2009; E: 2010 y F: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 895.1 \mu\text{m}$ ). En A, C, D y E se destaca el estrofiolo (e) por ser una estructura sobresaliente y de forma elipsoidal; su textura es rugosa a diferencia de la superficie lisa de la testa (t). En B se observan mínimas diferencias en la textura del estrofiolo y la testa.



**Figura 16: Micrografías electrónicas del hueco de agua en *L. mexicanus*. A: 2006; B: 2007; C: 2008; D: 2009; E: 2010 y F: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 895.1 \mu\text{m}$ ). e = estrofiolo; t = testa.**

**6.2.1.4 *L. montanus*.**

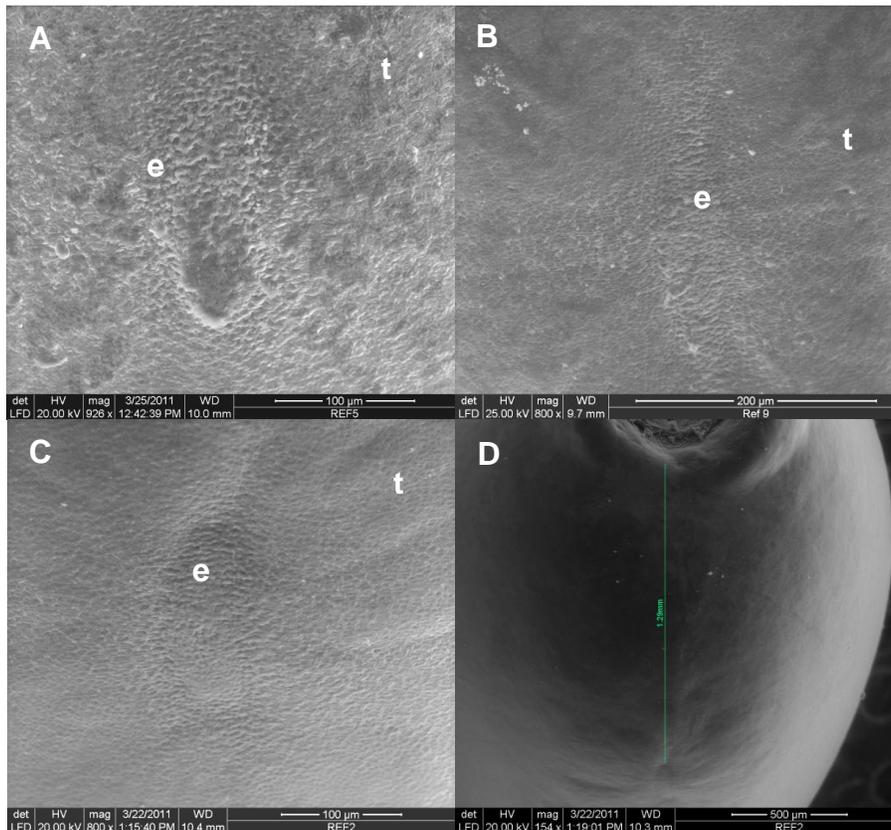
El hueco de agua en *L. mexicanus* correspondiente a los controles se puede observar en la Figura 17. Se observa el hueco de agua (estrofiolo) plano en todos los años. A: 2007; B: 2008; C: 2009; D: 2010 y E: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 977.90 \mu\text{m}$ ). En A se destaca el estrofiolo (e) por ser una estructura de forma elipsoidal y hundida; mientras que en B, C y D se observa plano y en todos los años su textura es rugosa a diferencia de la superficie lisa de la testa (t).



**Figura 17. Micrografías electrónicas del hueco de agua en *L. montanus*. A: 2007; B: 2008; C: 2009; D: 2010 y E: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 977.90 \mu\text{m}$ ). e = estrofiolo; t = testa.**

#### 6.2.1.5 *L. reflexus*.

Para *L. reflexus* se muestran las micrografías en la Fig. 18 correspondientes a los controles. En dichas micrografías se puede observar el hueco de agua como una protuberancia en todos los años. A: 2008; B: 2009; C: 2010 y D: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 1.26 \text{ mm}$ ). En A y B se destaca el estrofiolo (e) por ser una estructura elevada y de forma elipsoidal; mientras que en C se observa plano y en todos los años su textura es rugosa, a diferencia de la superficie lisa de la testa (t).

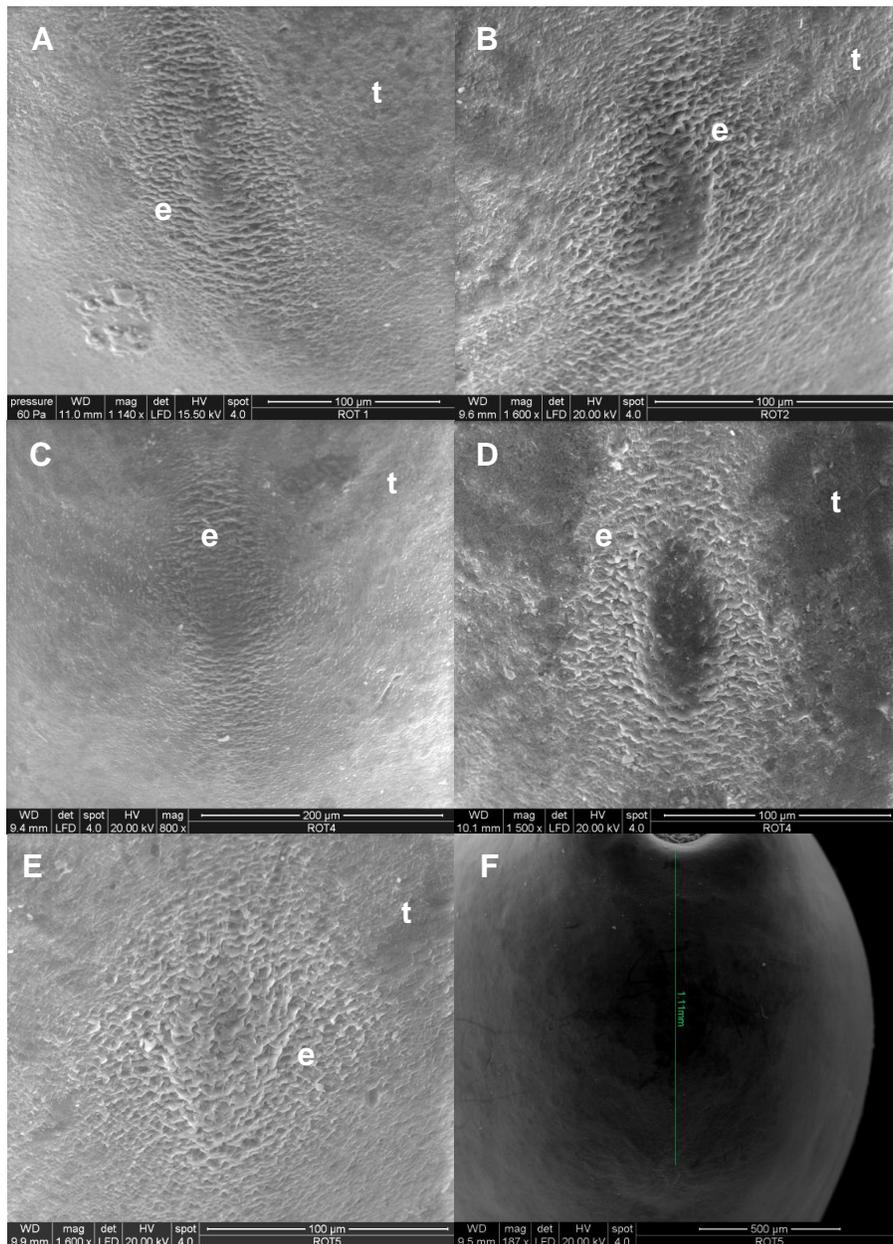


**Figura 18. Micrografías electrónicas del hueco de agua en *L. reflexus*. A: 2008; B: 2009; C: 2010 y D: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 1.26 \text{ mm}$ ). e = estrofiolo; t = testa.**

#### 6.2.1.6 *L. rotundiflorus*.

Para *L. rotundiflorus* se muestran las micrografías en la Fig. 19 correspondientes a los controles. Se observa el hueco de agua como una

protuberancia en todos los años. A: 2006; B: 2007; C: 2008; D: 2009; E: 2010 y F: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 928.56 \mu\text{m}$ ). En A y C se destaca el estrofiolo (e) por ser una estructura plana y de forma elipsoidal; mientras que en B, D y E se observa elevada y en todos los años su textura es rugosa, a diferencia de la superficie lisa de la testa (t).



**Figura 19. Micrografías electrónicas del hueco de agua en *L. rotundiflorus*. A: 2006; B: 2007; C: 2008; D: 2009; E: 2010 y F: distancia entre el hilo y el hueco de agua ( $\bar{X} = 928.56 \mu\text{m}$ ). e = estrofiolo; t = testa.**

## 7. DISCUSIÓN.

El choque de calor provocado por las altas temperaturas tuvo una influencia en el rompimiento de la latencia física que presenta el género *Lupinus* y, por lo tanto, tiene un efecto importante en la germinación de sus semillas. En general, el pre-tratamiento que mayor porcentaje de germinación para las seis especies de *Lupinus* estudiadas fue el de agua hirviendo sin importar el tiempo de exposición. Este resultado es similar al obtenido para *Lupinus varius* por Quinlivan (1968) y Karaguzel *et al.* (2004), así como para *Lupinus lepidus* por Elliott *et al.* (2011). Sin embargo; es contrario al obtenido por Bolin (2009) para *Lupinus perennis*. Para *Lupinus polyphyllus* se encontró casi nula germinación cuando después del pre-tratamiento de agua caliente se pusieron a germinar a 20°C; sin embargo, cuando se pusieron a germinar a 5° – 15/7°C la germinación fue > 60% (Elliot *et al.*, 2011). Lo anterior implica que cada especie de *Lupinus* puede tener distintos requerimientos para romper la latencia y para germinar.

El rompimiento de latencia por el choque de calor en especies de *Lupinus* coincide con resultados obtenidos en otras fabáceas. Por ejemplo, Cushwa *et al.* (1968) encontraron que para dos especies de *Cassia* la temperatura que dio un mayor incremento en el porcentaje de germinación fue 80°C con una exposición de cuatro minutos en agua hirviendo; para trece especies de *Lespedeza* y tres especies de *Desmodium* obtuvieron porcentajes de germinación mayores al 50% con diferentes temperaturas (45, 60, 70 y 80°C) y una especie de *Galactia* presentó su mayor porcentaje de germinación (32%) a los 90°C; Martin *et al.* (1975) reportaron que cinco especies de *Lespedeza*, tres de *Cassia*, tres de *Desmodium* y una de *Galactia* mostraron un incremento significativo en la germinación cuando fueron sometidas a tratamientos de calor húmedo o calor seco comparado con el control; Hanna (1984) encontró 100% de germinación en semillas de *Acacia kempeana* con una exposición de 30 segundos en agua hirviendo (calor húmedo); Herranz *et al.* (1998) encontraron para dos especies de

*Cytisus* un incremento en el porcentaje de germinación al ser sumergidas en agua hirviendo comparado con el control y escarificación mecánica; Hu *et al.* (2008) encontraron que para *Sophora alopecuroides* el mejor tratamiento (84%) fue de 80°C por 10 minutos. Finalmente, Burrows *et al.* (2009) reportaron para *Acacia melanoxylon* un incremento en el porcentaje de germinación (>50%) cuando fueron expuestas a agua hirviendo por 5 minutos o menos, en comparación con el control que presentó germinación máxima de 10%.

Los tratamientos de arena húmeda y arena seca mostraron bajos porcentajes de germinación en *L. elegans* (<40% en AH y <20% en AS), *L. mexicanus* (<20% en ambas), *L. montanus* (<10% en ambas) y *L. reflexus* (<30% para ambas), mientras que en *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* se observaron altos porcentajes: >70% en AH y >50% en AH60, AS60 y AS90, respectivamente. Lo anterior significa que la respuesta de las especies no está relacionada con su filogenia, sino que responden a estímulos del ambiente en el que viven, similar a lo encontrado por Elliot *et al.* (2011) para tres especies de *Lupinus* de Washington, USA.

El calor seco no fue tan eficiente en este estudio para la promoción de la germinación y el rompimiento de latencia, contrario a lo obtenido en especies de los géneros *Lespedeza*, *Cassia*, *Desmodium* y *Galactia* (Cushwa *et al.*, 1968; Martin *et al.*, 1975), así como para *Acacia schaffneri* (Pérez-Sánchez *et al.*, 2011) y *Lupinus exaltatus* (Zuloaga-Aguilar *et al.*, 2010, 2011). Para esta última especie, mientras el choque de calor seco promueve la alta germinación (90 %), la combinación de choque de calor, ceniza y humo ocasiona disminución de la germinación (70 %) (Zuloaga-Aguilar *et al.*, 2011).

Las temperaturas mayores a 100°C afectaron negativamente la germinación de las semillas de *Lupinus*, debido probablemente a daños en el embrión, similar a lo reportado por Keeley *et al.* (1985) para *Marah macrocarpus*, *Paeonia californica*,

*Stipa coronata* y *Zigadenus fremontii*; así como por Cruz *et al.* (2003) para *Erica australis* a 150°C. Para algunas especies de la familia Fabaceae se ha encontrado daño a la germinación incluso con temperaturas > 90°C; *i.e.* Martin *et al.* (1975) encontraron que las temperaturas mayores a 90°C son letales para las semillas de los géneros *Lespedeza*, *Cassia*, *Desmodium* y *Galactia*.

El tiempo de almacenamiento, se encontró que las semillas almacenadas por distintos años germinaron mejor que las semillas recientes en tres especies (*L. elegans*, *L. exaltatus* y *L. reflexus*), por lo que se puede decir que pierdan latencia con el paso del tiempo. En las tres especies restantes (*L. mexicanus*, *L. montanus* y *L. rotundiflorus*) las semillas recientes germinaron mejor con los pre-tratamientos que en el control, lo que significa que la latencia de las semillas recientes puede ser rota el mismo año en que se producen, con la condición de que sufran choques de calor. Solamente se conoce un antecedente sobre germinación de semillas almacenadas de *Lupinus* spp., el cual es muy interesante ya que se encontró germinación de semillas de *Lupinus arcticus* con una antigüedad de 10,000 años, las cuales germinaron en laboratorio convirtiéndose en plantas normales y saludables (Porsild *et al.*, 1967). También se tenía idea de que podrían formar bancos de semillas, ya que el 25 % de las semillas de *L. arboreus* permanecieron latentes en pastizales y el 16 % en dunas, después de 20 meses de estar enterradas (Maron y Simms, 1997).

Se conocen ejemplares de semillas de algunas fabáceas que han sobrevivido y germinado a cientos de años de almacenamiento, *i.e.* *Medicago (hispida) polymorpha* (200 años), *Melilotus indicus* (183 años), *M. indicus* (146 años) y *Trifolium sp.* (193 años) (Spira y Wagner, 1983), así como *Acacia farnesiana* y *A. melanoxylon* (Leino y Edqvist, 2010). Por lo tanto, podría pensarse que todas las fabáceas tienen un comportamiento similar; sin embargo, se ha evaluado experimentalmente el efecto del almacenamiento de las semillas en la germinación, con resultados contrastantes. Por ejemplo, Cervantes *et al.* (1996)

evaluaron tres especies de *Acacia* con diferentes tratamientos de choque de calor (agua hirviendo: 1, 3, 5 y 10 minutos y escarificación manual) a diferentes tiempos de almacenamiento (3 meses, 1, 2, 3, 4 y 5 años) obteniendo como mejor tratamiento la escarificación mecánica a distintas edades de semilla, dependiendo de la especie: *A. cochliachantha* (94.44% a 3 años), *A. farnesiana* (98.89% a 1 año) y *A. pennatula* (79.99% a 3 meses). Grüner y Heenan (2001) obtuvieron alta germinación (91-97%) en once especies de *Carmichaelia* de entre 4-23 años de almacenamiento. Norton *et al.* (2002) encontraron que semillas de *Sophora chrysophylla* almacenadas por 32-40 años germinaron 84%; Pérez-García *et al.* (2008) realizaron dos tratamientos (escarificación mecánica e inmersión en agua hirviendo) para *Chamaecytisus proliferus* y *Ononis crispa*, ambas con 32 años de almacenamiento, obteniendo mayor germinación en escarificación mecánica (100% y 98%, respectivamente); Van Assche y Vandeloos (2010) reportaron baja germinación ( $\leq 5\%$ ) para semillas con tres meses de almacenamiento en comparación con semillas frescas de 13 especies (*Lathyrus aphaca*, *L. nissolia*, *L. pratensis*, *Medicago arabica*, *M. lupulina*, *M. sativa*, *Melilotus albus*, *Trifolium arvanse*, *T. dubium*, *T. pratense*, *T. repens*, *Vicia cracca* y *V. hirsuta*), mientras que las semillas de *Vicia sativa* obtuvieron un porcentaje de germinación de 87.8% en semillas de un año de edad, 58.3% con seis meses, 19.0% con tres meses y 0% en semillas recientes.

Con respecto al hueco de agua, las semillas de las seis especies de *Lupinus* lo presentan en todos los tiempos de almacenamiento. Con excepción de *L. montanus* que presenta un estrofiolo "plano", en las demás especies se muestra una protuberancia, lo cual es similar a lo reportado por Castillo y Guenni (2001) para *Stylosanthes hamata* (Fabaceae) y por Burrows *et al.* (2009) para *Acacia melanoxydon* (Fabaceae), encontrando al hueco de agua (estrofiolo ó "lens") como una protuberancia elíptica y rugosa; la cual se diferencia del resto de la testa, que es lisa. Se ha sugerido que dicha estructura es la encargada del rompimiento de la latencia en las leguminosas; la cual es conocida como "lens", rafe o estrofiolo y es

la encargado de la entrada de agua cuando ésta se rompe (Burns, 1959; Egley, 1979; Dell, 1980; Hanna, 1984; Manning y Van Staden, 1987; Kelly *et al.*, 1992; Hopkinson, 1993; Morrinson *et al.*, 1992, 1998; Hu *et al.*, 2008). En este estudio se encontró una notoria relación entre la apertura del hueco de agua y el rompimiento de latencia física en *L. elegans*. Se requieren estudios más a fondo en las semillas de las otras cinco especies, como realizar cortes histológicos transversales del estrofiolo, con el fin de corroborar el cambio en la estructura por efecto del calor húmedo. El resultado para *L. elegans* es similar a lo reportado para especies de 12 de las 15 familias con este tipo de latencia (Baskin *et al.*, 2000, 2006; Jayasuriya *et al.*, 2007a, 2008). Sin embargo; no se detecto relación directa entre la apertura del hueco de agua (estrofiolo) y la edad de las semillas.

## 8. CONCLUSIONES.

El pre-tratamiento en el que se obtuvieron los mayores porcentajes de germinación en todas las especies de *Lupinus* fue agua hirviendo, independientemente del tiempo de exposición se rompe fácilmente la latencia física. Este tratamiento simula las condiciones a las cuales las semillas son expuestas en condiciones de campo, con incendios en épocas de lluvias.

En los tratamientos de arena húmeda y arena seca se mostraron porcentajes de germinación bajos en cuatro de las seis especies analizadas, esto puede deberse a las condiciones ambientales en las cuales se encuentra cada especie debido posiblemente al suelo en el cual crecen y se desarrollan.

Las temperaturas de 120 y 150°C reducen la germinación de las semillas de *L. elegans* y *L. rotundiflorus*.

Las semillas “viejas” o con mayor tiempo de almacenamiento pierden la latencia más fácilmente que las semillas “nuevas” o recientes en *L. elegans*, *L. exaltatus* y *L. reflexus*. Lo contrario se encontró para *L. mexicanus*, *L. montanus* y *L. rotundiflorus*, las cuales mostraron mayor germinación en semillas recientes.

En las especies de *Lupinus* estudiadas la estructura encargada de la entrada del agua hacia la semilla y su posterior germinación es el estrofiolo, el cual está reportado en diferentes géneros de leguminosas.

Se encontró una relación entre la apertura del hueco de agua y el rompimiento de latencia física en *L. elegans*, pero se necesitan estudios más a fondo sobre el efecto del calor húmedo en la estructura del estrofiolo, con el fin de corroborar la relación entre su apertura y el rompimiento de latencia en las demás especies estudiadas. No se encontró relación directa entre la apertura del estrofiolo y la edad de las semillas pero se necesitan estudios más a fondo.

## 9. PERSPECTIVAS.

Los resultados de este estudio indican que la latencia física del género *Lupinus* puede ser rota por medio de choques térmicos combinados con humedad y que efectivamente puede estar regulada por el hueco de agua. Con este trabajo se propone una forma de germinación que simula un proceso natural (altas temperaturas ocasionadas por incendios) y que además es más rápida y amigable con el ambiente, puesto que en diversos estudios rompen la latencia de semillas de estas especies con ácido sulfúrico, siendo este un problema para su confinación final.

Conocer la mejor manera de romper la latencia de semillas de las especies del género *Lupinus* puede ser de gran utilidad para la restauración de ambientes degradados, ya que se podrán realizar plantaciones, las cuales harán aporte de nitrógeno al suelo y así irán regenerando estos sitios.

Estos resultados además de hacer un nuevo aporte para el conocimiento ecológico del género, dan pie a realizar más investigación, por ejemplo: utilizar otros tratamientos térmicos o productos de incendios (humo o ceniza); realizar cortes histológicos a las semillas para evaluar cambios anatómicos del hueco de agua (estrofíolo) con los pre-tratamientos, ya que por medio de SEM no es muy factible; hacer estudios sobre las proteínas que contienen las semillas que se encuentran relacionadas con los choques de calor como las proteínas de choque de calor (HSP, del inglés “Heat Shock Proteins”) las cuales podrían estar relacionadas directamente con el hueco de agua; entre otros, los cuales nos ayudarían a poder dilucidar mejor sobre la ecología de semillas de este género.

## 10. BIBLIOGRAFÍA.

- Acosta-Percástegui, J., Rodríguez-Trejo, D. A. (2005). Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia*, 30 (9): 576-579.
- Aldrete-Chávez, A., Rodríguez-Trejo, D. A., Espinosa-Hernández, V., Ojeda-Trejo, E., De la Cruz-Landero, N. (2010). Effects of different scarification treatments on the germination of *Lupinus leptophyllus* seeds. *International Journal of Botany*, 6 (1): 64-68.
- Alvarado-Sosa, P., Blanco-García, A. Lingig-Cisneros, R. (2007). Test of alternative propagation conditions for *Lupinus elegans* Kunth plants, and effects on field survival. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30 (2): 201-204.
- Anónimo. (1982). "Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulico". Diario Oficial 373 (25): 67-68.
- Auld, T. D. (1986). Population dynamics of the shrub *Acacia suaveolens* (Sm.) Willd: fire and the transition to seedlings. *Australian Journal of Ecology*, 11: 373-385.
- Auld, T. D. (1987). Population dynamics of the shrub *Acacia suaveolens* (Sm.) Willd: Survivorship throughout the life cycle: a synthesis. *Australian Journal of Ecology*, 12: 139-151.
- Ballard, L. A. T. (1973). Physical barriers to germination. *Seed Science and Technology*, 1: 285-303.
- Ballard, L. A. T., Nelson, S. O., Buchwald, T., Stetson, L. E. (1976). Effects of radiofrequency electric fields on permeability to water of some legume seeds, with special reference to strophilar conduction. *Seed Science and Technology*, 4: 257-274.
- Bañuelos, P. J., Jiménez, V. S. (2006). La importancia y el estado actual del género *Lupinus*. En: Lupinos del occidente de México: estudios biológicos, bioquímico y toxicológico. Bañuelos, P. J., Ruiz, L. M. A., Soltero, Q. R., Castañeda, V. H. (editores). *Universidad de Guadalajara*.

- Baskin, C. C. (2003). Breaking physical dormancy in seeds- focusing on the lens. *New Phytologist* 158, 227-238.
- Baskin, C. C., Baskin, J. M. (1998). *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*. San Diego: Academic Press.
- Baskin, J. M. Baskin, C. C. (2000). Evolutionary considerations of claims of physical dormancy-break by microbial action and abrasion by soil particles. *Seed Science Research*, 10: 409–413.
- Baskin, C. C., Baskin, J. M. (2004) A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research*, 14: 1-16.
- Baskin, C. C., Baskin, J. M. (2008). Advances in Understanding Seed dormancy at the whole-seed level: an ecological, biogeographical and phylogenetic perspective. *Acta Botanica Yunnanica*, 30 (3): 279-294.
- Baskin, J. M., Baskin, C. C., Dixon, K. W. (2006). Physical dormancy in the endemic Australian genus *Stylobasium*, a first report for the family Surianaceae (Fabales). *Seed Science Research*, 16: 229-232.
- Baskin, J. M., Baskin, C. C., Li, X. (2000). Taxonomy anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biology*, 15: 139-152.
- Bell, D. T. (1999). Turner review, 1. The process of germination in Australian species. *Australian Journal of Botany*, 47: 475-517.
- Bell, D. T., Plummer, J. A., Taylor, S. K. (1993). Seed germination ecology in southwestern Western Australia. *Botany Review*, 59: 24-69.
- Bell, D. T., Williams, D. S. (1998). Tolerance of thermal shock in seeds. *Australian Journal of Botany*, 46: 221-233.
- Bewley, J. D., Black, M. (1994). *Physiology and Development and Germination*. Plenum Press, New York.
- Black, M., Bewley, J. D., Halmer, P. (2006). *The Encyclopedia of Seeds: Science, Technology and Uses*. CABI, London.
- Bolin, J. F. (2009). Heat shock germination responses of three Eastern North American temperate species. *Castanea*, 74 (2): 160-167.
- Burns, R. E. (1959). Effect of acid scarification on lupine seed impermeability. *Plant*

- Physiology*, 34 (2): 107–108.
- Burrows, G. E., Virgona, J. M., Heady, R. D. (2009). Effect of boiling water, seed coat structure and provenance on the germination of *Acacia melanoxylon* seeds. *Australian Journal of Botany*, 57: 139-147.
- Calderón de Rzedowski, G., Rzedowski, J. (2001). 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.
- Carrington, M. E. (2010). Effects of soil temperature during fire on seed survival in Florida sand pine scrub. *International Journal of Forestry Research*, Vol. 2010, 1-10.
- Castillo, R., Guenni, O. (2001). Latencia en semillas de *Stylosanthes hamata* (Leguminosae) y su relación con la morfología de la cubierta seminal. *Revista de Biología Tropical*, 49 (1): 287-299.
- Castañeda, V. H. (2006). Fijación biológica del nitrógeno por los lupinos. Las Bacterias del género *Rhizobium*. En: Lupinos del occidente de México: estudios biológicos, bioquímico y toxicológico. Bañuelos, P. J., Ruiz, L. M. A., Soltero, Q. R., Castañeda, V. H. *Universidad de Guadalajara*. pp. 61-74.
- Cervantes, V., Carabias, J., Vázquez-Yanes, C. (1996). Seed germination of woody legumes from deciduous tropical forest of southern Mexico. *Forest Ecology and Management*, 82: 171-184.
- Clemens, J., Jones, P. G., Gilbert, N. H. (1977). Effect of seed treatments on germination in *Acacia*. *Australian Journal of Botany*, 25: 269-276.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) (2011). Ficha descriptiva del Área Natural Protegida: Parque Nacional Volcán del Nevado de Colima. [http://simec.conanp.gob.mx/Info\\_completa\\_ext.php?id\\_direccion=70](http://simec.conanp.gob.mx/Info_completa_ext.php?id_direccion=70)
- Cruz, A., Pérez, B., Velasco, A., Moreno, J. M. (2003). Variability in seed germination at the interpopulation, intrapopulation and intraindividual levels of the shrub *Erica australis* in response to fire-related cues. *Plant Ecology*, 169 (1): 93-103.

- Cushwa, C. T., Martin, R. E., Miller, R. L. (1968). The effects of fire on seed germination. *Journal of Range Management*, 21(4): 250-254.
- Daws, M.I., Kabadajic, A., Manger, K., Kranner, I. (2007). Extreme thermo-tolerance in seed of desert succulents is related to maximum annual temperature. *South African Journal of Botany*, 73: 262-265.
- Dehgan, B., Norcini, J. G., Kabat, S. M., Pérez, H. E. (2003). Effect of seed scarification and Gibberellic Acid treatment on seedling emergence of Sky-Blue Lupine (*Lupinus diffuses*). *Journal of Environmental Horticulture*, 21 (2): 64-67.
- Dell, B. (1980). Structure and function of the strophiolar plug in seeds of *Albizia lophantha*. *American Journal of Botany*, 67: 556-563.
- De Souza, F. D., Marcos-Fillo, J. (2001). The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. *Revista Brasileira de Botanica*, 24: 365-375.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). (1982). Decreto que declara zona de protección forestal y faúnica, la región conocida como "Sierra de Quila".
- Egley, G. H. (1976). Germination of developing prickly sida seeds. *Weed Science*, 24: 239–243.
- Egley, G. H. (1979). Seed coat impermeability and germination of Showy *Crotalaria* (*Crotalaria spectabilis*) seeds. *Weed Science*, 27: 355-361.
- Ellis, R.H., Hong, T. D., Roberts, E. H. (1987). The development of desiccation tolerance and maximum seed quality during seed maturation in 6 grain legumes. *Annals of Botany*, 59: 23–29.
- Elliott, C. W., Fischer, D. G., LeRoy, C. J. (2011). Germination of three native *Lupinus* species in response to temperature. *Northwest Science*, 85(2):403-410.
- Espinosa G., F. J., Sarukhán, J. (1997). Manual de malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- Fenner, M., Thompson, K. (2005). *The Ecology of Seed*. Cambridge, Cambridge

University Press.

- Gama-Arachchigüe, N. S., Baskin, J. M., Geneve, R. L., Baskin, C. C. (2010). Identification and characterization of the water gap in physically dormant seeds of Geraniaceae, with special reference to *Geranium carolinianum*. *Annals of Botany*, 105: 977–990.
- Gama-Arachchigüe, N. S., Baskin, J. M., Geneve, R. L., Baskin, C. C. (2011). Acquisition of physical dormancy and ontogeny of the micropyle-water-gap complex in developing seeds of *Geranium carolinianum* (Geraniaceae). *Annals of Botany*, 108(1): 51-64.
- García-Sánchez, R., Monroy-Ata, A. (2010). Micrositios del pasto navajita (*Bouteloua gracilis*) en comunidades de pastizal y de matorral del altiplano mexicano. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas*, 8(2): 61-70.
- Gashaw, M., Michelsen, A. (2002). Influence of heat shock on seed germination of plants from regularly burnt savanna woodlands and grasslands in Ethiopia. *Plant Ecology*, 159: 83-93.
- Guerrero, J. J. (1994). Contribución al conocimiento de la vegetación y flora de la Sierra de Quila, Jalisco, México. Tesis de Licenciatura. División de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
- Guerrero-Núñez, J. J., López-Coronado, G. A. (1997). La vegetación y la flora de la Sierra de Quila. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, 134 pp.
- Grüner, I., Heenan, P. B. (2001). Viability and germination of seeds of *Carmichaelia* (Fabaceae) after prolonged storage. *New Zealand Journal of Botany*, 39:1, 125-131.
- González-Rabanal, F., Casal, M. (1995). Effect of high temperatures and ash on germination of ten species from gorse shrubland. *Vegetation*, 116: 123-131.
- Hagon, M. W., Ballard, L. A. T. (1970). Reversibility of stropholar permeability to water in seeds of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). *Australian Journal of Biological Science*, 23: 519-528.

- Hanna, P. J. (1984). Anatomical features of the seed coat of *Acacia kempeana* (Muller) which relate to incremented germination rate induced by heat treatment. *New Phytologist*, 96: 23-29.
- Hernández, F. E., Rivera, M. R. K., Ramos, H. O. J., Salinas, P. F. C., Rodríguez, M. M., Bermúdez, T. K. (2008). Effect of Scarification Treatments on Germination of *Lupinus montanus* HBK Seeds. In: Palta, J. A., Berger, J. B. (eds). 2008. 'Lupinus for Health and Wealth' Proceedings of the 12th International Lupin Conference, 14- 18 Sept. Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, New Zealand.
- Herranz, J. M., Ferrandis, P., Martínez-Sánchez, J. J. (1998). Influence of heat on seed germination of seven Mediterranean *Leguminosae* species. *Plant Ecology*, 136: 95-103.
- Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A., Seberg, O. (2007). Flowering plant families of the world. Firefly Book, U. A. E.
- Hopkinson, J. M. (1993). The strophiole of legume seeds. *International Herbage Seed Production Research Group Newsletter*, 18: 7-8.
- Hu, X. W., Wang, Y. P., Nan, Z. B., Baskin, C. C. (2008). Role of the lens in physical dormancy in seeds of *Sophora alopecuroides* L. (Fabaceae) from north-west China. *Australian Journal of Agricultural Research*, 59: 491-497.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED) (2010). Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México, <http://www.e-local.gob.mx/>
- Jayasuriya, K. M. G. G., Baskin, J. M., Geneve, R. L., Baskin, C. C. (2007a). Morphology and anatomy of physical dormancy in *Ipomoea lacunosa*: identification of the water gap in seeds of Convolvulaceae (Solanales). *Annals of Botany*, 100: 13-22.
- Jayasuriya, K. M. G. G., Baskin, J. M., Geneve, R. L., Baskin, C. C. (2007b). Seed development in *Ipomoea lacunosa* (Convolvulaceae), with particular reference to anatomy of the water gap. *Annals of Botany*, 100: 459-470.
- Jayasuriya, K. M. G. G., Baskin, J. M., Geneve, R. L., Baskin, C. C., Chien, C. T.

- (2008). Physical dormancy in seeds of the holoparasitic angiosperm *Cuscuta australis* (Convolvulaceae, Cuscutaceae): dormancy-breaking requirements, anatomy of the water gap and sensitivity cycling. *Annals of Botany*, 102 (1): 39-48.
- Jayasuriya, K. M. G. G., Baskin, J. M., Geneve, R. L., Baskin, C. C. (2009a). A proposed mechanism for physical dormancy break in seeds of *Ipomoea lacunosa* (Convolvulaceae). *Annals of Botany*, 103: 433–445.
- Jayasuriya, K. M. G. G., Baskin, J. M., Geneve, R. L., Baskin, C. C. (2009b). Phylogeny of seed dormancy in Convolvulaceae, subfamily Convolvuloideae (Solanales). *Annals of Botany*, 103: 45-63.
- Jones, R. M. (1963). Preliminary studies of the germination of seed of *Acacia cyclops* and *Acacia cynbophylla*. *South African Journal of Science*, 59: 296-298.
- Jurado, E., Flores, J. (2005). Is seed dormancy under environmental control or bound to plant traits? *Journal of Vegetation Science*, 16: 559–564.
- Jurado, E., Moles, A.T. (2003). Germination deferment strategies, pp. 381–388. In: Nicolás, G., Bradford, K. J., Côme, D., Curie, M., Pritchard, H.W. (eds). *The Biology of Seeds: Recent Research Advances*. CABI Publishing, Wallingford.
- 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.
- Keeley, J. E., y Fotheringham, C. J. (1998). Smoke-induced seed germination in California chaparral. *Ecology*, 79(7): 2320-2336.
- Keeley, J. E., Morton, B. A., Pedrosa, A., Trotter, P. (1985). Role of allelopathy, heat and charred wood in the germination of chaparral herbs and suffrutescents. *Journal of Ecology*, 73(2): 445-458.
- Kelly, K. M., Van Standen, J., Bell, W. E. (1992). Seed coat structure and dormancy. *Plant Growth Regulation*, 11: 201-209.
- Kenny, B. J. (2000). Influence of multiple fire-related germination cues on three

- Sydney *Grevillea* (Proteaceae) species. *Austral Ecology*, 25: 664-669.
- Le Fer, D. y Parker, V. T. (2005). The effect of seasonality of burn on seed germination in chaparral: the role of soil moisture. *Madroño* 52(3): 166-174.
- Leino, M. W., Edqvist, J. (2010). Germination of 151-year old *Acacia* spp. seeds. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 57: 741-746.
- Li, X., Baskin, J. M., Baskin, C. C. (1999a). Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two North American *Rhus* species (Anacardiaceae). *American Journal of Botany*, 86 (11): 1505-1511.
- Li, X. J., Baskin, J. M., Baskin, C. C. (1999b). Comparative morphology and physiology of fruit and seed development in the two shrubs *Rhus aromatic* and *R. glabra* (Anacardiaceae). *American Journal of Botany*, 86: 1217–1225.
- Macunguzi, P., Oryem-Origa, H. (1996). Effects of heat and fire on the germination of *Acacia sieberiana* D. C. and *Acacia gerrardii* Benth. in Uganda. *Journal of Tropical Ecology*, 12: 1-10.
- Mai-Hong, T., Hong, T. D., Hien, N. T., Ellis, R. H. (2003). Onset of germinability, desiccation tolerance and hardseededness in developing seeds of *Peltophorum pterocarpum* (DC) K. Heyne (Caesalpinioideae). *Seed Science Research*, 13: 323–327.
- Manning, J. C., Van Standen, J. (1987). The role of the lens in seed imbibitions and seedling vigor of *Sesbania punicea* (Cav.) Benth. (Leguminosae: Papilionoidae). *Annals of Botany*, 59: 705-713.
- Maron, J. L., Simms, E. L. (1997). Effect of seed predation on seed bank size and seedling recruitment of bush lupine (*Lupinus arboreus*). *Oecologia*, 111: 76-83
- Martin, R. E., Miller, R. L., Cushwa, C. T. (1975). Germination response of legume seeds subjected to moist and dry heat. *Ecology*, 56: 1441-1445.
- Martínez, J. M., Rodríguez-Trejo, D. A., Guizar-Nolazco, E., Bonilla-Beas, R. (2008). Escarificación artificial de la semilla de *Lupinus bilineatus* Benth.

- Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 14 (2): 79-79.
- McVaugh, R. (1987). *Flora Novo-Galiciana; A descriptive account of the vascular plants of western Mexico*, volumen 5 Leguminosae. *The University of Michigan*, 580-599.
- Morrison, D. A., Auld, T. D., Rish, S., Porter, C., McClay, K. (1992). Patterns of testa imposed seed dormancy in native Australian legumes. *Annals of Botany*, 70: 157-163.
- Morrison, D. A., McClay, K., Porter, C., Rish, S. (1998). The role of the lens in controlling heat-induced breakdown of testa-imposed dormancy in native Australian legumes. *Annals of Botany*, 82: 35-40.
- Murdoch, A. J., Ellis, R. H. (1992). Longevity, Viability and Dormancy. En: Fenner, M. (Ed) *Seed. The Ecology of Regeneration in Plant Communities*, CAB International, pp 193-229.
- Norton, D. A., Godley, E. J., Heenan, P. B., Ladley, J. J. (2002). Germination of *Sophora* seeds after prolonged storage. *New Zealand Journal of Botany*, Vol. 40: 389-396.
- Pérez-García, F., González-Benito, M. E. Gómez-Campos, C. (2008). Germination of fourteen endemic species from the Iberian península, Canary and Balearic Islands after 32-34 years of storage at low temperatura and very low water content. *Seed Science and Technology*, 36: 407-422.
- Pérez-Sánchez, R. M., Jurado, E., Chapa-Vargas, L., Flores, J. (2011). Seed germination of Southern Chihuahuan Desert plants in response to elevated temperatures. *Journal of Arid Environments*, 75: 978-980.
- Porsild, A. E., Harington, C. R., Mulligan, G. A. (1967). *Lupinus arcticus* Wats. Grown from Seeds of Pleistocene Age. *Science*, Vol. 158 no. 3797 pp. 113-114
- Priestley, D. (1986). *Seed again. Implications for seed storage and persistence in the soil.* Comstock Publishing Associates, London.
- Quinlivan, B. J. (1968). The softening of hard seeds of sand-plain Lupin (*Lupinus varius* L.). *Australian Journal of Agricultural Research*, 19: 507-515.

- Qu, X. X., Baskin, J. M., Baskin, C. C. (2010). Whole-seed development in *Sicyos angulatus* (Cucurbitaceae, Sicyeae) and a comparison with the development of water-impermeable seeds in five other families. *Plant Species Biology*, 25: 185–192.
- Ruiz, L. M., Sotelo, A. (2001). Chemical composition, nutritive value, and toxicology evaluation of Mexican wild lupins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5336-5339.
- Ruiz Moreno, J. J.; Ruiz Lopez, M. M.; Zamora Natera, J. F. (2000). The genus *Lupinus*: taxonomy and distribution in Jalisco, Mexico. En: E. van Santen, M. Wink and P. Roemer (eds). Proceedings of the 9th International Lupin Conference. Klink/Müriz, Alemania, 24-24 june, 1999. pp. 297-300.
- Ruiz, M. J. J., Zamora, N. J. F. (2006). Distribución de algunos lupinos silvestre en la zona occidente de México. En: Bañuelos, P. J., Ruiz, L. M. A., Soltero, Q. R., Castañeda, V. H. Lupinos del occidente de México: estudios biológicos, bioquímico y toxicológico. *Universidad de Guadalajara*. pp. 33-52
- Ruiz, R. J. C., Gómez, R. M., Lindig, C. R. (2009). Desempeño de *Lupinus elegans* y *Senna hirsuta*, bajo condiciones de restauración ecológica. *Biológicas*, 11: 9-15.
- Rzedowski, J. Calderón, R. G. (1979). Flora fanerogámica del valle de México. Vol. I. Ed. CECSA, México, 326-228.
- Sousa, M., Delgado, A. (1993). Mexican Leguminosae: Phytogeography, endemism and origins. En: Ramammorthy, T. P., Bye, R., Lot, A., Fa, J. (eds.). Biological diversity of Mexico: origins and distribution. Oxford University Press, N.Y., Oxford. pp. 459-511.
- Spira, T. P., Wagner, L. K. (1983). Viability of seeds up to 211 years old extracted from adobe brick buildings of California and Northern Mexico. *American Journal of Botany*, 70(2): 303-307.
- Turner, S. R., Cook, A., Baskin, J. M. (2009). Identification and characterization of the water gap in the physically dormant seeds of *Dodonaea petiolaris*: a first report for Sapindaceae. *Annals of Botany*, 104: 833-844.

- Valbuena, L., Vera, M. L. (2002). The effects of thermal scarification and seed storage on germination of heathland species. *Plant Ecology* 161: 137-144.
- Van Assche, J. A., Vandeloos, F. E. A. (2010). Combinational dormancy in Winter annual Fabaceae. *Seed Science Research*, 20: 237-242.
- Washitani, I. (1988). Effects of high temperatures on the permeability and germinability of the hard seeds of *Rhus javanica* L. *Annals of Botany*, 62: 13-16.
- Williams, P. R., Congdon, R. A., Grice, A. C., Clarke, P. J. (2003). Fire-related cues break seed dormancy of six legumes of tropical eucalypt savannas in north-eastern Australia. *Austral Ecology*, 28: 507-514.
- Yogeesha, H. S., Shivananda, T. N., Bhanuprakash, K. (2005). Effect of seed maturity, seed moisture and various pre-treatments on seed germination of annatto (*Bixa orellana* L.). *Seed Science and Technology*, 33: 97–104.
- Zuloaga-Aguilar, S., Briones, O., Orozco-Segovia, A. (2010). Effect of heat shock on germination of 23 plant species in pine-oak and montane cloud forests in western Mexico. *International Journal of Wildland Fire*, 19: 759-773.
- Zuloaga-Aguilar, S., Briones, O., Orozco-Segovia, A. (2011). Seed germination of montane forest species in response to ash, smoke and heat shock in Mexico. *Acta Oecologica*, 37: 256-262.