



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

POTENCIAL DE MIGRACIÓN ALTITUDINAL Y CAPACIDAD ADAPTATIVA DE *Lupinus montanus* ANTE CONDICIONES DE CAMBIO CLIMÁTICO EN EL NEVADO DE TOLUCA

DIANA CÓRDOBA RODRÍGUEZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: “Potencial de migración altitudinal y capacidad adaptativa de *Lupinus montanus* ante condiciones de cambio climático en el Nevado de Toluca”.

realizada por la alumna: Diana Córdoba Rodríguez bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS
CIENCIAS FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)



Dr. J. Jesús Vargas Hernández

ASESOR (A)



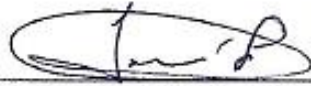
Dra. Francisca Ofelia Plascencia Escalante

ASESOR (A)



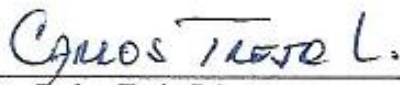
Dra. Marlín Pérez Suárez

ASESOR (A)



Dr. Javier López Upton

ASESOR (A)



Dr. Carlos Trejo López

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, junio de 2021

**POTENCIAL DE MIGRACIÓN ALTITUDINAL Y CAPACIDAD ADAPTATIVA DE
Lupinus montanus ANTE CONDICIONES DE CAMBIO CLIMÁTICO EN EL NEVADO
DE TOLUCA**

**Diana Córdoba Rodríguez, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2021**

RESUMEN

El cambio ambiental asociado al calentamiento global representa un reto importante en el manejo y conservación de los ecosistemas alpinos. Ante el aumento de temperatura, las especies vegetales de esas comunidades tienen las opciones de ascender en la montaña, encontrar refugio, adaptarse o morir. Por su distribución altitudinal en las montañas (de 3,400 a 4,200 m), *Lupinus montanus* resulta una especie útil para evaluar estas opciones, a través de la capacidad de dispersión de semilla y el grado de adaptación local y plasticidad fenotípica en las poblaciones a lo largo del gradiente altitudinal. En este trabajo se evaluó a) el potencial productivo, la distancia de dispersión y el banco de semillas de *L. montanus* en el límite altitudinal superior (4,200m) de su distribución natural en el Nevado de Toluca; b) el efecto de la temperatura (5, 9, 13 y 17 °C) en la dinámica de germinación de semilla y el grado de adaptación local y plasticidad fenotípica de ocho poblaciones muestreadas a lo largo de un gradiente altitudinal y c) la diferenciación entre poblaciones (3,500; 3,900 y 4,200 m) en el crecimiento inicial de las plantas, su plasticidad fenotípica y su desempeño fotoquímico (fluorescencia de la clorofila) en respuesta a la temperatura. En un ciclo reproductivo se produjeron más de 5,500 semillas por planta, con dispersión simétrica en las cuatro orientaciones que se ajustó a un modelo exponencial negativo hasta una distancia de 2 m de la planta madre. En el suelo se encontró una reserva de 4.3 semillas m⁻². El aumento de temperatura afectó en forma negativa la capacidad de germinación (de 99 a 93%), pero se aceleró la velocidad del proceso. En las poblaciones del extremo inferior del gradiente se detectó un efecto de adaptación local para algunos de los parámetros de germinación y las poblaciones de los dos extremos del gradiente mostraron mayor plasticidad fenotípica que las intermedias. La mayor temperatura aumentó la tasa de crecimiento y desarrollo de las plantas, con excepción del número de folíolos en las hojas. La población intermedia (3,900 m) mostró mayor plasticidad fenotípica en altura de planta y número de hojas que las otras poblaciones. La población de 4,200 m mostró mayor eficiencia fotoquímica en el ambiente de temperatura elevada (17 °C). *L. montanus* mostró mecanismos compensatorios (plasticidad fenotípica y adaptación local) que en conjunto podrían favorecer su permanencia en condiciones de temperatura más alta.

Palabras clave: *Lupinus montanus*, cambio climático, plasticidad fenotípica, adaptación local.

**POTENTIAL FOR ALTITUDINAL MIGRATION AND ADAPTIVE CAPACITY of
Lupinus montanus IN THE FACE OF CLIMATE CHANGE, AT THE NEVADO DE
TOLUCA**

**Diana Córdoba Rodríguez, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2021**

ABSTRACT

Environmental change linked to global warming represents a major challenge for management and conservation of alpine ecosystems. In the face of a gradual temperature rise, plant species in these communities have to move upward, find appropriate refuges, adapt to new conditions, or die. Given its altitudinal distribution in the mountains (of 3,400 to 4,200 m), *L. montanus* is a useful species to evaluate these options, in terms of seed dispersal potential, and degree of local adaptation and phenotypic plasticity of populations along the altitudinal gradient. The objectives of the study were to evaluate a) the seed production potential, dispersal distance and seed bank of *L. montanus* at the upper limit (4,200 m) of its natural distribution at the “Nevado de Toluca” mountain; b) the effect of temperature (5, 9, 13 and 17 °C) on seed germination dynamics and degree of local adaptation and phenotypic plasticity of eight populations sampled along an altitudinal gradient and c) differentiation among populations (3,500; 3,900 and 4,200 m) in seedling growth traits, phenotypic plasticity and photochemical performance (chlorophyll fluorescence) in response to temperature. *L. montanus* produced over 5,500 seeds per plant in a reproductive cycle, which are symmetrically dispersed to the four orientations, following a negative exponential curve up to a distance of 2 m from the mother plant. A seed bank of 4.3 seeds m⁻² was found on the soil. Rising the temperature negatively affected germination capacity (from 99 to 93%), but germination rate increased. A local adaptation effect was detected for some germination parameters in populations from the lower end of the gradient, and populations from both ends of the gradient showed greater phenotypic plasticity in seed germination dynamics than intermediate populations. Higher temperature increased growth rate and seedling development for all growth traits measured, except number of leaflets. Mid-elevation population (3,900 m) showed higher phenotypic plasticity in seedling height and number of leaves than the other populations. The population from 4,200 m showed the highest photochemical efficiency in terms of chlorophyll fluorescence under warm temperature conditions (17 °C). *L. montanus* showed compensatory

mechanisms (phenotypic plasticity and local adaptation) that together would allow it to persevere under higher temperature conditions.

Keywords: *Lupinus montanus*, climate change, phenotypic plastic, local adaptation.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por todas las maravillas que ha hecho a mi alrededor, por su provisión, su cuidado, su protección...por todas las bendiciones que me ha dado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por apoyarme económicamente durante mis estudios de postgrado.

Al Colegio de Postgraduados por todos los conocimientos adquiridos y compartidos para mi formación académica, así como para mi crecimiento como ser humano.

Al Postgrado en Ciencias Forestales por darme la oportunidad de ser parte de su comunidad, por su apoyo en todo momento y por todos los conocimientos brindados para abonar a mi formación académica.

Al Consejo Particular: Dr. J. Jesús Vargas Hernández, Dra. Francisca Ofelia Plascencia Escalante, Dra. Marlín Pérez Suárez, Dr. Javier López Upton y Dr. Carlos Trejo López por la asesoría, la disposición y por proporcionarme el apoyo necesario para llevar a cabo este proyecto.

Al APFF Nevado de Toluca por dejarme invaluable conocimientos para mi formación académica y por darme la oportunidad de recrear todo mi ser ante la majestuosidad de su territorio.

A los trabajadores del Vivero Forestal y el área de cámaras de ambiente controlado por el apoyo brindado en la etapa experimental y por hacer más amable y ameno el trabajo.

A los compañeros de generación por compartirme conocimientos, tiempo, amistad y hermandad, en especial a aquellos que me apoyaron incondicionalmente en la parte experimental y la toma de datos.

DEDICATORIA

A mi esposo Héctor y a mis hijos Josué y Leonel,
por el apoyo en lo que hago,
por los momentos dulces y los amargos,
porque cada día nos ayudamos,
nos construimos, nos entendemos
y nos amamos.

A mis padres Roberto y Silvia,
a mi tío-abuelo Eustaquio,
a mis hermanos Efraín, Gustavo e Israel,
a mi cuñada Laura, a mi sobrino Gael,
a mis abuelitas Matilde y Rosa, quién ya trascendió,
a mis familiares con quien comparto un hilo de amor,
a mis amistades por enseñarme el valor de la vida.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vii
DEDICATORIA.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE CUADROS.....	xiv
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
LITERATURA CITADA.....	6
CAPÍTULO I. PRODUCCIÓN, DISPERSIÓN Y BANCO DE SEMILLAS EN <i>Lupinus montanus</i> Kunth EN EL LÍMITE SUPERIOR DE SU DISTRIBUCIÓN ALTITUDINAL EN EL NEVADO DE TOLUCA	11
1.1 RESUMEN.....	11
1.2 ABSTRACT.....	12
1.3 INTRODUCCIÓN	13
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS	15
1.4.1 Área de estudio	15
1.4.2 Determinación del banco de semillas.....	15
1.4.3 Evaluación de la dispersión de la semilla	16
1.4.4 Análisis estadístico de los datos.....	17
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
1.5.1 Banco de semillas en el suelo	18
1.5.2 Capacidad de producción de semillas.....	18
1.5.3 Capacidad de dispersión de la semilla	19
1.6 CONCLUSIONES.....	23
1.7 LITERATURA CITADA	24
CAPÍTULO II. PLASTICIDAD Y ADAPTACIÓN LOCAL EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE <i>Lupinus montanus</i> Kunth PROVENIENTES DEL NEVADO DE TOLUCA EN RESPUESTA A LA TEMPERATURA.....	27
2.1 RESUMEN.....	27
2.2 ABSTRACT.....	28

2.3 INTRODUCCIÓN	29
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	32
2.4.1 Material vegetal y establecimiento del ensayo	32
2.4.2 Parámetros de germinación.....	33
2.4.3 Análisis estadístico.....	33
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
2.5.1 Efecto de la temperatura en la germinación de las semillas.....	35
2.5.2 Diferencias entre las poblaciones en la dinámica de germinación	36
2.5.3 Adaptación local de las poblaciones.....	39
2.5.4 Plasticidad fenotípica de las poblaciones.....	42
2.6 CONCLUSIONES.....	46
2.7 LITERATURA CITADA	47
CAPITULO III. PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN POBLACIONES DE <i>Lupinus montanus</i>	
Kunth EN RESPUESTA A LA TEMPERATURA.....	54
3.1 RESUMEN.....	54
3.2 ABSTRACT	55
3.3 INTRODUCCIÓN.....	56
3.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	58
3.4.1 Material vegetal.....	58
3.4.2 Germinación y establecimiento del ensayo	59
3.4.3 Variables evaluadas.....	59
3.4.4 Análisis estadístico.....	.60
3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	62
3.5.1 Efecto de la temperatura en el crecimiento de las plántulas	62
3.5.2 Respuesta de las poblaciones a los ambientes de temperatura	66
3.5.3 Plasticidad fenotípica de las poblaciones de <i>Lupinus montanus</i>	68
3.5.4 Diferencias entre poblaciones en la fluorescencia de la clorofila	71
3.5.5 Implicaciones en el contexto del cambio climático	72
3.6 CONCLUSIONES	73
3.7 LITERATURA CITADA	73
IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES	79

LISTA DE FIGURAS

<p>Figura 1.1 Localización geográfica de los sitios de estudio en el límite altitudinal superior de <i>Lupinus montanus</i> (4,200 m) en el APFF Nevado de Toluca, Estado de México, México</p>	16
<p>Figura 1.2 Patrón espacial de dispersión de semillas de <i>Lupinus montanus</i> (15 plantas en total) en promedio de las cuatro orientaciones de las trampas. La línea indica la distribución a la que se ajustaron los datos. Diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre todas las distancias de 25 cm a 100 cm.....</p>	20
<p>Figura 1.3 Patrón espacial de dispersión de semillas de <i>Lupinus montanus</i> en el Nevado de Toluca; (a) a favor y en contra de la pendiente; (b) en dirección paralela y perpendicular a la pendiente (15 plantas en total). Las líneas muestran las curvas ajustadas a cada serie de datos. No se encontró un efecto significativo ($p \leq 0.05$) de la orientación.....</p>	22
<p>Figura 2.1 Efecto de la elevación de origen de la población en el valor promedio de los parámetros estimados de las curvas de germinación de semillas en cuatro temperaturas, recolectadas en poblaciones naturales de <i>Lupinus montanus</i> en el Nevado de Toluca, en un gradiente altitudinal. PGM: porcentaje de germinación máxima; B: Parámetro de inclinación de la curva; T_{50}: tiempo para alcanzar el 50% de la germinación máxima; T_{16-84}: uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84%); T_{05}: tiempo de activación (5% de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva de germinación.....</p>	38
<p>Figura 2.2 Dinámica de los parámetros de germinación de semilla recolectadas en poblaciones naturales de <i>Lupinus montanus</i> en el Nevado de Toluca a lo largo de un gradiente altitudinal en respuesta al ambiente de temperatura de germinación expresado como distancia relativa con respecto a la temperatura “local” del sitio de origen de cada población. PGM: porcentaje de germinación máxima; B: parámetro de inclinación de la curva; T_{50}: tiempo para alcanzar el 50% de la germinación máxima; T_{16-84}: uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84%); T_{05}: tiempo de activación (5% de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva de germinación.....</p>	40

Figura 2.3 Normas de reacción de los parámetros de germinación estimados para las diferentes poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> a la temperatura de los ambientes térmicos evaluados. PGM: porcentaje de germinación máxima; B: parámetro de inclinación de la curva; T ₅₀ : tiempo para alcanzar el 50% de la germinación máxima; T ₁₆₋₈₄ : uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84%); T ₀₅ : tiempo de activación (5% de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva de germinación.....	43
Figura 2.4 Valores promedio del índice simplificado de plasticidad fenotípica de distancia relativa (RDPIs, por sus siglas en inglés) y su relación con la elevación del sitio de origen de las poblaciones. PGM: porcentaje de germinación máxima; B: parámetro de inclinación de la curva; T ₅₀ : tiempo para alcanzar el 50% de la germinación máxima; T ₁₆₋₈₄ : uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84%); T ₀₅ : tiempo de activación (5% de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva de germinación.	44
Figura 3.1 Desempeño de tres poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> de diferentes altitudes en el Nevado de Toluca en dos condiciones de temperatura (13 y 17°C) en a) altura de las plantas (A), b) número de hojas (NH), c) número de folíolos por hoja (NF), d) diámetro de la hoja (DH), y e) tiempo de formación de la hoja (TFH). Se muestra la significancia para los factores temperatura (T), población (P) y su interacción (TxP). ***p≤0.001; **p≤0.01; *p≤0.05; ns=no significativo.....	63
Figura 3.2 Dinámica de crecimiento de las plantas de <i>Lupinus montanus</i> originarias del Nevado de Toluca en dos condiciones de temperatura (13 y 17°C) en a) altura de las plantas (A), b) número de hojas (NH), c) número de folíolos por hoja (NF), d) diámetro de la hoja (DH), y e) tiempo de formación de la hoja (TFH). Se muestra la significancia para los factores temperatura (T), fecha (F), Hoja (H), y su interacción. ***p≤0.001; **p≤0.01; *p≤0.05; ns=no significativo.....	65
Figura 3.3 Dinámica del crecimiento de tres poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> en relación con a) altura de las plantas (A), b) número de hojas (NH), c) número de folíolos por hoja (NF), d) diámetro de la hoja (DH), y e) tiempo de formación de la hoja (TFH). Factores población (P); fecha (F) y hoja (H). ***p≤0.001; **p≤0.01; *p≤0.05; ns=no significativo.....	67

Figura 3.4 Índice de plasticidad fenotípica de tres poblaciones de *Lupinus montanus* en relación con a) altura de la planta (A), b) número de hojas (NH), c) número de folíolos por hoja (NF), d) diámetro de la hoja (DH), y e) tiempo de formación de la hoja (TFH). Se muestra la significancia para los factores población (P), fecha (u hoja) (F o H) y su interacción. *** $p \leq 0.001$; ** $p \leq 0.01$; * $p \leq 0.05$; ns=no significativo..... 69

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.1 Cantidad de vainas y potencial de producción de semillas (\pm error estándar) por planta (15 plantas en total) en tres subpoblaciones de <i>Lupinus montanus</i> en el Nevado de Toluca	19
Cuadro 1.2 Valor de significancia (p) de los parámetros estimados en el modelo exponencial negativo ajustado a la curva de dispersión de las semillas de <i>Lupinus montanus</i> (15 plantas en total) en diferentes direcciones con respecto a la pendiente del terreno en el Nevado de Toluca	21
Cuadro 2.1 Valores promedio (\pm error estándar) de los parámetros de germinación de semillas de poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> en diferentes condiciones de temperatura.....	35
Cuadro 3.1 Valores promedio de los parámetros de fluorescencia de la clorofila <i>a</i> de tres poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> originarias de diferentes elevaciones del Nevado de Toluca a una temperatura de 17 °C.....	71

INTRODUCCIÓN GENERAL

Las condiciones de vida de las plantas siempre han estado y estarán en un estado de cambio, en todo el mundo (Körner, 2000). La vegetación de gran altitud no es una excepción a este respecto (Barry, 1990), las plantas en la alta montaña constituyen uno de los grupos biológicos de futuro más incierto ante el calentamiento global (Grabherr *et al.*, 1994; Gottfried *et al.*, 1999).

Se han documentado importantes cambios en la temperatura en hábitats de alta montaña durante los últimos siglos y en especial en las últimas décadas (Beniston *et al.*, 1997; Díaz y Bradley, 1997). Estos cambios en el régimen climático y las presiones por factores antropogénicos han provocado cambios importantes en las especies y por lo tanto representan un reto importante para el manejo y conservación de estas poblaciones vegetales (Aitken *et al.*, 2008).

La distribución de las especies vegetales, especialmente en ambientes de montaña, se ha ido modificando por el cambio climático y esto ha provocado que muchas de ellas se desfasen geográficamente o no tengan posibilidad de ajustar sus procesos fisiológicos al nuevo ambiente, por su marcada adaptación local (Jump y Peñuelas, 2005). Básicamente las plantas tienen las opciones de adaptarse, migrar o morir (Aitken *et al.*, 2008). Las posibilidades de adaptación dependen del nivel de variación genética y de la plasticidad fenotípica residente en las poblaciones para ajustar sus procesos a las nuevas condiciones (Tognetti *et al.*, 2019; Soto-Correa *et al.*, 2014). Por otro lado, la capacidad natural de migración de las plantas a través de la dispersión y su establecimiento en nuevos hábitats puede ser extremadamente lenta para la mayoría de las especies (Pearson, 2006; Soto-Correa *et al.*, 2014).

En los ecosistemas de alta montaña la opción principal de movimiento de las plantas es hacia sitios de mayor elevación, donde se espera que ocurran las condiciones de temperatura a las que están adaptadas (Byars *et al.*, 2009). Por lo tanto, la dispersión se vuelve un proceso prioritario y ocurre cuando una semilla, espora o propágulo vegetativo se desprende de su planta materna (van Den *et al.*, 2016). Este proceso une el ciclo reproductivo de las plantas con el establecimiento de su progenie (Wang y Smith, 2002). La dinámica y características particulares de este proceso tienen consecuencias importantes para la evolución de los nichos ecológicos de las especies, que determinan dónde puede persistir una especie (van Den *et al.*, 2016). Una especie con distancia de dispersión corta o pocos propágulos dispersantes puede no colonizar hábitats adecuados más allá de sus límites de distribución actual, mientras que una especie con una dispersión generalizada

puede aumentar las posibilidades de colonizar hábitats que en primera instancia parecen inadecuados (van Den *et al.*, 2016).

Ante el cambio climático, la dinámica de dispersión de semillas es un factor crucial en la capacidad de migración de las especies, con repercusiones importantes en la dinámica poblacional y comunitaria de las plantas (Greene y Johnson, 1989; Wang y Smith, 2002). El desplazamiento de las plantas a través de la dispersión delimita el área potencial de reclutamiento y afecta los procesos de depredación y competencia, lo cual eventualmente resultará en un nuevo patrón espacial de individuos capaces de reproducirse (Nathan *et al.*, 2001).

Sin embargo, el ascenso a mayores altitudes (como una respuesta ante el cambio climático) es un proceso relativamente lento y depende de la capacidad de migración altitudinal de la especie (Sáenz-Romero *et al.*, 2016). Ante esta situación, la plasticidad fenotípica puede ser una opción más adecuada en la respuesta a corto plazo (Jump y Peñuelas, 2005; Lloret *et al.*, 2012). En muchas especies con distribución alpina, especialmente las especies pioneras, esta alternativa podría ser el principal mecanismo para persistir en un ambiente cambiante (Núñez-Farfán *et al.*, 2003).

La plasticidad fenotípica es un mecanismo fundamental, producto de la evolución adaptativa, que varía entre genotipos, poblaciones y especies. Es la capacidad de un genotipo determinado para expresar fenotipos diferentes cuando se expone a diferentes condiciones ambientales (Sultan, 2000; Pigliucci *et al.*, 2006). Este mecanismo es particularmente importante en el proceso adaptativo de las especies, ya que permite que los organismos ajusten a corto plazo su fisiología y morfología ante los cambios en las condiciones ambientales locales que ocurren durante su ciclo de vida (Sultan, 2000).

Determinar la magnitud de la plasticidad fenotípica no es simple, pero existen diferentes formas de hacerlo; entre ellas la determinación de normas de reacción, la cual proporciona información sobre la dirección y magnitud del cambio fenotípico provocado en respuesta a la variación del ambiente y se puede comparar entre genotipos, poblaciones o especies (Arnold *et al.*, 2019; Ghalambor *et al.*, 2007). Otra manera de hacerlo es a través de índices de plasticidad, como el RDPIs; por sus siglas en inglés (Índice simplificado de plasticidad fenotípica de distancia relativa), para estimar la magnitud de la respuesta plástica. Este índice trabaja con las distancias fenotípicas entre dos genotipos o poblaciones creciendo en condiciones ambientales diferentes (Valladares *et al.*, 2006).

Por otro lado, es común observar que en los gradientes altitudinales existen diferencias en las características funcionales de las poblaciones de una especie distribuidas en éstos. Se han determinado diferencias intra-específicas en varios rasgos morfológicos como el tamaño, peso y área foliar, así como en parámetros del proceso fotosintético, entre otros (Thomas, 2011). La variación espacio-temporal de las condiciones ambientales expone a los organismos a distintas presiones de selección que conducen a la adaptación de las poblaciones a su ambiente local (Dudley, 1996; Kawecki y Ebert, 2004; Matesanz *et al.*, 2020). Los cambios micro-evolutivos asociados a este proceso aumentan la diferenciación genética de las poblaciones y con el paso de las generaciones se pueden distinguir ecotipos adaptados localmente (Nagy y Rice, 1997; Galloway y Fenster, 2000; Giménez-Benavides *et al.*, 2007; Hereford, 2009). La adaptación local generada por la selección natural divergente permite maximizar el desempeño de los organismos en respuesta a las condiciones del ambiente local en que han evolucionado las poblaciones de una especie (Galloway y Fenster, 2000; Kawecki y Ebert, 2004). Sin embargo, un alto grado de adaptación local puede tener un efecto negativo en la permanencia de las poblaciones cuando las condiciones del ambiente se modifican por el cambio climático (Dinnetz y Nilsson, 2002; Thomas *et al.*, 2004)

La plasticidad fenotípica y la adaptación local son los principales mecanismos adaptativos que poseen las plantas para establecerse y prosperar en ambientes altamente heterogéneos en escalas de espacio y tiempo (Sexton *et al.*, 2002; Molina-Montenegro y Cavieres, 2010; Matesanz *et al.*, 2012, 2020). Las dos estrategias son complementarias y de importancia para las especies pues la plasticidad fenotípica puede inicialmente permitir el establecimiento de una especie, y una vez establecida, la recombinación genética de fenotipos heredables permite responder a la presión de selección local, obteniendo ecotipos adaptados con mayor adecuación biológica (Ellstrand y Schierenbeck, 2000, Sexton *et al.*, 2002, Maron *et al.*, 2004). Sin embargo, la importancia relativa de estos dos mecanismos puede variar entre especies en función de diferentes factores asociados al proceso evolutivo (Matesanz *et al.*, 2020).

La germinación de las semillas es una etapa crucial en el establecimiento de los individuos, por lo que está sujeta a una fuerte presión de selección natural y tiene un alto valor adaptativo (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996; Meyer *et al.*, 1997). Debido a ello, es común que exista variación entre poblaciones en la capacidad y dinámica de la germinación en respuesta a condiciones ambientales específicas, (Meyer *et al.*, 1997; Boydak *et al.*, 2003; García *et al.*, 2007;

Cortés-Cabrera *et al.*, 2018). Entre las condiciones ambientales a las que está sujeta, se encuentra la temperatura, la cual está estrechamente relacionada con la actividad enzimática responsable de las tasas de germinación (Bewley *et al.*, 2013). Por ello, el estudio de los posibles efectos de la temperatura y, del nivel de plasticidad fenotípica y adaptación local de las poblaciones en la dinámica de este proceso es fundamental en el contexto del aumento de temperatura asociado al calentamiento gradual en el planeta, con repercusiones importantes en la dinámica de las poblaciones (Santana *et al.*, 2010).

Al igual que con el proceso de germinación, la temperatura también influye en el crecimiento y desarrollo inicial de las plantas. En esta etapa se ha determinado que la temperatura afecta la tasa de crecimiento y, con ello, diferentes rasgos morfológicos y fisiológicos, especialmente en las hojas, como área foliar, presencia de pubescencia, ángulo foliar, disipación térmica, fotorrespiración, contenido de pigmentos fotosintéticos y protectores contra la radiación, entre otros (Demming-Adams y Adams, 1996, Caasi-Lit *et al.*, 1997). Por ejemplo, la fluorescencia (energía luminosa re-emitida de menor energía) de la clorofila puede variar entre poblaciones como uno de los mecanismos adaptativos para mantener la eficiencia fotoquímica y la disipación térmica de la energía absorbida en respuesta a estrés por temperatura (Maxwell y Johnson, 2000). En condiciones naturales, la emisión de fluorescencia cambia continuamente para lograr el ajuste en el funcionamiento de los individuos a las fluctuaciones ambientales. Diversos factores de estrés ambiental como las temperaturas elevadas, heladas, sequía, salinidad, cambios en la intensidad luminosa, deficiencias nutricionales, entre otros, afectan la función del fotosistema II de manera directa o indirecta, lo cual modifica la emisión de la fluorescencia (González *et al.*, 2008; Roháček *et al.*, 2008; Maxwell y Johnson, 2000). Por ello, los cambios en la emisión de la fluorescencia pueden utilizarse para revelar mecanismos de respuesta a condiciones de estrés (Brack y Frank, 1998; Maxwell y Johnson, 2000).

Lupinus montanus Kunth es una especie de la familia Fabaceae, con una amplia distribución natural en las montañas de México (Dunn, 2001). La mayoría de las poblaciones naturales de esta especie se encuentran en el Cinturón Volcánico Transmexicano, en altitudes que van de 2500 a 4100 m, asociadas a bosques de pino (*Pinus hartwegii* Lindl.), encino (*Quercus* spp.) y oyamel [*Abies religiosa* (Kunt.) Schldl. & Cham.], y a las praderas alpinas y subalpinas (Acosta-Percastegui y Rodríguez-Trejo, 2005), por lo que representa un modelo biológico importante para evaluar la capacidad de migración altitudinal en el extremo altitudinal superior,

así como el nivel de plasticidad fenotípica y adaptación local de las poblaciones a lo largo del gradiente altitudinal.

Al igual que otras especies del mismo género, *Lupinus montanus* presenta un mecanismo especial de dispersión de semillas (Abraham *et al.*, 2002). Los frutos en forma de vaina explotan y lanzan las semillas al aire en diferentes direcciones (Ruiz *et al.*, 2010); es decir, tienen una dispersión balística. La semilla una vez dispersada puede germinar inmediatamente o permanecer en el suelo formando un banco de semillas, ecológica y evolutivamente importante en la dinámica poblacional de muchas especies (Ooi, 2012). Sin embargo, *Lupinus montanus* es una especie pionera, con un sistema reproductivo predominantemente autógeno y está sujeta a diferentes presiones de selección a lo largo del gradiente altitudinal, especialmente durante las etapas de germinación y crecimiento inicial, por lo que es posible esperar diferencias adaptativas y de plasticidad fenotípica entre las poblaciones.

El estudio de los posibles efectos del cambio climático, especialmente el efecto del incremento en la temperatura sobre *Lupinus montanus* va a permitir dimensionar el impacto de este proceso y la vulnerabilidad que representa para los organismos vegetales de los ecosistemas alpinos, principalmente porque se trata de una especie pionera, con una capacidad considerable para tolerar estrés (Blanco-García *et al.*, 2011; Díaz-Rodríguez *et al.*, 2013). A largo plazo, la presencia de la especie en un sitio contribuye al mejoramiento de las condiciones edáficas para promover el establecimiento de otras especies de mayor porte (Blanco-García *et al.*, 2011; Díaz-Rodríguez *et al.*, 2013; Soto-Correa *et al.*, 2015).

En la primera parte de este trabajo se aborda la dimensión del banco de semillas que forma la especie como resultado de la dispersión de semilla en ciclos reproductivos de años anteriores y se evalúa el potencial de producción de semillas de las plantas de *Lupinus montanus*, en relación con su tamaño (altura y número de tallos), y la capacidad (distancia) de dispersión de la semilla en el límite altitudinal superior de la distribución natural de la especie en el Nevado de Toluca para determinar su patrón espacial de dispersión en relación con las posibilidades de avance en la migración altitudinal de la especie.

En la segunda parte del trabajo, se aborda la dinámica de germinación de la semilla de *L. montanus* en diferentes escenarios térmicos, con la finalidad de determinar el grado de adaptación local y plasticidad fenotípica de las poblaciones en este proceso. Para ello, se evalúa el efecto de la temperatura en la dinámica de germinación de semillas recolectadas en diferentes poblaciones

a lo largo de un gradiente altitudinal, así como las diferencias entre poblaciones en la capacidad y dinámica de germinación de la semilla.

En el tercer capítulo del trabajo se evalúan las diferencias adaptativas y la plasticidad fenotípica en caracteres morfológicos durante la etapa inicial de crecimiento de las plantas de tres poblaciones de *L. montanus* recolectadas a lo largo del gradiente altitudinal (3,500; 3,900 y 4,200 m) de la distribución natural de la especie, ante condiciones de temperatura alta. Además, se analizan las diferencias entre poblaciones en la emisión de fluorescencia en condiciones de temperatura alta.

El futuro de las especies de alta montaña es incierto, pero el estudio de éstas bajo condiciones que simulen su ambiente futuro, representa una aproximación al panorama que está por venir y bajo el cual muchas especies quedarán expuestas totalmente a ambientes diferentes del actual. La ventaja de realizar estudios en especies herbáceas es que tienen ciclos biológicos más cortos y permiten evaluar más rápidamente los impactos y los mecanismos de respuesta, por lo tanto, pueden ser utilizadas como modelos biológicos que aporten información para otras especies de ciclo de vida más largo.

Literatura citada

- Abraham de Noir, F., S. Bravo y R. Abdala. 2002. Mecanismos de dispersión de algunas especies de leñosas nativas del Chaco Occidental y Serrano. *Quebracho* 9: 140-150.
- Acosta-Percástegui, J. and D. A. Rodríguez-Trejo. 2005. Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia* 30(9): 576-579.
- Aitken, S. N., S. Yeaman, J. A. Holliday, T. Wang and S. Curtis-McLane, 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications* 1: 95-111.
- Arnold, P. A., L. E. B. Kruuk and A. B. Nicotra. 2019. How to analyze plant phenotypic plasticity in response to a changing climate. *New Phytologist* 222(3): 1235-1241.
- Barry, R.G. 1990. Changes in mountain climate and glacio-hydrological responses. *Mountain Research and Development* 10(2):161-170.
- Beniston, M., H. F. Díaz and R. S. Bradley. 1997. Climatic change at high elevation sites: An overview. *Climatic Change* 36: 233-251.
- Bewley, J. D., K. Bradford, H. Hilhorst and H. Nonogaki 2013. *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy*. Springer. 3rd ed. 246p.

- Blanco-García, A., C. Sáenz-Romero, C. Martorell, P. Alvarado-Sosa and R. Lindig-Cisneros 2011. Nurse-plant and mulching effects on three conifer species in a Mexican temperate forest. *Ecological Engineering* 37(6): 994-998.
- Boydak, M., H. Dirik, F. Tilki and M. Çalikoglu. 2003. Effects of water stress on germination in six provenances of *Pinus brutia* seeds from different bioclimatic zones in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 27(2): 91-97.
- Brack, W. and H. Frank, 1998. Chlorophyll a fluorescence: A toll for the investigation of toxic effects in the photosynthetic apparatus. *Ecotoxicology Environmental Safety* 40(1-2): 34-41.
- Byars, S. G., Y. Parsons and A. A. Hoffmann. 2009. Effect of altitude on the genetic structure of an Alpine grass, *Poa hiemata*. *Annals of Botany* 103(6): 885-899.
- Caasi-Lit, M., M. I. Whitecross, M. Nayudu and G. J. Tanner, 1997. UV-B irradiation induces differential leaf damage ultrastructural changes and accumulation of specific phenolic compounds in rice cultivars. *Australian Journal of Plant Physiology* 24: 261-274.
- Cortés-Cabrera, H. E., R. Pérez-Domínguez, J. Flores, M. González-Tagle, G. Cuéllar-Rodríguez y E. Jurado. 2018. Germinación de dos especies del género *Acacia* a temperaturas elevadas simulando cambio climático. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 9(50): 304-322.
- Demming-Adams, B. and W. W. Adams, 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1(1): 21-26.
- Díaz, H. F. and R. S. Bradley. 1997. Temperature variations during the last century at high elevation sites. *Climatic Change* 36(3): 253-279.
- Díaz-Rodríguez, B., E. Del-Val, M. Gómez-Romero, P. A. Gómez-Ruiz and R. Lindig-Cisneros. 2013. Conditions for establishment of a key restoration species, *Lupinus elegans* Kunth, in a Mexican temperate forest. *Botanical Sciences* 91(2): 225-232.
- Dinnetz, P. and T. Nilsson, 2002. Population viability analysis of *Saxifraga cotyledon*, a perennial plant with semelparous rosettes. *Plant Ecology* 159: 61-71.
- Dudley, S. A. 1996. The response to differing selection on plant physiological traits: evidence for local adaptation. *Evolution* 50(1): 103-110.
- Dunn, D. B. 2001. *Lupinus*. In: Calderón de R., G. R. y J. Rzedowski. *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A. C. CONABIO. Pátzcuaro, Michoacán, México. 983p.
- Ellstrand, N. C. and K. A. Schierenbeck. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97(13): 7043-7050.
- Galloway, L. F. and C. B. Fenster. 2000. Population differentiation in an annual legume: local adaptation. *Evolution* 54(4): 1173-1181.

- García P., J. F., O. Aguirre C., E. Estrada C., J. Flores R., J. Jiménez P. y E. Jurado Y. 2007. Germinación y establecimiento de plantas nativas del matorral tamaulipeco y una especie introducida en un gradiente de elevación. *Madera y Bosques* 13(1): 99-117.
- Ghalambor, C. K., J. K. McKay, S. P. Carroll and D. N. Reznick. 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* 21(3): 394-407.
- Giménez-Benavides, L., A. Escudero and J. M. Iriondo. 2007. Local adaptation enhances seedling recruitment along an altitudinal gradient in a high mountain Mediterranean plant. *Annals of Botany* 99(4): 723-734.
- González M., S., H. Perales V. y M. O. Salcedo A. 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica* 27(4): 119-129.
- González-Zertuche, L. y A. Orozco-Segovia, 1996. Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda Brachystachya*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 58(58): 15-30.
- Gottfried, M., H. Pauli, K. Reiter y G. Grabherr, 1999. A fine-scaled predictive model for changes in species distribution patterns of high mountain plants induced by climate warming. *Diversity and Distributions* 5(6): 241-251.
- Grabherr, G., M. Gottfried and H. Pauli. 1994. Climate effects on mountain plants. *Nature* 369:448.
- Greene, D. F. and E. A. Johnson, 1989. A model of wind dispersal of winged or plumed seeds. *Ecology* 70(2): 339-347.
- Hereford, J. 2009. A quantitative survey of local adaptation and fitness trade-offs. *The American Naturalist* 173(5): 579-588.
- Jump, A. S. and J. Peñuelas. 2005. Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters* 8: 1010- 1020.
- Kawecki, T. J. and D. Ebert. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* 7: 1225-1241.
- Körner, C. 2000. The alpine life zone under global change. *Gayana Botánica* 57(1): 1-17.
- Lloret, F. 2012. Vulnerabilidad y resiliencia de los ecosistemas forestales frente a episodios extremos de sequía. *Ecosistemas* 21(3): 85-90.
- Maron, J. L., M. Vilá, R. Bommarco, S. Elmendorf and P. Beardsley. 2004. Rapid evolution of an invasive plant. *Ecological Monographs* 74(2): 261-280.
- Matesanz, S., T. Horgan-Kobelski, and S. E. Sultan. 2012. Phenotypic plasticity and population differentiation in an ongoing species invasion. *PLoS ONE* 7(9): e44955.

- Matesanz, S., M. Ramos-Muñoz, M. Blanco-Sánchez and A. Escudero. 2020. High differentiation in functional traits but similar phenotypic plasticity in populations of a soil specialist along a climatic gradient. *Annals of Botany* 125(6): 969-980.
- Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345): 659-668.
- Meyer, S. E., P. S. Allen and J. Beckstead. 1997. Seed germination regulation in *Bromus tectorum* (Poaceae) and its ecological significance. *Oikos* 78(3): 475-485.
- Molina-Montenegro, M.A. y L. A. Cavieres. 2010. Variación altitudinal de los atributos morfo-fisiológicos en dos especies de plantas alto-andinas y sus implicancias contra la fotoinhibición. *Gayana Botánica* 67(1): 1-11.
- Nagy, E. S. and K. J. Rice. 1997. Local adaptation in two subspecies of an annual plant: implications for migration and gene flow. *Evolution* 51(4): 1079-1089.
- Nathan, R., U. Safriel and I. Noy-Meir. 2001. Field validation and sensitivity analysis of a mechanistic model for tree seed dispersal by wind. *Ecology* 82: 374-388.
- Núñez-Farfán, J., S. A. Careaga, J. Forfoni, L. Ruiz-Montoya y P. L. Valverde. 2003. La evolución de la plasticidad fenotípica. *Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas* 6(1): 16-24.
- Ooi, M. K. J. 2012. Seed bank persistence and climate change. *Seed Science Research* 22 (Supplement S1): S53-S60.
- Pearson, R. G. 2006. Climate change and the migration capacity of species. *Trends in Ecology and Evolution* 21(3): 111-113.
- Pigliucci, M., C. J. Murren and C. Schlichting. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *The Journal of Experimental Biology* 209: 2362-2367.
- Roháček, K., J. Soukupová and M. Barták, 2008. Chlorophyll fluorescence: a wonderful tool to study plant physiology and plant stress. *Plant Cell Compartments-Selected Topics. Research Signpost, India*, 661(2): 41-104.
- Ruiz, R. S., M. Gómez R. y R. Lindig, C. 2010. Lluvia de semillas de *Lupinus elegans* Kunth. en un proyecto de restauración ecológica. *Biológicas* 12(2): 72-74.
- Sáenz-Romero, C., R. A. Lindig-Cisneros, D. G. Joyce, J. Beaulieu, J. B. St. Clair and B. C. Jaquish. 2016. Assisted migration of forest populations for adapting trees to climate change. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 22(3): 303-323.
- Santana, V. M., R. A. Bradstock, M. K. J. Ooi, A. J. Denham, T. D. Auld and M. J. Baeza. 2010. Effects of soil temperature regimes after fire on seed dormancy and germination in six Australian Fabaceae species. *Australian Journal of Botany* 58(7): 539-545.
- Sexton, J. P., J. K. McKay and A. Sala. 2002. Plasticity and genetic diversity may allow salt cedar to invade cold climates in North America. *Ecological Applications* 12(6): 1652-1660.

- Soto-Correa, J. C., R. Lindig-Cisneros y C. Sáenz-Romero. 2014. Migración asistida de *Lupinus elegans* Kunth en ensayos de jardín común en campo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37(2): 107-116.
- Soto-Correa, J. C., C. Sáenz-Romero, H. Paz y R. Lindig-Cisneros. 2015. Drought stress in provenances of *Lupinus elegans* from different altitudes. *Madera y Bosques* 21(1): 35-43.
- Sultan, S. E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5(12): 537–542.
- Tognetti, P. M., N. Mazia and G. Ibáñez. 2019. Seed local adaptation and seedling plasticity account for *Gleditsia triacanthos* tree invasion across biomes. *Annals of Botany* 124(2): 307-318.
- Thomas, C. D., A. Cameron, R. E. Green, M. Bakkenes, L. J. Beaumont, Y. C. Collingham, B. F. N. Erasmus, M. Ferreira de Siqueira, A. Grainger, L. Hannah, L. Hughes, B. Huntley, A. S. van Jaarsveld, G. F. Midgley, L. Miles, M. A. Ortega-Huerta, A. T. Peterson, O. L. Phillips and S. E. Williams. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature* 427: 145-148.
- Thomas, S. C. 2011. Genetic vs. phenotypic responses of trees to altitude. *Tree Physiology* 31(11): 1161-1163.
- Valladares, F., D. Sánchez-Gómez and M. A. Zavala. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* 94(6): 1103-1116.
- van Den, E. C. L., E. A. La Rue and N. C. Emery. 2016. Oh, the places you'll go! Understanding the evolutionary interplay between dispersal and habitat adaptation as a driver of plant distributions. *American Journal of Botany* 103(12): 2015-2018.
- Wang, B. C. and T. B. Smith. 2002. Closing the seed dispersal loop. *Trends in Ecology and Evolution* 17(8): 379-385.

CAPÍTULO I. PRODUCCIÓN, DISPERSIÓN Y BANCO DE SEMILLAS EN *Lupinus montanus* Kunth EN EL LÍMITE SUPERIOR DE SU DISTRIBUCIÓN ALTITUDINAL EN EL NEVADO DE TOLUCA

1.1 RESUMEN

Las plantas tienen la opción de adaptarse, emigrar o morir ante el cambio climático. Sin embargo, la migración por dispersión natural de semillas puede ser muy lenta. *Lupinus montanus* (lupino), especie que se distribuye entre los 3,400 y 4,200 m en las montañas, es un modelo útil para evaluar la capacidad de migración altitudinal. Los objetivos de este trabajo fueron determinar el potencial productivo, la distancia de dispersión y el banco de semillas de *L. montanus* en el límite superior de su distribución natural. Se establecieron tres sitios de muestreo a 4,200 m con plantas aisladas. Se evaluó la producción de semillas y se colocaron trampas a lo largo de las cuatro orientaciones para evaluar la cantidad y el patrón espacial de dispersión de semillas. *L. montanus* produjo más de 5,500 semillas por planta en un ciclo reproductivo; el potencial productivo se asoció con la altura y el número de tallos de la planta. El número de semillas capturadas varió en forma significativa con la distancia de la planta madre. La curva promedio de dispersión se ajustó a un modelo exponencial negativo. La dispersión de las semillas es similar entre las cuatro orientaciones de las plantas. A pesar del potencial elevado de producción de semillas de *L. montanus*, solo 3.2 % de ella alcanzó una distancia igual o mayor a 2 m de la planta madre. Sin embargo, la frecuencia de ciclos reproductivos y la post-dispersión de las semillas podrían acelerar la capacidad de desplazamiento altitudinal de la especie.

Palabras clave: Lupino, migración altitudinal, dispersión, semillas

1.2 ABSTRACT

Plants have the option to adapt, migrate or die to climate change. However, natural seed dispersal migration can be very slow. *Lupinus montanus* (lupine), a species that is distributed between 3,400 and 4,200 meters above sea level in the mountains, is a useful model to evaluate the altitude migration capacity. The objectives of this work were to determine the productive potential, the dispersal distance and the seed bank of *L. montanus* at the upper limit of its natural distribution. Three sampling sites were established at 4,200 m with isolated plants. Seed production was evaluated, and traps were placed along the four orientations to evaluate the quantity and spatial pattern of seed dispersal. *L. montanus* produced more than 5,500 seeds per plant in a reproductive cycle; the productive potential was associated with the height and the number of stems of the plant. The number of captured seeds varied significantly with the distance from the mother plant. The average dispersion curve was fitted to a negative exponential model. Seed dispersal is similar among the four plant orientations. Despite the high seed production potential of *L. montanus*, only 3.2% of it reached a distance equal to or greater than 2 m from the mother plant. However, the frequency of reproductive cycles and the post-dispersal of the seeds could accelerate the altitude displacement capacity of the species.

Keywords: Lupine, altitude migration, dispersal seeds.

1.3 INTRODUCCIÓN

Las plantas tienen la capacidad de mover su descendencia de un lugar a otro a través de la dispersión de semillas, esporas o propágulos vegetativos (van Den *et al.*, 2016). La dispersión se define como el movimiento de un organismo desde su sitio de origen hasta el lugar donde se establece (van Den *et al.*, 2016). En las plantas, la dispersión ocurre cuando una semilla, espora o propágulo vegetativo se desprende de su planta materna (van Den *et al.*, 2016); este proceso une el ciclo reproductivo de las plantas con el establecimiento de su progenie (Wang y Smith, 2002). El desplazamiento espacial de las semillas tiene la finalidad de incrementar las probabilidades de establecimiento y colonización de las especies (Tercero-Burcado y Rovere, 2010).

Las características del proceso de dispersión de semillas tienen consecuencias importantes para la evolución de los nichos ecológicos de las especies, que determinan dónde puede persistir una especie (van Den *et al.*, 2016). La dispersión facilita el escape de las semillas de los depredadores (Perea, 2012) y disminuye la competencia en áreas cercanas a la planta madre (van Den *et al.*, 2016). Una especie que presenta distancias de dispersión cortas o pocos propágulos dispersantes puede no colonizar hábitats adecuados más allá de sus límites de distribución actual, mientras que la dispersión generalizada puede aumentar las posibilidades de colonizar hábitats que en primera instancia parecen inadecuados (van Den *et al.*, 2016).

La distribución de las especies vegetales, especialmente en ambientes de montaña, se ha ido modificando por el cambio climático y esto ha provocado que muchas de ellas se desfasen o no tengan posibilidad de adaptación por su marcada adaptación local (Jump y Peñuelas, 2005). Las plantas tienen básicamente las opciones de adaptarse, emigrar o morir ante el cambio climático (Aitken *et al.*, 2008). Las posibilidades de adaptación dependen del nivel de variación genética y de la plasticidad fenotípica de las poblaciones para ajustar sus procesos a las nuevas condiciones (Tognetti *et al.*, 2019; Soto-Correa *et al.*, 2014). Por otro lado, la capacidad natural de migración de las plantas a través de la dispersión y su establecimiento en nuevos hábitats puede ser extremadamente lenta para la mayoría de las especies (Pearson, 2006; Soto-Correa *et al.*, 2014).

En los ecosistemas de alta montaña la principal opción de movimiento de las plantas es hacia sitios de mayor elevación, donde se espera que ocurran las condiciones de temperatura a las que están adaptadas (Byars *et al.*, 2007). Sin embargo, la tasa de movimiento altitudinal debe ser relativamente rápida, antes de que ocurran cambios fenológicos que limiten su capacidad reproductiva o que sean invadidas y desplazadas por especies de sitios más bajos (Peñuelas *et al.*,

2002). El cambio climático representa desafíos importantes para los manejadores forestales y ecólogos en cuanto a la práctica de actividades de manejo eficaces, ya sea para fines comerciales o de conservación (Sáenz-Romero *et al.*, 2016).

Lupinus montanus Kunth es una especie de la familia Fabaceae, con una amplia distribución natural en las montañas de México (Dunn, 2001). La mayoría de las poblaciones naturales de esta planta se encuentran en el Cinturón Volcánico Transmexicano, en altitudes que van de 2,500 a 4,100 m, asociadas a bosques de pino (*Pinus hartwegii* Lindl.), encino (*Quercus* spp.) y oyamel [*Abies religiosa* (Kunt.) Schltdl. y Cham.], y a las praderas alpinas y subalpinas (Acosta-Percastegui y Rodríguez-Trejo, 2005). *L. montanus* representa un modelo biológico importante para evaluar la capacidad de migración altitudinal en estas condiciones. Al igual que otras especies del mismo género, esta planta presenta un mecanismo especial de dispersión de semillas (Abraham de Noir *et al.*, 2002). Los frutos en forma de vaina explotan y lanzan las semillas al aire en diferentes direcciones (Ruiz *et al.*, 2010); es decir, tienen una dispersión balística. Las semillas una vez dispersadas pueden germinar inmediatamente o permanecer en el suelo formando un banco de semillas, ecológica y evolutivamente importante en la dinámica poblacional de muchas especies (Ooi, 2012). Las semillas pequeñas, como en el caso de *L. montanus* se entierran con facilidad y parece que enfrenta menos riesgos, aunque también pueden ser presas de lombrices, hormigas y otra fauna del suelo (Thompson y Fenner, 1992). Sin embargo, no existe suficiente información sobre la capacidad de dispersión de la semilla de *Lupinus* ni de la presencia de un banco natural de semillas que permita visualizar la permanencia a largo plazo de la especie o bien su posible movimiento hacia otros espacios dentro de su condición alpina ante el escenario del cambio climático.

Este trabajo tuvo como objetivos a) relacionar el tamaño de las plantas (altura y número de tallos) con el potencial de producción de semillas en ésta; b) evaluar la capacidad (distancia) de dispersión de las semillas en el límite altitudinal superior de la distribución natural en el Nevado de Toluca, con el propósito de establecer su patrón espacial de dispersión y potencial de migración altitudinal así como c) determinar la dimensión del banco de semillas de *L. montanus*, como resultado de la dispersión de semillas en ciclos reproductivos de años anteriores.

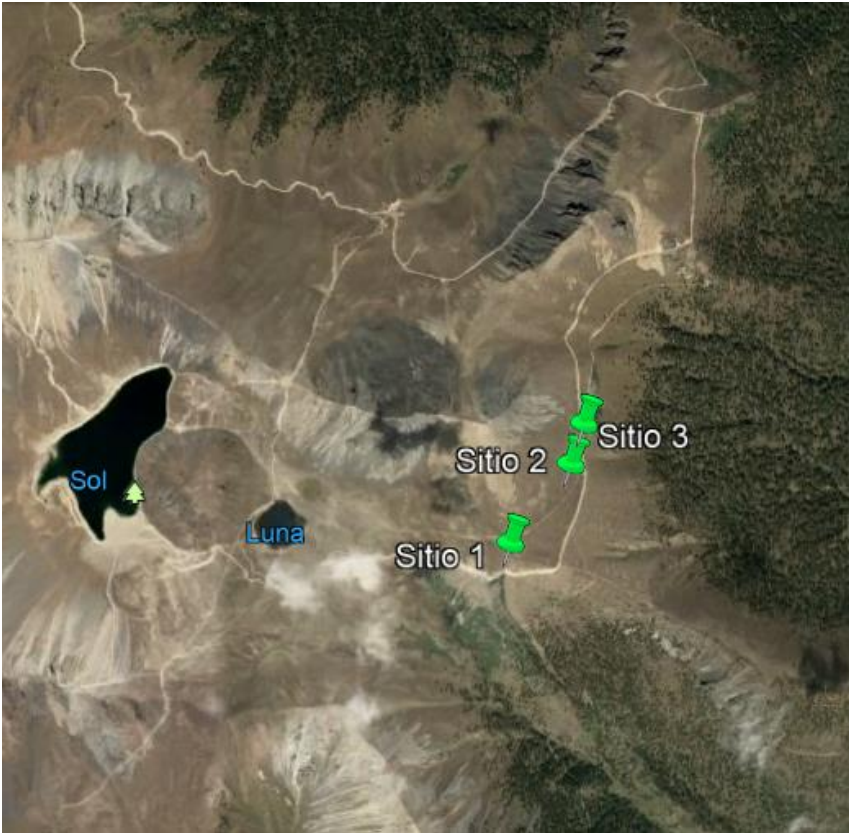
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1 Área de estudio

El estudio se realizó en el área de protección de flora y fauna Nevado de Toluca (APFF Nevado de Toluca) (Figura 1.1). El APFF se localiza en la porción centro-sur del Estado de México, con una superficie de 53,590 ha e incluye un volcán de 4660 m, cuarto lugar entre las montañas más alta de México, (SEMARNAT, 2016). El tipo de suelo predominante es el andosol, que ocupa 90 % del Área Natural Protegida (INEGI, 2000). Presenta un clima frío E(T)H wig y semifrío-subhúmedo C(E)wig según la clasificación de Köppen modificada por García (1973). El régimen de lluvias es de verano, aunque puede haber nevadas en invierno. La temperatura media mensual fluctúa entre 2 y 5 °C, mientras que la temperatura máxima extrema se eleva hasta 21 °C en el verano y la mínima extrema baja a -10 °C en invierno (SEMARNAT, 2016).

1.4.2 Determinación del banco de semillas

Este proceso se realizó en el mes de agosto del 2017, previo al ciclo de dispersión de ese año, con el propósito de hacer un conteo de semillas y considerar a éstas como un banco o reservorio de la especie. Se seleccionaron tres sitios de muestreo y en cada sitio se delimitaron cuatro polígonos de 25 m² (5 x 5 m) o sub-poblaciones (manchones con un mínimo de 10 plantas adultas) localizadas en el límite altitudinal superior de distribución de la especie (4200 m), separadas entre sí por al menos 100 m (Figura 1). Los sitios se ubicaron entre las coordenadas 19° 06.33' N 99° 44.64' O (sitio 1) y 19° 06.83' N 99° 44.47' O (sitio 3). Los polígonos se dividieron en 25 cuadros de 1 m² y de ellos se seleccionaron cinco al azar. En el centro de cada unidad se tomó una muestra de suelo con un cilindro de PVC de 20 cm de diámetro (314.16 cm²) y 5 cm de profundidad. Se recolectaron 60 muestras de suelo en total (1.88 m²) y se colocaron en bolsas de plástico. Las muestras se secaron a temperatura ambiente en un invernadero y se tamizaron con una malla de 1 mm x 1 mm de tamaño de poro para separar y contar el número de semillas de *L. montanus* presentes en ellas.



Sitio	Coordenadas
1	19° 06.33' N 99° 44.64' O
2	19° 06.60' N 99° 44.44' O
3	19° 06.83' N 99° 44.47' O

Figura 1.1. Localización geográfica de los sitios de estudio en el límite altitudinal superior de *Lupinus montanus* (4,200 m) en el APFF Nevado de Toluca, Estado de México, México.

1.4.3 Evaluación de la dispersión de la semilla

En el mes de octubre de 2017 se seleccionaron tres sub-poblaciones (manchones de *L. montanus*) en el límite altitudinal superior de su distribución, cercano a los 4,200 m. En cada sub-población se localizaron cinco plantas aisladas de otras plantas adultas, en estado reproductivo (15 plantas en total). Se muestreo este número de plantas debido a que no fue posible encontrar un mayor número de ellas aisladas de la población. En cada uno de los individuos elegidos se colocaron trampas a diferentes distancias (coladeras de plástico) de 12 cm de diámetro (113.09 cm²) y 5 cm de alto, con una malla de plástico en el interior para evitar el rebote de las semillas al momento de caer en la trampa. Las trampas se colocaron en forma de cruz, con la planta en el centro y a partir de ésta, se trazaron líneas que tuvieron una distancia de 2 m en dirección paralela y perpendicular a la pendiente del terreno. En total se colocaron 24 trampas de captura de semillas alrededor de cada planta. En la dirección perpendicular a la pendiente se colocó una trampa cada 50 cm a partir del centro y en la dirección paralela a la pendiente se colocó otra trampa cada 25

cm, ya que el interés principal fue detectar con mayor precisión la capacidad de dispersión a favor y en contra de la pendiente del terreno.

En cada lupino elegido se contó el número de vainas y de tallos, y se midió la altura de los tres tallos centrales más altos. Posteriormente, en una muestra de 50 vainas tomadas al azar de 10 plantas cercanas se determinó el número de semillas llenas por vaina, para estimar el potencial de producción de semillas por planta. Durante el periodo de octubre 2017 a enero 2018 se contó el número de semillas capturadas en las trampas cada semana y se obtuvo el total de semillas capturadas en cada una de ellas.

1.4.4 Análisis estadístico de los datos

Con los datos del banco de semillas, se estimó la cantidad de semillas por m² de terreno, y con el promedio de vainas por planta y de semillas por vaina se estimó el potencial de producción de semillas por planta. Para establecer la relación entre la producción de semillas y el tamaño de la planta, se estimó la correlación de Pearson entre el número potencial de semillas con la altura de planta y el número de tallos. También se realizó un análisis de varianza de una vía con un nivel de significancia de $p=0.05$ para evaluar diferencias entre las subpoblaciones en estas características de las plantas.

Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para determinar las posibles diferencias entre distancias en el número de semillas capturadas para cada una de las orientaciones en que se colocaron las trampas y en el promedio de todas ellas. Previo a las comparaciones entre distancias, los datos del número de semillas fueron transformados con la función de raíz cuadrada.

Adicionalmente, con los datos del número de semillas capturadas por trampa se ajustó la curva de dispersión de las semillas con respecto a la distancia de la planta madre, con el procedimiento Model de SAS (SAS, 2013), utilizando un modelo exponencial negativo (Bustamante, 1996) de la forma:

$$Y_j = a * \exp^{(bX_j)} \quad (\text{Ec. 1})$$

Dónde: Y_j = número de semillas capturadas en la j -ésima trampa; X_j = distancia (en cm) de la j -ésima trampa a la planta madre; a y b son los coeficientes del modelo de regresión a estimar.

Para determinar el posible efecto de la orientación (a favor vs. en contra de la pendiente o en dirección paralela vs. perpendicular a la pendiente) sobre la curva de dispersión de las semillas, se tomó como base la Ec. 1, de la que se derivó la siguiente ecuación:

$$Y_{ij} = (a + a_{oi}) * \exp^{(b + b_{oi})X_{ij}} \quad (\text{Ec. 2})$$

Dónde o_i = variable indicadora de la i -ésima orientación de dispersión de la semilla; las demás variables fueron definidas anteriormente.

Todos los análisis fueron realizados con el paquete estadístico SAS (SAS, 2013).

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1 Banco de semillas en el suelo

En la superficie muestreada (1.88 m²) se encontró un total de ocho semillas de *L. montanus*, lo que representa una densidad de 4.26 semillas por m⁻² de terreno. Todas las semillas encontradas fueron viables, pues se obtuvo 100 % de germinación. Al parecer, una cantidad importante de semillas queda almacenada en el suelo por algún tiempo para formar un banco de semillas persistente que puede ser a corto o largo plazo, en función de las condiciones climáticas del sitio y los mecanismos adaptativos de las semillas (Marañón, 2001). Las semillas de los lupinos poseen latencia física y hasta que se presentan condiciones favorables, a través de algún mecanismo o estímulo, se inicia la germinación (Pablo-Pérez *et al.*, 2013).

Los factores principales que afectan la persistencia de semillas en el suelo son la depredación y el ataque de patógenos (De Souza-Maia *et al.*, 2006); sin embargo, en las zonas árticas y alpinas la incidencia de estos factores es menor, lo cual favorece el mantenimiento de semillas viables en el suelo (McGraw y Vavrek, 1989). A pesar de que las semillas de *L. montanus* pueden ser consumidas por insectos, aves y roedores, los dos últimos grupos de animales también pueden ayudar en su dispersión, como se ha demostrado en otras especies, incluidas las fabáceas (Amico *et al.*, 2018). Este proceso puede ampliar el movimiento altitudinal de las semillas. El estudio de la dinámica de las semillas en el suelo es útil para comprender los procesos ecológicos involucrados en la dinámica de las poblaciones (Pérez y Santiago, 2001).

1.5.2 Capacidad de producción de semillas

Una planta de *L. montanus* tiene el potencial de producir, en promedio, más de 5,500 semillas por ciclo reproductivo, con un promedio de 637 vainas y 9 semillas llenas por vaina (Cuadro 1.1). No se encontraron diferencias significativas ($p=0.43$) entre las subpoblaciones muestreadas en su capacidad productiva. En cambio, se encontraron diferencias significativas con respecto al número de tallos ($p=0.045$) y altura de éstos ($p=0.0004$). Además, se encontró una correlación positiva

entre el número de vainas y el número de tallos ($r= 0.8602$, $p<0.0001$) y con la altura de éstos ($r= 0.9539$, $p<0.0001$). Es decir, el potencial de producción de semillas está fuertemente relacionado con el tamaño de las plantas, medido en términos de la altura o el número de tallos. Al parecer, la estrategia reproductiva de la especie es producir la mayor cantidad posible de tallos con la mayor longitud posible para que en cada uno de se produzca una inflorescencia que maximice la producción de semillas. Esta es una característica general de las Fabaceae, en donde la producción de rebrotes o tallos que generen estructuras reproductivas favorece la permanencia de los individuos adultos (Barchuk *et al.*, 2006).

Cuadro 1.1. Cantidad de vainas y potencial de producción de semillas (\pm error estándar) por planta (15 plantas en total) en tres subpoblaciones de *Lupinus montanus* en el Nevado de Toluca.

Subpoblación	No. de vainas por planta		Potencial de semillas	
	Media	Valores extremos	Media	Valores extremos
1	694.0 \pm 50.8	433–1016	6,246 \pm 56.8	3,897–9144
2	595.2 \pm 34.4	345–794	5,357 \pm 309.5	3,105–7176
3	623.2 \pm 12.9	521–699	5,608 \pm 116.4	4,689–6291

Los datos muestran que en esta especie existe un potencial elevado de producción de semillas por planta y mantiene las semillas a escasa profundidad del suelo como es característico de las Fabáceas (O’Connor y Pickett, 1992). Sin embargo, además del consumo de semillas por la fauna y el ataque de patógenos, el establecimiento de plántulas es un proceso difícil y hasta poco común en ambientes de alta montaña (Cabrera, 2002), por lo que la producción abundante de semillas puede compensar la mortandad alta de las plántulas producto de factores ambientales adversos como temperaturas congelantes, inestabilidad del suelo y escasez de nutrimentos (Escudero *et al.*, 2012).

1.5.3 Capacidad de dispersión de la semilla

Se encontraron diferencias significativas ($p<0.0001$) en el número de semillas capturadas en las trampas entre todas las distancias de 25 a 100 cm. La curva promedio de dispersión de las semillas con respecto a la distancia se ajustó de manera significativa ($p<0.01$) a un modelo exponencial negativo, con un coeficiente de determinación (R^2) de 0.85 (Figura 1.2). De acuerdo

con este modelo, 90 % de las semillas dispersadas por una planta cae dentro de 1 m de distancia, y menos de 3.2 % se dispersa de manera natural a 2 m o más de distancia de la planta madre.

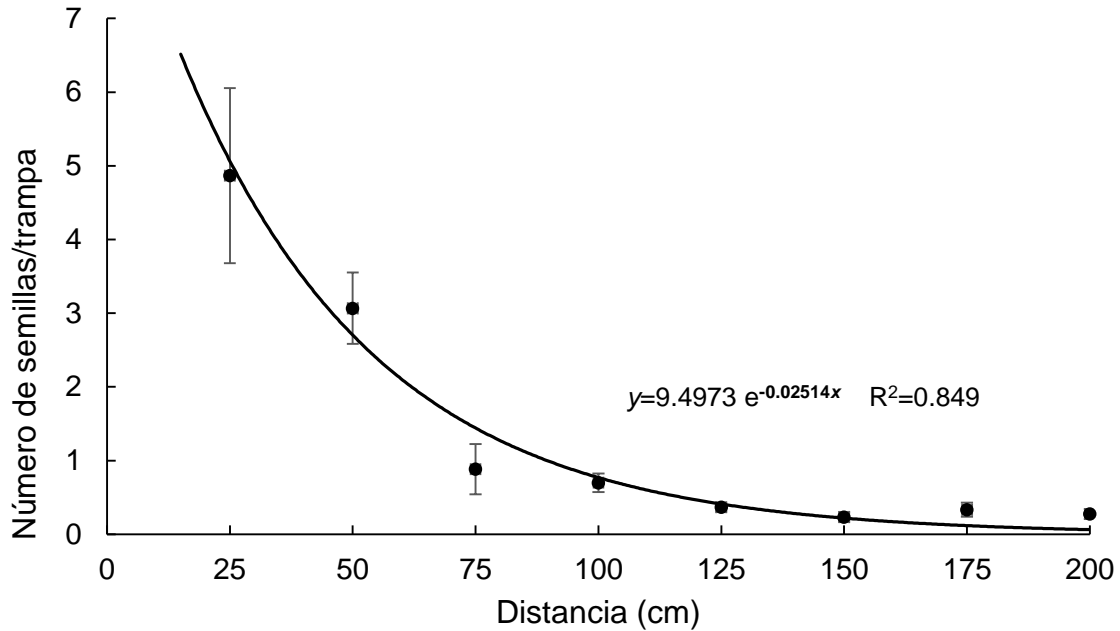


Figura 1.2. Patrón espacial de dispersión de semillas de *Lupinus montanus* (15 plantas en total) en promedio de las cuatro orientaciones de las trampas. La línea indica la distribución a la que se ajustaron los datos. Diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre todas las distancias de 25 cm a 100 cm.

Estos resultados de dispersión concuerdan con los datos presentados por Ruiz *et al.* (2010) para *Lupinus elegans* Kunth, pues también encontraron que la mayor cantidad de semillas se concentró cerca de la planta madre, con una distancia de dispersión limitada. En ese estudio se encontró que al aumentar la pendiente del terreno se capturan más semillas en las trampas colocadas pendiente abajo de las plantas, por lo que el ascenso hacia partes más elevadas fue limitado. Sin embargo, el movimiento geográfico de las semillas depende no solamente de la dispersión de la planta madre; factores como la velocidad y dirección del viento, ingestión y transporte por fauna o eventos de lluvia pueden ocasionar un desplazamiento de semillas a mayor distancia, en sitios alejados de la planta madre (García, 1991), lo cual puede favorecer el movimiento de la especie hacia sitios de mayor elevación.

En nuestro estudio no se encontró un efecto significativo ($p > 0.05$) de la orientación (paralelo o perpendicular) al ajustar el modelo exponencial con variables indicadoras (Ec. 2). Los parámetros estimados para la variable indicadora al comparar la orientación a favor vs. en contra

de la pendiente, o la dirección paralela vs. perpendicular a la pendiente, no fueron significativos (Cuadro 1.2). En ambos casos se observa que las curvas ajustadas de dispersión de las semillas son similares (Figura 1.3).

Cuadro 1.2. Valor de significancia (p) de los parámetros estimados en el modelo exponencial negativo ajustado a la curva de dispersión de las semillas de *Lupinus montanus* (15 plantas en total) en diferentes direcciones con respecto a la pendiente del terreno en el Nevado de Toluca.

Parámetro	Significado	Valor estimado	Error estándar	p
1) <u>A favor vs. en contra de la pendiente:</u>				
a	Modelo base (contra la pendiente)	17.3063	6.4033	0.0130
b	Modelo base (contra la pendiente)	-0.0487	0.0129	0.0011
a ₀₁	Efecto a favor de la pendiente	-8.8809	7.3411	0.2328
b ₀₁	Efecto a favor de la pendiente	0.0249	0.0154	0.1117
2) <u>Paralelo vs. perpendicular a la pendiente:</u>				
a	Modelo base (paralelo a la pend.)	10.8482	2.0550	<0.0001
b	Modelo base (paralelo a la pend.)	-0.0332	0.0055	<0.0001
a ₀₁	Efecto perpendicular a la pendiente	5.9361	7.6688	0.4416
b ₀₁	Efecto perpendicular a la pendiente	0.0035	0.0098	0.7205

La semilla de *L. montanus* se dispersó de manera simétrica en las cuatro orientaciones. La pendiente del terreno (alrededor de 30%) no favoreció la dispersión hacia alguna orientación en particular, a favor o en contra de la pendiente. La mayoría de las especies de *Lupinus* tienen un mecanismo de dispersión balística (autocoria): las vainas se secan y se abren de forma explosiva, expulsando las semillas como máximo a unos pocos metros de separación de las plantas madre (Nevado *et al.*, 2018), por ejemplo, *Lupinus texensis* Hook, lanza sus semillas de 0 a 4 m (Turner *et al.*, 2017). En este estudio, el muestreo se hizo hasta 2 m de distancia, por lo que en estudios posteriores podría determinarse el alcance de dispersión ampliando la distancia de las trampas.

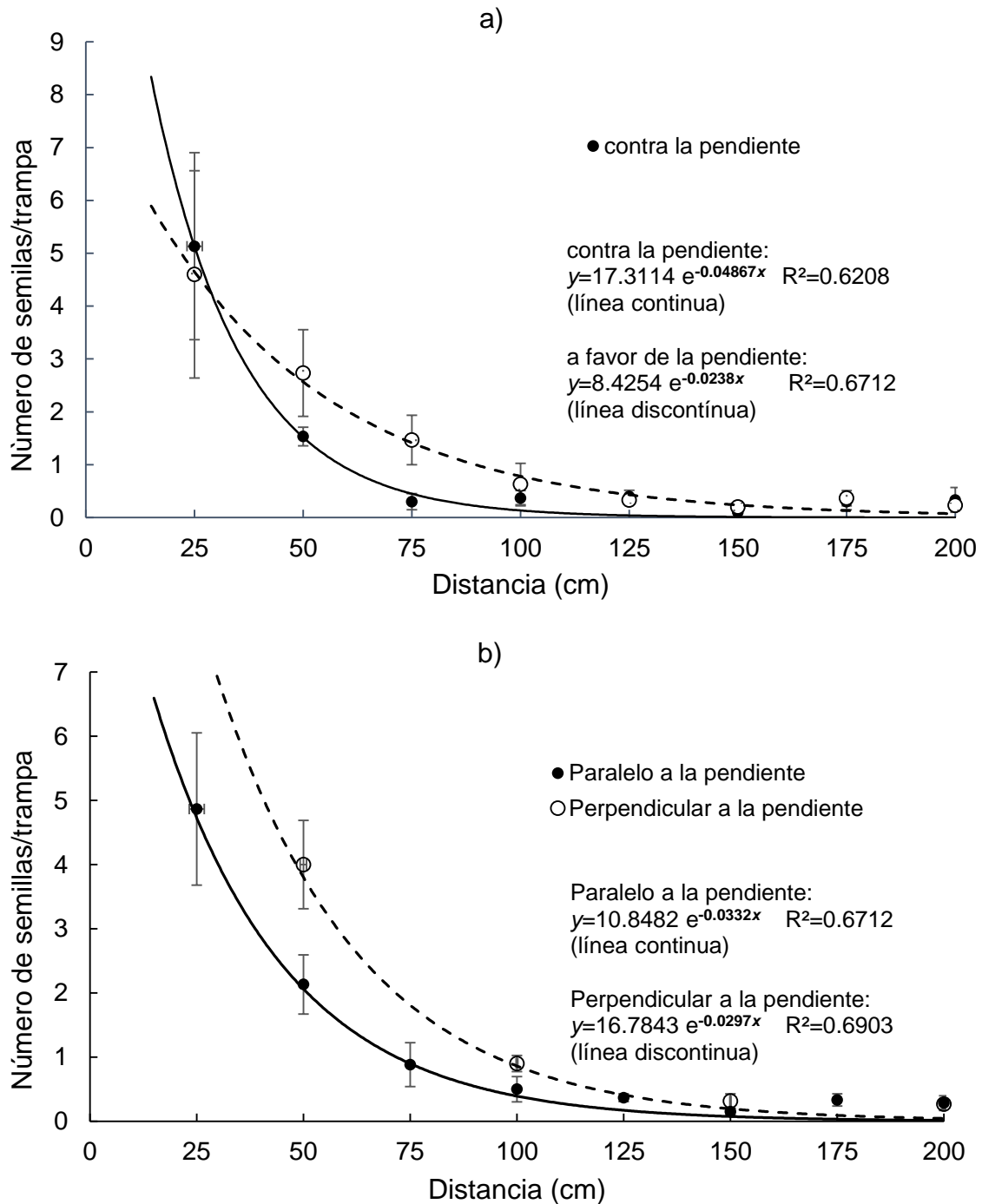


Figura 1.3. Patrón espacial de dispersión de semillas de *Lupinus montanus* en el Nevado de Toluca; (a) a favor y en contra de la pendiente; (b) en dirección paralela y perpendicular a la pendiente (15 plantas en total). Las líneas muestran las curvas ajustadas a cada serie de datos. No se encontró un efecto significativo ($p \leq 0.05$) de la orientación.

La dispersión de semillas es la fase demográfica más importante para el movimiento de las plantas en el espacio; el establecimiento o su supervivencia dependerá de los mecanismos de

adaptación, resistencia y establecimiento (Ooi, 2012). En este estudio se muestra que *L. montanus* libera una gran cantidad de semillas en cada ciclo reproductivo que no alcanza una distancia lejana. Esta cercanía a la planta madre también tiene consecuencias genéticas ya que el establecimiento local de propágulos resulta en un agrupamiento de individuos genéticamente emparentados (Rovere y Premoli, 2005). Sin embargo, si estos manchones persisten, se reproducen y liberan semillas, podrían representar una oportunidad de avance para la especie hacia otros lugares y modificar la dinámica poblacional y comunitaria de las plantas (Wang y Smith, 2002). Con el incremento en temperatura asociado al cambio climático, el proceso de migración de especies puede provocar desplazamientos y una nueva distribución de ellas (Aitken *et al.*, 2008). Evaluar la dinámica de dispersión de las semillas y sus efectos demográficos en especies como los lupinos contribuye a entender los posibles impactos derivados del cambio climático en zonas de alta montaña.

Sánchez-Sánchez *et al.* (2015) muestran que en *Clusia salvinii* Donn. Smith las plantas que producen cosechas pequeñas logran dispersar todos sus frutos a diferencia de aquellas que producen cosechas grandes. El estudio de la dispersión de semillas contribuye al conocimiento de la colonización de nuevas áreas. Es importante continuar con la observación a largo plazo de la dispersión de semillas de *L. montanus* pues la oscilación en el tiempo también marca una dinámica particular con respecto al ascenso o retroceso de esta especie en la zona alpina. De acuerdo con la distancia de dispersión, existe la posibilidad de aumentar la colonización de sitios a mayor elevación. Sin embargo, el cambio climático que ocurre en un lapso de tiempo corto, podría ser un factor limitante en el establecimiento de las poblaciones en esos sitios.

1.6 CONCLUSIONES

Lupinus montanus produce y dispersa una gran cantidad de semillas, pero la mayoría de ellas se queda cerca de la planta madre, lo cual limita la velocidad de expansión hacia otras áreas. Sin embargo, la distribución uniforme en todas las orientaciones podría ser una ventaja constante pues la pendiente de terreno no representa un factor limitante para el movimiento altitudinal de la especie. La capacidad reproductiva alta de la especie, asociada en forma positiva a la altura y el número de tallos, permite que, de no ser depredadas, se incorporen al banco de semillas en el suelo en espera de condiciones que permitan su germinación, o aprovechen la ingesta por animales para moverse hacia otras zonas y establecerse. La post-dispersión puede ser un factor importante en

esta dinámica y aceleraría la colonización de áreas de mayor altitud, condición favorable en el contexto del aumento de temperatura ligado al cambio climático.

1.7 LITERATURA CITADA

- Abraham de Noir, F., S. Bravo y R. Abdala. 2002. Mecanismos de dispersión de algunas especies de leñosas nativas del Chaco Occidental y Serrano. *Quebracho* 9: 140-150.
- Acosta-Percástegui, J. and D. A. Rodríguez-Trejo. 2005. Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia* 30(9): 576-579.
- Aitken, S. N., S. Yeaman, J. A. Holliday, T. Wang and S. Curtis-McLane, 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications* 1: 95-111.
- Amico, G. C. y M. A. Aizen. 2005. Dispersión de semillas por aves en un bosque templado de Sudamérica austral: ¿Quién dispersa a quién? *Ecología Austral* 15: 89-100.
- Barchuk, A. H., E. B. Campos, C. Oviedo y M. del P. Díaz. 2006. Supervivencia y crecimiento de plántulas de especies leñosas del Chaco Árido sometidas a remoción de la biomasa aérea. *Ecología Austral* 16(1): 47-61.
- Bustamante, R. O. 1996. Depredación de semillas en bosques templados de Chile. en: J. Armesto, C. Villagrán y M. T. Arroyo, (eds.). *Ecología de los bosques nativos de Chile*. Editorial Universitaria. Santiago de Chile, Chile. pp: 265-278.
- Byars, S. G., W. Papst and A. A. Hoffmann. 2007. Local adaptations and cogradient selection in the alpine plant, *Poa hiemata*, along a narrow altitudinal gradient. *Evolution* 61(12): 2925-2941.
- Cabrera, H. M. 2002. Respuestas ecofisiológicas de plantas en ecosistemas de zonas con clima mediterráneo y ambientes de altamontaña. *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 625-637.
- De Souza Maia M., F. C. Maia y M. A. Pérez, 2006. Bancos de semillas en el suelo. *Agriscientia* 23(1): 33-44.
- Dunn, D. B. 2001. *Lupinus*. In: G. R. Calderón de R. y J. Rzedowski. *Flora Fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A. C. CONABIO. Pátzcuaro, Michoacán, México. 983p.
- Escudero, A., R. García-Camacho, A. García-Fernández, R. Gavilán, G., L. Giménez-Benavides, J. Iriondo, C. Lara-Romero, J. Morente y D. Pescador. 2012. Vulnerabilidad al cambio global en la alta montaña mediterránea. *Ecosistemas* 21(3): 63-72.
- García, A. 1991. La dispersión de las semillas. *Ciencias* 24: 3-6.
- INEGI (Instituto Nacional de Geografía y Estadística). 2000. *Cartografía Edafológica Temática*, escala 1:250,000. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.

- Jump, A. S. and J. Peñuelas. 2005. Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters* 8: 1010- 1020.
- Marañón, T. 2001. Ecología del banco de semillas y dinámica de comunidades mediterráneas. *In*: R. Zamora R. y F. I. Pugnaire de Iraola, (eds). *Ecosistemas mediterráneos. Análisis funcional*. CSIC/AEET. pp: 153-181.
- McGraw, J. B. and M. C. Vavrek, 1989. The role of buried viable seeds in arctic and alpine plant communities. *In*: M. A. Leck, V. T. Parker y R. L. Simpson, (eds.), *Ecology of soils seed banks*. Academic Press, San Diego. pp: 91-105.
- Nevado, B., N. Contreras-Ortiz, C. Hughes and D. A. Filatov. 2018. Pleistocene glacial cycles drive isolation, gene flow and speciation in the high-elevation Andes. *New Phytologist* 219(2): 779-793.
- O'Connor, T. G. and G. A. Pickett. 1992. The influence of grazing on seed production and seed banks of some African savanna grasslands. *Journal of Applied Ecology* 29(1): 247–260.
- Ooi, M. K. J. 2012. Seed bank persistence and climate change. *Seed Science Research* 22 (Supplement S1): S53-S60.
- Pablo-Pérez M., L. del C. Lagunes-Espinoza, J. López-Upton, J. Ramos-Juárez y E. M. Aranda-Ibáñez. 2013. Morfometría, germinación y composición mineral de semillas de *Lupinus silvestres*. *Bioagro* 25(2): 101-108.
- Pearson, R. G. 2006. Climate change and the migration capacity of species. *Trends in Ecology and Evolution* 21(3): 111-113.
- Peñuelas, J., I. Filella and P. Comas, 2002. Changed plant and animal life cycles from 1952 to 2000 in the Mediterranean region. *Global Change Biology* 8: 531-544.
- Perea, R. 2012. Dispersión y predación de semillas por la fauna: Implicaciones en la regeneración forestal de bosques templados. *Ecosistemas* 21(1-2): 224-229.
- Pérez, E. M. y Y. E. T. Santiago. 2001. Dinámica estacional del banco de semilla en una sabana en los Llanos Centro-Orientales de Venezuela. *Biotropica* 33(3): 435-446.
- Rovere, A. E. y A. C. Premoli. 2005. Dispersión asimétrica de semillas de *Embothrium coccineum* (Proteaceae) en el bosque templado de Chiloé, Chile. *Ecología Austral* 15: 1-7.
- Ruiz, R. S., M. Gómez, R. y R. Lindig, C. 2010. Lluvia de semillas de *Lupinus elegans* Kunth. en un proyecto de restauración ecológica. *Biológicas* 12(2): 72-74.
- Sáenz-Romero, C., R. A. Lindig-Cisneros, D. G. Joyce, J. Beaulieu, J. Bradley St. C and B. C. Jaquish. 2016. Assisted migration of forest populations for adapting trees to climate change. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 22(3): 303-323.
- Sánchez-Sánchez, H., J. Manjarrez, C. A. Domínguez-Tejada and A. Morquecho-Contreras. 2015. Individual variance in the attributes of *Clusia salvinii* Donn. Smith associated with the

- attraction of frugivores in the dispersal of fruits and seeds. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 21(3): 307-316.
- SAS (Statistical Analysis System). 2013. SAS Institute Inc. Cary, NC USA.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2016. Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca. Ciudad de México, México.
- Soto-Correa, J. C., R. Lindig-Cisneros y C. Sáenz-Romero. 2014. Migración asistida de *Lupinus elegans* Kunth en ensayos de jardín común en campo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 37(2): 107-116.
- Tercero-Burcado, N. y A. E. Rovere. 2010. Patrones de dispersión de semillas y colonización de *Misodendrum punctulatum* (Misodendraceae) en un matorral postfuego de *Nothofagus antarctica* (Nothofagaceae) del noroeste de la Patagonia. *Revista Chilena de Historia Natural* 83(3): 375-386.
- Thompson, K. and M. Fenner. 1992. The functional ecology of seed banks. In: M. Fenner (ed.) *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, UK, pp: 231-258.
- Tognetti, P. M., N. Mazia and G. Ibáñez. 2019. Seed local adaptation and seedling plasticity account for *Gleditsia triacanthos* tree invasion across biomes. *Annals of Botany* 124(2): 307-318.
- Turner, K. G., D. I. Huang, Q. C. B. Cronk and L. H. Rieseberg. 2017. Homogenization of populations in the Wildflower, Texas bluebonnet (*Lupinus texensis*). *Journal of Heredity* 109(2): 152-161.
- van Den, E. C. L., E. A. La Rue and N. C. Emery. 2016. Oh, the places you'll go! Understanding the evolutionary interplay between dispersal and habitat adaptation as a driver of plant distributions. *American Journal of Botany* 103(12): 2015-2018.
- Wang, B. C. and T. B. Smith. 2002. Closing the seed dispersal loop. *Trends in Ecology & Evolution* 17(8): 379-385.

CAPÍTULO II. PLASTICIDAD Y ADAPTACIÓN LOCAL EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE *Lupinus montanus* Kunth PROVENIENTES DEL NEVADO DE TOLUCA EN RESPUESTA A LA TEMPERATURA

2.1 RESUMEN

La plasticidad fenotípica y la adaptación local son los principales mecanismos adaptativos que poseen las plantas para establecerse y prosperar en ambientes heterogéneos. En el proceso de germinación es común que haya una amplia variación entre poblaciones pues es una etapa sujeta a una fuerte presión de selección natural y con alto valor adaptativo. Sin embargo, hay pocos estudios que examinen las implicaciones ecológicas de la respuesta plástica y la adaptación local como estrategias de permanencia en ecosistema de las especies alpinas, debido a que los efectos del cambio ambiental se manifiestan de manera rápida. Se evaluó el efecto de la temperatura (5, 9, 13 y 17°C) en la dinámica de germinación de la semilla, la respuesta de las poblaciones, el grado de adaptación local y de plasticidad fenotípica en los parámetros de germinación de ocho poblaciones de *Lupinus montanus* provenientes del APFF Nevado de Toluca ubicadas a lo largo de un gradiente altitudinal. El aumento de temperatura afectó en forma negativa la capacidad de germinación (de 99 a 93 %), pero aceleró la velocidad del proceso, reduciéndose en 50 % o más el tiempo de activación de la germinación y de germinación media y se aumentó la homogeneidad de la germinación con respecto a la temperatura de 5 °C. La mayoría de los parámetros de germinación mostraron una relación cuadrática significativa con la elevación de origen de las poblaciones. Las poblaciones de elevaciones intermedias presentaron mayor capacidad germinativa, velocidad de germinación y homogeneidad de germinación que las poblaciones de los extremos del gradiente altitudinal. En las poblaciones del extremo inferior del gradiente altitudinal se detectó un efecto de adaptación local para algunos de los parámetros de germinación. También se encontraron diferencias en el grado de plasticidad fenotípica entre poblaciones, con una mayor plasticidad en las poblaciones de los dos extremos del gradiente que en las poblaciones intermedias. Estos resultados indican que las poblaciones de *L. montanus* tienen capacidad para ajustar la dinámica de germinación de la semilla ante el aumento de temperatura en su ambiente natural asociado al cambio climático.

Palabras clave: germinación, temperatura, poblaciones, semillas

2.2 ABSTRACT

Phenotypic plasticity and local adaptation are the main adaptive mechanisms that plants have to establish and thrive in heterogeneous environments. In the germination process it is common for there to be a wide variation between populations as it is a stage subject to strong pressure of natural selection and with high adaptive value. However, there are few studies that examine the plastic response and its ecological implications, mainly in the context of climate change in which these mechanisms play a relevant role as strategies for the permanence in the ecosystem of alpine species, due to the fact that the effects of environmental change manifest quickly. It was evaluated the effect of temperature (5, 9, 13 and 17 ° C) on the seed germination dynamics, the response of the populations, the degree of local adaptation and phenotypic plasticity in the germination parameters of eight populations was evaluated. of *Lupinus montanus* from the APFF Nevado de Toluca located along an altitude gradient. The increase in temperature negatively affected the germination capacity (from 99 to 93 %), but the speed of the process was accelerated, reducing the germination activation time and medium germination time by 50 % or more and germination homogeneity was increased with respect to the temperature of 5 °C. Most of the germination parameters showed a significant quadratic relationship with the elevation of origin of the populations. The populations of intermediate elevations presented higher germination capacity, germination speed and germination homogeneity than the populations at the extremes of the altitudinal gradient. In populations at the lower end of the altitudinal gradient, a local adaptation effect was detected for some of the germination parameters. Differences were also found in the degree of phenotypic plasticity between populations, with greater plasticity in the populations at the two ends of the gradient than in the intermediate populations. These results indicate that the populations of *L. montanus* have the capacity to adjust the germination dynamics of the seed to the increase in temperature in their natural environment associated with climate change.

Keywords: germination, temperature, populations, seeds.

2.3 INTRODUCCIÓN

Las plantas, han desarrollado mecanismos para modificar su fisiología, morfología y fenología con el propósito de optimizar su funcionamiento en las condiciones ambientales en que se establecieron. La capacidad de un genotipo determinado para expresar fenotipos diferentes cuando se expone a diferentes condiciones ambientales se conoce como plasticidad fenotípica (Sultan, 2000; Pigliucci *et al.*, 2006). La plasticidad fenotípica es un mecanismo, producto de la evolución adaptativa, por lo que varía entre genotipos, poblaciones y especies. Este mecanismo es particularmente importante en el proceso adaptativo de las especies, ya que permite que los organismos ajusten a corto plazo su fisiología y morfología ante los cambios en las condiciones ambientales locales que ocurren durante su ciclo de vida (Sultan, 2000).

La variación espacio-temporal de las condiciones ambientales también expone a los organismos a distintas presiones de selección que conducen a la adaptación de las poblaciones a su ambiente local (Dudley, 1996; Kawecki y Ebert, 2004; Matesanz *et al.*, 2020). Los cambios micro-evolutivos asociados a este proceso aumentan la diferenciación genética de las poblaciones y con el paso de las generaciones se pueden distinguir ecotipos adaptados al sitio (Nagy y Rice, 1997; Galloway y Fenster, 2000; Giménez-Benavides *et al.*, 2007; Hereford, 2009). La adaptación local generada por la selección natural divergente permite maximizar el desempeño de los organismos en respuesta a las condiciones del ambiente local en que han evolucionado las poblaciones de una especie (Galloway y Fenster, 2000; Kawecki y Ebert, 2004).

La plasticidad fenotípica y la diferenciación genética son los principales mecanismos adaptativos que poseen las plantas para establecerse y prosperar en ambientes altamente heterogéneos en escalas de espacio y tiempo (Sexton *et al.*, 2002; Molina-Montenegro y Cavieres 2010; Matesanz *et al.*, 2012, 2020). Las dos estrategias son complementarias, pues la plasticidad fenotípica puede inicialmente permitir el establecimiento de una especie, y una vez establecida, la recombinación genética de fenotipos heredables permite responder a la presión de selección local, obteniendo ecotipos adaptados con mayor adecuación biológica (Ellstrand y Schierenbeck, 2000, Sexton *et al.*, 2002, Maron *et al.*, 2004). Sin embargo, la importancia relativa de estos dos mecanismos puede variar entre especies en función de diferentes factores asociados al proceso evolutivo (Matesanz *et al.*, 2020). En algunos estudios se ha demostrado que la plasticidad puede ocasionar la aparición de fenotipos funcionales para diferentes ambientes, lo cual impide la

diferenciación genética y la formación de ecotipos adaptados localmente (Nicotra *et al.*, 2010; Matesanz *et al.*, 2012; van Wallendael *et al.*, 2018).

La respuesta fenotípica de los individuos o poblaciones a los cambios en un factor ambiental determinado se puede caracterizar a través de la determinación de su norma de reacción (Nicotra *et al.*, 2010). La norma de reacción proporciona información sobre la dirección y magnitud del cambio fenotípico provocado en respuesta a la variación del ambiente y se puede comparar entre genotipos, poblaciones o especies (Arnold *et al.*, 2019; Ghalambor *et al.*, 2007). Las plantas exhiben una variedad de formas de respuesta plástica a cambios ambientales y con un marco estadístico apropiado se puede determinar el nivel y la magnitud de la plasticidad, y sus implicaciones en los procesos ecofisiológicos y adaptativos de las poblaciones naturales (Arnold *et al.*, 2019).

En el contexto del cambio climático, la plasticidad fenotípica y la adaptación local juegan un papel particularmente relevante en las especies de distribución alpina, donde los efectos de este fenómeno se manifiestan de manera más rápida (Lenoir *et al.*, 2008; Nicotra *et al.*, 2010; Draghi y Whitlock, 2012). En los ecosistemas alpinos la permanencia de las poblaciones naturales dependerá de su capacidad de adaptación, en función de la estructura y diversidad genética poblacional y de la plasticidad fenotípica de la especie, así como de la velocidad y capacidad de migración de la especie y de las barreras que impidan su movimiento espacial (Pigliucci *et al.*, 2006; Lenoir *et al.*, 2008; Greenwood *et al.*, 2014). Los ecosistemas alpinos son ideales para explorar la diferenciación adaptativa de las poblaciones debido a los gradientes ambientales asociados con el cambio altitudinal, que permiten distinguir los efectos de la selección natural a pesar del flujo genético entre ellas (Gonzalo-Turpin y Hazard, 2009; Sexton *et al.*, 2011). Es común que en estos ecosistemas existan niveles de variación genética entre y dentro de poblaciones en características de valor adaptativo en diferentes etapas del ciclo de vida, incluyendo la germinación de la semilla (Hernández-Verdugo *et al.*, 2010).

La germinación es una etapa crucial en el establecimiento de los individuos, por lo que comúnmente está sujeta a una fuerte presión de selección natural y tiene un alto valor adaptativo (González-Zertuche y Orozco-Segovia, 1996; Meyer *et al.*, 1997). Debido a ello, es común que exista variación entre poblaciones en la capacidad y dinámica de la germinación en respuesta a condiciones ambientales específicas, (Meyer *et al.*, 1997; Boydak *et al.*, 2003; García *et al.*, 2007; Cortés-Cabrera *et al.*, 2018). Sin embargo, hay pocos estudios que examinen la respuesta plástica

de las plantas en la dinámica de germinación y sus implicaciones ecológicas; por ejemplo, en el éxito del establecimiento o en la capacidad de adaptación a las nuevas condiciones ambientales asociadas con el cambio climático (Pigliucci, 1997; Sultan, 2000).

La regeneración a partir de semillas juega un papel muy importante en la respuesta de las especies a estos cambios en el clima pues puede impedir, mejorar o retrasar este proceso. El papel de la temperatura en la germinación de semillas es fundamental ya que está estrechamente relacionada con la actividad enzimática responsable de las tasas de germinación (Bewley *et al.*, 2013). El aumento en temperatura derivado del cambio climático tiene un efecto directo sobre la dinámica de las poblaciones (Santana *et al.*, 2010). Sin embargo, este efecto sobre la germinación de plantas alpinas no ha sido investigado ampliamente.

El género *Lupinus* desempeña un papel importante en los bosques pues su presencia implica una entrada continua de nitrógeno para los árboles (Beets, 1996; Mattson, 2007). Las poblaciones naturales de *Lupinus* en México crecen en caminos, laderas de cerros y en ecosistemas a altitudes del nivel del mar hasta más de 4000 m (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2012). *Lupinus montanus* Kunth, se distribuye principalmente en las zonas montañosas del Eje Neovolcánico Transversal (Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo, 2005) y presenta una alta diversidad genética a pesar de su variación morfológica reducida (Ferval *et al.*, 2013). El cambio climático puede influenciar la distribución de *L. montanus* y su papel en la sucesión de los bosques, y puede utilizarse como modelo biológico para entender las posibles respuestas adaptativas de especies vegetales alpinas al cambio climático (Soto-Correa *et al.*, 2012, 2013; Ferval *et al.*, 2013).

No existe información sobre la dinámica de germinación de la semilla de esta especie en diferentes escenarios térmicos, que permita determinar el grado de adaptación local y plasticidad en este proceso. Por ello, este trabajo tiene como objetivos a) evaluar el efecto de la temperatura en la dinámica de germinación de semillas de *L. montanus* recolectadas en diferentes poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal; b) determinar las diferencias entre poblaciones en la capacidad y dinámica de germinación de la semilla; y c) evaluar el grado de adaptación local y plasticidad fenotípica de las poblaciones en la dinámica de germinación de la semilla en respuesta a la temperatura.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Material vegetal y establecimiento del ensayo

En el presente estudio se utilizaron semillas de *L. montanus* recolectadas en 2017 en el área de protección de flora y fauna Nevado de Toluca (APFF Nevado de Toluca). El APFF se localiza en la porción centro-sur del Estado de México, con una superficie de 53,590 ha e incluye un volcán de 4,660 m, cuarto lugar entre las montañas más altas de México (SEMARNAT, 2016). La semilla se recolectó en poblaciones naturales de *L. montanus* a lo largo de un transecto altitudinal, que consistió en 8 localidades (puntos de muestreo) ubicadas cada 100m de elevación, desde los 3,500 hasta los 4,200m. En cada localidad se recolectaron vainas maduras de diez plantas sin daños visibles. Las vainas se secaron en bolsas de papel en un invernadero por 10 días; posteriormente las semillas fueron extraídas y se seleccionaron 80 semillas al azar de cada planta con la finalidad de tener una muestra de 800 semillas por localidad.

En el ensayo de germinación se utilizaron cuatro repeticiones de 50 semillas por localidad y por condición de temperatura (5, 9, 13y 17 °C). El ensayo se estableció en un arreglo factorial 4 x 8 en un diseño experimental de parcelas divididas en bloques al azar con cuatro repeticiones. En las parcelas grandes (cámaras de ambiente controlado) se asignó el factor temperatura, con cuatro niveles y los bloques anidados en ellas. En las parcelas chicas se asignaron las poblaciones de semilla (8 localidades recolectadas en el transecto altitudinal). Previo a la siembra de las semillas, éstas fueron desinfectadas con una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 10 % y se escarificaron físicamente rasgando cuidadosamente la testa con una pinza metálica. Cada repetición (unidad experimental) se colocó en una charola de plástico con tapa, sobre toallas de papel húmedo en las que se numeró cada semilla para su identificación. Las charolas se distribuyeron al azar en cámaras de ambiente controlado del Departamento de Campos Experimentales del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Las temperaturas de evaluación se eligieron con base en los datos de temperatura media anual actual en el Nevado de Toluca a los 4200 m (5 °C) y 3500 m (9 °C) estimados con el modelo Climate NA v6.22 (Wang *et al.*, 2016).

Adicionalmente se consideraron dos escenarios (13 y 17 °C) de aumento de temperatura asociados a los pronósticos de cambio climático en las próximas décadas (Sáenz-Romero *et al.*,

2010), uno de ellos un tanto extremo, para “forzar” la respuesta plástico-adaptativa de las poblaciones.

2.4.2 Parámetros de germinación

Las semillas de *L. montanus* germinadas en cada unidad experimental se contaron cada 24 h durante un periodo de 15 días. Se consideró una semilla germinada cuando la radícula alcanzó la longitud de la semilla. Se utilizó el software Germinator (Joosen *et al.*, 2010) para obtener los parámetros de germinación para cada repetición. Germinator permite ajustar la curva acumulativa de germinación con la función matemática conocida como función de Hill y estimar los parámetros asociados a dicha función (El-Kassaby *et al.*, 2008):

$$Y = Y_0 + \frac{ax^b}{c^b + x^b}$$

Dónde: Y= porcentaje de germinación acumulada en el tiempo X; Y_0 = intercepto en el eje de las Y; a = máximo porcentaje de germinación acumulada (PGM, por sus siglas en inglés); b = parámetro relacionado con la forma y pendiente de la curva (B), cuanto más grande es el valor de b , más rápido es el aumento hacia a ; y c = tiempo requerido para alcanzar el 50 % de la germinación máxima (T_{50}), que denota la velocidad de germinación. Además de los parámetros a , b y c , estimados por el modelo, de las curvas ajustadas se derivaron los parámetros: d) uniformidad de la germinación (T_{16-84}), lapso de tiempo transcurrido entre el 16 y 84 % de la germinación; e) tiempo de activación (T_{05}), tiempo para alcanzar el 5 % de germinación máxima; y f) área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés), que permite obtener de una manera integral un índice de germinación, ya que los lotes con mayor AUC tienen una germinación más rápida y homogénea (Joosen *et al.*, 2010).

2.4.3 Análisis estadístico

Con los parámetros derivados de las curvas de germinación para cada muestra se realizó un análisis de varianza con el procedimiento MIXED de SAS, versión 9.4 (SAS, 2013) con variables repetidas con fecha y con hoja para determinar la significancia de los efectos individuales de los dos factores en estudio (temperatura y poblaciones) y de su interacción, de acuerdo con el modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_{j(i)} + P_k + T_i * P_j + \epsilon_{ijk}$$

Dónde: Y_{ijk} = valor observado en la unidad experimental asociada con la i -ésima temperatura, j -ésima repetición de la k -ésima población; μ = media general; T_i = efecto fijo de la

i -ésima condición de temperatura; $B_{j(i)}$ = efecto aleatorio de la j -ésima repetición dentro de la i -ésima condición de temperatura; P_k = efecto fijo de la k -ésima población; $T_i * P_j$ = efecto fijo de la interacción temperatura x población; y ε_{ijk} = error experimental.

En los parámetros de germinación que presentaron un efecto significativo de las poblaciones, se realizó un análisis de regresión lineal para determinar el patrón altitudinal de los valores promedio de las poblaciones (Y_i) con respecto a su altitud. Además, en los parámetros de germinación que mostraron un efecto significativo de la interacción temperatura x población se realizó un análisis gráfico para evaluar los posibles efectos de adaptación local de las poblaciones a la temperatura. Para ello se determinó la diferencia de temperatura de cada ambiente de germinación con respecto a la temperatura “local” estimada para cada población con el modelo “Climate NA” (Wang *et al.*, 2016) descrito anteriormente. Este procedimiento permite evaluar el cambio en los parámetros de germinación de cada población conforme aumenta la diferencia (positiva o negativa) en la temperatura de germinación con respecto a la del sitio de origen (ambiente “local”).

Con el propósito de comparar el nivel de plasticidad fenotípica entre las poblaciones en la respuesta a la temperatura de germinación, se estimó la norma de reacción a la temperatura de germinación para cada población, mediante un análisis de regresión lineal de los parámetros de germinación con respecto a la temperatura del ambiente de germinación. También se calculó el índice simplificado de plasticidad fenotípica de distancia relativa (RDPI_S; por sus siglas en inglés) para los parámetros de germinación de cada población, con la ecuación propuesta por Valladares *et al.* (2006):

$$RDPI_S = \frac{\sum \left(\frac{X_{ij} - X_{ij'}}{X_{ij} + X_{ij'}} \right)}{n}$$

Dónde: RDPI_S es el valor de RDPI_S para la i -ésima población; X_{ij} es el valor promedio de la característica X para la i -ésima población en el j -ésimo ambiente); $X_{ij'}$ es el valor promedio de la característica X para la i -ésima población en el j' -ésimo ambiente, distinto de j ; y n es el número total de distancias entre ambientes distintos comparados para cada población. El valor del RDPI_S varía desde 0 (plasticidad nula) hasta 1 (máxima plasticidad) (Valladares *et al.*, 2006).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1 Efecto de la temperatura en la germinación de las semillas

Existieron efectos significativos ($p \leq 0.05$) de la temperatura en todos los parámetros de germinación de las semillas (Cuadro 2.1). El aumento de temperatura, con respecto a la temperatura promedio típica en el ambiente natural de las poblaciones de *L. montanus*, tuvo un efecto negativo sobre la capacidad germinativa, que se redujo de 99 a 93 % al modificar la temperatura de 5 a 17 °C. Sin embargo, la velocidad del proceso aumentó conforme se incrementó la temperatura; por ejemplo, el tiempo para alcanzar el 50 % de la germinación máxima (T_{50}) y el tiempo de activación (T_{05}) se redujeron en 50 % o más con respecto al tratamiento testigo (5 °C). Lo anterior, aumentó la homogeneidad de la germinación (T_{16-84}) y el área total bajo la curva (AUC), aunque en el parámetro de inclinación de la curva (B) no hubo diferencias entre las condiciones extremas de temperatura (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Valores promedio (\pm error estándar) de los parámetros de germinación de semillas de poblaciones de *Lupinus montanus* en diferentes condiciones de temperatura.

Temperatura						
(°C)	PGM (%)	B	T_{50} (h)	T_{16-84} (h)	T_{05} (h)	AUC
5	98.6 \pm 0.9 a	6.2 \pm 0.8b	100.8 \pm 3a	56.4 \pm 5.1ab	62.0 \pm 1.6a	155.5 \pm 4.6c
9	98.2 \pm 0.9 ab	8.8 \pm 0.8a	91.8 \pm 3a	38.3 \pm 5.1c	63.9 \pm 1.6a	165.6 \pm 4.6bc
13	95.3 \pm 0.9 bc	4.3 \pm 0.8b	72.8 \pm 3b	64.3 \pm 5.1a	34.8 \pm 1.6b	175.9 \pm 4.6b
17	93.1 \pm 0.9 c	5.1 \pm 0.8b	51.0 \pm 3c	46.1 \pm 5.1bc	24.2 \pm 1.6c	191.6 \pm 4.6a

PGM: máximo porcentaje de germinación acumulada (%); B: parámetro de inclinación de la curva; T_{50} : tiempo para alcanzar el 50% de la germinación máxima; T_{16-84} : uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84%); T_{05} : tiempo de activación (5% de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva.

La temperatura en la germinación de semillas afecta la actividad enzimática responsable de las tasas de germinación (Bewley *et al.*, 2013). Las semillas germinan a diferentes intervalos de temperatura (dependiendo de la especie) y, por lo tanto, el éxito o fracaso del establecimiento inicial de las plantas depende de que la germinación coincida con las condiciones ambientales preferentes (Fearn, 1981). Temperaturas bajas o altas pueden impedir la germinación, pero la sensibilidad de las semillas a este factor difiere entre especies; un aumento en la temperatura no

necesariamente ocasiona un incremento en la tasa de germinación, por lo que es importante determinar la temperatura óptima, que refleja el clima del hábitat en el que ha evolucionado la especie o población (Craufurd *et al.*, 1996; Mahan *et al.*, 1995).

En este estudio, el aumento de la temperatura redujo el porcentaje de germinación (PGM) de *L. montanus* (Cuadro 2.1), aunque Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo (2005) determinaron que el mejor desempeño de la semilla (escarificada) de esta especie se obtuvo con temperaturas entre 15 y 20°C (noche y día respectivamente) y con períodos de luz y oscuridad. Sin embargo, en ese estudio se utilizaron temperaturas mayores a las de su ambiente natural y no se exploró el desempeño con temperaturas similares al del hábitat de *L. montanus*.

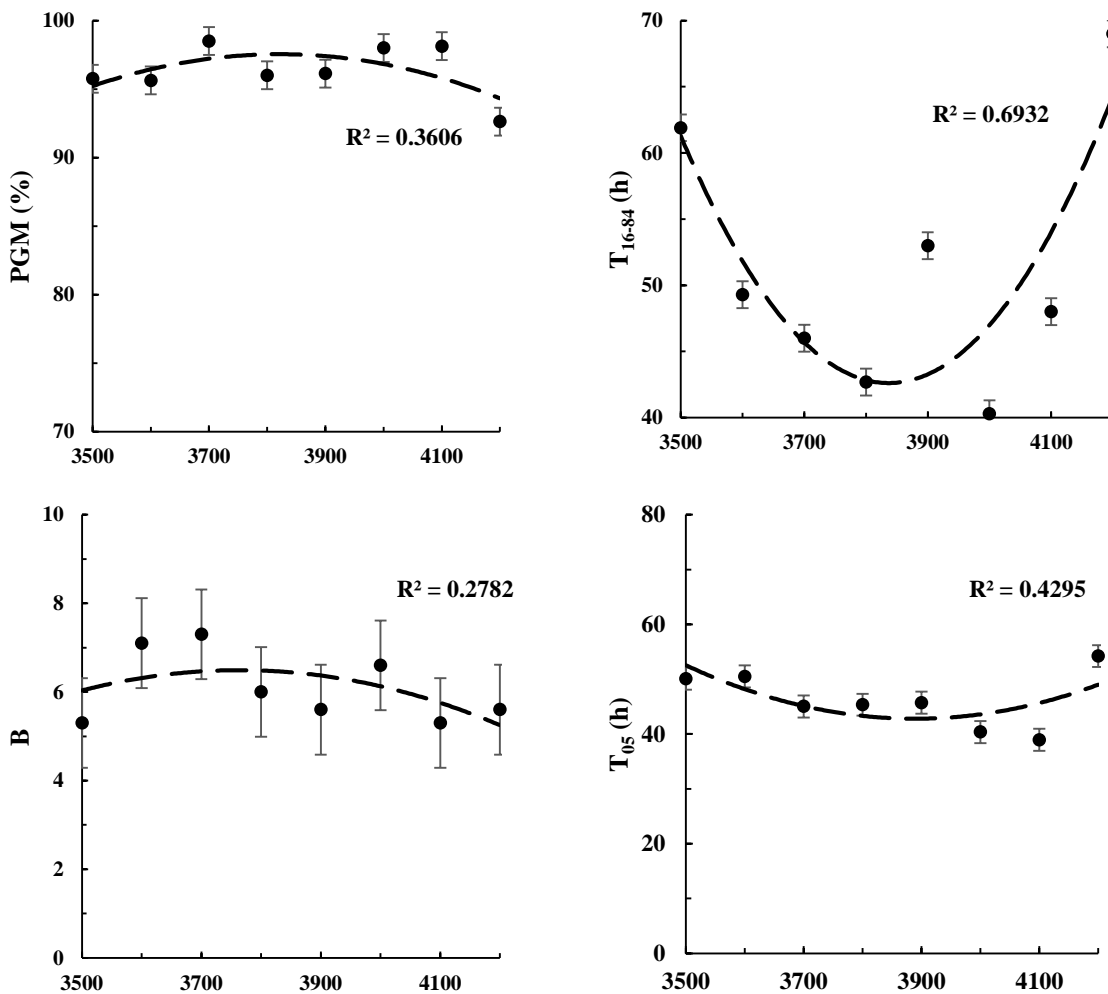
El aumento en la velocidad de la germinación con el aumento en la temperatura parece ser un efecto directo del incremento en el metabolismo de las semillas (Bewley *et al.*, 2013), este cambio en la dinámica de la germinación puede tener implicaciones ecológicas importantes. El requerimiento de temperaturas relativamente altas para la germinación de la semilla se considera una adaptación de las especies para prevenir la germinación cuando aún existe una alta probabilidad de heladas que afecten negativamente el establecimiento de las plántulas (Cavieres y Arroyo, 2000). Las bajas temperaturas en otoño, combinadas con días cortos, evitan la germinación durante el periodo invernal en especies alpinas (Schwienbacher *et al.*, 2011).

El aumento en temperatura derivado del cambio climático tiene un efecto directo sobre la dinámica de las poblaciones (Santana *et al.*, 2010). La repoblación a partir de semillas juega un papel importante en la respuesta de las especies a estos cambios en el clima pues puede impedir, mejorar o retrasar este proceso, el efecto del aumento en la temperatura sobre la germinación de plantas alpinas no ha sido ampliamente investigado. (Milbau *et al.*, 2009; Shevtsova *et al.*, 2009). En el caso de *L. montanus*, el aumento de la temperatura representa un riesgo en la germinación, pues, aunque aumenta la velocidad del proceso, se reduce la cantidad de semillas que logran germinar. Además, en condiciones naturales el que germinen en momentos no favorables para su establecimiento pone en riesgo la especie.

2.5.2 Diferencias entre las poblaciones en la dinámica de germinación

Se encontró un efecto significativo ($p \leq 0.01$) de las poblaciones, asociado a la elevación de origen de la semilla, en los diferentes parámetros estimados de la curva de germinación, excepto en el parámetro B de la curva (Figura 2.1). Todos los parámetros analizados que mostraron

diferencias significativas entre las poblaciones mostraron un mayor ajuste a un modelo cuadrático ($R^2 \geq 0.36$) que, a un modelo lineal, con respecto a la elevación de origen de la población, con valores óptimos (máximos o mínimos) en las poblaciones intermedias con respecto al gradiente altitudinal muestreado (Figura 2.1). Es decir, aunque la forma de la curva y las diferencias relativas entre poblaciones variaron entre los parámetros estimados, las poblaciones de elevaciones intermedias mostraron los valores pico en la dinámica de germinación promedio de los ambientes de temperatura evaluados. Esto con una mayor capacidad germinativa y una mayor velocidad y homogeneidad de germinación, que en las poblaciones de los dos extremos del gradiente altitudinal de distribución natural de la especie.



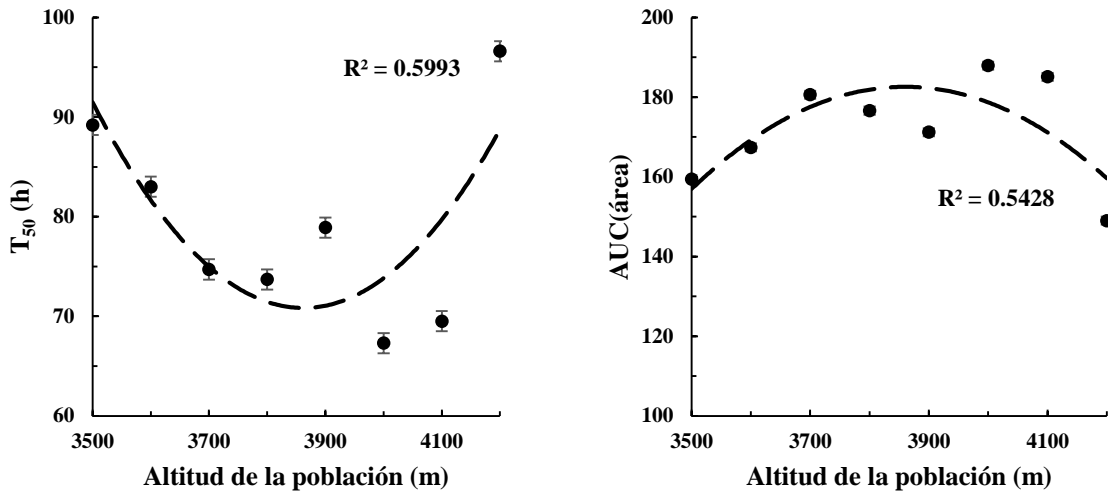


Figura 2.1. Efecto de la elevación de origen de la población en el valor promedio de los parámetros estimados de las curvas de germinación de semillas en cuatro temperaturas, recolectadas en poblaciones naturales de *Lupinus montanus* en el Nevado de Toluca, en un gradiente altitudinal. PGM: porcentaje de germinación máxima; B: Parámetro de inclinación de la curva; T₅₀: tiempo para alcanzar el 50% de la germinación máxima; T₁₆₋₈₄: uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84%); T₀₅: tiempo de activación (5% de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva de germinación.

La variación en la dinámica de germinación de la semilla entre poblaciones de una especie a lo largo de gradientes ambientales se ha interpretado como resultado de las fuerzas evolutivas en características de valor adaptativo asociada con la variación en los factores climáticos del hábitat a lo largo del gradiente ambiental (Meyer *et al.*, 1997; Fernández-Pascual *et al.*, 2013). Las poblaciones de una especie a lo largo de un gradiente altitudinal están sujetas al efecto conjunto de la selección natural y el flujo genético, lo que resulta en una diferenciación gradual entre ellas. Generalmente, las poblaciones intermedias en el gradiente presentan un mejor desempeño dado que los extremos altitudinales se encuentran bajo una presión de selección direccional más intensa; por ello se hipotetiza que las poblaciones en los extremos del gradiente son las más afectadas por el cambio climático. El mayor flujo genético que ocurre en las poblaciones intermedias les permite una mayor capacidad de ajuste a los cambios en el ambiente (Ignazi, *et al.*, 2019).

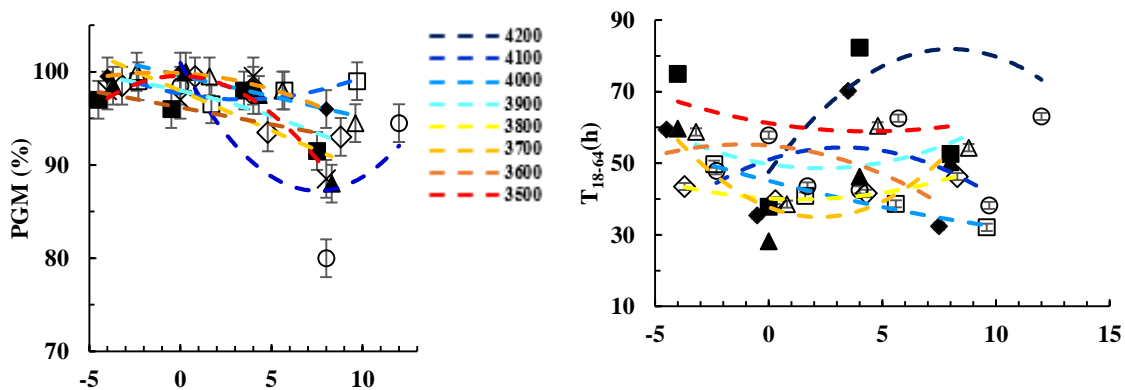
No obstante, los resultados también mostraron una interacción significativa ($p \leq 0.01$) entre las poblaciones y la temperatura en todos los parámetros estimados de la curva de germinación, con excepción del parámetro B, lo cual indica que la respuesta de las poblaciones en la dinámica de germinación a las condiciones específicas de temperatura no fue homogénea entre ellas. Desde el punto de vista biológico, una interacción significativa poblaciones x ambiente es una evidencia de que puede haber diferencias importantes entre las poblaciones en el grado de adaptación local

y/o en el grado de plasticidad fenotípica. La persistencia de las poblaciones ante cambios ambientales puede ser posible si éstas incluyen variantes genéticas adaptadas a esos ambientes (Safriel *et al.*, 1994; Kang, 1998).

2.5.3 Adaptación local de las poblaciones

Las plantas tienen la capacidad de responder a los cambios que ocurren en un gradiente ambiental a través de la adaptación, la plasticidad fenotípica y la migración. (Jump y Peñuelas, 2005; Aitken *et al.*, 2008; Byars *et al.*, 2009). La adaptación local es de fundamental importancia en el contexto del cambio climático, pues las especies se enfrentan a entornos que cambian rápidamente y necesitan adaptarse para persistir en el tiempo (Leimu y Fischer, 2008). Sin embargo, los estudios sobre adaptación local en poblaciones ubicadas a lo largo de gradientes altitudinales son escasos (Angert y Schemske, 2005), especialmente en el proceso de germinación de semillas.

En la Figura 2.2 se presenta la curva de respuesta de las poblaciones a las condiciones de temperatura evaluadas, expresadas en términos de la distancia (diferencia) con respecto a la temperatura “local” en el sitio de origen de cada población. Cuando existen efectos de adaptación local en una característica en particular, se espera que el desempeño óptimo de la característica se exprese en las condiciones del ambiente “local” y se reduzca gradualmente conforme aumenta la diferencia ambiental entre las condiciones de evaluación y las del ambiente “local”. La mayoría de las poblaciones evaluadas no presentaron evidencias claras de adaptación local en los diferentes parámetros de germinación de semillas (Figura 2.2). A pesar de ello, algunas poblaciones, especialmente las que provienen de la parte baja del gradiente, mostraron curvas de respuesta en los parámetros PGM, B, T_{16-84} y T_{05} que sugieren la presencia de adaptación local en ellas.



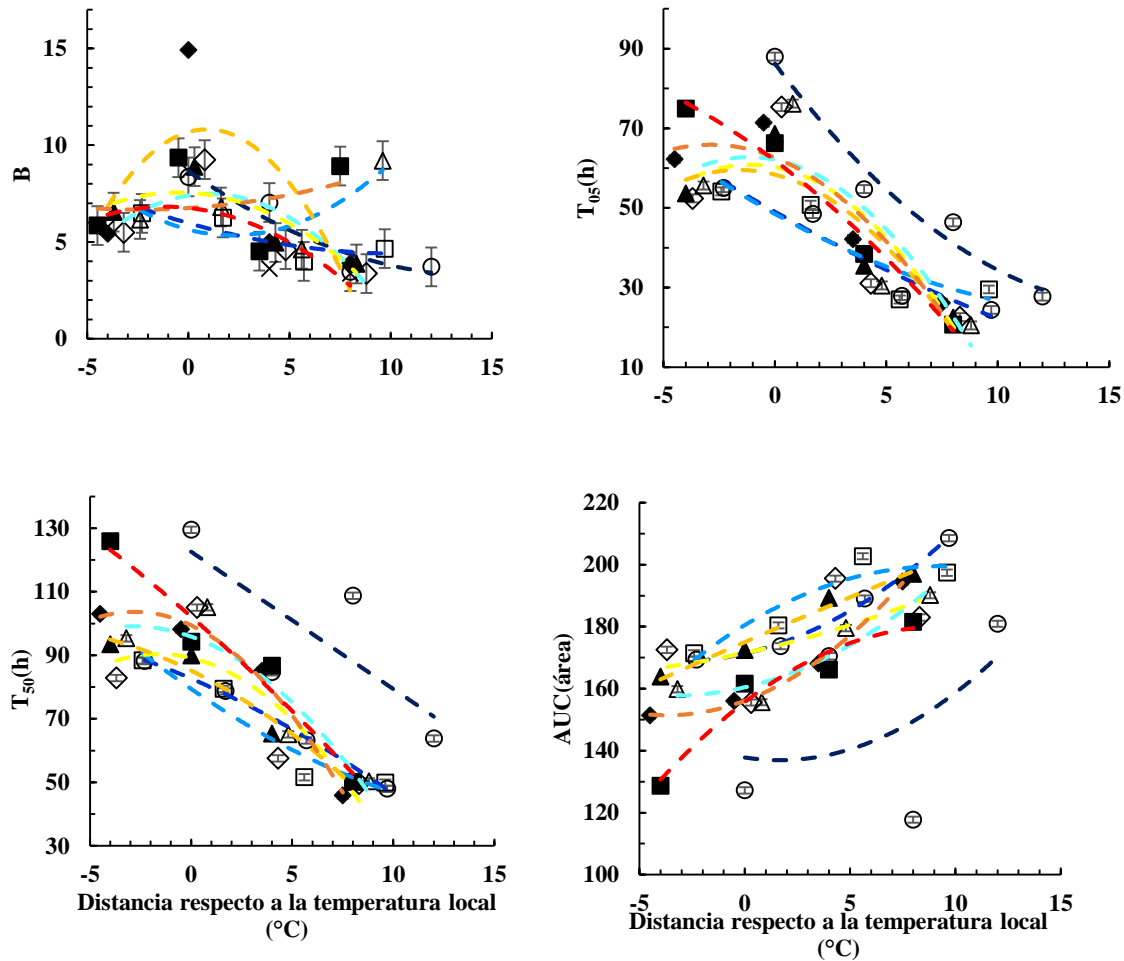


Figura 2.2. Dinámica de los parámetros de germinación de semilla recolectadas en poblaciones naturales de *Lupinus montanus* en el Nevado de Toluca a lo largo de un gradiente altitudinal en respuesta al ambiente de temperatura de germinación expresado como distancia relativa con respecto a la temperatura “local” del sitio de origen de cada población. PGM: porcentaje de germinación máxima; B: parámetro de inclinación de la curva; T_{50} : tiempo para alcanzar el 50% de la germinación máxima; T_{16-84} : uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84%); T_{05} : tiempo de activación (5% de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva de germinación.

Los resultados indican que las poblaciones de *L. montanus* a lo largo del gradiente altitudinal, con excepción de las ubicadas en el extremo inferior, muestran la capacidad de ajustar la dinámica de germinación a las diferentes condiciones de temperatura, debido quizás a su alta diversidad genética, a pesar de su reducida variación morfológica (Ferval *et al.*, 2013). Las poblaciones en la parte alta del gradiente son más recientes y, por lo tanto, han tenido menor tiempo para mostrar los efectos de adaptación local. Por otro lado, el flujo genético a lo largo del gradiente puede contrarrestar la diferenciación genética entre las poblaciones, por lo que el tamaño de la población o la separación entre ellas (condiciones que promueven la adaptación local) no constituyen un

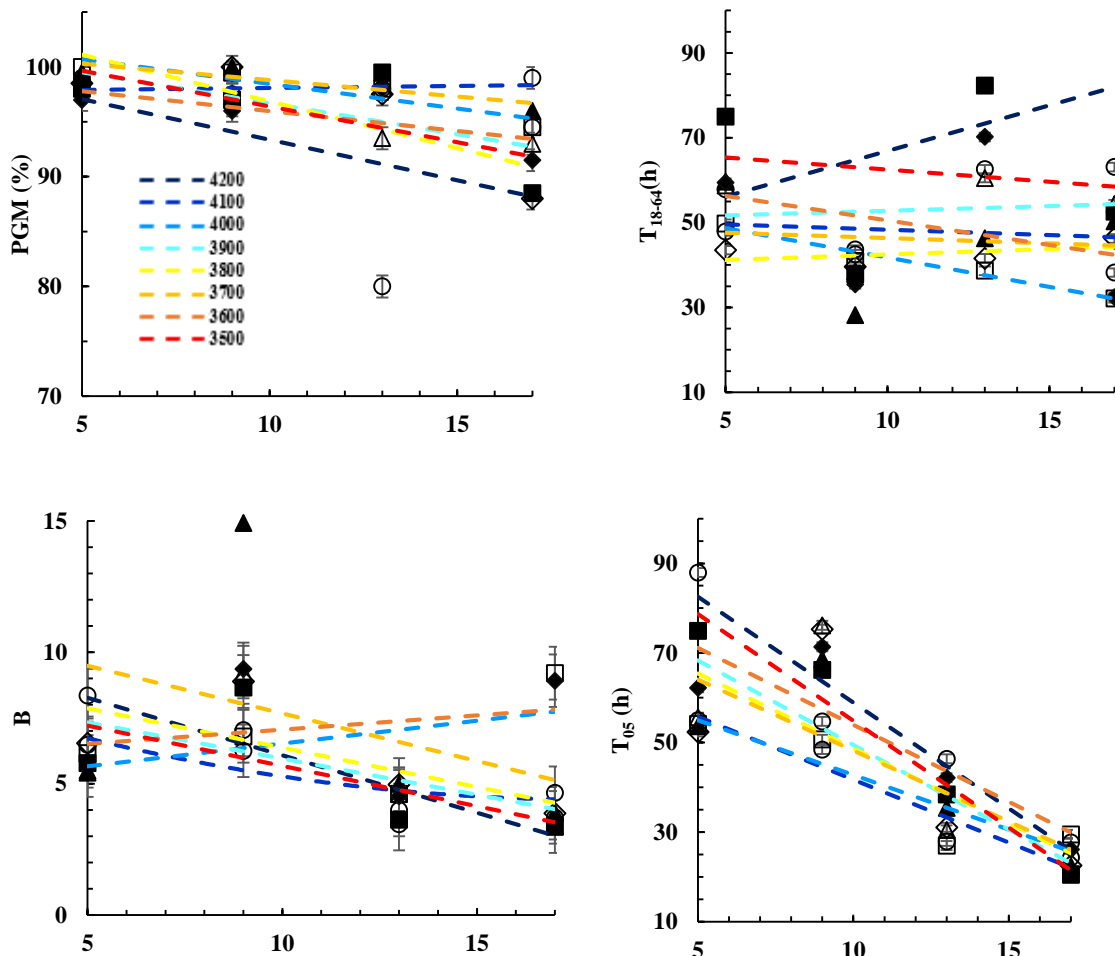
problema para la especie (Jakobsson y Dinnetz, 2005). Una producción de semillas elevada, porcentaje de germinación alto y la habilidad para germinar en condiciones de disturbio se han considerado como estrategias de las plantas para persistir en los ecosistemas (Smith y Fretwell, 1974; Rice y Mack, 1991a, 1991c; Dalling, 2002), y *L. montanus* muestra este tipo de características.

Por otro lado, es posible que el efecto de la temperatura en la velocidad de los procesos metabólicos asociados con la germinación de las semillas (Cuadro 2.1) y la magnitud de las diferencias relativas de los tratamientos de temperatura evaluados con respecto a la del ambiente “local” de cada población haya dificultado la manifestación de los posibles efectos de adaptación local. Por ejemplo, T_{05} y T_{50} se redujeron drásticamente al aumentar la temperatura con respecto al ambiente “local”, lo cual podría considerarse como un “mejor desempeño” en los ambientes “no locales”. Sin embargo, en las condiciones del nicho ecológico en que ha evolucionado *L. montanus*, una mayor velocidad de germinación de la semilla no necesariamente es una ventaja adaptativa, especialmente durante la parte final del invierno e inicios de la primavera. Una onda de calor seguida de una onda fría podría ocasionar una menor capacidad de supervivencia de las plántulas que emerjan más rápido, lo cual representa un riesgo para completar su ciclo de vida (Gutiérrez y Trejo, 2014).

Con excepción de algunas poblaciones en la parte baja del gradiente altitudinal, *L. montanus* en general no presentó evidencias de adaptación local en la dinámica de germinación de las semillas. Esta información proporciona elementos importantes sobre el potencial de la especie para persistir en condiciones ambientales futuras (Etterson, 2004). En condiciones alpinas, las poblaciones que muestran adaptación al ambiente local presentan mayor riesgo de extinción en el contexto del cambio climático (Dinnetz y Nilsson, 2002; Thomas *et al.*, 2004). En el caso particular de *L. montanus*, como en otras especies que han evolucionado en ecosistemas alpinos o en regiones con un amplio intervalo ambiental, cabe la posibilidad de que la adaptación local esté limitada a las poblaciones en los ambientes extremos (Rice y Mack, 1991c). Se puede considerar que las poblaciones en la parte superior del gradiente son el resultado del proceso de expansión de las poblaciones de la parte baja del gradiente (Gonzalo-Turpin y Hazard, 2009; Ohsawa e Ide, 2008; Körner, 2007). Así, en el extremo superior del gradiente altitudinal de la especie se encuentran poblaciones más recientes evolutivamente, que todavía no hayan desarrollado mecanismos de adaptación local, a diferencia de las poblaciones en el extremo inferior, que son las más antiguas.

2.5.4 Plasticidad fenotípica de las poblaciones

La pendiente de las normas de reacción varió entre las poblaciones en la mayoría de los parámetros de germinación, pero especialmente en PGM, B y T_{16-84} (Figura 2.3); una mayor pendiente (positiva o negativa) indica mayor plasticidad y en casi todos los parámetros evaluados la población de mayor elevación (4,200 m) mostró la mayor pendiente. Algunos autores (Loria y Nov-Meir, 1979; Gutterman, 1994a, 1994 b; Gutterman, 2001), consideran a la plasticidad de la germinación como una estrategia oportunista en la que las semillas pueden escapar de eventos climáticos como la sequía, retardando el proceso o regulando la cantidad de agua necesaria para germinar, lo anterior puede jugar un papel importante en la respuesta de las especies al cambio climático durante la fase de establecimiento de las plantas (Erschbamer *et al.*, 2008).



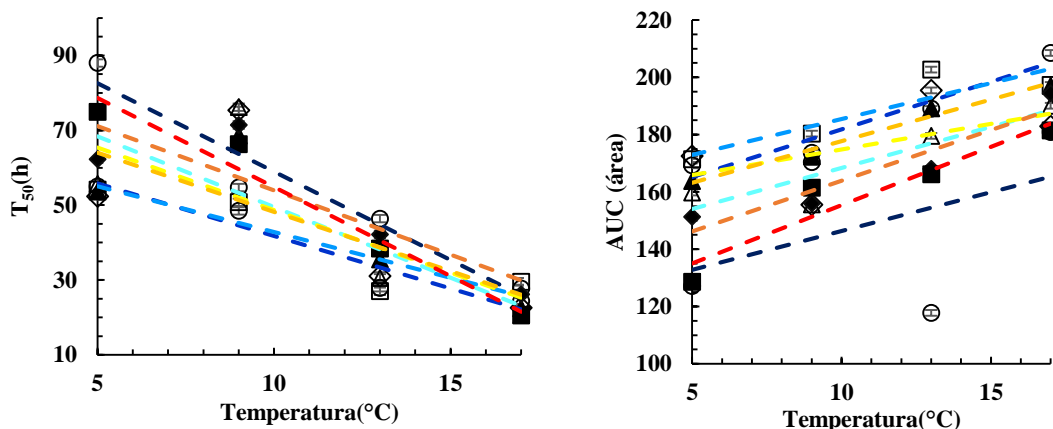


Figura 2.3. Normas de reacción de los parámetros de germinación estimados para las diferentes poblaciones de *Lupinus montanus* a la temperatura de los ambientes térmicos evaluados. PGM: porcentaje de germinación máxima; B: parámetro de inclinación de la curva; T_{50} : tiempo para alcanzar el 50% de la germinación máxima; T_{16-84} : uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84%); T_{05} : tiempo de activación (5% de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva de germinación.

Algunas poblaciones mostraron poca plasticidad a las condiciones de temperatura en la uniformidad de la germinación (T_{16-84}), con una pendiente casi nula (Figura 2.3); mientras que, en la población de mayor elevación, la pendiente de la norma de reacción para esta variable fue positiva, lo que indica una menor homogeneidad en la germinación al aumentar la temperatura. Sin embargo, la norma de reacción asume que el cambio en el desempeño de las poblaciones en respuesta al factor ambiental es lineal y simplifica la evaluación de la magnitud de la plasticidad, pero las respuestas al ambiente son más complejas y no siempre son lineales (Valladares *et al.*, 2006).

El análisis de los valores promedio del Índice de Plasticidad Fenotípica (RDPIs, por sus siglas en inglés) mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las poblaciones en PGM y T_{16-84} , confirmando la mayor diferenciación en plasticidad fenotípica de las poblaciones en estos parámetros de germinación (Figura 2.4). Las poblaciones extremas expresaron un mayor grado de plasticidad fenotípica en PGM y T_{16-84} , en comparación con las intermedias y el mismo patrón se observa en el caso de AUC. En cambio, el RDPI para B y T_{05} mostró una relación lineal negativa con la altitud del sitio de origen de la población, aunque el valor de R^2 fue menor que en las otras variables (Figura 2.4).

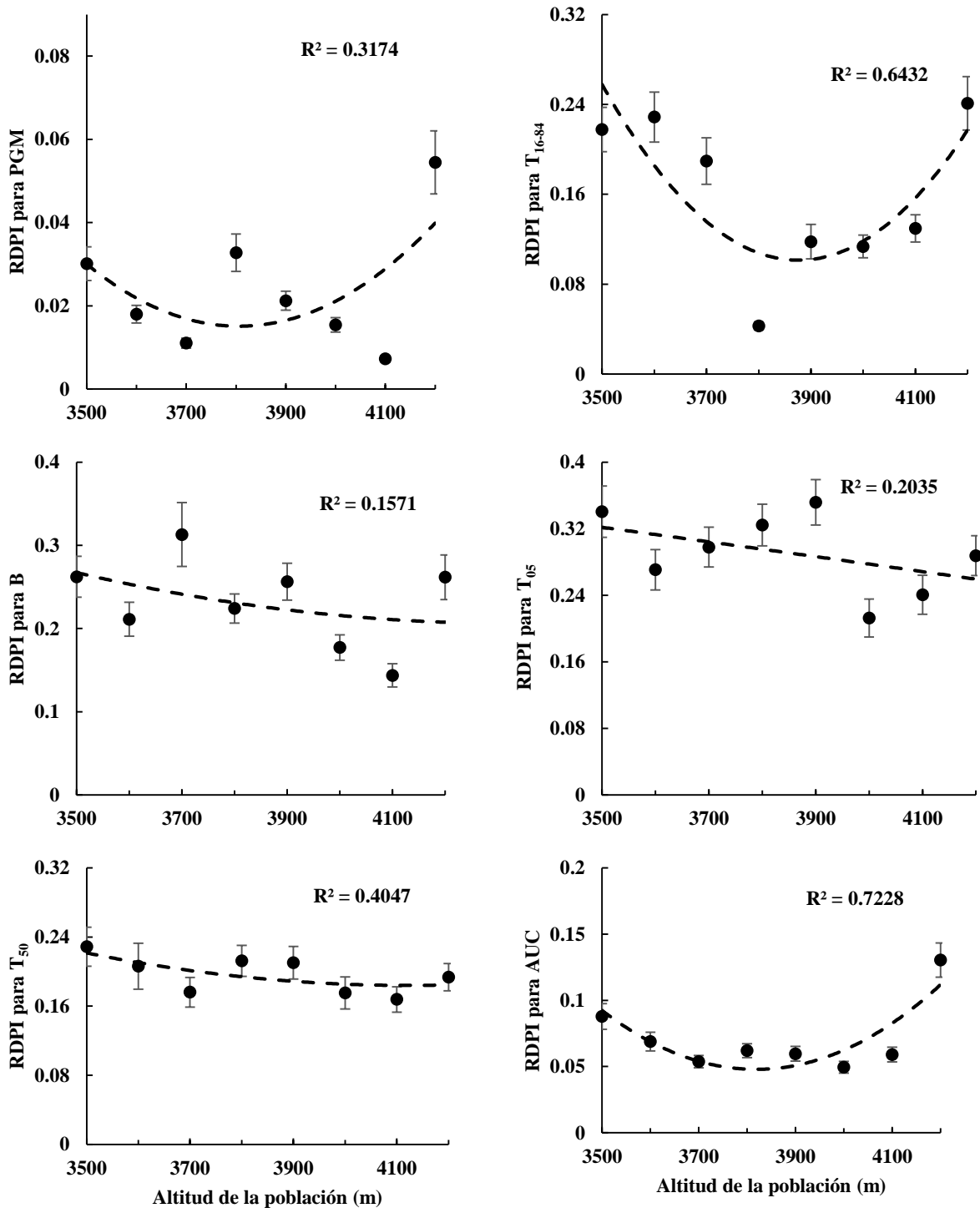


Figura 2.4. Valores promedio del índice simplificado de plasticidad fenotípica de distancia relativa (RDPIs, por sus siglas en inglés) y su relación con la elevación del sitio de origen de las poblaciones. PGM: porcentaje de germinación máxima; B: parámetro de inclinación de la curva; T₅₀: tiempo para alcanzar el 50 % de la germinación máxima; T₁₆₋₈₄: uniformidad de la germinación (tiempo entre el 16-84 %); T₀₅: tiempo de activación (5 % de la germinación máxima); AUC: área bajo la curva de germinación.

La plasticidad fenotípica de las poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal puede facilitar a largo plazo la adaptación de éstas más allá de su rango altitudinal, por lo que puede ser una opción importante ante los efectos del cambio climático (Gonzalo-Turpin y Hazard, 2009). La presencia de plasticidad fenotípica entre las poblaciones se puede explicar por la escala espacial de heterogeneidad ambiental en las condiciones climáticas a lo largo del gradiente, condición que favorece el mantenimiento de variación genética dentro de las poblaciones (Matesanz *et al.*, 2020). Las poblaciones intermedias generalmente presentan mejores condiciones ambientales para un crecimiento óptimo, lo cual se refleja en su potencial de crecimiento (Rehfeldt *et al.*, 2002). Conforme las poblaciones ocupan sitios alejados de su óptimo en el gradiente altitudinal, las condiciones se vuelven más severas, y la presión de selección se intensifica (Castellanos-Acuña *et al.*, 2013), por lo que es común que muestren una mayor plasticidad (i.e., presenten un mayor cambio en su fenotipo) al crecer en ambientes distintos, como se ha demostrado en otras especies con poblaciones de ambientes más heterogéneos en espacio y tiempo (Lande, 2009; Hendry 2016; Cooper *et al.*, 2019), sin embargo, esto no ocurre en todas las especies (Gonzalo-Turpin y Hazard, 2009; Matesanz *et al.*, 2012, 2020). En un estudio con trasplantes recíprocos en un gradiente altitudinal, Angert y Schemske (2005) se mostró que las poblaciones de *Mimulus cardinalis* Douglas ex Benth y *M. lewisii* Pursh, aunque presentaron mejor desempeño en el ambiente intermedio que en los extremos del gradiente, las diferencias entre las poblaciones fueron pequeñas y no estuvieron relacionadas con su elevación de origen.

Ante condiciones de cambio climático, la plasticidad fenotípica es una de las opciones que las plantas pueden utilizar a corto plazo para hacer frente y responder a estas nuevas condiciones (Nicotra *et al.*, 2010; Vía *et al.*, 1995). En especies colonizadoras, arvenses o malezas, se espera que esta alternativa sea su principal mecanismo para persistir en un ambiente variable o nuevo (Núñez-Farfán, *et al.*, 2003). La adecuación de un genotipo o población a un ambiente particular (i.e., la manifestación de un fenotipo con ventajas selectivas) se puede lograr a través de adaptación local (genotipo especialista) o de plasticidad fenotípica (Núñez-Farfán *et al.*, 2003). Sin embargo, en el contexto del cambio climático, para las especies de distribución alpina, donde los efectos del cambio se manifiestan de manera más rápida (Lenoir *et al.*, 2008; Nicotra *et al.*, 2010; Draghi y Whitlock, 2012) la plasticidad fenotípica permite una adecuación más rápida a las condiciones ambientales nuevas.

A pesar de lo anterior, las dos estrategias son complementarias desde el punto de vista evolutivo. La plasticidad fenotípica puede inicialmente permitir el establecimiento de una especie, y una vez establecida, la recombinación genética de fenotipos heredables permitirá responder a la presión de selección local, obteniendo ecotipos adaptados con mayor adecuación biológica (Ellstrand y Schierenbeck, 2000; Sexton *et al.*, 2002; Maron *et al.*, 2004). Por ello, la plasticidad fenotípica y la adaptación local son importantes en la evolución de las especies. La permanencia de las poblaciones naturales a largo plazo dependerá de su capacidad de adaptación, en función de la estructura y diversidad genética poblacional y de su plasticidad fenotípica (Pigliucci *et al.*, 2006; Gonzalo-Turpin y Hazard, 2009; Hendry, 2016; Cooper *et al.*, 2019; Matesanz *et al.*, 2020).

Los resultados del estudio muestran que las poblaciones de *L. montanus*, en especial las poblaciones en los extremos del gradiente altitudinal presentan una amplia plasticidad fenotípica en los parámetros asociados a la germinación de la semilla en relación con la temperatura, lo que les permitiría asegurar su establecimiento inicial en las nuevas condiciones ambientales. El grado de diferenciación genética no ha sido lo suficientemente fuerte como para generar la distinción de ecotipos o poblaciones adaptadas localmente, excepto para algunos de los parámetros de germinación de las poblaciones del extremo inferior del gradiente. No obstante, es necesario evaluar también el nivel de plasticidad fenotípica y adaptación local en otras características de importancia adaptativa en etapas posteriores de desarrollo de las plantas, como se ha hecho en otras especies (Rice y Mack, 1991b, 1991c; Gonzalo-Turpin *et al.*, 2009; Matesanz *et al.*, 2020).

2.6 CONCLUSIONES

El aumento de temperatura con respecto a las condiciones típicas en su hábitat natural (5-9 °C) modificó de manera importante la dinámica de germinación de la semilla de *L. montanus*. El efecto del incremento de temperatura redujo la capacidad germinativa, pero también aumentó la velocidad y homogeneidad de germinación, reduciendo en más de la mitad el tiempo requerido para activar la germinación (T_{05}) y alcanzar el 50% de la capacidad germinativa (T_{50}), lo cual puede tener efectos en un escenario de incremento de temperatura asociado al cambio climático. El patrón observado en los parámetros de germinación de la semilla de las poblaciones muestra un nivel moderado de diferenciación genética en las poblaciones asociado a efectos de diferente intensidad de selección natural a lo largo del gradiente altitudinal. Las poblaciones de *L. montanus*, especialmente las de los extremos del gradiente, mostraron una plasticidad fenotípica amplia en

los parámetros de germinación en respuesta al aumento de temperatura. Esta plasticidad es un mecanismo importante de las poblaciones de la especie para ajustar su dinámica de germinación ante la variación espacio-temporal de las condiciones de temperatura en su hábitat natural, especialmente en los extremos altitudinales de su distribución. La mayor plasticidad fenotípica detectada en las poblaciones de los extremos del gradiente altitudinal puede favorecer el establecimiento y permanencia de estas poblaciones ante el rápido aumento de temperatura asociado al cambio climático en ambientes alpinos.

2.7 LITERATURA CITADA

- Acosta-Percástegui, J. and D. A. Rodríguez-Trejo. 2005. Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia* 30(9): 576-579.
- Aitken, S. N., S. Yeaman, J. A. Holliday, T. Wang and S. Curtis-McLane. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications* 1: 95-111.
- Angert, A. L. and D. W. Schemske. 2005. The evolution of species' distributions: reciprocal transplants across the elevation ranges of *Mimulus cardinalis* and *M. lewisii*. *Evolution* 59(8): 1671-1684.
- Arnold, P. A., L. E. B. Kruuk and A. B. Nicotra. 2019. How to analyze plant phenotypic plasticity in response to a changing climate. *New Phytologist* 222(3): 1235-1241.
- Beets, P. N. 1996. Carbon partitioning in *Pinus radiata* stands in relation to foliage nitrogen status. *Tree Physiology* 16(1-2): 131-138.
- Bewley, J. D., K. Bradford, H. Hilhorst, and H. Nonogaki 2013. *Seeds: Physiology of development, germination and dormancy*. Springer. 3rd ed. 246 p.
- Boydak, M., H. Dirik, F. Tilki and M. Çalikoglu. 2003. Effects of water stress on germination in six provenances of *Pinus brutia* seeds from different bioclimatic zones in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 27(2): 91-97.
- Byars, S. G., Y. Parsons and A. A. Hoffmann. 2009. Effect of altitude on the genetic structure of an Alpine grass, *Poa hiemata*. *Annals of Botany* 103(6): 885-899.
- Castellanos-Acuña, D., C. Sáenz-Romero, R. A. Lindig-Cisneros, N. M. Sánchez-Vargas, P. Lobbit y J. C. Montero-Castro. 2013. Variación altitudinal entre especies y procedencias de *Pinus pseudostrobus*, *P. devoniana* y *P. leiophylla*. Ensayo de vivero. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19(3): 399-411.
- Cavieres, L. A. and M. T. K. Arroyo. 2000. Seed germination response to cold stratification period and thermal regime in *Phacelia secunda* (Hydrophyllaceae): altitudinal variation in the Mediterranean Andes of Central Chile. *Plant Ecology* 149: 1-8.

- Craufurd, P. Q., R. H. Ellis, R. R. J. Summerfield and L. Menin. 1996. Development in cowpea (*Vigna unguiculara*). 1. The influence of temperature on seed germination and seedling emergence. *Experimental Agriculture* 32(1): 1-12.
- Cooper, H. F., K. C. Grady, J. A. Cowan, R. J. Best, G. J. Allan and T. G. Whitham. 2019. Genotypic variation in phenological plasticity: Reciprocal common gardens reveal adaptive responses to warmer springs but not to fall frost. *Global Change Biology* 25(1): 187-200.
- Cortés-Cabrera, H. E., R. Pérez-Domínguez, J. Flores, M. González-Tagle, G. Cuéllar-Rodríguez y E. Jurado. 2018. Germinación de dos especies del género *Acacia* a temperaturas elevadas simulando cambio climático. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 9(50): 304-322.
- Dalling, J. W. 2002. Ecología de semillas. *In*: M. R. Guariguata y G.H. Catan (eds.). *Ecología y Conservación de Bosques Neotropicales*. Ediciones LUR. Costa Rica. pp:345-375.
- Dinnetz, P. and T. Nilsson. 2002. Population viability analysis of *Saxifraga cotyledon*, a perennial plant with semelparous rosettes. *Plant Ecology* 159: 61-71.
- Draghi, J. A. y M. C. Whitlock. 2012. Phenotypic plasticity facilitates mutational variance, genetic variance, and evolvability along the major axis of environmental variation. *Evolution* 66(9): 2891-2902.
- Dudley, S. A. 1996. The response to differing selection on plant physiological traits: evidence for local adaptation. *Evolution* 50(1): 103-110.
- El-Kassaby, Y. A., I. Moss, D. Kototelo and M. Stoehr. 2008. Seed germination: mathematical representation and parameters extraction. *Forest Science* 54(2): 220-227.
- Ellstrand, N. C. and K. A. Schierenbeck. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97(13): 7043-7050.
- Erschbamer, B., T. Kiebacher, M. Mallaun and P. Unterluggauer. 2008. Short-term signals of climate change along an altitudinal gradient in the South Alps. *Plant Ecology* 202(1): 79-89.
- Etterson, J. R. 2004. Evolutionary potential of *Chamaecrista fasciculata* in relation to climate change. I. Clinal patterns of selection along an environmental gradient in the Great Plains. *Evolution* 58(7): 1446-1458.
- Fearn, B. 1981. An investigation into the effect of temperature on the seed germination of nine species of cacti using thermal gradient bars. *Cactus & Succulent Journal* 46: 215-219.
- Fernández-Pascual, E., B. Jiménez-Alfaro, J. Caujapé-Castells, R. Jaén-Molina and T. E. Diaz, 2013. A local dormancy cline is related to the seed maturation environment population genetic composition and climate. *Annals of Botany* 112(5): 937-945.
- Ferval, M., L. Legal, C. Gers, C. Pelissier, P. Winterton, J. A. Sánchez L., M. L. Corona R. and K. Bermúdez-Torres 2013. When island-like populations at high elevation show genetic divergence despite no morphological variability: The case of *Lupinus montanus* in Central Mexico. *Turkish Journal of Botany* 37: 789-801.

- Galloway, L. F. and C. B. Fenster. 2000. Population differentiation in an annual legume: local adaptation. *Evolution* 54(4): 1173-1181.
- García, P. J. F., O. Aguirre C., E. Estrada, C., J. Flores, R., J. Jiménez, P. y E. Jurado, Y. 2007. Germinación y establecimiento de plantas nativas del matorral tamaulipeco y una especie introducida en un gradiente de elevación. *Madera y Bosques* 13(1): 99-117.
- Ghalambor, C. K., J. K. McKay, S. P. Carroll and D. N. Reznick. 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* 21(3): 394-407.
- Giménez-Benavides, L., A. Escudero and J. M. Iriondo. 2007. Local adaptation enhances seedling recruitment along an altitudinal gradient in a high mountain Mediterranean plant. *Annals of Botany* 99(4): 723-734.
- González-Zertuche, L. y A. Orozco-Segovia, 1996. Métodos de análisis de datos en la germinación de semillas, un ejemplo: *Manfreda Brachystachya*. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 58(58): 15-30.
- Gonzalo-Turpin, H. and L. Hazard. 2009. Local adaptation occurs along altitudinal gradient despite the existence of gene flow in the alpine plant species *Festuca eskia*. *Journal of Ecology* 97(4): 742-751.
- Greenwood, S., J. C. Chen, C. T. Chen and A. S. Jump. 2014. Strong topographic sheltering effects lead to spatially complex treeline advance and increased forest density in a subtropical mountain region. *Global Change Biology* 20(12): 3756-3766.
- Gutiérrez, E. y I. Trejo 2014. Efecto del cambio climático en la distribución potencial de cinco especies arbóreas de bosque templado en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85(1): 179-188.
- Gutterman, Y. 1994a. Strategies of seed dispersal and germination in plants inhabiting deserts. *Botanical Review* 60(4): 373-425.
- Gutterman, Y. 1994b. *In Memoriam* – Michael Evenari and his desert. Seed dispersal and germination strategies of *Spergularia diandra* compared with some other desert annual plants inhabiting the Negev Desert of Israel. *Israel Journal of Plant Sciences* 42(4): 261-274.
- Gutterman, Y. 2001. Phenotypic germination plasticity related to caryopsis size in *Schismus arabicus*. *Seed Science Research* 11(2): 173-178.
- Hendry, A. P. 2016. Key questions on the role of phenotypic plasticity in eco-evolutionary dynamics. *Journal of Heredity* 107(1): 25-41.
- Hereford, J. 2009. A quantitative survey of local adaptation and fitness trade-offs. *The American Naturalist* 173(5): 579-588.
- Hernández-Verdugo, S., R. G. López-España, F. Porras, S. Parra-Terraza, M. Villarreal-Romero y T. Osuna-Enciso. 2010. Variación en la germinación entre poblaciones y plantas de chile silvestre. *Agrociencia* 44: 667-677.

- Ignazi, G., P. Mathiasen y A. C. Premoli. 2019. Gradientes climáticos modelan la diversidad genética en especies leñosas de amplia distribución: el caso de *Nothofagus pumilio* en los Andes del sur. *Ecosistemas* 28(1): 35-47.
- Jakobsson, A. and P. Dinnetz. 2005. Local adaptation and the effects of isolation and population size—the semelparous perennial *Carlina vulgaris* as a study case. *Evolutionary Ecology* 19: 449-466.
- Joosen, R. V. L., J. Kodde, L. A. J. Willems, W. Ligterink, L. H. W. van der Plas and H. W. M. Hilhorst. 2010. GERMINATOR: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of Arabidopsis seed germination. *The Plant Journal* 62(1): 148-159.
- Jump, A. S. and J. Peñuelas. 2005. Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters* 8: 1010- 1020.
- Kang, M. S. 1998. Using genotype-by-environment interaction for crop cultivar development. *Advances in Agronomy*. 62:199-152.
- Kawecki, T. J. and D. Ebert. 2004. Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* 7(12): 1225-1241.
- Körner, C. 2007. The use of altitude in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution* 22(11): 569-574.
- Lagunes-Espinoza, L. del C., J. López-Upton, E. García-López, J. Jasso-Mata, A. Delgado-Alvarado y G. García de los Santos. 2012. Diversidad morfológica y concentración de proteína de *Lupinus* spp. en la región centro-oriental del estado de Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana* 99: 73-90.
- Lande, R. 2009. Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. *Journal of Evolutionary Biology* 22(7): 1435–1446.
- Leimu, R. and M. Fischer, 2008. A Meta-Analysis of Local Adaptation in Plants. *PLoS ONE* 3(12): e4010.
- Lenoir, J., J. C. Gégout, P. A. Marquet, P. de Ruffray and H. Brisse. 2008. A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. *Science* 320(5884): 1768-1771.
- Loria, M. and I. Noy–Meir. 1979. Dynamics of some annual populations in a desert loess plain. *Israel Journal of Botany* 28(3-4): 211-225.
- Mahan, J. R., B. L. MacMichael and D. F. Wanjura. 1995. Methods for reducing the adverse effects of temperature stress on plants: a review. *Environmental and Experimental Botany* 35(3): 251 - 258.
- Maron, J. L., M. Vilá, R. Bommarco, S. Elmendorf and P. Beardsley. 2004. Rapid evolution of an invasive plant. *Ecological Monographs* 74(2): 261-280.

- Matesanz, S., T. Horgan-Kobelski, and S. E. Sultan. 2012. Phenotypic plasticity and population differentiation in an ongoing species invasion. *PLoS ONE* 7(9): e44955.
- Matesanz, S., M. Ramos-Muñoz, M. Blanco-Sánchez and A. Escudero. 2020. High differentiation in functional traits but similar phenotypic plasticity in populations of a soil specialist along a climatic gradient. *Annals of Botany* 125(6): 969-980.
- Mattson, S. 2007. *Pinus contorta* growth in boreal Sweden as affected by combined lupin treatment and soil scarification. *Silva Fennica* 41(4): 649-659.
- Meyer, S. E., P. S. Allen and J. Beckstead. 1997. Seed germination regulation in *Bromus tectorum* (Poaceae) and its ecological significance. *Oikos* 78(3): 475-485.
- Milbau, A, B. J. Graae, A. Shevtsova and I. Nijs. 2009. Effects of a warmer climate on seed germination in the subarctic. *Annals of Botany* 104(2): 287–296.
- Molina-Montenegro, M.A. y L. A. Cavieres. 2010. Variación altitudinal de los atributos morfo-fisiológicos en dos especies de plantas alto-andinas y sus implicancias contra la fotoinhibición. *Gayana Botánica* 67(1): 1-11.
- Nagy, E. S. and K. J. Rice. 1997. Local adaptation in two subspecies of an annual plant: implications for migration and gene flow. *Evolution* 51(4): 1079-1089.
- Nicotra, A. B., O. K. Atkin, S. P. Bonser, A. M. Davidson, E. J. Finnegan, U. Mathesius, P. Poot, M. D. Purugganan, C. L. Richards, F. Valladares and M. van Kleunen. 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science* 15(12): 684-692.
- Núñez-Farfán, J., S. A. Careaga, J. Forfoni, L. Ruiz-Montoya y P. L. Valverde. 2003. La evolución de la plasticidad fenotípica. *Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas* 6(1): 16-24.
- Ohsawa, T. and Y. Ide. 2008. Global patterns of genetic variation in plant species along vertical and horizontal gradients on mountains. *Global Ecology and Biogeography* 17(2): 152-163.
- Pigliucci, M. 1997. Ontogenetic phenotypic plasticity during the reproductive phase in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 84(7): 887-895.
- Pigliucci, M., C. J. Murren and C. Schlichting. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *The Journal of Experimental Biology* 209: 2362-2367.
- Rehfeldt, G. E., N. M. Tchebakova, Y. I. Parfenova, W. R. Wykoff, N. A. Kuzmina and L. I. Milyutin. 2002. Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Global Change Biology* 8(9): 912-929.
- Rice, K. J. and R. N. Mack. 1991a. Ecological genetics of *Bromus tectorum*. I. A hierarchical analysis of phenotypic variation. *Oecologia* 88: 77-83.
- Rice, K. J. and R. N. Mack. 1991b. Ecological genetics of *Bromus tectorum*. II. Intraspecific variation in phenotypic plasticity. *Oecologia* 88: 84-90.

- Rice, K. J. and R. N. Mack. 1991c. Ecological genetics of *Bromus tectorum*. III. The demography of reciprocally sown populations. *Oecologia* 88: 91-101.
- Sáenz-Romero, C., G. E. Rehfeldt, N. L. Crookston, P. Duval, R. St-Amant, J. Beaulieu and B. A. Richardson. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change* 102: 595-623.
- Safriel, U.N., S. Volis and S. Kark. 1994. Core and Peripheral Populations and Global Climate Change. *Israel Journal of Plant Sciences* 42(4): 331-345.
- Santana, V. M., R. A. Bradstock, M. K. J. Ooi, A. J. Denham, T. D. Auld and M. J. Baeza. 2010. Effects of soil temperature regimes after fire on seed dormancy and germination in six Australian Fabaceae species. *Australian Journal of Botany* 58(7): 539-545.
- SAS (Statistical Analysis System). 2013. SAS Institute Inc. Cary, NC USA.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2016. Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca. Ciudad de México, México.
- Sexton, J. P., J. K. McKay and A. Sala. 2002. Plasticity and genetic diversity may allow salt cedar to invade cold climates in North America. *Ecological Applications* 12(6): 1652-1660.
- Sexton, J. P., S.Y. Strauss and K. J. Rice. 2011. Gene flow increases fitness at the warm edge of a species' range. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108(28): 11704-11709.
- Schwienbacher, E, J. A. Navarro-Cano, G. Neuner and B. Erschbamer. 2011. Seed dormancy in alpine species. *Flora* 206(10-3): 845-856.
- Shevtsova, A, B. J. Graae, T. Jochum, A. Milbau, F. Kockelbergh, L. Beyens and I. Nijs. 2009. Critical periods for impact of climate warming on early seedling establishment in subarctic tundra. *Global Change Biology* 15(11): 2662-2680.
- Smith, C. C. and S. D. Fretwell. 1974. The optimal balance between size and number of offspring. *The American Naturalist* 108(952): 499-506.
- Soto-Correa, J. C., C. Sáenz-Romero, R. Lindig-Cisneros and E. de la Barrera. 2013. The neotropical shrub *Lupinus elegans*, from temperate forests, may not adapt to climate change. *Plant Biology* 15(3): 607-610.
- Soto-Correa, J. C., C. Sáenz-Romero, R. Lindig-Cisneros, N. Sánchez-Vargas y J. Cruz-de-León. 2012. Variación genética entre procedencias de *Lupinus elegans* Kunth, zonificación altitudinal y migración asistida. *Agrociencia* 46(6): 593-608.
- Sultan, S. E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5(12): 537-542.
- Thomas, C. D., A. Cameron, R. E. Green, M. Bakkenes, L. J. Beaumont, Y. C. Collingham, B. F. N. Erasmus, M. Ferreira de Siqueira, A. Grainger, L. Hannah, L. Hughes, B. Huntley, A. S.

- van Jaarsveld, G. F. Midgley, L. Miles, M. A. Ortega-Huerta, A. T. Peterson, O. L. Phillips and S. E. Williams. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature* 427: 145-148.
- Valladares, F., D. Sánchez-Gómez and M. A. Zavala. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* 94(6): 1103-1116.
- van Wallendaal, A., E. Hamann and S. J. Franks. 2018. Evidence for plasticity, but not local adaptation, in invasive Japanese knotweed (*Reynoutria japonica*) in North America. *Evolutionary Ecology* 32: 395-410.
- Vía, S., R. Gomulkiewicz, G. De Jong, S. M. Scheiner, C. D. Schlichting and P. H. van Tienderen. 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends in Ecology and Evolution* 10(5): 212-217.
- Wang, N., A. Makhmalbaf, V. Srivastava and J. E. Hathaway. 2016. Simulation-based coefficients for adjusting climate impact on energy consumption of commercial buildings. *Building Simulation* 10: 309-322.

CAPÍTULO III. PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN POBLACIONES DE *Lupinus montanus* Kunth EN RESPUESTA A LA TEMPERATURA

3.1 RESUMEN

La plasticidad fenotípica es un mecanismo importante en el proceso adaptativo de las especies, ya que permite que los organismos ajusten su fisiología y morfología ante los cambios en las condiciones ambientales locales que ocurren durante su ciclo de vida. El objetivo fue evaluar el desempeño y plasticidad fenotípica de plantas de poblaciones de *Lupinus montanus* de diferentes altitudes en respuesta a un ambiente de temperatura y su eficiencia fotoquímica (fluorescencia de la clorofila) en condiciones de temperatura elevada. Se utilizaron semillas recolectadas en tres poblaciones naturales de la especie a lo largo de un gradiente altitudinal (3,500, 3,900 y 4,200m) y se establecieron en dos ambientes de temperatura (13 y 17 °C) en cámaras de ambiente controlado, con cuatro repeticiones dentro de cada ambiente. En el ambiente de mayor temperatura (17 °C) se aceleró la velocidad de crecimiento, con aumento de 35% en la altura de la planta, 40% en el número de hojas formadas, 23% en el tamaño medio de las hojas y una reducción de 28% en el tiempo de formación de hojas. La población de menor elevación (3,500 m) fue la que tuvo el mayor número de folíolos (6%) y tamaño de hoja (8%), pero invirtió más tiempo en formar nuevas hojas. La plasticidad fenotípica se modificó con la edad o desarrollo de la planta; la población de altitud intermedia (3,900 m) presentó mayor plasticidad fenotípica en altura y número de hojas ($p < 0.05$) en respuesta a la temperatura. La población de mayor altitud (4,200 m) mostró mayor eficiencia fotoquímica (fluorescencia de la clorofila) en condiciones de temperatura elevada. Estos resultados indican que las poblaciones de *L. montanus* muestran diferentes mecanismos de adaptación y plasticidad fenotípica a lo largo del gradiente altitudinal, lo que les permitirían persistir en su ambiente en un contexto de aumento de temperatura asociado al cambio climático, especialmente la población intermedia del gradiente altitudinal.

Palabras clave: crecimiento inicial, gradiente altitudinal, fluorescencia, temperatura.

3.2 ABSTRACT

Phenotypic plasticity is an important mechanism in the adaptive process of species, since it allows organisms to adjust their physiology and morphology to changes in local environmental conditions that occur during their life cycle. The objective is was to evaluate the performance and phenotypic plasticity of plants from *Lupinus montanus* populations of different altitudes in response to a temperature environment and their photochemical efficiency (chlorophyll fluorescence) under high temperature conditions. Seeds collected in three natural populations of the species were used along an altitude gradient (3,500, 3,900 and 4,200 m) and were established in two temperature environments (13 and 17 °C) in controlled environment chambers, with four repetitions. within each environment. In the higher temperature environment (17 °C) the growth rate accelerated, with an increase of 35% in the height of the plant, 40% in the number of leaves formed, 23% in the average size of the leaves and a 28% reduction in sheet formation time. The population with the lowest elevation (3,500 m) was the one with the highest number of leaflets (6%) and leaf size (8%), but it took more time to form new leaves. The phenotypic plasticity was modified with the age or development of the plant; the intermediate altitude population (3,900 m) displayed higher phenotypic plasticity in height and number of leaves ($p < 0.05$) in response to temperature. The population of higher altitude (4,200 m) showed higher photochemical efficiency (chlorophyll fluorescence) under high temperature conditions. These results indicate that *L. montanus* populations show different adaptation mechanisms and phenotypic plasticity along the altitudinal gradient, which would allow them to persist in their environment in a context of increased temperature associated with climate change, especially the intermediate population of the gradient altitudinal.

Keywords: initial growth, altitudinal gradient, fluorescence, temperature.

3.3 INTRODUCCIÓN

La plasticidad fenotípica es un mecanismo fundamental, producto de la evolución adaptativa, la que varía entre genotipos, poblaciones y especies (Sultan, 2000). Este mecanismo es importante en el proceso adaptativo de las especies, ya que les permite ajustar a corto plazo su fisiología y morfología ante cambios ambientales que ocurren durante su ciclo de vida (Sultan, 2000). La plasticidad puede expresarse en caracteres de distinta naturaleza, anatómicos, morfológicos o fisiológicos y puede también variar en magnitud y patrón (intensidad y patrón dirección de la modificación) en respuesta a distintos ambientes o a la variación en factores específicos del ambiente (Núñez-Farfán *et al.*, 2003).

La manifestación de fenotipos diferentes en respuesta a las condiciones ambientales permite a las especies enfrentar la variabilidad ambiental en que se desarrollan. Dados los cambios del hábitat en gradientes altitudinales, la expresión fenotípica de las poblaciones es un rasgo adaptativo crucial para su permanencia en esas condiciones (Nosil *et al.*, 2005; Valladares *et al.*, 2006; Burgess *et al.*, 2012). Las especies vegetales de zonas de alta montaña poseen mecanismos y estrategias para adaptarse a las condiciones abióticas que les pueden ocasionar algún desbalance en su funcionamiento óptimo (Körner y Larcher, 1988, Streb *et al.*, 2003). Las estrategias van desde cambios morfológicos como la variación en el área foliar, presencia de pubescencia y variación en los ángulos foliares; hasta cambios fisiológicos como disipación térmica, fotorrespiración, modificación de la clorofila y los protectores contra la radiación (Demming-Adams y Adams, 1996; Caasi-Lit *et al.*, 1997).

Sin embargo, este patrón adaptativo puede ser afectado por el cambio climático pues el aumento de la temperatura o las alteraciones en el régimen de lluvias podría ocasionar desacoplamiento entre los ambientes y los genotipos (Sáenz-Romero *et al.*, 2010). Cualquier modificación climática podría tener consecuencias importantes en el crecimiento y supervivencia de las plantas, especialmente en los ecosistemas alpinos, donde el efecto del gradiente altitudinal sobre las características adaptativas asociadas al crecimiento de las plantas se manifiesta notoriamente (Körner, 2003; Nagy y Grabherr, 2009).

Se han documentado cambios importantes en las temperaturas en hábitats de alta montaña durante las últimas décadas (Beniston *et al.*, 1997; Díaz y Bradley, 1997). Estos cambios en el régimen climático y las presiones antropogénicas han provocado cambios en las especies y

representan un reto importante para el manejo y conservación de estas poblaciones vegetales (Aitken *et al.*, 2008).

Se espera que el aumento de temperatura en ambientes de montaña asociado al cambio climático provoque un ascenso gradual de las poblaciones y comunidades, lo que exige que exista espacio para ello a lo largo del gradiente altitudinal, por la disminución del área disponible en el extremo superior (Wilson *et al.*, 2005; Matías, 2012). Sin embargo, este proceso es relativamente lento y depende de la capacidad de migración altitudinal de la especie (Sáenz-Romero *et al.*, 2016). Ante esta situación, la plasticidad fenotípica puede ser una opción más adecuada en la respuesta a corto plazo, ya que permitiría a las poblaciones ajustar su funcionamiento a las nuevas condiciones ambientales sin necesidad de desplazarse (Jump y Peñuelas 2005; Lloret, 2012). En especies colonizadoras esta alternativa podría ser el principal mecanismo para persistir en un ambiente variable (Núñez-Farfán *et al.*, 2003).

Lupinus montanus Kunth es una especie herbácea que se distribuye de manera natural a lo largo de zonas montañosas del Eje Neovolcánico Transversal en México, en altitudes que van desde los 2,500 hasta los 4,200 m asociada con especies de *Pinus* y *Abies* o bien, encontrarse en densas poblaciones (Dunn, 2001; Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo, 2005; Alderete-Chávez *et al.*, 2008). Debido a que puede mostrar un intervalo de distribución altitudinal de 700 m en una misma montaña, presenta una oportunidad para estudiar el nivel de plasticidad fenotípica y el grado de diferenciación en características adaptativas entre sus poblaciones a lo largo del gradiente. La información obtenida de esta manera permite evaluar la importancia relativa de los mecanismos de adaptación y de plasticidad fenotípica en la respuesta de las poblaciones a los cambios ambientales asociadas al cambio climático. Entender los mecanismos de respuesta de las poblaciones de esta especie es importante por el papel que tienen las especies de *Lupinus* en el proceso de sucesión de los bosques de montaña, al facilitar el establecimiento de otras especies, e incluso puede utilizarse como modelo biológico para entender posibles respuestas adaptativas de otras especies arbustivas y arbóreas de los ecosistemas forestales de montaña (Soto-Correa *et al.*, 2012, 2013; Ferval *et al.*, 2013).

El desempeño fotosintético de las plantas se verá afectado por el cambio climático, por lo que el análisis de la eficiencia fotoquímica a partir de la emisión de fluorescencia del fotosistema II hace posible caracterizar los efectos y modos de acción de diferentes tipos de estrés ambiental (Maxwell y Johnson, 2000; González *et al.*, 2008).

En cualquier punto en el tiempo, diferentes condiciones ambientales pueden inducir un cambio en la emisión de la fluorescencia. Un aumento en la proporción de centros de reacción reducidos (cerrados) ocasiona una disminución en la eficiencia fotoquímica, con un correspondiente incremento en la fluorescencia (González *et al.*, 2008). El parámetro más usado para evaluar la eficiencia fotoquímica con base en la emisión de fluorescencia es el rendimiento cuántico máximo [el cociente de la fluorescencia variable (F_v) entre la fluorescencia máxima (F_m)], cuando todos los centros de reacción del fotosistema II están oxidados o abiertos (Krause y Weis, 1991). Este parámetro expresa la eficiencia con la cual los electrones son procesados en la fotosíntesis por cantidad de luz absorbida (Gemel *et al.*, 1997; Maxwell y Johnson, 2000).

La temperatura es uno de los factores con mayor influencia en la eficiencia fotoquímica de las plantas (González *et al.*, 2008). Al medir el rendimiento de la fluorescencia de la clorofila se puede obtener información de los cambios en la eficiencia fotoquímica y una posible adaptación (Maxwell y Johnson, 2000; Mathur *et al.*, 2014).

No existe suficiente información sobre los efectos de diferentes condiciones térmica sobre el crecimiento inicial de plantas de *L. montanus* que permita determinar el grado de diferenciación y plasticidad fenotípica en características de importancia adaptativa de poblaciones a lo largo de un gradiente altitudinal. Por lo tanto, los objetivos del presente trabajo fueron: a) evaluar el desempeño y grado de diferenciación en las características de crecimiento inicial de plantas obtenidas de tres poblaciones de *L. montanus* (3,500, 3,900 y 4,200 m) en dos ambientes de temperatura (13 y 17 °C), b) determinar el grado de plasticidad fenotípica de estas plantas en las características de crecimiento y desarrollo en respuesta al ambiente de temperatura, y c) evaluar el desempeño fotosintético (fluorescencia) de estas tres poblaciones de *L. montanus* en condiciones de alta temperatura.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Material vegetal

La semilla utilizada se recolectó en 2017 en el área de protección de flora y fauna Nevado de Toluca (APFF Nevado de Toluca). El APFF se localiza en la porción centro-sur del Estado de México, con una superficie de 53,590 ha, e incluye un volcán de 4660m, cuarto lugar entre las montañas más altas de México (SEMARNAT, 2016). La semilla se recolectó en poblaciones

naturales de *L. montanus* localizadas a los 3,500, 3,900 y 4,200 m. En cada localidad se recolectaron vainas maduras de diez plantas, sin daños visibles. Las que se secaron en bolsas de papel en un invernadero por diez días; se extrajeron las semillas y, se seleccionaron al azar 40 semillas llenas de cada población.

3.4.2 Germinación y establecimiento del ensayo

Las semillas por población se germinaron en mini-domos de plástico sobre una cama de papel en cámaras de ambiente controlado con diferente temperatura (13 y 17 °C), 20 semillas por población en cada ambiente. Lo anterior en el Departamento de Campos Experimentales del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Una vez germinadas, a los 4 días de la siembra, las plántulas se trasplantaron a envases de plástico con capacidad de 1 L con un sustrato formado por la mezcla de aserrín (20%), vermiculita (40%) y corteza de pino molida (40%). Las plántulas se sometieron a una intensidad luminosa de 29 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 12 horas (correspondientes a las 12 horas del día).

Los envases se distribuyeron al azar en las mismas cámaras de ambiente controlado. En el ensayo se utilizó un arreglo factorial 2 x 3 en un diseño experimental de parcelas divididas en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. En las parcelas grandes (cámaras de ambiente controlado) se asignó el factor temperatura, con dos niveles (13 y 17 °C) y los bloques anidados en ellas. En las parcelas chicas se asignaron las poblaciones (3 localidades recolectadas) con 4 plantas por unidad experimental. Las temperaturas de evaluación se eligieron considerando dos escenarios de aumento de temperatura asociados a los pronósticos de cambio climático en las próximas décadas (Sáenz-Romero *et al.*, 2010), uno de ellos un tanto extremo, para “forzar” la respuesta plástico-adaptativa de las poblaciones. El ensayo se mantuvo en estas condiciones durante once semanas.

3.4.3 Variables evaluadas

Cada semana (de la semana cuatro a la semana once) se realizaron mediciones de altura del tallo de la planta con una regla metálica graduada en centímetros y se contabilizaron las hojas que se formaron. Se consideró una hoja nueva cuando el pecíolo se alargó y los folíolos comenzaron a abrirse.

Conforme se desarrollaron las hojas (hasta la hoja número 4) se registró: el tiempo requerido para la formación de la hoja, es decir, el número de horas que transcurrió hasta la aparición de cada hoja; el número de folíolos de la hoja; el diámetro de la hoja al concluir el alargamiento de los folíolos, con base en la longitud del folíolo más largo y el más corto.

A los 120 días de crecimiento, se seleccionaron 2 hojas (segunda y tercera) en cada una de las plantas que crecieron en el ambiente de 17 °C para determinar su fluorescencia. El método consistió en adaptar una sección de la hoja a la oscuridad y medir su fluorescencia basal (F_0) en condiciones de luz no actínica (luz que no inicia el transporte electrónico en los centros de reacción). Después se saturan todos los centros de reacción con un pulso breve de luz potente. Esta fuente de luz modulada permite que un fluorómetro (marca Hansatech Instruments, UK) mida la respuesta de fluorescencia correspondiente a la luz emitida, eliminando cualquier otra fuente de luz (Maxwell y Johnson, 2000); la señal de fluorescencia obtenida es la fluorescencia máxima (F_m). Además, el fluorómetro calculó la fluorescencia variable ($F_m - F_0$), la máxima eficiencia cuántica del fotosistema II ($F_v/F_m = R_{vm}$) y el tiempo en alcanzar la fluorescencia máxima (TF_m).

3.4.4 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se realizaron análisis de varianza para determinar la significancia estadística de los efectos individuales de los dos factores en estudio (temperatura y poblaciones) y de su interacción, con el procedimiento MIXED de SAS, versión 9.4 (SAS, 2013). De acuerdo con el diseño experimental descrito anteriormente, considerando valores promedio por unidad experimental y medidas repetidas (por fecha de medición en el caso de altura y número de hojas, y por hoja, en el caso de número de folíolos, diámetro de hoja y tiempo de formación de hoja) se utilizó el modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_{j(i)} + P_k + T_i * P_k + F_l + T_i * F_l + P_k * F_l + T_i * P_k * F_l + \epsilon_{ijkl}$$

Dónde: Y_{ijkl} = valor promedio observado en la unidad experimental asociada con la i -ésima temperatura, j -ésima repetición de la k -ésima población en la l -ésima fecha (u hoja) de medición; μ = media general; T_i = Efecto fijo de la i -ésima condición de temperatura; $B_{j(i)}$ = efecto aleatorio de la j -ésima repetición dentro de la i -ésima condición de temperatura; P_k = efecto fijo de la k -ésima población; $T_i * P_k$ = efecto fijo de la interacción de la i -ésima temperatura con la k -ésima población; $F_l + T_i * F_l + P_k * F_l + T_i * P_k * F_l$ = efectos fijos de la l -ésima medida repetida dentro de los sujetos y sus interacciones con los otros factores ya descritos; y ϵ_{ijk} = error experimental.

Para determinar la plasticidad de las poblaciones en respuesta al ambiente de temperatura se calculó el índice simplificado de plasticidad fenotípica de distancia relativa (RDPI_S, por sus siglas en inglés) para los datos de cada fecha y número de hoja, con la siguiente ecuación propuesta por Valladares *et al.* (2006):

$$RDPI_S = \frac{\sum \left(\frac{X_{ij} - X_{ij'}}{X_{ij} + X_{ij'}} \right)}{n}$$

Dónde RDPI_{S_i} es el valor del índice simplificado de plasticidad fenotípica de distancia relativa para la i-ésima población; X_{ij} es el valor promedio de la característica X para la i-ésima población en el j-ésimo ambiente); X_{ij'} es el valor promedio de la característica X para la i-ésima población en el j'-ésimo ambiente, distinto de j; y n es el número total de distancias entre ambientes distintos comparados para cada población. El valor del RDPI_S varía de 0 (plasticidad nula) a 1 (máxima plasticidad) (Valladares *et al.*, 2006). Los valores estimados de RDPI_S para cada una de las características se realizó un análisis de varianza de una vía con un modelo de medidas repetidas por fecha (o número de hoja) para determinar si existen diferencias significativas entre poblaciones en las diferentes fechas (u hojas) de medición.

Además, con los datos obtenidos de los parámetros de la fluorescencia de la clorofila (F₀, F_m, F_v, R_{vm} y TF_m), se realizó un ANOVA para determinar las diferencias entre las poblaciones. En este caso se utilizó el procedimiento PROC MIXED de SAS versión 9.4 (SAS, 2013) con los valores promedio por planta, por lo que el modelo solo incluyó el efecto de las poblaciones y los bloques tal como sigue:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + P_j + B_{ij} * P_j + \epsilon_{ijk}$$

Dónde: Y_{ijk} = valor promedio observado en la k-ésima planta en la j-ésima población del i-ésimo bloque; μ = media general; B_i = efecto aleatorio del i-ésimo bloque; P_j = efecto de la j-ésima población; B_j*P_j = efecto aleatorio de la interacción del i-ésimo bloque y j-ésima población y ε_{ijk} = error experimental.

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1 Efecto de la temperatura en el crecimiento de las plántulas

Con excepción del número de folíolos en las hojas, en todas las variables de crecimiento, hubo un efecto significativo ($p < 0.05$) de la temperatura (Figura 3.1). De manera general, en el ambiente de mayor temperatura (17 °C) se aceleró la velocidad de crecimiento de las plantas de *L. montanus*, con aumento de 35 % en la altura de la planta, 40 % en el número de hojas formadas, 23 % en el tamaño medio de las hojas y una reducción de 28 % en el tiempo de formación de hoja (TFH). Estos resultados son esperados, ya que la temperatura es importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas regula la dinámica de los procesos metabólicos y la tasa de crecimiento de los organismos (Lambers y Poorter, 1992; Fischer *et al.*, 1997). La diferencia de 4 °C entre los dos ambientes de crecimiento fue suficiente para aumentar 30 % la tasa de crecimiento de las plantas de *L. montanus*, debido en parte a un incremento en la tasa de fotosíntesis, como se ha mostrado en *Phacelia secunda* J. F. Gmel., una herbácea de alta montaña que al exponerse a un aumento de temperatura de 3.5 °C, registró un incremento de 24.4 % en la fotosíntesis (Sanfuentes *et al.*, 2012).

Aunque las temperaturas utilizadas en el estudio fueron de 4 a 12 °C mayores al promedio del sitio de origen de las poblaciones evaluadas, representan posibles escenarios futuros de temperatura a los que podrían estar expuestas estas poblaciones, de acuerdo con los pronósticos de cambio climático en las próximas décadas. Por lo tanto, resulta interesante que a pesar de esos ambientes “cálidos” evaluados, se observó un estímulo en la tasa de crecimiento de las plantas. Sin embargo, la mayor tasa de crecimiento observada podría tener consecuencias, positivas o negativas en el desempeño de la planta, en función del efecto combinado de otros factores que intervienen en el establecimiento y desarrollo de las plantas, como la disponibilidad de agua y nutrientes, entre otros (Sanfuentes *et al.*, 2012).

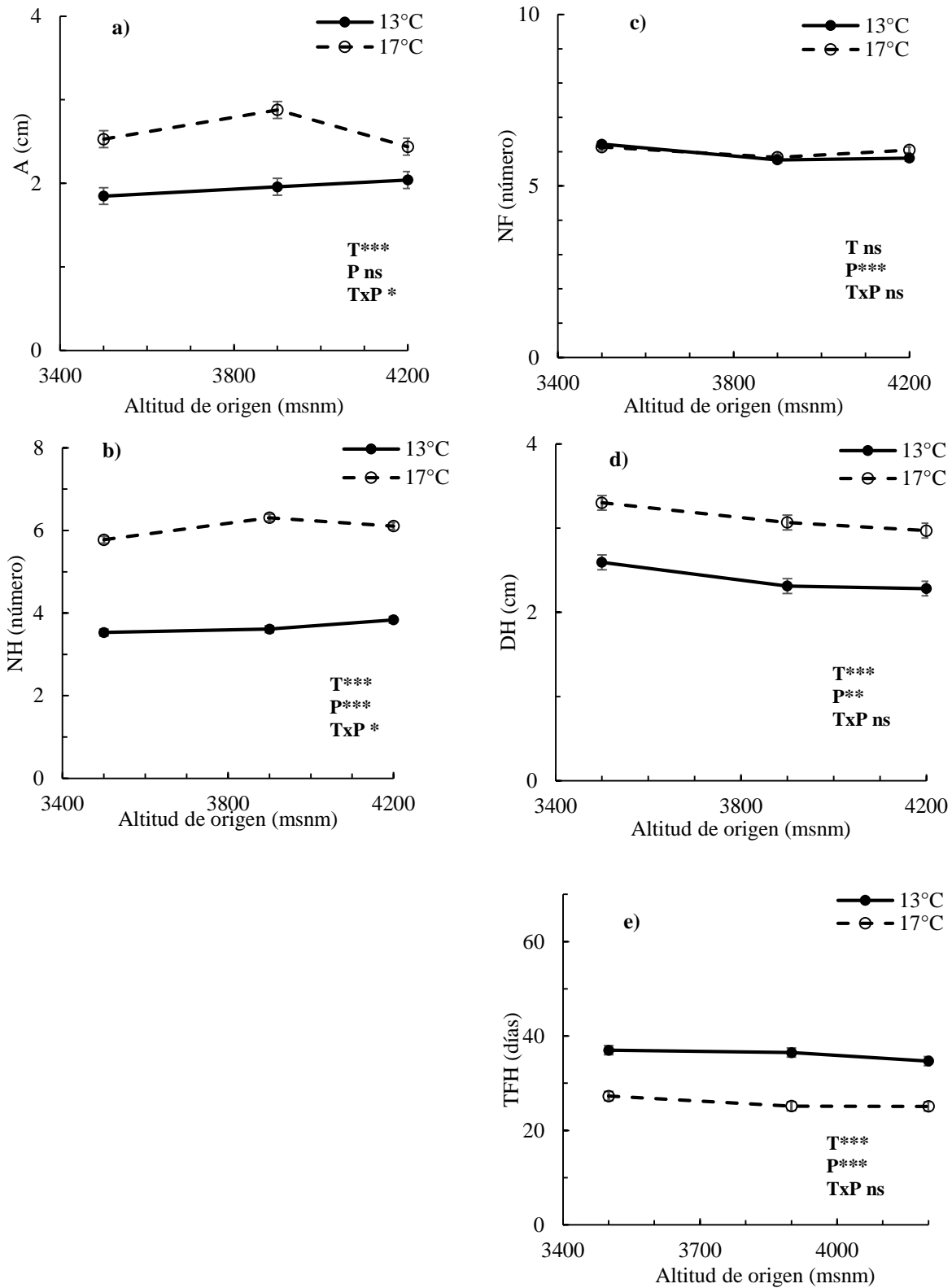


Figura 3.1. Desempeño de tres poblaciones de *Lupinus montanus* de diferentes altitudes en el Nevado de Toluca en dos condiciones de temperatura (13 y 17°C) en a) altura de las plantas (A), b) número de hojas

(NH), c) número de folíolos por hoja (NF), d) diámetro de la hoja (DH), y e) tiempo de formación de la hoja (TFH). Se muestra la significancia para los factores temperatura (T), población (P) y su interacción (TxP). *** $p \leq 0.001$; ** $p \leq 0.01$; * $p \leq 0.05$; ns=no significativo.

El principal factor climático que afecta la fenología de las plantas es la temperatura y por ello el aumento en la temperatura del aire se detecta fácilmente en los datos fenológicos (Menzel, 2000). Diversos estudios revelan que los eventos fenológicos de primavera son particularmente sensibles a la temperatura, y el calentamiento que ha ocurrido en las últimas décadas ya ha mostrado efectos en la fenología, provocando en la mayoría de los casos un adelanto en los sucesos fenológicos de primavera y un alargamiento del periodo de crecimiento (Peñuelas y Filella, 2001; Roetzer *et al.*, 2000; Walkovszky, 1998). A su vez, estos patrones fenológicos anticipados pueden alterar otros procesos de desarrollo en las plantas, como la asignación de carbohidratos, o la fenología reproductiva, que a su vez pueden modificar la competencia y dinámica de poblaciones, así como la diversidad genética (Thórhallsdóttir, 1998).

La diferencia entre los dos ambientes de temperatura en la altura de las plantas y en el número y tamaño de hojas aumentó con el periodo de evaluación (Figura 3.2). Por ejemplo, la diferencia en la altura entre los dos ambientes aumentó de 25 % a los 42 días hasta 35 % a los 77 días; mientras que la diferencia en el número de hojas aumentó de 35 a 39 % en el mismo periodo y la diferencia en el tamaño de la hoja aumentó de 19 a 42 % de la hoja 1 a la 4. Aunque el número de folíolos no cambió por efecto de la temperatura, sí se observa un efecto del desarrollo de la planta (número de folíolos de las hojas), que aumentó de 3 a 7 de la hoja 1 a la 4 (Figura 3.2). El tiempo requerido para la aparición (formación) de la primera hoja fue de 10 días en el ambiente con temperatura de 17 °C, y de 20 días en el ambiente de menor temperatura (13 °C); sin embargo, el tiempo promedio de formación de las hojas posteriores fue similar en los dos ambientes de temperatura, por lo que las diferencias iniciales se mantuvieron estables en todo el periodo de crecimiento de las plantas.

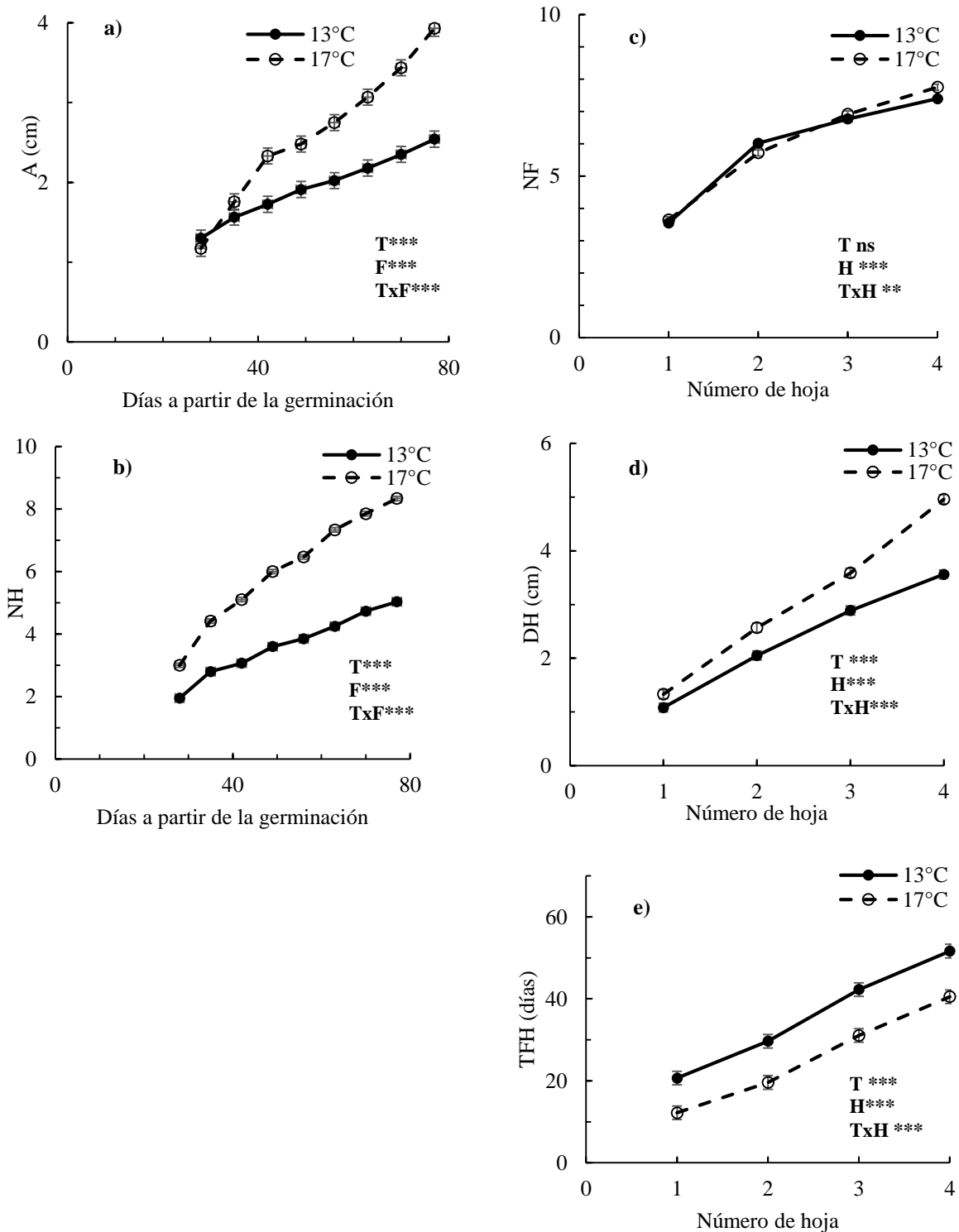


Figura 3.2. Dinámica de crecimiento de las plantas de *Lupinus montanus* originarias del Nevado de Toluca en dos condiciones de temperatura (13 y 17°C) en a) altura de las plantas (A), b) número de hojas (NH), c) número de folíolos por hoja (NF), d) diámetro de la hoja (DH), y e) tiempo de formación de la hoja (TFH). Se muestra la significancia para los factores temperatura (T), fecha (F), Hoja (H), y su interacción. *** $p \leq 0.001$; ** $p \leq 0.01$; * $p \leq 0.05$; ns=no significativo.

La temperatura media anual a lo largo del gradiente altitudinal estudiado fluctúa entre los 5 y 9 °C, por lo que al estar sometidas a las temperaturas de este estudio (13 y 17 °C) se esperaba que tuvieran un impacto severo en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, no hubo manifestación de estrés, probablemente porque están adaptadas a fluctuaciones diurnas y estacionales de temperatura en su ambiente natural. La temperatura promedio durante el día en primavera y verano en el gradiente altitudinal de la especie en el Nevado de Toluca puede alcanzar 23 a 28 °C (CONAGUA, 2016).

Se ha encontrado que las especies de plantas con amplia distribución son menos sensibles a la temperatura que las endémicas, ya que las especies que tienen mayor distribución presentan una ventaja adaptativa para colonizar nuevas áreas y para tolerar cambios en el ambiente (Luna *et al.*, 2012). Por lo tanto, existe una estrecha relación entre la respuesta a la temperatura de las plantas y las condiciones ambientales en que se desarrollan. Por otro lado, la temperatura ejerce una regulación compleja de la mayoría de los procesos fisiológicos de las plantas; diferentes estudios muestran que un aumento de ésta por encima de una temperatura base produce un incremento lineal en la tasa de desarrollo, como ocurrió en las plantas de *L. montanus*, hasta una temperatura óptima (Bonhomme, 2000). Por encima de ese punto se puede reducir la tasa de crecimiento debido a una mayor pérdida de carbono por respiración (Al-Khatib y Paulsen, 1999; Bonhomme, 2000; Yepes y Buckeridge, 2011).

3.5.2 Respuesta de las poblaciones a los ambientes de temperatura

Las poblaciones mostraron diferencias significativas en todas las variables de crecimiento evaluadas, con excepción de la altura de la planta (Figura 3.1). La población de menor elevación (3,500 m) fue la que tuvo el mayor número de folíolos por hoja y tamaño de hoja, pero invirtió más tiempo en formar nuevas hojas, por lo que presentó menor número de hojas. En estas variables se observa una relación lineal con la elevación de origen de las poblaciones; al aumentar la elevación se reduce el número de folíolos y el tamaño promedio de la hoja, pero aumenta la velocidad de aparición de las hojas. En la altura de planta y número de hojas se encontró una interacción significativa de las poblaciones con la temperatura (Figura 3.1) que indica diferencias en plasticidad fenotípica entre ellas. Además, las diferencias entre poblaciones en la velocidad de formación de las hojas se mantuvieron a lo largo del estudio, pero las diferencias en número y tamaño de hojas aumentaron con la edad de las plantas (Figura 3.3).

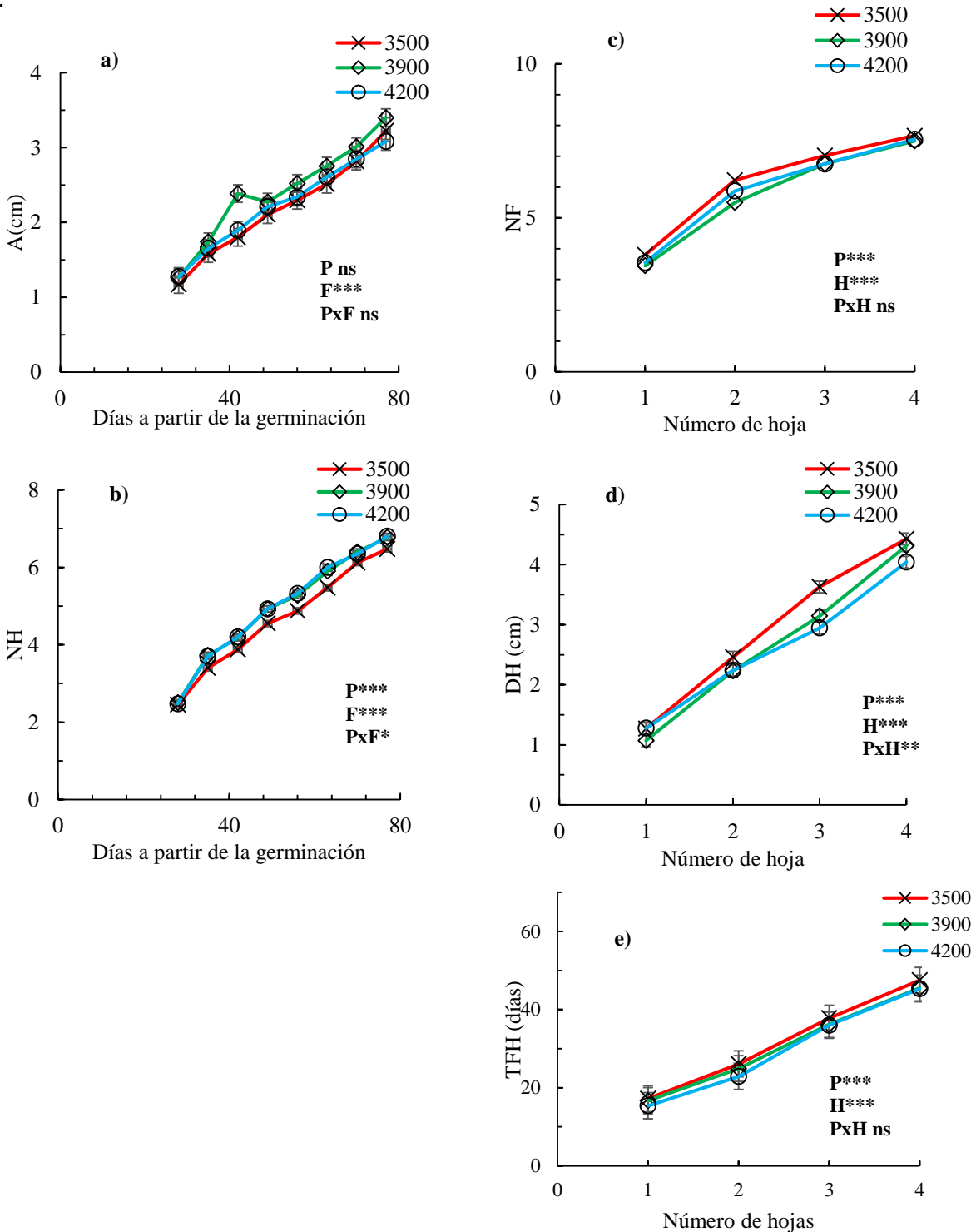


Figura 3.3. Dinámica del crecimiento de tres poblaciones de *Lupinus montanus* en relación con a) altura de las plantas (A), b) número de hojas (NH), c) número de folíolos por hoja (NF), d) diámetro de la hoja (DH), y e) tiempo de formación de la hoja (TFH). Factores población (P); fecha (F) y hoja (H). *** $p \leq 0.001$; ** $p \leq 0.01$; * $p \leq 0.05$; ns=no significativo.

La respuesta diferenciada de las poblaciones a los ambientes de temperatura parece ser resultado de la respuesta adaptativa de la especie al gradiente ambiental asociado a la elevación de origen de las poblaciones evaluadas (Premoli y Mathiasen, 2011). El gradiente altitudinal en las zonas alpinas de las montañas impone restricciones severas para la reproducción y el establecimiento a las poblaciones de mayor elevación. Por lo anterior, las plantas adquieren diferentes mecanismos adaptativos y plásticos para sobrevivir en esas condiciones (Oleksyn, *et al.*, 1998; Premoli y Mathiasen, 2011). Por ejemplo, una mayor tasa de desarrollo ontogénico para aprovechar de manera más eficiente la menor duración del periodo favorable de crecimiento (Harsch y Bader 2011; Mathisen y Hofgaard, 2011), asociado a un menor tamaño de planta y del área foliar, dadas las limitaciones ambientales en la tasa de fotosíntesis (Salminen *et al.*, 2009; Jalkanen y Tuovinen, 2001). Estos dos aspectos se reflejaron en el patrón de respuesta de las poblaciones asociado al gradiente altitudinal de origen, con una mayor velocidad en la formación de hojas de menor tamaño en la población de mayor elevación (4,200 m). Este patrón de respuesta también se ha observado en otras especies de montaña como *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham, donde a partir de un experimento realizado en cámaras de ambiente controlado, se encontró que al elevar la temperatura (simulando efecto del calentamiento global), las poblaciones procedentes de menor altitud tuvieron en general mayor altura y peso seco (Sáenz-Romero *et al.*, 2011).

3.5.3 Plasticidad fenotípica de las poblaciones de *Lupinus montanus*

En respuesta al ambiente de temperatura se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones de *Lupinus montanus* en el índice estandarizado de plasticidad fenotípica en altura (A) y número de hojas (NH) ($p < 0.05$). Aunque la plasticidad fenotípica de las características se modificó con la edad o desarrollo de la planta, las diferencias en plasticidad entre las poblaciones se mantuvieron estables, excepto en el caso del número de folíolos por hoja (Figura 3.4). En general, la población de la elevación intermedia (3,900 m) presentó un mayor índice de plasticidad que las de los dos extremos altitudinales.

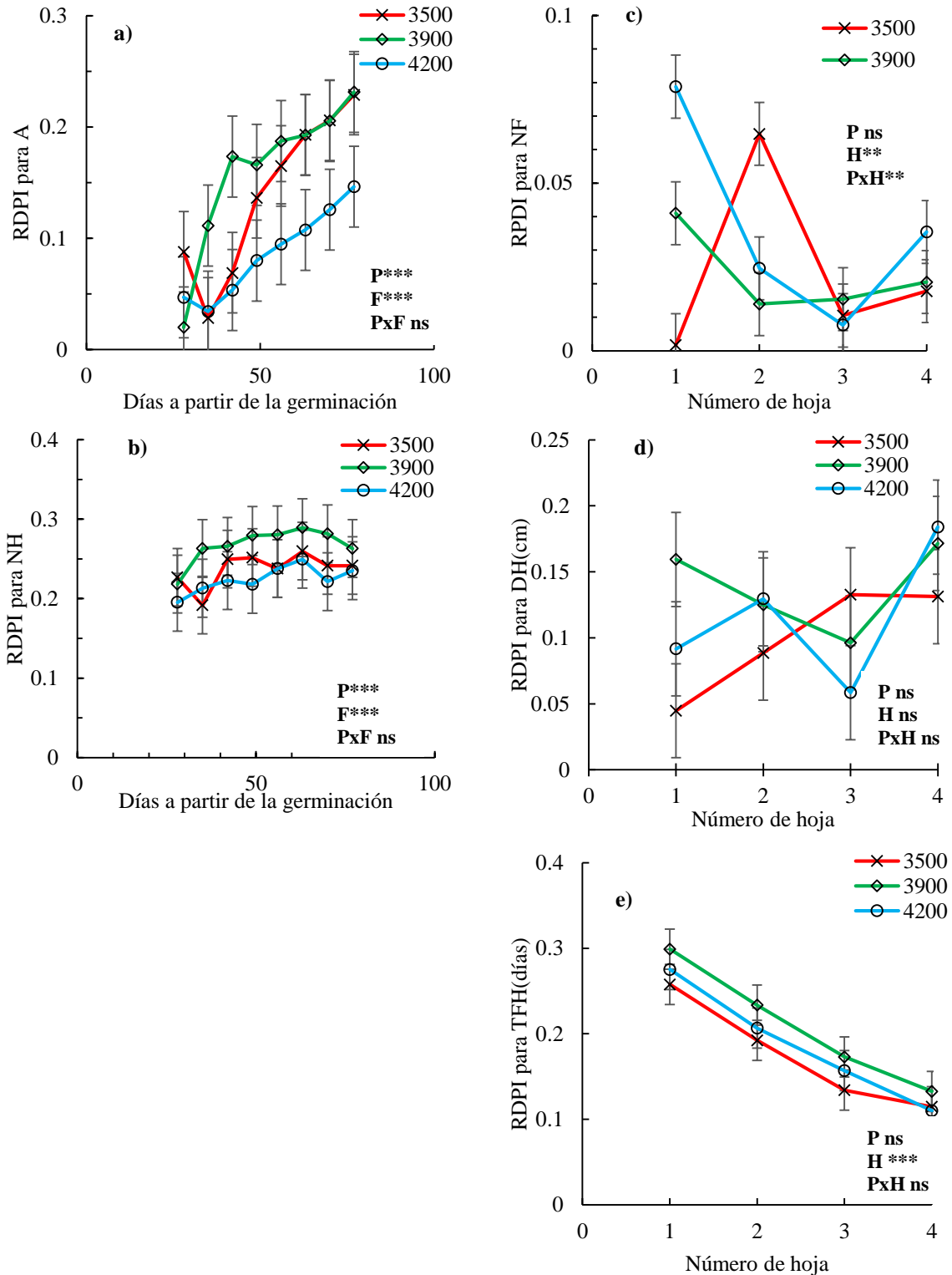


Figura 3.4. Índice de plasticidad fenotípica de tres poblaciones de *Lupinus montanus* en relación con a) altura de la planta (A), b) número de hojas (NH), c) número de folíolos por hoja (NF), d) diámetro de la hoja (DH), y e) tiempo de formación de la hoja (TFH). Se muestra la significancia para los factores población (P), fecha (u hoja) (F o H) y su interacción. *** $p \leq 0.001$; ** $p \leq 0.01$; * $p \leq 0.05$; ns=no significativo.

Al encontrarse a lo largo de un gradiente altitudinal *L. montanus* tiende a ser una especie generalista; es decir, pertenece al grupo de plantas que tolera los cambios ambientales asociados a la amplitud de su nicho ecológico (González y Gianoli, 2004), por lo que es común que presente mayor plasticidad fenotípica que especies con una distribución natural restringida (Sultan, 2001; Geng *et al.*, 2006). Sin embargo, la mayor plasticidad fenotípica de la población intermedia se contrapone a la hipótesis de que las poblaciones de los extremos del gradiente ambiental poseen mayor plasticidad por encontrarse en condiciones ambientales más heterogéneas (Bradshaw y Hardwick, 1989; Gianoli, 2004).

La estructura demográfica en las poblaciones puede ser un factor que contribuye a su diversidad genética que a su vez puede reflejar manifestaciones de plasticidad con fines adaptativos. Por ejemplo, en rodales de baja a mediana altitud de *Nothofagus pumilio* (Poepp. & Endl.) Krasser es predominante la regeneración por semillas que genera una estructura demográfica compleja de individuos con genotipos emparentados, aunque con una mayor diversidad genética. En cambio, en el límite altitudinal superior, predomina la propagación vegetativa con una esporádica reproducción sexual, produciendo una mayor homogeneidad genética (Mathiasen y Premoli, 2013). Experimentos de trasplantes recíprocos de esta especie sugieren que las poblaciones genéticamente diversas de menor altitud tendrán más capacidad de respuesta ante condiciones de cambio climático que las que se encuentran hacia el límite altitudinal superior del bosque, las que a su vez serían propensas de sufrir decaimiento local (Mathiasen y Premoli, 2016). Estos resultados muestran que las repuestas que se predicen con el cambio climático en el gradiente altitudinal pueden ser más complejas de lo esperado.

En el capítulo anterior se encontró que las poblaciones de *L. montanus* de los extremos del gradiente altitudinal fueron más plásticas en la dinámica de germinación de las semillas al aumentar la temperatura ambiental. Esto hace suponer que el patrón altitudinal de la plasticidad fenotípica de las poblaciones de *L. montanus* difiere entre características dependiendo de la etapa fenológica y de desarrollo de las plantas, debido posiblemente a que muchas de estos caracteres varían dramáticamente en el transcurso del desarrollo y crecimiento de las plantas (Evans, 1972), así como en su valor adaptativo ante las condiciones particulares del ambiente (Lortie y Aarssen, 1996). Por eso es por lo que se considera que la plasticidad fenotípica en especies de alta montaña es una de las mejores opciones para persistir en el ecosistema (Vía *et al.*, 1995; Nicotra *et al.*, 2010).

Si en etapas iniciales de crecimiento la población de 3,900 m muestra un mayor grado de plasticidad, es posible que tenga una mayor capacidad de adaptación para persistir en las condiciones ambientales cambiantes. Esto es importante para hacer frente a las alteraciones ambientales inducidos por el cambio climático; sin embargo, resulta primordial la protección y manejo ecológico de los hábitats hacia los extremos de distribución de *L. montanus* además de continuar la evaluación en las siguientes etapas de desarrollo.

3.5.4 Diferencias entre poblaciones en la fluorescencia de la clorofila *a*

Se presentaron diferencias entre las poblaciones en la emisión de fluorescencia (Cuadro 3.1) por lo que la eficiencia fotosintética varió entre ellas en condiciones de temperatura elevada (17 °C) con respecto a su ambiente natural. La población de menor elevación (3,500 m) presentó valores menores de F_0 , F_m y F_v , y alcanzó más rápido el valor pico de F_m . Esta población está adaptada a condiciones de mayor temperatura con respecto a las otras dos, lo cual podría explicar el por qué alcanzó la máxima fluorescencia en menor tiempo. En cambio, la población de mayor elevación (4,200 m) mostró el valor mayor de eficiencia fotoquímica o rendimiento cuántico (R_{vm}). En condiciones naturales esta población está expuesta a una cantidad mayor de radiación solar y menor temperatura del aire, por efecto de la altitud (Körner, 2007), por lo que el proceso fotosintético no se realiza en las mismas condiciones que en las poblaciones de menor elevación. Es posible que, al detectar condiciones de mayor temperatura de manera constante, las plantas de esta población encontraron condiciones propicias para hacer más eficiente el proceso fotoquímico de la fotosíntesis, incluyendo una mayor emisión de fluorescencia máxima (F_m), asociada con una menor fluorescencia inicial (F_0).

Cuadro 3.1. Valores promedio de los parámetros de fluorescencia de la clorofila *a* de tres poblaciones de *Lupinus montanus* originarias de diferentes elevaciones del Nevado de Toluca a una temperatura de 17 °C.

Elevación de origen	Fluorescencia			Relación F_v/F_m (R_{vm})	Tiempo en alcanzar F_m (ms)
	inicial (F_0)	máxima (F_m)	variable (F_v)		
3,500	493.7±18.9b	2212.9±88.3b	1719.2±80.4b	0.775±0.01a	292.03±11.8b
3,900	549.1±18.9a	2450.7±88.3a	1873.3±80.4a	0.767±0.01b	314.17±11.8b
4,200	493.1±18.9b	2407.8±88.3a	1914.6±80.4a	0.794±0.01a	356.27±11.8a

La fotosíntesis, como todos los procesos fisiológicos, depende de la temperatura, por lo que cuando se alcanza la capacidad máxima la temperatura se encuentra en el nivel óptimo. Temperaturas superiores o inferiores a la óptima ocasionan una reducción de la tasa de fotosíntesis (Havaux y Tardy, 1996). Aunque en algunos casos, existe la posibilidad de aclimatarse al estrés térmico (Havaux, 1993).

Esta tendencia de tener mayor eficiencia fotoquímica a mayor altitud concuerda con un trabajo realizado por Castrillo (2006), quien determinó que la población de mayor elevación presentó una mayor actividad a pesar de que el contenido de clorofila *a* tuvo una disminución con la altitud. Esto lo atribuyen a una mayor reactividad o activación de la enzima responsable del proceso fotosintético (Rubisco) como compensación ante las modificaciones morfológicas que experimentan las plantas al aumentar la altitud (disminución del tamaño de la hoja, incremento en la pubescencia foliar, mayor grosor de la hoja, entre otros) por lo que provoca una mayor actividad metabólica que puede ser crucial ante condiciones de cambios en el clima.

3.5.5 Implicaciones en el contexto del cambio climático

Los resultados del estudio muestran que la temperatura tiene una influencia importante en el crecimiento y desarrollo de las plantas de *L. montanus*. A pesar de estar sometidas a un aumento significativo de la temperatura con respecto a su ambiente natural, las plantas de las tres poblaciones evaluadas mostraron suficiente plasticidad fenotípica en las características de crecimiento y fenología vegetativa, lo que les permitió continuar con su desarrollo inicial e incluso mostrar una mayor tasa de crecimiento en la temperatura más alta (17 °C). Una de las respuestas esperadas en ambientes de montaña ante el aumento de temperatura asociado al cambio climático es que ocurra un ascenso gradual de las poblaciones y comunidades completas (Wilson *et al.*, 2005; Matías, 2012).

La información obtenida en este capítulo indica que la especie muestra evidencias de adaptación a las condiciones de temperatura a lo largo del gradiente altitudinal en sus características de crecimiento y desarrollo inicial, así como en la eficiencia del fotosistema II. A pesar de las diferencias en la respuesta en crecimiento y plasticidad fenotípica de las poblaciones a las condiciones de temperatura evaluadas, las evidencias obtenidas indican que en las fases tempranas del crecimiento vegetativo, todas ellas tienen la plasticidad fenotípica suficiente para

ajustar su funcionamiento y desarrollo a un aumento de temperatura similar (4-5 °C) al esperado en las próximas décadas, de acuerdo con las proyecciones que se hacen del cambio climático (Sáenz-Romero *et al.*, 2010). Sin embargo, se requieren estudios de mayor duración y que incluyan el ciclo de desarrollo completo (vegetativo y reproductivo) de las plantas para evaluar el efecto del aumento de temperatura y el nivel de plasticidad fenotípica en otras características de crecimiento y fenología. Esa información permitiría tener una idea más completa de las diferencias entre poblaciones a lo largo del gradiente altitudinal en los mecanismos adaptativos y plasticidad fenotípica de la especie, así como de sus perspectivas de permanencia ante las nuevas condiciones de temperatura en su hábitat natural.

3.6 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este capítulo muestran las adaptaciones de *Lupinus montanus* a temperatura alta en etapas tempranas de crecimiento. Se resalta la plasticidad fenotípica como un mecanismo que puede moderar los impactos del cambio climático sobre la persistencia de la especie a lo largo del gradiente altitudinal. Además del aumento en la tasa de crecimiento, se presentaron adaptaciones relacionadas con la eficiencia fotosintética, sin embargo, resulta primordial la protección y manejo ecológico de los hábitats en los extremos de distribución de la especie además de continuar la evaluación en las siguientes etapas de desarrollo para conocer las posibles respuestas a cambios en el clima.

3.7 LITERATURA CITADA

- Acosta-Percástegui, J. and D. A. Rodríguez-Trejo. 2005. Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia* 30(9): 576-579.
- Aitken, S. N., S. Yeaman, J. A. Holliday, T. Wang and S. Curtis-McLane. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications* 1: 95-111.
- Alderete-Chávez A., V. Espinosa H., E. Ojeda T., M. Ehsan, J. Pérez M., V. M. Cetina A., D. A. Rodríguez T. and N. de la Cruz-Landero. 2008. Natural distribution and principal characteristics of *Lupinus* in the oriental face of Tláloc mountain in Sierra Nevada, México. *Journal of Biological Sciences* 8(3): 604-609.
- Al-Khatib, K. and G. M. Paulsen. 1999. High-temperature effects on photosynthetic processes in temperate and tropical cereals. *Crop Science* 39: 119-125.

- Beniston, M., H. F. Díaz and R. S. Bradley. 1997. Climatic change at high elevation sites: An overview. *Climatic Change* 36: 233-251.
- Bonhomme, R. 2000. Bases and limits to using "degree.days" units. *European Journal of Agronomy* 13: 1-10.
- Bradshaw, A. D. and K. Hardwick. 1989. Evolution and stress genotypic and phenotypic components. *Biological Journal of the Linnean Society* 37: 137-155.
- Burgess, S. C., E. A. Treml and D. J. Marshall. 2012. How do dispersal costs and habitat selection influence realized population connectivity? *Ecology* 93 (6): 1378-1387.
- Caasi-Lit, M., M. I. Whitecross, M. Nayudu and G. J. Tanner. 1997. UV-B irradiation induces differential leaf damage ultrastructural changes and accumulation of specific phenolic compounds in rice cultivars. *Australian Journal of Plant Physiology* 24: 261-274.
- Castrillo, M. 2006. Fotosíntesis en tres poblaciones altitudinales de la planta andina *Espeletia schultzii* (Compositae). *Revista de Biología Tropical* 54(4): 1143-1149.
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2016. Información Estadística Climatológica. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx/es/climatologia/informacion-climatologica/informacion-estadistica-climatologica>. Fecha de consulta: 5 de marzo 2021.
- Demming-Adams, B. and W. W. Adams, 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1(1): 21-26.
- Díaz, H. F. and R. S. Bradley. 1997. Temperature variations during the last century at high elevation sites. *Climatic Change* 36(3): 253-279.
- Dunn, D. B. 2001. *Lupinus*. In: G. R. Calderón de R. y J. Rzedowski. Flora Fanerogámica del Valle de México. Ed. Instituto de Ecología, A. C. CONABIO. Pátzcuaro, Michoacán, México. 983 p.
- Evans, G. C. 1972. *The Quantitative Analysis of Plant Growth*. University of California Press. Berkley, California: 734 p.
- Ferval, M., L. Legal, C. Gers, P. Winterton and K. Bermúdez-Torres. 2013. Genomic fingerprinting versus nuclear gene sequences: A comparative approach for studying the *Lupinus montanus* (Fabaceae) species complex. *South African Journal of Botany* 89: 106-110.
- Fischer, G., F. Torres C. y J. Torres B. 1997. Efecto de la temperatura del suelo sobre la planta. 1. Crecimiento y desarrollo. *Revista Comalfi* XXIV(3): 78-92.
- Gemel, J., B. Waters-Earhart, M. R. Ellersieck, A. Asfaw, G. F. Krause, V. Puri and W. R. Lower. 1997. Photosynthetic electron transport as a bioassay. In: W. Wang, W. J. Gorsuch and J. S. Hughes (eds). *Plants for Environmental Studies*. Press LLC. New York. pp: 209-224.

- Geng, Y., X. Pan, C. Xu, W. Zhang, B. Li and J. Chen. 2006. Phenotypic plasticity of invasive *Alternanthera philoxeroides* in relation to different water availability, compared to its native congener. *Acta Oecologica* 30 (3): 380-385.
- Gianoli, E. 2004. Plasticidad fenotípica adaptativa en plantas. *In*: H. M. Cabrera (ed.). *Fisiología Ecológica en Plantas*. Editorial de la Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso. pp: 13-26.
- González, A. V. and E. Gianoli. 2004. Morphological plasticity in response to shading in three *Convolvulus* species of different ecological breadth. *Acta Oecologica* 26: 185-190.
- González M. S., H. Perales V. y M. O. Salcedo A. 2008. La fluorescencia de la clorofila a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas. *Revista de Educación Bioquímica* 27(4): 119-129.
- Harsch, M. A. and M. Y. Bader. 2011. Treeline form-a potential key to understanding treeline dynamics. *Global Ecology and Biogeography* 20(4): 582-596.
- Havaux, M. 1993. Characterization of thermal damage to the photosynthetic electron transport system in potato leaves. *Plant Science* 94: 19-33.
- Havaux, M. and F. Tardy. 1996. Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of photosystem II in vivo: possible involvement of xanthophyll-cycle pigments. *Planta* 198: 324-333.
- Jalkanen, R. and M. Tuovinen. 2001. Annual needle production and height growth: better climate predictors than radial growth at treeline? *Dendrochronologia* 19: 39-44.
- Jump, A. S. and J. Peñuelas. 2005. Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters* 8: 1010- 1020.
- Körner, C. and W. Larcher. 1988. Plant life in cold climates. *In*: S.F. Long y F.I. Woodward (eds.), *Plants and Temperature*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 25-57.
- Körner, C. 2003. *Alpine Plant Life* (2nd ed). Springer Verlag, Berlin, Germany. 344 p.
- Körner, C. 2007. The use of altitude in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution* 22(11): 569-574.
- Krause, G. H. and E. Weis. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42(1): 313-349.
- Lambers, H. and H. Poorter. 1992. Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research* 23: 187-261.
- Lloret, F. 2012. Vulnerabilidad y resiliencia de los ecosistemas forestales frente a episodios extremos de sequía. *Ecosistemas* 21(3): 85-90.
- Lortie, C. J. and L. W. Aarssen. 1996. The specialization hypothesis. *International Journal of Plant Sciences* 157(4): 484-487.

- Luna, B., B. Pérez, I. Torres and J. M. Moreno. 2012. Effects of incubation temperature on seed germination of Mediterranean plants with different geographical distribution ranges. *Folia Geobotánica* 47: 17-27.
- Mathiasen, I. E. and A. Hofgaard. 2011. Recent Height and Diameter Growth Variation in Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) along the Arctic Margin: The Importance of Growing Season versus Non-Growing Season Climate Factors. *Plant Ecology and Diversity*, 4(1): 1-11.
- Mathiasen, P. and A. C. Premoli. 2013. Fine-scale genetic structure of *Nothofagus pumilio* (lenga) at contrasting elevations of the altitudinal gradient. *Genetica* 141: 95-105.
- Mathiasen, P. and A. C. Premoli. 2016. Living on the edge: adaptive and plastic responses of the tree *Nothofagus pumilio* to a long-term transplant experiment predict rear-edge upward expansion. *Oecologia* 181: 607-619.
- Mathur, S., D. Agrawal and A. Jajoo. 2014. Photosynthesis: response to high temperature stress. *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology* 137: 116-126.
- Matías, L. 2012. Cambios en los límites de distribución de especies arbóreas como consecuencia de las variaciones climáticas. *Ecosistemas* 21(3): 91-96.
- Maxwell, K. and G. N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345): 659-668.
- Menzel, A. 2000. Trends in phenological phases in Europe between 1951 y 1996. *International Journal Biometeorology* 44(2): 76-81.
- Nagy, L. and G. Grabherr. 2009. *The Biology of Alpine Habitats*. Oxford University Press. 363p.
- Nicotra, A. B., O. K. Atkin, S. P. Bonser, A. M. Davidson, E. J. Finnegan, U. Mathesius, P. Poot, M. D. Purugganan, C. L. Richards, F. Valladares and M. van Kleunen. 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends in Plant Science* 15(12): 684-692.
- Nosil, P., T. H. Vines and D. J. Funk. 2005. Reproductive isolation caused by natural selection against immigrants from divergent habitats. *Evolution* 59(4): 705-719.
- Núñez-Farfán, J., S. A. Careaga, J. Forfoni, L. Ruiz-Montoya y P. L. Valverde. 2003. La evolución de la plasticidad fenotípica. *Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas* 6(1): 16-24.
- Oleksyn, J., M. G. Tjoelker and P. B. Reich. 1998. Adaptation to changing environment in Scots pine populations across a latitudinal gradient. *Silva Fennica* 32(2): 129-140.
- Peñuelas, J. and I. Filella. 2001. Phenology: Responses to a warming world. *Science* 294: 793-795.
- Premoli, A. C. y P. Mathiasen. 2011. Respuestas ecofisiológicas adaptativas y plásticas en ambientes secos de montaña: *Nothofagus pumilio*, el árbol que acaparó los Andes australes. *Ecología Austral* 21(3): 251-269.

- Roetzer, T., M. Wittenzeller, H. Haeckel and J. Nekovar. 2000. Phenology in central Europe-differences and trends of spring phenophases in urban and rural areas. *International Journal of Biometeorology* 44(2): 60-66.
- Sáenz-Romero, C., G. E. Rehfeldt, N. L. Crookston, P. Duval, R. St-Amant, J. Beaulieu and B. A. Richardson. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change* 102: 595-623.
- Sáenz-Romero, C., J. Beaulieu y G. E. Rehfeldt. 2011. Variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus patula* de Oaxaca, México, en cámaras de crecimiento simulando temperaturas de calentamiento global. *Agrociencia* 45(3): 399-411.
- Sáenz-Romero, C., R. A. Lindig-Cisneros, D. G. Joyce, J. Beaulieu, J. B. St. Clair and B. C. Jaquish. 2016. Assisted migration of forest populations for adapting trees to climate change. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 22(3): 303-323.
- Salminen, H., R. Jalkanen and M. Lindholm. 2009. Summer temperature affects the ratio of radial and height growth of Scots pine in northern Finland. *Annals of Forest Science* 66(8): 810.
- Sanfuentes, C., A. Sierra-Almeida y L. A. Cavieres. 2012. Efecto del aumento de la temperatura en la fotosíntesis de una especie alto-andina en dos altitudes. *Gayana Botánica* 69(1): 37-45.
- SAS (Statistical Analysis System). 2013. SAS Institute Inc. Cary, NC USA.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2016. Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna Nevado de Toluca. Ciudad de México, México.
- Soto-Correa, J. C., C. Sáenz-Romero, R. Lindig-Cisneros, N. Sánchez-Vargas y J. Cruz-de-León. 2012. Variación genética entre procedencias de *Lupinus elegans* Kunth, zonificación altitudinal y migración asistida. *Agrociencia* 46(6): 593-608.
- Soto-Correa, J. C., C. Sáenz-Romero, R. Lindig-Cisneros and E. de la Barrera. 2013. The neotropical shrub *Lupinus elegans*, from temperate forests, may not adapt to climate change. *Plant Biology* 15(3): 607-610.
- Streb, P., S. Aubert, E. Gout and R. Bliigny. 2003. Reversibility of cold- and light-stress tolerance and accompanying changes of metabolite and antioxidant levels in the two high mountain plant species *Soldanella alpina* and *Ranunculus glacialis*. *Journal of Experimental Botany* 54(381): 405-418.
- Sultan, S. E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5(12): 537-542.
- Sultan, S. E. 2001. Phenotypic plasticity for fitness components in *Polygonum* species of contrasting ecological breadth. *Ecology* 82(2): 328-343.
- Thórhallsdóttir, T. E. 1998. Flowering phenology in the central highland of Iceland and implications for climatic warming in the Arctic. *Oecologia* 114(1): 43-49.

- Valladares, F., D. Sánchez-Gómez and M. A. Zavala. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* 94(6): 1103-1116.
- Vía, S., R. Gomulkiewicz, G. De Jong, S. M. Scheiner, C. D. Schlichting and P. H. van Tienderen. 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends in Ecology and Evolution* 10(5): 212-217.
- Walkovszky, A. 1998. Changes in phenology of the locust tree (*Robinia pseudoacacia* L.) in Hungary. *International Journal Biometeorology* 41(4): 155-160.
- Wilson, R. J., D. Gutiérrez, J. Gutiérrez, D. Martínez, R. Agudo and V. J. Monserrat. 2005. Changes to the elevational limits and extent of species ranges associated with climate change. *Ecology Letters* 8(11): 1138-1146.
- Yepes, A. y M. S. Buckeridge. 2011. Respuestas de las plantas ante los factores ambientales del cambio climático global (revisión). *Colombia Forestal* 14(2): 213-232.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

Se espera que el cambio climático tenga impactos importantes a largo plazo en diferentes procesos naturales a escala global y siendo los ecosistemas alpinos los más vulnerables a estos impactos. Este estudio aborda varios aspectos relacionados con las diferentes opciones que tiene *L. montanus* a lo largo del gradiente altitudinal de su distribución natural en el Nevado de Toluca en el contexto del cambio climático. Aunque el presente trabajo se enfoca en el aumento de la temperatura, otros factores también son críticos para el futuro de *L. montanus*. Recabar información sobre las respuestas de las poblaciones naturales de diferentes especies al cambio climático es prioritario para diseñar medidas que ayuden a su conservación. Las características de la distribución de la especie a lo largo del gradiente altitudinal permiten usarla como un modelo biológico experimental para obtener información de los mecanismos disponibles en las especies vegetales de alta montaña ante la modificación gradual de las condiciones climáticas, en particular con respecto al aumento de la temperatura, que ha venido ocurriendo en las últimas décadas, y que seguramente continuarán en el futuro.

La capacidad de dispersión de las plantas es un factor crítico para evadir condiciones ambientales adversas asociadas al aumento de temperatura en los ecosistemas de montaña. Para aumentar las posibilidades de localizar y colonizar espacios nuevos con un microambiente favorable y, en el caso de las montañas, “avanzar” a mayor altitud, es necesario disponer de espacio y ser capaz de dispersar suficientes semillas a una distancia que permita “escalar” la montaña a la misma velocidad en que cambian las condiciones ambientales, lo cual no es fácil de resolver.

Como consecuencia del incremento térmico se han detectado desplazamientos altitudinales de algunas especies de alta montaña, pero generalmente el desplazamiento ocurre a una menor velocidad que el aumento de temperatura. Sin embargo, la migración no es la única opción posible de las poblaciones para hacer frente al cambio climático. También existe la posibilidad de que las poblaciones locales se adapten a las nuevas condiciones en su sitio de origen. La posibilidad de perdurar bajo las nuevas condiciones está relacionada con varios procesos genéticos y fisiológicos, incluyendo la tolerancia fisiológica, plasticidad fenotípica, mecanismos de compensación demográfica, u otros que implican cambios en las interacciones bióticas, que pueden ayudar a persistir de manera local.

De acuerdo con los resultados del primer capítulo, *L. montanus* es una especie muy prolífica, con una amplia capacidad de producción de semillas (más de 5,500 semillas por planta) en función

del tamaño de la planta (altura y número de tallos por planta). El patrón espacial de dispersión de la semilla es relativamente homogéneo y simétrico en todas las direcciones de la planta, a favor o en contra de la pendiente del terreno. La curva de dispersión se ajusta a un modelo exponencial negativo, en el que la cantidad de semilla dispersada disminuye drásticamente a una distancia de 2 m de la planta madre. Sin embargo, existe la posibilidad de que la semilla se mueva a mayor distancia por el efecto de agentes dispersores secundarios, como el viento, aves o roedores que habitan en estas comunidades vegetales. Además, la elevada capacidad de producción de semilla por individuo y la frecuencia anual de los ciclos reproductivos en la especie contribuyen a aumentar de manera significativa la posibilidad de desplazamiento altitudinal de la semilla, para colonizar nuevos espacios, especialmente en el caso de las poblaciones que se encuentran en el límite altitudinal superior de la distribución natural de la especie.

Como en muchas otras especies, es posible que la abundancia de semilla y la frecuencia de los ciclos reproductivos en *L. montanus* sean afectadas por diversos factores ambientales, como la disponibilidad de agua, la calidad del suelo, entre otros. Por lo tanto, es importante evaluar por un tiempo más prolongado estos aspectos al igual que las posibilidades de post-dispersión de las semillas. Sin duda, el éxito reproductivo a lo largo de un gradiente de altitud es uno de los aspectos importantes que merece evaluarse con especial atención, pues si las condiciones se hacen muy adversas, el fracaso (en este aspecto) puede ser una señal temprana de un futuro incierto para la especie. La emergencia de plántulas es uno de los cuellos de botella demográficos que tiene impactos importantes para el futuro de las especies vegetales, especialmente en el límite altitudinal superior de ecosistemas alpinos donde existen varios factores ambientales adversos.

En este estudio el aumento de temperatura afectó en forma negativa (pero no de manera severa) la capacidad de germinación, aunque se aceleró la velocidad del proceso. Al evaluar la plasticidad en el proceso de germinación, se encontró una mayor plasticidad en las poblaciones de los dos extremos del gradiente altitudinal que en las poblaciones intermedias. Esta situación de estrés térmico no representó un riesgo para la especie y eso es alentador pues se aumentan las posibilidades de que las poblaciones locales tengan la capacidad de tolerar las nuevas condiciones ambientales ligadas al aumento de temperatura. Sin embargo, se deben conjugar otros factores como la humedad o la cantidad de luz solar, disponibilidad de nutrientes, entre otros, pues la temperatura no es el único factor determinante para el éxito en el establecimiento o en la capacidad de adaptación a las nuevas condiciones ambientales asociadas con el cambio climático.

En las etapas iniciales de crecimiento, el efecto térmico puede tener impactos de diferente magnitud en la morfología y fisiología de las plantas, por lo que se afecta su crecimiento y desarrollo. Cuando las plántulas se expusieron a un ambiente de temperatura más elevada con respecto al que existe en su sitio de origen, desde el momento de su germinación y por un periodo de tiempo de su crecimiento inicial, fue posible determinar el grado de diferenciación y plasticidad fenotípica en características de importancia adaptativa de las poblaciones.

Fue evidente que la temperatura tuvo un impacto sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas de todas las poblaciones en todas las variables de crecimiento evaluadas, con excepción del número de folíolos en las hojas. En el ambiente de mayor temperatura (17 °C) se aceleró la velocidad de crecimiento y de acuerdo con el Índice de Plasticidad Fenotípica (RPDI, por sus siglas en inglés) hubo un mayor grado de plasticidad en crecimiento en altura y número de hojas que en número de folíolos, diámetro de la hoja y tiempo de formación de la hoja.

Las diferencias entre las poblaciones se mantuvieron con la edad de la planta (excepto en el número de folíolos por hoja). No obstante, la población de la elevación intermedia (3,900 m) presentó un mayor grado de plasticidad en las características de crecimiento que las poblaciones de los extremos en el gradiente altitudinal.

Por otro lado, las poblaciones también mostraron diferencias en la fluorescencia de la clorofila, lo cual implica diferencias entre ellas en la eficiencia fotoquímica en la transferencia de electrones del fotosistema II. La población del extremo altitudinal superior (4,200 m), fue la que mostró una mayor eficiencia fotoquímica, lo cual podría ser una característica de valor adaptativo, en respuestas a la mayor presión de selección natural que enfrenta en las condiciones de temperatura y luminosidad en su hábitat natural.

Sin embargo, a pesar de ser expuestas a un aumento de temperatura significativo en las condiciones experimentales del estudio, las plantas de las diferentes poblaciones representativas del gradiente altitudinal de su distribución natural mostraron un crecimiento normal y estable. Destaca que, *L. montanus* mostró una amplia plasticidad fenotípica, tanto en la fase de germinación de la semilla como en las etapas de crecimiento inicial de las plantas. Esta capacidad plástica permitió detectar ajustes en los procesos de crecimiento y desarrollo de las plantas (por ejemplo, cambios en la velocidad de germinación, así como en la tasa de crecimiento en altura o aparición de hojas, entre otros). Estos procesos podrían jugar un papel importante para soportar con mayor resiliencia las condiciones que podrían enfrentar en los nuevos escenarios de cambio climático.

Las poblaciones de *L. montanus* muestreadas a lo largo del gradiente altitudinal mostraron mecanismos compensatorios en conjunto que incluyen tanto procesos de plasticidad fenotípica como de adaptación local, aunque los primeros fueron más notorios y diversos. La combinación de estos mecanismos les permitiría a las poblaciones persistir a lo largo del gradiente altitudinal en las nuevas condiciones de temperatura, mientras esta no sea mayor de 4-5 °C con respecto a la de su sitio de origen. Al menos durante la fase de germinación de la semilla y en las etapas tempranas de crecimiento vegetativo, las plantas de las diferentes poblaciones naturales ajustaron su desarrollo fenológico e incluso mostraron una mayor tasa de crecimiento en el ambiente de temperatura elevada.

No obstante, se requieren estudios de mayor duración y que incluyan el ciclo de desarrollo completo (vegetativo y reproductivo) de las plantas para evaluar el efecto del aumento de temperatura y el nivel de plasticidad fenotípica en otras características de crecimiento y fenología que también son cruciales en etapas de crecimiento posteriores. Esa información permitiría tener una idea más completa de las diferencias entre poblaciones a lo largo del gradiente altitudinal en los mecanismos adaptativos y plasticidad fenotípica de la especie, así como de sus perspectivas de permanencia ante las condiciones de mayor temperatura que se pronostican en su hábitat natural de alta montaña.