



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

---

---

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSGRADO EN CIENCIAS FORESTALES**

**Variabilidad morfológica y genética de especies  
del género *Lupinus* en el estado de Puebla**

**Oscar Gumersindo Vázquez Cuecuecha**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO**

**2017**

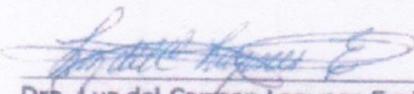
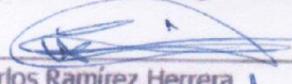
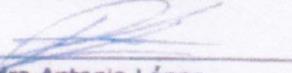
---

---

La presente tesis titulada: **Variabilidad morfológica y genética de especies del género *Lupinus* en el estado de Puebla** realizada por el alumno: OSCAR GUMERSINDO VÁZQUEZ CUECUECHA bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS  
CIENCIAS FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO	 _____
	Dr. Javier López Upton
ASESORA	 _____
	Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza
ASESOR	 _____
	Dr. Carlos Ramírez Herrera
ASESOR	 _____
	Dr. Pedro Antonio López
ASESOR (A)	 _____
	Dr. José Luis Martínez y Pérez

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2017

# VARIABILIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE ESPECIES DEL GÉNERO

## *Lupinus* EN EL ESTADO DE PUEBLA

Oscar Gumersindo Vázquez Cuecuecha, Dr.

Colegio de Postgraduados, 2017

### RESUMEN

*Lupinus* es un género con más de 200 especies, con importancia ecológica por su capacidad de fijar N<sub>2</sub> a través de la asociación mutualista con bacterias, así como de solubilizar fósforo por medio de sus raíces denominadas proteoides, aunado a su potencial económico por sus propiedades nutrimentales debido a su alto porcentaje de proteína y aceite. En el presente trabajo se analizó la variabilidad morfológica en cinco especies, *Lupinus montanus* Kunth, *L. campestris* Schldl. & Cham., *L. exaltatus* Zucc., *L. barkeri* Lindl. y *L. marschallianus* Sweet, de la región centro-oriente de Puebla, México. Primero, el estudio se enfocó a determinar los caracteres de plántulas durante 60 días que permitieron distinguir las especies. El análisis de componentes principales indicó que la longitud del cotiledón, el diámetro del cuello de la raíz, la altura de la planta, el número de hojas, el número de folíolos por hoja y la longitud del folíolo central permiten delimitar en etapas tempranas a las especies. Segundo, se realizó un estudio de la estructura y diversidad genética en *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* con marcadores moleculares (SSR), especies cuyas características morfológicas y nutrimentales de las semillas las hace trascendentales. Los resultados mostraron que el promedio de alelos totales varió entre las especies de 11.4 a 23.6. Los índices de diversidad fueron significativamente diferentes entre las siete poblaciones de *L. campestris* y nueve orígenes de *L. montanus* para los índices de diversidad.

En *L. exaltatus* el porcentaje de loci polimórficos fue alto (90.5%) aunque sólo tres poblaciones se muestrearon. La heterocigocidad esperada en las tres especies varió entre 0.17-

0.50. El índice de fijación mostró un alto grado de heterocigosis. *L. exaltatus* tuvo un índice mayor de diversidad ( $H' = 0.80$ ). El índice de fijación promedio dentro de cada población (FIS) fue negativo en los tres taxa, y sólo *L. montanus* presentó valores negativos en el índice de fijación total (FIT). En los índices de fijación entre poblaciones (FST), *L. montanus* (0.041) mostró una menor diferenciación. No existió una correlación significativa entre las distancias genéticas y las geográficas en *L. exaltatus* y *L. montanus*. La diversidad fue alta en las tres especies, con altas tasas de migración en *L. montanus* y *L. exaltatus*, pero baja en *L. campestris*. Para finalizar, se estudió la variación en la supervivencia y variables agronómicas de diversas especies y procedencias en un ensayo de campo en la región de origen y en un ambiente común fuera de su región de origen (jardín). La supervivencia fue mayor en campo con un 43 % en promedio, con valores superiores en *L. campestris* y *L. exaltatus*. La variación fue significativa en la mayoría de los caracteres evaluados. En semillas llenas se estimó que *L. campestris* produjo  $1458 \text{ kg ha}^{-1}$ , *L. exaltatus*  $1358 \text{ kg ha}^{-1}$  y *L. montanus*  $665 \text{ kg ha}^{-1}$ . Por lo anterior, *L. campestris* y *L. exaltatus* son las especies con mejores atributos agronómicos, lo cual las hace promisorias para su aprovechamiento y conservación.

**Palabras clave:** *Lupinus*, clasificación taxonómica, diversidad genética y agronómica.

**MORPHOLOGIC AND GENETIC VARIATION OF GENUS *Lupinus* SPECIES IN  
PUEBLA STATE**

**Oscar Gumersindo Vázquez Cuecuecha, Dr.**

**Colegio de Postgraduados, 2017**

**ABSTRACT**

Genus *Lupinus* encloses more than 200 species, has ecological importance because of its capacity to fix N<sub>2</sub> through a mutualist association with bacteria, as well as to solubilize phosphorus through its proteoid roots. This genus possesses economic transcendence due to its nutrimental properties specially because of its oil and high protein percentage. There was analyzed the morphologic variability of *Lupinus montanus* Kunth, *L. campestris* Schltdl. & Cham., *L. exaltatus* Zucc., *L. barkeri* Lindl. y *L. marschallianus* Sweet, from the central east region of Puebla, México. This study consisted in verifying which 60 days old seedling characters help to distinguish them. The principal components analysis determinate that cotyledon length, neck root diameter, plant length, leaf number, leaflets per leaf and central leaflet length, delimits this species in early stages of development as taxonomic classification elements. In addition, a study about genetic diversity structure of the transcendental species because of its morphological and nutrimental characteristics, *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, was recognized with molecular markers (SSR), and shows that the total alleles average between species varies from 11.4 to 23.6. For diversity indices, there were found significant differences between seven *L. campestris* and nine *L. montanus* populations. In despite of only three populations were sampled. the polymorphic loci percentage for *L. exaltatus* was high (90.5). The expected heterozygosity for this species varies between 0.17-0.50. The fixation index shows a heterozygosity high degree. *L. exaltatus* had the higher diversity index

( $H' = 0.80$ ). The average fixation index into each population (FIS) was negative for the three taxa and only *L. montanus* showed negative values in total fixation index (FIT). At the same time, *L. montanus* showed the least differentiation for fixation indices between populations ( $F_{ST}$ ). No significant correlation occurred among genetic and geographic distances for *L. exaltatus* and *L. montanus*. The diversity was wide for the three species, with high migration rates for *L. montanus* and *L. exaltatus*, but lower for *L. campestris*. Finally, survival and agronomic features were studied in common garden field and field trials, taking account several populations from five species. The survival was higher in field trial with 43%. The higher survival values were showed by *L. campestris* and *L. exaltatus*. The variation was significant for the majority of the evaluated features. With respect to filled seeds, *L. campestris* produced 1458 kg ha<sup>-1</sup>, *L. exaltatus* 1358 kg ha<sup>-1</sup> and *L. montanus* 665 kg ha<sup>-1</sup>. Therefore, *L. campestris* and *L. exaltatus* display better seed production making them promissory species for conservation and use.

**Key words:** *Lupinus*, taxonomic classification, genetic and agronomic diversity.

**DEDICADO A:**

A mi familia: Eunice, David, Gabriel y al pequeño Benjamín.

A mis padres y hermanos: Cesar, Griselda y Alejandra.

Amigos y amigas de la vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por la vida y las bendiciones que me ha brinda en la vida.

Al Dr. Javier López Upton, por su dirección, apoyo y confianza para desarrollar el proyecto de investigación.

A la Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza, por el apoyo en el proyecto y sus acertadas recomendaciones en el escrito.

Al Dr. Carlos Ramírez Herrera, por su apoyo y sus sugerencias en cada uno de los capítulos de la tesis.

Al Dr. Pedro Antonio López, por sus asesorías en cada uno de los capítulos de la tesis.

Al Dr. José Luis Martínez y Pérez, por su colaboración en el desarrollo del capítulo I y sus comentarios y sugerencias en cada parte de la tesis.

Al Dr. Amalio Santacruz Varela, por la asesoría y el espacio para desarrollar el trabajo de laboratorio.

A Laura Carrillo Reyes, por la enseñanza para poder llevar a cabo el trabajo de extracción de ADN y PCR.

A mis compañeros de generación en especial a la M. en C. Norma Beatriz Mendoza Hernández y al Dr. Mario Valerio Velasco García por su apoyo durante el trabajo de laboratorio.

A los trabajadores del vivero forestal por el cuidado y el manejo de la planta.

Al CONACyT, por la beca otorgada durante la estancia en los estudios del postgrados.

A la Dra. Madafí Gómez Camarillo por su apoyo durante mi estancia en el COLPOS.

Al Ing. René Grada Yahutenzi por su confianza y apoyo.

A la Universidad Autónoma de Tlaxcala por el apoyo durante la estancia en el Colegio de Postgraduados.

Al PRODEP por la motivación y apoyo para los estudios de doctorado.

## CONTENIDO

	<b>Página</b>
<b>INTROUCCI3N GENERAL</b> .....	1
Objetivos.....	4
Literatura citada .....	5
<b>CAPÍTULO I. ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE PLÁNTULAS DE <i>Lupinus</i></b> <b>(Fabaceae) DE LA REGIÓN CENTRO ORIENTE DEL ESTADO DE</b> <b>PUEBLA</b> .....	10
Resumen.....	10
Abstract.....	11
Introducción.....	12
Materiales y Métodos .....	14
Resultados.....	17
Discusión.....	26
Conclusiones .....	28
Literatura citada.....	29

<b>CAPÍTULO II. DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE TRES ESPECIES DE <i>Lupinus</i> EN LA REGIÓN CENTRO ORIENTE DE PUEBLA.....</b>	<b>35</b>
Resumen.....	35
Abstract.....	36
Introducción .....	37
Hipótesis.....	39
Materiales y Métodos.....	39
Extracción y cuantificación de ADN.....	39
Selección, análisis y detección de microsatélites.....	40
Resultados.....	44
Diversidad genética.....	44
Estructura de la Población.....	50
Discusión.....	59
Conclusión.....	66
Literatura citada.....	67
<b>CAPITULO III VARIACIÓN MORFOLÓGICA DEL GÉNERO <i>Lupinus</i> EN ENSAYOS DE CAMPO Y JARDIN.....</b>	<b>77</b>

Resumen .....	77
Abstract.....	78
Introducción.....	79
Hipótesis.....	80
Materiales y Métodos.....	81
Recolecta de germoplasma.....	81
Ensayo de jardín.....	81
Ensayo de campo.....	81
Análisis estadístico.....	84
Resultados.....	86
Ensayo de campo .....	86
Ensayo de jardín.....	94
Discusión.....	106
Conclusiones.....	116
Literatura citada.....	117
<b>CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN GENERAL.....</b>	<b>124</b>
Literatura citada.....	128

## LISTA DE CUADROS

### CAPÍTULO I

	<b>Página</b>
<b>Cuadro 1.</b> Ubicación de las poblaciones de las especies estudiadas en las localidades del oriente del estado de Puebla.....	15
<b>Cuadro 2.</b> Variables morfológicas en cuatro especies de <i>Lupinus</i> de mayor importancia (en negritas) en los tres primeros Componentes Principales.....	17

### CAPÍTULO II

	<b>Página</b>
<b>Cuadro 1.</b> Poblaciones en estudio de tres especies de <i>Lupinus</i> en centro-oriente de Puebla.....	40
<b>Cuadro 2.</b> Características de los iniciadores de microsatélites SSR para <i>L. campestris</i> (Cam), <i>L. exaltatus</i> (Exal) y <i>L. montanus</i> (Mon) del estado de Puebla.....	42
<b>Cuadro 3.</b> Número y clase de alelos encontrados en siete poblaciones de <i>Lupinus campestris</i> , tres de <i>L. exaltatus</i> y nueve de <i>L. montanus</i> del centro-oriente del estado de Puebla.....	45
<b>Cuadro 4.</b> Diversidad genética de siete poblaciones de <i>Lupinus campestris</i> , tres de <i>L. exaltatus</i> y nueve de <i>L. montanus</i> del centro-oriente del estado de Puebla.....	46

<b>Cuadro 5.</b> Valores de los estadísticos de F de Wright y número de migrantes por generación (Nm) para siete loci en nueve poblaciones de <i>Lupinus campestris</i> .....	51
<b>Cuadro 6.</b> Distancias genéticas de Nei entre siete poblaciones de <i>Lupinus campestris</i> .....	51
<b>Cuadro 7.</b> Valores de los estadísticos F de Wright y número de migrantes por generación (Nm) para siete loci en tres poblaciones de <i>Lupinus exaltatus</i> .....	53
<b>Cuadro 8.</b> Distancias genéticas de Nei entre tres poblaciones de <i>Lupinus exaltatus</i> .....	54
<b>Cuadro 9.</b> Valores de los estadísticos de F de Wright y número de migrantes por generación (Nm) para siete loci en nueve poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> .....	56
<b>Cuadro 10.</b> Distancias genéticas de Nei entre nueve poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> .....	57

### CAPÍTULO III

	<b>Página</b>
<b>Cuadro 1.</b> Poblaciones de <i>Lupinus barkeri</i> , <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> , <i>L. montanus</i> y <i>L. marschallianus</i> en centro-oriente de Puebla.....	82
<b>Cuadro 2.</b> Variables evaluadas en <i>Lupinus barkeri</i> , <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> , <i>L. marschallianus</i> y <i>L. montanus</i> del centro-oriente de Puebla.....	83

<b>Cuadro 3.</b> Análisis de varianza en supervivencia y variables morfológicas de varias poblaciones de <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> y <i>L. montanus</i> establecidas en un ensayo de campo en Tlachichuca, Puebla. ....	88
<b>Cuadro 4.</b> Supervivencia y variables morfológicas de varias poblaciones de <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> y <i>L. montanus</i> establecidas en un ensayo de campo en Tlachichuca, Puebla. ....	90
<b>Cuadro 5.</b> Inflorescencia y semillas de <i>Lupinus campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> y <i>L. montanus</i> establecidos en un ensayo de campo en Tlachichuca, Puebla.	92
<b>Cuadro 6.</b> Análisis de varianza de variables agronómicas de <i>Lupinus barkeri</i> , <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> , <i>L. marschallianus</i> y <i>L. montanus</i> establecido en jardín en Montecillo, México. ....	97
<b>Cuadro 7.</b> Variables morfológicas en un ensayo de jardín de <i>Lupinus barkeri</i> , <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> , <i>L. marschallianus</i> y <i>L. montanus</i> provenientes de la región centro-oriente de Puebla.....	100
<b>Cuadro 8.</b> Variables morfológicas de la hoja un ensayo de jardín en hojas de <i>Lupinus barkeri</i> , <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> , <i>L. marschallianus</i> y <i>L. montanus</i> provenientes de la región centro-oriente de Puebla.....	102
<b>Cuadro 9.</b> Parámetros de vainas y semillas de un ensayo de jardín de <i>Lupinus barkeri</i> , <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> , <i>L. marschallianus</i> y <i>L. montanus</i> provenientes de la región centro-oriente de Puebla.....	104

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Gráfica de distribución de los datos observados de la variable diámetro de la raíz para cada especie. Valores de $F$ y $p$ resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).....	19
<b>Figura 2.</b> Gráfica de distribución de los datos observados de la variable longitud de cotiledón para cada especie. Valores de $F$ y $p$ resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).....	20
<b>Figura 3.</b> Gráfica de distribución de los datos observados de la variable altura de planta para cada especie. Valores de $F$ y $p$ resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).....	21
<b>Figura 4.</b> Gráfica de distribución de los datos observados de la variable número de hojas para cada especie. Valores de $F$ y $p$ resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas,	

letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).....	22
<b>Figura 5.</b> Gráfica de distribución de los datos observados de la variable longitud del foliolo central para cada especie. Valores de $F$ y $p$ resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).....	23
<b>Figura 6.</b> Gráfica de distribución de los datos observados de la variable foliolos por hoja para cada especie. Valores de $F$ y $p$ resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).....	24
<b>Figura 7.</b> Agrupamiento por disimilitud de las especies del género <i>Lupinus</i> de la región centro oriente de Puebla.....	25
<b>Figura 8.</b> Color de cotiledones de las especies <i>L. barkeri</i> (A), <i>L. campestris</i> (B), <i>L. exaltatus</i> (C), <i>L. marschallianus</i> (D) y <i>L. montanus</i> (E).....	26

## CAPÍTULO II

### Página

<b>Figura 1.</b> Agrupamiento de tres especies de <i>Lupinus</i> del centro-oriente de Puebla con base en dos componentes principales de los parámetros de	
--	--

diversidad genética (descripción en cuadro 1). $\triangle$ <i>L. campestris</i> , $\blacksquare$ <i>L. exaltatus</i> y $\bullet$ <i>L. montanus</i> .....	48
<b>Figura 2.</b> Agrupamiento de siete poblaciones de <i>Lupinus campestris</i> , tres de <i>L. exaltatus</i> y nueve de <i>L. montanus</i> del centro-oriente del estado de Puebla con base en las distancias genéticas de Nei mediante el método de agrupamiento UPGMA.....	49
<b>Figura 3.</b> Agrupamiento de siete poblaciones de <i>Lupinus campestris</i> con base en los componentes principales CP1 y CP2 de los parámetros de diversidad genética.....	50
<b>Figura 4.</b> Agrupamiento de siete poblaciones de <i>Lupinus campestris</i> con base en las distancias genéticas de Nei, mediante el método de agrupamiento UPGMA.....	52
<b>Figura 5.</b> Agrupamiento de nueve poblaciones de <i>Lupinus exaltatus</i> con base en los componentes principales CP1 y CP2 de los parámetros de diversidad genética. ....	53
<b>Figura 6.</b> Agrupamiento de tres poblaciones de <i>Lupinus exaltatus</i> con base en las distancias genéticas de Nei mediante el método de agrupamiento UPGMA (descripción en Cuadro 4).....	54
<b>Figura 7.</b> Agrupamiento de nueve poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> con base en los componentes principales CP1 y CP2 de los parámetros de diversidad genética (descripción en Cuadro 4). ....	55

<b>Figura 8.</b> Agrupamiento de nueve poblaciones de <i>Lupinus montanus</i> con base en las distancias genéticas de Nei mediante el método de agrupamiento UPGMA.....	58
---	----

### CAPÍTULO III

<b>Figura 1.</b> Porcentaje de óvulos abortados y semillas de <i>L. barkeri</i> , <i>L. campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> , <i>L. marschallianus</i> y <i>L. montanus</i> establecidos en un ensayo de jardín.....	114
<b>Figura 2.</b> Porcentaje de óvulos abortados y semillas de <i>Lupinus campestris</i> , <i>L. exaltatus</i> y <i>L. montanus</i> establecido en un ensayo de campo en Tlachichuca, Puebla.....	115

## INTRODUCCIÓN GENERAL

*Lupinus* es un género muy diverso de leguminosa que presenta una amplia distribución geográfica y una diversidad rica que se divide en dos grupos, el primero del viejo mundo que abarca la región del Mediterráneo, norte y este del África, el segundo del nuevo mundo en la parte norte y sur de América. El segundo grupo concentra un gran número de especies, pero pocas de ellas han sido domesticadas (Wolko *et al.*, 2011). El género *Lupinus* L. (Fabaceae) se considera complejo desde el punto de vista taxonómico, ya que se han reportado de 200, 280, 300 hasta 500 especies en el mundo, las cuales son anuales y perennes (Planchuelo y Wink, 1993; Lewis *et al.*, 2005; Kasprzak *et al.*, 2006; Eastwood *et al.*, 2008; Bermúdez-Torres *et al.*, 2009).

Basados en estudios de similitud genética, los centros de diversificación de *Lupinus* son: Norte y Centro América y los Andes en Suramérica, en la región Atlántica en Sudamérica, y la región Mediterránea, norte y este de África (Hondelmann, 1984; Planchuelo 1994; Ainouche y Bayer 1999; Maciel y Schifino-Wittmann 2002). Este género habita en México desde el nivel del mar a los 4000 m, abarcando zonas montañosas y cerca de caminos, donde presenta una diversidad fenotípica considerable (Dunn, 1984; Bermúdez Torres *et al.*, 1999). De las 100 taxa reportadas para México, 60 son endémicas (Sousa y Delgado, 1998).

Las especies de *Lupinus* son de gran importancia económica por la calidad nutrimental que contienen sus semillas y el follaje, en particular por su alto porcentaje de proteína, ya que se ha demostrado que las semillas de *L. montanus* Kunth, *L. campestris* Cham. & Schldl. y *L. exaltatus* Zucc., contienen de 32 a 48% de proteína (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2012 y 2013), así como altos niveles de N, P, K, Fe y Zn, propiedades que pueden ser aprovechadas en la industria alimenticia (Pablo-Pérez *et al.*, 2013). La importancia ecológica del género radica en su

capacidad de rehabilitar suelos. Taxas como *L. leptophyllus* Schltdl. et Cham. y *L. montanus* son importantes en la restauración y rehabilitación de tepetates en México, ya que mineralizan N, P y K (Alderete-Chávez *et al.*, 2009).

El número notablemente variable de especies reportadas para el género conlleva a la necesidad de aportar información que contribuya a explorar la importancia de otros caracteres que tengan valor taxonómico, de tal forma que permita proponer mejores alternativas de manejo y conservación de los recursos (Ainoche y Bayer, 1999), se ha recurrido, además de los anteriores, a los análisis con datos citotaxonómicos y moleculares (Eastwood *et al.*, 2008), para contribuir al conocimiento de éste importante grupo. El discernimiento de la variabilidad y las relaciones genéticas entre poblaciones ha favorecido un manejo eficiente del germoplasma (Albrecht *et al.*, 2012) además, proporciona información sobre los procesos genéticos y evolutivos de una especie (Nicolai *et al.*, 2013), así, los marcadores moleculares brindan mejor información sobre la diversidad genética y las relaciones filogenéticas que la información fenotípica. Por ejemplo, para México se ha calculado el tiempo de colonización del género que data de 1.2 a 3.45 millones de años (Drummond *et al.*, 2012; Ferval *et al.*, 2013), y por medio de ISSR se han identificado algunos genes, mejorando la estimación que va de 3 a 4 millones de años de colonización; además, estos marcadores como ISSR se han empleado para detectar una alta tasa de mutaciones y han sido utilizados para detectar la diversidad genética en otras plantas (Meloni *et al.*, 2006; Alam *et al.*, 2009).

Los análisis morfológicos son herramientas que permiten identificar las expresiones genéticas de los organismos, así como la plasticidad fenotípica, la cual se evalúa a través de parámetros como la supervivencia, el crecimiento, el desarrollo y el rendimiento en variables agronómicas de interés alimenticio (Böhm *et al.*, 2008; Soto-Correa *et al.*, 2012). Si bien existen

características que ayudan a diferenciar las especies como es el caso de la aparición de las inflorescencias en estado adulto, no existe información de características a edades juveniles que permitan discriminarlas.

En *Lupinus* existen especies y/o variedades muy importantes por su aportación nutrimental y su capacidad de adaptación a ambientes diferentes, tales como *L. albus* L., *L. luteos* L., *L. angustifolus* L., *L. mutabilis* Sweet, y *L. polyphyllus* Lindl. que se han mejorado genéticamente con el fin de disminuir la concentración de alcaloides, así como de aumentar la calidad nutrimental y su adaptación a condiciones ambientales extremas (Herbert, 1977; Aniszewski *et al.*, 2001; Talhinhos *et al.*, 2006; Ortega David *et al.*, 2010; Weerakoon y Somaratne *et al.*, 2013; Abebe *et al.*, 2015.). En México, *L. elegans* Kunth ha sido probado con fines de restauración ecológica, así como su adaptación al cambio climático (Alvarado-Sosa *et al.*, 2007; Ruiz-Reyes *et al.*, 2009; Soto-Correa *et al.*, 2014) Además, plantas de poblaciones naturales de *L. exaltatus*, *L. hintonii* C. P. Smith y *L. campestris* han sido evaluadas morfológica y nutrimentalmente (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2013; Pablo-Pérez *et al.*, 2013). A pesar de ello, poco se ha reportado sobre su establecimiento en plantaciones o en ensayos fuera de su distribución altitudinal natural, o bien el impacto de sobre éstas plantas de ambientes menos fríos como sería el caso de un aumento de temperatura por cambio climático. La región centro-oriental de Puebla, es una zona que ha experimentado el cambio de uso del suelo, pasando de suelos con vocación forestal a cultivos agrícolas, que posteriormente han sido abandonados por su baja productividad, debido a la disminución o cambio de las propiedades físicas y químicas del suelo, por ello, el empleo de especies nativas de la región como *L. barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. marschallianus* y *L. montanus*, tienen potencial para la restauración ecológica y en la agroforestería (Alvarado-Sosa, *et al.* 2007), además coadyuvarían a mejorar la calidad del

suelo de forma química y física al ser empleados como abonos verdes; además, su alto contenido de proteína en plantas y en semillas, *Lupinus* puede ser empleado como forraje para animales (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2013) y las semillas integradas a la dieta de los humanos (Ortega-David *et al.*, 2010), tras previa disminución de los alcaloides mediante procesos químicos o de domesticación, potencializando de esta manera a las especies de forma industrial. Por tal razón y con base en las particularidades referidas anteriormente, se plantearon los siguientes objetivos:

General:

Analizar la diversidad morfológica y genética de especies del género *Lupinus* (Fabaceae) en la región centro-oriente de Puebla, México.

Específicos:

- a) Determinar la variación morfológica de plántulas de cinco especies de *Lupinus* de la región centro-oriente de Puebla, que permita delimitar a las especies en etapas tempranas durante su desarrollo en invernadero.
- b) Determinar la diversidad y estructura genética entre poblaciones de *L. montanus*, *L. campestris* y *L. exaltatus* a través de microsatélites.
- c) Determinar las diferencias en supervivencia, crecimiento y producción de semilla entre especies y poblaciones de *Lupinus montanus*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. barkeri*. y *L. marschallianus* a través de un ensayo en campo y en ambiente común.

## Literatura citada

- Abebe Teferi, T., M. Legesse, and T. Birgame. 2015. Searching and testing of white lupine (*Lupinus albus* L.) for adaptation and resistant to crenate broomrape in Tigray, Ethiopia. *World Journal of Agriculture Sciences* 11(6): 341-345.
- Aïnoche A., and R. J. Bayer. 1999. Phylogenetic relationships in *Lupinus* (Fabaceae: Papilionoideae) based on internal transcribed spacer sequences (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *America Journal of Botany* 86: 590–607.
- Alam, A., P. K. Naik, and G. P. Mishra. 2009. Congruence of RAPD and ISSR markers for evaluation of genomic relationship among 28 populations of *Podophyllum hexandrum* Royle from Himachal Pradesh, India. *Turkish Journal Botany* 33: 1–12
- Albrecht, E., D. Zhang, R. A. Saftner, and J. R. Stommel. 2012. Genetic diversity and population structure of *Capsicum baccatum* genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59: 517-538.
- Alderete-Chavez, A., V. Espinosa-Hernández, N. Cruz-Landero, E. Ojeda-Trejo, and H. Brito-Vega. 2009. Evaluation of two *Lupinus* species native from central Mexico in relation with solubilization of nitrogen phosphorus and potassium in an andosol. *Journal of Applied Sciences* 9(8): 1583-1587.
- Aniszewski, T., M. Hannele-Kupari, and A. Juhani-Leinonen. 2001. Seed number, seed size and seed diversity in Washinton lupin (*Lupinus polyphyllus* Lind). *Annals of Botany* 87:77-82.

- Alvarado-Sosa, P., A. Blanco-García y R. Linding-Cisneros. 2007. Prueba de condiciones de propagación y alternativas en vivero para plantas de *Lupinus elegans* Kunth, y su efecto en la supervivencia. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30(2): 201-204.
- Bermúdez-Torres, K., N. Robledo-Quintos, J. Martínez-Herrera, A. Tei, and W. Michael. 1999. Biodiversity of the genus *Lupinus* in México. *In*: E. van Santen, M. Wink, S. Weissmann and P. Roemer (eds.). *Lupin, an Ancient Crop for the New Millenium*. Proceeding of the 9<sup>th</sup> International Lupin Conference, Klink/Müritz. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. pp: 294-296.
- Bermúdez-Torres, K., J. Martínez-Herrera. R, Figueroa-Brito, M. Wink, and L. Legal. 2009. Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biocontrol* 54: 459–466.
- Böhm, H., A. Bramm, K. Aulrich, and G. Rühl. 2008. Effect of different sowing densities in mixed cultivation of blue lupin (*Lupinus angustifolius*) with spring crops on yield quality. *In*: J. A. Palta and J. B. Berger. *Lupins for Health and Wealth*. Proceedings of the 12<sup>th</sup> International Lupin Conference. Fremantle, Western Australia. pp: 42-46.
- Drummond, C. S., R. J. Eastwood, S. T. S. Miotto, and C. E. Hughes .2012. Multiple continental radiations and correlates of diversification in *Lupinus* (Leguminosae): testing for key innovation with incomplete taxon sampling. *Systematic Biology* 61:443–460.
- Dunn, D. B. 1984. Cytotaxonomy and distribution of New World lupin species. Proceeding of the 3th International Lupin Conference. La Rochelle, Francia. pp: 68-85.
- Eastwood, R. J., C. S. Drummond, M. T. Schifino-Wittmann, and C. E. Hughes. 2008. Diversity and evolutionary history of *Lupinus* insights new phylogenies. *In*: J. A. Palta and J. B.

- Berger. Lupins for Health and Wealth. Proceedings of the 12th International Lupin Conference. Fremantle, Western Australia. pp: 346-354.
- Ferval, M., K. Bermúdez-Torres, C. Gers, and L. Legal. 2013. Genomic fingerprinting *versus* nuclear gene sequences: a comparative approach for studying the *Lupinus montanus* (Fabaceae) species complex. South African Journal Botany 89: 106–110.
- Herbert, S. J. 1977. Growth and grain yield of *L. albus* at different plant populations. Journal of Agricultural Research 20: 459-465.
- Hondelmann, W. 1984. The lupin—ancient and modern crop plant. Theoretical and Applied Genetics 68: 1–9.
- Kasprzak, A. J. Šafář, J. Janda, J. Doležel, B. Wolko, and B. Naganowska. 2006. The bacterial artificial chromosome (BAC) library of the narrow-leafed Lupin (*Lupinus angustifolius* L.). Cell and Molecular Biology Letters 11: 396–407
- Lagunes-Espinoza, L. 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 en *Lupinus* spp. en la región centro-oriente del estado de Puebla, México. Acta Botánica Mexicana 99: 93-90.
- Lagunes-Espinoza, L. C., M. Pablo-Pérez, E. M. Aranda-Ibáñez, J. López-Upton, y J. Ramos-Juárez. 2013. Potencial nutritivo para alimentación animal de leguminosas silvestres del género *Lupinus* del estado de Puebla. Agricultura Sostenible 9: 2979-2988.
- Lewis, G., B. Schrire, B. Mackinder, and M. Lock. 2005. Legumes of the world. Royal Botanic Gardens. Kew, UK. 577 p.

- Maciel, H. S., and M. T. Schifino-Wittmann. 2002. First chromosome number determination in southeastern South American species of *Lupinus* L. (Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 139: 395–400.
- Meloni, M. D. Perini, R. Filigheddu, and G. Binelli. 2006. Genetic variation in five Mediterranean populations of *Juniperus phoenicea* as revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *Annals Botany* 97: 299–304
- Nicolai, M., M. Cantet, V. Lefebvre, A. M. Sage-Palloix, and A. Palloix. 2013. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 2375-2390.
- Ortega-David, E., A. Rodríguez, A. David, y A. Zamora-Burbano. 2010. Caracterización de semillas de *Lupinus* (*L. mutabilis*) sembrado en los Andes de Colombia. *Acta Agronómica* 59(1): 111-118.
- Pablo-Pérez, M., L. C. Lagunes-Espinosa, 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.
- Planchuelo-Ravelo, A. M., and M. Wink. 1993. Alkaloid composition of *Lupinus albescens* (Fabaceae) from south America. *Verlag der Zeitschrift für Naturforsch* 48c: 414-416.
- Planchuelo, A. M .1994. Wild lupins distribution and its implication as germplasm resources. *In: J. M. Neves-Martins, and M. L. Beirao da Costa (eds.). Advances in Lupin Research. Proceedings of the 7th International Lupin Conference, 18–23 April 1994. Technical University of Lisbon, Evora, Portugal. pp: 65–69.*

- Ruiz-Reyes, J. C., M. Gómez Romano, y R. Lindig Cisneros. 2009. Desempeño de *Lupinus elegans* y *Senna hirsuta*, bajo condiciones de restauración ecológica. *Biológicas* 11: 9-15
- 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: 593-608.
- 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.
- Sousa S., M., y A. Delgado S. 1998. Leguminosas mexicanas: fitogeografía, endemismo y orígenes. *In*: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fa. *Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución*. Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp: 449-500.
- Talhinhas, P., J. Leitão, and M. J. Neves-Martins. 2006. Collection of *Lupinus angustifolius* L. germplasm and characterization of morphological and molecular diversity. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 563-578.
- Weerakoon, S. R., and S. Somaratne. 2013. Agronomic Potential of Lupin (*Lupinus* spp.) in Sri Lanka as an Alternative crop: Growth and Yield Performance in Different Agro-Ecological Regions. *Asian Journal of Agricultural Research* 7(1): 1-14.
- Wolko B., J. C. Clements, B. Naganowska, M. N. Nelson, and H. Yang 2011. *Lupinus*. *In*: B. Kole. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Legume Crops and Forages*. Springer-Verlag, Berlin. pp: 154-205.

## CAPÍTULO I

### ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE PLÁNTULAS DE *Lupinus* (Fabaceae) DE LA REGIÓN ORIENTE DEL ESTADO DE PUEBLA

#### Resumen

La variabilidad morfológica presente en el género *Lupinus* es resultado del gran número de especies conocidas a nivel mundial, incluyendo las 110 mencionadas para México, lo que ha permitido la obtención de variedades para algunas especies, pero también en algunos casos dificultado la identificación taxonómica. Las especies de este género tienen importancia económica, por sus propiedades nutrimentales, y como mejoradoras de suelos al usarse como abonos orgánicos, lo que las hace útiles en programas de manejo agrícola o forestal. El presente estudio aborda la caracterización morfológica con datos cuantitativos a nivel plántula de cinco especies de *Lupinus* procedentes de 12 localidades de la región oriente del estado de Puebla, para caracterizarlas en etapas fenológicas tempranas y facilitar su identificación y manejo en invernadero y en programas de propagación a gran escala. Para ello, se recolectaron semillas de 30 plantas por cada localidad y se germinaron en un sustrato homogéneo bajo condiciones de invernadero. Semanalmente y durante 60 días, se obtuvieron datos de once características morfológicas de las plántulas, que evaluados a través de un análisis de varianza y de componentes principales mostraron que la longitud del cotiledón, el diámetro del cuello de la raíz, la altura de la planta, el número de hojas, el número de folíolos por hoja y la longitud del folíolo central permiten delimitar en etapas tempranas a las especies *Lupinus montanus* Kunth, *L. campestris* Schldl. & Cham., *L. exaltatus* Zucc., *L. barkeri* Lindl. y *L. marschallianus* Sweet.

**Palabras clave:** *Lupinus*, morfología, plántula, Componentes Principales.

## Abstract

The morphological variability present in *Lupinus* genus is a result of the great number of species known worldwide, including the 110 mentioned for Mexico, which has allowed obtaining varieties for some species, but also, in some cases making difficult the taxonomic identification. The species of this genus are economically important, because of their nutritional properties, and as soil improvers when used as organic fertilizers, which makes them useful in agricultural or forestry management programs. The present study approaches the morphological characterization with quantitative data at seedling level of five species of *Lupinus* from 12 localities of the eastern region of the state of Puebla, to characterize them in early phenological stages and to facilitate their identification and management in greenhouse and in propagation programs on a large scale. For this, seeds of 30 plants were collected by locality and then germinated in a homogeneous substrate under greenhouse conditions. Data from eleven morphological characteristics of the seedlings were obtained weekly and for 60 days, which were evaluated through an analysis of variance and main components showed that the length of the cotyledon, the diameter of the root neck, the height of the plant, the number of leaves, the number of leaflets per leaf as well as the length of the central leaflet allow to delimit in early stages the species *Lupinus montanus* Kunth, *L. campestris* Schltld. & Cham., *L. exaltatus* Zucc., *L. barkeri* Lindl. and *L. marschallianus* Sweet.

**Key words:** *Lupinus*, morphology, Principal Components.

## Introducción

El género *Lupinus* L. (Fabaceae) se considera complejo desde el punto de vista taxonómico, ya que se han reportado de 200 a 500 especies en el mundo (Lewis *et al.*, 2005) y se reporta que pocos caracteres morfológicos soportan la delimitación a nivel específico (Aïnoche y Bayer, 1999). Por ello, los datos citotaxonómicos y recientemente los moleculares y análisis filogenéticos muestran que el género es parafilético, es decir, no se considera un grupo natural ya que las especies presentan orígenes independientes (Eastwood *et al.*, 2008). Además, a nivel intraespecífico se considera que los factores climáticos y edáficos juegan un papel importante en la expresión de la variación morfológica, por lo que numerosas subespecies se han descrito (Drummond, 2008).

Esta combinación de respuestas a la heterogeneidad del hábitat favorece la presencia de poblaciones simpátricas, que pueden intercambiar información genética y favorecer la presencia de complejos de especies (Planchuelo, 1994; Schluter, 2000; Mallet, 2007; Eastwood *et al.*, 2008). Así, algunos autores consideran que el mayor número de especies de *Lupinus* se encuentran distribuidas en el continente americano (Aïnoche y Bayer, 1999), en donde se han reconocido dos centros de especiación, uno en el occidente de Norte y Centro América con más 100 especies y el otro en los Andes con 88 (Drummond, 2008; Eastwood *et al.*, 2008). Además, trece especies se reportan para la región del Mediterráneo y dos en África tropical (Lewis *et al.*, 2005).

Algunas de las especies con importancia económica conocidas de Europa son introducidas de otras regiones del mundo (Aïnoche y Bayer, 1999) y se han utilizado sus semillas para la alimentación humana y el follaje como forraje para ganado (Gueguen y Cerletii, 1994; Rodríguez-Ambriz *et al.*, 2005; Jezierny *et al.*, 2010). Por otro lado, su conocida

asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno, las hace potencialmente importantes para su uso como abonos orgánicos, además de mejorar el incremento en las poblaciones de hongos y bacterias del suelo (Barrientos *et al.*, 2002; Alderete-Chávez *et al.*, 2009; Soto-Correa *et al.*, 2012; Lelei y Onwonga, 2014; Soto-Correa *et al.*, 2015).

Sousa-Sánchez y Delgado-Salinas (1998) reportan 110 especies distribuidas en altitudes desde 0 a 4000 msnm en México, y mencionan que aproximadamente el 60% son endémicas. Esta amplia variación en su rango altitudinal facilita la asociación de algunas especies con comunidades vegetales específicas, por ejemplo, *Lupinus leptophyllus* Schltld. & Cham. en el estado de México se distribuye de 2980 a 3180 msnm, asociándose en las barrancas con bosques de oyamel *Abies religiosa* (Kunth) Schltld. *et* Cham., y en las partes planas se encuentra entre los cultivos (Alderete-Chávez *et al.*, 2010); *L. montanus* Kunth presenta una distribución altitudinal desde 2500 hasta 4100 msnm en bosques de *Quercus* spp. y *Abies religiosa* (Benítez, 1986) así como de *Pinus hartwegii* Lindl. (Dunn y Harmon 1977). *L. bilineatus* Benth. se desarrolla en localidades entre 3500 y 4100 msnm con bosques de *Pinus hartwegii* y zacatonales alpinos (Martínez *et al.*, 2008).

Para el estado de Puebla se han realizado estudios en la región oriente con respecto a especies presentes, características morfométricas de semillas y uso potencial como forraje de algunas de las especies allí distribuidas (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2012; Pablo-Pérez *et al.*, 2013). Sin embargo para reconocer y seleccionar desde invernadero aquéllas especies que puedan tener un mejor desarrollo en los ambientes conocidos, se necesita contar con información morfológica en etapas tempranas de desarrollo fenológico (Pérez-García y Mendoza, 2002). Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo es analizar características

morfológicas de plántulas de cinco especies de *Lupinus* de la región oriente de México que permitan delimitar a las especies en etapas tempranas durante su desarrollo en invernadero.

### **Materiales y Métodos**

Con base en los trabajos de Lagunes-Espinoza *et al.* (2012) y Pablo-Pérez *et al.* (2013) fueron seleccionadas 12 localidades (Cuadro 1), en donde se desarrollan las especies de *Lupinus*. Se recolectó material botánico para su identificación taxonómica con el uso de las claves de Dunn (2005). Los ejemplares colectados se depositaron en el herbario universitario TLXM de la Universidad Autónoma de Tlaxcala como respaldo del presente trabajo. Posteriormente, durante los meses de julio a diciembre de 2013 y con base en su fenología, fueron recolectados los frutos de 30 plantas pertenecientes a las poblaciones de cada especie

Los frutos recolectados fueron llevados al invernadero del Departamento Forestal del Colegio de Posgraduado en Texcoco, Estado de México a una altitud de 2249 msnm. Se seleccionaron 200 semillas sanas de cada población, dichas semillas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 0.35 % por 5 min (Vega-Villasante *et al.*, 1996) y escarificadas manualmente con una lija de grano medio para madera. Posteriormente, cada semilla se sembró independientemente en tubetes de plástico negro con una mezcla de perlita, turba y corteza de pino en una proporción de 15:15:70 como sustrato (García *et al.*, 2001), agregando agua corriente a capacidad de campo cada tercer día durante ocho semanas. Las condiciones de temperatura y humedad relativa del invernadero fueron controladas a 20°C y 64% respectivamente.

El estudio se realizó en invernadero, en un mismo ambiente y condiciones de sustrato homogéneo bajo el argumento de que las características expresadas en el fenotipo sean un reflejo

del acervo genético de cada una de las especies estudiadas, tratando de minimizar el efecto del ambiente en el que se desarrollan, con la ventaja adicional de corresponder a un periodo relativamente corto de observación.

**Cuadro 1.** Ubicación de las poblaciones de las especies estudiadas en las localidades del oriente del estado de Puebla.

Especie	Población, Municipio	Ubicación		Altitud (m.s.n.m.)
		Lat. N.	Long. O	
<i>L. barkeri</i>	Manuel Ávalos, Tlachichuca	19° 03' 50.4''	97° 22' 59.7''	2,878
	Tlalmotolo II, Ixtacamaxtitlán	19° 34' 34.0''	97° 43' 33.8''	2,668
<i>L. campestris</i>	Manuel Ávalos, Tlachichuca	19° 03' 50.4''	97° 22' 59.7''	2,878
	Tlalmotolo I, Ixtacamaxtitlán	19° 34' 27.4''	97° 43' 38.5''	2,980
	Zoapan, Tlachichuca	19° 04' 39.2''	97° 20' 54.0''	3,064
<i>L. exaltatus</i>	Zoapan, Tlachichuca	19° 04' 38.3''	97° 21' 57.1''	2,913
<i>L. marschallianus</i>	Texmalaquilla, Atzitzintla	18° 58' 76.9''	97° 17' 44.2''	3,700
		18° 58' 99''	97° 17' 65.0''	3,900
	Tlanalapan, Guadalupe V.	19° 04' 18.1''	97° 19' 06.7''	3,045
	Texmalaquilla, 3100	18° 57' 21.4''	97° 17' 20.3''	3,100
	San Joaquín, Guadalupe V.	19° 07' 09.8''	97° 18' 25.4''	3,112
<i>L. montanus</i>	Texmalaquilla, 3300	18° 57' 70.3''	97° 17' 37.4''	3,300
	Zoapan, Tlachichuca	19° 04' 18.1''	97° 19' 06.7''	3,358
	Texmalaquilla, 3500	18° 58' 30.0''	97° 17' 25.0''	3,500
	Texmalaquilla, 3700	18° 58' 76.9''	97° 17' 44.2''	3,700
	Texmalaquilla, 4100	18° 58' 99.0''	97° 17' 65.0''	4,100

Durante ocho semanas se registraron datos de 11 características morfológicas (Cuadro 2) desde el inicio de la germinación (Święcicki *et al.*, 1996; González-Andrés *et al.*, 2007; Salazar-Rojas *et al.*, 2010). Durante cuatro semanas, las plántulas se mantuvieron en un invernadero y posteriormente se trasladaron a un vivero cubierto con malla sombra al 70%, por el tiempo restante de la evaluación. Las características morfológicas cuantitativas se midieron con un vernier digital y una regla milimétrica semanalmente. En cada toma de datos fueron seleccionadas aleatoriamente tres plántulas de cada población/especie y se eliminaban. Las características cualitativas sólo se describen y el color de las estructuras analizadas se reporta con base en la tabla de colores de Munsell para una mejor interpretación (Macbeth Division of Kollmorgen Instruments Corporation, 1994).

Los valores de cada variable cuantitativa se ingresaron en una matriz de datos elaborada en el programa Excel (Microsoft Office, 2013) para la realización del análisis multivariado con el programa InfoStat v. 2014 (Di Rienzo *et al.*, 2014). El Análisis de Componentes Principales fue empleado para identificar las variables que aportan la mayor información (González-Andrés *et al.*, 2007; Salazar-Rojas *et al.*, 2010). Para conocer la diferencia entre los promedios de cada variable para cada especie se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y posteriormente una prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ) para conocer las diferencias entre especies. El porcentaje de disimilitud y el agrupamiento de las especies se realizó con un Análisis de Agrupamiento utilizando las distancias Euclidianas de los datos con el método de promedios de unión simple (Talhinhas *et al.*, 2006; Salazar-Rojas *et al.*, 2010) en el programa SAS (SAS Institute Inc., 2002).

## Resultados

El material botánico identificado correspondió a las especies *Lupinus montanus* Kunth, *L. campestris* Schldl. & Cham, *L. exaltatus* Zucc., *L. barkeri* Lindl. y *L. marschallianus* Sweet., cuya distribución de sus poblaciones están mencionadas en el Cuadro 1. La germinación de las semillas fue del 100% para las cinco especies y se inició a los tres días después de la siembra, sobresaliendo del suelo los cotiledones.

El Análisis de Componentes Principales mostró que las variables longitud del cotiledón, grosor del cuello de la raíz, longitud del foliolo central (Componente 1), número de hojas y número de foliolos por hoja (Componente 2) y altura de la planta (Componente 3) aportaron el 95% de la variación total (Cuadro 2).

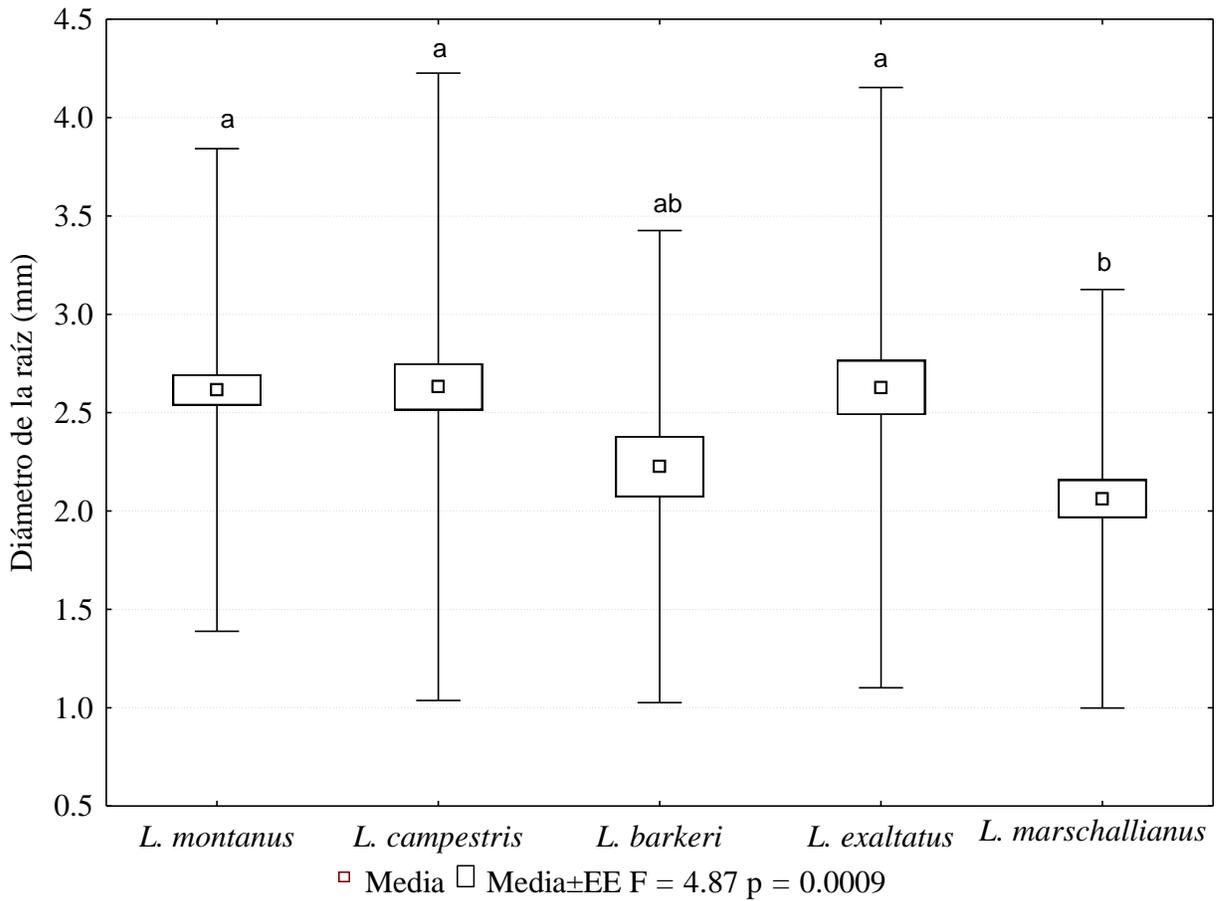
**Cuadro 2.** Variables morfológicas en cuatro especies de *Lupinus* de mayor importancia (en negritas) en los tres primeros Componentes Principales.

Variables	CP1	CP2	CP3
Longitud del cotiledón	<b>0.40</b>	0.03	0.15
Longitud del hipocotilo	0.36	-0.01	-0.27
Longitud del epicotilo	0.22	0.42	-0.13
Longitud de radícula	0.36	0.06	0.46
Grosor del cuello de la raíz	<b>0.39</b>	-0.08	-0.19
Altura de la planta	0.10	0.45	<b>0.50</b>
Número de hojas	-0.11	<b>0.51</b>	0.10
Foliolos por hoja	-0.09	<b>0.50</b>	-0.25
Longitud del foliolo central	<b>0.38</b>	0.09	-0.24

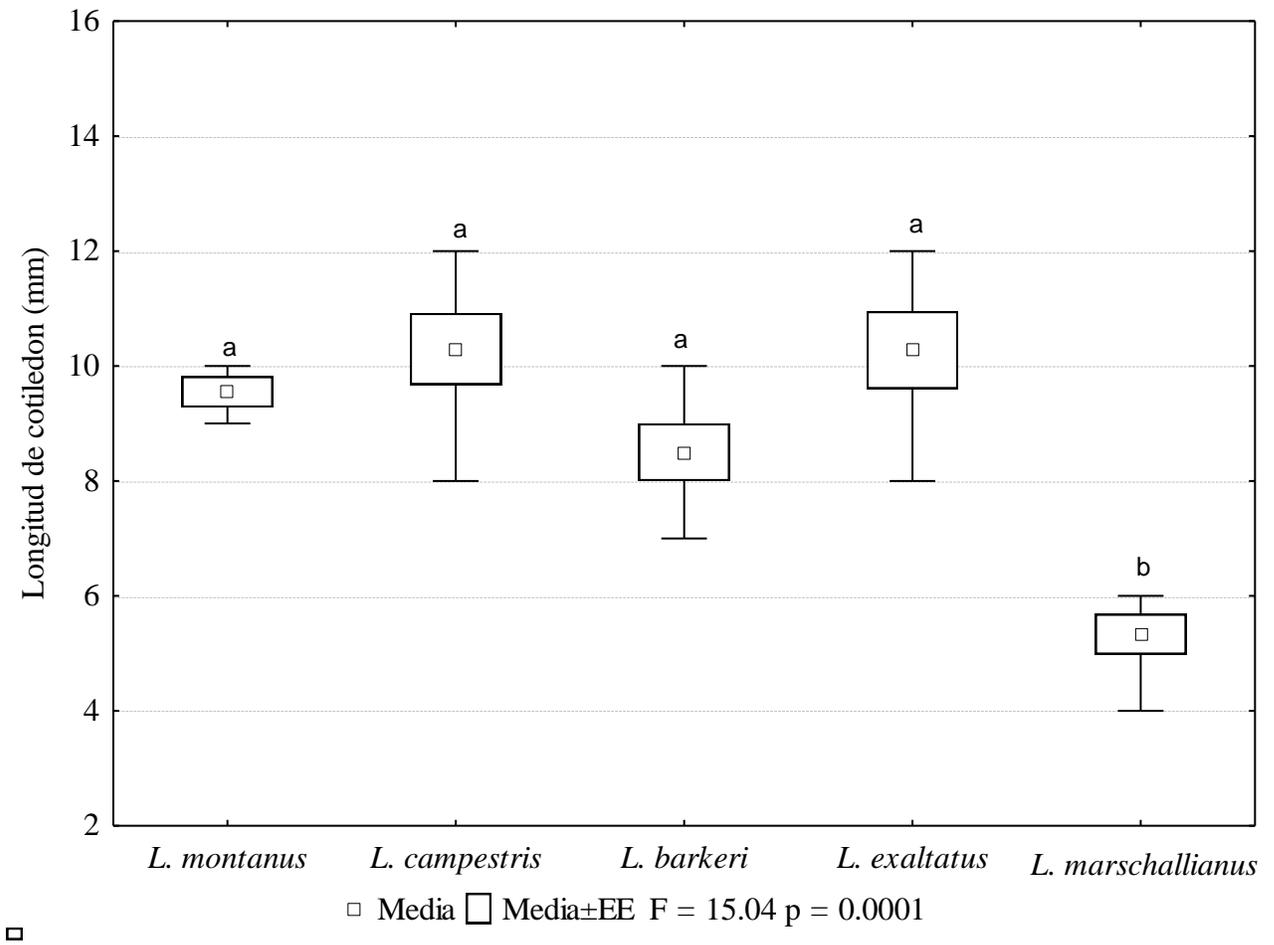
Ancho del foliolo (mm)	0.29	-0.30	0.39
Número de nódulos	0.33	0.05	-0.33

---

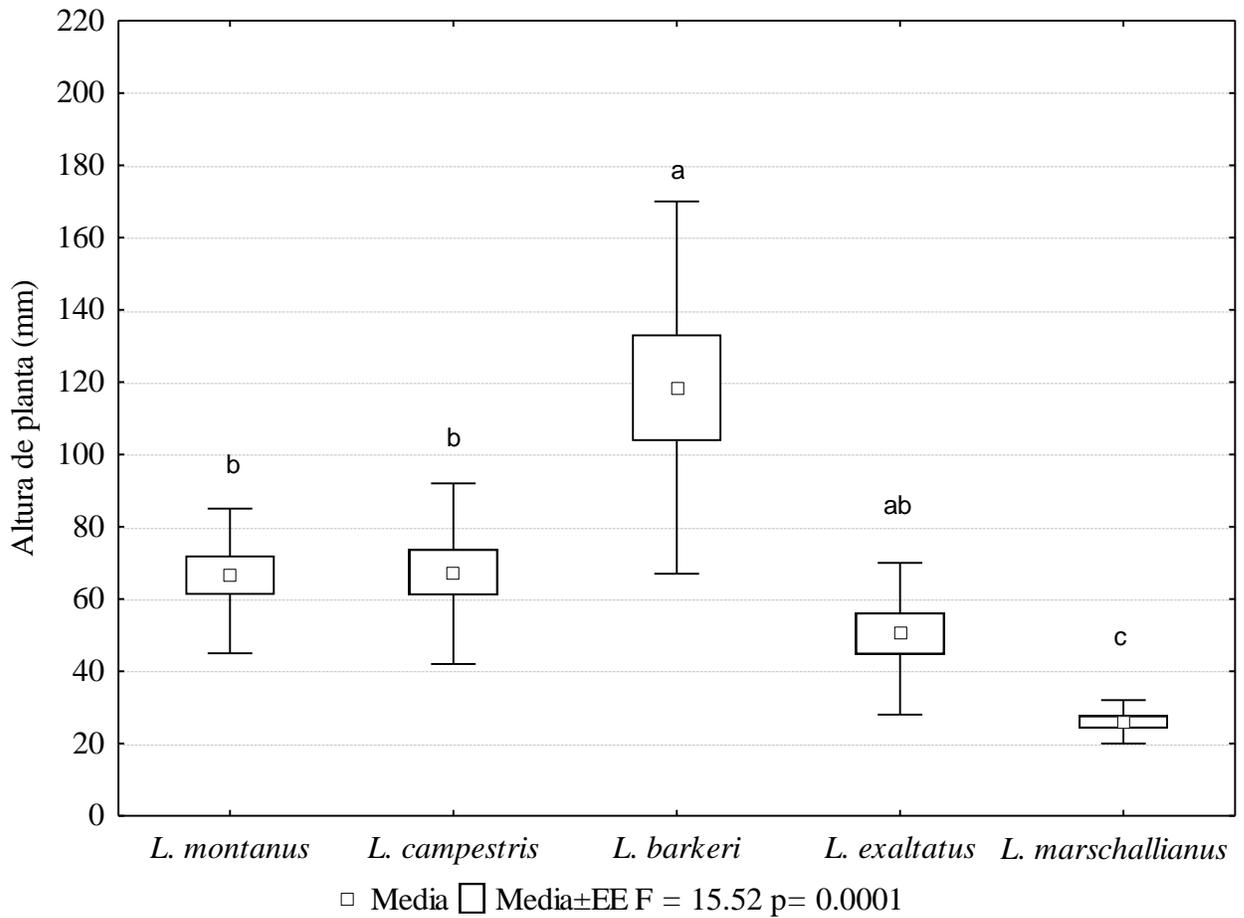
Las seis variables anteriormente mencionadas se utilizaron para realizar los análisis de varianza (ANOVA) y el de Disimilitud para caracterizar a las especies estudiadas. Así se obtuvo que *L. barkeri* presentó plántulas más largas, número mayor de hojas, longitud del foliolo central de tamaño intermedio y número mayor de foliolos por hoja; *L. campestris* es uno de los que presentó mayor grosor del cuello de la raíz, mayor longitud del cotiledón, tamaño intermedio de altura de la plántula, número menor de hojas y número menor de foliolos por hoja; *L. exaltatus* por su parte también presentó un mayor grosor del cuello de la raíz, mayor longitud del cotiledón, menor número de hojas, mayor longitud del foliolo central y menor número de foliolos por hoja; notoriamente *L. marschallianus* presenta el menor grosor del cuello de la raíz, menor longitud del cotiledón, plantas de menor altura y menor longitud del foliolo central; en *L. montanus* se observaron valores altos en el diámetro de la raíz, valores intermedios de la altura de la plántula, foliolo central con longitud mayor y número mayor de foliolos por hoja (Figuras 1, 2, 3, 4, 5, y 6).



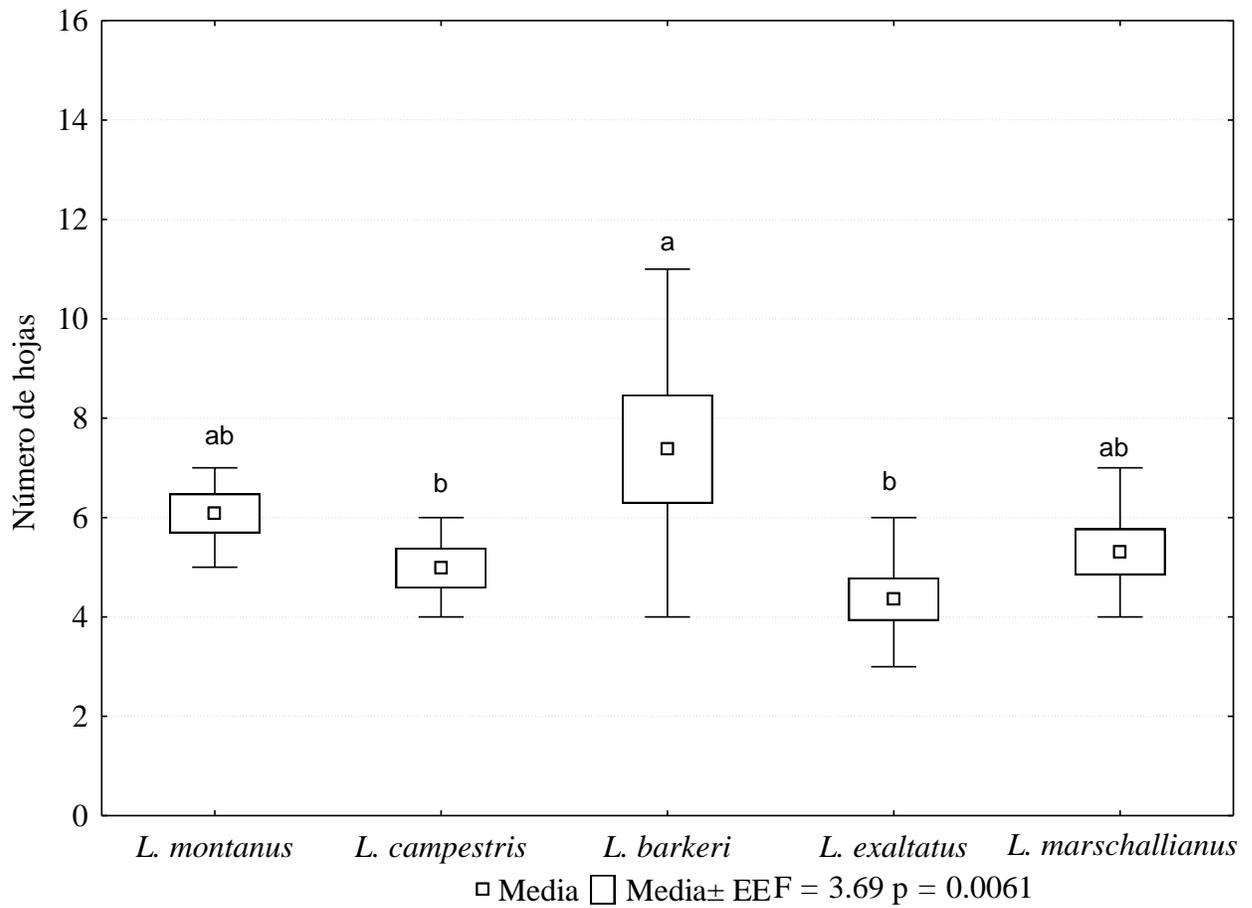
**Figura 1.** Gráfica de distribución de los datos observados de la variable diámetro de la raíz para cada especie. Valores de  $F$  y  $p$  resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).



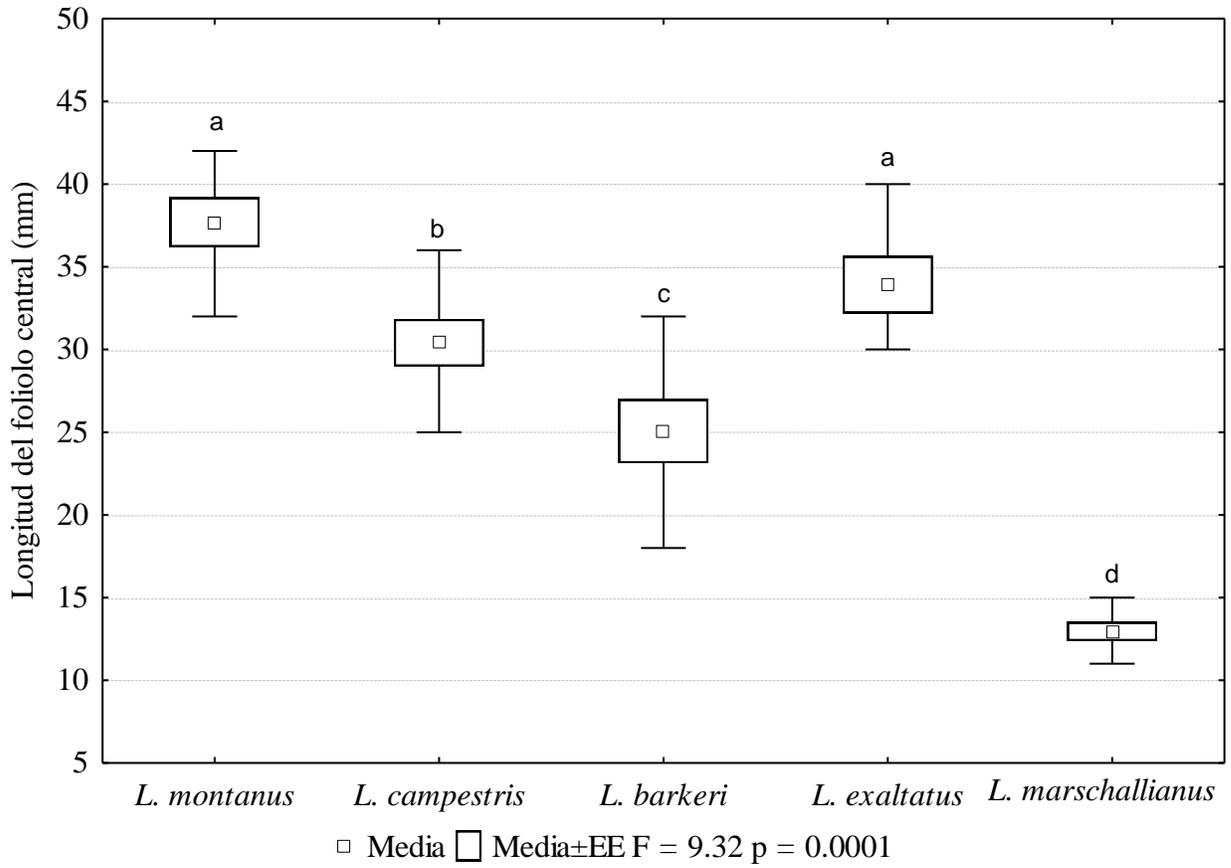
**Figura 2.** Gráfica de distribución de los datos observados de la variable longitud de cotiledón para cada especie. Valores de  $F$  y  $p$  resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).



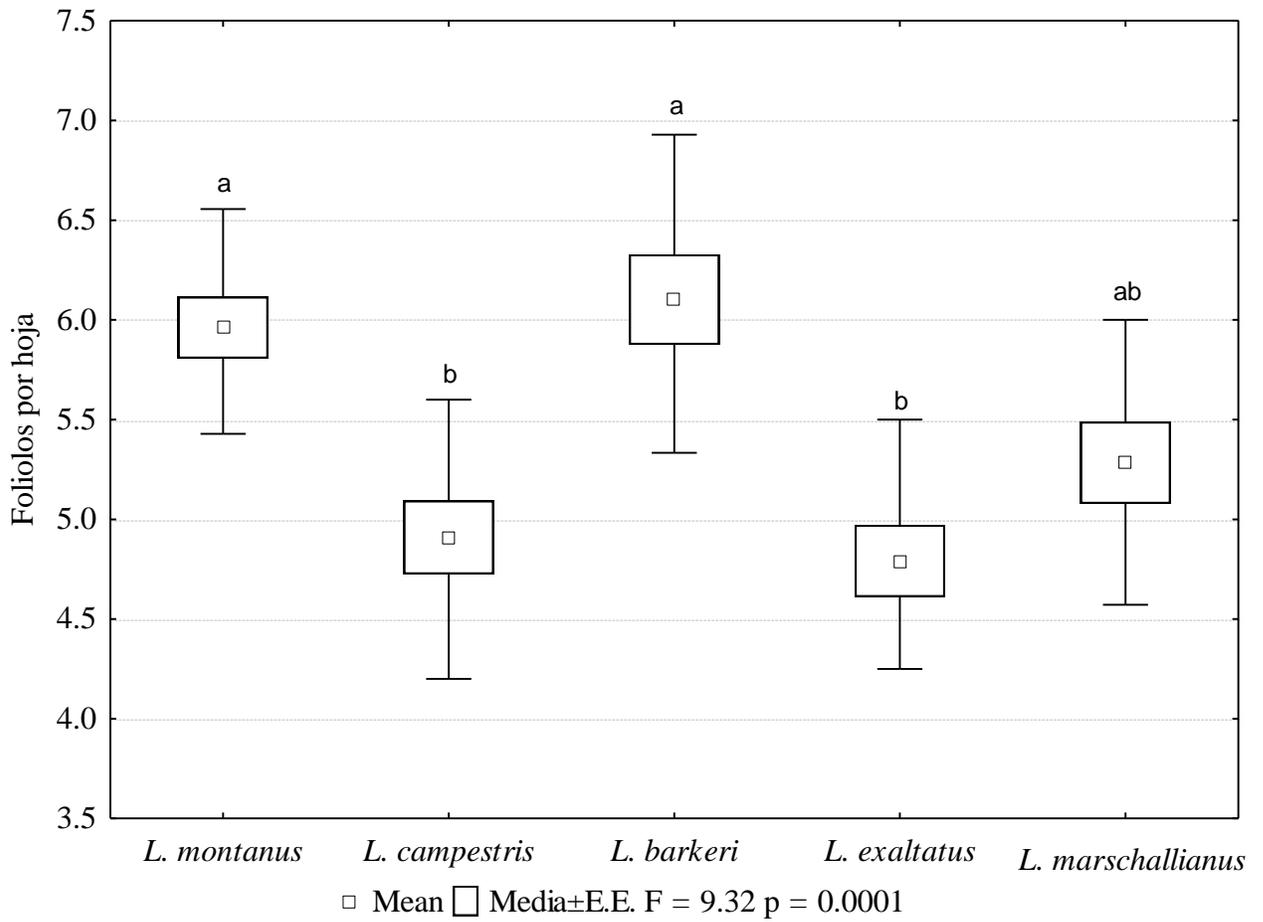
**Figura 3.** Gráfica de distribución de los datos observados de la variable altura de planta para cada especie. Valores de  $F$  y  $p$  resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).



**Figura 4.** Gráfica de distribución de los datos observados de la variable número de hojas para cada especie. Valores de  $F$  y  $p$  resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).

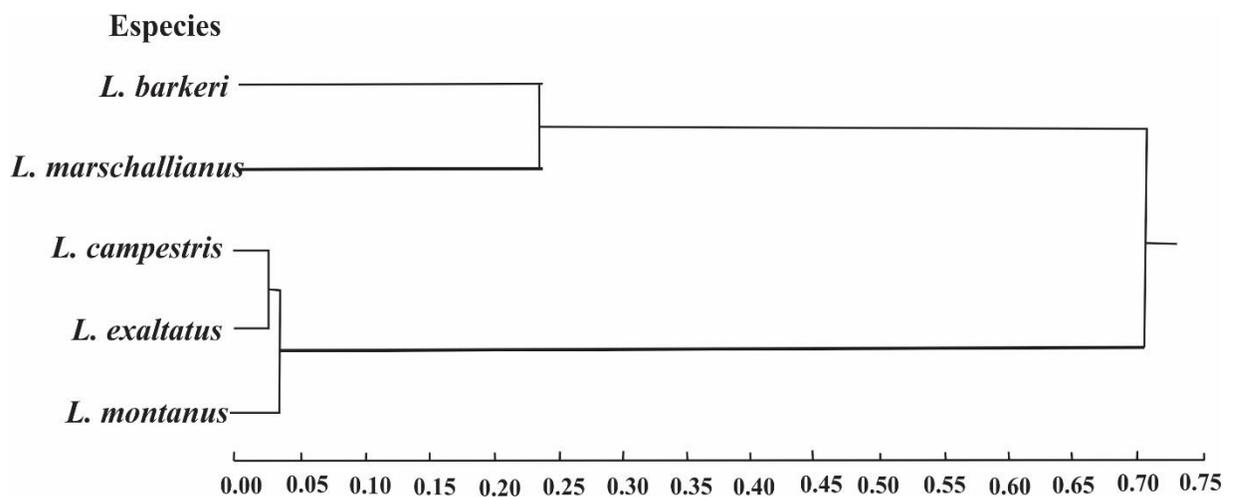


**Figura 5.** Gráfica de distribución de los datos observados de la variable longitud del foliolo central para cada especie. Valores de  $F$  y  $p$  resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).



**Figura 6.** Gráfica de distribución de los datos observados de la variable foliolos por hoja para cada especie. Valores de  $F$  y  $p$  resultado de ANOVA para cada variable. Letras iguales no existen diferencias significativas, letras diferentes indican diferencias significativas entre las especies ( $p < 0.05$ , Tukey).

Con el Análisis de Agrupamiento se obtuvieron dos grupos con un nivel de disimilitud de 0.71, el primero está representado por *L. marschallianus* y *L. barkeri* y en el segundo por *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*. Las especies menos disímiles entre ellas son *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* mientras que las más disímiles son *L. barkeri* y *L. marschallianus* (Figura 7).



**Figura 7.** Agrupamiento por disimilitud de las especies del género *Lupinus* de la región oriente de Puebla.

En cuanto a las características cualitativas, se observó que el color de los cotiledones a los 22 días después de la siembra fue rojo-olivo (R5/8, Y5/6) para *L. montanus* y *L. barkeri*; totalmente olivo (Y5/6) para *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. marschallianus*. El hipocotilo es de color rojo (R5/6) en *L. montanus*, *L. campestris* y *L. barkeri*, y de color olivo (Y6/6) en *L. exaltatus* y *L. marschallianus* (Figura 8).



**Figura 8.** Color de cotiledones de las especies *L. barkeri* (A), *L. campestris* (B), *L. exaltatus* (C), *L. marschallianus* (D) y *L. montanus* (E).

Por otro lado, se observó que la formación de primordios florales para *L. marschallianus* y *L. barkeri* inició a los 70 días y a los 90 días se observaron vainas maduras. En las otras especies el ciclo anterior duró 290 días. Sólo la raíz de *L. barkeri* formó tubérculo a los 120 días.

### Discusión

Se ha considerado que las estructuras florales son importantes desde el punto de vista taxonómico-morfológico en las plantas que presentan flores, ya que no se encuentran influenciadas por los cambios en el ambiente como sucede con las vegetativas (González-Andrés y Ortiz, 1996); sin embargo, en algunos grupos a veces es muy complicado delimitar diferentes niveles taxonómicos y esto conlleva a una sobreestimación del número de especies, situación que se ha estado tratando de esclarecer con el uso de otro tipo de información (González-Andrés y Ortiz, 1996; González-Andrés *et al.*, 2007; Loza-Cornejo y Terrazas, 2011).

Uno de los grupos con problemas en su delimitación específica es el género *Lupinus*, el cual ha sido abordado con diferente información para esclarecer la delimitación entre las

especies descritas, situación que puede complicarse debido a que las especies conocidas de este género se diversificaron de diferentes puntos geográficos (Ainoche y Bayer, 1999; Drumond, 2008; Eastwood *et al.*, 2008).

La evaluación de las diferentes etapas de desarrollo de los organismos (ontogenia) son útiles en la búsqueda de relaciones de parentesco entre las especies (Barrera, 1992; Zevallos-Potillo y Flores-Bendezú, 2003), pero además, ayudan a discernir entre las mismas, lo que permite contar con información específica para la toma de decisiones en las actividades de repoblación artificial, regeneración y dinámica de las comunidades vegetales así como en la conservación y manejo de los bancos de semillas y plántulas *in situ* y *ex situ* (Barrera, 1992), lo cual se ha determinado en el presente trabajo con las cinco especies de *Lupinus*.

Con el control que se tuvo de las condiciones ambientales durante la realización del presente trabajo, se tienen datos que permiten conocer la expresión genética de cada especie (Soto-Correa *et al.*, 2014; 2015), ya que de las once características evaluadas se puede mencionar que algunas de éstas nos permiten separar y reconocer en las primeras etapas de desarrollo a nivel específico. Así, debido a las diferencias en los cotiledones, *L. marschallianus* debe considerarse como una dicotiledónea fanerocotilar (Barrera, 1992). Igualmente *L. marschallianus* y *L. barkeri* presentaron características xeromórficas similares a *L. meridanos* Moritz ex C.P. Smith y *L. eromonimos* C.P. Smith, las cuales son plantas anuales con crecimiento rápido, con hojas y folíolos pequeños, características que se consideran como una respuesta de adaptación a su sitio de distribución (Briseño *et al.*, 2000).

Por otro lado, Rada *et al.* (1987) mencionan que *L. montanus* al desarrollarse en altitudes más bajas que en las que se distribuye normalmente, puede llegar a presentar un desarrollo de sus hojas en roseta, situación que fue observada con esta especie en el presente trabajo.

La similitud observada entre *L. campestris* y *L. exaltatus* en la mayoría de las variables evaluadas, tal vez nos estén representando la pertenencia a algún subgrupo dentro del género *Lupinus*, lo que para las especies Americanas no se ha propuesto (Wolko *et al.*, 2011), aun así, la mayor longitud del foliolo central en *L. exaltatus* lo diferencia de *L. campestris*, carácter que es útil para su clasificación taxonómica.

### **Conclusiones**

Por lo tanto, con esta evaluación se puede concluir que la longitud de cotiledón, el diámetro del cuello de la raíz, altura de la planta, número de hojas, foliolos por hoja y la longitud del foliolo central observadas durante los primeros 60 días de desarrollo, fueron útiles para la diferenciación entre especies de *L. montanus*, *L. barkeri*, *L. marschalianus*, *L. exaltatus* y *L. campestris* durante esta etapa fenológico

### **Agradecimientos**

El presente trabajo fue apoyado económicamente por la Línea Prioritaria de Investigación No. 6 del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. El primer autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) el apoyo económico otorgado para la realización de estudios de posgrado con número de beca 44171.

## Literatura citada

- Añoche, A. K., and R. J. Bayer 1999. Phylogenetic relationships in *Lupinus* (Fabaceae: Papilionoidae) based on Internal Transcribed Spacer Sequences (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *American Journal of Botany* 86(4): 590-607.
- Alderete-Chávez, A., V. Espinosa-Hernández, N. de la Cruz-Landero, E. Ojeda-Trejo, and Brito-Vega H. 2009. Evaluation of two *Lupinus* species native from central Mexico in relation with solubilization of nitrogen, phosphorus and potassium in an Andosol. *Journal of Applied Science* 9(8): 1583-1587.
- Alderete-Chávez, A., D. A. Rodríguez-Trejo, V. Epinoza-Hernández, E. Ojeda-Trejo, and N. de la Cruz-Landero 2010. Effects of different scarification treatments on the germination of *Lupinus leptophyllus* seeds. *International Journal of Botany* 6(1): 64-68.
- Barrera T., E. 1992. Plántulas de algunas especies leñosas nativas y connaturalizadas del bosque subandino Sylvania-Cudinamarca-Colombia. *Agronomía Colombiana* 9:131-160.
- Barrientos D., L., A. Montenegro B., y I. Pino N. 2002. Evaluación de la fijación simbiótica de nitrógeno de *Lupinus albus* y *L. angustifolius* en un andisol vilcun del sur de Chile. *Terra* 20: 39-44.
- Benítez B., G. 1986. Árboles y flores del Ajusco. MAB-IEMHNCM. México. 183 p.
- Briseño B., A. Azócar, M. Fariña, y F. Rada. 2000. Características anatómicas de dos especies de *Lupinus* L. de los Andes venezolanos. *Pittieria* 1(30): 21-35.
- Di Rienzo J.A., F. Casanoves, M. Balzarini G., L. Gonzalez, M. Tablada y W. Robledo C. 2014. InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

- Drummond, C.S. 2008. Diversification of *Lupinus* (Leguminosae) in the western New World: Derived evolution of perennial life history and colonization of montane habitats. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48: 408 – 421.
- Dunn B. D., 2005. *Lupinus*. In: Rzedowski, J., y G. C. de Rzedowski. Flora fanerogámica del Valle de México, 2da ed., Instituto de Ecología, A. C. y Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacan, México. pp: 290-300.
- Dunn B. D., y W. E. Harmon. 1977. The *Lupinus montanus* complex of Mexico and Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 64(2): 340-365.
- Eastwood, J. R., C. S. Drummond, M. T. Schifino-Witmann, y C. E. Huges. 2008. Diversity and evolutionary of *Lupinus* insights from New Phylogenies. Proceedings 12th International Lupin Conference. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. pp: 348-354.
- García C., O., G. Alcántara G., I. Cabrera R., F. Gavi R., y V. Volke H. 2001. Evaluación de sustratos para la producción de *Epipremnum aureum* y *Spathiphyllum wallisii* cultivadas en maceta. *Terra* 19(3): 249-258.
- González-Andrés F., y M. Ortiz J. 1996. Morphometrical characterization of *Cytisus* and allies (Genisteeae: Leguminosae) as an aid in taxonomic discrimination. *Israel Journal of Plant Sciences* 24: 95-114.
- González-Andrés F., P. Casquero, C. San-Pedro, y E. Hernández-Sánchez 2007. Diversity in white lupin (*Lupinus albus* L.) landraces from northwest Iberian plateau. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 27-44.
- Gueguen, J., y P. Cerletii. 1994. Proteins of some legume seeds: soybean, pea faba bean and lupin. In: Hudson F.J. Eds. *New and Developing Sources of Food Proteins*, Chapman and Hall, London, U.K. pp: 45-196.

- Jezierny D., Mosenthin R., and Bauer E. 2010. The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: A review. *Animal Feed Science and Technology*. [157\(3-4\)](#): 111 – 128.
- Lagunes-Espinoza, L. 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-oriente del Estado de Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana* 99: 73-90.
- Lagunes-Espinoza, L. C., M. Pablo-Pérez, E. M. Aranda-Ibañez, J. López-Upton y J. Ramos-Juárez. 2013. Potencial nutritivo para alimentación animal de leguminosas silvestres del género *Lupinus* del estado de Puebla. *Agricultura Sostenible* 9: 2979-2988.
- Lelei, J. J., and N. Onwonga R. 2014. Soil fungal and bacterial populations in white lupin (*Lupinus albus*) - maize (*Zea mays* L) cropping system amended with Minjingu phosphate rock. *Journal of Agriculture and Ecology Research International* 1(1):1 – 17.
- Lewis, G., B. Schrire, B. Mackinder, and M. Lock. 2005. Legumes of the world. Royal Botanic Gardens. Kew, UK. 577 p.
- Loza-Cornejo, S., y T. Terrazas. 2011. Morfo-anatomía de plántulas en especies de Pachycereae: ¿hasta cuándo son plántulas? *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 88: 1-13.
- Macbeth Division of Kollmorgen Instruments Corporation. 1994. Munsell soil color charts. Little Britain Road. New Winsor, New York. 29 p.
- Mallet, J. 2007. Hybrid speciation. *Nature* 446: 279–283.
- Martínez J. M., D. A Rodríguez-Trejo, E. Guizar-Nolazco y R. Bonilla-Beas 2008. Escarificación artificial y natural de la semilla de *Lupinus bilineatus* Benth. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 14(2): 73-79.

- Microsoft Office. 2013. Microsoft Corporation, One Microsoft Way, Redmond, WA 98052 EE. UU.
- Pablo-Pérez, M., L. 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.
- Pérez-García, B. y A. Mendoza. 2002. Morfología vegetal neotropical. *Revista Biología Tropical* 50: 893-902.
- Planchuelo, A. M. 1994. Wild lupin distribution and its implications as germplasm resources. *In: Neves Martins, J.M. y Beirao da Costa M.L. (eds.). Advances in lupin research. Proceedings of 7th International Lupin Conference, Evora, Portugal. Technical University of Lisbon. Lisboa, Portugal. pp: 65-69*
- Rada, F., G. Goldstein, A. Azocar, and F. Torres. 1987. Supercooling along an altitudinal gradient in *Espeletia schultzii*, a caulescent giant rosette species. *Journal of Experimental Botany* 38:491-497.
- Rodríguez-Ambríz, S. L., A. L. Martínez-Ayala, F. Millan, y G. Dávila-Ortíz. 2005. Composition and properties of *Lupinus campestris* protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition* 60: 99-107.
- Salazar-Rojas, V. M., B. E. Herrera-Cabrera, M. A. Soto-Arenas, y F. Castillo-González 2010. Morphological variation in *Laelia anceps* subsp. *dawsonii* f. *chilapensis* Soto-Arenas Orchidaceae in traditional home gardens of Chilapa, Guerrero, México. *Genetic Resources and Crop Evolution* 57(4): 543-552.
- SAS Institute Inc. 2002. SAS / STAT 9.0 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.

- Schluter, D. 2000. The ecology of adaptive radiation. Oxford University Press, Oxford. U.K.
- 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., 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. Estrés por sequía en *Lupinus elegans* procedente de diferentes altitudes. *Madera y Bosques* 21(1): 35-43.
- Sousa-Sánchez, M., y A. Delgado-Salinas 1998. Leguminosas mexicanas: fitogeografía, endemismo y orígenes, En: Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot, y J. Fa (Comp.). *Diversidad biológica de México: orígenes y distribución*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp: 449-500.
- Świącicki, W., K. W Świącicki, and B. Wolko. 1996. *Lupinus anatolicus* - a new lupin species of the Old World. *Genetic Resources and Crop Evolution* 43:109-117.
- Talhinhas, P., J. Leitão y J. Neves-Martins. 2006. Collection of *Lupinus angustifolius* L. germoplasm and characterization of morphological and molecular diversity. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 563-578.
- Vega-Villasante, F., H. Nolasco, C. Montaña, H. L. Romero-Schmidt, y E. Vega-Villasante. 1996. Efecto de la temperatura, acidez, iluminación, salinidad, irradiación solar y humedad sobre la germinación de semillas de *Pachycereus pecten-aboriginum* “cardón barbón” (*Cactaceae*). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 41: 51-61.

Wolko B., J. C. Clements, B. Naganowska, M. N. Nelson, and H. Yang 2011. *Lupinus*. In: B. Kole. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Legume Crops and Forages. Springer-Verlag, Berlin. pp: 154-205.

Zevallos-Potillo, P.A. y Y. Flores-Bendezú. 2003. Caracterización morfológica de plantas de “uña de gato” *Uncaria tomentosa* (Willd. ex Roemer & Schultes) D.C. y *U. guianensis* (Aublet) Gmelin del Bosque Nacional Alexander von Humboldt. *Ecología Aplicada* 2: 41-46.

## CAPÍTULO II

### DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE TRES ESPECIES DE *Lupinus* EN LA REGIÓN CENTRO ORIENTE DE PUEBLA

#### Resumen

El género *Lupinus*, en México, está constituido de plantas herbáceas y arbustivas, ricas en proteína, que presentan alta variación fenotípica. Los cambios de uso de suelo han reducido y fragmentado sus poblaciones, con posibles efectos sobre su diversidad genética. El objetivo fue determinar la diversidad genética entre poblaciones de *L. campestris* Cham. & Schldl., *L. montanus* Kunth, y *L. exaltatus* Zucc., componentes de bosques alterados del centro-oriente del estado de Puebla. Se amplificaron e identificaron los fragmentos de siete microsátélites. El promedio de alelos totales varió entre las especies de 11.4 a 23.6. Se encontraron diferencias significativas entre las siete poblaciones de *L. campestris* y nueve orígenes de *L. montanus* para los índices de diversidad. En *L. exaltatus* el porcentaje de loci polimórfico fue alto (90.5%) aunque sólo tres poblaciones se muestrearon. La heterocigosidad esperada en las tres especies varió entre 0.17-0.50. El índice de fijación mostró un alto grado de heterocigosis. *L. exaltatus* tuvo un mayor índice de diversidad ( $H' = 0.80$ ). El índice de fijación promedio dentro de cada población ( $FIS$ ) fue negativo en los tres taxa, y sólo *L. montanus* presentó valores negativos en el índice de fijación total ( $FIT$ ). En los índices de fijación entre poblaciones ( $FST$ ), *L. montanus* (0.041) mostró una menor diferenciación. No existió una correlación significativa entre las distancias genéticas y las geográficas en *L. exaltatus* y *L. montanus*. La diversidad es alta en las tres especies, con altas tasa de migración en *L. montanus* y *L. exaltatus*, pero baja en *L. campestris*.

Palabras clave: *Lupinus*, diferenciación, diversidad genética, fragmentación, microsátélites.

## Abstract

In Mexico, the genus *Lupinus* is constituted of shrubs and herbaceous plants, rich in protein and high phenotypic variation. Changes in soil use have reduced and fragmented their populations, with possible effects on their genetic diversity. The objective was to determine the genetic diversity among populations of *L. campestris* Cham. & Schldl., *L. montanus* Kunth, and *L. exaltatus* Zucc., components of altered forests in the center-east of the state of Puebla. Fragments of seven microsatellites were amplified and identified. The mean total alleles varied between species from 11.4 to 23.66. Significant differences were found between the seven populations of *L. campestris* and nine localities of *L. montanus* for diversity indexes. In *L. exaltatus*, the percentage of polymorphic loci was high (90.5%) although only three populations were sampled. The expected heterozygosity in the three species varied between 0.17-0.50. The fixation index showed a high degree of heterozygosity. *L. exaltatus* had a higher diversity index ( $H' = 0.80$ ). The average fixation rate within each population (FIS) was negative in all three taxa, and only *L. montanus* presented negative values in the total fixation index (FIT). In FST, *L. montanus* (0.041) showed lower differentiation. There was no significant correlation between genetic and geographic distances in *L. exaltatus* and *L. montanus*. Diversity is high among all the three species, with high migration rates.

Key words: *Lupinus*, differentiation, genetic diversity, fragmentation, microsatellites.

## Introducción

*Lupinus* es uno de los géneros con mayor diversidad y distribución geográfica (Wolko *et al.*, 2011). A este género pertenecen entre 280-500 especies con desarrollo anuales y perennes, de las cuales la mayoría se localizan en el norte y sur de América (Planchuelo-Ravelo y Wink, 1993; Eastwood *et al.*, (2008). Especies endémicas del Mediterráneo y de la región norte de África como *L. luteus* L., *L. albus* L. y *L. angustifolius* L. se han domesticado (Clements *et al.*, 2008; Wolko *et al.*, 2011); y así como *L. mutabilis* Sweet, especie del sur de América. Estas especies domesticadas son usadas comercialmente en Europa, Australia y Sudamérica por los bajos contenidos de alcaloides (0.001-0.006 %), y alto contenido de proteína en las semillas, particularmente *L. mutabilis* con 43 % de proteína y de 15% aceite (Clements *et al.*, 2008).

En México, este género habita del nivel del mar a los 4000 m, abarcando zonas montañosas y caminos, donde presentan una diversidad fenotípica considerable (Dunn, 1984; Bermúdez Torres *et al.*, 1999). De las 100 taxa reportadas para México, 60 son endémicas (Sousa y Delgado, 1998). Estos *Lupinos* son importantes por las características nutricionales de sus semillas y follaje, y su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico y mineralizar fósforo. La concentración de proteína de la semillas de *L. montanus* Kunth, *L. campestris* Cham. & Schldtl. y *L. exaltatus* Zucc. varía de 32.8 a 48.1 % (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2012 y 2013), y los contenidos de N, P, K, Fe y Zn, son altos (Pablo-Pérez *et al.*, 2013). *L. leptophyllus* y *L. montanus* son importantes en restauración y rehabilitación de tepetates en México, ya que mineralizan N, P, y K (Alderete-Chávez *et al.*, 2009). Los aumentos en N y P en los suelos productos de la mineralización se reflejan positivamente en un incremento de la eficiencia fotosintética de especies forestales asociadas, al combinarse en prácticas de reforestación (Gómez-Romero *et al.*, 2012). Barrientos *et al.* (2001) reportan una mineralización de N<sub>2</sub> de 49

y 69% en suelos Andosoles, usando *L. angustifolius* y *L. albus*, respectivamente. *L. exaltatus* en suelo de tipo Regosol fija 185.7 kg ha<sup>-1</sup> de N<sub>2</sub> (Zapata, 2015).

Para el manejo y aprovechamiento eficiente del germoplasma de lupino presente en México, es requisito conocer la variabilidad y las relaciones genéticas entre las poblaciones presentes (Albrecht *et al.*, 2012), lo que proporciona información sobre los procesos genéticos y evolutivos de una especie (Nicolai *et al.*, 2013). La aplicación de análisis moleculares para el estudio genético de la diversidad da información fenotípicamente neutra, los marcadores moleculares tienen mayor segregación o polimorfismo que los caracteres morfológicos, pueden ser evaluados desde edades juveniles, son aplicables a cualquier tipo de material vegetal, son independientes de la época del año en que se realiza el análisis, permite la identificación correcta de las variedades sin la necesidad de muchos caracteres y están libres de los efectos epistáticos (Azofeifa-Delgado, 2006; Votava *et al.*, 2005). Al caracterizar molecularmente las poblaciones se puede evaluar la diversidad genética inter e intra específica, la que es considerada un vínculo importante entre la conservación y la utilización de los recursos genéticos, por ejemplo en la caracterización de colecciones, la conservación, y la evaluación de poblaciones silvestre (Thul *et al.*, 2012).

Poblaciones de *L. montanus* Kunth, *L. campestris* Cham. & Schldl. y *L. exaltatus* Zucc. cohabitan con especies forestales en la región centro oriente del estado de Puebla, México, donde se desarrollan en pequeños núcleos a lo largo de un gradiente altitudinal (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2012), mostrando variación fenotípica entre especies que puede estar influenciada por el ambiente. Esta variación permite diferenciar a *L. montanus*, pero dificulta la diferenciación entre *L. exaltatus* y *L. campestris*, lo que limita el posible uso de la variación a nivel genético para programas de conservación y/o mejora. Además, dada la importancia del

género *Lupinus* en el mundo y los usos potenciales de algunas de las especies presentes en México (Pablo-Pérez *et al.*, 2013; Alderete-Chávez *et al.*, 2009; Ruiz-López *et al.*, 2010), es necesario conocer la diversidad fenotípica y genética presente. Muchas de las poblaciones de los lupinos presentes en México, se encuentran fragmentadas debido tanto a factores naturales propias de su ecología o como resultado de las actividades humanas asociadas al cambio de uso del suelo, los cuales originan poblaciones pequeñas posiblemente afectadas por la deriva genética (Wright, 1943), hecho que puede aumentar la fijación de alelos recesivos (Michaels *et al.*, 2008). Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue determinar la diversidad y estructura genética entre poblaciones de *L. montanus*, *L. campestris* y *L. exaltatus* a través de microsatélites.

### **Hipótesis**

Las poblaciones naturales de *Lupinus* son pequeñas debido a las alteraciones humanas, por lo que se espera encontrar un nivel bajo de diversidad por el nivel alto de endogamia, y por lo tanto una diferenciación genética entre poblaciones dentro de cada especie.

### **Materiales y Métodos**

#### Extracción y cuantificación de ADN

Las semillas de las tres especies de *Lupinus* se recolectaron en el 2013 y 2014 (Cuadro 1). Las plántulas fueron propagadas en contenedores plásticos de 130 ml en un sustrato a base de agrolita, peat moss y corteza de pino, en el Colegio de Postgraduados, Texcoco, México. El ADN fue extraído de 100 mg de hojas, de 10 plántulas de cada población, con el kit ChargesSwitch<sup>®</sup> gDNA Plant (Invitrogen), en un robot de extracción KingFisher Flex<sup>®</sup> (ThermoScientific,

Waltham, MA). El ADN fue cuantificado por medio de un espectrofotómetro de ultra bajo volumen (NanoDrop 2000® Thermo Scientific™) a partir de la relación de absorbancia a 260/280 nm.

#### Selección, análisis y detección de microsatélites

Los iniciadores para la evaluación fueron siete marcadores microsatélites (SSR) (Parra-González *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2001) los cuales fueron amplificados por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Los iniciadores (SIGMA®) se marcaron con etiquetas fluorescentes en el extremo 5' para su detección capilar (Cuadro 2). La temperatura de alineación de los iniciadores se determinó a través de geles de agarosa (4%). El volumen final de la mezcla de reacción de PCR fue de 20 µl que contenía 20 ng de ADN, 0.2 mM de nucleótidos, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 2.5 X de amortiguador, 0.5 unidad de Taq ADN polimerasa y 10 pmol de cada iniciador. Las etapas para la amplificación de fragmentos constaron de una desnaturalización inicial de 5 min a 94 °C; seguida por 35 ciclos de 2 min a 94 °C y de la alineación a 1 min de 44 a 59 °C dependiendo del iniciador, una extensión de 2 a 72 °C, y una extensión a 72 °C por 30 min, en un termociclador (C1000™ Thermal Cycler, Bio Rad). Las amplificaciones fueron guardadas a una temperatura de -20°C, para posteriormente ingresar las muestras al secuenciador.

**Cuadro 1.** Poblaciones en estudio de tres especies de *Lupinus* en centro-oriente de Puebla.

Especie	Población	Ubicación		
		Latitud	Longitud	Elevación (m)
	Poxcoatzingo	19°57'13.0"	98°00'33.5"	2,481
<i>L. campestris</i>	Laguna de Atexca	19°57'06.1"	98°02'22.2"	2,584
	Laguna Seca	18°63'30.5"	97°19'0.06"	2,669

	San Isidro	18°54'33.6"	97°18'26.4"	2,794
	Barranca Honda	19°01'46.0"	97°22'43.1"	2,903
	Tlalmotolo	19°34'27.4"	97°43'38.5"	2,980
	Zoapan	19°04'39.2"	97°20'54.0"	3,064
	Manuel Ávalos	19°03'50.4"	97°22'59.7"	2,878
<i>L. exaltatus</i>	Zoapan	19°04'38.3"	97°21'57.1"	2,913
	San Martín	19°00'52.4"	97°22'07.7"	3,010
<i>L. montanus</i>	Tlanalapan	19°15'31.2"	97°16'09.7"	3,045
	Texmalaquilla 3100	18°57'21.4"	97°17'20.3"	3,100
	San Joaquín	19°07'09.8"	97°18'25.4"	3,112
	Texmalaquilla 3300	18°57'70.3"	97°17'37.4"	3,300
	Zoapan	19°04'18.1"	97°19'06.7"	3,358
	Texmalaquilla 3500	18°58'30.0"	97°17'25.0"	3,500
	Texmalaquilla 3700	18°58'76.9"	97°17'44.2"	3,700
	Texmalaquilla 3900	18°58'98.0"	97°58'76.9"	3,900
	Texmalaquilla 4100	18°58'99.0"	97°17'65.0"	4,100

**Cuadro 2.** Características de los iniciadores de microsatélites SSR para *L. campestris* (Cam), *L. exaltatus* (Exal) y *L. montanus* (Mon) de la región centro-oriente del estado de Puebla.

Grupo	Locus	Unidad Repetitiva	Etiqueta fluorescente	Etiquetas Iniciadores (5'-3'/3'-5')	Tamaño (pb)/No. Alelos			Temperatura de alineamiento °C		
					Cam	Exal	Mon	Cam	Exal	Mon
1	LUP P2D05	CAA <sub>5</sub>	6-FAM	*F: GAACTGGGTTGGATTAGTAG *R: GGTTCAAGAATTCCTGG	157-267 9	117-314 5	250-268 5	53.2	53.2	53.2
2	LUP P8C06	CAA <sub>6</sub>	HEX	F: CTATTGCCCTCCCGCTGTTC R: CAATGTCTGAATCATCAGACCC	104-152 4	118-169 5	116-166 6	59.1	59.1	57.3
3	LA 02	ATA <sub>n</sub>	HEX	F: AGATATGAGTTTCCATACTTTAG R: GTACGATACTGTGAGGAGC	150-351 5	150-351 5	163 1	50.2	50.2	50.2
3	LA 03	AT <sub>n</sub>	6-FAM	F: CAGCAGGTCAAGCTAATAAC R: GTTATCAAATGCTCCCTT	152-326 9	152-252 5	147 1	50.2	50.2	50.2
3	LA 05	TA <sub>n</sub>	ROX	F: CCTCATAATACCCCTTAGAC R: GAGAAGAAAAAGACATTATTATC	93-253 9	99-198 4	99-107 2	50.2	50.2	50.2
4	LA 05	TC <sub>n</sub>	HEX	F: GGGATCTCTCTCTCTC R: CCAGAAATAACAGATTTTG	208-295 8	156-295 8	163-192 2	44	44	44
4	LA 06	ACC <sub>n</sub>	ROX	F: GGGAACAACAACAAC R: CTGAAGAACTTACACTTTG	207-299 9	207-296 5	115-147 2	44	44	44

\*F= iniciador hacia adelante y R=iniciador en reversa. Camp= *L. campestris*; Exal=*L. exaltatus*; Mon=*L. montanus*.

Los loci microsatélites amplificados fueron analizados en un secuenciador Genetic Analyzer ABI 3130<sup>®</sup> (Applied Biosystems, 2005), con una mezcla de 2  $\mu$ L de producto de PCR, 0.25  $\mu$ L de GeneScan TM-500 LIZ<sup>®</sup> Size Estándar y 7.75  $\mu$ L de HiDi TM Formamide<sup>®</sup>. El programa GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems, 2005) se empleó para la identificación y medición de los alelos. El número de alelos por locus, el porcentaje de loci polimórficos, la heterocigosidad observada y esperada, el índice de fijación (Wright, 1965) y el índice de Shannon (Shannon y Weaver, 1949) se calcularon con el programa POPGENE V. 1.31 (Yeh *et al.*, 1997). Una vez obtenidos los parámetros en cada población, un remuestreo bootstrap de 5000 repeticiones se hizo para obtener los componentes principales. Las diferencias de los valores anteriores entre las poblaciones fueron determinadas por medio de la prueba Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis, 1952; Conover e Iman, 1981), usando el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2015). Los alelos se clasificaron como raros cuando la frecuencia fue  $<0.05$ , comunes cuando fueron  $\geq 0.05$  (Marshall y Brown, 1975), y como exclusivos aquellos que únicamente se encontraron en una población.

La estructura genética de las poblaciones se estimó con los estadísticos F de Wright (1951), los cuales describen la fijación de los alelos o de los efectos de la endogamia a nivel de población (FIS), entre poblaciones (FST) y considerando todas las poblaciones como una sola (FIT). El número de migrantes por generación se calculó a través de la ecuación:  $Nm = (1 - FST) / 4(FST)$  (Wright, 1951). Las distancias genéticas de Nei (Nei, 1972) se calcularon entre las poblaciones de cada especie, y se construyó un dendrograma con el método de agrupamiento de pares no ponderados con promedios aritméticos (UPGMA). Por último, la relación entre las distancias genéticas y las distancias geográficas entre poblaciones se obtuvo por la prueba Mantel (Goldstein *et al.*, 1995).

## Resultados

### Diversidad genética

Las tres especies mostraron diferencias en cada uno de los valores genéticos ( $p < 0.0001$ ). *Lupinus exaltatus* presentó el mayor número de alelos promedio de las tres especies. *L. montanus* mostró aproximadamente la mitad que las otras dos especies. El porcentaje de alelos comunes entre las poblaciones de cada uno de los taxa fue similar, excepto para *L. montanus* en el sitio de Texmalaquilla 3300. Este sitio presentó un 9.09 % de alelos raros. Para el caso de los alelos exclusivos, la población de Tlanalapan de *L. montanus*, presentó 8.33 % de los 12 que se registraron en dicho lugar (Cuadro 3). Alelos raros y/o exclusivos no fueron encontrados en las poblaciones muestreadas de *L. campestris* y *L. exaltatus*.

*L. montanus* presentó un 44.4 % de loci polimórficos (PLP), el menor de las tres especies. el nivel PLP revelado fue alto para *L. campestris* y *L. exaltatus*. El PLP máximo se presentó en tres de siete poblaciones de *L. campestris*, y en dos de las tres de *L. exaltatus* (Cuadro 4). Diferencias ( $p < 0.0001$ ) se encontraron entre las poblaciones de *L. montanus*, y las de *L. campestris* para el número de alelos por locus ( $N_a$ ). *L. exaltatus* no mostró diferencias entre sus tres poblaciones para el número de alelos. El mayor número de alelos se presentó en la población de San Isidro para *L. campestris* y el menor en la población de Texmalaquilla para *L. montanus* (Cuadro 4).

Los valores promedio de heterocigocidad observada ( $H_o$ ) y heterocigocidad esperada ( $H_e$ ) fueron mayores en *L. exaltatus*, sin mostrar diferencias entre sus poblaciones; en *L. campestris* y *L. montanus* hubo diferencias entre sus poblaciones ( $p < 0.0001$ ), el promedio menor se observó en *L. montanus*. Con respecto al índice de fijación (IF) las especies mostraron diferencias entre sus poblaciones ( $p < 0.0001$ ). Todas las poblaciones de las tres especies

presentaron valores negativos lo cual indicó una deficiencia de homocigotos, excepto en la población de *L. exaltatus* de Manuel Ávalos. *L. exaltatus* y *L. campestris* presentaron mayor índice promedio de diversidad de Shanon ( $H'$ ), un valor mayor al doble que en *L. montanus*. En las especies de *L. montanus*, y *L. campestris* hubo diferencias entre sus poblaciones (Cuadro 4).

**Cuadro 3.** Número y clase de alelos encontrados en siete poblaciones de *Lupinus campestris*, tres de *L. exaltatus* y nueve de *L. montanus* del centro-oriente del estado de Puebla.

Especie / población	Alelos						
	Totales	Comunes		Raros		Exclusivos	
		No.	%	No.	%	No.	%
<i>L. campestris</i>							
Poxcoatzingo	20	20	100	0	0	0	0
Laguna de Atexca	26	26	100	0	0	0	0
Laguna Seca	15	15	100	0	0	0	0
San Isidro	27	27	100	0	0	0	0
Barranca Honda	24	24	100	0	0	0	0
Tlalmotolo	20	20	100	0	0	0	0
Zoapan	15	15	100	0	0	0	0
Promedio	21.0	21.0	100	0	0	0	0
<i>L. exaltatus</i>							
Manuel Ávalos	24	24	100	0	0	0	0
Zoapan	26	26	100	0	0	0	0
San Martín	21	21	100	0	0	0	0
Promedio	23.67	23.67	100	0	0	0	0
<i>L. montanus</i>							
Texmalaquilla 3100	11	11	100	0	0	0	0
Texmalaquilla 3300	11	10	90.91	1	9.09	0	0
Texmalaquilla 3500	11	11	100	0	0	0	0
Texmalaquilla 3700	10	10	100	0	0	0	0
Texmalaquilla 3900	11	11	100	0	0	0	0
Texmalaquilla 4100	14	14	100	0	0	0	0
Tlanalapan	12	11	100	0	0	1	8.33

San Joaquín	11	11	100	0	0	0	0
Zoapan	12	12	100	0	0	0	0
Promedio	11.44	11.33	98.99	0.09	1.01	0	0

**Cuadro 4.** Diversidad genética de siete poblaciones de *Lupinus campestris*, tres de *L. exaltatus* y nueve de *L. montanus* del centro-oriente del estado de Puebla.

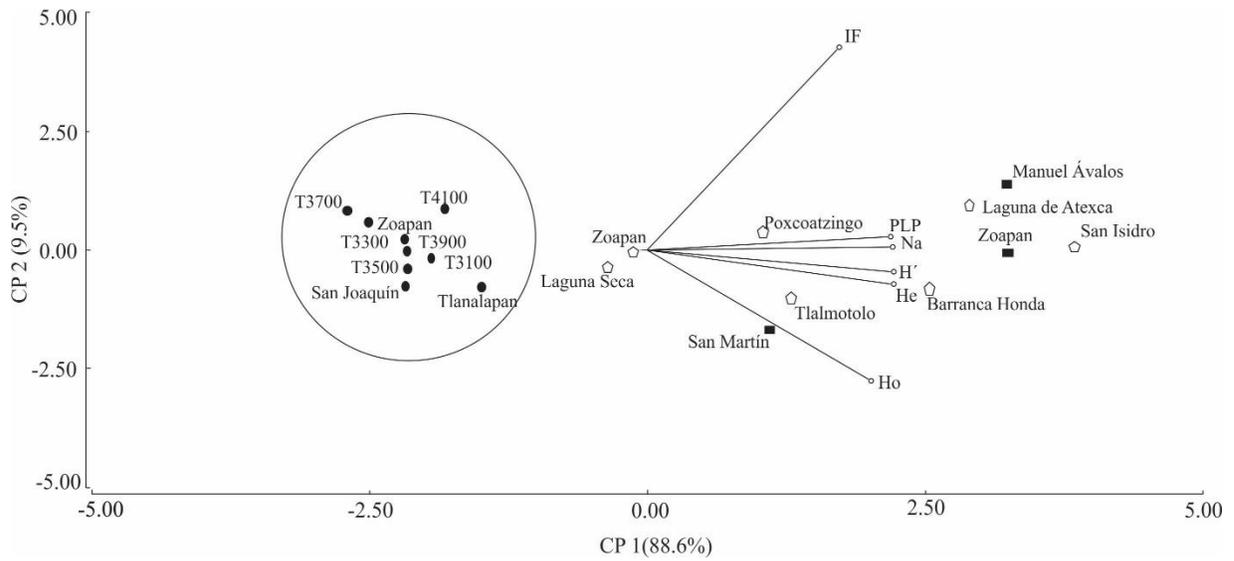
<b>Especie / población</b>	<b>PLP</b>	<b>Na</b>	<b>Ho</b>	<b>He</b>	<b>IF</b>	<b>H'</b>	<b>CP1</b>	<b>CP2</b>
<i>L. exaltatus</i>	90.48	3.38 <sup>b</sup>	0.53 <sup>b</sup>	0.47 <sup>b</sup>	-0.11 <sup>b</sup>	0.82 <sup>b</sup>	2.54 <sup>a</sup>	-0.06 <sup>a</sup>
<i>L. campestris</i>	79.63	3.00 <sup>b</sup>	0.50 <sup>b</sup>	0.43 <sup>b</sup>	-0.15 <sup>ab</sup>	0.73 <sup>b</sup>	1.61 <sup>a</sup>	-0.12 <sup>a</sup>
<i>L. montanus</i>	44.45	1.64 <sup>a</sup>	0.34 <sup>a</sup>	0.21 <sup>a</sup>	-0.28 <sup>a</sup>	0.31 <sup>a</sup>	-2.1 <sup>a</sup>	0.11 <sup>a</sup>
<b><i>L. campestris</i></b>								
Poxcoatzingo	71.14	2.87 <sup>b</sup>	0.45 <sup>b</sup>	0.39 <sup>c</sup>	-0.13 <sup>c</sup>	0.68 <sup>c</sup>	-0.80 <sup>c</sup>	-0.76 <sup>b</sup>
Laguna de Atexca	100	3.71 <sup>e</sup>	0.46 <sup>c</sup>	0.47 <sup>e</sup>	-0.02 <sup>d</sup>	0.86 <sup>e</sup>	1.81 <sup>f</sup>	-1.49 <sup>a</sup>
Laguna Seca	57.14	2.15 <sup>a</sup>	0.45 <sup>a</sup>	0.33 <sup>a</sup>	-0.25 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>	-2.81 <sup>a</sup>	0.04 <sup>d</sup>
San Isidro	100	3.85 <sup>f</sup>	0.58 <sup>f</sup>	0.55 <sup>f</sup>	-0.04 <sup>d</sup>	0.97 <sup>f</sup>	3.22 <sup>g</sup>	0.19 <sup>e</sup>
Barranca Honda	100	3.41 <sup>d</sup>	0.56 <sup>c</sup>	0.46 <sup>d</sup>	-0.20 <sup>b</sup>	0.79 <sup>de</sup>	1.25 <sup>e</sup>	1.08 <sup>f</sup>
Tlalmotolo	41.43	2.87 <sup>c</sup>	0.54 <sup>d</sup>	0.43 <sup>e</sup>	-0.25 <sup>a</sup>	0.73 <sup>d</sup>	-0.37 <sup>d</sup>	1.26 <sup>g</sup>
Zoapan	57.14	2.13 <sup>a</sup>	0.45 <sup>bc</sup>	0.36 <sup>b</sup>	-0.18 <sup>b</sup>	0.56 <sup>b</sup>	-2.30 <sup>b</sup>	-0.32 <sup>c</sup>
<b><i>L. exaltatus</i></b>								
Manuel Ávalos	100	3.41 <sup>a</sup>	0.51 <sup>a</sup>	0.48 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.83 <sup>a</sup>	0.83 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>
Zoapan	71.43	3.73 <sup>a</sup>	0.55 <sup>a</sup>	0.50 <sup>a</sup>	-0.08 <sup>b</sup>	0.89 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>	0.58 <sup>a</sup>
San Martín	100	3.01 <sup>a</sup>	0.54 <sup>a</sup>	0.42 <sup>a</sup>	-0.33 <sup>c</sup>	0.74 <sup>a</sup>	-2.4 <sup>a</sup>	-1.14 <sup>b</sup>
<b><i>L. montanus</i></b>								
Texmalaquilla 3100	42.86	1.60 <sup>b</sup>	0.39 <sup>bc</sup>	0.23 <sup>cd</sup>	-0.30 <sup>b</sup>	0.33 <sup>d</sup>	-0.16 <sup>g</sup>	0.93 <sup>g</sup>

Texmalaquilla 3300	42.86	1.58 <sup>b</sup>	0.30 <sup>bc</sup>	0.17 <sup>a</sup>	-0.26 <sup>c</sup>	0.26 <sup>b</sup>	-0.29 <sup>e</sup>	-2.14 <sup>b</sup>
Texmalaquilla 3500	42.86	1.56 <sup>b</sup>	0.36 <sup>d</sup>	0.21 <sup>bc</sup>	-0.29 <sup>b</sup>	0.29 <sup>b</sup>	-0.60 <sup>c</sup>	-0.18 <sup>d</sup>
Texmalaquilla 3700	42.86	1.42 <sup>a</sup>	0.28 <sup>a</sup>	0.17 <sup>a</sup>	-0.24 <sup>c</sup>	0.23 <sup>a</sup>	-0.95 <sup>b</sup>	-3.02 <sup>a</sup>
Texmalaquilla 3900	42.86	1.58 <sup>b</sup>	0.34 <sup>ab</sup>	0.22 <sup>cd</sup>	-0.30 <sup>b</sup>	0.32 <sup>bcd</sup>	-0.26 <sup>f</sup>	0.06 <sup>f</sup>
Texmalaquilla 4100	42.86	1.98 <sup>c</sup>	0.31 <sup>cd</sup>	0.21 <sup>d</sup>	-0.20 <sup>d</sup>	0.35 <sup>d</sup>	3.19 <sup>i</sup>	-0.19 <sup>c</sup>
Tlanalapan	57.14	1.73 <sup>d</sup>	0.42 <sup>e</sup>	0.25 <sup>e</sup>	-0.35 <sup>a</sup>	0.32 <sup>e</sup>	-0.43 <sup>d</sup>	3.72 <sup>i</sup>
San Joaquín	42.86	1.56 <sup>b</sup>	0.39 <sup>d</sup>	0.23 <sup>cd</sup>	-0.34 <sup>a</sup>	0.31 <sup>bc</sup>	-1.19 <sup>a</sup>	0.98 <sup>h</sup>
Zoapan	42.86	1.72 <sup>c</sup>	0.34 <sup>cd</sup>	0.21 <sup>bc</sup>	-0.27 <sup>c</sup>	0.32 <sup>cd</sup>	0.77 <sup>h</sup>	-0.15 <sup>e</sup>

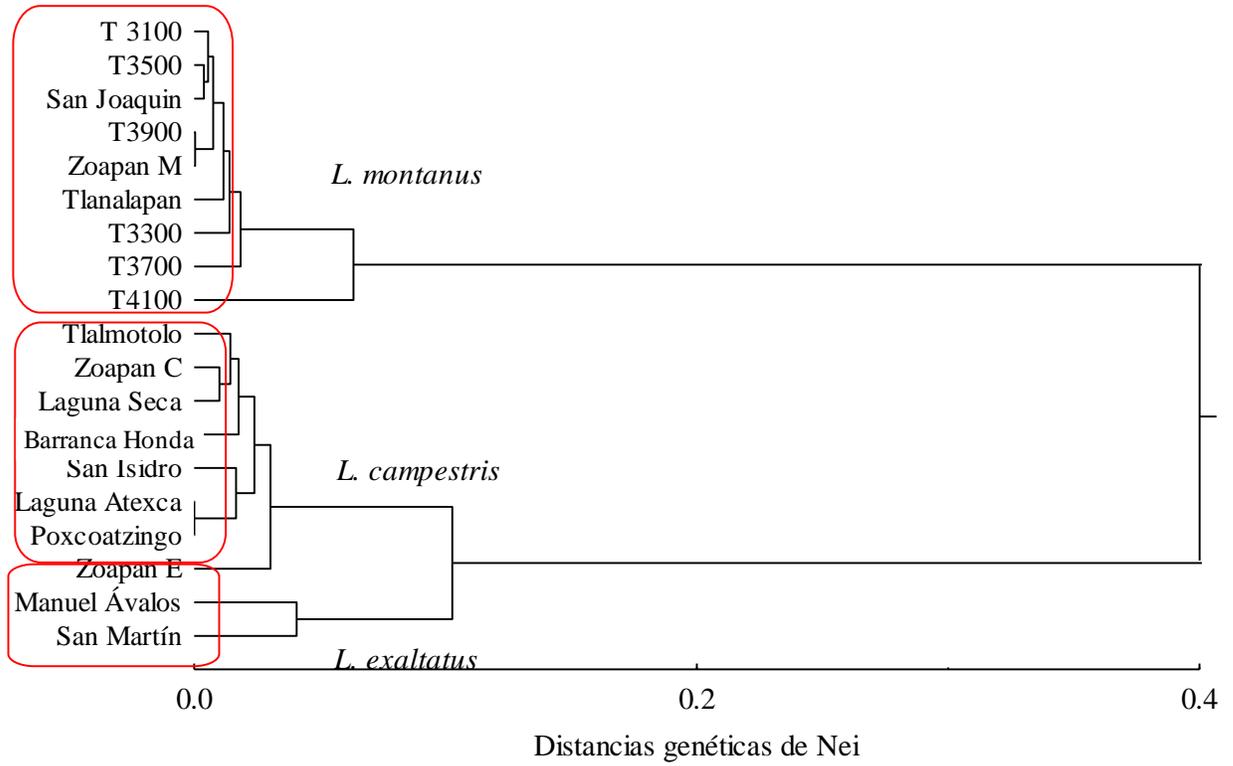
PLP: porcentaje de loci polimórficos, Na: número de alelos por locus, Ho: Heterocigosidad observada, He: Heterocigosidad esperada, IF: índice de fijación, H': índice de diversidad de Shannon, CP1 y CP2: componente principal uno y dos de los índices de diversidad. Medias con distinta letra en la misma columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

Aún cuando no se observaron diferencias en los valores de componentes principales entre especies, las poblaciones de *L. montanus* se agruparon separadas de las poblaciones de *L. campestris* y *L. exaltatus* (Figura 1) las cuales no formaron grupos definidos por especie. De acuerdo a las distancias de Nei, las poblaciones se agruparon por especie (Figura 2), excepto la población de Zoapan de *L. exaltatus*, que se agrupó con *L. campestris*, similar a lo observado en la Figura 1, donde estas dos especies, que morfológicamente fueron similares, no se diferenciaron genéticamente.

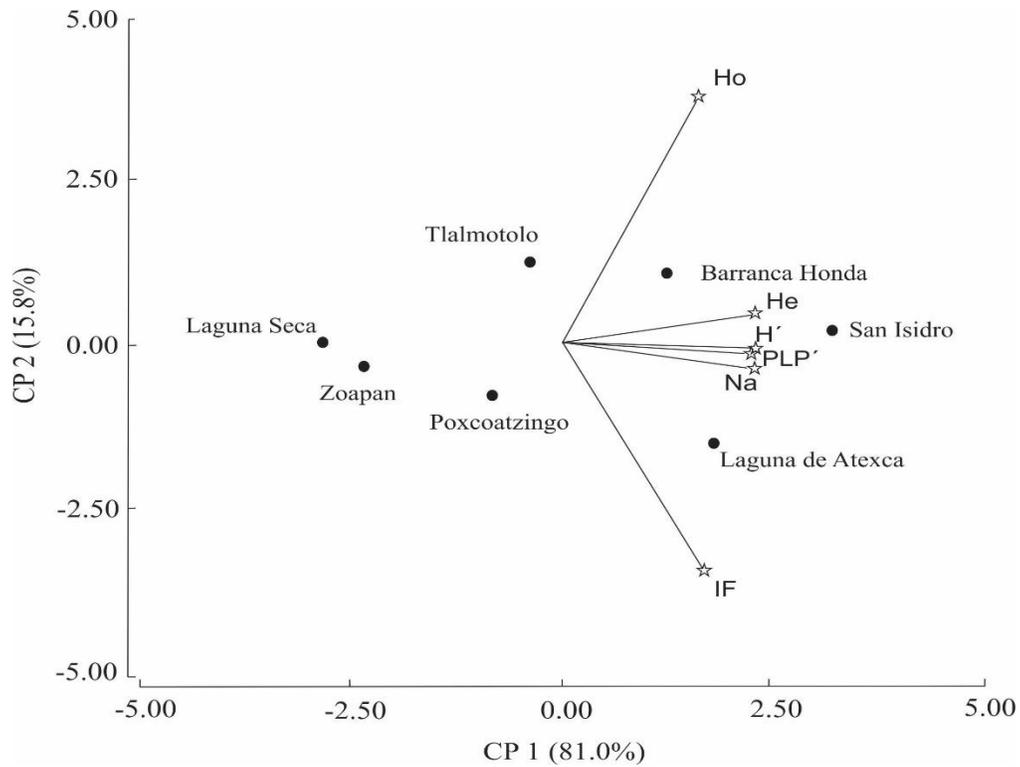
Entre poblaciones de *L. campestris*, los dos componentes principales mostraron diferencias significativas ( $p < 0.0001$ , Cuadro 4). El CP1 explicó el 81% de la variación, destacando las variables PLP y He (0.45), de mayor valor, y Na con 0.43. El CP 2 aportó el 15.8%, donde la variable IF (0.73) presentó el valor mayor (Figura 3).



**Figura 1.** Agrupamiento de tres especies de *Lupinus* del centro-oriente de Puebla con base en dos componentes principales de los parámetros de diversidad genética (descripción en cuadro 1).  $\triangle$  *L. campestris*,  $\blacksquare$  *L. exaltatus* y  $\bullet$  *L. montanus*.



**Figura 2.** Agrupamiento de siete poblaciones de *Lupinus campestris*, tres de *L. exaltatus* y nueve de *L. montanus* del centro-oriente del estado de Puebla con base en las distancias genéticas de Nei mediante el método de agrupamiento UPGMA.



**Figura 3.** Agrupamiento de siete poblaciones de *Lupinus campestris* con base en los componentes principales CP1 y CP2 de los parámetros de diversidad genética.

### Estructura de la población

En *L. campestris* el índice de fijación a nivel población (FIS) presentó valores positivos en cuatro de los siete loci polimórficos, indicando deficiencia de heterocigotos para estos loci, mientras que los otros tres con valores negativos indican un exceso de heterocigotos. El FIT se mostró de la misma forma y en los mismos loci. La diversidad genética promedio en *L. campestris* dentro de poblaciones fue de 12.2% entre poblaciones. Para esta especie, el número promedio de migrantes fue menor a las otras dos especies analizadas (Cuadro 5, 8 y 10). La distancia genética promedio fue de 0.145, la mayor fue entre Barranca Honda y Poxcoatzingo (0.264), y la menor fue entre Barranca Honda y Laguna Seca (0.019) (Cuadro 6 y Figura 4). La

distancia genética entre las poblaciones tuvo una correlación positiva (0.6246) y significativa ( $p=0.0024$ ) con las distancias geográficas de las poblaciones.

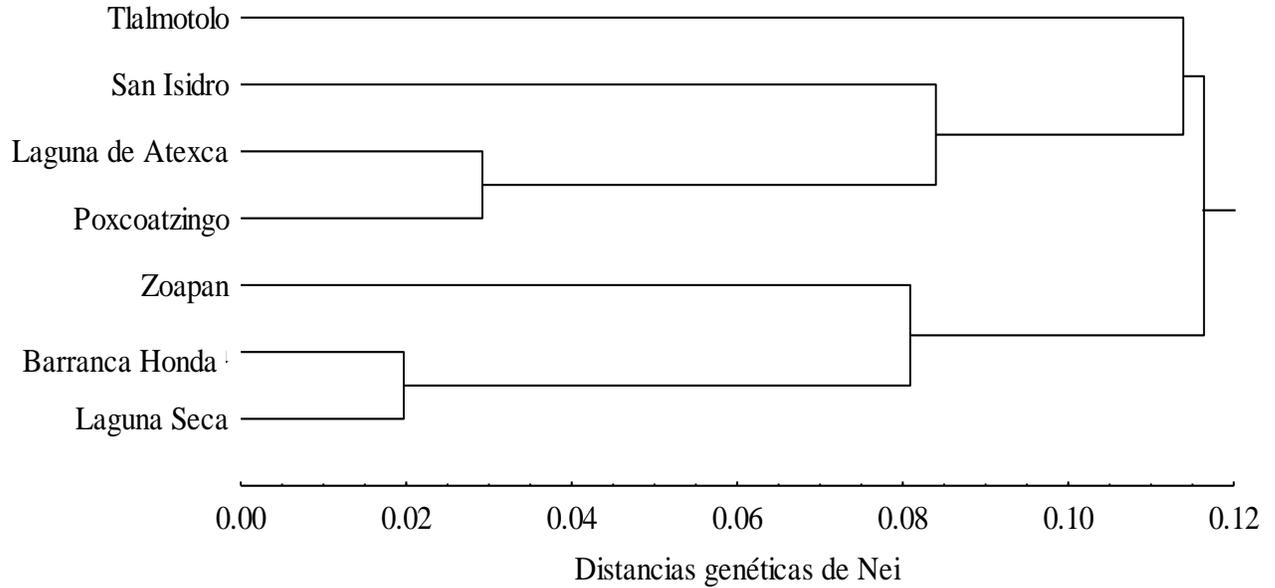
**Cuadro 5.** Valores de los estadísticos de F de Wright y número de migrantes por generación (Nm) para siete loci en nueve poblaciones de *Lupinus campestris*.

<b>Locus</b>	<b>FIS</b>	<b>FIT</b>	<b>FST</b>	<b>Nm</b>
Lup_P2D05	0.063	0.389	0.348	0.468
Lup_P8C06	-0.714	-0.666	0.028	8.678
LA 02	0.197	0.246	0.060	3.916
LA 03	0.540	0.585	0.099	2.275
LA 04	0.112	0.194	0.091	2.497
LA 05	-0.248	-0.112	0.109	2.043
LA 06	-0.437	-0.259	0.123	1.78
Promedio	-0.069	0.053	0.122	3.094

FIS: coeficiente de fijación a nivel de población, FIT: coeficiente de fijación total, FST: coeficiente de fijación entre poblaciones.

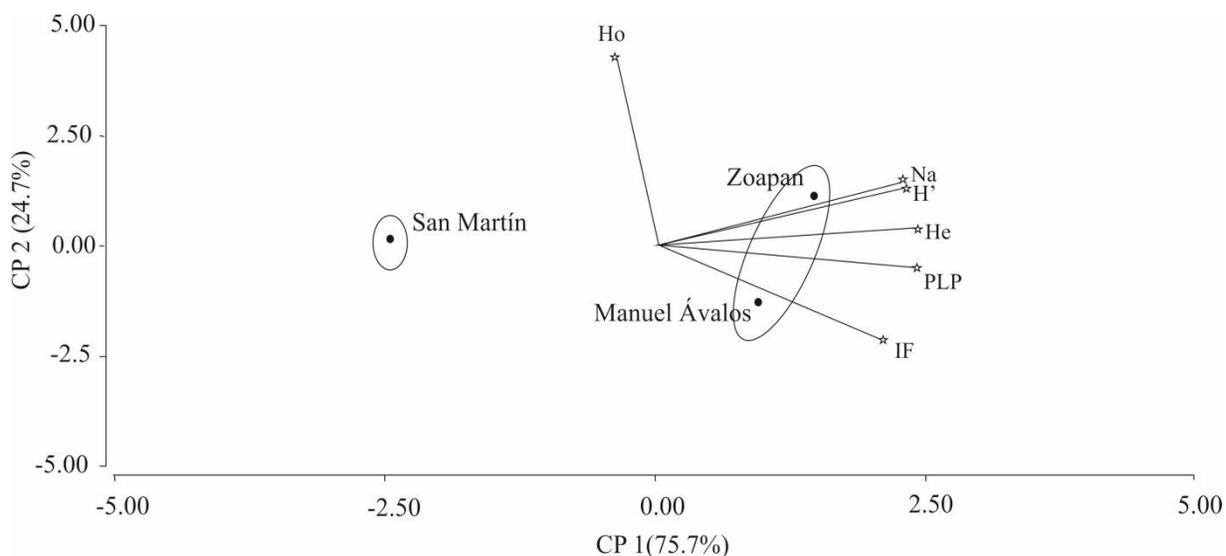
**Cuadro 6.** Distancias genéticas de Nei entre siete poblaciones de *Lupinus campestris*.

	Laguna de Atexca	Laguna Seca	San Isidro	Barranca Honda	Tlalmotolo	Zoapan
Poxcoatzingo	0.029	0.221	0.108	0.264	0.152	0.186
Laguna de Atexca		0.202	0.084	0.0239	0.172	0.184
Laguna Seca			0.126	0.019	0.168	0.080
San Isidro				0.139	0.113	0.116
Barranca Honda					0.190	0.091



**Figura 4.** Agrupamiento de siete poblaciones de *Lupinus campestris* con base en las distancias genéticas de Nei, mediante el método de agrupamiento UPGMA.

En *Lupinus exaltatus* el CP1 explicó 75% y el CP2 24% de la variación. En el primero fue expuesto por He, IF, H', PLP y Na con valores en un intervalo de 0.41 a 0.47, y sólo Ho (0.82) influyó para explicar el CP2 (Figura 5). Los valores de FIS de *L. exaltatus* fueron 0.562 a -0.545. El índice de fijación total (FIT) fue de 0.577 a -0.519. El índice de fijación entre poblaciones (FST) indica una diversidad genética mayor dentro de poblaciones (93.7%) que entre poblaciones (6.3%, FST= 0.063). El número de migrantes por generación (Nm) en promedio para los siete loci fue cinco, sin embargo, hay valores que varían de uno hasta 15 migrantes por marcador (Cuadro 7).



**Figura 5.** Agrupamiento de nueve poblaciones de *Lupinus exaltatus* con base en los componentes principales CP1 y CP2 de los parámetros de diversidad genética.

**Cuadro 7.** Valores de los estadísticos F de Wright y número de migrantes por generación (Nm) para siete loci en tres poblaciones de *Lupinus exaltatus*.

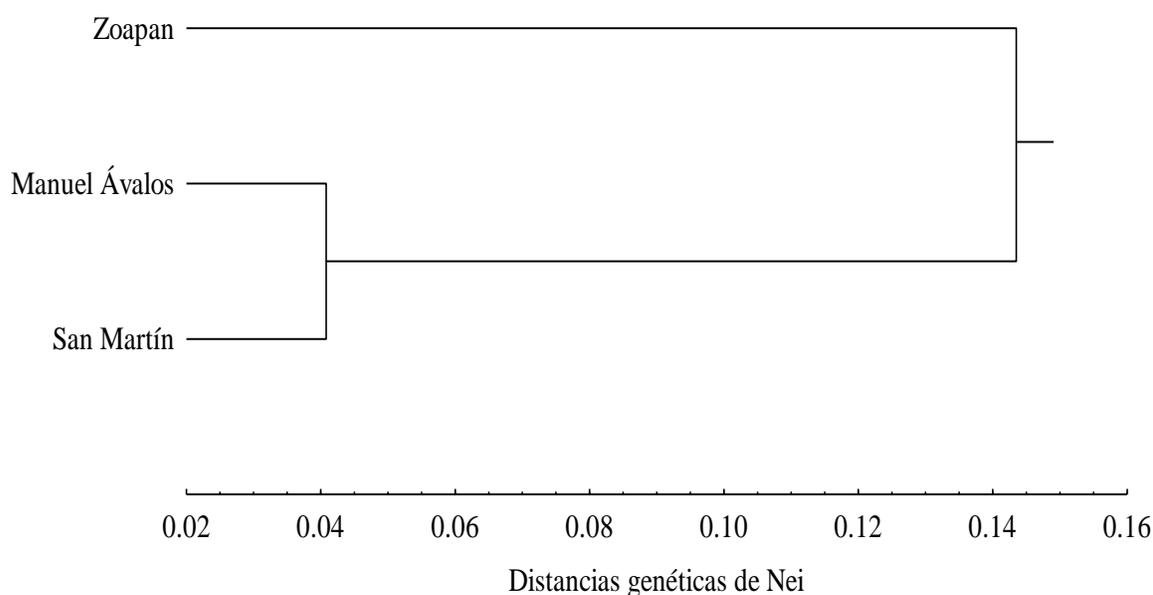
Locus	F <sub>IS</sub>	F <sub>IT</sub>	F <sub>ST</sub>	N <sub>m</sub>
Lup_P205	-0.026	0.120	0.142	1.503
Lup_P8C06	-0.545	-0.519	0.016	14.810
LA 02	0.562	0.577	0.034	6.996
LA 03	0.335	0.365	0.044	5.418
LA 04	0.287	0.318	0.043	5.483
LA 05	-0.318	-0.230	0.066	3.503
LA 06	-0.495	-0.348	0.098	2.290
Promedio	-0.028	0.040	0.063	5.715

F<sub>IS</sub>: coeficiente de fijación a nivel de población, F<sub>IT</sub>: coeficiente de fijación total, F<sub>ST</sub>: coeficiente de fijación entre poblaciones.

La distancia genética promedio entre las poblaciones de *L. exaltatus* fue de 0.109. La mayor distancia se encontró entre Zoapan y las otras dos poblaciones (Cuadro 8 y Figura 6). La correlación genética con las distancias geográficas de las poblaciones fue no significativa.

**Cuadro 8.** Distancias genéticas de Nei entre tres poblaciones de *Lupinus exaltatus*.

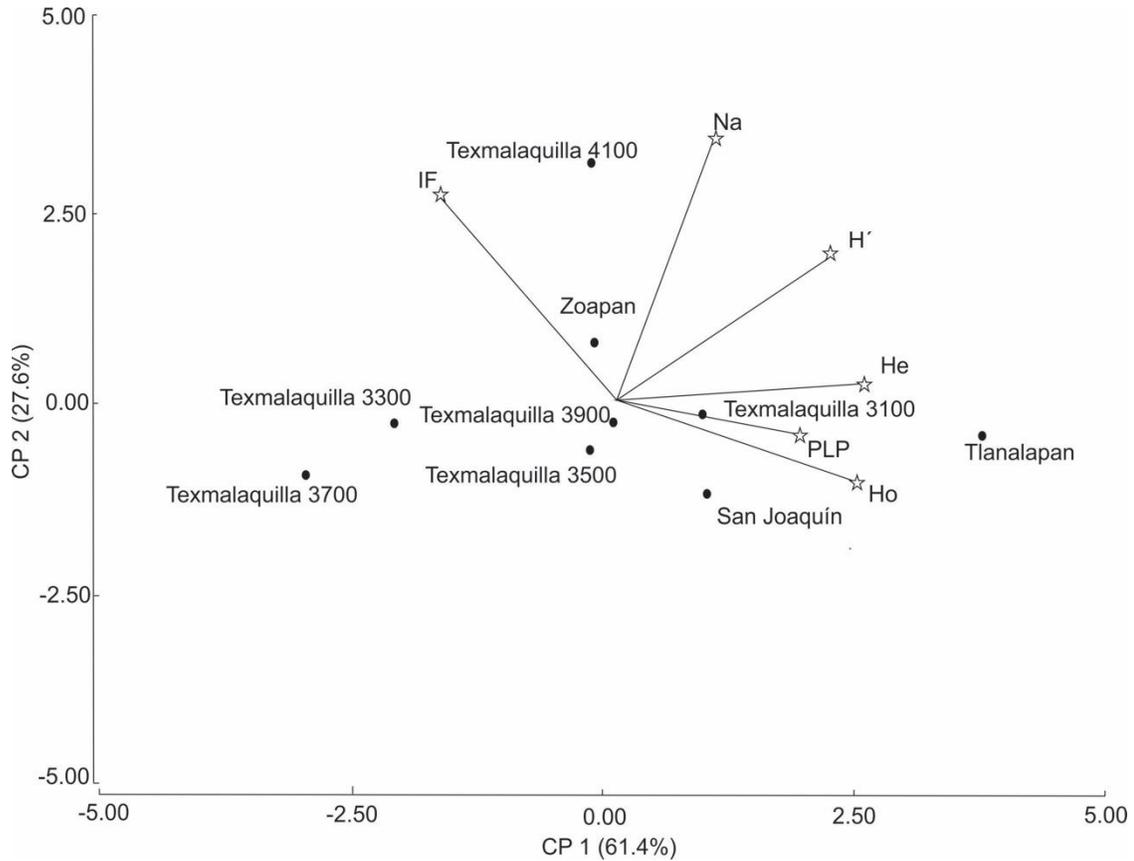
	Manuel Avalos	Zoapan
Zoapan	0.145	
San Martín	0.041	0.143



**Figura 6.** Agrupamiento de tres poblaciones de *Lupinus exaltatus* con base en las distancias genéticas de Nei mediante el método de agrupamiento UPGMA (descripción en Cuadro 4).

Con los dos componentes principales hubo diferencias entre poblaciones de *L. montanus* ( $p < 0.0001$ , Cuadro 4). El componente principal CP1 de los índices de diversidad de *L. montanus* explicó el 61.4% de la variabilidad en tanto que el CP2 el 27.6% (Figura 7).  $H_o$ ,  $H_e$  y  $H'$  (0.94,

0.97 y 0.84, respectivamente) influyeron sobre la explicación del CP1, mientras que Na (0.90) e IF (0.70) en el CP2, finalmente PLP contribuyó en menor proporción (-0.12) en el mismo componente.



**Figura 7.** Agrupamiento de nueve poblaciones de *Lupinus montanus* con base en los componentes principales CP1 y CP2 de los parámetros de diversidad genética (descripción en Cuadro 4).

Los valores del índice de fijación a nivel población ( $F_{IS}$ ) en *L. montanus* mostraron que cinco de siete loci polimórficos, presentaron una abundancia de heterocigotos. El valor mayor del índice diversidad (95.9 %) se encontró dentro de poblaciones y sólo 4.1% entre poblaciones ( $F_{ST}= 0.041$ ) (Cuadro 10), lo cual un grado de diferenciación moderado. En promedio se registraron nueve migrantes por generación en esta especie (Cuadro 9).

**Cuadro 9.** Valores de los estadísticos de F de Wright y número de migrantes por generación (Nm) para siete loci en nueve poblaciones de *Lupinus montanus*.

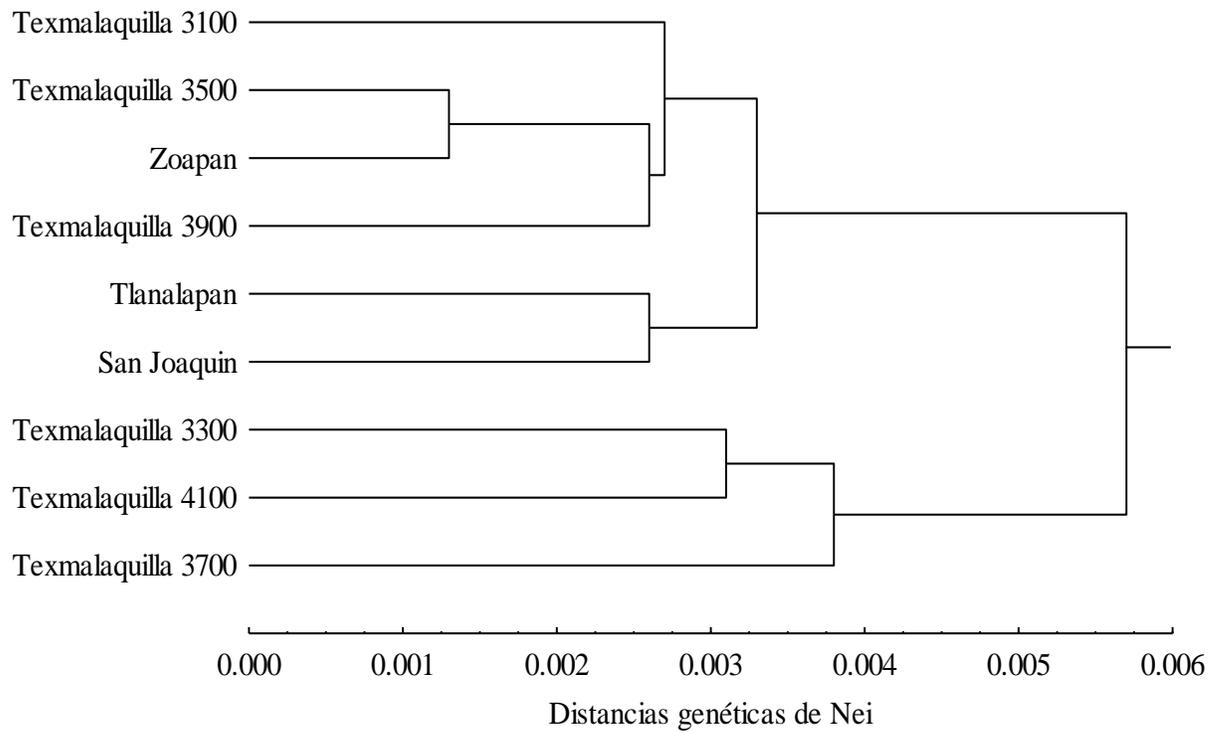
<b>Locus</b>	<b>FIS</b>	<b>FIT</b>	<b>FST</b>	<b>Nm</b>
Lup_P2D05	-0.71	-0.694	0.013	18.268
Lup_P8C06	-0.86	-0.846	0.012	19.911
LA 02	0.00	0.00	0.000	0.000
LA 03	0.00	0.00	0.000	0.000
LA 04	-0.06	-0.007	0.055	4.222
LA 05	-0.05	-0.005	0.044	5.342
LA 06	-0.48	-0.295	0.130	1.664
<b>Promedio</b>	-0.43	-0.369	0.041	9.881

FIS: coeficiente de fijación a nivel de población, FIT: coeficiente de fijación total, FST: coeficiente de fijación entre poblaciones.

Para *L. montanus*, la distancia promedio entre poblaciones fue 0.0121. La menor diferencia en la distancia fue entre Zoapan y Texmalaquilla 3500 y la distancia mayor se encontró entre Tlanalapan y Texmalaquilla 3700 (Cuadro 10 y Figura 8). La correlación entre las distancias genéticas con la distancia geográfica de las poblaciones fue no significativa.

**Cuadro 10.**Distancias genéticas de Nei entre nueve poblaciones de *Lupinus montanus*.

	T 3100	T 3300	T 3500	T 3700	T 3900	4100	Tlanalapan	San Joaquín
T 3300	0.0273							
T 3500	0.0084	0.0061						
T 3700	0.0318	0.0038	0.0085					
T 3900	0.0027	0.015	0.0026	0.0166				
T 4100	0.0253	0.0031	0.0076	0.0095	0.0154			
Tlanalapan	0.0034	0.0326	0.0129	0.0395	0.0074	0.0286		
S. Joaquín	0.0033	0.0184	0.0049	0.0246	0.0036	0.0164	0.0026	
Zoapan	0.011	0.0057	0.0013	0.0104	0.0054	0.0058	0.0126	0.0045



**Figura 8.** Agrupamiento de nueve poblaciones de *Lupinus montanus* con base en las distancias genéticas de Nei mediante el método de agrupamiento UPGMA.

## Discusión

México es considerado un centro de diversificación para algunas de las especies del género *Lupinus* y gracias a esta radiación evolutiva se observa una variabilidad amplia que ha permitido el desarrollo de especies herbáceas o arbustivas; perennes o anuales, con modos de fecundación alogama y autógena, y diferentes características foliares que pueden modificarse con el ambiente (Drummond, 2008). Esta variación morfológica supone una alta diversidad genética entre y dentro de las poblaciones de especies de *Lupinus* presentes, la cual es necesario conocer para la selección de genotipos adecuados para rehabilitación ecológica u otros usos (Liu *et al.*, 2008).

En las tres especies en estudio, la diversidad genética estimada resultó significativa, y fue mayor dentro de cada población, aun cuando algunas de ellas presenten pocos individuos, aunque si se consideran especies invasivas se esperaría una pérdida de dicha variación por causa del efecto fundador y la deriva génica (Gleeson *et al.*, 2006). Sin embargo, es posible que la variación alta estimada sea efecto del flujo genético entre poblaciones cercanamente establecidas y por su capacidad para completar un ciclo reproductivo en un lapso menor a dos años, lo que le confieren alta capacidad de recombinación genética en poco tiempo (Michaels *et al.*, 2008).

El nivel de polimorfismo fue menor, principalmente en *L. montanus*, que el 98% revelado en otras especies de *Lupinus* crecidas en otras regiones del mundo, como *L. albus*, *L. angustifolius* y *L. luteus*, donde emplearon ISSR y RAPD (Yorgancilar *et al.*, 2009), y de *L. montanus* que es de la misma región de estudio donde Ferval *et al.* (2013) reportan un 97 %, también con ISSR. Sin embargo, en *L. alopecuroides* Jacq. se observaron valores promedio de 14.5 % (Vásquez *et al.*, 2016); en *L. mutabilis* de 58.8 % (Chirinos-Arias *et al.*, 2015); y en *L.*

*elegans* Kunth un 95.8 %, empleando RAPD como marcador molecular (Lara-Cabrera *et al.* 2009), el cual es considerado dominante y presenta un polimorfismo medio-alto (Winter y Kahl, 1995). El nivel de polimorfismo revelado en las especies de *Lupinus* estudiadas es similar al reportado en especies del género *Phaseolus*, donde ocurrió la presión de selección para la domesticación (Avendaño-Arrazate *et al.*, 2004; Lioi y Lotti, 1996).

El menor nivel de polimorfismo revelado en *L. montanus* que en *L. campestris* y *L. exaltatus*, y la similitud morfológica que presentaron las poblaciones del municipio de Texmalaquilla en el gradiente altitudinal probado, puede indicar la capacidad de plantas de sitios bajos (3100) para colonizar hacia otros sitios de mayor altitud (4100) y viceversa, debido a la similitud de alelos comunes. El número de alelos determinados para *L. montanus*, fue similar al registrado para *L. elegans* (1.95) (Lara-Cabrera *et al.*, 2009), pero menor a los de *L. campestris* y *L. exaltatus* de este estudio. Sin embargo, Vásquez *et al.* (2016) refirieron para *L. alopecuroides* de dos a seis alelos por locus, mientras que Li *et al.* (2016) registran un valor de 4.98 en *L. polyphyllus* Lindl., por lo tanto, las poblaciones de las tres especies muestreadas resultaron con menos alelos. La diversidad genética ( $H_o$  y  $H_e$ ) de *L. montanus* fue baja en comparación con las otras especies analizadas, excepto la población de Tlanalapan que fue más diversa ( $H_o=0.42$ ,  $H_e=0.25$ ). Aun cuando el valor de  $H_o$  fue bajo, este es mayor que en *L. alopecuroides* (0.144) (Vásquez *et al.*, 2016). Sin embargo, la población de Tlanalapan (Cuadro 4) presenta valores altos de variación genética, la cual puede estar influenciada por la menor altitud donde se localiza en relación con las otras poblaciones, y muestra una cercanía genética con la población de San Joaquín (Figura 4), la cual es la población más cercana. Estos valores de heterocigosis superiores en comparación con las otras poblaciones también podrían deberse

a factores ecológicos, como la presencia de los polinizadores en el sitio, lo cual contribuye a una mayor diversidad genética.

La diversidad genética, en promedio, fue alta en *Lupinus campestris* y *L. exaltatus* (Cuadro 4), en comparación con leguminosas domesticadas, donde la proporción de heterocigotos fue menor ( $H_o = 0.16$  a  $0.48$  y  $H_e = 0.18$  a  $0.27$ ) (Mercati *et al.*, 2013).  $H_e$  y  $H_o$  dependen de la forma de reproducción de las poblaciones de *Lupinus* (Święcicki *et al.*, 2015). Presenta reproducción sexual y asexual (Święcicki *et al.*, 2015). La polinización es de forma autógena y alógama (Manning, 1995). En forma alógama, en *Lupinus* el 83 % de la polinización depende de *Apis mellifera* L (Manning, 1995), los otros polinizadores del orden Hymenoptera son *Exoneura bicolor* Smith y los géneros *Leioproctus* y *Lasioglossum* (Stout *et al.*, 2002). La polinización autógena disminuye la proporción de heterocigotos, se presenta cuando no hay una sincronización durante la floración de inflorescencias entre plantas diferentes por efecto del fotoperiodo y de las horas frío requeridas para el desarrollo de la inflorescencia (Adhikari *et al.*, 2008). La reproducción asexual en los *Lupinus* se da a través de rizomas, fragmentos y brotes de raíz (Antos y Halpern, 1997), así como en tallos. Esta última se observó en *L. montanus*, y podría ser la causa de los valores bajos de  $H_e$  y  $H_o$  en esta especie en relación a los de *L. campestris* y *L. exaltatus* (Cuadro 4). El índice de fijación en cada uno de los taxa presentó valores negativos, lo que indica una deficiencia de homocigotos, lo cual no se esperaría en poblaciones pequeñas que debieran poseer un índice de endogamia alto (Iqbal *et al.*, 2012).

En *L. exaltatus* (Cuadro 4) donde las poblaciones son pequeñas (aproximadamente 100 plantas totales en las tres poblaciones), pero que presentan una alta heterocigocidad, puede indicar una repoblación reciente. En *L. montanus* el índice fue bajo con un promedio poblacional menor a 100 individuos aunque en algunos sitios era mayor a 200 plantas (Zoapan), y en

Texmalaquilla a 4100 m, la densidad poblacional fue de 2000 plantas/ha. Este bajo índice puede ser el reflejo del bajo nivel de polimorfismo revelado y frecuencia alélica. En *L. elegans* Kunth los valores fueron también bajos (0.190 a 0.21) (Lara-Cabrera *et al.*, 2009).

Los CP1 y CP2 mostraron diferencias significativas entre poblaciones (Cuadro 4), pero no entre especies. Las poblaciones de *L. montanus* definieron claramente un grupo separado de las otras poblaciones de las diferentes especies (Figura 1). En esta especie las poblaciones dentro del intervalo altitudinal menor ubicado en el municipio de Texmalaquilla (Figura 2 y 8), no se diferencian genéticamente de las poblaciones de San Joaquín y Tlanalapan, las cuales se agrupan entre sí (Figura 8) debido a la cercanía geográfica.

En cuanto a *L. exaltatus*, cabe resaltar que la población de Zoapan, se agrupa con las poblaciones de *L. campestris* indicando una posible similitud genética entre especies (Figura 2). Las poblaciones cercanas geográficamente de *L. exaltatus* se agrupan (Figura 5), aun cuando no hay una correlación con las distancias genéticas es decir, se esperaría un agrupamiento entre Zoapan-Manuel Ávalos por la cercanía geográfica, pero la similitud es entre Manuel Ávalos-San Martín (Figura 2).

En *L. campestris* las poblaciones cercanas no se agrupan de acuerdo a la distancia genética y geográfica (Figura 3) y es similar a lo mencionado en un estudio con leguminosas empleando un análisis de componentes principales; el agrupamiento observado fue diferente entre el morfológico y el genético, indicando que la variación morfológica dentro de las poblaciones se atribuye a la variación ambiental, lo que origina fenotipos con adaptación específica. La falta de agrupamiento en *L. campestris* (Figura 2 y 3) de acuerdo a su distribución

geográfica, refleja la amplitud de la variación genética existente en este grupo de poblaciones, de tal forma que con la dispersión observada, es posible establecer grupos con base en sus áreas de adaptación climática, más que por localidades o entidades de origen (Avendaño-Arrazate *et al.* 2004).

En la estructura genética, el índice de fijación a nivel población (F<sub>IS</sub>) para *L. montanus* mostró cinco loci polimórficos de los siete (Cuadro 9), los cuales presentan valores negativos indicando un exceso de heterocigotos (García-Gómez *et al.*, 2014; Viveros-Viveros *et al.*, 2010). En *L. campestris* sólo tres de los siete valores son negativos (Cuadro 5) y en *L. exaltatus* cuatro de los siete loci fueron negativos (Cuadro 7). Los valores del índice de fijación total (F<sub>IT</sub>) de *L. montanus* fueron negativos, con un promedio de -3.69, diferente a las otras dos especies con promedios positivos, aspecto que indica los posibles indicios de endogamia a nivel de todas las poblaciones de *L. campestris* y *L. exaltatus* (Viveros-Viveros *et al.*, 2010). En relación con los F<sub>ST</sub>, *L. campestris* presenta un valor promedio de 0.122, *L. montanus* de 0.041 y *L. exaltatus* de 0.063, consideradas poco diferenciadas, todos ellos menores a *L. alopecuriodes* (0.65) (Vásquez *et al.*, 2016) y semejante a un F<sub>ST</sub> de 0.19 para *L. polyphyllus* (Li *et al.*, 2016). Cabe destacar que en *P. vulgaris*, se registró un valor de 0.289 (Fisseha *et al.*, 2016), para *Medicago sativa* L. de 0.0048 (Flajoulot *et al.*, 2005), ambas especies domesticadas, en las cuales se esperarían valores mayores, indicando diferenciación o fuertemente diferenciadas, al menos para *P. vulgaris*, es decir, valores superiores a las especies de *Lupinus*, debido al proceso de domesticación. Valores bajos de F<sub>ST</sub> indican una moderada diferenciación genética entre poblaciones para ambas especies (Yeh, 2000), como es el caso de especies arbóreas de *Pinus johannis* M. F. Robert-Passini, con un índice de fijación entre poblaciones de 0.062 (García-Gómez *et al.*, 2014), y *P. hartwegii* Lindl. de 0.111 (Viveros-Viveros *et al.*, 2010).

Las poblaciones de *Lupinus* se encuentran aisladas y como en otras especies ya mencionadas, deberían estarse diferenciando genéticamente; sin embargo, el número de migrantes por generación en las tres especies presentó valores más altos del mínimo lo que evita la diferenciación entre poblaciones producto de la deriva genética (Hartl y Clark, 2007). En especies como *Pinus hartwegii* ( $Nm=2.002$ ) (Viveros-Viveros 2010), *P. johannis* ( $Nm=4$ ) (García-Gómez *et al.*, 2014) en *Dioon holmgrenii* De Luca, Sabato & Vázq. Torres ( $Nm= 8.39$ ) (Velasco-García, 2016a), éste último fue mayores a las tres especies. Sin embargo, en el caso de *L. campestris* en uno de los locus el valor no llega al mínimo, por lo cual tiene el riesgo de que las poblaciones se diferencien totalmente. El valor bajo en *L. campestris* podría ser producto del intercambio genético reducido, además de la fragmentación (Velasco-García *et al.*, 2016b) por un aislamiento reproductivo a falta de polinizadores específicos de la especie o a la autofecundación. Esto parece ser un aislamiento físico y temporal, ya que las poblaciones mueren y desaparecen por ciertos años y vuelven a aparecer una vez que ocurren incendios, los que se presentan en diferentes años en las poblaciones muestreadas. Las plantas en poblaciones pequeñas pueden acoplarse con individuos emparentados, aumentando la frecuencia de apareamiento consanguíneo y permitiendo la expresión de la carga endogámica (Ellstrand y Elam, 1993; Whitlock, 2000).

Las correlaciones significativas entre las distancias genéticas y las geográficas, están relacionadas con la diferenciación genética, debido al aislamiento por distancia, como lo reportaron Li *et al.* (2016) para *L. polyphyllus*, caso similar para *L. campestris* en este estudio. Las agrupaciones que se presentaron considerando las distancias genéticas de Nei, aunque geográficamente no se encuentran cerca, posibilita la movilidad de germoplasma clave para un programa de mejora (Iqbal *et al.*, 2012).

La distribución en subpoblaciones de una especie y la desaparición periódica, así como su recolonización, son aspectos comunes de metapoblaciones (Odum y Warret, 2005; Begon *et al.*, 1999). La variabilidad genética que presenta cada población del género *Lupinus* debe estar asociada a la frecuencia de desaparición del sitio, mayormente las de *L. campestris*, y que después son recolonizados por inmigración procedentes de parches o subpoblaciones de mayor calidad, lo que depende del número de migrantes, aspecto que no es problema para las especies de *Lupinus* que fueron estudiadas. Las poblaciones pequeñas pueden ser recolonizadas por individuos de algún parche cercano, siempre y cuando haya un corredor navegable que los conecte. Si la colonización y la extinción se equilibran en un área amplia del paisaje, el tamaño total de la población permanecerá casi invariable (Odum y Warret, 2005; Begon *et al.*, 1999). En consecuencia, la supervivencia de la especie dependerá de la dispersión (capacidad para migrar de un parche a otro) y de los nacimientos dentro del parche (Vargas *et al.*, 2003). Sin embargo, esta dinámica en las metapoblaciones de las especies de *Lupinus* puede conducir a efectos de cuello de botella (Rocha *et al.*, 1997), acelerando el proceso de deriva o de diferenciación genética, como en caso de *L. campestris*.

## Conclusiones

El uso de microsatélites como marcador molecular reveló niveles de polimorfismo e índices de diversidad de moderados a altos entre especies y entre las poblaciones de las especies de *Lupinus* estudiadas. En *Lupinus campestris*, donde el número de individuos en las poblaciones es pequeño, la frecuencia y la probabilidad de fijación de alelos deletéreos recesivos aumenta.

La mayor diversidad se identificó dentro de las poblaciones en las tres especies. La heterocigosidad alta observada a nivel de población indica el cruzamiento entre individuos no emparentados. Lo anterior sugiere que a través de la aplicación de métodos de mejoramiento por selección puede incrementarse la frecuencia de caracteres deseables en un programa de mejoramiento.

La migración es alta en *L. montanus* y *L. exaltatus*, lo que evita la diferenciación entre las poblaciones.

A través de las distancias genéticas entre especies, se generaron dos grupos, uno con todas las poblaciones de *L. montanus* y el otro con las poblaciones de *L. campestris* y *L. exaltatus*, indicando una similitud genética entre estas dos últimas.

## Literatura Citada

- Adhikari, K., B. Buirchell, and M. Sweetingham. 2008. Effect of vernalisation on various lupin species at different time intervals. *In*: J. A. Palta and J. B. Berger. (eds.). *Lupin for Health and Wealth. Proceedings of the 12<sup>th</sup> International Lupin Conference*. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. pp: 387-390.
- Alderete-Chavez, A., V. Espinosa-Hernández, N. Cruz-Landero, E. Ojeda-Trejo, and H. Brito-Vega. 2009. Evaluation of two *Lupinus* species native from central Mexico in relation with solubilization of nitrogen phosphorus and potassium in an andosol. *Journal of Applied Sciences* 9(8): 1583-1587.
- Albrecht, E., D. Zhang, R. A. Saftner, and J. R. Stommel. 2012. Genetic diversity and population structure of *Capsicum baccatum* genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59: 517-538.
- Antos, J., and C. Halpern. 1997. Root system differences among species: implications for early successional changes in forests of western Oregon. *The American Midland Naturalist* 138(1): 97-108.
- Applied Biosystem. 2005. GeneMapper® Software Version 4.0 Reference and Troubleshooting Guide. Applied Biosystem Inc. Foster City, CA. 82 p.
- Avendaño Arrazate, C. H., P. Ramírez Vallejo, F. Castillo González, J. L. Chávez Servia, y G. Rincón Enríquez. 2004. Diversidad isoenzimática en poblaciones nativas de frijol negro. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27(1): 31-40.
- Azofeifa-Delgado, A. 2006. Uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales del trópico. *Agronomía Mesoamericana* 17(2): 221-242.

- Barrientos D., L., A. Montenegro B., y I. Pino N. 2001. Evaluación de la fijación simbiótica de nitrógeno de *Lupinus albus* y *Lupinus angustifolius* en un andisol vilcun del sur de Chile. *Terra* 20: 39-44.
- Begon, M., J.L. Harper, y C. R. Townsend. Ecología. 3<sup>a</sup> ed. Omega, España. pp: 648-649.
- Bermúdez-Torres, K., N. Robledo-Quintos, J. Martínez-Herrera, A. Tei, and W. Michael. 1999. Biodiversity of the genus *Lupinus* in México. *In*: E. van Santen, M. Wink, S. Weissmann and P. Roemer (eds.). *Lupin, an Ancient Crop for the New Millenium*. Proceeding of the 9<sup>th</sup> International Lupin Conference, Klink/Müritz. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. pp: 294-296.
- Chirinos-Arias, M. C., J. E. Jiménez, y L. S. Vilca-Machaca. 2015. Análisis de la variabilidad genética de Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) usando marcadores moleculares ISSR. *Scientia Agropecuaria* 6(1): 17-20.
- Clements, J., L. Prilyuk, J. Quealy, and G. Francis. 2008. Interspecific crossing among the new world Lupin species for *L. mutabilis* crop improvement. *In*: J. A. Palta, and J. B. Berger (eds.). *Lupins for Health and Wealth*. Proceedings of the 12th International Lupin Conference. Fremantle, Western Australia. pp: 324–327.
- Conover, W. J., and R. L. Iman 1981. Rank transformation as a bridge between parametric and nonparametric statistics. *The American Statistician* 35: 124-129.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. González, M. Tablada, y C.W. Robledo. 2015. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

- Drummond, S. C. 2008. Diversificación of *Lupinus* (Leguminosae) in the western New World: Derived evolution of perennial life history and colonization of montane habitats. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48: 408-421.
- Dunn, D. B. 1984. Cytotaxonomy and distribution of New World lupin species. *Proceeding of the 3th International Lupin Conference*. La Rochelle, Francia. pp: 68-85.
- Eastwood, R. J., C. S. Drummond, M. T. Schifino-Wittmann, and C. E. Hughes. 2008. Diversity and evolutionary history of *Lupinus* insights new phylogenies. *In*: J. A. Palta, and J. B. Berger. *Lupins for Health and Wealth*. *Proceedings of the 12th International Lupin Conference*. Fremantle, Western Australia. pp: 346-354.
- Ellstrand, N. C., and D. R. Elam 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 217-242.
- 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.
- Fisseha, Z., K. Tesfaye, K. Dagne, M. W. Blair, J. Harvey, M. Kyallo, and P. Gepts. 2016. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm of Ethiopia as revealed by microsatellite markers. *African Journal of Biotechnology* 15(52): 2824-2847.

- Flajoulot, S., J. Ronfort, P. Baudouin, P. Barre, T. Hugué, C. Huyghe, and B. Julier. 2005. Genetic diversity among alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars coming from a breeding program, using SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics* 111: 1420-1429.
- García-Gómez, V., C. Ramírez-Herrera, C. Flores-López, y J. López-Upton. 2014. Diversidad y estructura genética de *Pinus johannis*. *Agrociencia* 48: 863-873.
- Gleeson, D., H. Harman, and T. Amstrong. 2006. Genetics of invasive species in New Zealand. *In: R. B. Allen and W.G. Lee Biological Invasions in New Zealand. Ecological Studies* 186. Springer, Berlin. pp: 103-118.
- Goldstein, D. B., A. Ruiz-Linares., L. L. Cavalli-Sforza, and M. W. Feldman. 1995. Genetic absolute dating based on microsatellites and the origin of modern humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92: 6723–6727.
- Gómez-Romero, M., J. C. Soto-Correa, J. A. Blanco-García, C. Sáenz-Romero, J. Villegas, y R. Lindig-Cisneros. 2012. Estudio de especies de pino para restauración de sitios degradados. *Agrociencia* 46: 795-807.
- Hartl, D. L., and A. G. Clark. 2007. *Principles of Population Genetics*. 4th ed. Sinauer Associates Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. 651 p.
- Iqbal, J. M., S. Mamidi, R. Ahsan, S. F. Kinidian , C. J. Coyne, A. A. Hamama, S. S. Narina, and H. L. Bhardwaj. 2012. Population structure and disequilibrium in *Lupinus albus* L. germplasm and its implication for association mapping. *Theoretical Applied Genetics* 125: 517-530.
- Kruskal, W. H., and W. A. Wallis. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the Statistical Association* 47: 583-621.

- Lagunes-Espinoza, L. 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 en *Lupinus* spp. en la región centro-oriente del estado de Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana* 99: 93-90.
- Lagunes-Espinoza, L.C., M. Pablo-Pérez, E. M. Aranda-Ibáñez, J. López-Upton, y J. Ramos-Juárez. 2013. Potencial nutritivo para alimentación animal de leguminosas silvestres del género *Lupinus* del estado de Puebla. *Agricultura Sostenible* 9: 2979-2988.
- Lara-Cabrera, S. I., N. Alejandre-Melena, E. I. Mesina-Sánchez, y R. Lindig-Cisneros. 2009. Diversidad genética de poblaciones de *Lupinus elegans* Kunth, implicaciones para la restauración ecológica. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(2): 79-86.
- Li, S. L., A. Vasemägi, and S. Ramula. 2016. Genetic variation and population structure of the garden escaper *Lupinus polyphyllus* in Finland. *Plant System Evolution* 302: 399-407.
- Lioi, L., and C. Lotti. 1996. Allozyme variability in cultivated lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative* 39: 249-250.
- Liu, M. H., X. Y. Chen, X. Zhan, and D. W. Shen. 2008. A population genetic evaluation of ecological restoration with the case study on *Cyclobalanopsis myrsinaefolia*. *Plant Ecology* 197: 31-41.
- Manning, R. 1995. Honeybee pollination: Technical data for potential honeybee-pollinated crops and orchards in Western Australian. Department of Agriculture and Food. South Perth, Western Australian. 41 p.

- Marshall, D. R., and A. H. D. Brown. 1975. Optimum sampling strategies in genetic conservation. *In*: O.H. Frankel and J.G. Hawkes (eds.). *Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow*. Cambridge University Press. London. pp: 53-80.
- Mercati, F., M. Leone, A. Lupini, A. Sorgana, M. Bacchi, M. R. Abenavoli, and F. Sunceri. 2013. Genetic diversity and population structure of a common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) collection from Calabria (Italy). *Genetic Resources Crop Evolution* 60: 839-852.
- Michaels, H. J., X. J. Shi, and R. J. Mitchell. 2008. Effects of population size on performance and inbreeding depression in *Lupinus perennis*. *Oecologia* 154: 651-661.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *The American Naturalist* 106: 283-292.
- Nicolăi, M., M. Cantet, V. Lefebvre, A. M. Sage-Palloix, and A. Palloix. 2013. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 2375-2390.
- Odum, E. P., y G. W. Warret. 2006. *Fundamentos de Ecología*. 5ta ed. Tomson, México. pp: 266-268.
- Pablo-Pérez, M., L. C. Lagunes-Espinosa, 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.
- Parra-González, L. B., K. S. C. Straub, J. L. Dolyle, P. E. Mora-Ortega, H. E. Salvo-Garrido, and I. J. Maureira-Butler. 2010. Development of microsatellite markers in *Lupinus luteus* (Fabaceae) and cross-species amplification in other lupine species. *American Journal of Botany* e72-e74.

- Planchuelo-Ravelo, A. M., and M. Wink. 1993. Alkaloid composition of *Lupinus albus* (Fabaceae) from south America. *Verlag der Zeitschrift für Naturforsch* 48c: 414-416.
- Rocha, O., G. Macaya, and J. Bardoín. 1997. Causes of local extinction and recolonization, determined by 3 years of monitoring wild populations of *Phaseolus lunatus* L. in the Central Valley of Costa Rica. *Plant Genetic Resources News* 112: 44-48.
- Ruiz-López, M. A., P. M. García-López, R. Rodríguez-Macías, J. F. Zamora Natera, M. L. Isaac-Virgen, and M. Múzquiz. 2010. Mexican wild lupines as a source of quinolizidine alkaloids of economic potential 29: 159-164.
- Shannon C., E., and W. Weaver 1949. *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana, IL. 35 p.
- Sousa S., M., y A. Delgado S. 1998. Leguminosas mexicanas: fitogeografía, endemismo y orígenes. *In: T. P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fa. Diversidad Biológica de México: Orígenes y Distribución*. Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp: 449-500.
- Stout, J .C., A. R. Kells, and D. Goulson. 2002. Pollination of the invasive exotic shrub *Lupinus arboreus* (Fabaceae) by introduced bees in Tasmania. *Biological Conservation* 106: 425-434.
- Święcicki, W., M. Kroc, and K. A. Kamel. 2015. Lupins. *In: Grain Legumes, Handbook of Plant Breeding* 10. Springer Science Business Media New York. pp. 179-218.

- Thul, S. T., M. P. Darokar, A. K. Shasany, and S. P. Khanuja. 2012. Molecular profiling for genetic variability in *Capsicum* species based on ISSR and RAPD markers. *Molecular Biotechnology* 51: 137-147.
- Vásquez D., L. A., H. Balslev, M. M. Hansen, P. Sklenar, and K. Romoleroux. 2016. Low genetic variation and high differentiation across sky island populations of *Lupinus alopecuroides* (Fabaceae) in the northern Andes. *Alpine Botany* 126: 135-142.
- Velasco-García, M. V. 2016a. Estructura poblacional y diversidad genética de *Dioon holmgrenii*. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx. 77 p.
- Velasco-García, M. V., J. I. Valdez-Hernández, C. Ramírez-Herrera, M. L. Hernández-Hernández, J. López-Upton, L. López-Mata, y H. López-Sánchez. 2016b. Estructura, heterogeneidad de estadios y patrón de dispersión espacial de *Dioon holmgrenii* (Zamiaceae). *Botanical Sciences* 94: 75-87.
- Whitlock, M. C. 2000. Fixation of new alleles and the extinction of small populations: drift load, beneficial alleles, and sexual selection. *Evolution* 54: 1855-1861.
- Wolko, B., J. C. Clements, B. Naganowska, M. N. Nelson, and H. Yang. 2011. *Lupinus*. In: B. Kole. *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Legume Crops and Forages*. Springer-Verlag, Berlin. pp: 154-205.
- Vargas, E. M., E. Castro, G. Macaya, y O. J. Rocha. 2003. Variación del fruto y semillas en 38 poblaciones silvestres de *Phaseolus lunatus* (Fabaceae) del Valle Central de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 53: 707-724.
- Viveros-Viveros, H., B. L. Tapia-Olivares, C. Sáenz-Romero, J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Santacruz-Valera, y G. Ramírez-Valverde. 2010. Variación isoenzimática de

- Pinus hartwegii* Lindl. en un gradiente altitudinal en Michoacán México. *Agrociencia* 44: 723-733.
- Votava, E. J., J. B. Baral, and P. W. Bosland. 2005. Genetic diversity of chile (*Capsicum annuum* var. *annuum* L.) landraces from northern New Mexico, Colorado, and Mexico. *Economic Botany* 59: 8-17.
- Winter, P., and G. Kahl. 1995. Molecular marker technology for plant improvement. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 11: 438-448.
- Wright, S. 1943. Isolation by distance. *Genetics* 28: 114–138.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15: 323-354.
- Wright S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19:395-420.
- Yang, H., M. W. Sweetingham, W. A. Cowling, and P. M. C. Smith. 2001. DNA fingerprinting based on microsatellite-anchored fragment length polymorphisms, and isolation of sequence-specific PCR marker in lupin (*Lupinus angustifolius* L.) *Molecular Breeding* 7: 203-209.
- Yeh, F. C. 2000. Population genetics. *In*: A. Young, D. Boshier, and T. Boyle (eds.). *Forest Conservation Genetics: Principles and Practice*. CSIRO Publishing & CABI Publishing. Collingwood, Australia. pp: 21-37.
- Yeh, F., R. Yang, and T. Boyle. 1997. Popgene. Versión 1.31. Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis. Quick User Guide. University of Alberta and Centre for Forestry Research. Alberta, Canada. 28 p.

Yorgancilar, M., M. Babaoglu, E. E. Hakki, and E. Ataly. 2009. Determination of the relations among Old World Lupin (*Lupinus* sp.) species using RAPD and ISSR marker. *African Journal of Biotechnology* 8(5): 3524-3530.

Zapata H., I. 2015. Acumulación de materia seca y fijación de nitrógeno en diferentes especies del género *Lupinus* cultivadas en suelos de Zapopan, Jalisco. Tesis de Maestría. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México. 80 p.

**CAPITULO III**  
**VARIACIÓN MORFOLÓGICA DEL GÉNERO *Lupinus* EN**  
**ENSAYOS DE CAMPO Y JARDÍN**

**Resumen**

México ha sido considerado como centro de diversificación para el género *Lupinus*, y por sus propiedades nutrimentales y ecológicas es de gran importancia para el ser humano. El análisis detallado de las características agronómicas favorecerá la implementación de estrategias hacia la domesticación del grupo. *Lupinus montanus* Kunth, *L. campestris* Schltl. & Cham., *L. exaltatus* Zucc., *L. barkeri* Lindl. y *L. marschallianus* Sweet son especies nativas de la región centro-oriente de Puebla. Las poblaciones de cada especie fueron recolectadas en el periodo de verano a otoño en los años 2013 y 2014. Se estableció un ensayo de jardín (a menor elevación que las poblaciones naturales) y de campo con el objetivo de evaluar las diferencias de supervivencia y el rendimiento en características agronómicas como altura, biomasa, además de las reproductivas entre especies y poblaciones de las cinco especies. Se obtuvo mayor supervivencia en campo con un valor de 43.3 vs. 20.4 %, en jardín. Las diferencias fueron significativa en la mayoría de las variables. *L. campestris* y *L. exaltatus* son las especies con mejores características agronómicas y de rendimiento de semillas, lo cual las hace promisorias para su aprovechamiento y conservación.

Palabras clave: *Lupinus*, supervivencia, características agronómicas, región centro-oriente de Puebla.

## Abstract

Mexico has been considered a diversification center for the genus *Lupinus*, which is of great importance for the human being due to its nutritional and ecological properties. The detailed analysis of the agronomic characteristics will favor the implementation of strategies towards the domestication of the group. *Lupinus montanus* Kunth, *L. campestris* Schlitt. & Cham., *L. exaltatus* Zucc., *L. barkeri* Lindl. and *L. marschallianus* Sweet are native species from the central-eastern region of Puebla. The populations of each species were collected in the summer to autumn period in 2013 and 2014. A garden trial (at a lower elevation than natural populations) and a field trial, were established with the aim to assess differences in survival and yield in agronomic characteristics between species and populations of the five species. Greater survival was obtained in field with a value of 43.3 vs. 20.4%, in the garden. Differences were significant in most variables. *L. campestris* and *L. exaltatus* are the species with better agronomic and seed yield characteristics, which makes them promising for their use and conservation.

Key words: *Lupinus*, survival, agronomic characteristics, central-eastern region of Puebla.

## Introducción

Se han reportado más de 200 especies de *Lupinus* en el mundo (Walker *et al.*, 2011) y se considera que alrededor del 90 % se originaron en el norte y sur de América, habitando desde Alaska hasta Argentina y Chile. El resto de las especies se encuentran en la región Mediterránea y en el norte de África. La mayoría de las especies económicamente importantes se aprovechan en Europa, debido al tamaño de la semilla y alto contenido de proteínas (Walker *et al.*, 2011), dichas semillas se han utilizado en algunos países como fuente de proteína y aceite, de tal forma que muchas especies no domesticadas son consideradas como cultivos potenciales (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2000).

Las leguminosas, como fuente de proteína, son una alternativa para aumentar la calidad de alimento en el mundo. En Europa, son cultivos empleados para desarrollar los sistemas de producción ganadera y agrícola de forma sostenible (Annicchiarico *et al.*, 2010), en los cuales se han seleccionado y mejorado características morfológicas (vaina y semillas), raíz, resistencia a enfermedades, así como su adaptación a condiciones climáticas que limita su producción y supervivencia (López-Bedillo *et al.*, 1994; Lagunes-Espinoza *et al.*, 2000; Long *et al.*, 2011). Entre las especies que existen en México *L. montanus* Kunth, *L. campestris* Cham. & Schltldl. y *L. exaltatus* Zucc., se caracterizan por tener altas concentraciones de proteínas y minerales que pueden ser consideradas por la industria alimenticia (Lagunes-Espinoza *et al.*, 2012; 2013; Pablo-Pérez *et al.*, 2013); además, algunas especies presentan alcaloides quinolizidínicos como parte estratégica para combate de herbívoros y microorganismos (Wink, 1992). En México, se han identificado alcaloides en *L. aschenbornii* Schauer, *L. montanus* y *L. stipulatus* J. Agardh, que han sido probado con actividad insecticida (Bermúdez-Torres *et al.*, 2000; 2009).

Por otro lado, varias especies de *Lupinus* han sido empleadas para programas de reforestación (Ramírez y Rodríguez, 2009), ya que se ha aprovechado su función nodriza como leguminosa tiene una función de nodriza y su capacidad de aportar nitrógeno al suelo a través de su simbiosis con bacterias fijadores de este primordial elemento, necesario para otras plantas que carecen de dichos microorganismo (Barker y Bryson, 2006).

Los estudios sobre las especies de *Lupinus* en México se han enfocado a la caracterización fenotípica con el objetivo de facilitar su manejo y domesticación con fines de reforestación, de restauración ecológica, de manejo de germoplasma ante el cambio climático, de potencial uso alimenticio e industrial por la composición química de algunas especies (Ruiz López *et al.*, 2000; Hernández-Ferretiz *et al.*, 2008; Lara-Cabrera *et al.*, 2009; Soto-Correa *et al.*, 2102; Pablo-Pérez *et al.*, 2013). Sin embargo, para su conservación y utilización adecuada como cultivo es indispensable realizar las evaluaciones pertinentes para determinar el crecimiento y adaptación de las especies sus procedencias en diferentes sitios e incluso, fuera de su hábitat y es a través de ensayos en campo como pueden estimar e identificar la supervivencia y/o rendimiento de variables de interés bajo condiciones ambientales diversas (López-Upton *et al.*, 2004; Soto-Correa *et al.*, 2012). Por lo tanto, el objetivo del presente estudio, es evaluar las diferencias en supervivencia, crecimiento y producción de semilla entre especies y poblaciones de *Lupinus montanus*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. barkeri* Lindl. y *L. marschallianus* Sweet a través de un ensayo en campo y de ambiente común en camas de crecimiento (jardín).

### **Hipótesis**

La supervivencia y las características agronómicas no difieren entre especies y dentro de especies del género *Lupinus* de la región centro-oriente en el estado de Puebla México.

## **Materiales y Métodos**

### Recolecta de germoplasma

Las vainas de 30 plantas se recolectaron por población de cada especie (Cuadro 1), con las que se formó una muestra masal. Doscientas semillas de cada población se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.35 % por 5 min. (Vega-Villasante *et al.*, 1996), y se escarificaron manualmente con una lija de grano medio para madera. Posteriormente se sembraron en tubetes de plástico negro con un sustrato de perlita, turba y corteza de pino en una proporción de 15:15:70, respectivamente, con el propósito de que las plántulas alcanzaran un tamaño adecuado en poco tiempo (60 días), para su trasplante en campo y en jardín. El riego fue aplicado con agua corriente a capacidad de campo cada tercer día.

### Ensayo de jardín

El ensayo se estableció en el vivero Forestal del Colegio de Postgraduados en Texcoco, México, ubicado en 19° 27' 34.8" N y 98° 54' 15.8" O, a una altitud de 2249 m s.n.m. Temperatura media 15.5 °C, mínima -2.7 °C y máxima 30.9 °C, con una precipitación media anual de 686 mm. Las plantas de dos meses de edad se trasladaron a unas camas de crecimiento, las que contenían suelo agrícola, con una textura arenosa. Se utilizó un diseño experimental en bloques al azar con tres repeticiones, 24 poblaciones en total de las cinco especies, y cinco plantas por parcela (unidad experimental) en una fila. Se plantó una hilera de plantas de las mismas especies para controlar el efecto de orilla.

### Ensayo de campo

La plantación se realizó en el municipio de Tlachichuca, Puebla. (19°05'42.27" N, 97° 25' 10.42" O, a 2654 m s.n.m., temperatura media de 14.7 °C, mínima 1 °C, máxima 19.8 °C,

con una precipitación media anual de 564 mm. Las plantas se distribuyeron bajo un diseño en bloques completos al azar, tres especies (*L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*) con sus respectivas poblaciones (Cuadro 1), seis bloques, y seis plantas por parcela (unidad experimental). No se evaluaron *L. barkeri* y *L. marschallianus* debido a la baja disponibilidad de semilla. Con el propósito de identificar la especie promisoría para la producción de semilla, se analizó a *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* por sus propiedades agronómicas y sus propiedades nutrimentales. La distancia entre planta y planta fue de 1 m.

**Cuadro 1.** Poblaciones de *Lupinus barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. montanus* y *L. marschallianus* en centro-oriente de Puebla.

Especie	Población	Ubicación		
		Latitud	Longitud	Elevación (m)
<i>L. barkeri</i>	Manuel Ávalos	19°03'50.4"	97°22'59"	2,870
	Poxcoatzingo	19°57'13.0"	98°00'33.5"	2,481
	Laguna de Atexca	19°57'06.1"	98°02'22.2"	2,584
	Laguna Seca	18°63'30.5"	97°19'0.06"	2,669
	San Isidro	18°54'33.6"	97°18'26.4"	2,794
	Barranca Honda	19°01'46.0"	97°22'43.1"	2,903
	Tlalmotolo I	19°34'27.4"	97°43'38.5"	2,980
	Tlalmotolo II	19°34'27.4"	97°43'37.0"	2,965
<i>L. campestris</i>	Zoapan	19°04'39.2"	97°20'54.0"	3,064
	Manuel Ávalos	19°03'50.4"	97°22'59.7"	2,878
	Zoapan	19°04'38.3"	97°21'57.1"	2,913
<i>L. exaltatus</i>	San Martín	19°00'52.4"	97°22'07.7"	3,010
	Texmalaquilla 3700	18°58'76.9"	97°17'44.2"	3,700
<i>L. marschallianus</i>	Texmalaquilla 3900	18°58'98.0"	97°58'76.9"	3,900
	Texmalaquilla 3100	18°57'21.4"	97°17'20.3"	3,100
<i>L. montanus</i>	Texmalaquilla 3300	18°57'70.3"	97°17'37.4"	3,300
	Texmalaquilla 3500	18°58'30.0"	97°17'25.0"	3,500

Texmalaquilla 3700	18°58'76.9"	97°17'44.2"	3,700
Texmalaquilla 3900	18°58'98.0"	97°58'76.9"	3,900
Texmalaquilla 4100	18°58'99.0"	97°17'65.0"	4,100
Tlanalapan	19°15'31.2"	97°16'09.7"	3,045
San Joaquín	19°07'09.8"	97°18'25.4"	3,112
Zoapan	19°04'18.1"	97°19'06.7"	3,358

La supervivencia se registró cuando la planta presentó la inflorescencia. Las variables morfológicas evaluadas se presentan en el Cuadro 2. Los equipos empleados fueron los siguientes; flexómetro Truper®, vernier digital, balanza analítica (SM®, Chyo Balance Corporation) y balanza electrónica con aproximación a 0.1 g (N08110®, OHAUS Corporation). Para determinar la materia seca (biomasa), tanto la parte aérea como la raíz se deshidrataron en un horno de secado (RIOSSA®) a 65 °C hasta alcanzar peso constante.

**Cuadro 2.** Variables evaluadas en *Lupinus barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. marschallianus* y *L. montanus* del centro-oriente de Puebla.

Ensayo	Planta	Hoja	Inflorescencia
	-Altura de la planta (cm)	-Ancho del foliolo (mm)	-Longitud (cm)
	-Biomasa aérea (g)	-Longitud del foliolo central (cm)	-Ancho de la vaina (cm)
	-Longitud de raíz (cm)		-Longitud de la vaina (cm)
Jardín	-Biomasa de raíz (g)	-No. de foliolos por hoja	-Número de semillas por vaina
	-Grosor del tallo (mm)		-Ancho de semilla (mm)
	-No. de ramas	-Longitud de la	-Longitud de semilla (mm)
	-Longitud de la	-Estípula (cm)	-Peso de 100 semillas (g)
			No. Semillas llenas por planta

primera rama (cm)	-Largo del peciolo (cm)	-No. de semillas vanas por planta
-Ángulo de la rama (°)		-No. de semillas dañadas por planta
-Supervivencia (%)		-No. de óvulos abortados por planta
<hr/>		
-Altura de la planta (cm)		-Longitud (cm)
-Biomasa aérea (g)		-Ancho de vaina (cm)
-Supervivencia (%)		-Longitud de la vaina (cm)
		-Número de semillas por vaina
		-Ancho de semilla (mm)
		-Longitud de semilla (mm)
		-Peso de 100 semillas (g)
		-No. de semillas llenas por planta
		-No. de semillas vanas por planta
		-No. de semillas dañadas por planta
		-No. de óvulos abortados por planta
<hr/>		

Campo

#### Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza para determinar diferencias entre las especies y poblaciones, considerando a estos efectos como fijos, y a los bloques como efecto aleatorio. Se obtuvieron los valores ajustados debido al desbalance causado por la mortalidad (Littel *et al.*, 1996). Se utilizó un modelo anidado mixto:

$$Y_{ijkl} = \mu + B_i + E_j + BE_{ij} + P(E)_{jk} + BP(E)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

$Y_{ijkl}$  = Valor observado en  $l$ -ésima planta de la  $k$ -ésima población de la  $j$ -ésima especie dentro  $i$ -ésimo bloque;  $\mu$  media general;  $B_i$  = efecto de  $i$ -ésimo bloque;  $E_j$  = efecto de la  $j$ -ésima especie;  $BE_{ij}$  = efecto de la interacción del  $i$ -ésimo bloque con la  $j$ -ésima especie;  $P(E)_{jk}$  = efecto de  $k$ -ésima población anidada en  $j$ -ésima especie +  $BP(E)_{ijk}$  = efecto de la interacción del  $i$ -ésimo bloque con la  $k$ -ésima población anidada en la  $j$ -ésima especie;  $\varepsilon_{ijkl}$  = error, donde  $i = 1, 2 \dots 6$ ;  $j = 1, 2 \dots 5$ ;  $l = 1, 2 \dots 5$ , y  $k = 1$ , o hasta 10 según la especie.

En el caso del ensayo de campo, sólo se consideraron tres especies, *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, con sus respectivas poblaciones. Estas especies fueron elegidas por las propiedades agronómicas de tamaño de semilla y propiedades nutrimentales.

Para la variable supervivencia, se consideraron porcentajes por parcela, para los cuales se transformaron con la función  $\arcsen(\text{valor})^{-0.5}$  (Quinn y Keough, 2002).

Se utilizó PROC MIXED con la opción LSMEANS para obtener los valores de las medias ajustadas debido al desbalance causado por la mortalidad.

## Resultados

### Ensayo de campo

#### *Supervivencia*

El promedio fue de 43.3% y hubo diferencias significativas entre las especies y entre poblaciones de *Lupinus* (Cuadro 3 y 4, respectivamente), con valores promedio de 29 a 60 % entre especies y entre las poblaciones fluctuaron de 16 a 66 %.

#### *Características agronómicas*

En la mayoría de las variables se determinaron diferencias significativas entre especies y poblaciones (Cuadros 3, 4 y 5). En biomasa y longitud de vaina sólo entre especies. El número de óvulos abortados y semillas dañadas totales no presentó diferencias entre especies y poblaciones (Cuadro 3).

Las plantas de *L. montanus* presentaron un valor mayor en altura (136.31 cm promedio), y *L. exaltatus* el tamaño menor (98 cm promedio) (Cuadro 3). El promedio en biomasa por planta, en *L. campestris* fue de 212.06 g y 205.21 g para *L. montanus*, por lo tanto se estima una producción de 2.12 t ha<sup>-1</sup> y 2.05 t ha<sup>-1</sup>, como valores mayor y menor respectivamente.

Las inflorescencias con los mayores valores las presentó *L. montanus*, mientras que *L. campestris* mostró los menores (Cuadro 3). Para la producción de vainas, *L. campestris* fue la especie que presentó más producción (347 vainas/planta) y *L. montanus* con 170 vainas/planta, fue la de menor producción.

Las tres especies presentaron una longitud de vaina similar de 3.90 cm en promedio. *L. montanus* presentó un promedio de anchura de vainas 0.71 cm, mientras que las otras dos especies un valor de 0.63.

El número de semillas por vaina para *L. campestris* y *L. exaltatus* fue similar (seis semillas), mientras que en *L. montanus* presentaron valores de cinco y seis semillas. El número de óvulos abortados fue mayor para *L. campestris* con un promedio de 277, mientras que *L. montanus* mostró el valor menor, con 188. En semillas llenas por planta, *L. campestris* tuvo el valor mayor con 1006 y *L. montanus* fue la especie con menos semillas por planta (391). Los mayores valores promedio en semillas vanas fueron para *L. exaltatus*, en tanto que el valor menor fue para *L. montanus* (Cuadro 3). Los valores presentados en semillas dañadas por planta *L. montanus* exhibió el promedio menor y *L. campestris* el valor mayor (Cuadro 3).

Con respecto a las caracteres de la semilla, en relación a la achura *L. montanus* presentó el valor mayor y las de valor menor promedio fueron las de *L. exaltatus* (Cuadro 3). En la longitud *L. montanus*, presentó un promedio de 3.79 mm. El peso de 100 semillas en las poblaciones de las tres especies presentó valores en un intervalo de 1.36-1.84 g. Las semillas más pesadas las produjo *L. montanus* con un valor promedio de 1.70 g, mientras que las más ligeras fueron las de *L. exaltatus* con 1.41 g.

**Cuadro 3.** Análisis de varianza en supervivencia y variables morfológicas de varias poblaciones de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* establecidas en un ensayo de campo en Tlachichuca, Puebla.

Variable	Significancia		Valores medios			
	Especies	Poblaciones	<i>L. campestris</i>	<i>L. exaltatus</i>	<i>L. montanus</i>	
Supervivencia	0.0001	0.0001	53.98 a	60.98 a	28.97 b	
Altura (cm)	0.0001	0.0001	100.93 b	97.40 b	136.31 a	
Biomasa por planta (g)	0.2263	0.0031	212.06 a	208.00 a	205.21 a	
Longitud de inflorescencia (cm)	0.0001	0.0001	12.66 b	13.29 b	20.41 a	
Vainas	Longitud (cm)	0.0942	0.0001	3.91 a	3.96 a	3.90 a
	Ancho (cm)	0.0001	0.0001	0.63 c	0.63 b	0.71 a
	No. de semillas	0.0001	0.0003	6.65 a	6.44 b	6.22 c
Número promedio por planta	Vainas	0.0001	0.0002	347.37 a	341 a	170.33 b
	Óvulos abortados	0.2635	0.0659	277.5 a	262.33 a	188.55 a
	Semillas llenas	0.0003	0.0005	1006 a	982 a	391 b
	Semillas vanas	0.0140	0.2219	461 a	546 a	241 b
	Semillas dañadas	0.2239	0.0791	40 a	41 a	19 a

Semillas	Ancho (mm)	0.0001	0.0001	2.59 b	2.54 b	2.81 a
	Longitud (mm)	0.0001	0.0001	3.58 b	3.53 b	3.79 a
	Peso 100 semillas (g)	0.0001	0.0001	1.45 b	1.41 b	1.7 a

---

Letras diferentes en hileras indican diferencias entre las especies de *Lupinus* ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 4.** Supervivencia y variables morfológicas de varias poblaciones de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* establecidas en un ensayo de campo en Tlachichuca, Puebla.

Especie/Población	Supervivencia (%)	Promedio por planta		Número promedio por planta				
		Altura (cm)	Biomasa (g)	Vainas	Óvulos abortados	Semillas llenas	Semillas vanas	Semillas dañadas
<i>L. campestris</i>								
Barranca Honda	50.0 bc	122.0 c	267.3 a	269 bc	158 a	1038 bc	424 a	41 a
Laguna de Atexca	52.7 bc	95.0 de	196.5 b	401 b	381 a	1073 bc	534 a	16 a
Laguna Seca	47.2 bc	109.7 cd	257.5 a	371 bc	341 a	1037 bc	467 a	125 a
Poxcoatzingo	36.1 bc	72.5 e	195.3 b	222 cd	281 a	361 c	272 a	10 a
San Isidro	47.2 bc	100.6 de	183.0 bc	283 bc	214 a	875 bc	250 a	8 a
Tlalmotolo I	63.8 c	96.6 de	236.0 ab	604 a	207 a	2050 a	635 a	33 a
Tlalmotolo II	66.6 c	102.1 de	158.0 bc	358 bc	263 a	1050 bc	508 a	73 a
Zoapan	61.1 c	105.0 d	207.7 ab	271 bc	375 a	565 c	603 a	17 a
<i>L. exaltatus</i>								
Manuel Ávalos	66.6 c	92.4 de	162.5 bc	329 bc	194 a	871 bc	558 a	19 a
San Martín	58.3 c	93.9 de	232.9 ab	345 bc	235 a	1210 b	455 a	27 a
Zoapan	55.5 c	107.4cd	231.0 ab	349 bc	358 a	866 bc	626 a	78 a
<i>L. montanus</i>								
Texma.3100	36.1 b	145.1 b	213.8 ab	19 d	32 a	21 d	28 a	9 a
Texma. 3300	19.4 ab	149.6 ab	245.0 ab	111 cd	106 a	315 c	141 a	32 a

Texma. 3500	16.6 a	137.3 bc	183.1 abc	119 cd	89 a	413 c	22 a	2 a
Texma.3700	25.0 ab	125.4 bcd	164.0 bc	288 bcd	224 a	779 bc	272 a	4 a
Texma. 3900	19.4 ab	174.6 a	267.6 a	149 cd	64 a	345 c	209 a	58 a
Texma. 4100	33.3 ab	126.8 bc	262.8 ab	300 bc	653 a	303 c	706 a	8 a
San Joaquín	36.1 b	105.5 cd	150.4 bc	255 c	328 a	609 c	469 a	45 a
Tlanalapan	38.8 bc	122.7 bcd	237.6 ab	195 cd	62 a	492 c	171 a	13 a
Zoapan	36.1 b	139.8 bc	122.6 c	97 cd	139 a	245 c	151 a	7 a

---

Letras diferentes en columnas indican diferencias entre todas las poblaciones de *Lupinus* ( $p \leq 0.05$ ). Texma. = Texmalaquilla

**Cuadro 5.** Inflorescencia y semillas de *Lupinus campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* establecidos en un ensayo de campo en Tlachichuca, Puebla.

Especie/Población	Inflorescencia				Semilla		
	Longitud (cm)	Longitud de vaina (cm)	Ancho de vainas (cm)	Semillas por vaina	Ancho (mm)	Longitud (mm)	Peso 100 semillas (g)
<i>L. campestris</i>							
Barranca Honda	10.60 f	4.05 ab	0.60 e	6 bc	2.70 bc	3.66 cd	1.53 a
Laguna de Atexca	13.56 e	3.85 c	0.64 de	6 b	2.48 d	3.44 de	1.41 cd
Laguna Seca	12.98 e	3.98 bc	0.62 de	6 bc	2.61 cd	3.56 cd	1.39 cd
Manuel Ávalos	12.88 e	3.99 bc	0.60 e	6 bc	2.60 cd	3.65 cd	1.40 cd
Tlalmotolo I	13.50 e	3.76 d	0.63 de	6 bc	2.47 d	3.42 e	1.39 cd
Tlalmotolo II	13.83 e	4.02 b	0.68 c	6 b	2.64 c	3.63 cd	1.61 b
Poxcoatzingo	12.07 ef	3.71 cd	0.67 cd	6 bc	2.55 cd	3.60 cd	1.45 cd
Zoapan	12.17 ef	3.96 bc	0.66 cd	7 a	2.67 c	3.70 c	1.48 c
<i>L. exaltatus</i>							
San Isidro	13.67 e	3.99 bc	0.62 de	6 bc	2.56 cd	3.54 d	1.40 cd
San Martín	12.69 e	3.93 bc	0.62 de	6 b	2.44 d	3.44 de	1.13 d
Zoapan	13.51 e	3.97 bc	0.65 d	6 a	2.63 c	3.63 cd	1.49 c
<i>L. montanus</i>							

San Joaquín	12.89 e	3.84 cd	0.66 cd	6 bc	2.53 cd	3.70 c	1.62 b
Texmalaquilla 3100	20.50 c	4.21 a	0.77 a	6 bc	3.18 a	4.27 a	1.78 ab
Texmalaquilla 3300	28.66 a	3.89 bcd	0.75 ab	6 bc	3.01 ab	3.70 cd	1.78 ab
Texmalaquilla 3500	16.50 cd	3.75 cd	0.65 cde	6 abc	3.00 ab	3.74 c	1.16 ab
Texmalaquilla 3700	20.88 bc	3.87 bcd	0.67 cd	5 c	2.59 cd	3.74 c	1.61 bc
Texmalaquilla 3900	18.90 cd	4.08 ab	0.73 ab	7 a	2.56 cd	3.66 cd	1.60 bc
Texmalaquilla 4100	24.04 b	3.88 bcd	0.75 ab	6 c	2.85 b	3.74 c	1.83 ab
Tlanalapan	22.41 bc	3.72 cd	0.70 bc	6 bc	2.66 bcd	3.58 cd	1.64 abc
Zoapan	18.95 cd	3.94 bc	0.72 b	6 bc	2.98 ab	4.04 b	1.84 a

---

Letras diferentes en columnas indican diferencias entre las poblaciones de *Lupinus* ( $p \leq 0.05$ ).

## Ensayo de jardín

### *La supervivencia*

La supervivencia fue del 20.4 %, con diferencias significativas entre especies y poblaciones ( $p = 0.0001$ ) (Cuadro 6).

### *Características agronómicas*

Las especies presentaron diferencias significativas en la mayoría de las variables excepto en el número de óvulos abortados, semillas vanas y dañadas. La significancia entre las poblaciones se presentó en todas las variables (Cuadro 6). Los promedios de cada una de las variables y las diferencias entre las poblaciones se presentan en los cuadros 7, 8 y 9.

*L. campestris* manifestó la mayor altura con 96.2 cm. Las plantas de menor tamaño fueron las de *L. marschallianus* (Cuadro 7), con un valor de 34.8 cm como promedio. *L. montanus* tuvo un peso promedio de 96.4 g como valor mayor y *L. marschallianus* 20.3 g, con el menor peso. En los tallos *L. campestris* presentó nueve veces más grosor que las plantas de *L. marschallianus* (Cuadro 7).

Las raíces de *L. exaltatus* fueron de longitud mayor (29.6 cm promedio), en tanto que *L. barkeri* y *L. marschallianus* las más cortas (24 cm). *L. montanus* presentó las raíces más pesadas, y las menos pesadas fueron las de *L. barkeri* y *L. marschallianus*, con un promedio de 23 g. Las raíces de *L. barkeri* presentaron una estructura tipo tubérculo, lo que permitiría a la planta, la regeneración, siempre y cuando tenga condiciones de temperatura y humedad adecuadas.

*L. exaltatus* y *L. montanus* presentaron el mayor número promedio de ramas (cuatro) y *L. campestris* con tres, aunque en ésta última especie fue alta la variación en las poblaciones con valores de 2 a 6 ramas (Cuadro 7). En la longitud de ramas, *L. montanus* desarrolló las más

largas con 75.2 cm, cinco veces más largas que *L. barkeri*. El ángulo que presentaron las ramas en *L. marschallianus* fue de 32.5° como valor menor y 50.6° como valor mayor en *L. campestris*.

Los valores promedio en las características de las hojas son los siguientes: *L. barkeri* y *L. marschallianus* presentaron los valores menores en ancho, 4.38 mm y 3.77 mm, respectivamente; mientras que *L. campestris* mostró el valor mayor (11.91 mm). En cuanto a la longitud de los folíolos, *L. montanus* presentó un valor promedio de 7.8 vs. 2.14 cm en *L. marschallianus*. Así mismo, *L. montanus* presentó un intervalo de 11-15 folíolos por hoja, y *L. barkeri* y *L. marschallianus* 6 folíolos, el número menor entre todas las especies (Cuadro 8). Otra característica considerada en la clasificación taxonómica es la estípula, para la que *L. campestris* presentó el valor promedio mayor (0.67 cm) entre todas las poblaciones y *L. barkeri* el valor menor de 0.51 cm. Por último, el promedio de la longitud del peciolo fue mayor para *L. barkeri*, que a pesar de ser una especie pequeña presentó un promedio de 5.83 cm, en tanto que *L. marschallianus* exhibió el valor menor (3.63 cm). Notablemente *L. campestris* presentó un intervalo de 2.7- 6.93 cm (Cuadro 8).

La longitud de la inflorescencia fue mayor en *L. montanus*, mientras *L. marschallianus* la de menor tamaño (Cuadro 6).

En la producción de vainas por planta *L. exaltatus* presentó una mayor cantidad con 124 y *L. marschallianus* solo con cinco vainas/planta. En longitud de vainas, *L. marschallianus* mostró una medida menor de 1.82 cm vs. 3.79 cm de *L. exaltatus*. Para el ancho de ésta misma estructura *L. marschallianus* desarrolló las menos angostas (0.41 cm), mientras que *L. campestris* las de mayor anchura (0.63 cm). Las semillas presentes en la vaina *L. campestris* y *L. exaltatus* fueron similares (seis semillas), mientras que en *L. montanus* las plantas presentaron

valores de cinco y seis semillas. *L. marschallianus* fue la especie que presentó el menor valor, con tres semillas por vainas.

En óvulos abortados *L. exaltatus* presentó el valor mayor con 37 y *L. marschallianus* con un valor de dos, como menor. En semillas llenas por planta *L. campestris* produjo una cantidad de 436 semillas como valor mayor, *L. marschallianus* originó 16 semillas, exhibiendo el valor menor. Para semillas vanas, *L. exaltatus*, presentó los valores mayores, mientras *L. barkeri* y *L. marschallianus* el número menor (Cuadro 6). En semillas dañadas *L. exaltatus* presentó el valor mayor, mientras que para las otras especies fue nula la presencia de daños en el germoplasma (Cuadro 6).

Las variables de semillas se presentaron de la siguiente forma: en ancho, *L. montanus* mostró el valor mayor (2.91 mm) y el valor menor fue para *L. marschallianus* con 1.7 mm; en longitud, *L. montanus* presentó el valor mayor con 3.94 mm, mientras que las semillas con el menor promedio fueron de *L. marschallianus* (Cuadro 6). En peso de 100 semillas, el valor mayor lo presentó *L. montanus* con 2.1 g y *L. marschallianus* con 0.3 g.

**Cuadro 6.** Análisis de varianza de variables agronómicas de *Lupinus barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. marschallianus* y *L. montanus* establecido en jardín en Montecillo, México.

Variable	Significancia		Valores medios					
	Especie	Poblaciones	<i>L. barkeri</i>	<i>L. campestris</i>	<i>L. exaltatus</i>	<i>L. marschallianus</i>	<i>L. montanus</i>	
Planta	Altura (cm)	0.0001	0.0001	38.30 b	96.19 a	83.32 a	34.75 b	98.07 a
	Biomasa (g)	0.0001	0.0001	22.30 b	78.67 a	85.23 a	20.25 b	96.36 a
	Tallo (mm)	0.0001	0.0001	4.10 b	25.17 a	27.50 a	3.36 b	23.87 a
Raíz	Longitud (cm)	0.0001	0.0001	23.30 c	27.82 ab	29.60 ab	23.90 bc	30.37a
	Biomasa (g)	0.0001	0.0001	9.27 b	20.48 a	22.10 a	10.84 b	23.56 a
Ramas	Número	0.0631	0.0493	4.00 ab	2.60 a	4.50 a	4.70 b	4.42 ab
	Longitud (cm)	0.0001	0.0001	15.92 c	49.32 b	78.49 a	19.35 c	75.16 b
	Ángulo (°)	0.0001	0.0001	42.80 bc	50.63 ab	48.81 a	32.50 c	46.66 abc
Hoja	Ancho foliolo (mm)	0.0001	0.0001	4.38 c	11.91 a	10.70 a	3.77 c	7.80 b
	Long. foliolo	0.0001	0.0001	2.32 c	4.57 b	4.20 b	2.14 c	7.80 a
	No. foliolos	0.0001	0.0001	6.00 a	7.62 b	7.33 bc	6.50 bc	13.00 a
	Long. estípula (cm)	0.0001	0.0001	0.51 b	0.67 a	0.53 ab	0.52 ab	0.64a

Inflorescencia	Long. peciolo (cm)	0.0001	0.0001	5.83 d	4.87 ab	4.09 c	3.63 bc	4.00 a
	Longitud (cm)	0.0001	0.0001	9.53 b	8.71 b	8.11 b	6.78 c	16.00 a
	Long. vaina (cm)	0.0001	0.0001	2.94 c	3.76 a	3.79 a	1.82 d	3.60 b
	Ancho de vaina (cm)	0.0001	0.0001	0.51 c	0.63 a	0.58 b	0.41 d	0.74 a
Número promedio por planta	Semillas por vaina	0.0001	0.0001	5.00 c	6.37 a	6.00 ab	3.50 d	5.00 bc
	Vainas	0.0113	0.0001	7.00 b	104.5 a	124.66 a	5.00 b	16.00 ab
	Óvulos abortado	0.3518	0.012	3.00 a	35.75 a	37.66 a	2.00 a	4.00 a
	Semillas llenas	0.0002	0.0001	35.00 b	436.62 a	404.00 a	16.00 b	46.00 ab
	Semillas vanas	0.5469	0.0056	1.00 a	77.75 a	83.00 a	1.50 a	1.00a
Semillas	Semillas dañadas	0.5696	0.0411	0.00 a	2.37 a	8.66 a	0.00 a	0.00 a
	Ancho (mm)	0.0001	0.0001	2.10 b	2.52 a	2.50 a	1.79 c	2.91 a
	Longitud (mm)	0.0001	0.0001	2.91 b	3.52 a	3.57 a	2.19 c	3.94 a
	Peso 100	0.0001	0.0001	0.60 d	1.22 b	1.20 c	0.30 e	2.10 a

semillas (g)

---

Letras diferentes en hileras indican diferencias entre las especies de *Lupinus* ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 7.** Variables morfológicas en un ensayo de jardín de *Lupinus barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. marschallianus* y *L. montanus* provenientes de la región centro-oriente de Puebla.

Especie/Población	Planta			Raíz		Ramas		
	Altura (cm)	Biomasa (g)	Tallo (mm)	Longitud (cm)	Biomasa (g)	Número	Longitud (cm)	Ángulo (°)
<i>L. barkeri</i>								
Manuel Ávalos	38.3 e	22.3 d	4.1 d	23.3 d	9.2 d	4 bc	15.92 f	42.80 bcd
<i>L. campestris</i>								
Barranca Onda	94.0 cd	82.0 bc	26.2 b	35.2 b	17.2 cd	3 bc	77.40 cd	81.40 a
Laguna de Atexca	108.0 bc	109.2 c	25.0 b	31.4 bc	30.0 b	4 bc	89.73 bc	54.66 c
Laguna Seca	143.3 a	161.0 a	34.2 a	45.6 a	36.6 ab	4 ab	113.33 a	40.00 cd
Poxcoatzingo	85.6 cd	57.9 c	24.4 bc	27.4 cd	22.2 c	6 a	66.26 d	46.66 bc
Tlalmotolo I	82.0 cd	34.0 cd	28.5 abc	24.0 cd	15.0 cd	4 ab	72.00 cde	45.00 c
Tlalmotolo II	72.0 cd	36.0 cd	16.9 cd	30.0 bcd	13.0 d	6 a	56.50 de	50.00 bcd
San Isidro	106.0 bc	111.3 bc	23.2 bc	31.6 bc	15.6 cd	2 c	79.66 cd	46.66 bcd
Zoapan	78.6 cd	38.0 cd	23.0 bc	25.0 cd	18.3 cd	4 abc	61.66 de	40.66 bcd
<i>L. exaltatus</i>								
Manuel Ávalos	111.6 bc	86.2 bc	25.2 b	28.6 c	18.8 cd	4.0 bc	95.73 b	53.73 c
San Martín	94.3 cd	110.5 c	30.9 ab	31.2 bc	23.5 c	4.7 ab	87.75 bc	69.37 ab

Exaltatus Zoapan	44.0 e	59.0 bcd	26.4 abc	29.0 bcd	24.0 bcd	5.0 abc	52.00 de	70.00 b
<i>L. marschallianus</i>								
Texmalaquilla 3700	35.5 e	20.5 d	3.3 d	23.0 d	9.8 d	2 c	20.21 f	33.00 d
Texmalaquilla 3900	34.0 e	20.0 d	3.3 d	24.8 cd	11.8 d	3 c	18.50 f	32.00 d
<i>L. montanus</i>								
San Joaquín	98.5 c	105.7 bc	23.2 bc	31.2 bc	21.2 cd	4 abc	75.00 cd	48.75 bc
Texmalaquilla 3100	106.6 bc	85.3 bc	27.6 ab	43.6 ab	42.0 a	5 ab	83.66 bc	41.66 bcd
Texmalaquilla 3500	66.7 cd	42.7 cd	18.2 c	24.2 cd	8.0 d	3 c	53.00 e	41.25 cd
Texmalaquilla 3900	120.5 b	151.5 ab	26.5 abc	22.5 cd	23.0 bcd	6 ab	89.00 bc	55.00 bc

---

Letras diferentes en columnas indican diferencias entre todas las poblaciones de *Lupinus* ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 8.** Variables morfológicas de la hoja un ensayo de jardín en hojas de *Lupinus barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. marschallianus* y *L. montanus* provenientes de la región centro-oriente de Puebla.

Especie/Población	Hojas					Inflorescencia			
	Ancho de foliolo (mm)	Longitud de foliolo (cm)	Número de foliolos	Longitud de estipula (cm)	Longitud del peciolo (cm)	Longitud (cm)	Long. de vaina (cm)	Ancho de vaina (cm)	Semillas por vaina
<i>L. barkeri</i>									
Manuel Ávalos	4.38 e	2.32 f	6 fg	0.51 d	5.83 b	9.53 c	2.94d	0.51 de	5 d
<i>L. campestris</i>									
Barranca Onda	9.80 c	4.84 cd	8 ef	0.64 bc	6.93 a	7.80 de	4.08 a	0.65 bc	7 ab
Laguna de Atexca	10.66 c	4.50 d	7 f	0.60 c	6.06 ab	10.73 d	3.94 ab	0.68 b	6 bc
Laguna Seca	16.33a	5.80 bc	9 d	0.70 bc	6.00 ab	9.73 bcd	4.05 ab	0.67 bc	7 a
Poxcoatzingo	12.00 b	4.44 d	7 ef	0.58 cd	5.36 bc	10.02 bc	3.96 ab	0.75 a	6 bc
San Isidro	12.33 bc	4.93 cd	7 fg	0.66 bc	4.63 c	9.44 cd	3.73 b	0.61 c	6 bc
Tlalmotolo I	12.00 bc	3.10 ef	8 def	0.70 bc	3.20 ef	8.16 cde	3.80 ab	0.60 cd	7 ab
Tlalmotolo II	9.50 c	3.45 e	6 g	0.60 bcd	4.12 cd	6.71 de	3.35 d	0.55 d	6 bc
Zoapan	12.66 b	5.50 c	9 de	0.93 a	2.70 ef	7.16 de	3.2 cd	0.56 cd	6 bc
<i>L. exaltatus</i>									
Manuel Ávalos	12.00 b	4.36 d	8 e	0.60 c	6.00 ab	9.09 cd	4.02 a	0.58 cd	6 bc
San Martín	10.12 c	4.45 d	7 fg	0.51 d	4.16 cd	10.26 bc	3.94 ab	0.56 cd	6 b
Zoapan	10.00 c	3.80 de	7 efg	0.50 cd	2.12 f	5.00 e	3.43 cd	0.60 cd	6 abc
<i>L. marschallianus</i>									

Texmalaquilla 3700	3.71 e	2.05 f	7 ef	0.51 d	3.95 cde	6.97 de	1.85 f	0.44 e	4 de
Texmalaquilla 3900	3.83 e	2.23 f	6 g	0.53 cd	3.31 e	6.59 de	1.80 f	0.38 f	3 f
<i>L. montanus</i>									
San Joaquín	6.75 d	6.67 b	11 c	0.48 d	4.19 cd	16.0 a	3.60 bc	0.74 ab	5 cd
Texmalaquilla 3100	8.33 cd	8.16 a	13 ab	0.56 cd	4.02 cd	-----	-----	-----	-----
Texmalaquilla 3500	8.25 cd	8.00 a	13 b	0.75 b	3.95 cd	-----	-----	-----	-----
Texmalaquilla 3900	8.00 cd	8.40 a	15 a	0.80 ab	3.86 de	-----	-----	-----	-----

---

Letras diferentes en columnas indican diferencias entre todas las poblaciones de *Lupinus* ( $p \leq 0.05$ ). ----- Poblaciones que no alcanzaron a desarrollar por completo la inflorescencia

**Cuadro 9.** Parámetros de vainas y semillas de un ensayo de jardín de *Lupinus barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. marschallianus* y *L. montanus* provenientes de la región centro-oriente de Puebla.

Especie/Población	Número promedio por planta					Semillas		
	Vainas	Óvulos abortados	Semilla llenas	Semillas vanas	Semillas dañadas	Ancho de semilla (mm)	Longitud de semilla (mm)	Peso de 100 semilla (g)
<i>L. barkeri</i>								
Manuel Ávalos	7 c	3b	35 c	1 b	0 b	2.10 f	2.91 e	0.60 f
<i>L. campestris</i>								
Barraca Honda	16 c	18 b	36 c	16 ab	5 b	2.59 bcd	3.58 bc	1.3 cd
Laguna Seca	137 abc	4 b	698 ab	129 ab	3 b	2.62 bc	3.52 cd	1.5 c
Laguna de Atexca	195 ab	80 ab	793 a	152 a	3 b	2.59 bcd	3.60 bc	1.1 de
Poxcoatzingo	117 b	88 a	403 b	141 a	1 b	2.78 ab	3.86 a	1.7 b
San Isidro	194 ab	40 ab	607 ab	167 a	0 b	2.23 e	3.42 cd	1.0 de
Tlalmotolo I	42 bc	2 b	304 abc	2 ab	0 b	2.60 bcd	3.63 bcd	1.1 cde
Tlalmotolo II	89 bc	35 ab	420 abc	15 ab	1 b	2.41 de	3.25 d	1.0 de
Zoapan	46 bc	19 ab	232 bc	0 b	6 b	2.37 de	3.37 cd	1.0 de
<i>L. exaltatus</i>								
Manuel Ávalos	92 bc	25 b	383 b	89 ab	2 b	2.69 b	3.74 bc	1.3 cd
San Martin	262 a	51 ab	783 ab	147 a	24 a	2.40 d	3.31 d	1.1 de

Zoapan	20 bc	37 ab	46 bc	13 ab	0 b	2.43 de	3.68 abc	1.2 cd
<i>L. marschallianus</i>								
Texmalaquilla 3700	6 c	2 b	20 c	1 b	0 b	1.78 g	2.13 f	0.3 g
Texmalaquilla 3900	4 c	2 b	12 c	2 ab	0 b	1.81 g	2.26 f	0.3 g
<i>L. montanus</i>								
San Joaquín	16 bc	4 b	46 bc	1 ab	0 b	2.91 a	3.94 a	2.1 a

---

Letras diferentes en columnas indican diferencias entre todas las poblaciones de *Lupinus* ( $p \leq 0.05$ )

## Discusión

Las semillas de las leguminosas son una fuente de proteína que ha brindado al humano una alternativa para mejorar su calidad de vida, entre ellas se incluye al género *Lupinus*, el cual tiene una amplia distribución en el mundo (Montes *et al.*, 2011), aunque en México no ha sido domesticado y cultivado a pesar de su abundancia. Sin embargo, podría representar una fuente importante de proteína de buena calidad, además podría ser utilizado como fuente para producir aceite (Ruiz-López *et al.*, 2000). En el presente estudio se evaluaron la supervivencia y variables agronómicas bajo dos condiciones diferentes (ensayo de jardín y de campo). Las especies que se evaluaron en ambas condiciones fueron *L. campestris*, *L. exaltatus*, y *L. montanus*.

Los valores de supervivencia en cada una de las especies y entre las poblaciones, determinados en los dos ensayos dependen tanto de la condición genética de éstas como de las condiciones ambientales (Walker y Luckett, 2011). En sitios con altitudes bajas, como es el caso del ensayo de jardín de este trabajo, las temperaturas son mayores por lo que se esperaría que las plantas se encuentren sometidas a mayor estrés hídrico derivado de una mayor tasa de evapotranspiración propiciada por sitios más calurosos (Allen *et al.*, 2006), aunque no solo es el único factor determinante en la supervivencia y desarrollo, también influyen las condiciones físicas-químicas del suelo. En jardín, la supervivencia de *L. campestris* (22.28%), *L. exaltatus* (42.86%), *L. montanus* (1.06%), fue menor a la manifestada en campo (Cuadro 3). Sin embargo, algunas poblaciones presentaron valores altos de supervivencia como *L. exaltatus* de Manuel Ávalos (80%) que proviene de una altitud de más de 2800 m.s.n.m., lo que puede atribuirse a la plasticidad fenotípica y a la diversidad genética de cada población (MacDowell *et al.*, 2008; Mátyás *et al.*, 2010).

En campo, el número mayor de las poblaciones de *L. campestris* y *L. montanus* presentaron un comportamiento en el que, para las poblaciones de mayor altitud, la supervivencia fue mayor (Cuadro 4), dato similar al referido para *L. elegans* por Soto-Correa *et al.* (2015). En el ensayo de jardín la supervivencia fue diferente, pues las poblaciones de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. marschallianus* de menor altitud, presentaron valores mayores de supervivencia, contrario a lo registrado en poblaciones de *L. elegans* de mayor altitud, donde la supervivencia fue superior en sitios de menor altitud (Soto-Correa *et al.*, 2015). Sin embargo, diversas especies forestales ubicadas en un gradiente altitudinal, como *L. montanus*, tienden a diferenciarse genéticamente como un mecanismo adaptativo en respuesta a la intensidad de selección de los diferentes ambientes (Devall, 2009), por lo que al mover individuos de diferentes poblaciones la respuesta es la deficiente adaptación y mortalidad, pero además hay que considerar que en ambiente el factor suelo es determinante para la supervivencia, el crecimiento y su desarrollo (Walker y Luckett, 2011).

La altura y el peso de la planta son características afectadas por varios factores, entre ellos la densidad de siembra, que al aumentar afecta negativamente la altura tal como sucede en *L. angustifolius* L. y *L. albus* L (Pospíšil y Pospíšil, 2015, Mülayim *et al.*, 2002). Para las tres especies probadas en campo la densidad fue de 10 000 ha<sup>-1</sup> plantas, y en el jardín fue de 200 000 ha<sup>-1</sup> plantas lo cual impactó en la biomasa. En *L. campestris* el peso promedio por planta fue de 212.7 g vs. 78.7 g, en *L. exaltatus* 208 g vs. 85.2 g *L. montanus* 205.2 g vs. 96.4 g, respectivamente. El rendimiento en biomasa ha<sup>-1</sup> con densidad de 1 semilla m<sup>-2</sup> en campo para *L. campestris* fue de 2.12 t ha<sup>-1</sup>, para *L. exaltatus* de 2.08 t ha<sup>-1</sup>, y para *L. montanus* de 2.05 t ha<sup>-1</sup>, valores bajos en comparación con *L. albus* de la que se obtuvo 11.2 t ha<sup>-1</sup> y *L. mutabilis* Sweet 9.8 t ha<sup>-1</sup> en una densidad de 100 y 120 semilla m<sup>-2</sup>, respectivamente (Mikić *et al.*, 2013). Lo

anterior indica que las especies evaluadas en este estudio podrían tener mejor rendimiento de biomasa, si la siembra se hiciera en una densidad mayor, 60 0 75 semilla m<sup>-2</sup> (Pospíšil y Pospíšil, 2015). En cuanto a la altura de las plantas probadas en ambos ensayos (Cuadros 4 y 7) los valores son similares a lo reportado por Lagunes-Espinoza *et al.* (2012) en poblaciones naturales de *L. campestris* con 30-120 cm, *L. exaltatus* con 30-110 cm y *L. montanus* con 70-240 cm, así como por Zamora-Natera y Terrazas (2012) quienes refieren valores en *L. montanus* menores a 150 cm y valores menores de 190 cm en *L. exaltatus*. Otro factor que origina las diferencias en altura y peso son las características genéticas, como resultado de una diferenciación genética y como respuesta al ambiente, propiciando un desarrollo-respuesta a ello (Rehfeldt, 2004; Viveros-Viveros *et al.* 2009).

La longitud de raíz fue evaluada únicamente en jardín y resultó mucho más pequeña en comparación con la de *L. albus* y *L. angustifolius* las cuales llegan a alcanzar hasta 2.5 m (Hertel, 2011). *L. barkeri* y *L. marschallianus* presentan características de tipo xeromórficas, con valores pequeños de longitud y biomasa como respuesta a las bajas temperaturas y al estrés hídrico como otras especies de *Lupinus* (Briceño *et al.*, 2000) (Cuadro 7). Para esta misma variable, no todas las poblaciones de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, de mayor altitud presentan valores bajos, lo que indica plasticidad fenotípica (MacDowell *et al.*, 2008; Mátyás *et al.*, 2010). En el caso de la biomasa de la raíz de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. marschallianus*, no todas las poblaciones provenientes de mayor altitud registran valores menores (Cuadro 7) como lo refieren Briceño *et al.* (2000) para *L. meridanus* Moritz ex. C.P. Smith, y *L. eromonos* C.P. Smith, quienes observaron un menor desarrollo de raíz y biomasa en sitios de alta elevación. Por otra parte, la proporción de biomasa aérea es superior a la de raíz en las especies evaluadas, igual a lo reportado para *L. elegans*, pero diferente en otras especies de la misma familia como

*Senna hirsuta* (L.) H. S. Irwin et Barneby (Ruiz-Reyes et al., 2009). Las leguminosas son empleadas para rehabilitación de suelos, de tal forma que la biomasa aérea y de raíz son características importantes para las propiedades químicas y biológicas en el papel del ciclo de los nutrientes (Ruiz-Reyes-et al., 2009).

El número y longitud de ramas es similar en lo reportado en *L. angustifolius*, donde la humedad influye en el número de ramas de esta especie (Talhinhas et al., 2006). Se ha reportado que el tamaño de las ramas y de la planta total influyen sobre el tamaño final de la inflorescencia y la semilla dentro de cada población (Talhinhas et al., 2006; Simpson y Martins 1984). El ángulo de las ramas es una característica influenciada por el manejo o la densidad de la siembra, y la expresión genética (Nicolas et al., 1996; Böhm et al., 2008; Pospíšil y Pospíšil, 2015), aspecto que se observó en las especies analizadas, las cuales presentaron valores diferentes bajo condiciones de densidad y condiciones ambientales similares en cada ensayo.

Con respecto a la longitud del foliolo central, Dunn y Harmon (1977) reportan valores de 2-2.5 cm para *L. montanus*, valor diferente al obtenido en este estudio para la misma especie. Sin embargo, Lagunes-Espinoza et al. (2012) reportan intervalos de 3.5-9.1 cm en tres poblaciones diferentes de *L. montanus*, en *L. campestris* de 2.8-6 cm. y en *L. exaltatus* 1.9-5.2 cm, valores similares a los reportados en el estudio con las tres especies (Cuadro 8). En poblaciones naturales de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* se reportaron valores de 8-18, 6-16, y 5-16 mm, respectivamente (Lagunes-Espinoza et al., 2012), los cuales fueron similares a los de este estudio (Cuadro 8). El tamaño de la estípula para *L. montanus* fue menor que lo reportado por Dunn y Harmon (1977).

Las longitudes de la inflorescencia totalmente desarrollada desplegadas por *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* fueron similares a las reportadas para las mismas especies en

poblaciones naturales por Lagunes-Espinoza *et al.* (2012), con valores de 4-18.5 cm, 1.5-9.5 cm, y 11.6-45 cm, respectivamente (Cuadro 8). Las flores de los *Lupinus* forman racimos al final de la rama, y de acuerdo con Walker (2011) su formación tarda de 4 a 8 semanas aproximadamente. En *L. marschallianus* y *L. barkeri*, el desarrollo total de sus inflorescencias fue en 3 semanas y en *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* en promedio 4 a 5 semanas. La formación inicia una vez que se detiene el crecimiento de tallo y hojas. El tamaño de la inflorescencia depende de la especie, fase vegetativa de la planta y tamaño de la planta (Walker y Luckett, 2011).

Entre los factores ambientales importantes que promueven o afectan la floración están el número de horas frío con temperaturas entre 1-14 °C y la respuesta de la planta depende de la especie y hasta la variedad (Walker y Luckett, 2011). La falta de horas frío permite un crecimiento continuo de hojas y, por lo tanto, una nula floración, aunque también pueden generarse flores anormales, donde los pétalos serán estrechos. Así, la temperatura puede llegar a retrasar la fenología de las especies y originar un daño en fechas posteriores por su descenso brusco (Reader *et al.*, 1995; Walker y Luckett, 2011). En relación a lo anterior, se observó que *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* fueron afectadas por la falta de horas frío en el ensayo de jardín, aspecto que se reflejó en la menor cantidad de estructuras florales desarrolladas. A pesar de que el ciclo de vida de *L. marschallianus* y *L. barkeri*, es en promedio de 100 días, el desarrollo de estructuras reproductivas se vio igualmente afectado. En las plantas de *Lupinus*, las horas frío pueden ser obligatorias o facultativas, como es el caso de algunas variedades de *L. albus* y *L. angustifolius* (Landers, 1995; Walker y Luckett, 2011). Otros factores que afectan la aparición y desarrollo de la inflorescencia son el pH, la humedad y la densidad del suelo (Herbert, 1977). En el ensayo de campo, la baja densidad de siembra y la menor temperatura

fueron los factores que promovieron la formación de inflorescencias mayores. En jardín, la presencia de temperaturas mayores afectó tanto el desarrollo de las estructuras reproductivas como la sincronización, este último, evento importante para la polinización cruzada.

*L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* presentaron valores superiores en el número promedio de vainas/planta en relación con especies domesticadas como *L. albus* (variedades Fedora y Energy) *L. angustifolius*, (variedad Arabella) que presentan bajo diferentes densidades de siembra en un intervalo de 4-9 vainas/planta (Pospišil y Pospišil, 2015), pero similares en las especies de *L. barkeri* y *L. marschallianus* con 7 y 5 en promedios de vainas/planta, respectivamente (Cuadro 9). Abebe *et al.* (2015) refieren 9-25 vainas/plantas en *L. albus*. Annicchiarico *et al.* (2010), reportan en promedio para la misma especie en las variedades Lodi, Sanluri y Saint Sauvant valores de 20.4, 17.1 y 14.7 vainas/planta respectivamente, en la región del Mediterráneo, donde identificaron genotipos que se adaptan a cada uno de los ambientes. González-Andrés *et al.* (2007) evaluaron 35 accesiones de la península Ibérica con valores de 17-45 vainas/planta.

Los valores de longitud y ancho de vaina para las tres especies y en la mayoría de las poblaciones establecidas en campo en el presente estudio, fueron mayores en comparación con las mismas en jardín, lo que puede atribuirse a las condiciones ambientales y la densidad de siembra a las que se sometieron los ensayos (Pospišil y Pospišil, 2015; Annicchiarico *et al.* 2010). Lagunes-Espinoza *et al.* (2012) reportan valores similares de tamaño de vaina para plantas de *L. campestris*, *L. exaltatus*, y *L. montanus*, recolectadas en poblaciones naturales (Cuadros 5 y 8).

*L. marschallianus* presentó en promedio cuatro semillas por vaina, dato menor a *L. barkeri* (cinco), *L. campestris* (seis), *L. exaltatus* (seis) y *L. montanus* (cinco) todo ello en el ensayo de

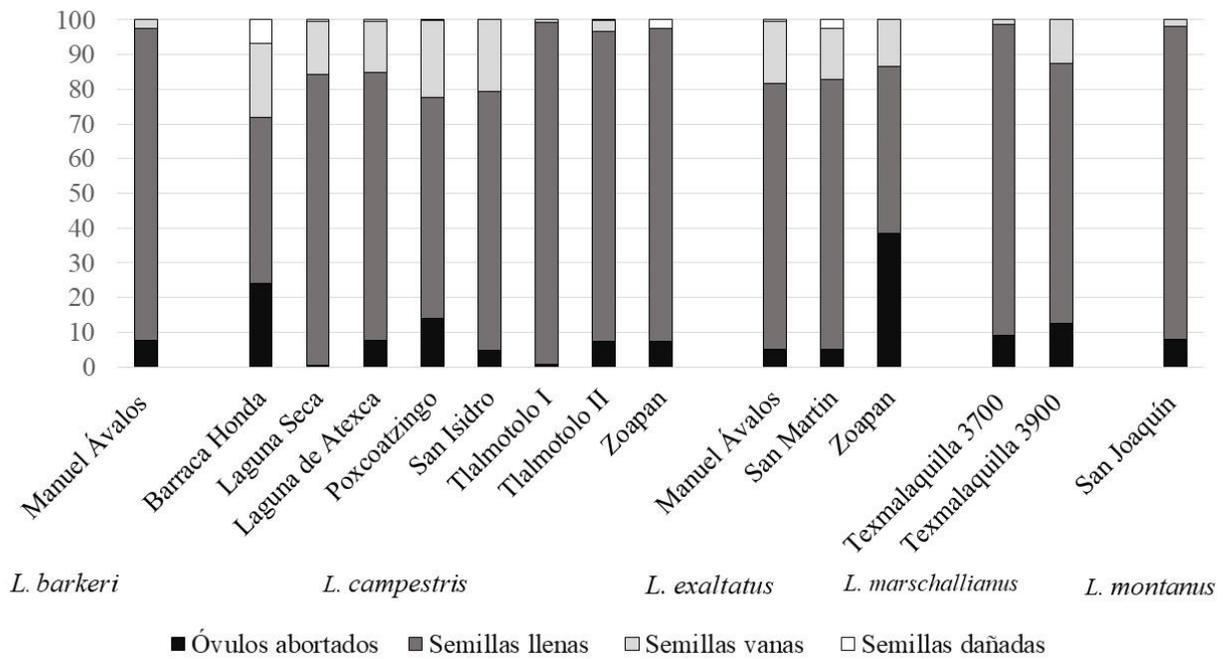
jardín, mientras que en campo las tres especies evaluadas mostraron un promedio de seis semillas/vaina (Cuadros 5 y 8). La única población de *L. montanus* (San Joaquín) que permaneció en jardín se vio afectada por las condiciones ambientales manifestando un menor número de semillas por vaina (Walker, 2011)

En cuanto a la longitud y ancho de las semillas de *L. campestris*, *L. exaltatus*, y *L. montanus*, los valores resultaron menores a lo reportado por Pablo-Pérez *et al.* (2013), para las mismas especies y para *L. hintonii* C. P. Smith. Las semillas de las tres especies en campo resultaron más ligeras en comparación con lo reportado por Lagunes-Espinoza *et al.* (2012) en poblaciones naturales del mismo origen que las probadas.

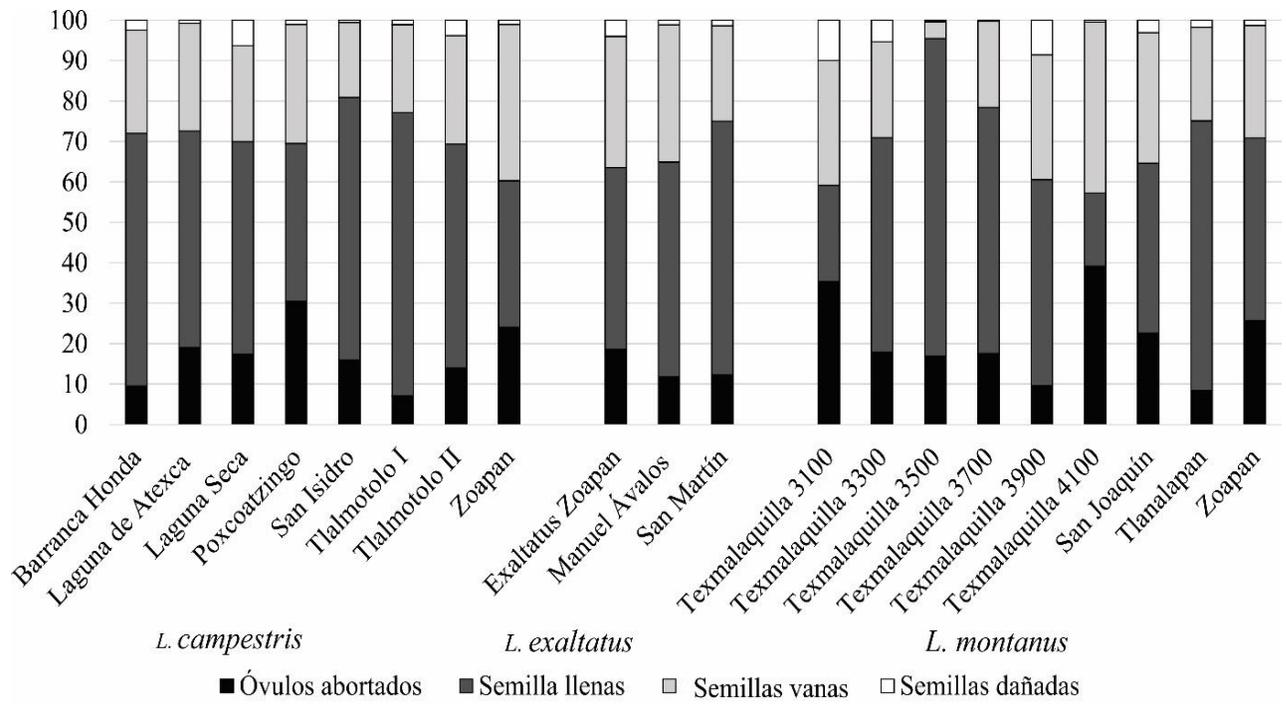
La mayor proporción de semillas llenas se observó en jardín (Figura 1) a pesar de la baja supervivencia de cada una de las especies, lo cual podría parcialmente ser resultado de autopolinización, que para algunas especies del género no constituye un problema en el desarrollo del germoplasma (Manning, 1995). En óvulos abortados, el valor mayor en campo (Figura 2), podría deberse a la falta de polen, debido al reducido número de plantas en prueba (*L. campestris* 288, *L. exaltatus* 108 y *L. montanus* 324) y a la falla en la sincronización en las estructuras reproductivas para la polinización cruzada, además de la disponibilidad de insectos polinizadores (Farrington y Pate, 1981; Dracup *et al.*, 1998), pues la falta de polen disminuye la diversidad genética del lote de semillas y aumenta el porcentaje de óvulos abortados y semillas vanas (Burczyk y Chalupka, 1977). Además de que el ambiente como el componente genético influyen sobre la formación, desarrollo y sincronización de las estructuras reproductivas (Owens y Blake, 1985, Landers, 1995). En *L. angustifolius* y *L. albus* se ha determinado que el ambiente es más importante en la sincronización floral que el componente genético (Walker y Lockett, 2011). Qifu *et al.* (1998) señalan que el porcentaje de semillas vanas y dañadas es producto de

efectos ambientales de campo principalmente por temperatura y aspectos nutrimentales o porque son atacadas por insectos, hongos u áfidos (Hertel *et al.*, 2009), los cuales debieron estar presentes en ambos sitios causando problemas en el desarrollo de las semillas (Figura 1 y 2).

Considerando los valores promedio por especie, de peso en 100 semillas y número de semillas llenas por planta, en el ensayo de campo a una densidad de 10 000 plantas  $\text{h}^{-1}$ , la producción sería de 1458  $\text{kg ha}^{-1}$  para *L. campestris*, 1358  $\text{kg ha}^{-1}$  para *L. exaltatus* y 665  $\text{kg ha}^{-1}$  para *L. montanus*. En jardín, donde la densidad de siembra fue de 200 000 plantas  $\text{ha}^{-1}$  y las condiciones de ambientales son diferentes, la producción se estima en 1064  $\text{kg ha}^{-1}$  para *L. campestris*, 969  $\text{kg ha}^{-1}$  para *L. exaltatus* y 193.2  $\text{kg ha}^{-1}$  para *L. montanus*, valores menores al ensayo de campo. Por lo tanto, *L. campestris* y *L. exaltatus* son las especies prometedoras para la producción de semilla. Sin embargo, es importante considerar la procedencia de las poblaciones para garantizar un alto porcentaje de supervivencia y por lo tanto de producción en campo (Cuadros 4 y 5). Para *L. montanus*, especie con baja supervivencia, es necesario establecer ensayos que permitan delimitar su movimiento, aspecto necesario en poblaciones de la misma especie, así como en poblaciones de *L. campestris* y *L. exaltatus* que al parecer no muestran plasticidad fenotípica.



**Figura 1.** Porcentaje de óvulos abortados y semillas de *L. barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. marschallianus* y *L. montanus* establecidos en un ensayo de jardín



**Figura 2.** Porcentaje de óvulos abortados y semillas de *Lupinus campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* establecido en un ensayo de campo en Tlachichuca, Puebla.

## Conclusiones

La variabilidad en las características de interés agronómico para las especies del género *Lupinus*, son definidas por aspectos genéticos, biológicos y ambientales, particularmente los relativos al manejo como la altitud del sitio de plantación y la densidad de siembra.

Tanto en el ensayo de campo como en la prueba de jardín, a menor elevación que las localidades originarias, se encontraron diferencias en las variables de supervivencia y biomasa relacionadas con la producción de semilla entre especies y entre procedencias probadas.

La variación en la supervivencia y de la mayoría de las características agronómicas resultó significativa en el ensayo en jardín ubicado a 2,240 m s.n.m. entre *Lupinus barkeri*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. marschallianus* y *L. montanus*, presentando mejor desempeño *L. campestris*.

*L. campestris* y *L. exaltatus* son especies promisorias para su domesticación debido a su supervivencia, biomasa y producción de semilla.

## Literatura citada

- Abebe Teferi, T., M. Legesse, and T. Birgame. 2015. Searching and testing of white lupine (*Lupinus albus* L.) for adaptation and resistant to crenate broomrape in Tigray, Ethiopia. *World Journal of Agriculture Sciences* 11(6):341-345.
- Allen, R. G., L. S. Pereira, D. Raes, and M. Smith. 2006. Crops evapotranspiration; Guidelines for computing crop water requirements. *FAO Irrigation and Drainage Paper No. 6* Rome, Italy, FAO. 174 p.
- Annicchiarico, P., N. Harzic, and A. Melchiorre. 2010. Adaptation, diversity, and exploitation of global white lupin (*Lupinus albus* L.) landrace genetic resources. *Field Crops Research* 119: 114-124.
- Barker, A. V., and G. M. Bryson. 2006. Nitrogen. *In*: Barker, A. V., and D. J. Pilbeam. *Handbook of Plant Nutrition*. Taylor and Francis. U.S.A. pp: 21-50.
- Bermúdez-Torres, K., N. R. Robledo Quintos, J. Martínez Herrera, A. Tei, y M. Wink. 2000. Patrón de acumulación de alcaloides en hojas y semillas de *Lupinus aschenbornii* crecidos en México. *Revista Latinoamericana de Química* 27(3): 101-105.
- Bermúdez-Torres, K., J. Martínez Herrera, R. Figueroa Brito, M. Wink, and L. Legal. 2009. Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidpteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *Biocontrol* 54:459-466.
- Briceño, B., A. Azócar, M. Fariñas, y F. Rada. 2000. Características anatómicas de dos especies de *Lupinus* L. de los andes venezolanos. *Pittieria* 29: 21-35.
- Böhm, H., A. Bramm, K. Aulrich, and G. Rühl. 2008. Effect of different sowing densities in mixed cultivation of blue lupin (*Lupinus angustifolius*) with spring crops on yield quality.

- In: Palta, J. A., and J. B. Berger. Lupins for Health and Wealth. Proceedings of the 12<sup>th</sup> International Lupin Conference. Fremantle, Western Australia. pp: 42-46.*
- Burczyk, J. and W. Chalupka. 1997. Flowering and cone production variability and its effects on parental balance in a Scots pine clonal seed orchard. *Annals of Forest Science* 54: 129-144.
- Devall, M. S. 2009. Efectos del cambio climático mundial en los árboles y arbustos raros. *Unasyuva* 60:231-232.
- Dracup, M., B. Thomson, M. Reader, E. J. M. Kirby, I. Shield, and J. Leach, 1998. Day length responses, flowering time and seed filling in lupins. *Australian Journal of Agricultural Research* 49: 1047–1055.
- Dunn, D. B., and W. E. Harmon. 1977. The *Lupinus montanus* complex of Mexico and Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 64: 340-365.
- Farrington, P., and J. S. Pate, 1981. Fruit set in *Lupinus angustifolius* cv. Unicrop. I. Phenology and growth during flowering and early fruiting. *Australian Journal of Plant Physiology* 8: 293–305.
- González-Andrés, F., P. Casquero, C. San-Pedro and E. Hernández-Sánchez. 2007. Diversity in white lupin (*Lupinus albus* L.) landraces of northwest Iberia plateau. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 27-44
- Herbert, S. J. 1977. Growth and grain yield of *L. albus* at different plant populations. *Journal of Agricultural Research* 20: 459-465.
- Hernández-Ferretiz, E., R. K. Rivera Meléndez, O. J. Ramos Herrera, F. C. Salinas Pérez, M. Rodríguez Monrroy, and K. Bermudez Torres. 2008. Effect of scarification treatments on germination of *Lupinus montanus* HBK seeds. *In: J. A. Palta, and J. B. Berger. Lupins*

- for Health and Wealth. Proceedings of the 12th International Lupin Conference. Fremantle, Western Australia. pp: 405-409.
- Hertel, K., K. Roberts, and P. Bowden. 2009. Insect and Mite Control in Field Crops. NSW Department of Industry and Investment, Orange.
- Hertel, K. 2011. Vegetative growth. *In*: Edwards, J., J. Walker, and G. McIntosh. 2011. Lupin Growth y Development. PROCROP. Australia. 84 p.
- Lagunes-Espinoza, L. C, C. Huyghe, and J. Papineau. 2000. Genetic variation for pod wall proportion in *Lupinus albus*. Plant Breeding 119: 421-425.
- Lagunes-Espinoza, L. 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 en *Lupinus* spp. en la región centro-oriente del estado de Puebla, México. Acta Botánica Mexicana 99: 93-90.
- Lagunes-Espinoza, L.C., M. Pablo-Pérez, E. M. Aranda-Ibáñez, J. López-Upton, y J. Ramos-Juárez. 2013. Potencial nutritivo para alimentación animal de leguminosas silvestres del género *Lupinus* del estado de Puebla. Agricultura Sostenible 9: 2979-2988.
- Landers, K.F. 1995. Vernalisation responses in narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius*) genotypes. Australian Journal of Agricultural Research 46: 1011–1025.
- Lara-Cabrera, S. I., N. Alejandro-Melena, E. I. Mesina-Sánchez, y R. Lindig-Cisneros. 2009. Diversidad genética de poblaciones de *Lupinus elegans* Kunth, implicaciones para la restauración ecológica. Revista Fitotecnia Mexicana 32(2):79-86.
- Littell, R. C., G. A. Milliken, W. W. Stroup, and R. D. Wolfinger. 1996. SAS System for Mixed Models. Statistical Analysis System Institute, Cary, NC. 633 p.

- Long Chen, Y., V. M. Dunbabin, J. A. Postma, A. J. Diggle, J. A. Palta, J. P. Lynch, K. H. M. Siddique, and Z. Rengel. 2011. Phenotypic variability and modeling of root structure of wild *Lupinus angustifolius* genotypes. *Plant Soil* 348: 345-364.
- López-Bedillo, L., M. Fuentes, J.C.B. Lhamby, and J. E. Castillo. 1994. Growth and yield of White lupin (*Lupinus albus*) under Mediterranean conditions: effect of sowing date. *Field Crops Research* 36: 87-94.
- López-Upton, J., C. Ramírez-Herrera, O. Plascencia-Escalante, y J. Jasso Mata. 2004. Variación en crecimiento de diferentes poblaciones de las dos variedades de *Pinus greggii*. *Agrociencia* 38: 457-464.
- Manning, R. 1995. Honeybee pollination: Technical data for potential honeybee-pollinated crops and orchards in Western Australian. Department of Agriculture and Food. South Perth, Western Australian. 41 p.
- Mátyás, C., I. Berki, B. Czúcz, B. Gálos, N. Móricz, and E. Rasztoivits. 2010. Future of beech in Southern Europe from the perspective of evolutionary ecology. *Acta Silvatica and Lingaria Hungarica* 6: 91-110.
- McDowell, N., W. T. Pockman, C. D. Allen, D. D. Breshears, N. Cobb, T. Kolb, J. Plaut, J. Sperry, A. West, D. G. Williams, and E. A. Yezzer. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* 178: 719-739
- Mikić, A., B. Čupina, V. Mihailović, Đ. Krstić, S. Antanasović, L. Zorić, V. Đorđević, V. Perić, and M. Srebrić. 2013. Intercropping white (*Lupinus albus*) and Andean (*Lupinus mutabilis*) lupins with other annual cool season legumes for forage production. *South African Journal of Botany* 89: 296-300.

- Montes Hernández., E., M. L. Corona Rangel, A. E. Corona, J. A. Cantor del Angel, J. A. Sánchez López, F. Spore, M. Wink, and K. Bermúdez Torres. 2011. Quinolozidine alkaloid composition in different organs of *Lupinus aschenbornii*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 21(5): 824-828.
- Mülayim, M., A. Tamkoc, and M. Babaoglu. 2002. Sweet white lupins versus local bitter genotype: Agronomic characteristics as affected by different planting densities in the Göller region of Turkey. *European Journal of Agronomy* 17: 181–189.
- Nicolas, M., J. Munier, N. Beltrand, and C. Duihion. 1996. Analysis of branching in spring-sown white lupins (*Lupinus albus* L.): The Significance of the number or axillary buds. *Annals of Botany* 77: 123-131.
- Owens, N. J. and M. D. Blake. 1985. *Forest Tree Seed Production*. Canadian Forest Service, Petawawa National Forestry Institute. Ontario, Canada. Information Report PI-X-53. 161 p.
- Pablo-Pérez, M., L. 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*. *Biagro* 25(2): 101-108.
- Pospíšil, A., and M. Pospíšil. 2015. Influence of sowing density on agronomic traits of lupins (*Lupinus* spp.). *Plan Soil Environ* 9:422-425.
- Qifu, M. N. Longnecker, N. Emery, and C Atkins, 1998. Growth and yield in *Lupinus angustifolius* are depressed by early transient nitrogen deficiency. *Australian Journal of Agricultural Research* 49: 811–819.
- Quinn, G. P., and M. J. Keough. 2002. *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press, New York. pp: 66-67.

- Reader, M. A., M. Dracup and E. J. M. Kirby. 1995. Time to flowering in narrow-leafed lupin. *Australian Journal of Agricultural Research* 46: 1063–1077.
- Rehfeldt, G. E. 2004. Interspecific and intraspecific variation in *Picea englemanii* and its congeneric cohorts: biosystematics, genecology and climate change. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-134. USDA For. Serv. 18 p.
- Ruiz-López, M. A., P. M. García-López, H. Castañeda-Vázquez, N. J. F. Zamora, P. Garzón-De la Mora, J. Bañuelos-Pineda, C. Burbano, M. M. Pesdrosa, C. Cuadrado, and M. Muzquiz. 2000. Chemical composition and antinutrient content of three *Lupinus* species from Jalisco, México. *Journal of Food Composition and Analysis* 13: 193-199.
- Ruiz-Reyes, J. C., M. Gómez Romero, y R. Lindig Cisneros. 2009. Desempeño de *Lupinus elegans* y *Senna hirsuta*, bajo condiciones de restauración ecológica. *Biológicas* 11: 9-15.
- Simpson M., J. and J. M. N. Martins. 1984. Distribution of plant types in *Lupinus albus* L. In: Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Lupin Conference. La Rochelle, France. pp: 88–101.
- 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: 593-608.
- Soto-Correa, J. C., C. Sáenz-Romero, H. Paz, y R. Lindig-Cisneros. 2015. Estrés por sequía en *Lupinus elegans* procedentes de diferentes altitudes. *Maderas y Bosques* 21(1): 35-43.
- Talhinhas, P., J. Leitão, and M. J. Neves-Martins. 2006. Collection of *lupines angustifolius* L. germplasm and characterization of morphological and molecular diversity. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 563-578.

- Viveros-Viveros, H., C. Sáenz-Romero, J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, G. Ramírez Valverde, and A. Santacruz-Varela. 2009. Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I: Height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management* 257: 836-846.
- Vega-Villasante, F., H. Nolasco, C. Montaña, H.L. Romero-Schmidt, y E. Vega-Villasante. 1996. Efecto de la temperatura, acidez, iluminación, salinidad, irradiación solar y humedad sobre la germinación de semillas de *Pachycereus pecten-aboriginum* “cardón barbón” (*Cactaceae*). *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* 41: 51-61.
- Walker, J. 2011. Introduction. *In*: Edwards, J., J. Walker, and G McIntosh. 2011. *Lupin Growth y Development*. PROCROP. Australia. pp: 7-8.
- Walker, J., and D. Lockett. 2011. Reproductive development. *In*: Edwards, J., J. Walker, and G McIntosh. 2011. *Lupin Growth y Development*. PROCROP. Australia. pp: 48-52.
- Walker, J., K. Hertel, P. Parker, and J. Edwards. 2011. *Lupin, Growth & Development*. PROCROP, State of New South Wales through NSW Departement of Industry and Investment, Australia. pp: 1-10.
- Wink, M. 1992. The role of quinolizidine alkaloids in plant insect interactions. *In*: Bernays E., A (ed.) *Insect-plants interactions*. Boca Raton: CRC Press, E.U. pp: 133-169.
- Zamora-Natera, J. F., y T. Terrazas. 2012. Anatomía foliar y del peciolo de cuatro especies de *Lupinus* (Fabaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 83: 687-697.

## CAPÍTULO IV

### DISCUSIÓN GENERAL

*Lupinus* es un género con gran diversidad de especies, considerado como uno de los más complejos desde el punto de vista taxonómico, de tal forma que se han reportado 200, 280, 300 hasta 500 especies en el mundo, las cuales son anuales o perennes (Planchuelo-Ravelo y Wink, 1993; Lewis *et al.*, 2005). En México se estiman alrededor de 110 especies (Sousa-Sánchez y Delgado-Salinas, 1998). Para aclarar parte de tan confusa clasificación, se han desarrollado y aplicado técnicas para definir la clasificación taxonómica de algunas taxa. Entre las características consideradas en la clasificación al interior del género, se encuentran las estructuras reproductivas, las hojas, los folíolos, los peciolos y las estípulas (Dunn y Harmon, 1977; Planchuelo y Dunn, 1980; Barneby, 1991); sin embargo, surgen confusiones cuando las especies tienen similitud en las características antes mencionadas, por lo cual se llega a conformar un complejo de especies (Dunn y Harmon, 1977). Más aún no existen claves de identificación en plantas inmaduras y una pronta diferenciación sería útil en manejo temprano de las especies. Además, la posibilidad de diferenciar las especies en una etapa temprana, permite utilizar características que posteriormente no están presentes en plantas maduras. Con la evaluación de poblaciones de *Lupinus barkeri* Lindl., *L. campestris* Schldl. & Cham., *L. exaltatus* Zucc., *L. marschallianus* Sweet, y *Lupinus montanus* Kunth, durante 60 días, bajo condiciones ambientales controladas en vivero y a través de análisis multivariado se identificaron los caracteres que aportan mayor información para la clasificación. Las variables como longitud del cotiledón, el diámetro del cuello de la raíz, la altura de la planta, el número de hojas, el número de folíolos por hoja y la longitud del folíolo central, permitieron diferenciar a las especies evaluadas. En especies, como *L. angustifolius* L. y *L. albus* L., la altura de planta,

número de foliolos por hoja, longitud del foliolo central, al igual que caracteres cualitativos diferentes a los considerados en este estudio se emplearon exitosamente para clasificar genotipos (Talhinhas *et al.*, 2006; González-Andrés *et al.*, 2007). En trabajos para nuevas especies como en *L. elaphoglossum* Barneby, *L. grisebachianus* C.P. Smith, y *L. subacaulis* Grisebach, se consideraron valores referentes a foliolos, para su clasificación (Planchuelo y Dunn 1980). De igual forma, algunos caracteres correspondientes a las hojas, los foliolos y la altura de planta, fueron empleados para la diferenciación dentro del complejo *montanus* (Dunn y Harmon, 1977). En el presente trabajo, a través de las variables evaluadas y con el análisis de agrupamiento se definen claramente las especies que tienen similitudes, pero con los análisis de varianza se observan las diferencias que permiten la delimitación entre especies.

Aunado a lo anterior, en este estudio se evaluó la diversidad genética, útil para comprender las relaciones entre las poblaciones, las cuales son requisito para el manejo y aprovechamiento eficiente del germoplasma (Albrecht *et al.*, 2012), proporcionan información sobre los procesos genéticos y evolutivos de una especie (Nicolai *et al.*, 2013), además de que otorgan información efectiva para la conservación y aprovechamiento de los recursos, los cuales pueden ser empleados para el mejoramiento genético (Varshney *et al.*, 2005). Para determinar la variación genética se emplearon marcadores genéticos denominados SSR (secuencias repetidas simples) o microsatélites, abundantes en plantas (Condit y Hubbell, 1991). El empleo de las técnicas moleculares es altamente costosa, pero permiten el análisis de las especies y de las poblaciones de forma más precisa ya que no hay un efecto ambiental. Entre las ventajas de los microsatélites se cuentan alta reproducibilidad, permiten una alineación ente 45-60°, son polimórficos (Pradeep *et al.*, 2002), y abundantes en el genoma (Wink, 2006), además de que requieren poco material vegetal para su análisis (Ferval *et al.*, 2013).

Estos marcadores fueron empleados para medir la diversidad entre genotipos amplificados mediante PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa), de regiones del ADN genómico que contienen estas secuencias repetidas. Los niveles de la variación y la estructura genética de las poblaciones en las especies de *Lupinus campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, podría deberse a consecuencia del efecto fundador y cuello de botella (Li *et al.*, 2016), además de los aspectos biológicos y ecológicos que requiere cada especie para crecer y desarrollarse (Michaels *et al.*, 2008).

Con los niveles de polimorfismo que presentaron las tres especies, así como la similitud morfológica, puede indicar la posibilidad de mover germoplasma a condiciones ambientales similares a las de origen, donde fueron recolectadas. Con respecto a diversidad genética ( $H_o$  y  $H_e$ ), *L. montanus* resultó bajo con respecto a las *L. campestris* y *L. exaltatus*, lo cual es el reflejo de la diferenciación genética como resultado de mecanismo de adaptación al ambiente en el cual se establece. De tal forma que de los resultados de este estudio se desprende que pueden emplearse para establecer métodos de selección de poblaciones para el manejo genético de cada una de las especies, así como poder generar o seleccionar variedades que cumplan con los morfotipos requeridos para su aprovechamiento.

Parte del análisis de la diversidad morfológica y genética, incluye la variabilidad que tuvieron las cinco especies de *Lupinus* en un ensayo de jardín y de tres de ellas en un ensayo de campo y, los cuales presentaron condiciones ambientales diferentes.

Con variables agronómicas, de supervivencia y bajo densidades diferentes de siembra, fue posible caracterizar a las poblaciones de cada una de las especies con potencial para su aprovechamiento. Las especies prometedoras registradas fueron *L. campestris* y *L. exaltatus*, por sus valores de supervivencia y de variables agronómicas superiores, entre ellas biomasa y

la producción de semillas llenas por planta. Las poblaciones de *L. montanus* que fueron recolectadas en altitudes de 3000-4100 m.s.n.m., (ambientes fríos) no fueron exitosas al moverlas a altitudes de 2654 m.s.n.m. en el ensayo de campo y a 2249 m s.n.m. en el ensayo de jardín, lo cual se debe a que sus poblaciones están genéticamente muy diferenciadas y adaptadas a su hábitat y contienen poca plasticidad fenotípica (MacDowell *et al.*, 2008; Mátyás *et al.*, 2010) como resultado de un mecanismo de adaptación a los ambientes en los que habitan (Devall, 2009; Walker y Luckett, 2011), lo cual no permite el movimiento del germoplasma a sitios fueran de su intervalos de distribución para el establecimiento de plantaciones, ya que se estarían exponiendo a mayor temperatura y a una posible condiciones de estrés hídrico que pueda afectar su supervivencia (Allen *et al.*, 2006), aunque sus valores en el tamaño de semilla en *L. montanus* sean superiores a los demás.

Las poblaciones de *L. barkeri* y *L. marschallianus* que provienen de sitios altos y fríos, soportaron condiciones ambientales extremas de calor exhibiendo caracteres de tipo xeromórfico (Briseño *et al.*, 2000) y presentaron una supervivencia superior a *L. montanus*. A pesar de ello, su morfología agronómica y rendimiento resultó inferior al resto de las especies evaluadas que sí tuvieron mayor cantidad y tamaño de semillas y follaje, lo anterior no resta importancia a su nicho ecológico dentro del ecosistema. En conclusión. *L. campestris* y *L. exaltatus* son especies promisorias para su domesticación debido a su supervivencia, biomasa y producción de semilla.

## Literatura citada

- Allen, R. G., L. S. Pereira, D. Raes, and M. Smith. 2006. Crops evapotranspiration; Guidelines for computing crop water requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper No. 6  
Rome, Italy, FAO. 174 p.
- Albrecht, E., D. Zhang, R. A. Saftner, and J. R. Stommel. 2012. Genetic diversity and population structure of *Capsicum baccatum* genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution* 59: 517-538.
- Briseño, B., A. Azócar, M. Fariña, y F. Rada. 2000. Características anatómicas de dos especies de *Lupinus* L. de los Andes venezolanos. *Pittieria* 1(30): 21-35.
- Barneby, C. R. 1991. A new infoliate *Lupinus* (Fabacea: Lupininae) from the Brazilian Planalto Britonia 43(3): 168-70.
- Condit, R., and S. P. Hubbell. 1991. Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genome. *Genome* 34: 66-71.
- Devall, M. S. 2009. Efectos del cambio climático mundial en los árboles y arbustos raros. *Unasyva* 60: 231-232.
- Dunn, B. D., and W. E. Harmon. 1977. The *Lupinus montanus* complex of Mexico and Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 64(2): 340-365.
- Ferval, M., L. Legal, C. Gers, C. Péliissier, P. Winterton, J. A. Sánchez López, M. L. Corona Rangel, 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.

- González-Andrés, F., P. Casquero, C. San-Pedro and E. Hernández-Sánchez. 2007. Diversity in white lupin (*Lupinus albus* L.) landraces of northwest Iberia plateau. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54: 27-44
- Li, S. L., A. Vasemägi, and S. Ramula. 2016. Genetic variation and population structure of the garden escaper *Lupinus polyphyllus* in Finland. *Plant System Evolution* 302: 399-407.
- Lewis, G., B. Schrire, B. Mackinder, and M. Lock. 2005. Legumes of the world. Royal Botanic Gardens. Kew, UK. 577 p.
- Nicolai, M., M. Cantet, V. Lefebvre, A. M. Sage-Palloix, and A. Palloix. 2013. Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annuum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genetic Resources and Crop Evolution* 60: 2375-2390.
- Michaels, H. J., X. J. Shi, and R. J. Mitchell. 2008. Effects of population size on performance and inbreeding depression in *Lupinus perennis*. *Oecologia* 154: 651-661.
- Mátyás, C., I. Berki, B. Czucz, B. Gálos, N. Móricz, and E. Rasztoivits. 2010. Future of beech in Southern Europe from the perspective of evolutionary ecology. *Acta Silvatica and Lignaria Hungarica* 6: 91-110.
- McDowell, N., W. T. Pockman, C. D. Allen, D. D. Breshears, N. Cobb, T. Kolb, J. Plaut, J. Sperry, A. West, D. G. Williams, and E. A. Yezzer. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? *New Phytologist* 178: 719-739.
- Planchuelo, A. M., and D. Dunn B. 1980. Clarification of *Lupinus grisebachianus*, *L. subacaulis*, and *L. subinflatus* (Leguminosae). *Brittonia* 32(3): 387-391.

- Planchuelo-Ravelo, A. M., and M. Wink. 1993. Alkaloid composition of *Lupinus albescens* (Fabaceae) from south America. *Verlag der Zeitschrift für Naturforsch* 48c: 414-416.
- Pradeep Reddy, M., N. Sarla, and E. A. Siddiq. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9–17.
- Sousa-Sánchez, M., y A. Delgado-Salinas 1998. Leguminosas mexicanas: fitogeografía, endemismo y orígenes. *In: Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot, y J. Fa (Comp.). Diversidad biológica de México: Orígenes y Distribución. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp: 449-500.*
- Talhinhas, P., J. Leitão, and M. J. Neves-Martíns. 2006. Collection of *Lupinus angustifolius* L. germplasm and characterization of morphological and molecular diversity. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 563-578.
- Varshney, R. K., A. Graner, and M. E. Sorrells. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *TRENDS in Biotechnology* 23: 48-55.
- Walker, J., and D. Lockett. 2011. Reproductive development. *In: Edwards, J., J. Walker, and G McIntosh. 2011. Lupin Growth y Development. PROCROP. Australia. pp: 48-52.*
- Wink, M. 2006. Use of DNA markers to study bird migration. *Journal of Ornithology* 147: 234–244.

- Planchuelo-Ravelo, A. M., and M. Wink. 1993. Alkaloid composition of *Lupinus albescens* (Fabaceae) from south America. *Verlag der Zeitschrift für Naturforsch* 48c: 414-416.
- Pradeep Reddy, M., N. Sarla, and E. A. Siddiq. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9–17.
- Sousa-Sánchez, M., y A. Delgado-Salinas 1998. Leguminosas mexicanas: fitogeografía, endemismo y orígenes. *In: Ramamoorthy, T. P., R. Bye, A. Lot, y J. Fa (Comp.). Diversidad biológica de México: Orígenes y Distribución. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp: 449-500.*
- Talhinhas, P., J. Leitão, and M. J. Neves-Martíns. 2006. Collection of *Lupinus angustifolius* L. germplasm and characterization of morphological and molecular diversity. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 563-578.
- Varshney, R. K., A. Graner, and M. E. Sorrells. 2005. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *TRENDS in Biotechnology* 23: 48-55.
- Walker, J., and D. Luckett. 2011. Reproductive development. *In: Edwards, J., J. Walker, and G McIntosh. 2011. Lupin Growth y Development. PROCROP. Australia. pp: 48-52.*
- Wink, M. 2006. Use of DNA markers to study bird migration. *Journal of Ornithology* 147: 234–244.