

Respuesta de *Lupinus* a la escarificación química y dos medios de cultivo en la propagación *in vitro*

José Gabriel García-Hernández¹

Nydia del Rivero-Bautista^{1,§}

Luz del Carmen Espinoza-Lagunes¹

Alfonso Azpeitia-Morales²

Ramón Díaz-Ruiz³

Rocío Guadalupe Acosta-Pech¹

1 Campus Tabasco-Colegio de Postgraduados. Periférico Carlos A. Molina s/n, Col. Río Seco y Montaña, Cárdenas, Tabasco. CP. 86500. Tel. 937 3722386, ext. 5027.

2 Campo Experimental Huimanguillo-INIFAP. Carretera Federal Huimanguillo-Cárdenas km 1, Huimanguillo, Tabasco. CP. 86400. Tel. 917 3750398.

3 Campus Puebla-Colegio de Posgraduados. Carretera Federal México-Puebla, Boulevard Forjadores de Puebla, Santiago Momoxpan, Heroica Puebla de Zaragoza, Puebla. CP. 72760. Tel. 222 2851442.

Autora para correspondencia: rnidya@colpos.mx.

Resumen

En México el género *Lupinus*, presenta una gran riqueza de especies y sus semillas generalmente muestran latencia. El objetivo fue evaluar el efecto de la escarificación química en dos medios de cultivo en semillas de tres especies de *Lupinus*. La investigación se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos del Campus Tabasco del Colegio de Postgraduados. Se emplearon tres tiempos (20, 30 y 40 min) de inmersión en ácido sulfúrico al 98%, semillas de tres especies de *Lupinus* *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* y los medios de cultivo MS y Gamborg con y sin Fe-EDTA. Las variables evaluadas fueron el porcentaje de germinación, longitud de raíz, longitud de tallo y número de hojas. Los resultados mostraron que hubo una interacción significativa entre los tratamientos evaluados, el tiempo de inmersión en el ácido sulfúrico influyó en la germinación de las semillas. El mayor porcentaje de germinación (83) se alcanzó en un tiempo de inmersión de 30 min para *L. exaltatus*. Mientras que, para *L. campestris* el porcentaje de germinación fue de 63 y para *L. montanus* de 12. En el medio de cultivo Gamborg con Fe-EDTA el porcentaje de germinación fue de 82 y sin Fe-EDTA de 72 para *L. exaltatus*, seguido por *L. campestris* y *L. montanus*. Las variables de crecimiento evaluadas mostraron valores altos en el medio de cultivo Gamborg sin la adición de Fe-EDTA, en su caso contrario las variables analizadas mostraron incrementos en los valores obtenidos. En el medio de cultivo MS con y sin Fe-EDTA los valores encontrados fueron menores comparados con el medio de cultivo Gamborg.

Palabras clave:

cultivo de tejidos, dormancia, escarificación, fabaceae.



License (open-access): Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una licencia **Creative Commons**

Introducción

El género *Lupinus* pertenece al orden Fabales, familia Fabaceae y tribu Genistae, ampliamente extendido a nivel mundial. Presenta una rica diversidad de especies que se dividen en dos grandes grupos: 13 especies del norte del Mediterráneo y dos en el este de África (Grether, 2005). No existe un número exacto de taxa de este género, Planchuelo (1999) indica alrededor de 1700 especies, aunque Clements *et al.* (2005) mencionan al menos 600. El género *Lupinus* L. incluye un dinámico grupo de especies caracterizadas por sus hojas palmaticompuestas y sus flores papilionadas en racimos terminales. La plasticidad para adaptarse a diferentes ambientes, la facilidad de sufrir cambios genéticos y la variabilidad fenotípica hace que la delimitación de especies sea una tarea muy difícil, que condujo a confusiones nomenclaturales (Planchuelo, 1999; Eastwood *et al.*, 2008; Planchuelo, 2022).

En México, las especies silvestres de este género se distribuyen en la mayor parte del territorio nacional, con una alta concentración en la sierra Madre Occidental y el Eje Neovolcánico Transversal (Ruiz-López *et al.*, 2006), donde existe una alta diversidad de especies (Bermúdez-Torres *et al.*, 2009). El género está representado por plantas anuales, bianuales o perennes, herbáceas, arbustivas y arbóreas, con hojas alternas y estipuladas, generalmente palmado compuestas, de 4 a 17 folíolos (Wolko *et al.*, 2010).

En su forma silvestre, todas las especies de *Lupinus* contienen alcaloides que son sustancias tóxicas que confieren sabor amargo al grano y a las partes verdes de las plantas (Mera, 2016), lo que llevó a la búsqueda de ejemplares sin alcaloides (Australian Government, 2013). Actualmente, cuatro especies se cultivan en diferentes partes del mundo (*L. albus* L., *L. angustifolius* L., *L. luteus* L. y *L. mutabilis* Sweet), cuyos granos representan una fuente importante de proteínas para alimentación humana y animal (Nuñez, 2021).

Las semillas de especies silvestres de *Lupinus* muestran latencia física, asociada al endurecimiento de la cubierta de la semilla, por lo que son impermeables, tanto al agua como al oxígeno (Rodríguez y Rojo, 1997; Pablo-Pérez *et al.*, 2013; Sánchez-Soto *et al.*, 2017). Generalmente, la germinación de semillas con testa dura es errática y las plántulas son frágiles, por lo que para su propagación es necesario conocer los factores que influyen en la latencia y germinación de estas semillas.

Para romper la latencia física en semillas, se emplea la técnica de escarificación que consiste en volver permeable la testa de la semilla para estimular la imbibición de agua (Medina-Sánchez y Lindig-Cisneros, 2005; Mator *et al.*, 2019). Entre los métodos más habituales están los que utilizan tratamientos químicos y los mecánicos. Los estudios relacionados con *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, indican que la escarificación con ácido sulfúrico promueve la germinación, aunque la respuesta es variable dependiendo de la especie (Acosta-Perscástegui y Rodríguez-Trejo, 2005; Gutiérrez *et al.*, 2010; Garduza-Acosta *et al.*, 2020). Esta leguminosa se caracteriza por su elevado contenido en proteína, aceite y alcaloides, así como, fuente de proteína en alimentos para animales (Águila *et al.*, 2018). Sin embargo, las especies del género *Lupinus*, tiene semillas de testa dura e impermeable a la humedad y oxígeno, por lo que requieren de tratamientos de escarificación para inducir el ablandamiento y con ello la germinación (Australian Government, 2013).

Por otro lado, el cultivo *in vitro* puede ser una herramienta importante para la multiplicación de especies de *Lupinus*, además de permitir contar con material aséptico de cultivos de células y tejidos *in vitro*, para estudios fisiológicos y agronómicos de estas especies. En *L. montanus* se ha observado que el cultivo del epicótilo en medio MS con 3 μM IAA y 1 μM BA ha mostrado el incremento del número de tallos, así como su altura (Ramírez-González *et al.*, 2015). Por lo anterior el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la escarificación química y dos medios de cultivo en semillas de tres especies de *Lupinus*.



Materiales y métodos

Material vegetal

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de cultivo de tejidos del *Campus* Tabasco del Colegio de Postgraduados. Vainas maduras de *L. campestris* Schltdl & Cham, *L. montanus* Kunt y *L. exaltatus* Zucc fueron recolectadas en los municipios de Chalchicomula de Sesma y Tlachichuca del estado de Puebla, México ubicadas a 19°04' latitud norte; 97°19' longitud oeste y una altitud de 3 442 m.

Las semillas fueron separadas de las vainas, secadas a temperatura ambiente y almacenadas aproximadamente durante tres meses a 4 °C en envases de plástico para el análisis de germinación. La Figura 1 muestra las semillas de las tres especies en estudio.

Figura 1. Semillas de *Lupinus*. a) *L. campestris*; b) *L. exaltatus* y c) *L. montanus*, utilizadas para evaluar el efecto de la escarificación química y dos medios de cultivo.



Escarificación y siembra

Previo a la aplicación de los tratamientos de escarificación, se evaluó el porcentaje de viabilidad de las semillas con el uso de cloruro de tetrazolio al 0.3% (Salazar-Mercado *et al.*, 2020) para determinar la capacidad germinativa (viabilidad de las semillas). La escarificación se realizó con ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 98%.

Tratamientos para escarificación

T₀= testigo, T₁=20 min de inmersión en ácido sulfúrico, T₂= 30 min de inmersión en ácido sulfúrico, T₃= 30 min de inmersión en ácido sulfúrico.

T ₀ + <i>L. campestris</i>	T ₁ + <i>L. campestris</i>	T ₂ + <i>L. campestris</i>	T ₃ + <i>L. campestris</i>
T ₀ + <i>L. exaltatus</i>	T ₁ + <i>L. exaltatus</i>	T ₂ + <i>L. exaltatus</i>	T ₃ + <i>L. exaltatus</i>
T ₀ + <i>L. montanus</i>	T ₁ + <i>L. montanus</i>	T ₂ + <i>L. montanus</i>	T ₃ + <i>L. montanus</i>

Los medios de cultivo empleados fueron el (MS) propuesto por Murashige y Skoog (1962); Gamborg *et al.* (1968).

Tratamientos para germinación

Gamborg + Fe-EDTA + <i>L. campestris</i>	Gamborg + <i>L. campestris</i>
Gamborg + Fe-EDTA + <i>L. exaltatus</i>	Gamborg + <i>L. exaltatus</i>
Gamborg + Fe-EDTA + <i>L. montanus</i>	Gamborg + <i>L. montanus</i>
MS + Fe-EDTA + <i>L. campestris</i>	MS + <i>L. campestris</i>
MS + Fe-EDTA + <i>L. exaltatus</i>	MS + <i>L. exaltatus</i>
MS + Fe-EDTA + <i>L. montanus</i>	MS + <i>L. montanus</i>

Como agente gelificante se utilizó el Agar Agar® (Sigma) a razón de 5 g L⁻¹. El pH se ajustó a 5.8. La esterilización se realizó en autoclave marca CV300 (fabricación nacional) a una temperatura de 121 °C y 1.2 kg cm⁻² de presión, durante 15 min. Para la germinación, las semillas escarificadas en el medio de cultivo se colocaron en una cámara de crecimiento marca Thermo Scientific™ Precision™ modelo 818, programada a una temperatura de 20°,15 °C y con un fotoperiodo de 14 h luz y 10 h oscuridad.

Cada tratamiento de escarificación y crecimiento estuvo compuesto por 20 repeticiones (tubos de ensayo). En cada tubo se colocó una semilla. Los experimentos se replicaron tres veces. A los 15 días de cultivo se evaluó: el número de semillas germinadas y se expresó en porcentaje (%). A los 45 días de cultivo, se evaluaron la longitud de raíz (cm, medida con una regla de 30 cm), longitud de tallo (cm, medido con una regla de 30 cm) y el número de hojas.

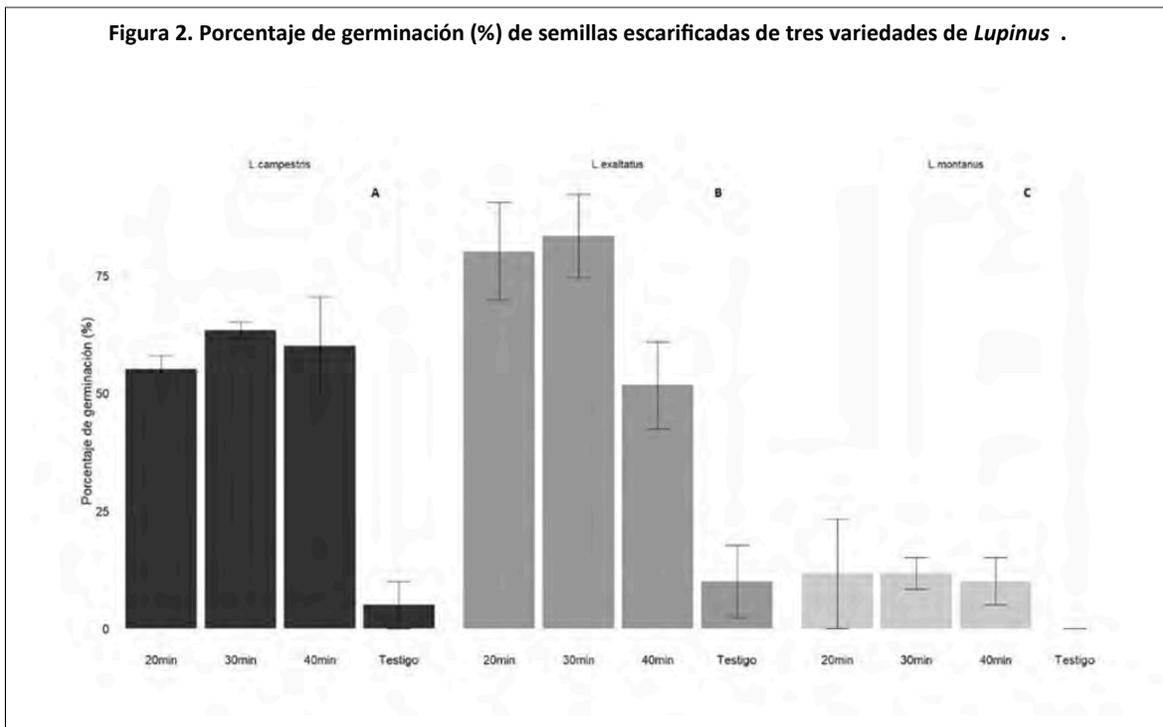
Análisis estadístico

Los experimentos se realizaron bajo un esquema de un diseño completamente al azar. Los datos experimentales de las variables evaluadas se procesaron estadísticamente mediante un análisis de varianza con arreglo factorial. La comparación de las medias se efectuó según rangos de Tukey ($p \leq 0.05$). Todos los análisis se realizaron con el software estadístico R Core Team versión 4.2.2. para Windows de Microsoft®

Resultados y discusión

Respuesta a la escarificación química

Los resultados mostraron diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados. La interacción fue significativa (p -value= 0.003), el tiempo de inmersión afectó la germinación de las semillas de las tres especies de *Lupinus* en estudio (Figura 2).

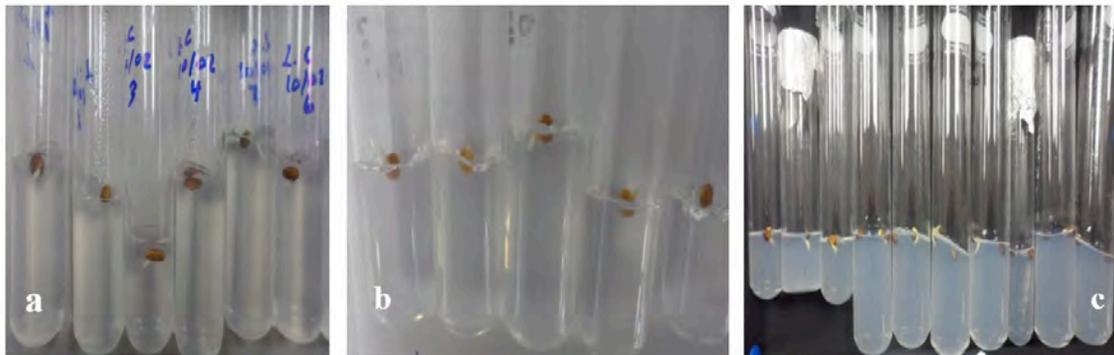


Las semillas de las tres especies de *Lupinus* en el tratamiento testigo (sin escarificar) mostraron bajos porcentajes de germinación. Para la especie *L. campestris* se obtuvieron porcentajes de germinación de 55, 63 y 60, a medida que se incrementó el tiempo de escarificación el porcentaje de semillas germinadas disminuyó.

Mientras que, para *L. exaltatus* los porcentajes de germinación fueron de 80, 83 y 52 en los tiempos de inmersión en ácido sulfúrico de 20, 30 y 40 min respectivamente. La especie *L. montanus*, mostró porcentajes de germinación de 12 y fueron los más bajos para los tres tiempos de inmersión.

Esto demuestra que el ácido logró reblandecer la testa dura de las semillas de las especies estudiadas permitiendo su permeabilidad, lo que influyó en la respuesta a la germinación de semillas de *L. campestris* y *L. exaltatus* las cuales presentaron los mayores porcentajes de germinación entre las especies evaluadas. En la Figura 3, se puede observar que los embriones de las semillas en los tratamientos evaluados no presentaron daños.

Figura 3. Evaluación visual de semillas escarificadas con ácido sulfúrico al 98% y el tiempo: a) *L. campestris* (30 min); b) *L. exaltatus* (30 min) y c) *L. montanus* (40 min).



La respuesta diferencial *in vitro* a la escarificación química de las semillas *Lupinus* estudiadas puede deberse a diferencias en la constitución de los tejidos que conforman la testa de esta especie, las condiciones que prevalecieron durante su maduración o la respuesta al medio de cultivo (Clements *et al.*, 2005). Mediante la escarificación la semilla se agrieta y reblandece la cubierta, lo que permite la entrada de agua, oxígeno, luz y consecuentemente se activa la germinación (Medina-Sánchez y Lindig-Cisneros, 2005; Sánchez-Soto *et al.*, 2017).

Los resultados obtenidos en semillas de *L. montanus*, difieren con los obtenidos por Acosta-Percástegui y Rodríguez-Trejo (2005) en semillas de la misma especie, pero colectadas en el Parque Nacional Cumbres del Ajusco en México, DF a 3 200 msnm., donde con 15 min de exposición al ácido sulfúrico lograron el 100% de germinación en cajas Petri con papel húmedo. Mientras que, para *L. campestris* Gutiérrez *et al.* (2010) obtuvieron 50% de germinación con un tiempo de inmersión en ácido sulfúrico de 90 minutos, resultados inferiores a los alcanzados en esta investigación.

Para *L. elegans* Kunth, otra especie presente en México, se han observado porcentajes de germinación entre 88 y 91 cuando escarificaron las semillas con ácido sulfúrico en un tiempo de inmersión de 30 o 60 min (Medina-Sánchez y Lindig-Cisneros, 2005; Corona *et al.*, 2007). En el caso de *L. exaltatus*, los porcentajes de germinación obtenidos fueron muy superiores a los de Garduza-Acosta *et al.* (2020), con el mismo ácido sulfúrico por 15 min. Pero la respuesta a la escarificación química, indica que las semillas de las diferentes especies de *Lupinus* silvestres estudiadas tienen testas duras o poco permeables, lo que influye en la latencia que presentan y limita su desarrollo agronómico (Pablo-Pérez *et al.*, 2013).

Respuesta al medio de cultivo

Los resultados mostraron diferencias significativas (p -value= 0.019) en los tratamientos cuando se emplearon dos medios de cultivo Gamborg (B5) y Murashige y Skoog (MS) que contenían Fe-EDTA. Se alcanzaron porcentajes de germinación de 55, 82 y 31 de las semillas de *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, respectivamente. Mientras que, en el medio de cultivo MS los porcentajes de germinación disminuyeron y fueron de 45, 37 y 9 para *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus*, respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de germinación (%) de tres especies de *Lupinus* evaluadas en dos medios de cultivo Gamborg (G-CFe) y MS (MS-CFe).

Medio de cultivo	Variedad		
	<i>L.campestris</i>	<i>L.exaltatus</i>	<i>L.montanus</i>
MS-Fe	45	37	9
Gamborg-Fe	55	82	31

En este estudio cuando a los medios de cultivo Gamborg (B5) y MS no se les adicionó el Fe-EDTA, el mejor porcentaje (72) de germinación fue para *L. exaltatus* en el medio de cultivo Gamborg. Sin embargo, las semillas de *L. campestris* y *L. montanus* obtuvieron mejor respuesta en el porcentaje de germinación de 56 y 28, respectivamente en el medio de cultivo MS sin adición de Fe-EDTA comparado con el medio de cultivo Gamborg bajo las mismas condiciones (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de germinación (%) de tres especies de *Lupinus* evaluadas en dos medios de cultivo Gamborg (G-SFe) y MS (MS-SFe).

Medio de cultivo	Variedad		
	<i>L.campestris</i>	<i>L.exaltatus</i>	<i>L.montanus</i>
MS-Fe	56	53	28
Gamborg-Fe	54	72	18

La menor respuesta de las especies evaluadas al medio MS, puede deberse a que este medio presenta unos de los potenciales osmóticos más negativos (Cárdenas y Villegas, 2002), lo que dificulta la entrada de agua a la semilla. Este efecto osmótico y tóxico por la presencia de sales puede inhibir la germinación. La presencia de sales en el medio disminuye el potencial hídrico, provocando una menor disponibilidad de agua para las semillas de manera que estas deben generar suficiente potencial osmótico para mejorar el estatus hídrico de los embriones y permitir su crecimiento (Goycokic y Saavedra, 2007).

El estrés osmótico también podría potenciar la síntesis de ABA que es uno de los principales causantes de la latencia en semillas (Raghavendra *et al.*, 2010). En el caso de la respuesta de *L. montanus* al medio MS con adición de Fe, podría deberse a una menor tolerancia de esta especie a una mayor acumulación de iones del medio MS en comparación con el de Gamborg, ya que al eliminarle el EDTA-Fe, se observó un incremento en el porcentaje de germinación de esta especie.

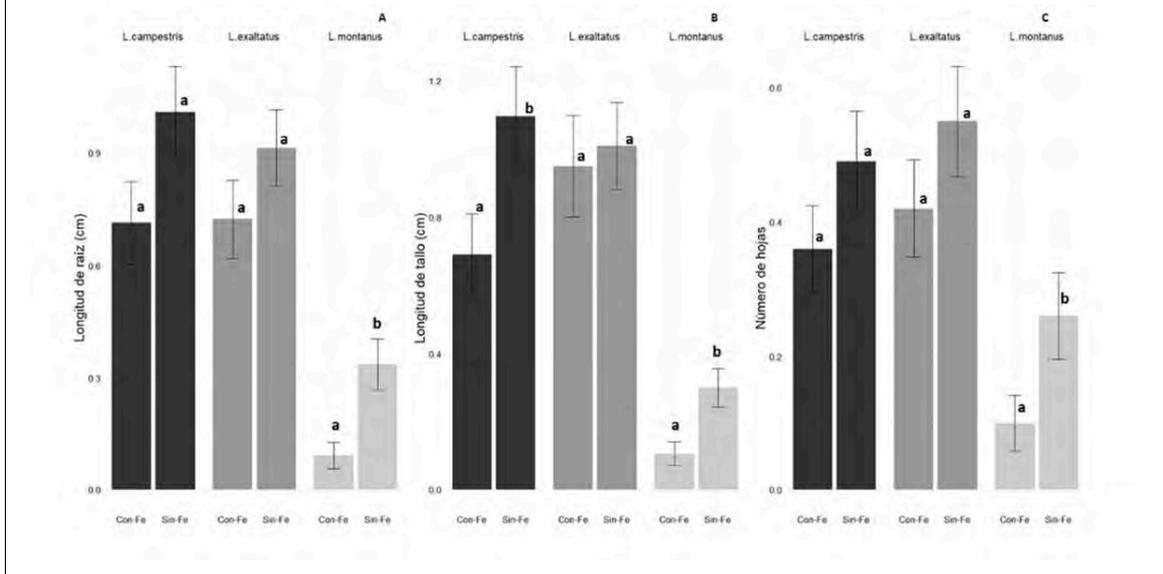
Las semillas de *L. montanus* contienen 73.7 mg L⁻¹ de Fe (Pablo-Pérez *et al.*, 2013) y las especies y genotipos de altramuza difieren en su germinación y crecimiento en respuesta a variaciones del pH y al contenido de microelementos en el medio de cultivo (Tang *et al.*, 1992; Sánchez-Soto *et al.*, 2017). Una baja germinación en MS también se ha observado al compararlo con otros medios basales que difieren en su composición y de menor concentración de sales tales como WPM, Anderson y White's (Bueno *et al.*, 2009).

Por ejemplo, los valores de máxima germinación de los medios que contienen MS sugieren que la germinación de *U. molinae* Turczaninow es muy sensible a la presencia de sales en el medio,

el efecto inhibitor de este medio de cultivo se evidencia incluso en bajas concentraciones como utilizar un 1/6 del medio de cultivo MS (Rodríguez *et al.*, 2014). En lo que respecta a las variables de crecimiento los resultados mostraron diferencias estadísticas significativas (p -valor= 0.0018 < α para la variable longitud de raíces, en el caso de la variable número de hojas, se obtuvo un p -valor= 0.0126 < α y para longitud de tallos p -valor= 0.0197 < α).

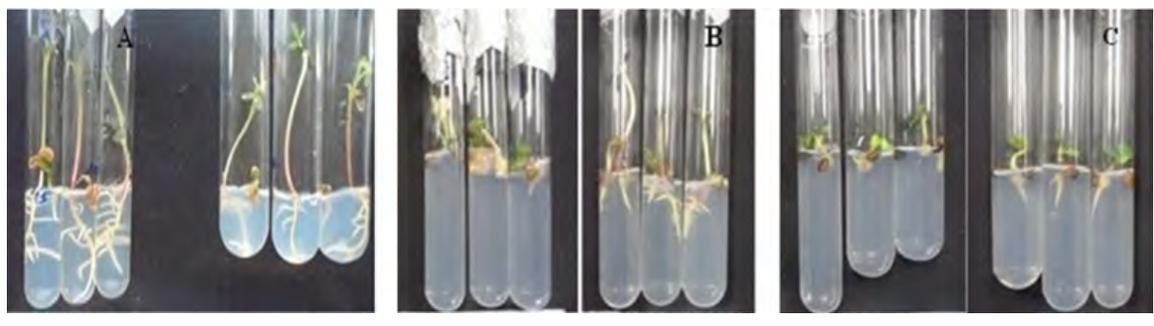
Cuando el medio de cultivo MS contenía Fe-EDTA, la longitud de raíces, longitud de tallo y número de hojas disminuyó en las tres variedades evaluadas. Mientras que, cuando el medio de cultivo no contenía Fe-EDTA las variables evaluadas incrementaron sus valores en las tres variedades *L. campestris*, *L. exaltatus* y *L. montanus* (Figura 4).

Figura 4. Variables de crecimiento de tres variedades de *Lupinus* . Longitud de raíces (cm), longitud de tallo (cm) y número de hojas en medio de cultivo MS (MS-CFe y MS-SFe).



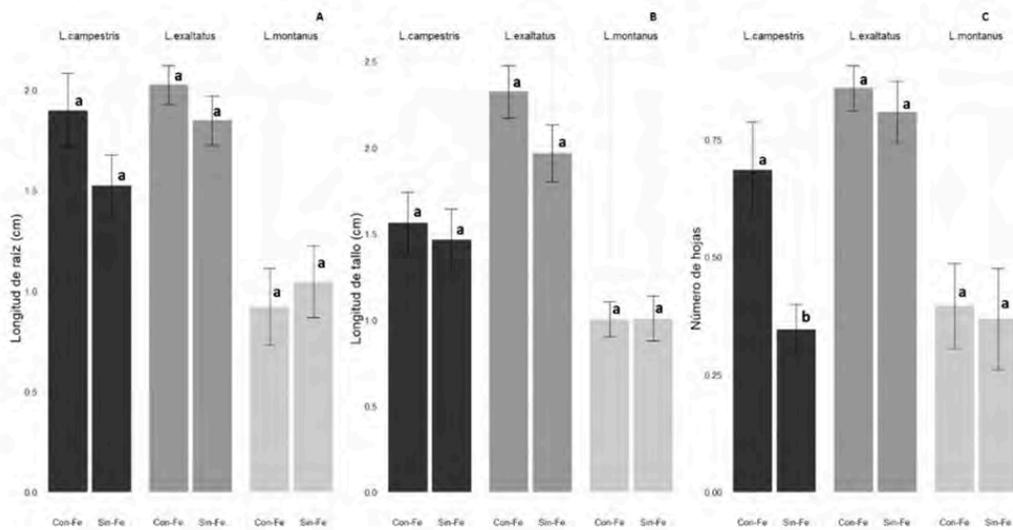
En la Figura 5 se pueden observar las diferencias en el crecimiento de las tres variedades de *Lupinus* evaluadas cuando el medio de cultivo MS estaba con (izquierda) y sin (derecha) de Fe-EDTA.

Figura 5. Crecimiento y desarrollo de tres variedades de *Lupinus*. A) *L. campestris*; B) *L. exaltatus* y C) *L. montanus* en el medio de cultivo MS (MS-CFe y MS-SFe) a los 45 días de cultivo.



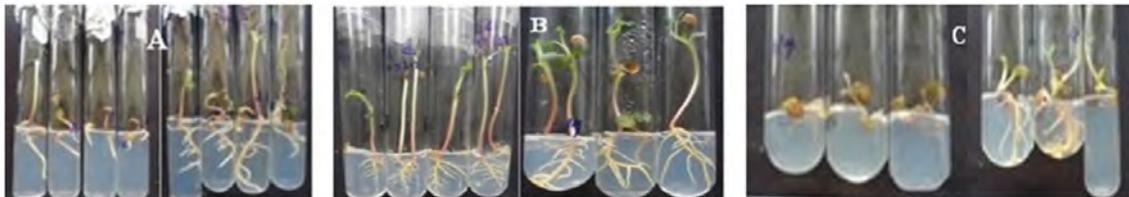
Para las variables de crecimiento, se obtuvieron diferencias estadísticas significativas en el medio de cultivo Gamborg (Figura 6). Cuando el medio de cultivo contenía Fe-EDTA la respuesta de las tres variedades de *Lupinus* fue mejor que cuando no se le adicionó.

Figura 6. Variables de crecimiento de tres variedades de *Lupinus*. Longitud de raíces (cm), longitud de tallo (cm) y número de hojas en medio de cultivo Gamborg (G-CFe y G-SFe).



Se pueden observar las diferencias en el crecimiento de las tres variedades de *Lupinus* evaluadas en el medio de cultivo Gamborg con (izquierda) y sin (derecha) de Fe-EDTA (Figura 7).

Figura 7. Crecimiento y desarrollo de tres variedades de *Lupinus*. A) *L. campestris*; B) *L. exaltatus* y C) *L. montanus* en el medio de cultivo Gamborg (G-CFe y G-SFe) a los 45 días de cultivo.



Los resultados obtenidos se deben a que el medio de cultivo MS tiene alta concentración de minerales, es un medio rico y salino que puede ser perjudicial para ciertas especies de plantas, para evitar esto, es utilizado a menudo con la concentración de los microelementos completos y los macroelementos a la mitad o tres cuartos de la concentración descrita originalmente (Murashige y Skoog, 1962). Los contenidos y la fuente de amonio difieren en los dos medios de cultivo empleados, los iones de amonio disminuyen el crecimiento celular cuando las concentraciones exceden de 2 mM. Esta reducción en el índice de crecimiento se debe a la inhibición de algunas enzimas del ciclo de Krebs (Gamborg, 1970).

Estos resultados difieren de los logrados por Karaguzel *et al.* (2004) en *L. varius* L., donde obtuvieron plántulas con una altura de 5.81 cm y longitud de raíces de 7.5 cm a los 12 días de cultivo en un invernadero de plástico con tratamientos de 14 y 16 horas y con el uso de iluminación foteriódica. Los resultados alcanzados indican que *L. varius* L., se comporta como una planta facultativa de día largo. En *L. montanus* se alcanzaron alturas de plántulas de 11.5 cm cuando en el medio de cultivo adicionaron una auxina y una citoquinina (Ramírez-González *et al.*, 2015).

Esto puede ser debido al efecto del estrés oxidativo generado por una acumulación de Fe en exceso en el medio de cultivo o la liberación de formaldehído en el medio de cultivo por la fotodegradación del Fe-EDTA (Molassiotis *et al.*, 2003). En mutantes de chícharo (*Pisum sativum* L.) con defectos

en la regulación de la absorción del hierro, se observó que el Fe se acumula en las ferritinas y estas precipitan dicho metal para depositarlo en forma de partículas denso-electrónicas en el citoplasma, mitocondrias y retículo endoplasmático y que esto constituye un mecanismo de defensa de la planta contra la acumulación excesiva de Fe soluble el cual da lugar a estrés oxidativo (Becker *et al.*, 1988; Lazarowski *et al.*, 2022).

Los medios de cultivo contienen diferente composición salina, el estrés osmótico provocado por un medio rico en sales podría hacer que el metabolismo de los tejidos vegetales estimule la liberación de compuestos que son fáciles de oxidar y dan lugar a fitotóxicos (Turkan y Demiral, 2009). El Fe es esencial para el crecimiento celular y se le debe agregar al medio de cultivo en una concentración de 0.01 a 0.15 mM bajo la forma de quelato Fe-EDTA; ya que, esta forma aumenta la solubilidad del hierro (Llorente, 2000).

El Fe puede participar en reacciones donde se liberan radicales libres y otras especies de oxígeno reactivas que son tóxicas. Este estrés oxidativo puede llevar a la disfunción de actividades metabólicas y daño en el ADN (Molassiotis *et al.*, 2003). La respuesta al estrés por Fe varía entre las especies de *Lupinus*, ya que la formación de raíces en racimos en condiciones de estrés con Fe depende de los mecanismos de absorción de los iones y la correlación de la actividad de la ATPasa de la raíz y el transporte de iones a través de la membrana plasmática.

La investigación de Marschner (1995) refiere que en términos de la gran capacidad de las raíces excreta protones y reduce el Fe(III), y se asemejan a las zonas de raíces apicales que contienen células de transferencia. Ciertamente, las especies de *Lupinus* como *L. albus* L., *L. cosentinii* Guss. y *L. pilosus* L., que producen raíces en racimo, son mucho menos sensibles a la deficiencia de hierro en comparación con las especies de *Lupinus* que no producen raíces en racimo, como *L. angustifolius* y *L. luteus* (Tang y Robson, 1993; Tang *et al.*, 1995; Planchuelo, 2022). En las raíces en racimo de *L. albus* que se desarrollan bajo estrés por hierro, las raicillas individuales no se hinchan y alcanzan menos ancho que las que se desarrollan bajo estrés por fosfato.

Conclusiones

La escarificación química promovió la germinación *in vitro* de las especies silvestres de *Lupinus* evaluadas. El mayor porcentaje de germinación para *L. campestris* fue de 83, *L. exaltatus* de 63 y *L. montanus* de 12, respectivamente y se obtuvo cuando las semillas estuvieron en inmersión en ácido sulfúrico durante 30 min. El medio de cultivo influyó en la germinación de las especies en estudio. En *L. exaltatus* se encontró el mayor porcentaje de germinación en el medio de cultivo Gamborg con Fe-EDTA y sin Fe-EDTA donde se registró mejor respuesta en *L. exaltatus*.

Las variables de crecimiento longitud de raíces, longitud de tallo y número de hojas los mejores resultados se alcanzaron en el medio de cultivo Gamborg con Fe-EDTA cuando se comparó con los resultados logrados en el medio de cultivo MS. Por lo tanto, se concluyó que la escarificación química y el tiempo de inmersión influyen en la germinación de las semillas, pero depende de la especie. El medio de cultivo contribuye en la germinación sin la adición de Fe-EDTA.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT): proyecto CB-2012-01-181428) y a la Línea Prioritaria de Investigación Conservación y Mejoramiento de Recursos Genéticos del Colegio de Postgraduados por el apoyo económico para la realización del presente estudio.

Bibliografía

- 1 Acosta-Percástegui, J. and Rodríguez-Trejo, D. A. 2005. Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia*. 30(9):576-579.

- 2 Águila, S. I.; Vázquez, C. O.; López, U. J.; López, L. A.; Martínez, R. E.; García, G. E. y Zamora, C. E. M. 2018. Variación morfológica y reproductiva de nueve poblaciones naturales de *Lupinus campestris* Cham. & Schltndl. de la región centro oriente de Puebla, M. *Revista Científica Biológico-Agropecuaria*. 6(2):89-95. Doi: 10.47808/revistabioagro.v6i2.Especial.261.
- 3 Australian, Government 2013. The biology of *Lupinus* L. (lupin or lupine). Department of Health, office of the gene technology regulator. *In: Australian Government, Section 2 Development*, 15-20 pp. https://www.ogtr.gov.au/sites/default/files/files/2021-07/the_biology_of_lupins.pdf.
- 4 Becker, R.; Manteuffel, R.; Neumann, D. and Scholz, G. 1998. Excessive iron accumulation in the peat mutants Dgl and Brz: subcellular localization of iron and ferritin. *Planta*. 207(2):217-223. Doi: 10.1007/s004250050475.
- 5 Bermúdez-Torres, K.; Martínez-Herrera, J.; Figueroa-Brito, R.; Wink, M. and Legal Luc. 2009. Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *BioControl*, 54(3):459-466. Doi:10.1007/s10526-008-9180-y.
- 6 Bueno, M.; Alzugaray, C.; Giubileo, G.; Severin, C. y Carnevale, N. 2009. Evaluación de la calidad fisiológica de semillas de *Maytenus vitis-idaea* cultivadas *in vitro*. *Bosque*. 30(3):146-150. Doi: 10.4067/s0717-92002009000300004.
- 7 Cárdenas-Lara, M. A. y Villegas-Monter, A. 2002. Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación *in vitro*. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 25(2):213-217. Doi: 10.35196/rfm.2002.2.213.
- 8 Clements, J.; Dracup, M.; Buirchell, B.J. and Smith, C. G. 2005. Variation for seed coat and pod wall percentage and other traits in a germplasm collection and historical cultivars of *lupins*. *Australian Journal of Agricultural Research*. 56(1):75-83. Doi. 10.1071/AR03114.
- 9 Corona, M. A.; Gómez, M. R. y Lindig, C. R. A. 2007. Efecto de la escarificación y la calidad de la luz en la germinación de *Lupinus elegans*. *Biológicas*. 9(1):47-54.
- 10 Eastwood, R. J.; Drummond, C. S.; Schifino-Wittmann, M. T. and Hughes, C. E. 2008. Diversity and evolutionary history of lupins-Insights from new phylogenies. Ed. *Lupins for Health and Wealth*. Proceedings of the 12th international lupin conference. Fremantle, Western Australia. 346-354 pp.
- 11 Gamborg, O. L.; Miller, R. A. and Ojima, K. 1968. Nutrient requirement of suspensions cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*. 50(1):151-158. 10.1016/0014-4827(68)90403-5.
- 12 Gamborg, O. L. 1970. The effects of amino acids and ammonium on the growth of plant cells in suspension culture. *Plant Physiology*, 45(4):372-375.
- 13 Garduza-Acosta, B.; Lagunes-Espinoza, L. C.; Bautista-Muñoz, C. C.; García-Santos, G.; Zaldívar-Cruz, J. M. and Hernández-Flores, A. 2020. Germination of *Crotalaria* and *Lupinus* (Fabaceae) seeds submitted to different pre-germination treatments and their effect on enzymatic activity during early germination. *Brazilian Journal of Biology*. 80(1):23-29.
- 14 Goycokic, V. C. y Saavedra del Real, G. 2007. Algunos efectos de la salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo. *Idesia*. 25(3):47-58.
- 15 Gutiérrez, N. P.; León, G. F.; Etchevers, B. J. and Casas, F. A. 2010. Effect of scarification, self-inhibition, and sowing depth on seed germination of *Lupinus campestris*. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 70(3):365-371.
- 16 Karaguzel, O.; Cakmakci, S.; Ortacesme, V. and Aydinoglu, B. 2004. Influence of seed coat treatments on germination and early seedling growth of *Lupinus varius* L. *Pakistan Journal of Botany*. 36(1):65-74.
- 17 Lazarowski, J. A.; Vitale, A. A.; Auzmendi, J. A. y Pomilio, A. B. 2022. Hierro: desde la homeostasis a la muerte por ferroptosis. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 56(4):491-513.

- 18 Grether, R. 2005. Reseña de 'Legumes of the world'. In: Lewis, G.; Schrire, B.; Mackinder, B. and Lock, M. Boletín de la Sociedad Botánica de México. (77):75-77. ISSN: 0366-2128. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57707707>.
- 19 Llorente, B. E. 2002. Aislamiento, purificación, caracterización y producción *in vitro* de peptidasas de alcaucil coagulantes de la leche. Capítulo 4. Cultivo *in vitro*, 28-42 pp. Tesis de Doctor en Ciencias Exactas. Área Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de la Plata. Buenos Aires, Argentina.
- 20 Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. diagnosis of deficiency and toxicity of mineral nutrients. Second Edition. London: Academic Press. 889 p.
- 21 Mator, M.G.; Irfan, A.; Taimoor, H. F.; Pengfei W.; Muhammad S.Y.; Muhammmad W.K.; Talha B.Y and Xiangqing Ma. 2019. Effects of pre-sowing treatments on seed germination and Morphological growth of *Acacia nilotica* and *Faidherbia albida*. Scientia Fororestalis Piracicaba. 47(122):374-382. Doi: 10.18671/scifor.v47n122.20.
- 22 Medina-Sánchez, E.I. and Lindig-Cisneros, R. 2005. Effect of scarification and growing media on seed germination of *Lupinus elegans* H.B.K. Seed Science and Technology. 33(1):237-241. Doi:10.15258/sst.2005.33.1.24.
- 23 Mera, K. M. 2016. Lupino dulce y amargo producción en Chile. Especies de *Lupinus* y su utilización. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Temuco, Chile. Capítulo 1. Boletín INIA Núm. 326. 118 p. <https://hdl.handle.net/20.500.14001/6507>. ISSN: 0717-4829.
- 24 Molassiotis, A.; Dimassi, K.; Therios, I. and Diamantidis, G. 2003. Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF-677 (*Prunus amygdalux* P. *Persica*) explants *in vitro*. Biologia Plantarum. 47(1):141-144. Doi: 10.1023/A:1027309705022.
- 25 Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 15(3):473-497. Doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- 26 Núñez, T. 2021. Lupino: la desconocida legumbre considerada un superalimento. LaderaSur. <https://laderasur.com/articulo/lupino-la-desconocida-legumbre-considerada-un-superalimento>.
- 27 Pablo-Pérez, M.; Lagunes-Espinoza, L. C.; López-Upton, J.; Ramos-Juárez, J. y Aranda-Ibáñez, E. 2013. Morfometría, germinación y composición mineral de semillas de *Lupinus silvestres*. Bioagro. 25(2):101-108.
- 28 Planchuelo, A. M. 1999. Biodiversity of *lupins* in South America. In: Hill, G. A crop for the next Century. Proc. VIII Int. Lupin Conf. Lincoln Univ., New Zealand. 394-400 pp. ISBN 0-86476-118-X.
- 29 Planchuelo, A. M. 2022. New varieties and synonyms of *Lupinus* species (Fabaceae, Faboideae) of Northwestern Argentina. Phytotaxa. 566(2):143-170. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.566.2.1>.
- 30 Raghavendra, A. S.; Gonugunta, V. K.; Christmann, A. and Grill, E. 2010. ABA perception and signaling. Trends in Plant Science. 15(7):395-401. DOI:10.1016/j.tplants.2010.04.006.
- 31 Ramírez-González, G.; Rodríguez, O. J. L.; Arreola-Ávila, J. G. and Álvarez-Moctezuma, J. G. 2015. Morphogenic responses of three explants of *Lupinus montanus* (H.B.K.) cultured *in vitro*. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente. 21(1):17-27. Doi: 10.5154/r.rchscfa.2013.07.022.
- 32 Rodríguez-Trejo, D. A. y Rojo-Cenil, C. 1997. Estudio de la semilla del arbusto *Lupinus montanus* H. B. K. (Leguminosae). Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales. 3(1):39-45.
- 33 Rodríguez, M.; Chacón, M. y Carrillo, R. 2014. Efecto de la concentración y de los componentes del medio de cultivo MS sobre la germinación *in vitro* de *Ugni molinae*. Bosque. 35(1):119-122. Doi.org/ 10.4067/S0717-92002014000100012.

- 34 Ruiz-López, M. A.; Rodríguez-Macías, R. y Navarro-Pérez, S. 2006. Evaluación químico nutricional de *Lupinus exaltatus* Zucc. del Nevado de Colima, México como fuente potencial de forraje. *Interciencia*. 31(10):758-761.
- 35 Salazar-Mercado, S. A.; Botello-Delgado, E. A. y Quintero-Caleño, J. D. 2020. Optimización de la prueba de tetrazolio para evaluar la viabilidad en semillas de *Solanum lycopersicum* L. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21(3):1-12. Doi.org/ 10.21930/rcta.vol21-num3-art:1344.
- 36 Sánchez-Soto, B. H.; Pacheco-Aispuro, E.; Lugo-García, G. A.; Reyes-Olivas, Á. y García-Moya, E. 2017. Métodos de escarificación en semillas de *Guaiaecum coulteri*, especie amenazada del bosque tropical caducifolio del norte de Sinaloa, México. *Gayana Botánica*. 74(2):262-268. Doi.org/ 10.4067/S0717-66432017000200262.
- 37 Tang, C.; Longnecker, N. E.; Thomson, C. J.; Greenway, H. and Robson, A. D. 1992. Lupin (*Lupinus angustifolius* L.) and pea (*Pisum sativum* L.) roots differ in their sensitivity to pH above 6.0. *Journal of Plant Physiology*. 140(6):715-719. Doi: 10.1016/S0176-1617(11)81028-X.
- 38 Tang, C. and Robson, A. D. 1993. *Lupinus* species differ in their requirements for iron. *Plant Soil*. 157(1):11-18. <https://doi.org/10.1007/BF02390222>.
- 39 Tang, Coaixian; Robson, A. D.; Longnecker, N. and Buirchell, B. 1995. The growth of *Lupinus* species on alkaline soils. *Australian Journal of Agricultural Research*, 46(1):255-268. Doi: 10.1071/AR9950255.
- 40 Turkan, I. and Demiral, S. T. 2009. Recent developments in understanding dng salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1):2-9. Doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.05.008.
- 41 Wolko, B.; Clements, J.; Naganowska, B.; Nelson, N. M and Yang, H. 2010. *Lupinus: In: Cole, C. Ed. Wild crop relatives: genomic and breeding resources: legume crops and forages*. Springer Berlin, Heidelberg. 153-206 pp.



Respuesta de *Lupinus* a la escarificación química y dos medios de cultivo en la propagación *in vitro*

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 January 2025
Date accepted: 01 April 2025
Publication date: 10 April 2025
Publication date: Feb-Mar 2025
Volume: 16
Issue: 2
Electronic Location Identifier: e3437
DOI: 10.29312/remexca.v16i2.3437
Funded by: Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías
Funded by: Colegio de Postgraduados
Award ID: CB-2012-01-181428

Categories

Subject: Artículo

Palabras clave:

Palabras clave:

cultivo de tejidos
dormancia
escarificación
fabaceae

Counts

Figures: 7
Tables: 2
Equations: 0
References: 41
Pages: 0