

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL FRUTO Y POLIEMBRIONÍA DE TRES PORTAINJERTOS DE CÍTRICOS

M. Andrade-Rodríguez¹; Á. Villegas-Monter²; A. García-Velázquez¹

¹Programa de Genética, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. México. C.P. 56230.
Correo-e: andradem65@hotmail.com (*Autor responsable).

²Programa de Fruticultura, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México. México. Correo-e: avillega@colpos.mx.

RESUMEN

Los portainjertos limón 'Volkameriano' (*Citrus volkameriana* Pasq.), mandarino 'Cleopatra' (*C. reshni* Hort. ex Tanaka) y mandarino 'Amblicarpa' (*C. amblycarpa* Oche) son tolerantes al virus de la tristeza de los cítricos (Citrus Tristeza Closterovirus) y podrían ser utilizados para sustituir al naranjo agrio (*C. aurantium* L. Osbeck). Se estudiaron las características de fruto, poliembrionía y relación entre éstas en tres portainjertos (limón 'Volkameriano', mandarino 'Cleopatra' y mandarino 'Amblicarpa') en frutos cosechados en el otoño-invierno de 1988-1999 y de 1999-2000. Limón 'Volkameriano' presentó frutos de 154.7 g con 8 a 10 carpelos, poliembrionía de 37.9 % con 2 a 5 embriones por semilla. Los frutos de mandarino 'Cleopatra' fueron de 74.8 g con 10 a 14 carpelos y 84.8 % de poliembrionía con 1 a 26 embriones, y los de mandarino 'Amblicarpa' pesaron 20.1 g con 7 a 11 carpelos y 82.1 % de poliembrionía con 2 a 15 embriones por semilla. Las características morfológicas del fruto y la poliembrionía variaron en función del portainjerto y año de cosecha. Este último, afectó en forma significativa a limón 'Volkameriano' y a mandarino 'Cleopatra', no así a mandarino 'Amblicarpa'. El número de embriones por semilla presentó correlación alta con el número de carpelos; mientras que, la longitud del embrión lo estuvo con el peso del fruto, diámetro ecuatorial y negativamente con número de embriones.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: embriones de cítricos, *Citrus volkameriana* Pasq., *C. amblycarpa* Oche, *C. reshni* Hort. ex Tanaka.

FRUIT MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND POLYEMBRYONY OF THREE CITRUS ROOTSTOCKS

SUMMARY

Rootstocks 'Volkamerian' lemon (*Citrus volkameriana* Pasq.), 'Cleopatra' tangerine (*C. reshni* Hort. ex Tanaka), and 'Amblycarpa' tangerine (*C. amblycarpa* Oche) are tolerant to Citrus Tristeza Closterovirus and could be utilized to substitute sour orange (*C. aurantium* L. Osbeck). We studied fruit characteristics, polyembryony, and the relationship between them in three rootstocks ('Volkamerian' lemon, and 'Cleopatra' and 'Amblycarpa' tangerines) in fruits harvested in the fall-winter periods of 1998-1999 and 1999-2000. 'Volkamerian' lemon presented 154.7 g fruits with 8 to 10 carpels, and 37.9 % polyembryony with 2 to 5 embryos per seed. 'Cleopatra' tangerine fruits weighed 74.8 g, with 10 to 14 carpels, and 84.8 % polyembryony with 1 to 26 embryos; and 'Amblycarpa' tangerines weighed 20.1 g, with 7 to 11 carpels, and 82.1 % polyembryony with 2 to 15 embryos per seed. Fruit morphological characteristics and polyembryony varied according to rootstock and harvest year. The latter significantly affected 'Volkamerian' lemon and 'Cleopatra' tangerine, but not 'Amblycarpa'. Number of embryos per seed showed high correlation to number of carpels; while embryo length was positively correlated to fruit weight and equatorial diameter, but negatively to number of embryos.

ADDITIONAL KEY WORDS: citrus embryos, *Citrus volkameriana* Pasq., *C. amblycarpa* Oche, *C. reshni* Hort. ex Tanaka.

INTRODUCCIÓN

En México el portainjerto de cítricos más usado a nivel comercial es naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.), el cual presenta tolerancia a diferentes condiciones edáficas y fitosanitarias y confiere buena calidad de fruta a los cultivares injertados sobre él. Sin embargo, su susceptibilidad al complejo viral que causa la tristeza de

los cítricos cuando está injertado con naranjo (*C. sinensis* L. Osbeck), mandarino (*C. reticulata* Blanco), pomelo (*C. paradisi* Macf) y limón 'Persa' (*C. latifolia* Tan.), ha provocado su eliminación en diversas zonas productoras del mundo. Lo anterior indica la importancia de conocer otros portainjertos con posibilidades de ser utilizados para sustituir al naranjo agrio; tal es el caso de limón 'Volkameriano' (*Citrus volkameriana* Pasq.), mandarino

'Amblicarpa' (*C. amblycarpa* Ochse) y mandarino 'Cleopatra' (*C. reshni* Hort. ex Tanaka), tolerantes al virus de la tristeza de los cítricos (VTC) y exocortis. Actualmente, la mayoría de los cítricos de interés comercial se injertan sobre portainjertos obtenidos de plántulas nucelares de semillas poliembriónicas, debido a su uniformidad (Dhillon *et al.*, 1993), por lo que son deseables aquellos genotipos con alto porcentaje de embriones nucelares.

Los portainjertos limón 'Volkameriano', mandarino 'Cleopatra' y mandarino 'Amblycarpa' son tolerantes a *Phytophthora parasitica* y al VTC (Valle, citado por Simón y Jiménez, 1986; Saunt, 1990; Pompeo, 1991). Además, los mandarinos 'Cleopatra' y 'Amblycarpa' son tolerantes a exocortis, xyloporosis y resistentes a blight (Valle, citado por Simón y Jiménez, 1986). El limón 'Volkameriano' es susceptible al nemátodo de los cítricos y a blight (Saunt, 1990; Pompeo, 1991), mientras que Mandarino 'Cleopatra' es de los más resistentes (Ángel Villegas, 2000; comunicación personal).

La poliembriónía es el desarrollo de dos o más embriones en una semilla; ésta es común en algunos cultivos hortícolas particularmente mango y cítricos (Dhillon *et al.*, 1993). La formación de semillas poliembriónicas en *Citrus* es uno de los procesos apomícticos que ocurren en óvulos de angiospermas (Koltunow, 1993); este proceso es la embriónía adventicia, en la cual el embrión desarrolla directamente de una célula inicial sin la formación de un saco embrionario (Sedgley y Griffin, 1989).

En el desarrollo de semillas poliembriónicas, muchos embriones nucelares no cigóticos inician su diferenciación a partir del tejido materno constituido por células nucelares que rodean al saco embrionario que contiene el embrión cigótico en desarrollo (Sedgley y Griffin, 1989; Koltunow *et al.*, 1995; Koltunow *et al.*, 1996). Durante la expansión del saco embrionario, las células nucelares embriogénicas tienen acceso al endospermo y desarrollan embriones asexuales además del embrión cigótico (Koltunow *et al.*, 1996), particularmente en la región micropilar (Cameron y Soost, 1987; Sedgley y Griffin, 1989; Koltunow *et al.*, 1995), los embriones son de la misma constitución genética que el progenitor femenino y son conocidos como nucelares (Sedgley y Griffin, 1989; Koltunow *et al.*, 1995; Koltunow *et al.*, 1996).

Las plántulas nucelares han sido usadas como fuente para portainjertos en la propagación de cítricos, debido a su uniformidad genética (Loussert, 1992; Dhillon *et al.*, 1993; Koltunow *et al.*, 1995). Ellas permiten mantener los tipos mejor adaptados (Praloran, 1977), se pueden rejuvenecer clones viejos que han perdido vigor debido a la continua propagación vegetativa (Cameron y Soost, 1987), y pueden ser plantas libres de virus (Koller, 1994), ya que el saco embrionario y los tejidos adyacentes son formados en la etapa de floración con ácido desoxirribonucleico (ADN) que destruye las partículas de virus (Dhillon *et al.*, 1993).

Con base en la importancia de conocer algunas características morfológicas de tres portainjertos tolerantes al VTC, y el efecto del año de cosecha en la poliembriónía, se evaluó la morfología del fruto, poliembriónía (número de embriones) y relación entre éstas, en limón 'Volkameriano', mandarina 'Cleopatra' y mandarino 'Amblycarpa' en dos años de cosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se trabajó con frutos maduros, de polinización libre, cosechados en árboles de limón 'Volkameriano', mandarino 'Cleopatra' y mandarino 'Amblycarpa', localizados en hileras en un mismo huerto. La cosecha fue en otoño-invierno de 1998-1999 y 1999-2000.

Los frutos fueron colectados de plantas clonales obtenidas mediante injerto, y establecidas en un huerto de cítricos, localizado en Cazonas de Herrera Veracruz, México. Este municipio se ubica a los 20° 40' de latitud norte y los 97° 28' de longitud oeste, a una altitud de 17; el clima es tipo AW"1(e), tropical lluvioso, cálido subhúmedo con lluvias en verano, la precipitación media anual es de 1,200 mm. La temperatura media anual es de 25 °C y la del mes más frío de 18 °C (García, 1981).

La cosecha de los frutos en madurez fisiológica se hizo en forma aleatoria a partir de 10 árboles por portainjerto, cortando seis frutos de la parte media de cada árbol; los frutos se pusieron en bolsas de plástico dentro de una hielera a temperatura ambiente, para su transporte al Colegio de Postgraduados. En el laboratorio, se trabajó con 60 frutos por portainjerto en cada año de cosecha. En este estudio se evaluaron las características morfológicas de 120 frutos por portainjerto y la poliembriónía en 600 semillas elegidas al azar en cada especie (1,800 semillas).

Características morfológicas del fruto

Se evaluaron las características de 60 frutos en cada portainjerto por año de cosecha, totalizando 120 frutos para cada caso. Los caracteres evaluados fueron:

Peso de fruto, cada fruto fue pesado en una balanza granataria y su peso fue medido en g.

Diámetro ecuatorial del fruto, cada fruto fue cortado en la región ecuatorial y su diámetro fue medido con una regla de 20 cm.

Carpelos por fruto, contabilizados después de haber cortado el fruto.

Semillas totales, se contaron tanto las semillas llenas como las vanas contenidas en cada fruto. Las semillas

vanas son aquellas en las cuales el embrión o los embriones llenaron menos del 50 % del saco embrionario.

Semillas llenas, en cada fruto se consideraron sólo las semillas en las cuales el saco embrionario se encontraba lleno por él o los embriones.

Poliembrionía

Para estudiar esta característica se tomaron al azar cinco semillas llenas de cada fruto, por lo que en cada año se trabajó con 300 semillas por portainjerto.

Con pinzas de disección y bisturí se eliminó la testa y tegmen de las semillas. Después de remover las cubiertas seminales, los embriones fueron separados con una navaja de punta fina y apoyo de una pinza. Enseguida, se contaron y midieron todos los embriones contenidos en cada semilla. Este procedimiento se hizo observando las semillas en un microscopio Zeiss (Marca Carl Zeiss, Modelo 475022 9902) con un aumento de 10x. Las variables evaluadas fueron:

Número de embriones por semilla, en cada semilla se separaron y contaron los embriones contenidos dentro del endotegmen.

Largo del embrión, cada embrión fue medido desde la punta de la radícula hasta la punta del cotiledón más grande.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo de tratamientos factorial 3 x 2. Un factor fue portainjertos, con tres niveles (limón 'Volkameriano', mandarina 'Cleopatra' y mandarina 'Amblicarpa'); el otro factor fue años de cosecha, con dos niveles (otoño-invierno de 1998-1999 y de 1999-2000). Se trabajó con tres repeticiones y unidad experimental de 20 frutos.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., N. C., U.S.A., 1990) mediante análisis de varianza, prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), correlación de variables y porcentaje de semillas con n embriones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características morfológicas del fruto

El análisis estadístico de todas las características morfológicas evaluadas indicó efecto altamente significativo para los factores estudiados; así mismo, la interacción entre los tres portainjertos y los dos años de evaluación fue también significativa.

Limón 'Volkameriano' fue el portainjerto que presentó valores mayores para las cinco características morfológicas evaluadas, mientras que mandarina 'Amblicarpa' produjo frutos con valores menores para todas las variables, por lo que el mejor portainjerto para producción de semilla fue limón 'Volkameriano' (Cuadro 1). En el periodo de cosecha otoño-invierno de 1999-2000 se obtuvieron frutos de mayor peso, tamaño y con más semillas llenas (Cuadro 1).

Considerando la interacción de portainjerto con año de cosecha, los frutos de otoño-invierno de 1998-1999 presentaron menor peso, semillas totales y llenas tanto en limón 'Volkameriano' como en mandarina 'Cleopatra'. El diámetro ecuatorial de fruto y número de carpelos también fueron menores (5.6 cm, 11.1) en mandarina 'Cleopatra'. Los frutos cosechados en otoño-invierno de 1999-2000 presentaron 175.5 y 88.8 g para limón 'Volkameriano' y mandarina 'Cleopatra', respectivamente, y superaron a los obtenidos en el año anterior. El número de semillas totales y llenas de estos dos portainjertos también fueron mayores para este año (Cuadro 1). Los resultados obtenidos en mandarina 'Amblicarpa' mostraron poca variación de un año de cosecha a otro; por lo que podría ser un buen material para usarse como portainjerto. La elevada cantidad de frutos por árbol señalada por Simón (citado por Simón y Jiménez, 1986), puede compensar el número de semillas por fruto (11.8); estos autores lo consideran buen portainjerto para los cítricos de Cuba, debido a que induce árboles grandes con rendimientos elevados de frutos de calidad aceptable y su sanidad es excelente.

El hecho de que las características del fruto difieran entre países (según resultado obtenido en Cuba, Brasil y México) y épocas del año, permite indicar que estas características son afectadas por las condiciones ambientales, por lo que es necesario definir el comportamiento de los portainjertos en las zonas donde se desea producir semilla; de tal forma que se pueda establecer un programa de producción.

Poliembrionía

Mandarina 'Cleopatra' presentó el porcentaje de poliembrionía mayor, seguido por mandarina 'Amblicarpa', en ambos portainjertos más del 80 % de las semillas presentaron dos o más embriones, mientras que limón 'Volkameriano' presentó menor poliembrionía y las semillas tuvieron de dos a cinco embriones (Cuadro 2).

Las semillas cosechadas en otoño-invierno de 1999-2000, tuvieron porcentaje de poliembrionía mayor que las del periodo de otoño-invierno de 1998-1999; de igual manera el número de embriones por semilla fue mayor (Cuadro 2).

En la interacción portainjerto por año de cosecha, la poliembrionía de limón 'Volkameriano' varió de un año a otro, siendo mayor (44.8 %) en la evaluación de 1999-2000.

CUADRO 1. Características morfológicas del fruto de tres portainjertos de cítricos, evaluadas en otoño-invierno de 1998-1999 y de 1999-2000.

Factor	Características morfológicas del fruto					
	Peso (g)	Diámetro ecuatorial (cm)	Carpelos por fruto	Semillas totales	Semillas llenas	
Portainjerto						
L. 'Volkameriano'	158.5 a ²	6.6 a	9.2 c	32.8 a	28.0 a	
M. 'Cleopatra'	72.1 b	6.1 b	11.6 a	22.1 b	18.4 b	
M. 'Amblicarpa'	20.0 c	3.4 c	9.6 b	13.6 c	11.7 c	
DMS	5.5	0.10	0.22	1.35	1.28	
Año						
98-99	71.5 b	5.1 b	9.9 b	20.0 a	16.9 b	
99-00	95.6 a	5.6 a	10.4 a	13.1 b	21.8 a	
DMS	5.5	0.10	0.22	1.34	1.28	
Portainjerto	Año					
L. 'Volkameriano'	98-99	141.4 b	6.4 ab	9.3 c	27.9 b	24.7 b
L. 'Volkameriano'	99-00	175.7 a	6.9 a	9.2 c	37.7 a	31.4 a
M. 'Cleopatra'	98-99	55.4 d	5.6 c	11.1 b	19.0 c	14.8 c
M. 'Cleopatra'	99-00	88.8 c	6.6 a	12.2 a	25.2 b	22.0 b
M. 'Amblicarpa'	98-99	17.7 e	3.3 d	9.4 c	13.3 cd	11.3 c
M. 'Amblicarpa'	99-00	22.4 e	3.5 d	9.8 c	13.9 c	12.2 c
DMS		21.45	0.43	1.04	5.52	5.61
C. V.		26.12	7.33	8.55	22.07	24.64

²Valores con la misma letra dentro de columnas y en cada factor son iguales según la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.
DMS: Diferencia mínima significativa; C.V.: Coeficiente de variación; L.: limón; M.: mandarina.

CUADRO 2. Porcentaje de semillas con diferente número de embriones, evaluados en tres portainjertos de cítricos en dos años.

Factor	Número de embriones por semilla										P	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Portainjerto												
L. 'Volkameriano'	62.1	25.1	8.6	3.5	0.5							37.8 c ²
M. 'Cleopatra'	15.2	14.8	13.4	11.6	9.6	7.7	6.1	4.9	3.9	3.2		84.7 a
M. 'Amblicarpa'	17.9	17.4	16.5	28.5	11.2	8.2	5.6	3.3	2.1	1.4		82.1 b
DMS	1.67	2.26	2.24	6.0	1.48	0.5	0.63	0.57	4.5	2.33		2.03
Año												
1998-1999	36.1	20.0	13.2	10.0	7.1	7.7	4.6	2.8	1.9	1.2		63.9 b
1999-2000	27.4	18.2	12.5	9.5	7.1	8.2	6.9	5.3	4.1	3.4		72.5 a
DMS	4.20	1.16	0.55	0.37	0.30	0.45	0.39	0.36	3.8	1.4		3.0
Portainjerto												
Año												
L. 'Volkameriano'												
98-99	69.1	22.6	6.0	2.1	0.2							30.9 d
99-00	55.2	27.6	11.3	4.9	0.9							44.8 c
M. 'Cleopatra'												
98-99	20.6	19.7	17.1	13.5	10.0	6.9	4.4	2.9	2.0	1.3		79.4 b
99-00	9.9	9.9	9.8	9.7	9.2	8.5	7.8	6.9	5.9	5.1		90.1 a
M. 'Amblicarpa'												
98-99	18.6	17.8	16.6	14.4	11.2	8.5	5.3	2.8	1.9	1.2		81.4 b
99-00	17.2	17.1	16.5	14.1	11.3	8.0	6.0	3.8	2.4	1.7		82.8 b
DMS	1.24	0.49	0.44	1.11	0.89	0.75	0.67	0.55	0.18	0.29		3.0
C. V.	21.4	18.1	19.5	22.9	13.1	14.1	6.7	8.4	22.6	17.8		1.93

²Valores con la misma letra dentro de columnas y en cada factor son iguales según la prueba de Tukey $P \leq 0.05$.
DMS: Diferencia mínima significativa; C.V.: Coeficiente de variación; P: Poliembrión, porcentaje de semillas con más de un embrión; L.: limón; M.: mandarina.

Estos resultados difieren de lo reportado por Soares Filho *et al.* (1995), Villegas y Wikert (1999) y Andrade y Villegas (1999) quienes encontraron 77.7, 78 y 64 % de poliembriónía, respectivamente. Esto indica efecto del año de cosecha, lugar de evaluación y del genotipo sobre la expresión de esta característica en especies de cítricos. También la cantidad de semillas con 2, 3 y 4 embriones fue mayor en este periodo (Cuadro 2). Sin embargo, los embriones promedio por semilla fueron similares en ambos muestreos (1.3 y 1.5).

Es evidente que en mandarina 'Cleopatra' la poliembriónía fue afectada por el año de cosecha. Así, en 1998-1999 la cantidad de semillas poliembriónicas fue 79.4 %, mientras que en el periodo de 1999-2000 fue de 90.1 %. De acuerdo con lo señalado por Moreira *et al.* (citados por Prates, 1981), este es un portainjerto de alta poliembriónía.

En el segundo año de evaluación el porcentaje de semillas con 6, 7, 8, 9 y 10 embriones fue mayor (Cuadro 2). El promedio de embriones por semilla fue de 3.2 en 1998-1999 y 6.2 en 1999-2000. Estos datos indican que el año de cosecha afectó al porcentaje de poliembriónía y al grado de ésta.

En mandarina 'Amblicarpa', el porcentaje de poliembriónía así como su grado presentaron poca variación (81.4 y 82.8 %) entre años de cosecha (Cuadro 2), considerándose estable y de alta poliembriónía.

En general, la poliembriónía fue afectada por el año de cosecha, tal como lo señalan Cameron y Soost (1987), esta característica puede variar entre cultivares y dentro de un cultivar entre localidades, años, árboles, incluso de fruto a fruto y de semilla a semilla, como lo mencionan

Soares Filho *et al.* (1995). Lo anterior indica que son diversos los factores que pueden afectar este carácter, tales como tipo de polinizador (Soares Filho *et al.*, 1995), cantidad y viabilidad del polen, nutrición de la planta, temperatura, humedad tanto del suelo como relativa, presencia de vientos, etc., pues, como informaron Dhillon *et al.* (1993), los embriones adventicios desarrollan a estado globular o de corazón en ausencia de polinización, pero requieren del endospermo para crecer, por lo que la polinización y fecundación son necesarias para el desarrollo de semillas poliembriónicas; de ahí que, cualquier factor que afecte la polinización, fecundación y desarrollo de la semilla, afecta también el porcentaje y grado de poliembriónía.

Morfología de los embriones

La longitud del embrión es una característica importante de conocer, puesto que está relacionada con la capacidad de germinación del mismo. En limón 'Volkameriano' evaluado en 1998-1999, los embriones más grandes fueron los de las semillas monoembriónicas (10 y 11 mm). Mientras que, en las poliembriónicas los embriones grandes fueron de 8 y 9 mm (Cuadro 3).

En mandarina 'Cleopatra', los embriones de semillas monoembriónicas cosechadas en 1998-1999 fueron de 9 y 10 mm; mientras que, en las poliembriónicas los grandes midieron de 6 a 8 mm. En este año la mayoría de los embriones (56.9 %) fueron \leq a 2 mm. En 1999-2000, los embriones de semillas monoembriónicas fueron de 8 y 9 mm principalmente, en tanto que los embriones grandes de las semillas poliembriónicas presentaron 6 a 8 mm, en este año hubo mayor cantidad (80.1 %) de embriones \leq a 2 mm, de los cuales el 51.4 % fueron menores de 1 mm (Cuadro 3) y fue en estos embriones donde se observaron estados inmaduros como globular, torpedo y corazón.

CUADRO 3. Porcentaje embriones de cada longitud en semillas de limón 'Volkameriano', mandarina 'Cleopatra' y mandarina 'Amblicarpa', cosechadas en otoño-invierno de 1998-1999 y 1999-2000.

Longitud del embrión (mm)	Limón 'Volkameriano'		Mandarina 'Cleopatra'		Mandarina 'Amblicarpa'	
	1998-1999	1999-2000	1998-1999	1999-2000	1998-1999	1999-2000
<1	0.9	0.0	19.0	51.4	10.6	12.8
1	2.1	3.8	20.1	16.6	22.7	18.9
2	4.6	9.9	17.8	12.1	19.0	24.6
3	4.8	10.8	7.5	4.3	11.1	11.3
4	6.7	7.6	3.5	2.3	5.8	4.2
5	3.5	3.8	5.0	1.5	4.1	3.2
6	0.5	4.9	5.3	2.2	6.6	2.5
7	7.8	10.8	7.2	4.6	13.9	9.5
8	25.1	28.5	11.7	4.3	5.7	10.5
9	27.0	16.9	2.7	0.6	0.6	2.4
10	11.8	3.2	0.3	0.0	0.0	0.2
11	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Los embriones de semillas monoembrionicas de mandarina 'Amblicarpa' cosechados en 1998-1999, presentaron 8 y 9 mm de longitud; en tanto que los embriones grandes de las poliembriónicas fueron de 6 y 7 mm y el 63.4 % fueron \leq a 3 mm. En las semillas monoembrionicas estudiadas en 1999-2000, los embriones tuvieron de 8 a 10 mm en comparación con los embriones grandes de las semillas poliembriónicas que midieron 7 y 8 mm. En este portainjerto, la mayoría los embriones fueron \leq a 3 mm (Cuadro 3).

Los embriones de limón 'Volkameriano' fueron de forma ovoide-alargada, los de mandarina 'Cleopatra' fueron subesféricos y los de mandarina 'Amblicarpa' mostraron forma lenticular (Figura 1).

La forma y cantidad de embriones se reflejaron en la forma de la semilla, las monoembrionicas presentaron la forma descrita para cada portainjerto, mientras que las poliembriónicas presentaron regiones cóncavas y la región micropilar con terminación aguda.

En general, para los tres portainjertos, los monoembriones fueron de 8 a 11 mm (grandes) con dos cotiledones, de igual forma y tamaño como lo mencionaron Cameron y Soost (1987), con radícula y eje embrionario pequeños, en comparación con los cotiledones. Los embriones grandes y medianos de semillas

poliembriónicas, mostraron cotiledones de diferente forma y tamaño, uno de ellos grande y el otro de menor longitud, como lo mencionaron Cameron y Soost (1987). Sin embargo, en los embriones menores a 2 mm, los dos cotiledones fueron de la misma forma y longitud, con radícula grande en relación a los cotiledones pequeños (Figura 1). Cabe indicar que el 70 % de embriones pequeños se localizaron en la región micropilar y el 30 % de ellos en el lado externo de los cotiledones grandes o entre ellos, lo que concuerda con lo señalado por Cameron y Soost (1987). Los medianos (4 a 7 mm) estuvieron a un lado o hacia la radícula del embrión más grande. El 2 % de semillas poliembriónicas presentaron el embrión grande con un sólo cotiledón.

En la mayoría de los casos la radícula de los embriones se observó orientada hacia la región micropilar, pero el 1.5 y 2.0 % de semillas poliembriónicas de mandarina 'Cleopatra' y mandarina 'Amblicarpa', respectivamente, presentaron embriones (> de 6 mm) con la radícula orientada hacia la región de la cálaza.

Los datos presentados para las diversas características evidenciaron efecto del año en que se cosecharon los frutos, excepto en mandarina 'Amblicarpa'; lo que indica que son caracteres de variación continua de genotipos sin ecoestabilidad (Robles, 1982).

Correlación de características de fruto con poliembriónia

El peso de fruto correlacionó negativamente con el número de embriones por semilla, lo que significa que a mayor peso de fruto se tuvieron semillas con menos embriones, pero estos fueron más grandes, dado que la correlación fue positiva y alta con la longitud de embrión (Cuadro 4).

CUADRO 4. Coeficientes de correlación de características del fruto con poliembriónia en tres portainjertos de cítricos

Característica	Número de embriones	Longitud de embrión
Peso de fruto	-0.402 **	0.642 **
Diámetro ecuatorial	-0.097 **	0.642 **
Número de carpelos	0.603 **	-0.501 **
Semillas por fruto	-0.241 **	0.452 **
Semillas llenas	-0.219 **	0.450 **
Número de embriones		-0.871 **

**; significativo a una $P \leq 0.01$.

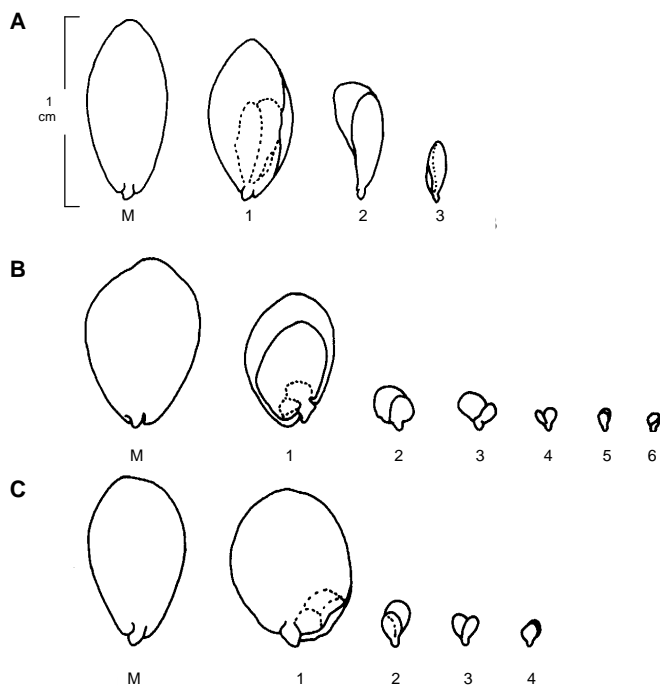


Figura 1. Forma y tamaño de los embriones. A) Limón 'Volkameriano', B) Mandarina 'Cleopatra', y C) Mandarina 'Amblicarpa'. M: embrión de semilla monoembrionica. 1, 2, n: embriones de semillas poliembriónicas.

La menor cantidad de embriones podría deberse a que el fruto destina mayor cantidad de energía para su crecimiento, por lo que disminuye el suministro de ésta hacia el desarrollo de la semilla.

El diámetro ecuatorial del fruto presentó correlación positiva alta con la longitud del embrión, lo que indica que en frutos de mayor tamaño los embriones fueron más grandes.

La cantidad de carpelos del fruto presentó asociación alta con el número de embriones por semilla y correlación media y negativa con la longitud del embrión (Cuadro 4); esto indica que frutos con mayor cantidad de carpelos presentaron mayor número de embriones, pero estos fueron pequeños.

El número de embriones por semilla presentó correlación negativa alta con la longitud del embrión, lo que implica que a mayor número de embriones por semilla estos fueron de menor tamaño. Esto puede deberse a que a cada semilla se envía una cantidad determinada de fotoasimilados y cuando hay menos embriones la competición por estos carbohidratos será menor, lo que permitirá mayor crecimiento que cuando hay más embriones.

Determinar la asociación de la poliembrionía con las características del fruto es de importancia, para saber cuales frutos se deben tomar cuando se busca obtener mayor cantidad de plántulas de origen nucelar, para utilizarlas como portainjertos, ya que cuando los embriones son más grandes tienen mayor posibilidad de germinar y llegar a producir una plántula; esto tiene relación con la cantidad de embriones, dado que a menor número de embriones correspondió mayor longitud de estos.

CONCLUSIONES

Las características morfológicas del fruto variaron entre portainjertos y años de cosecha.

El limón 'Volkameriano' presentó frutos más grandes, con mayor número de semillas; mientras que, los de mandarino 'Amblicarpa' fueron más pequeños y con menos semillas.

El porcentaje de poliembrionía fue de 37.9 % para limón 'Volkameriano', 84.8 % para mandarino 'Cleopatra' y 82.1 % para mandarino 'Amblicarpa'.

El número de embriones por semilla correlacionó en forma positiva alta con el número de carpelos, y la longitud del embrión estuvo asociada positivamente con peso de fruto y diámetro ecuatorial, y negativamente con el número de embriones.

LITERATURA CITADA

ANDRADE R. M.; VILLEGAS, M. A. 1999. Poliembrionía en *Citrus volkameriana* y *C. amblycarpa*. VIII Congreso Nacional de

la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas. Manzanillo Colima, México. p. 202.

CAMERON, J. W.; SOOST, R. K. 1987. Cítricos. pp. 156-191. *In: Genotecnía de Cultivos Tropicales Perenes*. Ferwerda, F.P. y wit, F. (eds.). Traducido por Mosqueda, V. R. A. G. T. Editor, S. A. D. F., México.

DHILLON, R. S.; KAUNDAL, G. S.; CHEEMA, S. S. 1993. Nucellar embryony for propagating *Citrus*. *Indian Hort.* 38: 44-45.

GARCÍA, E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. 3ª ed. Ed. Offset Laríos, S. A. D. F., México. 252 p.

KOLTUNOW, A. M. 1993. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *Plant Cell* 5: 1425-1437.

KOLTUNOW, A. M.; SOLTYS, K.; NITO, N.; McCCLURE, S. 1995. Anther, ovule, seed, and nucelar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. *Can. J. Bot.* 73: 1567-1582.

KOLTUNOW, A. M.; HIDAHA, T.; ROBINSON, S. P. 1996. Polyembryony in *Citrus*. *Plant Physiol.* 110: 599-609.

KOLLER, O. C. 1994. Citricultura: laranja, limão e tangerina. Editora Rigel. Porto Alegre, Brasil. pp. 49- 55.

LOUSSERT, R. 1992. Los Agrios. Traducido al español por Almela O. V. y F. M. Agustí. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. pp. 45-59.

POMPEO, Jr. J. 1991. Porta-enxertos, pp. 265-280. *In: Citricultura Brasileira*. Rodríguez, O.; Viégas, F.; Pomeu Jr., J.; Amaro, A. A. (eds.). Segunda edição. Campinas, Brasil.

PRALORAN J., C. 1977. Los Agrios. Ed. Blume. Barcelona, España. pp. 30-46.

PRATES, H. S. 1981. Determinacao preliminar de poliembrionia e número médio de embriões, em sementes de citrus e afins, do Banco Ativo de germoplasma do Instituto Agronómico de Campinas. VI Congr. Bras. Frutic. Recife Brasil. pp. :563-568

RAMMING, D. 1988. Cultivo de embriones, pp: 183-194. *In: Métodos Genotécnicos en Frutales*. Moore, J. N. y Janick, J. (eds.). Traducido por Mosqueda, V. R. A. G. T. Editor, S.A. D. F., México.

ROBLES S., R. 1982. Terminología Genética y Fitogenética. 2ª ed. Ed. Editorial Trillas. D. F., México. 163 p.

S. A. S. Institute, Inc. 1990. Statistical Analysis System. User's guide. J. T. Helwing and K. A. Council. (ed.) North Carolina, USA.

SAUNT, J. 1990. *Citrus Varieties of the World*. Sinclair International Limited. Norwich, England. 378 p.

SEDGLEY, M.; GRIFFIN, A. R. 1989. Sexual Reproduction of Tree Crops. Academic Press Inc. San Diego, CA. USA. pp. 82-92.

SIMÓN, A.; JIMÉNEZ, R. 1986. El citrus amblicarpa, un patrón con perspectivas para la citricultura Cubana. *Simp. Int. Citricultura Tropical* 1: 275-283.

SOARES FILHO, W. DOS S.; LEE, L. M.; DA CUNHA SOBRINO, A. P. 1995. Influence of pollinators on polyembryony in *Citrus*. *Acta Hort.* 403: 256-265.

VILLEGAS M. A.; WIKERT, E. 1999. Características morfológicas de frutos y poliembrionía en semillas de portainjertos de cítricos. VIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas. Manzanillo Colima, México. 163.