



*UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PARA GRADUADOS*



**DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES Y CULTIVARES DE
PORTAINJERTOS CÍTRICOS POR LAS CARACTERÍSTICAS
MORFOLÓGICAS DE SUS SEMILLAS**

Héctor Osvaldo PALAZZO

**Tesis para Optar al Grado Académico de
Magíster en Ciencias Agropecuarias
Mención Tecnología de Semillas**

Córdoba, 2022

DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES Y CULTIVARES DE PORTAINJERTOS CÍTRICOS POR LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE SUS SEMILLAS

Héctor Osvaldo PALAZZO

Comisión Asesora de Tesis

Directora: Ing. Agr. Beatriz STEIN

Codirectora: Dra. Ing. Agr. Liliana FERRARI

Asesora: Ing. Agr. (M. Sc.) Ana Lía PASCUALIDES

Comisión Evaluadora de Tesis

Ing. Agr. Dra. Paula Alayón Luaces

Ing. Agr. PhD. Juan Pedro Agostini

Ing. Agr. Mgter. Ana Lía Pacualides

Presentación formal académica 16 de Junio de 2022

.....
Escuela para Graduados
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Córdoba



Esta obra está licenciada bajo una [Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)..

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, sin desmerecer a los demás, quiero agradecer al Ingeniero Agrónomo Master of Science Miguel Morandini (†), su punto de vista particular me abrió el camino para llegar a una conclusión en mi trabajo, su pérdida es muy grande, dejó un profundo dolor en los que lo conocimos.

A la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) por ceder las instalaciones para poder tomar las mediciones.

A los técnicos del Centro de Saneamiento de la EEAOC, por su predisposición.

A mi Comisión Asesora de Tesis, su aporte me ha ayudado en la consecución de mis objetivos.

A la Escuela para Graduados de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Córdoba quienes me han aconsejado para cumplir con la Maestría.

Al Instituto Nacional de Semillas por haber confiado en mí y por permitirme realizar la Maestría.

A mi familia, por el aguante ante tanto tiempo dedicado a este trabajo, tiempo restado a estar con ellos.

A todos, GRACIAS.

RESUMEN

El conocimiento exacto de la especie y/o variedad de un portainjerto determina junto a muchos otros factores la calidad de la planta a obtener y evita utilizar copas sobre portainjertos incompatibles. Entre los objetivos de la Ley de Semillas y Creaciones fitogenéticas N° 20.247 está el de asegurar al productor calidad e identidad de la semilla que adquiere. El objetivo de este trabajo es poder conocer la especie y/o variedad de un portainjerto mediante las características morfológicas de la semilla. Utilizando semillas de los portainjertos comercialmente cultivados en Argentina, se midieron las características morfológicas cuantitativas (largo, ancho, espesor, largo de la punta) y se observaron las características cualitativas (color de la epidermis, color de los tegumentos). Los parámetros tomados permitieron mostrar diferencias significativas entre las distintas especies y/o cultivares. Con estas diferencias se elaboró una clave dicotómica que permite diferenciar los 20 portainjertos utilizados en Argentina.

Palabras clave: calidad, citrus, identidad genética. portainjertos, semillas.

ABSTRACT

The identification of the species and / or variety of a rootstock is one of the many factors that determines the quality of a citrus plant and prevent using scions on incompatible rootstocks. Among the objectives of the law No. 20,247 Seeds and Phytogenetic Creations is to ensure the quality and identity of the seed that the producer acquires. The objective of this work is to recognize the specie and/or variety of a rootstock by means of the morphological characteristics of the seed. Quantitative morphological characteristics (length, width, thickness, length of the tip) and qualitative characteristics (color of the epidermis, color of the integuments) of the rootstocks seeds commercially used in Argentina was determined. These characteristics showed significant differences that allowed to differentiate rootstocks and elaborate an identification key

Keywords: citrus, genetic identity, quality, rootstocks, seed,

DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES Y CULTIVARES DE PORTAINJERTOS CÍTRICOS POR LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE SUS SEMILLAS

Tabla de contenidos

Tabla de contenido	VI
Lista de Tablas	VIII
Lista de Figuras	IX
Introducción	10
Situación actual de la citricultura	10
Situación problema	11
Estado actual del conocimiento sobre el tema	11
Hipótesis.....	17
Objetivo general	17
Objetivos específicos	17
Materiales y métodos	18
Material biológico	18
Descripción de cosecha	18
Extracción de las semillas	18
Metodología de trabajo	20
Lugar de trabajo, equipamiento, infraestructura	24
Resultados	25
Evaluación de caracteres cuantitativos	25
Largo se semillas	25
Ancho y espesor de semillas	27
Largo de la punta de semillas	28
Evaluación de caracteres cualitativos	30
Rugosidad	30
Color de tegumentos	32
Clave dicotómica	38

Conclusiones	41
Bibliografía	43
Anexo I : Caracterización de las semillas de portainjertos incluidos en este estudio mediante los caracteres cualitativos y cuantitativos considerados.	45
Troyer	45
Rubidoux	45
Flying Dragon	46
CPB	46
61AA3	46
C-35	47
75AB	47
79AC	47
Benton	48
X639	48
Cleopatra	48
Rugoso	49
Agrio	49
Volkameriana	50
Rich	50
Rangpur	50
81G220	51
81G513	51
Carrizo	51
Concordia	52

DIFERENCIACIÓN DE ESPECIES Y CULTIVARES DE PORTAINJERTOS CÍTRICOS POR LAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE SUS SEMILLAS

Lista de Tablas

Tabla 1 Lista de especies y cultivares de portainjertos cítricos estudiados.	21
Tabla 2 Valores promedios, mínimos, máximos en milímetros y error estándar del promedio, de la variable Largo.	26
Tabla 3 Valores promedios, mínimos, máximos en milímetros y error estándar del promedio, de la variable Ancho.	27
Tabla 4 Valores promedios, mínimos, máximos en milímetros y error estándar del promedio, de la variable Espesor.	28
Tabla 5 Valores promedios, mínimos, máximos en milímetros y error estándar del promedio, de la variable Largo de la punta.	29
Tabla 6 Análisis del carácter cualitativo Rugosidad de las semillas de veinte portainjertos de cítricos..	31
Tabla 7 Análisis del carácter cualitativo Rugosidad de las semillas de veinte portainjertos de cítricos..	32
Tabla 8 Valores promedio de las variables Largo, Ancho, Espesor y Largo de punta de semillas de veinte portainjertos de citrus.	34
Tabla 9 Porcentaje de eficiencia y contaminantes para la variable Color de testa de semillas de veinte portainjertos de citrus.	36
Tabla 10 Forma predominante de la semilla de veinte portainjertos de citrus.	37

Lista de Figuras

Figura 1 Características morfológicas de la semilla. Arbo, 2002.	13
Figura 2 Formación de un embriocito. Sánchez Damas et al., 2006.	16
Figura 3 Método de medición de la variable Largo.	22
Figura 4 Método de medición de la variable Ancho.	22
Figura 5 Método de medición de la variable Espesor.	22
Figura 6 Método de medición de la variable Largo de la punta.	22

INTRODUCCIÓN

Situación Actual de la Citricultura

La citricultura es una de las actividades frutícolas más importantes en la Argentina; a nivel mundial, nuestro país es el 8° productor de cítricos con alrededor de 3.272.771 toneladas anuales (estadística FEDERCITRUS, 2018). El Noroeste Argentino (NOA) es una de las dos regiones agroecológicas de mayor importancia con cultivos de naranja, mandarina, pomelo y principalmente limoneros abarcando alrededor del 62% de la producción argentina, con 2.018.464 toneladas en 2017. El valor de la producción argentina es de aproximadamente 1.178 millones de dólares en la campaña mencionada, con una ocupación de mano de obra de 149.850 personas entre productores y obreros de campo, de empaques y de plantas industriales. (FEDERCITRUS, 2018).

Desde este marco de referencia, la implantación de un cultivo cítrico comercial requiere, de manera imprescindible, disponer de material productivo, de origen reconocido y de alta calidad genética. Para lograr este tipo de material es necesario el concurso de dos factores esenciales: el empleo de portainjertos y yemas provenientes de plantas seleccionadas de reconocida sanidad y de alta calidad genética. Se debe tener la seguridad de que los portainjertos elegidos se hayan originado de semillas provenientes de plantas semilleras que respondan fielmente a la especie. Las plantas semilleras deben tener buen desarrollo, con fidelidad varietal y buena sanidad. Una falla en cualquiera de estos tres factores repercute en la calidad del pie (Anderson et al., 1996).

Desde octubre de 2005, el Instituto Nacional de Semillas, debe verificar que toda la producción de semillas, yemas, plantines portainjerto y plantas terminadas de cítricos siga la norma de Fiscalización. Esto se debe a que la Resolución SAGPyA N° 149/98 establece la fiscalización obligatoria de toda producción cítrica a partir del año 2004 y la Resolución INASE N° 109/04 prórroga la entrada en vigencia de la Fiscalización Obligatoria hasta el 31 de octubre de 2005.

La fiscalización de la producción de cítricos debe atender al objetivo de la Ley de Semillas y Creaciones Fitogenéticas N° 20.247 de asegurar al productor agrario la calidad e identidad de la semilla que adquiere. Para ello, los inspectores del Instituto Nacional de Semillas deben poder reconocer las especies y variedades de cítricos en fiscalización.

Situación problema

Los Inspectores del INASE deben poder diferenciar, de la manera más simple posible y más segura, las semillas de las especies y cultivares cítricos expuestas para su venta; por lo cual una clave dicotómica sería una herramienta muy útil. Además, el aporte de este trabajo de investigación podría ser utilizado por la Dirección del Registro de Variedades del INASE y por los miembros de Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV, 2003) para la diferenciación de semillas de cítricos y, tal vez, para el establecimiento de nuevos descriptores.

A pesar de la importancia central que tiene la seguridad de identidad del material genético a utilizar, hasta el momento no se dispone de una metodología eficiente y rápida para identificar las especies y/o cultivares de portainjertos cítricos mediante la semilla botánica de los mismos. Una clave de clasificación establecida por las características morfológicas de las semillas de cítricos, utilizados como portainjertos, podría aportar una solución a este problema.

Estado actual del conocimiento sobre el tema

El Instituto Nacional de Semillas (INASE) es el órgano de Aplicación de la Ley de Semillas y Creaciones Fitogenéticas N° 20.247. La mencionada Ley establece entre sus objetivos el asegurar al productor agrario la calidad e identidad de la simiente que adquiere. Para lograr esto, los Inspectores del INASE deben examinar los viveros donde se ofrecen semillas a la venta. Hasta el momento, no se dispone de una herramienta para la

diferenciación de especies y cultivares de cítricos mediante los atributos físicos de las semillas.

La identificación de una especie y/o cultivar por las características morfológicas de su semilla botánica, tiene precedentes en distintos cultivos como en trigo, avena y cebada, entre otros. Como lo indica Alsina (1988), para el género *Ornithopus* L (Fabáceas) la valoración de las características morfológicas de las semillas permite establecer diferencias taxonómicas de rango específico; mientras que aquellos referentes al estudio anatómico se muestran irrelevantes desde el punto de vista taxonómico.

En cítricos, Chapot y Praloran (1955) describen las siguientes formas de semillas: lenticular, cuneiforme, ovoide, fusiforme, almendra, esférica y modificaciones de estas formas. Ellos mencionan formas típicas para cada una de las especies que contienen las variedades cultivadas. Algunas variedades también tienen formas características que ayudan en su identificación (Reuther et al., 1968). Mientras que los caracteres botánicos relativos a las hojas, flores, frutas y semillas son suficientemente distintivos y constantes como para permitir la determinación relativamente fácil de algunas especies y variedades botánicas; sin embargo, en ciertos grupos, estos caracteres, exhiben un grado considerable de variabilidad. Las semillas son altamente distintivas para las diferentes especies y cultivares de cítricos; aunque varían mucho en tamaño, forma, textura de la superficie, y algo en color. Los caracteres internos incluyen color de la cubierta interior de la semilla, la región chalazal, los cotiledones, y el grado de poliembrionía (Hodgson, 1967).

Las características morfológicas de las semillas como del resto de las estructuras vegetativas y reproductivas se ordenan en descriptores y representan un listado de atributos de cada material genético en particular. Los descriptores no solo caracterizan, sino que, además, permiten una discriminación fácil y rápida entre fenotipos (IBPGR, 2000). Las inscripciones de los nuevos cultivares se manejan con descriptores, ya que contienen los parámetros solicitados en el Registro Nacional de Cultivares (RNC) que lleva adelante el INASE en cumplimiento de la Ley N° 20.247 (Ley 20.247, 1973). Los descriptores que tiene en cuenta el

INASE son consensuados en la Unión para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV), a la que Argentina se encuentra adherida (Ley 24.376, 1994).

Las semillas provienen de un óvulo anátropo (Koltunow et al., 2011). Desde afuera hacia adentro la semilla está formada por la cubierta seminal o episperma, el embrión, y el endosperma. La Figura 1 representa un esquema de estas estructuras esenciales.

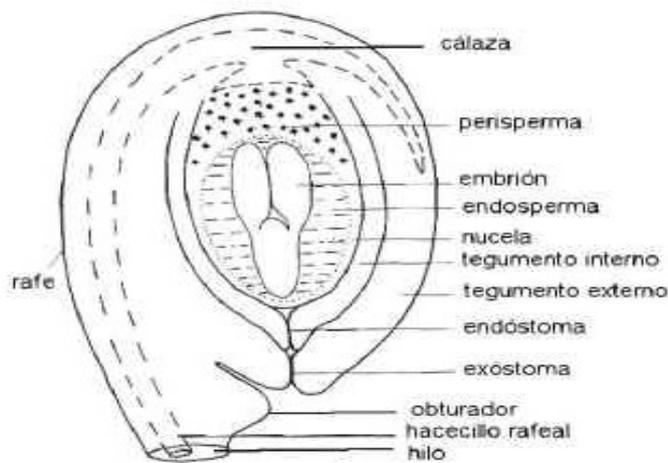


Fig. 1: Características morfológicas de la semilla. Arbo, 2002.

El episperma es la cubierta de la semilla, siendo su función principal proteger al embrión; la cubierta externa es la testa y la interna el tegmen. Hacia el interior se continúa con la nucela y en íntima relación con el embrión, el endosperma. El lugar donde el óvulo estuvo unido al funículo, por donde circula el haz vascular que nutre al óvulo y que se ramifica en la chalaza, generalmente permanece en la semilla como una pequeña cicatriz llamada hilo. A veces queda también un resto de funículo. En las semillas derivadas de óvulos campilótropos

muchas veces se puede observar un reborde sobre uno de los lados: el rafe, que resulta de la soldadura del funículo. El micrópilo puede permanecer como un poro ocluido.

El embrión está formado por la radícula dirigida hacia la micrópila, el hipocótilo que es el corto eje caulinar, los cotiledones que son las primeras hojas y la plúmula o gémula que es el ápice caulinar y a veces algunos primordios foliares. El endosperma, tejido cuya función es acumular las reservas seminales (sustancias nutritivas para el embrión), se origina por la fusión de los núcleos polares del óvulo con una de las gametas masculinas. Puede persistir en la semilla madura o ser absorbido pronto por el embrión en crecimiento, acumulando este último las sustancias de reserva.

En relación con algunas especies y variedades del género *Citrus* y géneros relacionados es de destacar que éstos presentan como característica, la producción de más de un embrión en sus semillas. Estos embriones son de origen sexual y asexual y se encuentran cubiertos por un tegumento interno que es fino, seco y marrón y un tegumento externo denominado testa, que es duro, coriáceo, color pajizo, muy resbaladizo cuando húmedo. (Toll Jubbes et al., 1974)

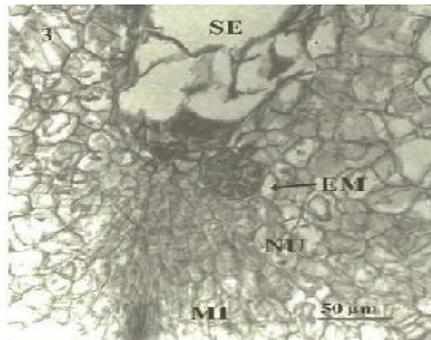
La poliembrionía es el desarrollo de dos o más embriones en una semilla; ésta es común en algunos cultivos hortícolas particularmente mango y cítricos (Dhillon et al., 1993). La formación de semillas poliembriónicas en *Citrus* es uno de los procesos apomícticos que ocurren en óvulos de angiospermas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

El tegumento interno, denominado tegmen, es una membrana fina y delicada que envuelve al o los embriones y probablemente provenga del tegumento interno del óvulo. El tegmen incluye lo que queda de la nucela y del endosperma; en muchas variedades el tegmen está coloreado en forma característica. El área que cubre el extremo de la chalaza es generalmente violeta, marrón en varias tonalidades, rosada, amarilla, o color crema y el resto del tegmen es generalmente de tonos mucho más claros o grisáceo claro.

Chapot y Praloran (1955) reportaron la asociación del color del extremo de la chalaza del tegmen con el color de algunas partes de la planta y la acidez de la fruta. *Citrus limón* y variedades ácidas de *Citrus medica* poseen color púrpura de las flores en los brotes nuevos y en el extremo de la chalaza. En contraste, las variedades no ácidas de *Citrus medica* tienen flores blancas y no tienen color violeta en los brotes nuevos.

El tegumento externo, la testa, se compone de la epidermis exterior de la pared del ovario, la cual forma paredes secundarias lignificadas durante el último período de maduración de la semilla. Es de color blanco grisáceo, crema o amarillo y de textura resistente fibrosa. En cítricos, la testa a menudo se muestra rugosa o con costillas, y normalmente se extiende en el resto de la semilla hacia uno o los dos extremos, especialmente al extremo micropilar para formar un pico cónico o un plato chato el cual se puede extender a todo el largo de la semilla.

En algunas semillas poliembriónicas la superficie puede ser rugosa debido al desarrollo desigual de los embriones. En los géneros *Citrus*, *Fortunella* y *Poncirus* juntamente con el embrión sexual, se originan otros embriones extras, los que no provienen de las células del saco embrionario, sino de la nucela del rudimento seminal que lo rodea y se denominan nucelares. Algunos autores consideran que, con posterioridad a la fecundación, algunas células de la nucela comienzan a dividirse y producen pequeñas masas de células que tratan de introducirse en el saco embrionario (Figura 2), empujando a lo largo del embrión gamético derivado de la ovocélula, Toll Jubes y Padilla, 1974. El número de embriones en la semilla incorpora un grado de diferenciación dentro de la misma especie y/o cultivar, dado que cuando mayor es el número de embriones, estos deben ocupar un mismo espacio y por lo tanto se producen protuberancias en la semilla. En ese sentido, en *Poncirus trifoliata*, Moreira *et al.*, 1947, relacionaron el grado de rugosidad de la semilla con el número de embriones.



NU: Nucela
MI: Micrópilo
SE: Saco embrionario
EM: Embriocito (embrión nucelar)

Figura 2: Formación de un embriocito. Sánchez Damas et al., 2006.

Hamilton *et al.*, 2007, estudiaron la morfología comparativa de las semillas de tres especies australianas de cítricos, *C. australasica*, *C. inodora* y *C. garrawayi* bajo luz y microscopía electrónica de barrido. Estos autores encontraron que la morfología de las semillas, especialmente la topografía superficial, era una herramienta útil para la identificación taxonómica en cítricos silvestres australianos.

Es prácticamente nula la bibliografía nacional en este tema. En general, se han caracterizado los portainjertos (Palacios, 2005) pero no se ha trabajado en la diferenciación para su reconocimiento entre los mismos, menos específicamente en semillas.

El trabajo que se presenta permitiría realizar el reconocimiento de los portainjertos a través de los caracteres morfológicos de la semilla. Esto, habilitaría que una persona pueda reconocer la especie y/o variedad de una semilla de cítricos, entre los estudiados en este trabajo, de una manera muy rápida y eficiente, solo con la ayuda de una carta de colores, un calibre digital y un bisturí. La eficiencia buscada en este trabajo consiste en tener una rápida conclusión acerca de la identidad de la semilla en observación.

HIPOTESIS

Los atributos morfológicos cualitativos y cuantitativos de la semilla de las especies y cultivares de cítricos empleados para la producción de portainjertos, son descriptores útiles para la identificación y la clasificación.

Objetivo General

Determinar los descriptores de semillas de cítricos empleados como portainjertos que permitan la identificación y diferenciación de las especies y cultivares.

Objetivos específicos

1. Identificar los caracteres cuantitativos y cualitativos utilizados actualmente que permitan la diferenciación de las semillas de los portainjertos.
2. Identificar o determinar nuevas características cualitativas y cuantitativas, que permitan la diferenciación de las semillas de las especies y cultivares de los portainjertos.
3. Evaluar las características cuantitativas y cualitativas que mejor permiten la diferenciación de las semillas botánicas de las especies y cultivares utilizadas como portainjertos a fin de sugerir nuevos descriptores.
4. Caracterizar morfológicamente las semillas de especies y cultivares de cítricos empleados como portainjertos.
5. Elaborar una clave dicotómica que permita identificar las semillas botánicas de las especies y cultivares utilizadas como portainjertos a partir de muestras de semillas de identidad desconocida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico

Se utilizaron semillas de 20 portainjertos cítricos inscriptos en el Registro Nacional de Cultivares de INASE y que son los más utilizados en la propagación comercial de cítricos en Argentina. Los mismos pertenecen a los géneros *Citrus*, *Poncirus* y sus híbridos interespecíficos e intergenéricos. En la Tabla 1 se presentan discriminados por nombre científico, nombre común y cultivar, así como por el nombre con el cual se los reconocerá a lo largo del cuerpo de esta tesis.

Descripción de cosecha

Las muestras de semillas provenientes de la cosecha del año 2015, fueron obtenidas de plantas semilleras fiscalizadas por INASE y ubicadas en la colección de portainjertos del Centro de Saneamiento de Citrus de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes de Tucumán y provistas por el mencionado Centro.

Extracción de las semillas

Los frutos se cortaron en mitades con un cuchillo estéril y se recogieron las semillas sobre tamices. Las semillas extraídas se lavaron varias veces con agua corriente para eliminar el mucílago, luego se secaron sobre papel de filtro, se esterilizaron superficialmente con solución de hipoclorito sódico al 10% durante 10 minutos (Mumford y Grout, 1979) y se enjuagaron en agua destilada, Posteriormente se secaron al aire a temperatura ambiente por 24

horas hasta obtener un contenido de humedad del 15% y se almacenaron en bolsas de polietileno en el refrigerador hasta su utilización (Khan *et al.*, 2003).

Metodología de trabajo

Para este estudio se utilizaron los llamados descriptores de caracterización. Estos permiten una discriminación fácil y rápida entre fenotipos. Generalmente son caracteres altamente heredables, pueden ser fácilmente detectados a simple vista y se expresan igualmente en todos los ambientes. Además, pueden incluir un número limitado de caracteres adicionales considerados deseables por consenso de los usuarios de un cultivo en particular (IBPGR, 2000).

Estos descriptores de caracterización incluyen caracteres cualitativos y cuantitativos, que fueron aplicados para el análisis de las semillas de portainjertos cítricos tomados para este estudio. Dentro de los caracteres cualitativos, se seleccionaron características morfológicas de las semillas botánicas de los portainjertos cítricos, siguiendo los parámetros establecidos por el International Bureau of Plant Genetic Resources (IBPGR, 2000) y la Dirección de Registro de Variedades del INASE, los cuales se utilizaron como base del trabajo de descripción de cada semilla.

Se diseñaron hojas de codificación para anotar las mediciones tomadas siguiendo como base lo descrito en el Registro Nacional de Cultivares (RNC) de INASE y en el IBPGR. Todas las evaluaciones descritas se realizaron sobre muestras previamente homogeneizadas que consistían en 5 repeticiones de 10 semillas de cada especie y cultivar en estudio.

Los caracteres cualitativos involucrados en esta tesis fueron: Color de tegumentos (testa y tegmen), Rugosidad de los tegumentos. Para Color de tegumentos se utilizó la cartilla de colores de la Real Horticultural Society (RHS, Colour Chart, 2007). La Rugosidad se analizó mediante observación visual; de este modo, se consideró su presencia clasificando en sin rugosidad; rugosidad ligera, rugosidad media y rugosidad fuerte. Se observó además la orientación de las rugosidades y se clasificó como paralela cuando se orientaba principalmente siguiendo el eje longitudinal de las semillas o como no definida cuando tenía más de una orientación.

Nombre científico	Nombre Común - Cultivar	Nombre usado en el texto
<i>Citrus sinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Citrango - Troyer	Troyer
<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	Trifolio - Rubidoux	Rubidoux
<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	Trifolio - Flying Dragon	F. Dragon
<i>Citrus paradisi</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Citrumelo - CPB 4475	CPB
<i>Citrus reticulata</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Citrandarín - 61AA3	61AA3
<i>Citrus sinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Citrango - C-35	C35
<i>Citrus paradisi</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Citrumelo - 75 AB	75AB
<i>Citrus reshni</i> x (<i>C. paradisi</i> x <i>P. Trifoliata</i>)	Citrus (Otros Híbridos) - 79 AC	79AC
<i>Citrus sinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Citrango – Benton	Benton
<i>Citrus reticulata</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Citrandarín - X639	X639
<i>Citrus reshni</i> Hort. Ex Tanaka	Mandarino Cleopatra	Cleopatra
<i>Citrus jambhiri</i> Lush	Limón Rugoso	Rugoso
<i>Citrus aurantium</i> L.	Naranja Agrio	Agrio
<i>Citrus volkameriana</i> Pasquale	Volkameriana	Volkameriana
<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	Trifolio- Rich	Rich
<i>Citrus limonia</i> Osbeck	Lima Rangpur	Rangpur
<i>C. volkameriana</i> x <i>Citrus reshni</i>	Citrus (Otros Híbridos) - 81 G 220	81G220
<i>C. volkameriana</i> x <i>Citrus reshni</i>	Citrus (Otros Híbridos) - 81 G 513	81G513
<i>Citrus sinensis</i> x <i>Poncirus trifoliata</i>	Citrango - Carrizo	Carrizo
<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.	Trifolio - Concordia	Concordia

Tabla 1: Lista de especies y cultivares de portainjertos cítricos estudiados.

Los caracteres cuantitativos seleccionados para el estudio fueron Largo, Ancho y Espesor de las semillas. Se incluyó la medición del Largo de la punta o tamaño del extremo de la semilla, característica no común en los descriptores. Las mediciones se efectuaron con calibre digital con escala milimetrada y con ayuda de microscopio estereoscópico.

El Largo se midió desde el extremo distal, hasta el extremo proximal (Figura 3). El Ancho se midió desde un lateral a otro (Figura 4).

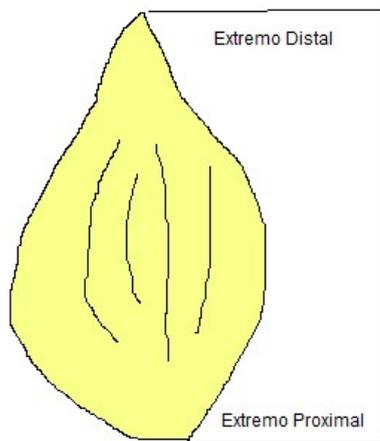


Figura 3: Variable Largo; medición.

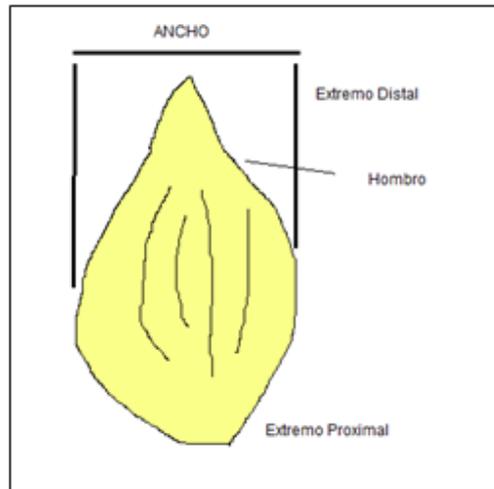


Figura 4: Variable Ancho; medición.

El Espesor se midió desde la parte inferior hasta la parte superior (Figura 5). El Largo de la punta se midió desde el extremo distal hasta el hombro (Figura 6). Se aclara que se toma el extremo distal de la semilla, siempre y cuando no se encuentre el embrión; o sea, se tiene en cuenta lo que solo es material de cubierta; esto se nota tocando la punta si hay resistencia se encuentra el embrión, de lo contrario son solo cubiertas.

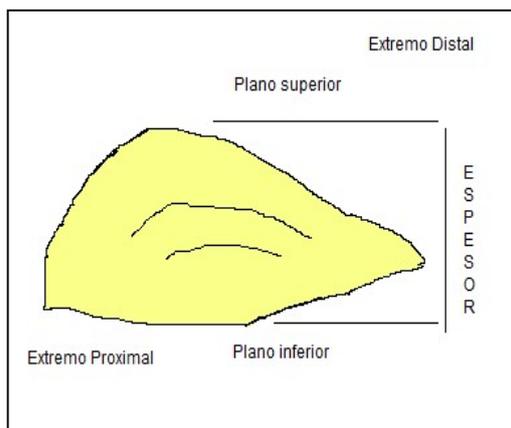


Figura 5: Variable Espesor; medición.

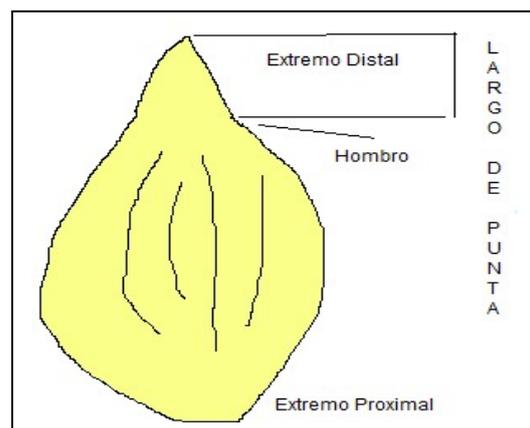


Figura 6: Variable Largo de la punta; medición.

Los datos cuantitativos obtenidos fueron analizados estadísticamente considerando un diseño completamente al azar con cinco repeticiones. Se realizaron análisis de la varianza y test de comparación de medias Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) ($p \leq 0,05$).

Con los datos cualitativos se calculó la eficiencia para Color de testa y tegmen para cada portainjerto, siendo 100% eficiente cuando la totalidad de las semillas tenían el mismo color de testa o tegmen. Asimismo, se contabilizaron los portainjertos que poseían la característica evaluada, lo que se denominó Contaminante (contaminante es cualquier otro cultivar que presente la misma característica; es decir, mismo Color de testa y tegmen), 0% de contaminante significa que solo un portainjerto poseía esta característica comparada al resto en estudio. Estos dos últimos cálculos, eficiencia y contaminante, expresan la solidez o importancia de una determinada característica para ser utilizada como rasgo distintivo y específico en la diferenciación.

En resumen, las variables cuantitativas consideradas fueron: Largo, Ancho y Espesor de las semillas, parámetros que se encuentran en los descriptores. Las variables cualitativas incorporadas fueron: Color de los tegumentos y Rugosidad de las semillas (presencia o no, intensidad y direccionamiento o patrón). La variable cuantitativa incorporada fue: Largo de la punta de la semilla, para determinar si existe una relación entre este carácter y el largo de la semilla propiamente dicha.

Con los resultados obtenidos se estableció una clave de clasificación y diferenciación de portainjertos por las características de las semillas. Establecida la clave de clasificación, las características utilizadas para ello que no se encuentran en los descriptores estudiados, serán sugeridas al INASE para su incorporación en los mismos para poder ser utilizados oficialmente. De la misma manera, se puede ofrecer la incorporación de estas variables a otras organizaciones de estandarización de datos para distinción de variedades, como ser la Organización Internacional de Protección de Variedades (UPOV son sus siglas en inglés).

Lugar de trabajo, equipamiento, infraestructura

Se contó con la colaboración del Centro de Saneamiento de Cítricos de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC). La misma ha ofrecido las semillas para el estudio, así como acceso a las instalaciones y uso de todos los elementos de laboratorio necesarios para conducir esta investigación.

RESULTADOS

Evaluación de caracteres cuantitativos

1- Largo

Los valores promedios, mínimos y máximos para la variable Largo figuran en la Tabla 2.

El valor promedio para la variable Largo fluctuó entre 8,71 milímetros para Rangpur y 15,05 milímetros para Agrio. El 75% de los portainjertos tuvo como valor promedio de la variable Largo entre 9,15 y 11,9 milímetros. Solo tres portainjertos, Carrizo, Troyer y Agrio, tuvieron como valor medio 12,46 milímetros o mayor.

Portainjerto	Largo			
	Promedio	Mínimo	Máximo	Error Estándar
Rugoso	8,71	6,56	10,69	0,14
79AC	8,76	7,40	9,94	0,10
Rangpur	9,15	7,61	11,46	0,11
Cleopatra	9,53	1,45	11,57	0,20
81G513	9,70	6,55	12,61	0,17
75AB	9,82	7,85	11,77	0,14
61AA3	9,86	8,19	12,52	0,11
Volkameriana	10,09	4,09	12,43	0,20
81G220	10,36	7,86	12,31	0,15
Rich	10,51	7,78	12,20	0,13
F. Dragon	10,67	8,61	13,28	0,12
Benton	10,85	8,90	13,08	0,13
X639	10,86	8,90	12,41	0,12
Rubidoux	11,29	8,91	13,02	0,14
C-35	11,45	9,09	13,63	0,15
Concordia	11,57	10,08	13,11	0,12
CPB	11,90	9,58	13,71	0,14
Carrizo	12,46	9,51	15,34	0,19
Troyer	13,05	10,16	15,55	0,19
Agrio	15,05	10,78	17,70	0,22

Tabla 2: Valores promedios, mínimos, máximos en milímetros y error estándar del promedio, de la variable Largo. Coeficiente de variación 9,96.

2.- Ancho y Espesor

En las Tablas 3 y 4 se muestran los valores obtenidos para Ancho y Espesor; todos los cultivares derivados de *Poncirus trifoliata* o híbridos del mismo, presentaron los valores promedio más altos para estas variables.

Portainjerto	Ancho			
	Promedio	Mínimo	Máximo	Error Estándar
81G220	3,65	2,44	4,52	0,06
Volkaneriana	4,48	3,51	5,38	0,06
Rangpur	4,68	3,63	7,97	0,10
81G513	4,81	3,21	6,07	0,10
Rugoso	4,89	3,75	7,70	0,09
Cleopatra	5,01	3,85	6,14	0,07
X639	5,20	4,27	5,92	0,06
79AC	5,44	4,35	6,45	0,07
Agrio	6,02	3,75	7,56	0,10
75AB	6,15	4,74	7,81	0,10
C-35	6,29	4,99	8,30	0,10
Benton	6,51	5,00	8,40	0,09
F. Dragon	6,66	5,30	8,50	0,10
Carrizo	6,76	0,90	9,91	0,19
61AA3	6,78	5,23	8,57	0,10
Concordia	6,78	5,61	8,23	0,09
CPB	6,93	5,50	8,47	0,09
Rich	6,94	4,40	8,41	0,12
Rubidoux	7,30	6,12	8,58	0,08
Troyer	7,52	5,66	9,54	0,12

Tabla 3: Valores promedios, mínimos y máximos, en milímetros y error estándar del promedio, de la variable Ancho. Coeficiente de variación 11,71.

Portainjerto	Espesor			
	Promedio	Mínimo	Máximo	Error Estándar
Rugoso	2,28	0,02	4,42	0,19
81G220	2,78	2,03	3,46	0,04
Rangpur	3,37	2,02	4,41	0,07
Volkameriana	3,39	2,42	4,61	0,07
81G513	3,78	2,82	5,06	0,08
79AC	3,88	2,90	4,93	0,06
Cleopatra	4,07	3,31	4,90	0,06
Agrio	4,11	3,27	5,27	0,06
C-35	4,17	2,86	5,45	0,08
X639	4,44	3,56	5,36	0,06
Concordia	4,47	3,70	5,44	0,06
F. Dragon	4,67	3,67	6,27	0,08
Rich	4,86	3,51	6,02	0,08
Carrizo	5,05	3,88	6,47	0,09
Benton	5,06	3,54	6,55	0,08
Rubidoux	5,13	4,05	7,94	0,08
CPB	5,17	3,91	6,53	0,07
75AB	5,35	3,48	6,96	0,10
61AA3	5,42	4,08	6,77	0,09
Troyer	6,00	4,36	7,56	0,09

Tabla 4: Valores promedios, mínimos y máximos, en milímetros, y error estándar del promedio de la variable Espesor. Coeficiente de variación 13,79

3.- Largo de la punta

Los valores obtenidos para Largo de punta (Tabla 5) mostraron una gran dispersión siendo el menor valor (0,79 milímetros) para el portainjerto 79 AC y el mayor valor para 81G220 (4,04 milímetros)

	Largo de punta			
Portainjerto	Promedio	Mínimo	Máximo	Error Estándar
79AC	0,59	0,06	1,43	0,05
Rich	0,63	0,01	1,71	0,05
F. Dragon	0,70	0,01	1,47	0,06
Rubidoux	1,02	0,01	2,42	0,07
Rugoso	1,04	0,02	2,38	0,08
Concordia	1,62	0,51	2,86	0,07
Benton	1,63	0,28	4,30	0,11
61AA3	1,93	0,43	3,54	0,10
C-35	1,97	0,76	3,72	0,09
Rangpur	2,08	0,98	3,59	0,09
Volkameriana	2,18	0,84	4,60	0,12
CPB	2,26	0,77	4,18	0,11
Cleopatra	2,51	1,20	4,42	0,12
75AB	2,62	1,35	4,94	0,11
Carrizo	2,92	0,56	5,43	0,17
Troyer	3,16	0,89	5,22	0,15
81G513	3,21	1,47	5,13	0,13
X639	3,25	1,08	5,93	0,15
Agrio	3,46	1,39	6,32	0,17
81G220	4,04	2,02	6,21	0,13

Tabla 5: Valores promedios, mínimos y máximos, en milímetros, y error estándar del promedio de la variable Largo de la punta. Coeficiente de variación 36,98.

Evaluación de caracteres cualitativos

1- Rugosidad

En la Tabla 6 se presentan los resultados obtenidos para el carácter Rugosidad. Se informan los hallazgos respecto de su presencia o no, al categorizar en porcentajes; del mismo modo que su intensidad nula, leve, media o fuerte; el patrón de las rugosidades, paralelas cuando se orientaban principalmente siguiendo el eje longitudinal de las semillas o como no definida cuando tenía más de una orientación.

	Rugosidad		
PORTAINJERTO	PRESENCIA	INTENSIDAD	PATRON
75AB	Lisas 100%		
81G513	Lisas 100%		
Cleopatra	Lisas 100%		
Concordia	Lisas 100%		
F. Dragon	Lisas 100%		
Rich	Lisas 100%		
Rubidoux	Lisas 100%		
81G220	Lisas 64%	100% Ligera	100% Paralelo
Rugoso	Lisas 76%	Del 24% el 100% Ligera	Del 24% el 100% Paralelo
CPB	Lisas 82%	Del 18% EL 89% Ligera el resto Media	Del 18% el 89% sin Patrón definido
Benton	Lisas 84%	100% Ligera	50% sin Patrón definido y 50% Paralelo
61AA3	Lisas 94%	Del 6% el 100% Ligera	Del 6% el 67% sin Patrón definido
Rangpur	Lisas 94%	Del 6% el 100% Ligera	Del 6% el 100% Paralelo
X639	Lisas 96%	Del 4% el 100% Ligera	Del 4% el 100% sin Patrón definido
C35	Rugosas 100%	4% Fuerte, 50% Media y 46% Ligera	88% Rugosidad diferente en ambas caras. 84% sin Patrón definido
Volkameriana	Rugosas 60%	Del 60% el 97% Ligera y 3% media	100% Paralelo
79AC	Rugosas 80%	Del 80% el 95% Ligera	58% Paralelo
Carrizo	Rugosas 90%	98% Ligera y 2% Media	Del 67% el 100% Paralelo
Agrio	Rugosas 96%	21% Fuerte, 44% Media y 35% Ligera	96% Paralelo
Troyer	Rugosas 98%	Del 98% el 100% Ligera	Del 98% el 72% sin Patrón definido

Tabla 6: Análisis del carácter cualitativo Rugosidad de las semillas de veinte portainjertos de cítricos.

2- Color de tegumentos

En la Tabla 7 se presentan los resultados obtenidos para el carácter Color de tegumentos. La información recabada se corresponde con la cartilla de colores de la Real Horticultural Society (RHS, Colour Chart, 2007).

PORTAINJERTO	Código Carta RHS	Color de testa	Código Carta RHS	Color de tegmen
Troyer	WG156D o WGNN155A	blanco verdoso	GY161 (ABC)	verde amarillento
Agrio	W155 A	blanquecino	GO165 (BC)	verde anaranjado
81G220	GO161C	verde anaranjado	GO165 C y GO166C	verde anaranjado
81G513	GO161C	verde anaranjado	GO165 (AB)	verde anaranjado
75AB	GO164D	verde anaranjado	GO164 (BC)	verde anaranjado
X639	GO164D	verde anaranjado	GO164 (BC)	verde anaranjado
Carrizo	GW158B	verde blancuzco	GO164B	verde anaranjado
Rangpur	GY160C	verde amarillento	GO164 (AC)	verde anaranjado
Concordia	GY162 (AB)	verde amarillento	GO164 (BC)	verde anaranjado
Cleopatra	GW156 (BCD)	verde blancuzco	GW156 (AC)	verde blancuzco
Rugoso	GW156 (AB)	verde blancuzco	GO166 (BC)	verde anaranjado
79AC	GW156D	verde blancuzco	GO164B	verde anaranjado
CPB	GY161 (ABCD)	verde amarillento	GO164B	verde anaranjado
Benton	GY161 (ABC)	verde amarillento	GO164 (BCD)	verde anaranjado
Rich	GY161 (BCD)	verde amarillento	GO164C	verde anaranjado
Rubidoux	GY161 (ACD)	verde amarillento	GY161 (ABC)	verde amarillento
F. Dragon	GY161 (ABCD)	verde amarillento	GY161 (AB)	verde amarillento
61AA3	GY161 (ABCD)	verde amarillento	GY164B y GO165 (BC)	verde amarillento (68%) y verde anaranjado (32%)
C-35	GY161 (BCD)	verde amarillento	GO165C	verde anaranjado
Volkameriana	GW156D	verde blancuzco	GO165 (BC)	verde anaranjado

Tabla 7: Colores de Testa y Tegmen de las semillas de veinte portainjertos de cítricos.

Los resultados del análisis estadístico sobre el valor promedio de las variables Largo, Ancho, Espesor y Largo de punta. para los portainjertos estudiados. se presentan en la Tabla 8. La decisión de incluir datos de “Largo de punta” o “tamaño del extremo de la punta” se debió a las diferencias observadas en los distintos grupos de semillas.

El portainjerto Rugoso presentó valores de semilla más corta y Carrizo, Troyer y Agrio semillas más largas, los cuales difieren significativamente del resto de los portainjertos ($p \leq 0.05$). Con respecto a las otras variables la situación es similar: para Ancho de semillas solo 81G220 se diferencia estadísticamente de los demás portainjertos; en Espesor solamente Rugoso y 81 G220 y en largo de punta únicamente 81G220. Por lo que se concluye que ninguna de las variables cuantitativas estudiadas tomadas individualmente podría ser utilizada para identificar y diferenciar los portainjertos.

	Largo	Espesor	Ancho	Largo de punta
PORTAINJERTO	Promedios			
Rugoso	8,71 A	2,28 A	4,89 CD	1,04 B
79AC	8,76 AB	3,88 DE	5,44 F	0,59 A
Rangpur	9,15 BC	3,37 C	4,68 BC	2,08 DE
Cleopatra	9,53 CD	4,07 EF	5,01 DE	2,51 FG
81G513	9,70 DE	3,78 D	4,81 CD	3,21 IJ
75AB	9,82 DE	5,35 LM	6,15 G	2,62 GH
61AA3	9,86 DE	5,42 M	6,78 JK	1,93 CD
Volkameriana	10,09 EF	3,39 C	4,48 B	2,18 DE
81G220	10,36 FG	2,78 B	3,65 A	4,04 K
Rich	10,51 FGH	4,86 IJ	6,94 K	0,63 A
F. Dragon	10,67 GH	4,67 HI	6,66 IJ	0,70 A
Benton	10,85 H	5,06 JK	6,51 HI	1,63 C
X639	10,86 H	4,44 G	5,20 EF	3,25 J
Rubidoux	11,29 I	5,13 KL	7,30 L	1,02 B
C35	11,45 I	4,17 F	6,29 GH	1,97 DE
Concordia	11,57 IJ	4,47 GH	6,78 JK	1,62 C
CPB	11,90 J	5,17 KL	6,93 JK	2,26 EF
Carrizo	12,46 K	5,05 JK	6,76 IJK	2,92 HI
Troyer	13,05 L	6,00 N	7,52 L	3,16 IJ
Agrio	15,05 M	4,11 EF	6,02 G	3,46 J

Tabla 8: Valores promedio de las variables Largo, Ancho, Espesor y Largo de punta de semillas de veinte portainjertos de citrus. *En la misma columna, las medias seguidas con la misma letra no difieren significativamente (DGC, $p \leq 0,05$)

Con respecto a las variables cualitativas en la Tabla 9 se presenta para Color de testa y tegmen, la eficiencia y contaminantes. Los contaminantes son aquellos portainjertos con alguna semilla con el mismo color de tegmen que el estudiado. Los portainjertos Troyer, Agrio, Carrizo, Rangpur y Rugoso son los únicos portainjertos en los cuales el Color de testa fue uniforme en todas las semillas analizadas (100 % de eficiencia, 0% de contaminantes) o sea que ningún otro portainjerto de los estudiados posee el mismo Color de testa. 81G 513, Cleopatra y Concordia tienen una eficiencia del 100% y solo tienen un contaminante que corresponde a 81G220, a 79AC y a Rich respectivamente.

Para 61AA3, portainjerto con 100% de eficiencia, los contaminantes (Rubidoux, F. Dragon, CPB, 75AB, 79AC, Benton, Rich y C35) impiden asegurar la identificación.

Portainjerto	Eficiencia del Color de testa	Contaminantes del Color de testa	Contaminante
Troyer	100	0	
Agrio	100	0	
Carrizo	100	0	
Rangpur	100	0	
Rugoso	100	0	
81G513	100	1	81G220
Cleopatra	100	1	79AC
Concordia	100	1	Rich
61AA3	100	8	Rubidoux, F. Dragon, CPB,75AB, 79AC, Benton, Rich, C35
Rubidoux	98	8	61AA3, F. Dragon, 75AB, 79AC, Benton, Rich, C35
CPB	98	8	Rubidoux, F. Dragon, 61AA3, 75AB, 79AC, Benton, Rich, C35
81G220	94	1	81G513
Rich	94	8	Rubidoux, F. Dragon, CPB,75AB, 61AA3, 79AC, Benton, C35
X639	92	3	C35, 75AB, Benton
79AC	90	4	Benton, X639, Cleopatra, Volkameriano
75AB	80	3	C35, X639, Benton
Benton	80	8	Rubidoux, F. Dragon, CPB,75AB, 61AA3, 79AC, Rich, C35
F. Dragon	78	8	61AA3, Rubidoux, CPB, 75AB, 79AC, Benton, Rich, C35
C35	70	8	Rubidoux, F. Dragon, CPB,75AB, 61AA3, 79AC, Rich, Benton
Volkameriana	68	4	79AC, Benton, X639, Cleopatra

Tabla 9. Porcentaje de eficiencia y contaminantes para la variable Color de testa de semillas de veinte portainjertos de citrus.

Los valores obtenidos para la variable Forma, no permiten realizar algún análisis que ayude a utilizarla como variable de diferenciación. Pero, teniendo en cuenta la predominancia en los datos obtenidos y la bibliografía sobre el tema, podemos definir la forma frecuente en la especie o variedad en estudio. En la Tabla 10 podemos observar las formas predominantes para cada especie y variedad estudiadas.

Portainjerto	Forma
Troyer	Globosa
Rubidoux	Ovoide
F. Dragon	Ovoide
CPB	Ovoide
61AA3	Ovoide
C-35	Globosa
75AB	Globosa
79AC	Ovoide
Benton	Globosa
X639	Ovoide
Cleopatra	Ovoide
Rugoso	Globosa
Agrio	Ovoide
Volkameriana	Globosa
Rich	Ovoide
Rangpur	Ovoide
81G220	Cuneiforme
81G513	Ovoide
Carrizo	Globosa
Concordia	Ovoide

Tabla 10. Forma predominante de la semilla de veinte portainjertos de citrus.

Clave dicotómica

1. Testa verde amarillenta:
 - 1.1. Tegmen verde amarillento:
 - 1.1.1. Más largas y globosas: RUBIDOUX.
 - 1.1.2. Más cortas y aguzadas: F. DRAGON
 - 1.2. Tegmen verde anaranjado:
 - 1.2.1. Algo rugosas: BENTON
 - 1.2.2. Lisas:
 - 1.2.2.1. Largo, Ancho y Espesor significativamente menores: . RANGPUR
 - 1.2.2.2. Largo, Ancho y Espesor significativamente mayores:
 - 1.2.2.2.1. Largo mayor y más aguzadas: CONCORDIA.
 - 1.2.2.2.2. Largo menor y aplanadas: RICH.
2. Testa de otros colores:
 - 2.1. Testa con predominancia de blanco:
 - 2.1.1. Testa blanquecina: AGRIO.
 - 2.1.2. Testa blanco-verdosa: TROYER.
 - 2.1.3. Testa blanco-amarillenta:
 - 2.1.3.1. Rugosidad diferencial en ambas caras: C35.
 - 2.1.3.2. Rugosidad sin diferenciar en las caras:
 - 2.1.3.2.1. Significativamente más largas: CPB.
 - 2.1.3.2.2. Significativamente más cortas: 61AA3.
 - 2.2. Testa con predominancia de verde:
 - 2.2.1. Testa verde anaranjado:
 - 2.2.1.1. Testa de coloración más clara que el Tegmen:
 - 2.2.1.1.1. Más larga y aguzada: 81G220.
 - 2.2.1.1.2. Más corta y globosa: 81G513.
 - 2.2.1.2. Testa de coloración más oscura que el Tegmen:
 - 2.2.1.2.1. Más larga y aguzada: X639.
 - 2.2.1.2.2. Más corta y globosa: 75AB.
 - 2.2.2. Testa verde blanquecina:
 - 2.2.2.1. Tegmen verde blanquecino, cubierta lisa: CLEOPATRA.
 - 2.2.2.2. Tegmen verde anaranjado:
 - 2.2.2.2.1. Rugosidad diferencial en ambas caras: 79AC.
 - 2.2.2.2.2. Semillas con rugosidad sin diferenciar en las caras:

- 2.2.2.2.2.1. Largo, Ancho y Espesor significativamente mayores:
..... CARRIZO.
- 2.2.2.2.2.1.1. Largo, Ancho y Espesor significativamente menores:
 - 2.2.2.2.2.1.1.1. Largo mayor: VOLKA.
 - 2.2.2.2.2.1.1.2. Largo menor: RUGOSO.

El Color de testa, nos permite dividir las semillas en dos grupos, los de testa verde amarillento y los de testa de otros colores:

Testa de color verde amarillenta: Rubidoux, F. Dragon, Benton, Rangpur, Concordia y Rich.

Testa de otros colores: Agrio, Troyer, C35, CPB, 61AA3, 81G220, 81G513, X639, 75AB, Cleopatra, 79AC, Carrizo, Volka y Rugoso.

Si contrastamos entre los portainjertos del primer grupo testa de color verde amarillenta, podemos definir dos nuevos grupos por el color del Tegmen:

Tegmen de color verde amarillento: Rubidoux y F. Dragon.

Tegmen de color verde anaranjado: Benton, Rangpur, Concordia y Rich.

Rubidoux y F. Dragon se diferencian al tener el primero semillas largas y globosas y el segundo cortas y aguzadas. En el grupo de Benton, Rangpur, Concordia y Rich podemos separar a Benton porque tiene semillas algo rugosas, mientras que Rangpur, Concordia y Rich son totalmente lisas.

Rangpur posee semillas de Largo, Ancho y Espesor significativamente menores, mientras que Concordia y Rich son de Largo, Ancho y Espesor significativamente mayores. Entre estas dos últimas características Concordia tiene semillas más largas y aguzadas y Rich de largo menor y más planas respecto de la anterior.

Dentro del grupo de otros colores de testa, diferentes al verde amarillento, Agrio, Troyer, C35, CPB y 61AA3 poseen testa con predominancia del color blanco mientras que 81G220,

81G513, X639, 75AB, Cleopatra, 79AC, Carrizo, Volka y Rugoso poseen testa con predominancia de color verde.

Asimismo, Agrio se diferencia del grupo que comparte con Troyer, C35, CPB y 61AA3 por su testa blanquecina y Troyer por su testa de color blanco verdosa; mientras que C35, CPB y 61AA3 poseen testa de color blanco amarillenta. A su vez C35 posee rugosidad diferencial en ambas caras de la semilla mientras que CPB y 61AA3 no tienen diferencial de rugosidad en ambas caras. CPB tiene semillas significativamente más largas que 61AA3.

Con las semillas de 81G220, 81G513, X639, 75AB, Cleopatra, 79AC, Carrizo, Volka y Rugoso podemos formar dos grupos 81G220, 81G513, X639, 75AB poseen testa color verde anaranjado y Cleopatra, 79AC, Carrizo, Volka y Rugoso tienen semillas con testa verde blanquecina.

81G220 y 81G513 poseen color de testa más clara que el color del tegmen mientras que X639 y 75AB poseen color de testa más oscura que el tegmen.

Las semillas de 81G220 y 81G513 se diferencian por el tamaño, las semillas de 81G220 son significativamente más largas y aguzadas y, por el contrario, las semillas de 81G513 son significativamente más cortas y globosas.

De la misma manera, X639 posee semillas significativamente más largas y aguzadas y 75AB más cortas y globosas.

Dentro del grupo de testa verde blanquecina (Cleopatra, 79AC, Carrizo, Volka y Rugoso: Cleopatra tiene tegmen verde blanquecino y cubierta lisa y el resto con tegmen verde anaranjado (79AC, Carrizo, Volka y Rugoso). Entre estos, 79AC tiene rugosidad diferencial en ambas caras; mientras que el resto (Carrizo, Volka y Rugoso) posee rugosidad sin diferenciar en ambas caras.

Carrizo presenta semillas de largo, ancho y espesor significativamente mayores; mientras que Volka y Rugoso poseen estas variables significativamente menores que Carrizo. Entre Volka

y Rugoso su largo nos permite separarlas: Volka tiene semillas significativamente más largas que Rugoso.

CONCLUSIONES

Se ha desarrollado una clave dicotómica, consiguiendo cumplir con el objetivo general planteado: “Determinar los descriptores de semillas de cítricos empleados como portainjertos que permitan la identificación y diferenciación de las especies y cultivares”.

El objetivo específico: “Elaborar una clave dicotómica que permita identificar las semillas botánicas de las especies y cultivares utilizadas como portainjertos a partir de muestras de semillas de identidad desconocida; ha sido cumplido al haber elaborado la clave dicotómica que permite diferenciar los distintos portainjertos cítricos estudiados.

Respecto del objetivo “Identificar los caracteres cuantitativos y cualitativos utilizados actualmente que permitan la diferenciación de las semillas de los portainjertos”. Este trabajo logró determinar que, por sí solas, las variables estudiadas no permiten diferenciar los portainjertos cítricos; pero, tomándolas en conjunto, las características cualitativas, Forma (predominante) y Rugosidad; y las características cuantitativas Largo, Ancho y Espesor; no permiten separar todos los portainjertos estudiados.

El objetivo específico:” Identificar o determinar nuevas características cualitativas y cuantitativas, que permitan la diferenciación de las semillas de las especies y cultivares de los portainjertos”, ha sido cumplido al reconocer que: Color de testa, Color de tegmen y Rugosidad, son características que ayudan a la diferenciación de los portainjertos cítricos en estudio.

También se ha cumplido con el objetivo específico “Evaluar las características cuantitativas y cualitativas que mejor permiten la diferenciación de las semillas botánicas de las especies y cultivares utilizadas como portainjertos a fin de sugerir nuevos descriptores”. Debido a que se han estudiado estas características y se evaluó su importancia en la diferenciación de los portainjertos en estudio, logrando obtener una clave de diferenciación.

En cuanto al objetivo específico: “Caracterizar morfológicamente las semillas de especies y cultivares de cítricos empleados como portainjertos”, concluimos que este trabajo permitió cumplirlo eficientemente.

Sin embargo, sería importante la repetición del ensayo en, por lo menos, dos años más, trabajando con 4 repeticiones de 100 semillas. Esos ensayos permitirían saber si existen variables que pueden tener diferencias en el tiempo o estar influenciadas por algún factor ambiental. También con la nueva información se puede elaborar un examen multivariado para ver la posibilidad de aumentar la determinación de las diferencias entre los datos obtenidos, para mejorar la eficiencia de la clave.

Además, habría que realizar un ejercicio de validación, tomando frutos de portainjerto conocido, codificar las muestras y verificar si se puede identificar la especie y/o cultivar que se trate, utilizando la clave conformada en este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Alsina M. 1988. Estudio Morfológico y Anatómico de las Semillas del Género *Ornithopus* L. (Fabaceae). Acta Botánica Malacitana, 13. Páginas 171 – 178. Málaga, España.
- Anderson C. M.; Banfi, G, Casafús, C. M.; Costa, N. B.; Fabiani, A.; Garran, S. M.; Marco, G.; Mika, R. H.; Mousques, J. A.; Plata, M. I.; Vazquez, D. E.; Beñatena, H. N.; Danos, E.; Larocca, L.; Messina, M.; Ragone, M.; Rivas, R. y Vaccaro, N. 1996. Manual para Productores de Naranja y Mandarina. Inta Concordia, Concordia, Entre Ríos. Capítulo 4; Páginas 2 y 3.
- Arbo, M. M., 2002. Botánica Morfológica: Morfología de Plantas Vasculares - Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina. www.biologia.edu.ar/botanica.
- Chapot, H. y Praloran, J. C. 1955. Les Graines de Citrus. Report of the Fourteenth International Horticultural Congress [Neth.] 2: Páginas 1294–1323.
- Dhillon, R. S.; Kaundal, G. S.; Cheema, S. S. 1993. Nucellar Embryony for Propagating Citrus. Indian Hort. 38: Páginas 44-45.
- Federcitrus, 2018. La Actividad Citrícola Argentina. Buenos Aires, Argentina. Páginas 4 a 8.
- Hamilton, K. N., Ashmore, S. E., Drew, R.A. 2007. Caracterización Morfológica de Semillas de Tres Especies Australianas de Cítricos Silvestres (Rutaceae): *Citrus australasica* Muell. F., *C. inodora* Bailey, F. M. y *C. garrawayi* Bailey, F. M. Genet Resour Crop Evol 55. Páginas 683–693. <https://doi.org/10.1007/s10722-007-9274-x>
- Hodgson, R.W. 1967. Horticultural Varieties of Citrus. Reuther, W., Batchelor, L. D., Webber, H. J. (editores). The Citrus Industry. Volume 1. University of California, Berkeley, USA. Páginas 431-591.
- IBPGR. 2000. Descriptores Para los Cítricos. *Citrus* spp. International Bureau of Plant Genetic Resources, Roma, Italia. Páginas 44-46.
- Khan, M.; Alam, M.; Abbas, M. y Iqbal, M. 2003. Studies on Seed Desiccation Tolerance in Four Citrus Species. Institute of Horticultural Sciences, University of Agriculture, Faisalabad. Pak. J. Agri. Sci., Vol. 40(1-2): Páginas 55-62.
- Koltunow, A. M. 1993. Apomixis: Embryo Sacs and Embryos Formed Without Meiosis or Fertilization in Ovules. Plant Cell 5: Páginas 1425- 1437.

- Koltunow, A., Soltys, K., Nito, N., McClure, S. 2011. Anther, Ovule, Seed, and Nucellar Embryo Development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. Canadian Journal of Botany: Páginas 1567 - 1582
- Ley 20.247, 1973 (<http://www.infoleg.gov.ar>)
- Ley 24.376, 1994 (<http://www.infoleg.gov.ar>)
- Moreira, S.; Gurgel, J. T.; Arruda, L. F. 1947. Poliembrionía em *Citrus Bragantia*, Campinas, v.7, n.3. Páginas 69-106.
- Mumford, P. M.; Grout, B. W. W. 1979. Desiccation and Low Temperature (-196°C) Tolerance of *Citrus limon* Seed. Seed Science & Technology, 7: Páginas 407-410.
- Palacios, J. 2005. Citricultura. Tucumán, Argentina. Páginas 157 a 169.
- Reuther, W.; Batchelor, L. D.; Webber, H. J. 1968. "The Citrus Industry". Vol II, Anatomy, Physiology, Genetics, and Reproduction. University of California – Division of Agricultural Sciences. USA. Páginas 308-310.
- RHS Colour Chart, 2007, Royal Horticultural Society, Londres (Gran Bretaña).
- Sánchez-Damas, J. J.; Avitia-García, E.; Castillo-González, A. M.; Villegas-Monter, A.; Corona-Torres, T. 2006. Estudio Anatómico de la Poliembrionía en Tres Portainjertos de Cítricos. Revista Chapingo Serie Horticultura 12(2); Páginas 145-152.
- Sedgley, M.; Griffin, A. R. 1989. Sexual Reproduction of Tree Crops. Academic Press Inc. San Diego, CA. USA. Páginas 82-92.
- Toll Jubbes, J. y Padilla, E. 1974. "Embriones Nucleares en *Citrus*: Características y Utilización". Universidad Nacional de Tucumán; Facultad de Agronomía y Zootecnia. Serie didáctica N° 30. Tucumán. Páginas 8-10.
- UPOV, 2013. Documento TGP/14 "Glosario de Términos Utilizados en los Documentos de la UPOV"; Sección 2: Términos Botánicos; Subsección 3: Color. Ginebra, Suiza.

ANEXO I

Caracterización de las semillas de portainjertos incluidos en este estudio mediante los caracteres cualitativos y cuantitativos considerados.

Con respecto a las características cualitativas evaluadas, a continuación se describen las más sobresalientes para cada una de los portainjertos en estudio:

TROYER

Largo promedio de 13,05 milímetros, desde 10,16 a 15,55 milímetros. Ancho promedio de 7,52 milímetros, desde 5,66 a 9,54 milímetros. Espesor promedio de 6,0 milímetros, desde 4,36 a 7,56 milímetros. Largo de la punta promedio 3,16 milímetros, desde 0,89 a 5,22 milímetros. Testa lisa, de color blanco amarillento (WG156D de la tabla de la RHS); Tegmen de color verde amarillento (GY161C de la tabla de la RHS). La forma de la semilla es principalmente globosa.



RUBIDOUX

Largo promedio de 11,29 milímetros, desde 8,91 a 13,02 milímetros. Ancho promedio de 7,3 milímetros, desde 6,12 a 8,58 milímetros. Espesor promedio de 5,13 milímetros, desde 4,05 a 7,94 milímetros. Largo de la punta promedio 1,02 milímetros, desde 0,01 a 2,42 milímetros. Testa lisa, de color verde amarillento (GY161D de la tabla de la RHS); Tegmen

de color verde amarillento (GY161C de la tabla de la RHS). Predomina la semilla de forma ovoide.

FLYING DRAGON

Largo promedio de 10,67 milímetros, desde 8,61 a 13,28 milímetros. Ancho promedio de 6,66 milímetros, desde 5,3 a 8,5 milímetros. Espesor promedio de 4,67 milímetros, desde 3,67 a 6,27 milímetros. Largo de la punta promedio 0,7 milímetros mm, desde 0,01 a 1,47 milímetros. Testa lisa, de color verde amarillento (GY161C de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde amarillento (GY161A de la tabla de la RHS). La forma predominante es la ovoide.

CPB

Largo promedio de 11,9 milímetros, desde 9,58 a 13,71 milímetros. Ancho promedio de 6,93 milímetros, desde 5,5 a 8,47 milímetros. Espesor promedio de 5,17 milímetros, desde 3,91 a 6,53 milímetros. Largo de la punta promedio 2,26 milímetros mm, desde 0,77 a 4,18 milímetros. Testa lisa a ligeramente rugosa de patrones no definidos, de color blanco amarillento (WG161C de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO164CB de la tabla de la RHS). La forma predominante es la ovoide.



61AA3

Largo promedio de 9,86 milímetros, desde 8,19 a 12,52 milímetros. Ancho promedio de 6,78 milímetros, desde 5,23 a 8,57 milímetros. Espesor promedio de 5,42 milímetros, desde 4,08 a 6,77 milímetros. Largo de la punta promedio 1,93 milímetros, desde 0,43 a 3,54 milímetros. Testa lisa a ligeramente rugosa, de patrones no definidos a paralelos al eje mayor;

de color blanco amarillento (GY161C de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde amarillento (GY164B de la tabla de la RHS). Predomina la forma ovoide.

C35

Largo promedio de 11,45 milímetros, desde 9,09 a 13,63 milímetros. Ancho promedio de 6,29 milímetros, desde 4,99 a 8,3 milímetros. Espesor promedio de 4,17 milímetros, desde 2,86 a 5,45 milímetros. Largo de la punta promedio 1,97 milímetros, desde 0,76 a 3,72 milímetros. Testa lisa a ligeramente rugosa, de patrones no definidos, con diferencias entre la cara superior e inferior; de color blanco amarillento (GY161C de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO165C de la tabla de la RHS). De forma predominantemente globosa.

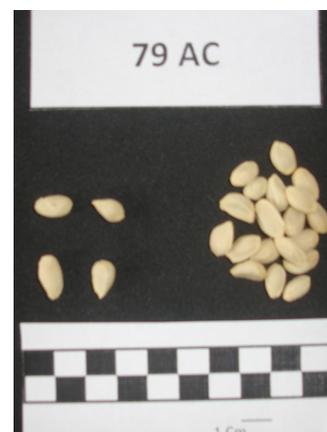
75AB

Largo promedio de 9,82 milímetros, desde 7,85 a 11,77 milímetros. Ancho promedio de 6,15 milímetros, desde 4,74 a 7,81 milímetros. Espesor promedio de 5,35 milímetros, desde 3,48 a 6,96 milímetros. Largo de la punta promedio 2,62 milímetros, desde 1,35 a 4,94 milímetros. Testa lisa, de color verde anaranjado (GO164D de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado más claro (GO164C de la tabla de la RHS). La forma es predominantemente globosa.



79AC

Largo promedio de 8,76 milímetros, desde 7,4 a 9,94 milímetros. Ancho promedio de 5,44 milímetros, desde 4,35 a 6,45 milímetros. Espesor promedio de 3,88 milímetros, desde 2,9



a 4,93 milímetros. Largo de la punta promedio 0,59 milímetros, desde 0,06 a 1,43 milímetros. Testa lisa a ligeramente rugosa de patrones paralelos al eje mayor; de color verde blanquecino (GW156D de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO164B de la tabla de la RHS). De forma predominantemente ovoide.

BENTON

Largo promedio de 10,85 milímetros, desde 8,9 a 13,08 milímetros. Ancho promedio de 6,51 milímetros, desde 5,0 a 8,4 milímetros. Espesor promedio de 5,06 milímetros, desde 3,54 a 6,55 milímetros. Largo de la punta promedio 1,63 milímetros, desde 0,28 a 4,3 milímetros. Testa lisa a ligeramente rugosa de patrones no definidos; de color verde amarillento (GY161C de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO164C de la tabla de la RHS). La forma predominante es la globosa.

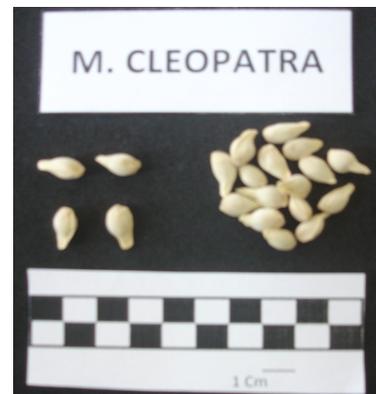
X639

Largo promedio de 10,86 milímetros, desde 8,9 a 12,41 milímetros. Ancho promedio de 5,2 milímetros, desde 4,27 a 5,92 milímetros. Espesor promedio de 4,44 milímetros, desde 3,56 a 5,36 milímetros. Largo de la punta promedio 3,25 milímetros, desde 1,08 a 5,93 milímetros. Testa lisa, de color verde anaranjado (GO164D de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado más claro (GO164B de la tabla de la RHS). Predomina la forma ovoide.



CLEOPATRA

Largo promedio de 9,53 milímetros, desde 1,45 a 11,57 milímetros. Ancho promedio de 5,01 milímetros,



desde 3,85 a 6,14 milímetros. Espesor promedio de 4,07 milímetros, desde 3,31 a 4,9 milímetros. Largo de la punta promedio 2,51 milímetros, desde 1,2 a 4,42 milímetros. Testa lisa, de color verde blanquecino (GW156C de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde blanquecino más claro (GW156A de la tabla de la RHS). Es de forma predominantemente ovoide.

RUGOSO

Largo promedio de 8,71 milímetros, desde 6,56 a 10,69 milímetros. Ancho promedio de 4,89 milímetros, desde 3,75 a 7,7 milímetros. Espesor promedio de 2,28 milímetros, desde 0,02 a 4,42 milímetros. Largo de la punta promedio 1,04 milímetros, desde 0,02 a 2,38 milímetros. Testa mayoritariamente lisa, solo algunas semillas presentan rugosidad con patrones paralelos al eje central; de color verde blanquecino (GW156B de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO166C de la tabla de la RHS). La forma predominante es la globosa.



AGRIO

Largo promedio de 15,05 milímetros, desde 10,78 a 17,7 milímetros. Ancho promedio de 6,02 milímetros, desde 3,75 a 7,56 milímetros. Espesor promedio de 4,11 milímetros, desde 3,27 a 5,27 milímetros. Largo de la punta promedio 3,46 milímetros, desde 1,39 a 6,32 milímetros. Testa mediana a fuertemente rugosa, con patrones paralelos al eje central; de color blanquecino (W155A de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO165C de la tabla de la RHS). Predominantemente su forma es ovoide.



VOLKAMERIANA

Largo promedio de 10,09 milímetros, desde 4,09 a 12,43 milímetros. Ancho promedio de 4,48 milímetros, desde 3,51 a 5,38 milímetros. Espesor promedio de 3,39 milímetros, desde 2,42 a 4,61 milímetros. Largo de la punta promedio 2,18 milímetros, desde 0,84 a 4,6 milímetros. Testa lisa a ligeramente rugosa de patrones paralelos al eje mayor de la semilla, de color verde blanquecino (GW156D de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO165C de la tabla de la RHS). Su forma predominante es la globosa.



RICH

Largo promedio de 10,51 milímetros, desde 7,78 a 12,2 milímetros. Ancho promedio de 6,94 milímetros, desde 4,4 a 8,41 milímetros. Espesor promedio de 4,86 milímetros, desde 3,51 a 6,02 milímetros. Largo de la punta promedio 0,63 milímetros, desde 0,01 a 1,71 milímetros. Testa lisa, de color verde amarillento (GY161B de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO164C de la tabla de la RHS). Predomina la forma ovoide.

RANGPUR

Largo promedio de 9,15 milímetros, desde 7,61 a 11,46 milímetros. Ancho promedio de 4,68 milímetros, desde 3,63 a 7,97 milímetros. Espesor promedio de 3,37 milímetros, desde 2,02 a 4,41 milímetros. Largo de la punta promedio 2,08 milímetros, desde 0,98 a 3,59 milímetros. Testa lisa, de color verde amarillento (GY160C de la tabla de la RHS). El tegmen



de color verde anaranjado (GO164A de la tabla de la RHS). Es de forma predominantemente ovoide.

81G220

Largo promedio de 10,36 milímetros, desde 7,86 a 12,31 milímetros. Ancho promedio de 3,65 milímetros, desde 2,44 a 4,52 milímetros. Espesor promedio de 2,78 milímetros, desde 2,03 a 3,46 milímetros. Largo de la punta promedio 4,04 milímetros, desde 2,02 a 6,21 milímetros. Testa lisa a ligeramente rugosa, de patrones paralelos al eje mayor; de color verde anaranjado (GO161C de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado más oscuro (GO166C de la tabla de la RHS). Es de forma predominantemente cuneiforme.

81G513

Largo promedio de 9,7 milímetros, desde 6,55 a 12,61 milímetros. Ancho promedio de 4,81 milímetros, desde 3,21 a 6,07 milímetros. Espesor promedio de 3,78 milímetros, desde 2,82 a 5,06 milímetros. Largo de la punta promedio 3,21 milímetros, desde 1,47 a 5,13 milímetros. Testa lisa, de color verde anaranjado (GO161C de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado más oscuro (GO165B de la tabla de la RHS). Su forma predominante es la ovoide.

CARRIZO

Largo promedio de 12,46 milímetros, desde 9,51 a 15,34 milímetros. Ancho promedio de 6,76 milímetros, desde 0,9 a 9,91 milímetros. Espesor promedio de 5,05 milímetros, desde 3,88 a 6,47 milímetros. Largo de la punta promedio 2,92 milímetros, desde 0,56 a 5,43 milímetros. Testa ligeramente rugosa con patrones entre no definidos y paralelos al eje mayor en proporciones similares; de color verde blanquecino (GW158B de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO164B de la tabla de la RHS). De forma predominantemente globosa.

CONCORDIA

Largo promedio de 11,57 milímetros, desde 10,08 a 13,11 milímetros. Ancho promedio de 6,78 milímetros, desde 5,61 a 8,23 milímetros. Espesor promedio de 4,47 milímetros, desde 3,7 a 5,44 milímetros. Largo de la punta promedio 1,62 milímetros, desde 0,51 a 2,86 milímetros. Testa lisa, de color verde amarillento (GY162A de la tabla de la RHS). El tegmen de color verde anaranjado (GO164B de la tabla de la RHS). Su forma predominante es la ovoide.