



Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Ciencias Agrarias

Trabajo final de graduación - Modalidad Tesina

“Caracterización de híbridos y evaluación de su comportamiento en vivero para su potencial uso como portainjertos de cítricos.”

Alumno: CEGELSKI, Leandro Emanuel

Director: Ing. Agr. (Dra.) ALAYÓN LUACES, Paula

Tribunal evaluador: Ing. Agr. (Dr.) ESPINOZA, Francisco

Ing. Agr. (Dra.) LÓPEZ, María Gabriela

Lic. (Dr.) MIGNOLLI, Francesco

AÑO 2019

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción.....	2
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos.....	4
Hipótesis	4
Materiales y métodos	4
Variables de crecimiento medidas en plantas madres.....	5
Variables medidas en semillas.....	7
Variables evaluadas en almácigo.....	9
Resultados y Discusión	10
Determinaciones climáticas en vivero.....	10
Caracterización de plantas madres y frutos.....	11
Evaluación de semillas con distintos tiempos de almacenamiento	14
Poder germinativo.....	14
Energía germinativa.....	15
Comportamiento de los híbridos en almácigo.....	16
Biomasa y partición de asimilados.....	16
Crecimiento de raíz y tallo.....	18
Poliembrionía.....	19
Número de hojas	20
Conclusiones	21
Bibliografía.....	22

Resumen

Los portainjertos que conforman las combinaciones de los frutales leñosos, son parte importante de la planificación de una explotación para controlar la precocidad en el ingreso a producción, la resistencia a plagas y enfermedades y el porte de la planta. En el INTA EEA Bella Vista existen árboles adultos que fueron obtenidos del cruzamiento de portainjertos que se encuentran en plena producción y totalmente aclimatados a la región, sin embargo hasta la fecha no se han realizado estudios que permitan caracterizarlos y evaluar sus aptitudes como material vegetal para su utilización en el sector citrícola regional. El objetivo general del trabajo fue caracterizar nuevos híbridos a campo y evaluar su comportamiento en vivero para su potencial uso como portainjertos de cítricos. Se evaluaron 18 plantas provenientes de 3 combinaciones: Mandarino 'Cleopatra' [*Citrus reshni* (Hort.) ex Tan.] x 'Trifolio' [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] (ClxTf), plantas de 'Citrange Troyer' [*C. sinensis* (L.) Osbeck] x trifolio [*P. trifoliata* (L.) Raf.] x Mandarina "común" [*Citrus deliciosa* Tenore] (TxC) y plantas de 'naranja agrio' [*Citrus máxima* (L.) y *Citrus reticulata* (L.)] X Mandarino 'Cleopatra' [*Citrus reshni* (Hort.) ex Tan.] (AgxCi). Se analizó la productividad de los árboles, poliembrionía de sus semillas, poder y energía germinativa durante el almacenamiento, comportamiento en vivero hasta trasplante a injertera. En esta primera etapa de evaluación se concluyó que los híbridos evaluados tienen buen comportamiento general en vivero, sin embargo con diferentes propiedades que pueden ser valiosas según sea el uso del portainjerto. El híbrido más promisorio para su uso como restrictivo es el proveniente de AgxCi. La combinación TxC tiene buena cantidad de semillas y su comportamiento en almacenamiento asegura buen poder germinativo hasta luego de 180 días de cosechado. ClxTf si bien fue el más tardío en germinar, la alta presencia de poliembrionía asegura la obtención de plantas nucelares en vivero.

Introducción

La mayoría de los frutales leñosos se conforman por medio de la utilización de dos partes, portainjerto y variedad, para generar un nuevo individuo con características de ambas porciones facilitando esto su adaptación a condiciones adversas o limitantes. En el caso de los portainjertos, que son el componente del árbol en contacto con el suelo, se requiere que el mismo posea aptitudes asociadas a las características del suelo, a su vigor y a potenciales tolerancias a patógenos que podrían comprometer la vida del individuo. La selección del portainjerto se ha convertido en una estrategia de producción en cultivos frutales, para controlar la precocidad en el ingreso a producción, la resistencia a plagas y enfermedades y el porte de las plantas (Palacios, 2005). En ese sentido en el mercado existen numerosos portainjertos que fueron desarrollados para cubrir estos requerimientos, sin embargo aún es necesario encontrar aquellos que se adapten a cada región en particular. Para la elección del portainjerto es necesario tener en cuenta la influencia que el medio ambiente (biótico y abiótico) ejerce sobre las plantas, ya que son muchos los factores que afectan su comportamiento (vigor y desarrollo de la planta, producción, calidad de frutos, adaptabilidad al medio, relaciones con las características del suelo) y sobre todo, sus relaciones con el cultivar injertado (Agustí, 2010).

En el INTA EEA Bella Vista existen árboles adultos que fueron obtenidos del cruzamiento de portainjertos comerciales hace más de 20 años por lo cual estos ejemplares ya se encuentran en plena producción y totalmente aclimatados a la región. Estos individuos son cruzamientos de cultivares con aptitudes diferentes, por ejemplo uno de los parentales tiene gran valor por su característica de bajo vigor [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] (Chabbal *et al.*, 2015) que fuera combinado con otros cuyo mayor potencial es la resistencia ante alguna de las enfermedades actuales más devastadoras de los cítricos (Siebert, 2017) y ser de porte intermedio citrange “Troyer” [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] x trifolio [*P. trifoliata* (L.) Raf.] o combinado con otro con mayor tolerancia a suelos con pH básicos pero gran porte “mandarina Cleopatra” [*Citrus reshni* (Hort.) ex Tan.]. Hasta la fecha no se han realizado estudios que

permitan caracterizar estos híbridos y evaluar sus aptitudes como material vegetal para la utilización en el sector citrícola regional.

La obtención de plantas cítricas en vivero es un procedimiento que involucra varios pasos los cuales son más o menos exitosos dependiendo del comportamiento del material vegetal.

Los portainjertos cítricos se obtienen por semilla las cuales poseen la capacidad de generar embriones somáticos, muy deseados por su origen asexual, y que pueden aparecer en mayor o menor cantidad dependiendo de su procedencia, debido a que es una característica varietal heredable. La formación de embriones somáticos en las semillas de los cítricos se inicia directamente desde las células nucelares maternas que rodean el saco embrionario (Khan y Roose, 1988). Sin embargo, la frecuencia de desarrollo de plántulas nucelares puede variar según el genotipo y el medio ambiente (Kobayashi *et al.*, 1981). Por su condición de somáticas las plantas provenientes de este tipo de estructuras tendrán el mismo genotipo que la planta madre.

Cuando en una región predomina el uso de un solo portainjerto, se corre el riesgo de grandes pérdidas ante la posible aparición de enfermedades o problemas productivos que lo afecten. Por ello la búsqueda de portainjertos alternativos, con buen comportamiento y adaptación a la región, es necesario para evitar dicha situación para lo cual es necesaria la caracterización de nuevos materiales y la selección de aquellos de comportamiento promisorio.

En la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNNE, se cuenta desde el año 2016 con instalaciones de viveros bajo normativa de SENASA 930/09, en el cual se llevan adelante tareas de investigación. El presente proyecto, tiene entre sus objetivos la búsqueda de alternativas para la mejora y diversificación de la producción frutícola del NEA. La posibilidad de contar con portainjertos de cítricos adaptados a la región que confieran mejores cualidades a la producción puede ser un camino alternativo para el progreso del sector citrícola.

Objetivo general

El objetivo general del trabajo fue caracterizar nuevos híbridos a campo y evaluar su comportamiento en vivero para su potencial uso como portainjertos de cítricos.

Objetivos específicos

- Evaluar y analizar variables de desarrollo y productividad de híbridos de portainjertos cítricos en condiciones de cultivo a campo.
- Analizar la capacidad de almacenamiento de sus semillas.
- Generar información de su comportamiento en vivero hasta etapa de trasplante a injertera.
- Valorar la presencia de poliembrionía de los híbridos.

Hipótesis

La hipótesis que se plantea es que los híbridos de cítricos existentes tienen diferentes características a campo y en vivero, con valor potencial para su uso como materiales comerciales en la región.

Materiales y métodos

El material vegetal con el que se llevaron a cabo las evaluaciones, fueron plantas de cítricos proveniente de cruzamientos que se realizaron en el INTA EEA Bella Vista. Los árboles de 20 años de edad se encuentran en el predio de dicha Estación Experimental (Latitud Sur: 27° 28' 27", Longitud Oeste: 58° 47' 00"; 56 m.s.n.m.) provincia de Corrientes, Argentina.

En total se evaluaron 18 plantas provenientes de 3 combinaciones:

- 1) 6 plantas de Mandarino 'Cleopatra' [*Citrus reshni* (Hort.) ex Tan.] x 'Trifolio' [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] (**ClxTf**).
- 2) 6 plantas de 'Citrange Troyer' [*C. sinensis* (L.) Osbeck] x trifolio [*P. trifoliata* (L.) Raf.] x Mandarina "común" [*Citrus deliciosa* Tenore] (**TxC**).
- 3) 6 plantas de 'naranja agrio' [*Citrus máxima* (L.) x *Citrus reticulata* (L.)] x Mandarino 'Cleopatra' [*Citrus reshni* (Hort.) ex Tan.] (**AgxCi**).

- En las plantas madres se evaluaron variables de crecimiento:
 1. **Altura de la planta (AP)** en metros con regla graduada en cm que fue colocada del lado norte de cada planta pegada al tronco (Figura 1-A).
 2. **Diámetro de la copa (DC)** en metros con regla graduada, en forma perpendicular al líneo de plantación, se proyectó el vuelo de copa. (Figura 1-B).



FIGURA 1: Determinación de altura de planta (A) y de diámetro de copa (B) con regla graduada de plantas semilleras de tres híbridos de portainjertos de cítricos implantadas en el INTA EEA Bella Vista, Corrientes.

3. **Diámetro de tronco** medida con forcípulas, en dirección este-oeste a 50 cm desde el suelo.
4. **Volumen de copa (VC)** en m³ utilizando la fórmula definida por Turrel (1949):

$$\text{Vol} = 0,5236 * H * D^2$$

donde H es la altura de planta y D es el diámetro de la copa.

5. **Tamaño promedio de los frutos:** peso en gramos, altura y diámetro ecuatorial en mm de una muestra de 20 frutos por árbol. La determinación del peso de los frutos se realizó con balanza de precisión y tanto la medición de altura de frutos y diámetro ecuatorial se realizó con un calibre (vernier).

Se realizó la extracción y acondicionamiento de las semillas según protocolo de producción de semillas certificadas utilizado por la EEA INTA Bella Vista (Figura 2).

Protocolo de extracción y acondicionamiento de semillas:

- 1- Cortar parcialmente la fruta en sentido transversal evitando dañar las semillas, separar las mitades y extraer las semillas a mano, manteniendo la identificación de variedad.
- 2- Lavar en agua corriente tantas veces como sea necesario, hasta eliminar la pulpa (durante 15 minutos como mínimo) (Figura 2-B).
- 3- Lavar con detergente neutro por 10-15 minutos para eliminar el mucílago.
- 4- Enjuagar con agua corriente durante 5 minutos o realizar enjuagues consecutivos hasta que no queden restos de detergente.
- 5- Colocar las semillas en mesa de escurrido.

Desinfección

- 6- Desinfectar durante 10 minutos con una solución de Agua Jane[®] al 10% (1 litro en 10 litros de agua) y 1% de surfactante Tween 20 (100 ml en 10 litros).
- 7- Enjuagar tres veces totalizando 5 minutos como mínimo, colocar en bolsas de malla fina y dejar escurrir hasta que deje de drenar agua del último enjuague.
- 8-Sumergir en agua caliente a 52°C durante 10 minutos (Figura 2-C).
- 9-Inmediatamente sumergir en una solución de quinoleína (sulfato neutro de oxiquinoleína – marca comercial “Almacigol”- o sulfato de 8-Hidroxiquinoleína) al 1 % durante 3 minutos.
- 10- Colocar en las mesas de oreo e identificar la variedad con carteles individuales. Colocar en cada lote tratado, el cartel “Tratamiento con fungicida”, identificadorio del proceso de desinfección finalizado.
- 11- Dejar orear cada lote para ingresar a conservación.

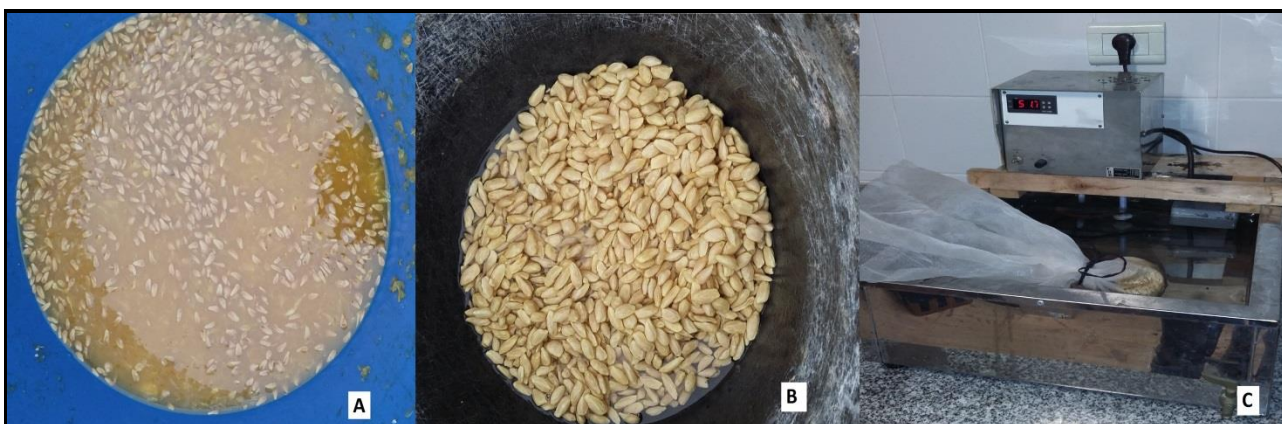


FIGURA 2: Extracción de semillas de los diferentes híbridos. Jugo con las semillas, producto de los frutos exprimidos manualmente (A). Lavado en agua corriente para retirar remanentes de pulpa (B). Tratamiento térmico con agua caliente a 52°C durante 10 minutos.

En las semillas extraídas se evaluó:

1. **Cantidad de semillas promedio por fruto:** promedio del número de semillas en una muestra de 20 frutos por planta.
2. **Peso promedio de las mil semillas:** peso en gramos de las semillas acondicionadas para el almacenamiento, se tomaron 5 muestras de 20 semillas cada una.
3. **Cantidad de semillas por Kg:** con las muestras tomadas para la determinación del peso de las mil semillas, se realizó el recuento y se determinó la cantidad de semillas por kg.

4. **Poder germinativo** en condiciones de almacenamiento (% PG): representa la proporción de semillas capaces de germinar (emergencia de radícula).

$PG = \left(\frac{\text{cantidad de semillas germinadas}}{\text{cantidad de semillas sembradas}} \right) \times 100$.

El PG se determinó al momento de cosecha, 45, 90 y 180 días posteriores a la cosecha (semillas almacenadas en bolsas de polietileno a 5°C). Se utilizaron 10 semillas por tratamiento con 4 repeticiones, las mismas se sembraron en cajas de Petri utilizando como sustrato papel secante húmedo (humedad constante) (Figura 3-B) y se mantuvieron a 28°C (temperatura constante) (Figura 3-C).

5. **Energía germinativa** en condiciones de almacenamiento (EG): representa la velocidad a la que germinan las semillas. La EG se determinó al

momento de cosecha, a los 45, 90 y 180 días posteriores a la cosecha (semillas almacenadas en bolsas de polietileno a 5°C).

EG= número de días requeridos para conseguir un porcentaje determinado de semillas germinadas.

Para este ensayo se utilizó el 85% de semillas germinadas, ya que es el mínimo establecido para la comercialización de semillas de portainjertos de citrus.

6. **Poliembrionía:** de las semillas germinadas en las cajas de Petri, se contabilizaron aquellas semillas con más de una plántula, considerándose a éstas como poliembriónicas.

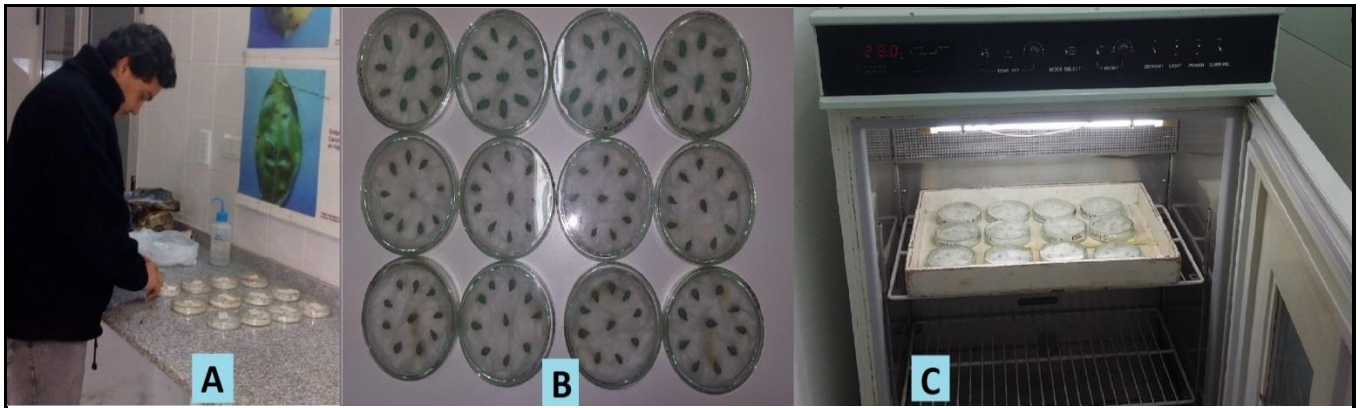


FIGURA 3: Evaluación de poder germinativo y energía germinativa de las semillas de los diferentes híbridos. Armado y rotulado de germinadores en cajas de Petri (A). Distribución de semillas en los germinadores (B). Germinadores en cámara de germinación a 28°C (C).

La siembra en almácigo se realizó en estructura de vivero según normativa SENASA 930/09 en el Campo Experimental y Didáctico de la (FCA-UNNE), (Latitud Sur: 27° 28' 27", Longitud Oeste: 58° 47' 00"; 56 m.s.n.m.) Provincia de Corrientes, Argentina, para determinar comportamiento de los híbridos en vivero.

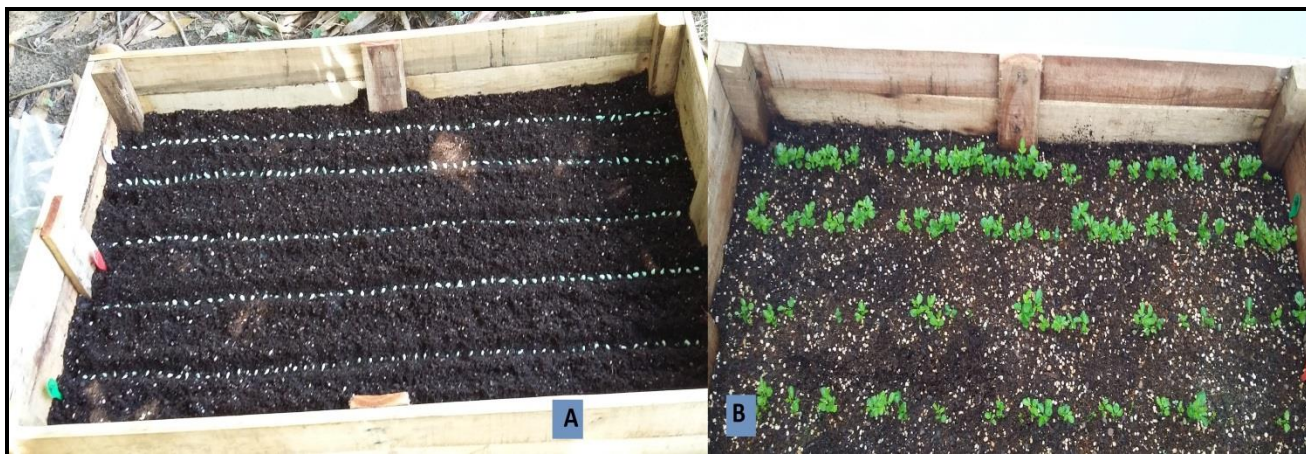


FIGURA 4: Preparación de almácigo y siembra. Semillas posicionadas individualmente (A) y plántulas emergidas (B).

En la etapa de almácigo se evaluó:

1. **Tamaño promedio de plántula:** semanalmente en almácigo se cuantificó en cm la parte aérea, raíz principal y cantidad de hojas.
2. **Biomasa y partición de asimilados (PA):** de cada híbrido se tomaron 9 plántulas las cuales se seccionaron en hojas, tallos y raíces. Los órganos individuales de cada plántula fueron pesados para obtención de peso fresco (PF) (Figura 5) y posteriormente secados en estufa a 70° C hasta peso constante para ser luego pesados separadamente (PS) y obtener los datos de PA. Los resultados se expresaron en mg de MS particionada en la planta.

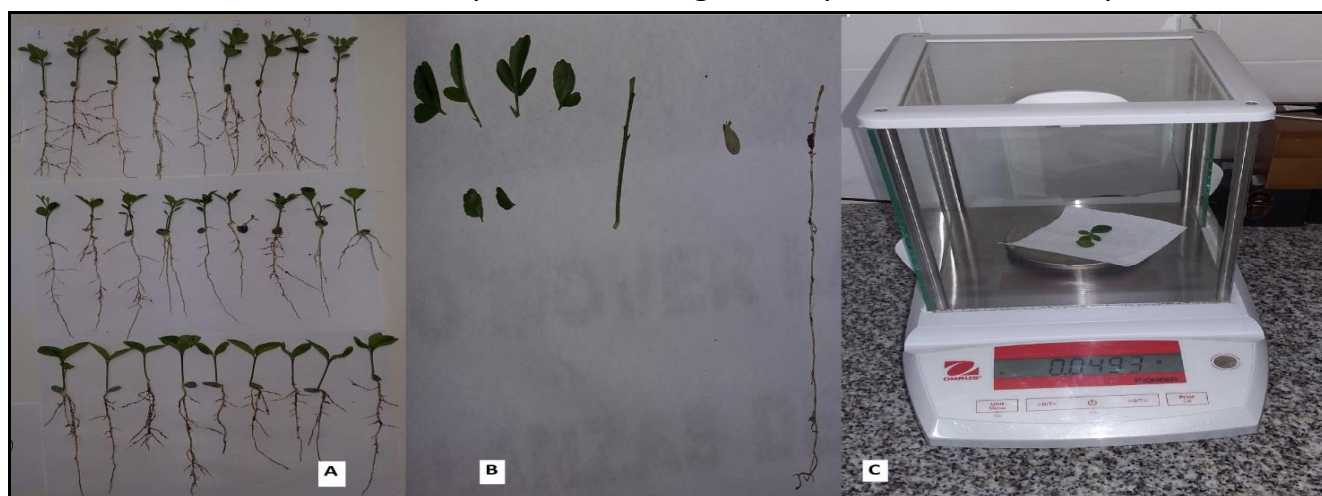


FIGURA 5: Determinación de peso fresco. — Extracción de plantas (A). Disección de plantas en sus diferentes órganos (B). Pesaje en balanza de precisión (C).

Análisis estadístico: El diseño experimental y para la evaluación de los frutos y del comportamiento de las plantas en el almácigo fue completamente al

azar. Para el análisis de las variables se comprobaron los supuestos de normalidad y se realizó análisis de la varianza y prueba de Tukey ($p < 0,05$). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software InfoStat® (Di Rienzo *et al.*, 2013).

Determinaciones climáticas en vivero

Temperatura y humedad ambiente: se almacenaron datos de temperatura y humedad ambiente utilizando un datalogger Schwyz DAT-20® con registros cada 30 minutos.

Resultados y Discusión

Determinaciones climáticas en vivero

Con los datos tomados en vivero se calcularon los valores promedios de temperatura ambiente y humedad relativa ambiente, donde se los dividió en etapas quincenales para hacer más evidentes las variaciones ocurridas en los meses transcurridos desde la siembra hasta la finalización del período de almácigo. La temperatura presentó un incremento inicial y un pequeño descenso durante el tiempo restante (Figura 10), fluctuando entre 24 y 27°C. Con respecto a la humedad relativa, si bien se observaron fluctuaciones durante la etapa intermedia con un ascenso marcado hacia el final del período, la misma se mantuvo en un rango promedio de entre 68 y 78 %.

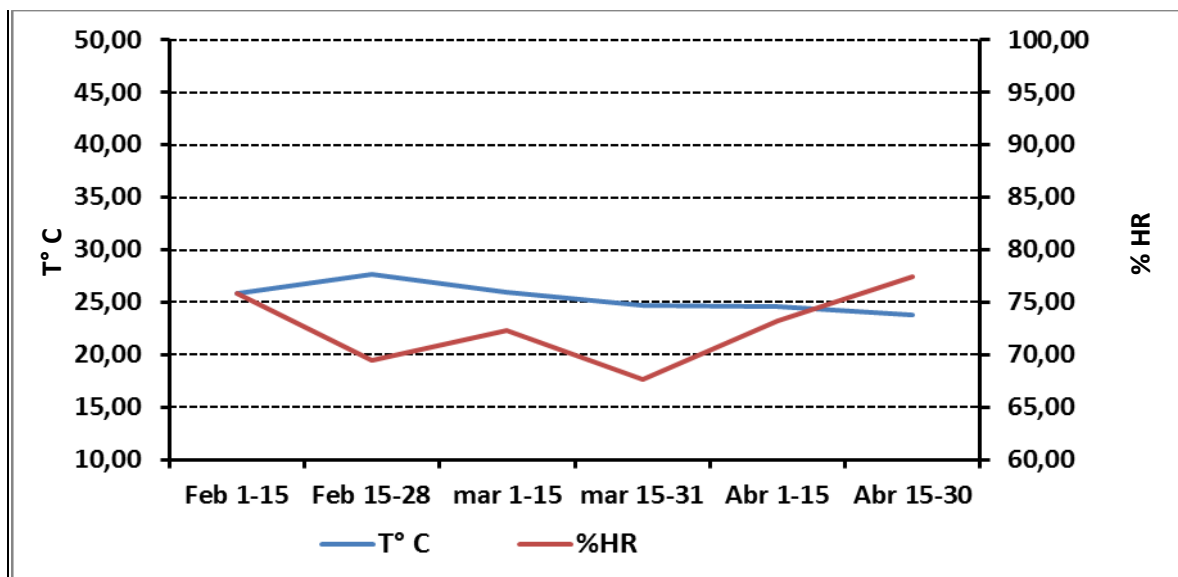


FIGURA 10: Condiciones climáticas de vivero. Temperatura media y porcentaje humedad relativa media, dividido en quincenas de los tres meses del período de almácigo.

En el desarrollo general del trabajo, se dividió en tres grandes grupos: A) caracterización de las plantas madres y frutos, B) evaluación de semillas con distintos tiempos de almacenamiento y C) comportamiento de los híbridos en almácigo.

A) Caracterización de plantas madres y frutos:

Las plantas madres de los híbridos fueron evaluadas el mismo día y sus características se presentan en la Tabla 1. Se determinó que la altura promedio de planta fue de 6,06 m para TxC y 6,13 m para ClxTf siendo muy similares entre si y a su vez superando significativamente a AgxCl en el cual la altura registrada fue de 4,25 m.

La base de la copa de cada híbrido, se estableció a la altura de ramas primarias, las cuales son las primeras ramas insertas desde la superficie del suelo hacia el ápice de la planta, siendo para TxC 1,88 m y 2,13 m para ClxTf, los cuales superaron con diferencias significativas a AgxCl el cual arrojó un valor de 1,38 m.

En relación al tallo principal, las mediciones de diámetro determinaron que ClxTf fue el híbrido que registró mayor valor (25,93 cm) con diferencias significativas respecto a AgxCl el cual presentó un diámetro de tronco promedio inferior a los dos anteriores 18,52 cm. Las mediciones ubicaron a TxC con valores intermedios a los otros dos híbridos (22,92 cm) sin diferencias significativas con los otros.

En el diámetro de copa, también pudo observarse que en ambos híbridos que presentan pequeñas diferencias en la altura de planta, sus diámetros de copa difieren poco, ya que para TxC fue de 5,62 m y para ClxTf el valor fue de 5,02 m siendo estos también mayores a AgxCl en el cual se observó un valor de 3,87 m con diferencias respecto a los dos anteriores.

Con respecto al volumen de copa, a través de los valores obtenidos se pudo poner en evidencia la magnitud de la copa de los distintos híbridos, siendo el mayor valor para TxC con $68,96 \text{ m}^3$, seguido por ClxTf con un valor de $52,71 \text{ m}^3$ y estos a su vez superando con diferencias significativas a (AgxCl) el cual arrojó un valor de $22,44 \text{ m}^3$.

Según Anderson (1996) las plantas de Trifolio se caracterizan por ser de tamaño mediano a chico, mientras que Citranger presenta un tamaño intermedio y el tamaño intermedio a grande es característico en agrio, común y Cleopatra. En este sentido es de destacar el comportamiento en relación al tamaño de planta que se encontró en estas hibridaciones ya que en el híbrido ClxTf que posee dos progenitores contrastantes con respecto a esta característica, se expresaron en mayor medida las combinaciones génicas aportadas por Cleopatra. En TxC el comportamiento del tamaño de planta, se asemeja a la característica de mandarina común, siendo este híbrido de tamaño grande. En el caso de AgxCl, si bien era de esperar que las combinaciones génicas aportadas por ambos progenitores con gran vigor se conjugue para formar plantas grandes, esto no sucedió ya que fue el híbrido de menor tamaño. La condición de portainjerto restrictivo imparte ventajas en lo que se refiere a los marcos de plantación en frutales (Palacios, 2005) ya que permiten densificar las plantaciones (más cantidad de plantas por hectárea) propiedad muy deseada en los portainjertos por lo que esta característica es muy interesante en este híbrido evaluado.

	TxC	ClxTf	AgxCl
Altura de planta (m)	6,06 ±0,15 b	6,13±0,15 b	4,25±0,15 a
Altura de ramas primarias (m)	1,88±0,12 b	2,13±0,12 b	1,38±0,12 a
Diámetro de copa (m)	5,62±0,18 b	5,02±0,18 b	3,87±0,18 a
Diámetro del tronco (cm)	22,92±1,05 ab	25,93±1,05 b	18,52±1,05 a
Volumen de copa (m³)	68,96±3,05 b	52,71±3,05 b	22,44±3,05 a

TABLA 1: Características de las plantas madres de tres híbridos de cítricos con potencial aprovechamiento como portainjertos. **ClxTf**: Mandarin ‘Cleopatra’ x ‘Trifolio’; **TxC**: ‘Citranger Troyer’ x Mandarin ‘Común’ y **AgxCl**: ‘naranja agrio’ x Mandarin ‘Cleopatra’. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$).

En las variables medidas en frutos (Tabla 2), se observó que el diámetro ecuatorial para TxC fue de 51,4 mm el cual no difiere de ClxTf con 53,85 mm, pero ambas combinaciones, son superadas significativamente por AgxCl con 77,6 mm. En el caso de la altura de los frutos, los tres híbridos fueron estadísticamente diferentes, el menor valor registrado fue en TxC con 46,8 mm, con una pequeña diferencia con ClxTf a favor de este último el cual arrojó un valor de 51,95 mm y AgxCl presentó el mayor valor con 69,05 mm. Los frutos también fueron pesados y nuevamente se obtuvieron valores similares en TxC con 79,2 gr y ClxTf el cual pesó 74,65 gr y ambos híbridos fueron superados significativamente por AgxCl el cual tuvo un peso de 224,3 gr. Con estas variables medidas en frutos, se puede inferir que los híbridos TxC y ClxTf presentan un tamaño de fruto más pequeño en relación a altura, diámetro ecuatorial y peso, con respecto a AgxCl el cual se destaca en su mayor tamaño, esta característica estaría asociada a la genética proveniente del portainjerto “naranja agrio”, cuyos frutos se caracterizan por ser medianos a grandes (Palacios, 2005), lo cual estaría reflejado en el híbrido en estudio. En el híbrido TxC los valores de altura de frutos, diámetro de frutos, peso de frutos y número de semillas por frutos son similares a los obtenidos por Passos *et al.* (2006) en citrange “Troyer” con 44mm, 47mm, 53g y 13,2g respectivamente, mientras que en el híbrido ClxTf los valores observados fueron superiores con respecto a las mismas variables en una selección de trifolio evaluado por este mismo autor, probablemente asociado a la sangre Cleopatra.

Respecto a la cantidad de semillas por fruto, se observó que ClxTf presentó la menor cantidad de semillas por fruto con 12,37 unidades, seguido por TxC con 14,5 unidades y los frutos con mayor cantidad de semillas fueron los de AgxCl con 34,25 unidades. En esta variable la combinación TxC se asemeja a lo observado por Palacios (2005), quien establece que los frutos de citrange Troyer poseen 15 o más semillas por fruto.

Los pesos de las mil semillas para los híbridos arrojaron valores de 85,1 g para TxC que fue el menor valor por poseer semillas más pequeñas ya que en ClxTf se obtuvo un peso de 125,7 g, y en AgxCl el valor fue de 115,9 g sin diferencias significativas entre estos dos últimos.

Con los datos del peso de las mil semillas, se calculó la cantidad de semillas por kilogramo, presentando el mayor valor promedio en TxC con 11.750,88 semillas.Kg⁻¹, sin diferencias con AgxCl. Citrange Troyer tiene un comportamiento intermedio en relación a esta variable (González Sicilia, 1968), mientras que el mandarino común se caracteriza por poseer muchas semillas. Las combinaciones AgxCl con 8.628,13 semillas.Kg⁻¹ y ClxTf con 7.945,55 semillas.Kg⁻¹ presentaron en esta variable, valores cercanos a lo encontrado en Cleopatra por Palacios (2005) quien manifiesta que esta variedad tiene alrededor de 9000 semillas promedio por Kg.

	TxC	ClxTf	AgxCl
Diámetro ecuatorial de frutos (mm)	51,4 ±1,05 a	53,85 ±1,05 a	77,6 ±1,05 b
Altura de frutos (mm)	46,8 ±1,02 a	51,95 ±1,02 b	69,05 ±1,02 c
Peso unitario de frutos (g)	79,2 ±1,44 b	74,65 ±1,44 b	224,3 ±1,44 a
Cantidad de semillas por frutos (U)	14,5 ±5,77 b	12,37 ±5,77 b	34,25 ±5,77 a
Peso de las 1000 semillas (g)	85,1 ±4,61 a	125,7 ±4,61 b	115,9 ±4,61 b
Cantidad de semillas.Kg⁻¹	11750,88 ±397,49 b	7945,55 ±397,49 a	8628,13 ±397,49 b

TABLA 2: Biometría de frutos y semillas de tres híbridos de cítricos con potencial aprovechamiento como portainjertos. **ClxTf**: Mandarino 'Cleopatra' x 'Trifolio'; **TxC**: 'Citrange Troyer' x Mandarino 'Común' y **AgxCl**: 'naranja agrio' x Mandarino 'Cleopatra'. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey p≤0,05).

B) Evaluación de semillas con distintos tiempos de almacenamiento

• Poder germinativo(PG)

En las evaluaciones realizadas durante el almacenamiento de las semillas, se observó que el poder germinativo de los tres híbridos, fue disminuyendo a medida que las mismas se mantuvieron en condiciones de almacenamiento (Figura 6). Se pudo observar diferencias significativas entre la combinación

AgxCl y los dos híbridos restantes al inicio del almacenamiento, siendo menor el PG para AgxCl. Conforme avanzó el tiempo de almacenamiento, la pérdida del PG se observó en los tres híbridos y en la última medición (180 días) se evidenciaron diferencias significativas entre TxC y los otros dos híbridos. Fue notable que la combinación TxC mantuviera el PG aproximadamente un 27% por encima de las demás combinaciones, luego de 180 días de almacenamiento. Si bien TxC no presentó el PG más elevado al inicio del ensayo, este híbrido sólo perdió el 7,5% del PG en los seis meses de estudio, mientras que ClxTf y AgxCl perdieron 45% y 25 % del PG respectivamente.

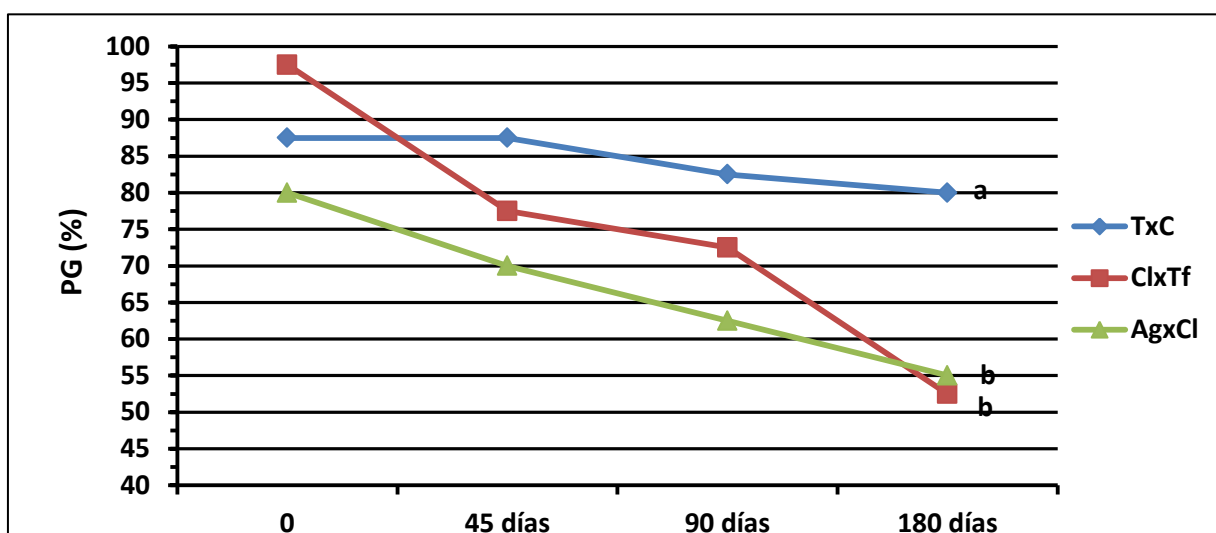


FIGURA 6: Efecto del almacenamiento en la germinación de tres híbridos de cítricos con potencial aprovechamiento como portainjertos. **ClxTf**: Mandarinó 'Cleopatra' x 'Trifolío'; **TxC**: 'Citrange Troyer' x Mandarinó 'Común' y **AgxCl**: 'naranjo agrio' x Mandarinó 'Cleopatra'. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$).

• Energía germinativa (EG)

Se consideró la EG como el tiempo necesario para lograr el 85% de semillas germinadas, ya que este es el porcentaje establecido por el INTA EEA Bella Vista, Corrientes en su protocolo de producción de semillas certificadas. En el mismo se establece que dicho porcentaje se evalúa en un periodo de 30 días, que es el tiempo que dura la prueba de germinación. Se observó que solo a los 0 y 45 días de almacenamiento, algunos híbridos alcanzaron dicho porcentaje, no así a los 90 y 180 días de almacenamiento en donde este

indicador disminuyó en todos los híbridos (Figura 7) sin alcanzar el mínimo establecido para la comercialización. En la primera evaluación de cero días la combinación TxC completó el porcentaje preestablecido a los 30 días, donde la combinación ClxTf demostró una mayor EG ya que alcanzó dicho porcentaje a los 14 días. A los 45 días de almacenamiento, se observó que TxC alcanzó nuevamente 85 % a los 30 días, manteniendo su EG, y siendo en este caso el único híbrido que superó la línea de corte, ya que ClxTf no alcanzó dicho valor. A partir de los 90 días y hasta los 180 días, ninguno de los tres híbridos alcanzó el porcentaje preestablecido. Una situación particular es la que presentó AgxCl ya que en todo el periodo de almacenamiento nunca alcanzó el 85% de germinación en 30 días.

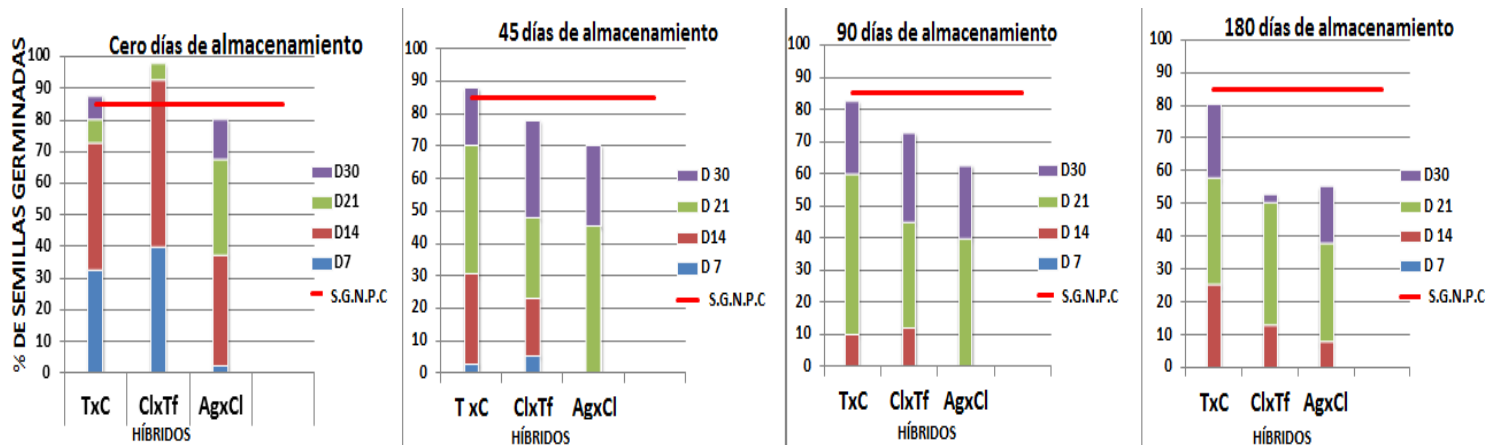


FIGURA 7: Porcentaje de semillas germinadas para cada híbrido en cada recuento a lo largo del almacenamiento. **ClxTf**: Mandarin ‘Cleopatra’ x ‘Trifolio’; **TxC**: ‘Citrange Troyer’ x Mandarin ‘Común’ y **AgxCl**: ‘naranja agrio’ x Mandarin ‘Cleopatra’. Línea de corte (S.G.N.P.C: semillas germinadas necesarias para la comercialización) 85%.

C) Comportamiento de los híbridos en almácigo

• Biomasa y partición de asimilados (PA)

Con esta determinación se pudo observar el comportamiento de los tres híbridos con respecto a la partición de asimilados en sus hojas, tallos y raíces, como se describe en el gráfico (Figura 8). En la primera fecha de medición el híbrido ClxTf solo iniciaba la emergencia de las plántulas, por lo que esta combinación no pudo ser evaluada en la primera medición, por otro lado, este híbrido es el único que aparece en la última medición, por el

desfasaje que sufrió respecto a los otros dos híbridos relacionado a su retardado desarrollo inicial. Se pudo observar que desde la primera medición (20-mar) aparecieron mayores valores con diferencias significativas de (PA) en hoja y raíz con 28 mg y 18,55 mg respectivamente para AgxCl. En la segunda medición (27-mar) se observaron los menores valores de (PA) en hoja y raíz, arrojando 18,88 mg y 15,67 mg respectivamente en ClxTf y en (PA) de tallo la combinación TxC presentó diferencias significativas, superando a los restantes híbridos con 20,44 mg. En la tercera medición (03-abr) se observó que la (PA) en hoja y tallo fue de 24,99 mg y 15,66 mg respectivamente para ClxTf siendo estos los menores valores con diferencias significativas respecto a los otros dos híbridos. En esta medición la (PA) en raíz fue mayor para AgxCl con 51,76 mg. Para la cuarta fecha de medición (09-abr) se observó que AgxCl presentó mayor (PA) en hojas y raíces con diferencias significativas, presentando pesos de 73,77 mg y 91,53 mg respectivamente. Con respecto a (PA) en hoja en esta misma medición, la combinación ClxTf demostró el menor peso con 47,44 mg, observando la quinta medición (17-abr) se puede ver que la (PA) de raíz presentó diferencias significativas para los tres híbridos, donde en los extremos AgxCl con 92,99 mg aparece como el mayor valor, en contraposición a ClxTf que con 36,33 mg arrojó el menor valor, ocurriendo lo mismo para este híbrido en la (PA) de hojas para el cual obtuvo 52,99 mg. En la sexta medición (24-abr) se observó que en la combinación ClxTf, la (PA) para hoja, tallo y raíz presentó los menores valores con 44,22 mg; 33,05 mg y 30,77 mg respectivamente. Con respecto a los otros híbridos, la combinación AgxCl presentó los mayores valores con diferencias significativas en la (PA) de hoja y tallo con 200,94 mg y 200,99 mg respectivamente.

A lo largo del ciclo de evaluación se apreció una menor acumulación de materia seca para el híbrido ClxTf (Figura 8), lo cual coincide con el comportamiento descrito para trifolio y sus híbridos, ya que se trata de portainjertos menos vigorosos los cuales con pequeñas fluctuaciones de temperaturas, retrasan su crecimiento vegetativo (Oliveira *et al.*, 2005) y a esto se le suma su combinación con Cleopatra, el cual según Palacios (2005) es un portainjerto de lento crecimiento en almácigo y vivero. Para el caso de

AgxCi se apreció la mayor acumulación de materia seca de los tres híbridos, que podría estar asociado al comportamiento de naranjo agrio el cual es descripto por Palacios (2005) como medianamente vigoroso.

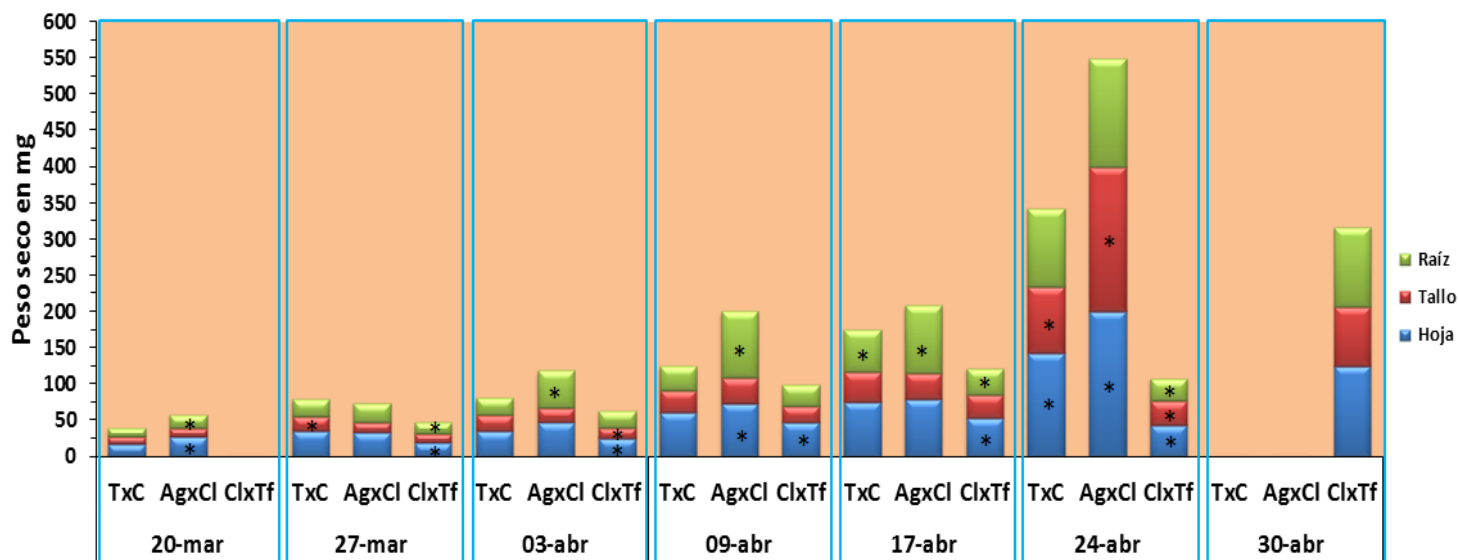


FIGURA 8: Partición de asimilados (miligramos) en hojas, tallos y raíces de tres híbridos de cítricos con potencial aprovechamiento como portainjertos. **ClxTf**: Mandarinó 'Cleopatra' x 'Trifolio'; **TxC**: 'Citrange Troyer' x Mandarinó 'Común' y **AgxCi**: 'naranjo agrio' x Mandarinó 'Cleopatra'. El signo (*) indica diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$).

• Crecimiento de raíz y tallo

Las principales diferencias en esta determinación se observaron en los tallos, apreciándose una mayor homogeneidad en el crecimiento de la raíz en los tres híbridos en todas las mediciones. Como se puede observar en la Figura 9, el crecimiento de la raíz entre los tres híbridos, no presentaron nunca diferencias significativas. Diferente fue lo observado en tallo donde en la segunda medición (27-mar), la combinación TxC superó a los dos híbridos restantes con un largo de tallo de 5,72 cm. En la tercera medición (03-abr) nuevamente se destacó TxC en esta misma variable, presentando un largo de tallo de 6,43 cm. En la sexta medición (24-abr) la combinación TxC nuevamente superó con diferencias significativas a AgxCi y ClxTf presentando 11,57 cm.

Se apreció que durante todo el ciclo y en todos los híbridos la relación raíz/tallo fue siempre a favor de la raíz, la cual osciló entre 1,36 y 2,5,

indicando condiciones muy favorables para el desarrollo radicular al inicio del desarrollo de los plantines.

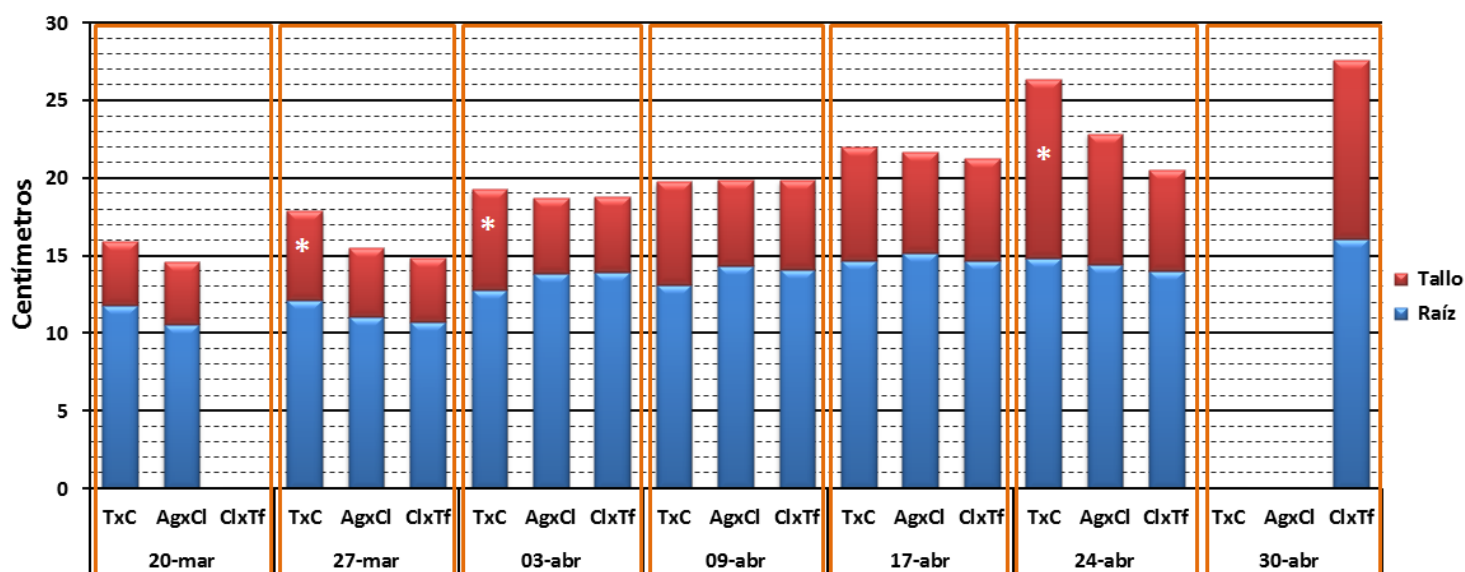


FIGURA 9: Longitud (cm) de raíz y tallo de tres híbridos de cítricos con potencial aprovechamiento como portainjertos. **ClxTf**: Mandarinó ‘Cleopatra’ x ‘Trifolio’; **TxC**: ‘Citrangle Troyer’ x Mandarinó ‘Común’ y **AgxCl**: ‘naranja agrio’ x Mandarinó ‘Cleopatra’. El signo (*) indica diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$).

• Poliembrionía

La poliembrionía es una característica importante y utilizada agronómicamente en los portainjertos de cítricos, ya que permite obtener plantas provenientes de embriones nucleares que mantienen las características de la planta madre. El número de embriones nucleares en una semilla varía con la edad de la planta madre, el estado nutricional y fisiológico de la misma, el polen progenitor, la posición de las ramas en el árbol, la carga de frutos y los factores ambientales (Frost y Soost, 1968).

Un menor número de embriones por semillas, favorece el aumento en tamaño y la tasa de germinación de embriones de origen sexual (Soares Filho *et al.*, 2000). En este trabajo la cuantificación de la poliembrionía, fue presencia/ausencia de más de una planta por semilla, en porcentaje sobre el total de semillas puestas a germinar. Se observó que TxC presentó el valor más bajo de poliembrionía con 7,4%, siendo éste, muy cercano al arrojado por AgxCl con 9,3 %. El híbrido ClxTf fue el que se destacó en este sentido, presentando 44,4% de semillas poliembriónicas, coincidiendo con lo

encontrado por Ramos *et al.* (2006) en Trifolio (31,5%). Cleopatra por su lado es considerado como un portainjerto con alta poliembrionía (Palacios, 2005).

- **Número de hojas**

En las distintas mediciones realizadas en la etapa de almácigo, se pudo apreciar que los híbridos TxC y ClxTf muy rápidamente comenzaron a desplegar hojas nuevas sin presentar diferencias significativas. Para el caso de AgxCl se observó que, hasta la tercera fecha de medición, el número de hojas promedio fue de 2,22 manteniéndose con la cantidad de hojas que presentaba desde la germinación. Hasta la última fecha de medición AgxCl (24-abr), tuvo significativamente menos hojas que los otros dos híbridos (Tabla 2).

Momento de medición	TxC	AgxCl	ClxTf
20-mar	4,33±0,20 a	2±0,20 b	
27-mar	4,89±0,42 a	2,11±0,42b	4,56±0,42 a
03-abr	6,44±0,30 a	2,22±0,30 b	5,67±0,30 a
09-abr	8,33±0,82 a	3,44±0,82 b	8,33±0,82 a
17-abr	7,67±0,45 a	3,78±0,45 b	6,44±0,45 a
24-abr	9,78±0,59 a	7,11±0,59 b	8,44±0,59 ab
30-abr			10,44±0,73 a

TABLA 2: Número de hojas de tres híbridos de cítricos con potencial aprovechamiento como portainjertos, durante el desarrollo en almácigo. **ClxTf**: Mandarino 'Cleopatra' x 'Trifolio'; **TxC**: 'Citrange Troyer' x Mandarino 'Común' y **AgxCl**: 'naranja agrio' x Mandarino 'Cleopatra'. Letras diferentes en igual fila indican diferencias significativas (Tukey $p \leq 0,05$).

Se observó que en la combinación AgxCl la lámina de las hojas fueron siempre unifolioladas, presentando las hojas definitivas un pecíolo alado coincidiendo con lo citado por Palacios (2005), como característica propia de naranja agrio. En las combinaciones TxC y ClxTf se observaron hojas trifoliadas en todos los casos. En TxC, está presente "citrange Troyer" que es un híbrido proveniente de plantas de "trifolio" y en la combinación ClxTf está presente "trifolio" como progenitor, por lo cual el comportamiento coincide con lo esperado ya que esta característica de presencia de hojas trifoliadas,

es gobernada por un carácter dominante (Cameron y Frost, 1968; Garcia *et al.*, 1999).

Conclusiones

En esta primera etapa de evaluación se concluye que los híbridos evaluados tienen buen comportamiento general en vivero, sin embargo, con diferentes propiedades que pueden ser valiosas según vaya a ser el uso del portainjerto. El híbrido más promisorio para su uso como restrictivo es el proveniente de AgxCi.

La combinación TxC tiene buena cantidad de semillas y su comportamiento en almacenamiento asegura buen poder germinativo hasta luego de 180 días de cosechado.

CiXTf si bien fue el más tardío en germinar, la alta presencia de poliembrionia asegura la obtención de plantas nucleares en vivero.

Bibliografía

- Agustí, M. (2010) Fruticultura, Ed. Mundi-Prensa Libros, p. 497, ISBN 978-84-8476-529-5.
- Anderson, C. (1996) Portainjertos, Manual para productores de naranja y mandarina. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_manual_citricultura_cap6.pdf.
- Cameron, J.W.; Frost, H.B. (1968) Genetics, breeding, and nucellar embryony. In: The citrus industry. Berkeley: University of California, . V.2, p.325-370
- Chabbal, M.D.; Giménez, L.I.; Garavello, M.; Alayón Luaces, P.; Rodríguez, V.A. y Mazza, S.M. (2015) Caracterización de naranjo 'Valencia Late' sobre diferentes portainjertos en Entre Ríos, Argentina. Cultivos Tropicales 36 (4): 95-100.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; González, L.; Tablada, M. y Robledo, C.W. (2013) InfoStat Ed. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.
- Frost, H. B.; Soost, R. K. (1968). Seed reproduction: development of gametes and embryos, pp. 290-324. In: The Citrus Industry, Vol. 2. Reuther, W.; Batchelor, L. D.; Webber H. J. (eds.). Division of Agriculture and Science, University of California Press. Berkeley, Cal., USA.
- Garcia, M.R.; Asins, M.J.; Forner, J.; Carbonell, E.A. (1999) Genetic analysis of apomixis in citrus and poncirus by molecular markers. Theoretical and Applied Genetics, v.99, p511-518.
- González Sicilia, E. (1968) El cultivo de los agrios. Editorial Bello Valencia España. 814 pp.
- Khan, I.A.; Roose, M.L. (1988). Frequency and characteristics of nucellar and zygotic seedlings in three cultivars of trifoliate orange. Journal of American Society for Horticultural Science 113: 105–110.
- Kobayashi S.; Ieda I.; Nakatani M. (1981). Role of the primordium cell in nucellar embryogenesis in citrus. Proceedings of 4th International Citrus Congress. Tokyo: International Society of Citriculture, 44–48.
- Oliveira, R.P.; Scivittaro, W.B.; Borges, R.S.; Nakasu, B.H. (2005) Sistema de produção de Mudras de citros. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, . (Sistemas de produção, 1). Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/MudrasdeCitros/index.htm>>.

- Palacios, J. (2005) Citricultura. Ed. Talleres Gráficos ALFA BETA S. A, p. 518, ISBN 987-43-8326-8327.
- Passos, O. S.; Peixoto, L.S.; Santos, L.C.; Correa Caldas, R.C.; Soares Filho, W.S. (2006) Caracterização de híbridos de *Poncirus trifoliata* y dos outros porta-enxertos de citros no Estado da Bahia. Revista Brasileira de Fruticultura, v.28, p.410-413.
- Ramos, J. D.; Araújo Neto, S. E.; Castro, N. E. A.; Martins, P. C. C.; Correia, M. G. Poliembrionia e caracterização de frutos de citrumelo Swingle e de *Poncirus Trifoliata*. *Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.30, n.1, p.88-91,2006*.
- Siebert, T. (2017). Citrus variety collection. University of California. Disponible en: <http://www.citrusvariety.ucr.edu/>.
- Soares Filho, W.S.; Moreira, C.S.; Cunha, M.A.P.; Cunha Sobrinho, A.P.; Passos, O.S. (2000) Poliembrionia e frequência de híbridos em *Citrus* spp. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 35, n. 4, p. 857-864.
- Turrell, F.M. (1949) Tables of surfaces and volumes of spheres and of prolate and oblate spheroids, and spheroidal coefficients [en línea], edit. University of California Press, Berkeley, Disponible en: <<http://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=US201300355308>>.