



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE
VALENCIA



ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE
INGENIEROS AGRÓNOMOS

Departamento de Biotecnología

**PARTENOCARPIA EN CÍTRICOS.
ESTUDIO PRELIMINAR PARA LA
CARACTERIZACIÓN DEL BANCO DE
GERMOPLASMA DE CÍTRICOS DEL IVIA.**

**TESIS DE MÁSTER
MÁSTER OFICIAL INTERUNIVERSITARIO
EN MEJORA GENÉTICA VEGETAL**

**Alumno
RAFA MONTALT RESURRECCIÓN**

**Tutor
DR. GERARDO LLÁCER ILL**

**Directores experimentales
DR. PABLO ALEZA GIL
DR. PATRICK OLLITRAULT**

Diciembre 2009

Índice

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Taxonomía, origen y expansión de los cítricos	1
1.2. Principales grupos varietales	7
1.3. Importancia económica	11
1.4. Diversidad genética y su conservación	12
1.4.1. El Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA	14
1.5. Biología reproductiva de los cítricos	18
1.6. Partenocarpia	22
1.6.1. El metabolismo de las giberelinas y la aptitud partenocarpica.....	22
1.6.2. Esterilidad y tipos de partenocarpia.....	24
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO	25
3. MATERIAL Y MÉTODOS	27
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1. Genotipos de partenocarpia obligada	30
4.2. Genotipos de partenocarpia facultativa	31
4.3. Genotipos no partenocárpicos	32
4.4. Análisis de valores de producción de semilla	32
4.5. Genotipos con aptitud partenocárpica	33
4.6. Esquema para la clasificación de la partenocarpia en cítricos	34
5. CONCLUSIONES	37
6. BIBLIOGRAFIA	39
7. ANEXOS	51

Resumen

Los cítricos son el principal cultivo frutal a nivel mundial. La ausencia de semillas es un objetivo básico de calidad sobretodo para la producción destinada al consumo en fresco. La partenocarpia es un fenómeno común en cítricos por lo que la formación de semilla no es necesaria para obtener buenas producciones. Para llevar a cabo programas de mejora enfocados a obtener variedades sin semillas resulta de gran interés disponer del conocimiento de los diferentes mecanismos partenocárpicos del germoplasma disponible para utilizar como parentales.

En este trabajo se recogen datos de producción de semillas de 127 genotipos del Banco de Germoplasma de Cítricos del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) cultivadas en ausencia de polinización cruzada. Se recopilan también los datos procedentes de estos mismos genotipos cultivados en condiciones de polinización abierta. Con los datos obtenidos se realiza una clasificación de los genotipos estudiados en función del tipo de partenocarpia, centrándose principalmente en los dos grupos más importantes económicamente (naranjos y mandarinos)

En base a la revisión bibliográfica realizada sobre esterilidad y partenocarpia en cítricos, se propone un esquema para la clasificación partenocárpica de los cítricos en función del tipo de esterilidad.

Abstract

Citrus fruits are the main fruit crop worldwide. A fundamental quality objective, particularly as far as fresh fruit consumption is concerned, is seedlessness. Parthenocarpy is common among citrus varieties and the formation of seeds is not necessary to obtain good yields. Improvement programmes focusing on seedless varieties need knowledge about the different germplasm parthenocarpic mechanisms to be used as parental material.

In this paper production data from seeds of 127 accessions from Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA)'s Citrus Germplasm Bank grown in conditions of non-crossed pollination are presented. Data from these same genotypes grown in conditons of open pollination are also presented. With the data obtained, a classification of the genotypes studied according to the specific type of parthenocarpy is proposed.

Drawing on the bibliographical revision about sterility and parthenocarpy in citrus, a model for the classification of parthenocarpy in citrus is proposed based on the type of sterility.

Resum

Els cítrics són el principal conreu fruiter a nivell mundial. L'absència de llavors és un objectiu bàsic de qualitat sobretot en la producció destinada al consum en fresc. La partenocàrpia és un fenomen comú en cítrics, la qual cosa fa que la formació de llavors no siga necessària per a obtenir bones produccions. Per a dur a termini programes de millora adreçats a obtenir varietats sense llavors, resulta de gran interès disposar del coneixement dels diferents mecanismes partenocàrpics del germoplasma disponible per a ser utilitzat com a parentals.

En aquest treball es recullen dades de producció de llavors de 127 genotips del Banc de Germoplasma de l'*Institut Valencià d'Investigacions Agràries* (IVIA) conreades en condicions de no pol·linització creuada. Es recopilen també les dades procedents d'aquests mateixos genotips conreats en condicions de pol·linització oberta. Amb les dades obtingudes es realitza una classificació dels genotips estudiats en funció del tipus de partenocàrpia, centrant-se principalment en els dos grups econòmicament més importants (tarongers i mandarins).

En base a la revisió bibliogràfica realitzada sobre esterilitat i partenocàrpia en cítrics, es proposa un esquema per a la classificació partenocàrpica dels cítrics en funció del tipus d'esterilitat.

1. Introducción

1.1. Taxonomía, origen y expansión de los cítricos

Revisión taxonómica

Los cítricos y géneros afines pertenecen al orden Geraniales, suborden Geraninas y familia Rutáceas. La familia de las Rutaceas comprende seis subfamilias, siendo la subfamilia de las Aurantioideas la que contiene a los cítricos y géneros afines.

El concepto biológico de especie resulta muchas veces poco preciso, siendo la definición más aceptada la de conjunto de individuos capaces de cruzarse entre sí pero que están aislados reproductivamente de otros. Sin embargo, esta definición tiene limitaciones y no sirve para los miembros del género *Citrus* debido a que entre ellos se cruzan fácilmente, produciendo descendencia fértil, y es frecuente la apomixis.

Si a esto se añade la elevada frecuencia de mutaciones y la extensa historia de cultivo de los cítricos, factores que contribuyen a hacer más difícil el establecimiento de las relaciones taxonómicas, la consecuencia es una falta de consenso que ha dado lugar a varias clasificaciones taxonómicas.

El género *Citrus* fue instaurado por Lineo en 1737 en la primera edición del *Genera Plantarum*. En 1753, en su obra *Species Plantarum*, Lineo asignó las dos primeras especies al género *Citrus*: *C. medica*, que englobaba a los cidros y los limoneros (*C. medica* var. *limon*) y *C. aurantium*, que abarcaba naranjos amargos y dulces (*C. aurantium* var. *sinensis*) y zamboas (*C. aurantium* var. *grandis*), denominado en la literatura inglesa como *pummelo* o *shaddock*. La dificultad de la organización taxonómica del género *Citrus* ha dado lugar a que las especies hayan ido cambiando. Osbeck, en 1757, nombra a la zamboa como *C. grandis* y en 1765 separa al naranjo dulce (*C. sinensis*) como especie independiente del naranjo amargo. El limonero fue elevado a categoría de especie independiente por Burmann (1768). Pero no será hasta la publicación de *Histoire Naturelle*

des Orangers de Risso y Poiteau (1822) cuando se denominan cada una de las especies cultivadas. Este nombre consistía en una expresión latina de entre 3 y 10 (o a veces más) palabras y puso de manifiesto la dificultad de organizar taxonómicamente el género *Citrus* (Zaragoza, 2007).

En 1861, Oliver asumió que el género *Citrus* lo formaban cinco especies y en 1875, Hooker, en su *Flora of British India*, reconoció sólo cuatro especies.

En 1896, Engler, especializado durante muchos años en Rutaceas, reconoció seis especies de *Citrus* en el mundo. Treinta y cinco años más tarde, el propio Engler en la segunda edición de *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, hace una revisión de su anterior clasificación, e incluye once especies en el género *Citrus* y seis o siete en los dos géneros *Poncirus* y *Microcitrus*. En 1986, tres de estas especies las había situado en *Citrus*.

En la actualidad se aceptan las clasificaciones de Swingle y Tanaka.

Swingle (1946) dividió el género *Citrus* en dos subgéneros, *Papeda* y *Eucitrus*, que presentan notables diferencias anatómicas, pero principalmente se distinguen en la comestibilidad de sus frutos. Los del subgénero *Papeda* contienen agregados de aceites esenciales, que proporciona al jugo un sabor acre y amargo muy desagradable que los hace incomedibles, mientras que los del subgénero *Eucitrus* contienen en las vesículas de la pulpa un jugo más o menos agradable, exento de aceites esenciales y de sabor ligeramente amargo, dulce o ácido. El subgénero *Papeda* comprende seis especies: *C. ichangensis* Swing. (papeda de Ichang), *C. latipes* (Swing.) Tan. (papeda de Kashi), *C. hystrix* D. C. (papeda de Mauricio), *C. micrantha* Wester (papeda de flor pequeña), *C. celebica* Koord. (papeda de Célebes) y *C. macroptera* Montr. (papeda de Melanesia).

En el subgénero *Eucitrus*, que engloba diez especies, se encuentran las ocho más importantes desde el punto de vista comercial: *C. medica* L. (cidros), *C. aurantium* L. (naranjos amargos), *C. limon* (L.) Burn. f. (limoneros), *C. aurantifolia* (Christm.) Swing. (limeros), *C. grandis* (L.) Osb. (zamboa), *C. sinensis* (L.) Osb. (naranjos dulces), *C. reticulata* Blanco (mandarinos) y *C. paradisi* Macf. (pomelos). Las dos restantes, *C. indica* Tan. y *C. tachibana* (Mak.) Tan., son especies silvestres de la India y de Japón respectivamente (Federici *et al.*, 1998) que tienen poco interés comercial.

Tanaka (1977) divide el género *Citrus* en dos subgéneros, *Archicitrus* y *Metacitrus*, ocho secciones, quince subsecciones y ciento sesenta y dos especies. No obstante, comparando las especies consideradas por Tanaka con las ocho más importantes comercialmente citadas por Swingle, las principales diferencias se encuentran en las limas y los mandarinos. Tanaka subdivide las limas y reconoce tres especies: además de *C. aurantifolia* (Christm.) Swing. a la que nombra como lima Mexicana, Galago, Key o West Indian, considera también *C. latifolia* Tan. (lima Bearss, Tahití o Persa) y *C. limettioides* Tan. (lima Dulce de Palestina). Respecto a los mandarinos las discrepancias son mayores ya que establece varias especies. Swingle agrupa a todos los mandarinos como *C. reticulata* Blanco, mientras que Tanaka añade además *C. deliciosa* Ten. (mandarinos comunes), *C. unshiu* Marc. (satsumas), *C. clementina* Hort. ex Tan. (clementinas), *C. tangerina* Hort. ex Tan. (mandarino Dancy), *C. nobilis* Lour. (mandarino King) y otras de menor importancia (Swingle y Reece, 1967).

La hipótesis aceptada actualmente es que entre los cítricos cultivados sólo existen tres verdaderas especies: el cidro (*Citrus medica* L.), el mandarino (*C. reticulata* Blanco) y la zamboa (*C. maxima* Burm. Merrill) y que las cinco especies comerciales restantes son híbridos producidos a partir de las tres principales. Esta hipótesis fue propuesta por Scora (1975) y Barret y Rhodes (1976) en función de criterios bioquímicos y morfológicos, y ha sido corroborada posteriormente mediante técnicas de biología molecular entre las que se incluyen: isoenzimas (Torres *et al.*, 1978; Fang *et al.*, 1993; Herrero *et al.*, 1996), SSR (Simple Sequence Repeat Markers) (Fang y Roose, 1997; Fang *et al.*, 1998; Luro *et al.*, 2001; Barkley *et al.*, 2006), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) y SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) (Luro *et al.*, 1992; Federici *et al.*, 1998; Nicolosi *et al.*, 2000). Con los resultados obtenidos, la filogenia que actualmente se propone para los cítricos cultivados es la siguiente:

El naranjo dulce (*C. sinensis* Osbeck) sería un híbrido entre mandarino y zamboa (Barret y Rhodes, 1976; Torres *et al.*, 1978; Scora, 1988; Fang y Roose, 1997; Nicolosi *et al.*, 2000). El naranjo amargo (*C. aurantium* L.) es también un híbrido entre mandarino y zamboa pero de origen diferente (Barret y Rhodes, 1976; Nicolosi *et al.*, 2000).

El limonero (*C. limon* L. Burm f.) sería un híbrido entre naranjo amargo y cidro (Nicolosi *et al.*, 2000), y la lima (*C. aurantifolia* Christm.) entre *C. micrantha* y cidro (Nicolosi *et al.*, 2000).

El pomelo (*C. paradisi* Macf.) parece ser un híbrido entre zamboa y naranjo dulce en el que los caracteres de la zamboa se manifiestan con mayor intensidad (Barret y Rhodes, 1976; Torres *et al.*, 1978; Scora, 1988; Nicolosi *et al.*, 2000).

Para estudiar la evolución de los géneros pertenecientes a la subfamilia *Aurantioideae* mediante relaciones filogenéticas se han analizado los patrones de banda de la heterocromatina (Guerra *et al.*, 2000) así como secuencias no codificantes de ADN cloroplástico (Samuel *et al.*, 2001; Morton *et al.*, 2003; Bayer *et al.*, 2009). También se han estudiado diferentes especies del género *Citrus* utilizando secuencias no codificantes de ADN cloroplástico (Jena *et al.*, 2009). Con los resultados obtenidos hasta el momento la hipótesis aceptada es que el ancestro común que posteriormente ha dado lugar a las especies del género *Citrus* existió hace unos 20-30 millones de años, en los montes del Himalaya cuando estos alcanzaban una altitud de unos 1000 metros y el clima era benigno para el desarrollo de las *Aurantoideae* (Zhang, 1981). La evolución alopátrica del ancestro dio lugar a los tres taxones principales: cidros en la India, zamboas en el sureste asiático y mandarinos en China (Mabberley, 1998).

Durante miles de años, y debido a diferentes circunstancias, como la selección natural, hibridaciones ocasionales, mutaciones espontáneas y apomixis, estas especies ancestrales se fueron diversificando (Zhang, 1981), de manera que todas las especies del género *Citrus* y géneros afines, a excepción del pomelo, aparentemente se originaron en las regiones tropicales y subtropicales del sureste de asiático y del Archipiélago Malayo (Webber, 1967). El pomelo es una especie moderna que se originó en el siglo XVIII en la isla de Barbados, situada al este del mar Caribe, espontáneamente en un semillero (Scora *et al.*, 1982).

Domesticación, expansión e introducción de los cítricos en España

El género *Citrus* fue domesticado hace varios miles de años. Las primeras referencias literarias que se encuentran de los cítricos aparecen en el libro *Tribute of Yu* durante la dinastía de Ta Yu (2205 a 2197 a. C.). En estas se encuentran los términos ‘Yu’ y ‘Chu’ que probablemente hacen referencia a mandarinos de pequeño tamaño y zamboas respectivamente. También aparece el término ‘Yuzu’ referido posiblemente a *C. junos* (Nicolosi, 2007).

En China, las referencias al cidro ‘Kuo Han’ datan del año 304 d. C. Sin embargo, en la India, de donde se considera nativo, se han encontrado textos sagrados datados aproximadamente del año 800 a. C. en los que se hace referencia al cidro como ‘Jambila’ o ‘Jambira’ (Nicolosi, 2007).

Probablemente en China, Japón, India y otros países orientales, existían plantaciones de *Citrus* en las que se mezclaban diferentes taxones fruto de la diversificación. En estas plantaciones, debido a la acción de las abejas u otros polinizadores, se produjeron nuevas hibridaciones que los agricultores seleccionaban y propagaban dando lugar progresivamente a descendencias que produjeron frutos de mayor calidad (Swingle, 1967).

La dispersión de las especies del género *Citrus* desde su área de origen y diversificación empieza con los cidros en el siglo IV a. C. que fueron llevados desde Media (en la actualidad noroeste de Irán) hasta Grecia por los ejércitos de Alejandro Magno (Zaragoza, 2007). Dos siglos después, el pueblo judío lo adoptó para sus rituales religiosos y todavía lo siguen utilizando. En la actualidad, tiene una importancia local en algunas áreas del mediterráneo donde se utiliza para fabricación de almíbares o encurtidos y también para la destilación de sus aceites esenciales. Además, el uso medicinal que tradicionalmente se le ha dado sugiere la presencia de algún componente beneficioso para la salud (Krueger y Navarro, 2007).

Mucho más tarde, los árabes transportaron a través del norte de África hasta al-Andalus el naranjo amargo en el siglo X, el limonero y la zamboa en el siglo XI y el limero en el siglo XIV. En 1493, Colón, en su segundo viaje, llevó semillas de estos cítricos hasta

el Caribe, a partir de donde se expandieron hacia el resto de islas, América Central y posteriormente hasta Florida y Brasil.

En 1520, procedente de China, fue introducida en Portugal la naranja dulce. Es por esta razón que en un principio se la conoció como naranja de Lisboa o de Portugal. La noticia más antigua que se tiene de la presencia de naranja dulce en España indica que la había en Sevilla a finales del siglo XV o principios del XVI (Zaragoza, 2007). Posteriormente, y al igual que en el caso de los otros cítricos, se produjo la expansión hacia el continente americano. La expansión de los cítricos hacia África a mediados del siglo XVII la llevaron a cabo los colonos holandeses y portugueses. Casi un siglo más tarde se llevaron a Australia cítricos procedentes de Brasil.

Finalmente señalar que el mandarino, a pesar de ser una de las tres verdaderas especies y conocerse en el sureste de China desde tiempo inmemorial (Li, 1992), fue el último en expandirse a occidente en el siglo XIX. Las primeras referencias del mandarino en España son del conde de Ripalda, junio de 1845, pero hasta once años más tarde y gracias al político y terrateniente Polo de Bernabé, no comenzó a difundirse su cultivo en la provincia de Castellón y sobre todo en Vilareal (Zaragoza, 2007).

1.2. Principales grupos varietales

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) clasifica el género *Citrus* en cinco grupos varietales: (I) Naranjos, (II) Tangerinas (donde se incluyen todas las especies de mandarinos y sus híbridos), (III) Limones y Limas, (IV) Pomelos y (V) Otros frutos cítricos.

En el caso de las variedades, son los mercados tradicionalmente creados en torno a las diferentes áreas cítricas los que han determinado la utilización de unas u otras. Existen dos destinos principales para la producción cítrica: el consumo en fresco y la industrialización tanto para la elaboración de zumos como para el procesado de los gajos.

Naranja dulce

Es la especie más cultivada del género *Citrus*. Los principales países productores de naranja dulce son Brasil, EEUU y México (FAO, 2007). Se suelen agrupar comercialmente en cuatro grupos:

Grupo blancas o comunes. Es el más importante a nivel mundial desde el punto de vista económico. Se destina tanto para consumo en fresco como para el procesado de zumos. Para la obtención de zumo, cabe destacar que la variedad ‘Pera’ es la más cultivada en Brasil, principal productor mundial de zumo. En el grupo de las blancas se diferencian tres subgrupos según el periodo de recolección: las blancas tempranas como ‘Salustiana’ y ‘Hamlin’, las de media estación como ‘Pineapple’ y las blancas tardías como ‘Valencia’ y ‘Pera’. Las variedades tipo valencia se caracterizan por su calidad organoléptica por lo que gran parte de la producción es destinada a consumo en fresco cuando termina el periodo de las navel.

Grupo navel. Se destina principalmente para consumo en fresco por su gran calidad organoléptica y ausencia de semillas. Además, la presencia de limonina en la mayoría de las variedades de este grupo confiere un sabor amargo al zumo lo cual limita su uso para el procesado de zumos (Davies, 1994). La primera navel se originó en Brasil por mutación de

la variedad ‘Selecta’, perteneciente al grupo de las blancas. Todas los cultivares del grupo navel existentes se han originado por mutación a partir de éste. El rasgo morfológico que caracteriza al grupo navel es la presencia de un pequeño y rudimentario fruto incrustado en el extremo estilar del fruto principal que exteriormente tiene aspecto de ombligo. La variedad ‘Washington navel’ es la más cultivada de este grupo. Otras variedades importantes de este grupo son ‘Navelina’, ‘Newhall’ y ‘Navelate’.

Existen, además, dos grupos de menor importancia económica que son las naranjas del grupo sin acidez, cuyo principal atributo es el bajo contenido en ácido, y las naranjas del grupo pigmentadas o sanguinas, cuya característica es la pigmentación de un color rojo fuerte en la piel y en la pulpa. El grupo de las pigmentadas tienen gran importancia en Italia y Túnez, estando además en auge debido al alto contenido en antocianinas.

Mandarinos

Con el nombre de mandarino se incluyen varias especies cuya característica común es la facilidad de pelado. Las especies económicamente mas importantes son las satsumas (*C. unshiu* (Mak.) Marc.), las clementinas (*C. clementina* Hort. ex Tan.), los mandarinos ‘Ponkan’ (*C. reticulata* Blanco) y ‘Dancy’ (*C. tangerina* Hort ex Tan.) y los híbridos: ‘Nova’ o ‘Clemenvilla’ (*C. clementina* x (*C. paradisi* x *C. tangerina*)), ‘Fortune’ (*C. clementina* x *C. tangerina*) y ‘Ortanique’ (*C. reticulata* x *C. sinensis*).

Los principales productores son China, España, Brasil y Japón (FAO, 2009a). Las satsumas predominan en Japón mientras que las clementinas son características del área mediterránea.

Las clementinas han sido y todavía siguen siendo el cultivo más representativo de la citricultura española debido a su elevada calidad. Las variedades de clementina más importantes son ‘Marisol’, ‘Fina’, ‘Clemenules’ y ‘Hernandina’. Las clementinas son autoincompatibles por lo que en áreas en las que sólo se cultivan clementinas, los frutos obtenidos no tienen semilla.

La necesidad de responder a la demanda de mandarinas tardías de los mercados internacionales hizo que, en el caso de la citricultura española, se introdujeran los híbridos arriba mencionados. Estos híbridos son autoincompatibles, pero resultan compatibles entre ellos y con las clementinas, por lo que si se produce la polinización cruzada entre grupos compatibles producen frutos con semilla.

En la Comunidad Valenciana, principal productor de España, la *Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació* prohibió el asentamiento de colmenas en los alrededores de las plantaciones de cítricos durante la floración y permitió la realización de tratamientos fitosanitarios contra las abejas en mandarinos mediante el Decreto 29/2002, «Medidas para limitar la polinización cruzada entre plantaciones de cítricos» (DOGV, 2002). Estas medidas, además de tener efectos medioambientales negativos, obligaron a compensar económicamente a los apicultores y produjeron un enfrentamiento entre el sector cítrico y el apícola.

Esta situación motivó que los objetivos de mejora se centraran en la eliminación de las semillas en las variedades de calidad existentes y en la obtención de nuevas variedades sin semillas. Para conseguir estos objetivos se han invertido esfuerzos principalmente en dos líneas de trabajo: la inducción de mutantes mediante irradiación con rayos gamma (Froneman et al., 1996; Vardi et al., 1996; Asins et al., 2002; Sutarto et al., 2009) y la obtención de híbridos triploides (Ollitrault et al., 1998, 2008; Navarro et al., 2005a). Ambas técnicas han dado buenos resultados y actualmente existen nuevas variedades de mandarinos de gran calidad y sin semillas como los híbridos triploides 'Garbí' y 'Safor' (Aleza et al., 2009) que permiten paliar la problemática existente y que están teniendo una gran aceptación en el sector cítrico por lo que se prevé una amplia utilización de los mismos.

No obstante, la representación mundial de las nuevas variedades triploides es todavía escasa debido a la problemática que presentan los programas de mejora genética basados en la obtención de híbridos triploides. Problemas derivados por la complejidad en la biología reproductiva, la elevada heterocigosis, el desconocimiento genético básico, el largo periodo juvenil y la escasez de marcadores moleculares asociados a caracteres de interés.

Limoneros y Limeros

El cultivo de las limas se restringe a países con climas tropicales debido a la sensibilidad de esta especie a las bajas temperaturas mientras que los limoneros se adaptan a climas un poco más fríos y secos. Los principales productores de lima son la India y México. Argentina es el principal productor de limones (FAO, 2009a).

En España se cultivan principalmente las variedades de limón ‘Fino’ y ‘Verna’. Las variedades de limoneros más cultivadas en la actualidad producen frutos con semillas, que por el momento son aceptados debido al tipo de consumo como condimento. No obstante, está empezando a surgir la demanda de frutos sin semillas (Navarro *et al.*, 2006).

Pomelos

Los Estados Unidos, China y Sudáfrica son los tres principales productores (FAO, 2007). En España tienen poca importancia económica.

Se distinguen dos grupos: los pomelos comunes o de pulpa amarilla y los pomelos pigmentados. En ambos grupos existen variedades con semillas como ‘Duncan’ (pomelo común) y ‘Foster’ (pomelo pigmentado) y variedades sin semillas como ‘Marsh’ (pomelo común) y ‘Thompson’, ‘Redblush’ y ‘Star Ruby’ (pomelos pigmentados).

1.3. Importancia económica

La producción mundial de cítricos en el año 2007 fue de aproximadamente 115 millones de Tm. Esta cantidad (similar a la producción de plátanos y bananos) lo sitúa como el principal cultivo de frutales a nivel mundial, distribuyéndose de la siguiente manera: el 56% corresponde a naranjo dulce, el 23% a clementinas, mandarinas y satsumas, el 11% a limoneros y limas, el 4% a pomelos y el 6% restante se reparte entre los demás cítricos. Los dos principales productores son Brasil y China con una producción anual de unos 20 millones de Tm. cada uno, seguidos de EEUU con unos 10 millones de Tm. A continuación se sitúan México, India y España con producciones anuales entre 6 y 7 millones de Tm. (FAO, 2009a).

El 60% de la producción mundial de cítricos, principalmente naranja y mandarinas, se destina a consumo en fresco y el 40% restante se transforma mayoritariamente para zumo (Johnson, 2001). Estos porcentajes varían en función del país productor. De manera que mientras Brasil y Florida producen mayoritariamente para la industria del zumo, China y los países de la cuenca mediterránea destinan la mayoría de su producción para el consumo en fresco. Los objetivos de calidad varían en función del destino final de la fruta y de la situación de la citricultura en cada país, siendo uno de los más importantes para la fruta destinada a consumo en fresco la ausencia de semillas (Navarro *et al.*, 2006).

En España los cítricos también constituyen el principal cultivo frutal, con una superficie cultivada de unas 330.000 hectáreas (MARM, 2009). Aproximadamente el 49% de la producción es de naranjas dulces, el 37% de mandarinas y el 14% de limones (Intercitrus, 2009). A pesar de que en los últimos años ha aumentado la competencia internacional en el sector de la citricultura, España se mantiene como el primer país exportador de fruta fresca y esta posición de liderazgo se debe en gran medida a la dinámica varietal que ha permitido ofrecer en los mercados internacionales las mejores variedades existentes en cada momento (Navarro *et al.*, 2006).

1.4. Diversidad genética y su conservación

La producción agraria actual se caracteriza por la tendencia a la utilización de unas pocas variedades seleccionadas por su alto rendimiento, por su calidad o por su resistencia o tolerancia a condiciones bióticas o abióticas concretas. Esta situación provoca una homogeneidad en los cultivos que los hace más vulnerables frente a nuevas formas de patógenos o frente a condiciones ambientales extraordinarias.

El crecimiento demográfico, cuyas consecuencias son el avance de las ciudades y de las zonas industriales, provoca una pérdida de diversidad genética fruto de miles de años de evolución. A esta erosión genética hay que añadir también la producida por la agricultura moderna mediante el abandono de variedades tradicionales (Navarro *et al.*, 2005b).

La estructura genética de los cítricos se caracteriza por su elevada heterocigosis (Ollitrault y Faure, 1992; Herrero *et al.*, 1996a y 1996b; Luro *et al.*, 2001). Las especies silvestres de los cítricos presentan una amplia variabilidad genética (Swingle y Reece, 1967), sin embargo, muchas de las especies cultivadas presentan un bajo polimorfismo intervarietal ya que han sido obtenidas como consecuencia de mutaciones espontáneas. Este es el caso de las naranjas dulces del tipo navel y de los mandarinos satsumas y clementinas.

La excepción la encontramos en el resto de los mandarinos (Navarro, 2006) y en las zamboas en los que la alta heterocigosis existente da como resultado una gran segregación genética en los cruces. Esta característica implica que en los programas de mejora es necesario obtener un elevado número de individuos para encontrar las combinaciones genéticas deseadas debido a la ausencia de marcadores moleculares ligados a caracteres de interés (Navarro, 2005).

El número cromosómico de la subfamilia Aurantioideae es $n = x = 9$ (Krug, 1943). El género *Citrus* y sus géneros afines por lo general son diploides con unas pocas excepciones entre las que cabe destacar por su gran importancia comercial la lima 'Tahiti' (*C. latifolia*) que es triploide ($2n = 3x = 27$). El género *Citrus* es compatible sexualmente

con otros géneros lo cual constituye una fuente de variabilidad. La amplia diversidad genética de las especies silvestres resulta de gran interés para los programas de mejora de patrones, cuyo principal objetivo de mejora es la resistencia o tolerancia a estreses tanto bióticos como abióticos. Sin embargo, su utilización para mejorar la calidad de las variedades es limitada ya que pocas de las especies silvestres y géneros afines a los cítricos tienen frutos comestibles. Las fuentes de diversidad de caracteres organolépticos en el género *Citrus* es extensa. El diámetro del fruto varía desde unos pocos centímetros en mandarinos hasta más de 30 centímetros en algunas zamboas. El albedo constituye la mayor parte del fruto en los cidros y llega a ser muy grueso en las zamboas, sin embargo en los mandarinos está muy poco desarrollado. El color de la pulpa varía entre verde, rojo, naranja o amarillo en función de la composición de carotenoides (Fanciullino *et al.*, 2006) o antocianinas en el caso de las naranjas pigmentadas. También existe gran diversidad en el grado de acidez, en la cantidad y calidad de los aceites esenciales y en el periodo de maduración. El número de semillas/fruto es un carácter muy variable, encontrándose genotipos que no producen semilla hasta otros que producen más de 20 semillas/fruto.

El *Tratado Internacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura* señala, en su preámbulo, la importancia que reviste la conservación de los recursos fitogenéticos, así como su prospección, recolección, caracterización, evaluación y documentación para alcanzar los objetivos de la Declaración de Roma sobre la Seguridad Alimentaria Mundial.

En este contexto, los bancos de germoplasma desarrollan un papel esencial en el que se hace necesario proteger y mantener los recursos fitogenéticos que constituyen las fuentes de variabilidad para la obtención de nuevas variedades en un mercado en constante renovación.

Los principales Bancos de Germoplasma mundiales del género *Citrus* se encuentran situados en Japón, China, EEUU, Francia y España.

En Japón existen seis colecciones donde se mantienen más de 1200 genotipos, destacando el gran número de genotipos de mandarina que se conservan, principalmente del grupo satsumas (Krueger y Navarro, 2007). En el banco de germoplasma de China hay aproximadamente 1000 accesiones mantenidas *ex situ* (Liu y Deng, 2007). La *Citrus*

Variety Collection de la Universidad de Riverside en California (EEUU) contiene aproximadamente 900 genotipos del género *Citrus* y afines (Barkley *et al.*, 2006). En la colección de Córcega (Francia) se mantienen más de 1000 genotipos (CIRAD, 2009).

El sistema de clasificación que se utiliza en los bancos de germoplasma es una mezcla entre los sistemas de Swingle y Tanaka, aunque más cercano al de Tanaka debido a que este sistema se adapta mejor a los caracteres hortícolas de los diferentes grupos varietales (Krueger y Navarro, 2007).

1.4.1. El Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA

En la citricultura española existen dos antecedentes que demuestran la importancia que supone para la producción disponer de material vegetal sano. El primero de ellos fue el hongo *Phytophthora sp.* que, a finales del siglo XIX, causó la muerte de todos los cítricos que no estaban injertados sobre naranjo amargo. Posteriormente, en los años 60 del pasado siglo, el virus de la tristeza de los cítricos (CTV) causó la muerte de naranjos y mandarinos injertados sobre naranjo amargo. Como respuesta a la amenaza que suponían para la citricultura española las enfermedades existentes y la posible introducción de nuevas enfermedades, en 1975 se inicia el Programa de Mejora Sanitaria de Variedades de Cítricos (Navarro, 1976).

El primer objetivo del programa fue la obtención de plantas libres de patógenos, para lo cual se puso a punto la técnica de microinjerto de ápices caulinares *in vitro* (Navarro *et al.*, 1975). En principio, se dio prioridad a las variedades con mayor interés comercial, para formar un bloque inicial de distribución de material libre de patógenos a los viveros. Con las plantas saneadas se estableció el Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA, que ha ido creciendo con la incorporación de variedades tradicionales, especies silvestres y géneros afines. Dado que todas las plantas del Banco de Germoplasma se sanean mediante microinjerto de ápices caulinares *in vitro*, los criterios para las nuevas incorporaciones son agronómicos y genéticos, independientemente de su estado sanitario. El programa de mejora sanitaria de variedades de cítricos ha producido beneficios socioeconómicos para la citricultura española entre los que destaca el aumento de la producción y de la calidad, la

reestructuración varietal, la desaparición de antiguas enfermedades y el control de la aparición de nuevas enfermedades, posicionando a la citricultura española en una situación estratégica para la exportación (Navarro *et al.*, 2005b).

Actualmente, el Banco de Germoplasma del IVIA está formado por 503 genotipos. De estos, 362 pertenecen a especies del género *Citrus*, 102 son híbridos y 39 son especies de géneros afines a los cítricos.

El mayor número de genotipos corresponde a las tres especies más ampliamente utilizadas en las plantaciones comerciales: naranjos dulces con 132 genotipos, clementinas con 72 genotipos y limoneros con 48 genotipos. De los naranjos dulces, aproximadamente el 50% son del grupo navel, el 48% del grupo blancas y el 2% restante entre naranjas pigmentadas y sin acidez.

El conjunto de otros mandarinos e híbridos está representado por 131 genotipos. Se incluyen también prácticamente todas las especies con utilidad potencial como patrones.

El Banco de Germoplasma está formado por tres colecciones:

Colección de campo. Los árboles se mantienen al aire libre y en condiciones estándar de cultivo. Se incluyen entre dos y seis árboles de cada genotipo. Esta colección se utiliza para la caracterización varietal de acuerdo con los descriptores de la *International Plant Genetic Resources Institute* (IPGRI) y de la Unión Internacional para la Protección de Nuevas Variedades de Plantas (UPOV). Los datos de caracterización se almacenan en una base de datos denominada 'GERMO' que ha sido desarrollada en el IVIA (Navarro *et al.*, 2005b).



Figura 1. Colección en campo del Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA (Foto: A. Medina).

Colección protegida. Las plantas se mantienen bajo abrigo de malla antipulgón de acero inoxidable de 14 x 16 hilos por cm. Actualmente hay cerca de 1900 m² de recintos protegidos en donde se conservan 503 genotipos que van en aumento cada año. Las plantas se cultivan en contenedores de 65 litros y el limitado espacio del que dispone cada planta requiere que se realicen podas de forma periódica manteniendo un volumen de copa no superior a 200-250 litros. Las necesidades hídricas y nutritivas se satisfacen mediante fertirrigación de forma individualizada para cada planta. Para la lucha contra heladas así como para la regulación térmica en verano se utiliza un sistema de nebulización. En estas condiciones de cultivo se han mantenido de manera satisfactoria los genotipos durante más de treinta años.

La colección protegida tiene dos finalidades: (I) El mantenimiento de variedades comerciales saneadas que se utilizan como material de partida para el programa de certificación de árboles madre para viveros. (II) El mantenimiento de variabilidad para estudios genéticos y programas de mejora.

Además, y aunque su finalidad no es la caracterización varietal, la colección protegida permite realizar observaciones de ciertos caracteres que o bien son independientes de las condiciones de cultivo o bien resulta interesante la comparación en estas condiciones con respecto a las condiciones de cultivo en campo.



Figura 2. Colección protegida del Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA. a) Vista exterior del recinto de malla antiinsectos. b) Vista interior con los genotipos conservados.

Colección crioconservada. Se utiliza para conservación a largo plazo y está formada por callos embriogénicos obtenidos mediante cultivo *in vitro* de óvulos y mantenidos en nitrógeno líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. En la colección de callos crioconservados se mantienen 53 genotipos poliembriónicos que han sido utilizados en programas de mejora basados en la hibridación somática (Duran-Vila *et al.*, 2005).

1.5. Biología reproductiva de los cítricos

Las flores. Son generalmente hermafroditas. El cáliz está constituido por cinco sépalos dispuestos alrededor del receptáculo. La corola está formada por cinco pétalos que envuelven al androceo y el gineceo. El androceo, dependiendo de la especie, está compuesto por 20-40 estambres, constituidos por un filamento con una antera con dos tecas y dos lóculos o sacos polínicos por teca. En el interior de estos lóculos se encuentra la célula madre productora de los granos de polen (microesporocito) y éstos quedan englobados por el tapete. El gineceo está formado por el ovario, estilo y estigma. El ovario está constituido por un número variable de hojas carpelares o lóculos, según la especie, y está apoyado sobre el disco nectarífero. En su interior se encuentran los óvulos. El estilo es generalmente cilíndrico y en su interior hay tantos canales estilares como lóculos tiene el ovario. El estigma se localiza en el extremo del estilo y secreta una sustancia mucilaginosa que fija y favorece la germinación y el crecimiento de los granos de polen.

El fruto. Es una baya modificada denominada hesperidio y se origina como consecuencia del crecimiento del ovario. Está formado por un número variable de carpelos dispuestos alrededor del eje floral, formando lo que posteriormente serán los gajos y en cuyo interior se encuentran las vesículas de zumo y las semillas. El pericarpo está formado por el exocarpo, el mesocarpo y el endocarpo. El exocarpo o flavedo es la parte más externa del fruto, el endocarpo es la parte más interna del pericarpo y el mesocarpo o albedo, de aspecto esponjoso, se encuentra entre el flavedo y el endocarpo.

Las semillas. Se forman a partir de una serie de cambios en el crecimiento y desarrollo de los óvulos como consecuencia de la fecundación. Están compuestas por un tegumento exterior o testa y por un tegumento interior o tegmen. La testa es dura, de color blanco-grisáceo o crema, de textura leñosa y recubierta por una gruesa capa mucilaginosa. El tegmen es un tegumento delgado, de color rojo a marrón, en cuyo extremo se encuentra la chalaza formada por células del tegmen más gruesas y de color más oscuro. El tegmen contiene restos del endospermo y de la nucela y envuelve al embrión (Frost y Soost, 1968).

El embrión maduro está constituido principalmente por dos cotiledones, de aspecto carnoso que son los encargados de aportar los nutrientes necesarios para la germinación, y por el eje embrionario con un hipocotilo muy corto que culmina con la radícula en la parte inferior y con la plúmula en la parte superior. En el interior de la semilla el embrión está dispuesto con la radícula hacia la zona del micropilo (Frost y Soost, 1968).

En los cítricos existen dos tipos de semillas: monoembriónicas y poliembriónicas. Las semillas monoembriónicas son aquellas que contienen un único embrión de origen sexual, y las poliembriónicas son las que contienen un embrión de origen sexual y uno o varios embriones nucelares.

La apomixis es un tipo de reproducción asexual a través de la formación de semillas, habitualmente denominada como agamosperma (Savindan, 2000; Grimanelli *et al.*, 2001; Bicknell y Koltunow, 2004). Hay tres mecanismos apomícticos conocidos: aposporia, diplosporia y embrionía adventicia. La embrionía adventicia es el mecanismo apomíctico de los cítricos y se produce cuando los embriones se desarrollan exclusivamente por divisiones mitóticas a partir de células de la nucela, por lo que las plantas obtenidas son idénticas genéticamente a la planta madre. Todos los cítricos son apomícticos a excepción de cidros, zamboas, clementinos y algunos mandarinos. Las semillas de las variedades apomícticas son poliembriónicas (Kobayashi *et al.*, 1981; Kepiro y Roose, 2007). En estos casos, la formación de embriones nucelares impide o restringe el desarrollo de embriones cigóticos lo que supone una barrera para la recombinación genética. La consecuencia desde el punto de vista de la mejora es que sólo se pueden utilizar los escasos genotipos monoembriónicos (no apomícticos) como parentales femeninos para poder obtener poblaciones de híbridos y no tener que separar mediante análisis moleculares las plantas cigóticas de las nucelares.

Por otro lado, muchos cítricos presentan esterilidad y/o incompatibilidad que evitan la formación de semillas. Hay que tener en cuenta que la esterilidad es un fenómeno que en la mayoría de casos se produce de forma parcial. De hecho, el número de semillas de casi todos los genotipos es menor que el número de óvulos lo que indica un cierto grado de esterilidad en todos ellos (Ollitrault *et al.*, 2007). Además, en algunos casos la esterilidad viene determinada por factores ambientales como es el caso de la esterilidad masculina en

limón 'Eureka' y lima 'Mexicana' inducida por bajas temperaturas (Nakamura, 1943; Iwamasa y Iwasaki, 1962; Iwamasa, 1966).

La esterilidad masculina está causada por el aborto de las anteras debido a la degeneración de las células madres del polen. El aborto de las anteras está controlado por la interacción de genes citoplásmicos y nucleares (Yamamoto, 1997). Para que una variedad sea androestéril tiene que tener citoplasma androestéril y genes nucleares no restauradores como es el caso de las satsumas. El mandarino 'Encore' tiene citoplasma androestéril, pero su polen es fértil ya que posee genes nucleares restauradores. Además de este control genético, la esterilidad masculina se asocia también a anomalías cromosómicas y a la triploidia (Ollitrault *et al.*, 2007). La inversión cromosómica causa esterilidad parcial en 'Lima mexicana', la translocación recíproca es la principal causa de esterilidad de la naranja 'Valencia' (Iwamasa, 1966) y fallos en la formación del huso producen esterilidad en el pomelo 'Marsh' (Raghuvanshi, 1962).

La esterilidad femenina está provocada por la ausencia de óvulos fértiles y se asocia a diferentes factores tales como genes de esterilidad, anomalías cromosómicas y triploidia (Ollitrault *et al.*, 2007). La variedad que se considera tiene un mayor grado de esterilidad femenina es 'Mukaku kishiu', que procede de una mutación a partir de un mandarino 'Kinokuni' cuyos frutos tienen semillas. En la variedad 'Mukaku kishiu', la esterilidad está controlada por dos genes que provocan el aborto del cigoto por lo que sus frutos nunca tienen semillas (Nesumi *et al.*, 2001). Los naranjos dulces tipo navel y los mandarinos satsumas tienen esterilidad femenina debida a la degeneración del saco embrionario. Sin embargo, cuando son polinizadas manualmente producen semillas en poca cantidad (Ollitrault *et al.*, 2007), lo que indica que tienen un pequeño porcentaje de óvulos fértiles. En el caso de la satsuma, la esterilidad femenina esta controlada por dos genes (Omura *et al.*, 2000). Las naranjas tipo valencia y el pomelo 'Marsh' (ambos androestériles) tienen cierto grado de esterilidad femenina ya que cuando son polinizadas manualmente producen poca cantidad de semillas (Wong, 1939).

El aborto embrionario es un caso de esterilidad no gamética en la que se produce el proceso normal de polinización y fecundación pero se desencadena el aborto del embrión en desarrollo.

La autoincompatibilidad (autoesterilidad) que presentan algunas especies es la causa de que aun teniendo un alto porcentaje de óvulos y polen fértiles no sea posible la autofecundación. Sin embargo, estas especies mantienen la capacidad de polinizar o ser polinizadas por otras especies fértiles y compatibles con ellas.

La autoesterilidad está regulada por el sistema alélico gametofítico (S) (Soost, 1965, 1969; Vardi, 2000). Este sistema propone cuatro alelos, siendo S_F el alelo dominante para autocompatibilidad y los otros tres alelos, S_X , S_Y , S_Z , los recesivos para autoincompatibilidad. De esta manera aquellos genotipos que contengan S_F como las satsumas ($S_F S_X$) son autocompatibles mientras que las clementinas ($S_X S_Y$) son autoincompatibles.

1.6. Partenocarpia

El término partenocarpia fue introducido en 1902 por Noll para definir la producción de frutos sin semillas (Vardi, 2000). Habitualmente, el término partenocarpia se utiliza tanto en frutos como en variedades. Se define un fruto partenocárpico como aquel que no contiene semillas. Sin embargo, el término de variedad partenocárpica resulta más complejo de definir ya que algunas variedades producen siempre frutos sin semillas, mientras que otras producen frutos sin semillas solamente en ausencia de polinización cruzada. Además de la capacidad de producir frutos sin semilla hay que tener en cuenta la cantidad y tamaño de éstos. En este sentido, la partenocarpia adquiere una dimensión cuantitativa y para referirse a ella se utilizan términos como grado de partenocarpia, mayor/menor tendencia o muy/poco partenocárpica.

1.6.1. El metabolismo de las giberelinas y la aptitud partenocárpica

Durante la reproducción sexual, tras la fertilización, se desencadena un proceso de señales que incluyen la formación de las semillas. Éstas, además de su función reproductiva, actúan como fuente y reserva de las fitohormonas necesarias para el desarrollo del fruto (Raghavan, 2003). Las hormonas implicadas en el proceso de señales que se desencadenan tras la polinización y la fertilización son las giberelinas, las citoquininas y las auxinas (Nitsch, 1952, 1970; Coombe, 1960; Garcia-Martinez y Gedden, 1997; Fos *et al.*, 2000, 2001).

La producción de frutos partenocárpicos está sujeta a la capacidad de acumular niveles suficientes de fitohormonas en el ovario para que se desarrolle el fruto sin la necesidad de que se formen semillas. A esta capacidad se le denomina aptitud partenocárpica.

Las giberelinas son el grupo de hormonas que tienen mayor importancia en el proceso de desarrollo del fruto. Existe una correlación entre los niveles de giberelinas en el

ovario y el grado de partenocarpia. Talon *et al.* (1992) observaron que los niveles de giberelinas en ovarios en desarrollo de satsuma son mayores que en clementina.

La aplicación exógena de giberelinas ha sido una práctica muy utilizada en las clementinas para aumentar la producción tanto en cantidad como en tamaño de frutos partenocárpicos. En condiciones de polinización cruzada, las aplicaciones de giberelinas en ‘Clemenules’ perjudica la fertilización debido a que aumenta el porcentaje de óvulos abortados o reduce el crecimiento del tubo polínico favoreciendo la obtención de frutos sin semillas (Mesejo *et al.*, 2008).

En las satsumas, una aplicación exógena de giberelinas no produce aumento ni en la producción ni en el tamaño de los frutos, lo cual es debido a que la acumulación endógena de giberelinas en el ovario en desarrollo es suficiente. En el cultivo de la uva también se utiliza la aplicación exógena de giberelinas para inducir la partenocarpia y aumentar el tamaño de las bayas. En tomate, pepino y *Arabidopsis* se ha demostrado también la asociación entre niveles altos de giberelinas y auxinas en el ovario y la formación de frutos partenocárpicos (Robinson *et al.*, 1971; Rebers *et al.*, 1999; Fos *et al.*, 2000, 2001).

Los trabajos realizados por Vardi (2000, 2008) con los datos obtenidos de producción de semilla de la progenie obtenida por cruzamientos entre satsuma con polen de diferentes mandarinos e híbridos de mandarina concluyen que la regulación de las giberelinas en satsuma está controlada por al menos dos genes dominantes complementarios, siendo la satsuma heterocigótica para estos.

En otros cultivos existe un mayor conocimiento de la regulación genética del metabolismo de las giberelinas. En tomate, la mutación *pat-2* induce frutos partenocárpicos (Philouze y Maisonneuve, 1978). Se trata de una mutación recesiva que está asociada con elevadas concentraciones de giberelinas en los ovarios antes de la polinización. En *Arabidopsis*, los mutantes *spindly* (*spy*) son partenocárpicos. Se trata de mutaciones recesivas que confieren resistencia al paclobutrazol, el cual es un inhibidor de la biosíntesis de giberelinas, lo que provoca una alta concentración de éstas (Jacobsen y Olszewski, 1993).

1.6.2. Esterilidad y tipos de partenocarpia

Además del metabolismo de las giberelinas, para que se produzcan frutos sin semillas la aptitud partenocárpica tiene que ir acompañada de la ausencia de fecundación. En función del mecanismo que evita la fecundación se distinguen dos tipos de partenocarpia:

La partenocarpia obligada es la propia de aquellas especies que presentan esterilidad femenina, por lo tanto, los frutos de estas variedades no contienen semillas independientemente de que se evite o no la polinización. Habitualmente, la esterilidad femenina va acompañada de esterilidad masculina por lo que además de no formar semillas ni por autopolinización ni por polinización cruzada tampoco pueden polinizar a otras variedades.

La partenocarpia facultativa es la propia de aquellas especies que son autoincompatibles o tienen esterilidad masculina. Esto implica que la ausencia de semillas depende de que se evite la polinización cruzada con otras variedades que aporten polen fértil y compatible con éstas.

Además, se distingue también entre partenocarpia vegetativa o autónoma cuando no es necesario el estímulo de la polinización para el desarrollo del fruto y partenocarpia estimulada cuando se requiere de la polinización para estimular el desarrollo del ovario pero éste no es fecundado, por lo que el fruto final no contiene semillas. Finalmente se habla de Estenospermocarpia cuando para que se forme el fruto se necesita el estímulo de la polinización y de la fertilización, pero los frutos no tienen semilla debido a que se produce el aborto del embrión (Vardi *et al.*, 2008).

2. Justificación y Objetivo

La ausencia de semillas es una condición básica que deben tener las nuevas variedades de cítricos, por lo cual es de gran interés el conocimiento de los mecanismos relacionados con la partenocarpia en los cítricos.

En base a los conocimientos previos disponibles sobre la esterilidad de algunas variedades se han clasificado las principales especies cultivadas en función de su partenocarpia, como es el caso de las navel, satsumas y clementinas. Sin embargo, existen algunas excepciones dentro de estas especies que muestran la existencia de cierta variabilidad intraespecífica para la partenocarpia. Por otro lado, existen muchos genotipos de otros mandarinos y sus híbridos cuya partenocarpia se desconoce.

La comparación de producción de semilla en variedades cultivadas con y sin polinización cruzada ofrece información útil para clasificar el germoplasma en función de su partenocarpia. Las condiciones de cultivo de las colecciones de campo y protegida del Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA permiten realizar esta comparación. En este trabajo se realiza esta comparación con 127 genotipos del Banco de Germoplasma de cítricos del IVIA, centrándose principalmente en los dos grupos más importantes: naranjos y mandarinos.

3. Material y Métodos

Se han utilizado un total de 127 genotipos del género *Citrus* pertenecientes al Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA. En la tabla 1 se muestran las especies evaluadas así como el número de accesiones de cada una de éstas.

Tabla 1: Genotipos evaluados (N) del Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA.

<i>Especie</i>	<i>N</i>
Mandarinos	56
Clementino	11
Satsuma	20
Mandarino híbrido	11
Otros Mandarinos	14
Naranja Dulce	57
Navel	35
Blancas	19
Pigmentadas	3
Naranja Amargo	10
Limonero	4

Cada uno de los genotipos ha sido cultivado tanto en la colección protegida como en la colección en campo. Cada año se recolectaron los frutos de cada uno de los genotipos de ambas colecciones, utilizándose un total de 10-25 frutos para contar el número de semillas. Los datos de producción de semilla de al menos dos años han sido utilizados en este trabajo. El promedio del número de semillas de los frutos utilizados en cada genotipo y año se redondeó a su número natural.

4. Resultados y Discusión

La comparación de la producción de semilla de 127 genotipos pertenecientes al Banco de Germoplasma de Cítricos del IVIA en la colección en campo y en la colección protegida bajo malla da lugar a tres situaciones:

- Genotipos que no producen semilla en ninguna de las dos colecciones (anexo 1).
- Genotipos que producen semilla en la colección de campo pero no en la colección protegida (anexo 2).
- Genotipos que producen semilla en ambas colecciones (anexo 3).

La polinización de los cítricos es entomófila (McGregor, 1976; Free, 1993; Sykes, 2008). Las plantas de la colección en campo se cultivan en polinización libre y la presencia de abejas está garantizada. Además, están distribuidas de manera que tienen variedades compatibles cerca. Por tanto, las condiciones en la colección de campo son favorables para que se produzca la polinización cruzada en los genotipos estudiados. Las plantas cultivadas en la colección protegida bajo malla están libres de insectos polinizadores. Sin embargo, hay que tener en cuenta la posibilidad de un bajo porcentaje de polinización cruzada en árboles contiguos debido, entre otras causas, al movimiento de las ramas por el viento con el consecuente contacto de unas flores con otras. Para eliminar el error producido por este efecto los frutos utilizados fueron recolectados de zonas del interior del árbol.

Estas condiciones permiten clasificar los genotipos según el tipo de partenocarpia que presentan, basándose en la comparación de la producción de semilla. De manera que los genotipos situados en el anexo 1 se clasifican como partenocárpicos obligados, los del anexo 2 como partenocárpicos facultativos y los del anexo 3 como no partenocárpicos. En la tabla 1 se muestra el número de genotipos de cada una de las especies estudiadas y la clasificación en función de su partenocarpia.

Tabla 1. Número de genotipos (N) evaluados de cada especie en función del tipo de partenocarpia (P.) que presentan.

	<i>N</i>	<i>P. Obligada</i>	<i>P. Facultativa</i>	<i>No Partenocárpica</i>
Naranja Dulce	57	39	2	16
Navel	35	34	0	1
Blancas	19	5	2	12
Pigmentadas	3	0	0	3
Mandarinos	56	22	13	21
Clementino	11	0	9	2
Satsuma	20	20	0	0
Mandarino híbrido	11	2	3	6
Otros Mandarinos	14	0	1	13
Naranja Amargo	10	0	0	10
Limonero	4	0	0	4
TOTAL	127	61	15	51

4.1. Genotipos de partenocarpia obligada

Todos los genotipos pertenecientes a los grupos varietales navel (excepto ‘Navel con semillas’) y satsumas producen frutos sin semillas independientemente de la acción de los polinizadores (anexo 1). Estos resultados coinciden con la esterilidad femenina descrita previamente para estos dos grupos de variedades por Osawa (1912), Iwamasa (1966) y Nishiura y Iwasaki (1963), y a que la capacidad de acumulación de giberelinas en el ovario en ausencia de semillas permite una buena producción y tamaño de los frutos. Por tanto, se confirma la partenocarpia obligada para todos estos genotipos (tabla 1).

Todos los genotipos estudiados de variedades de naranja común tipo valencia del grupo blancas (‘Valencia Late Masquefa’, ‘Bernalina’, ‘Barberina’, ‘Valencia Midnight’) han sido clasificados como partenocárpicos obligados. Además, también se ha clasificado en este grupo el genotipo ‘Salustiana Burjassot’. Se confirma, por tanto, para estos genotipos la esterilidad femenina descrita por Wong (1939) para las ‘Valencias’ y la ausencia de semillas descrita para ‘Salustiana’ por Hodgson (1967).

Los mandarinos híbridos ‘Pixie’ y ‘Kiyomi’ se clasifican como partenocárpicos obligados. El híbrido ‘Pixie’, también conocido como ‘Kincy’, se obtuvo en 1927 por el cruzamiento entre mandarino ‘King’ (*C. nobilis* Lour.) y mandarino ‘Dancy’ (*C. tangerina*

Hort. ex Tan.) (Cameron *et al.*, 1965). Sin embargo, ambos parentales están clasificados en este trabajo como no partenocárpico (anexo3).

4.2. Genotipos de partenocarpia facultativa

Las clementinas se han definido por Soost (1956) como autoincompatibles, por lo que la presencia o ausencia de semillas depende de que se produzca o no polinización cruzada con variedades compatibles. Teniendo en cuenta el diseño experimental realizado en este trabajo, se espera que estos genotipos produzcan semillas en la colección de campo y no produzcan semillas en la colección protegida.

Todas las variedades de clementina proceden de mutaciones somáticas (Talón y Gmitter, 2008) a partir de un genotipo originado en Argelia por un cruzamiento no controlado supuestamente entre mandarino común y naranjo dulce (Deng *et al.*, 1996; Nicolosi *et al.*, 2007). En las variedades de clementina se observa variación en algunas características del fruto y en el periodo de maduración. También existen diferencias en el grado de esterilidad masculina y femenina, y en la aptitud partenocárpica (Distefano *et al.*, 2009). Los datos obtenidos en este trabajo confirman estas diferencias descritas en el grado de esterilidad de las clementinas, ya que se han obtenido algunas excepciones ('Monreal' y 'Soyma') a la partenocarpia facultativa.

El genotipo 'Marisol' no presenta semillas en la colección de campo (anexo 1). Esta variedad es muy temprana, por lo que durante la floración todavía no hay polen disponible de los híbridos situados cerca de ésta. La morfología floral no resulta atractiva para las abejas (A. Medina, comunicación personal). Además, la ausencia de gota estigmática no facilita el crecimiento del tubo polínico. Resultados obtenidos por Bono *et al.* (2006) indican que la variedad 'Marisol' produce semillas en polinización manual variando la cantidad de éstas, entre 2 y 17, en función del genotipo del polen utilizado. Estos valores son mayores que los obtenidos para polinizaciones manuales en naranjos dulces tipo valencia en los que se ha descrito un grado de esterilidad femenina. Con todos estos datos, el genotipo 'Marisol' se clasifica como partenocárpico facultativo a pesar de no presentar semillas en la colección de campo.

También se clasifican como partenocárpicas facultativas el mandarino ‘Avana apireno’ y los híbridos de mandarinos ‘Nova’, ‘Simeto’ y ‘Fortune’.

4.3. Genotipos no partenocárpicas

Los genotipos clasificados como no partenocárpicas son autocompatibles por lo que producen frutos con semillas. La mayoría de los genotipos de naranjo dulce común producen frutos con semillas en ambas colecciones, lo que los clasifica como no partenocárpicas (anexo 3) excepto las de tipo valencia que han sido ya descritas como partenocárpicas obligadas en este trabajo. Todos los genotipos de naranjo dulce tipo pigmentadas y de naranjo amargo presentan frutos con semillas en ambas colecciones por lo que se clasifican como no partenocárpicas. De los catorce genotipos de mandarinos analizados, trece se clasifican como no partenocárpicas (tabla 1). Se confirma también la excepción para la ‘Navel con semillas’, que como se había descrito previamente, produce frutos con semillas en polinización abierta pero no se tiene información previa de la existencia o no de algún mecanismo de esterilidad o incompatibilidad. Con los datos obtenidos en este trabajo, se caracteriza como autocompatible y, por tanto, como no partenocárpica. La producción media de semilla para este genotipo ha sido de 6 semillas/fruto.

Los genotipos de clementina ‘Monreal’ y ‘Soyma’ producen frutos con semillas en la colección protegida (anexo 3). Por tanto, son autocompatibles y, como consecuencia, se clasifican como no partenocárpicas. La autocompatibilidad para el genotipo ‘Monreal’ había sido descrita previamente por Hodgson (1967) y Garcia-Papi (1984).

4.4. Análisis de valores de producción de semilla

La producción de semillas/fruto de las clementinas, clasificadas como partenocárpicas facultativas, varía entre 3 y 5, excepto en el caso de la ‘Clemenules’ cuyo promedio es de 21 (anexo 2). Los datos que se tienen de polinización manual (Bono *et al.*, 2006) de este genotipo (anexo 4) muestran también valores más altos de producción de

semilla/fruto. Esto podría indicar un menor grado de esterilidad en la 'Clemenules' que en el resto de genotipos del grupo varietal de las clementinas. Resultados obtenidos por Yamamoto *et al.* (1995) en las clementinas muestran una correlación positiva ($r = 0,93$) entre la producción de semilla en polinización abierta y manual, concluyendo que el grado de esterilidad femenina puede ser estimado a partir del número de semillas producidas en polinización abierta.

También se ha comparado la producción de semilla en polinización abierta de los genotipos partenocárpicos facultativos con la de los genotipos no partenocárpicos. La producción estimada en los genotipos de partenocarpia facultativa es menor que la de los genotipos no partenocárpicos (4,44 vs 13,60; $P < 0,05$; anexo 5). Este carácter se puede utilizar para inferir el tipo de partenocarpia de diferentes genotipos teniendo en cuenta la especie a la que pertenecen. Los naranjos dulces producen una media de 4 semillas/fruto, menor a la obtenida para los mandarinos y los mandarinos híbridos que producen una media de 10 y 13 semillas/fruto respectivamente.

4.5. Genotipos con aptitud partenocárpica

En algunos de los genotipos clasificados como no partenocárpicos se ha observado que no todos los frutos obtenidos de la colección protegida producen semilla. El genotipo 'Madame vinous' presenta un 50% de frutos sin semilla, el 'Temprana Soller' un 40% y la 'Canoneta' un 30%. También en algunos genotipos de naranjo amargo se ha observado que entre un 20% y un 30% de los frutos producidos no tienen semillas (datos no disponibles). Estos resultados indican que estos genotipos clasificados como no partenocarpicos poseen aptitud partenocarpica.

Todos los cítricos poseen un cierto grado de esterilidad cuya consecuencia es que el número de semillas producidas es menor que el número de óvulos (Frost, 1948). Para que un genotipo produzca frutos sin semillas, los mecanismos de esterilidad femenina, masculina y/o autoincompatibilidad tienen que darse en grado suficiente para que eviten el desarrollo del embrión. El hecho de que un genotipo produzca tanto frutos con semillas como sin semillas indicaría que posee la aptitud partenocárpica pero que la fertilización se

produce en unas flores mientras que en otras no. Esto podría ser debido al control genético de la esterilidad y/o a efectos ambientales o de otra naturaleza.

Por tanto, es probable que muchos genotipos que poseen un alto grado de fertilidad y son autocompatibles y que, por tanto, producen siempre frutos con semillas (no partenocárpicas) tengan la ‘aptitud partenocárpica’. En estos genotipos, conocer si poseen o no ‘aptitud partenocárpica’ tiene una aplicación de gran utilidad en la elección de parentales para realizar cruzamientos en programas de mejora. En el programa de obtención de triploides del IVIA (Navarro *et al.*, 2005a) se ha observado que en algunas familias hay plantas que florecen y fructifican mientras que otras florecen y no fructifican (J. Cuenca., comunicación personal). La aptitud partenocárpica está regulada por al menos dos genes (Vardi, 2000, 2008). Los híbridos triploides presentan esterilidad femenina, por tanto, los descendientes de un cruzamiento que no hereden la aptitud partenocárpica no serán capaces de formar frutos. Por ello, es probable que en las familias donde se observa segregación para la partenocarpia alguno de los parentales utilizados no posea la aptitud partenocárpica.

Para detectar la aptitud partenocárpica en los genotipos autocompatibles habría que emasculas las flores en los genotipos cultivados en la colección protegida polinizando manualmente una parte de las flores emasculadas. Si los genotipos no tienen aptitud partenocárpica las flores no polinizadas no producirán frutos y las flores polinizadas manualmente darán lugar a frutos con semillas. Si las variedades tienen aptitud partenocárpica y no necesitan el estímulo de la polinización para desarrollar el fruto los genotipos no polinizados manualmente producirán frutos sin semillas.

4.6. Esquema para la clasificación de la partenocarpia en los cítricos

En la figura 4 se muestran los genotipos clasificados según su tipo de partenocarpia. Se incluye en ellas la referencia a los autores que los han clasificado o que han descrito su tipo de esterilidad. Para llegar a la clasificación de los genotipos en función de su tipo de esterilidad, el proceso discusivo comienza por discernir si existe esterilidad y de qué tipo o si se produce el aborto embrionario, y continua estableciendo el tipo de esterilidad de que

se trata en cada caso. Si un genotipo presenta esterilidad femenina, se clasifica directamente como partenocárpico obligado y producirá siempre frutos sin semillas. Sin embargo, si presenta esterilidad masculina o autoincompatibilidad, se clasifica como partenocárpico facultativo, y la producción o no de semillas dependerá de la presencia o no de polinización cruzada. En el caso en que un genotipo no tenga aptitud partenocárpica, las posibilidades son solamente que produzca frutos con semilla o que no produzca frutos.

Para la elaboración del esquema se ha utilizado SI o NO; sin embargo, hay que tener en cuenta que estos términos no representan valores absolutos debido a que ni la aptitud partenocárpica ni los diferentes mecanismos de esterilidad tienen efectos absolutos.

Los resultados obtenidos en este trabajo clasifican los genotipos en función del mecanismo de esterilidad que evita la formación de semillas. Pero además de esta clasificación, los genotipos partenocárpicos (obligados y facultativos) se clasifican también en función de la necesidad o no del estímulo de la polinización para que los frutos se desarrollen sin semillas. Los grupos varietales navel y satsumas no necesitan el estímulo de la polinización para que el fruto se desarrolle, por lo que se clasifican como de partenocarpia autónoma. Sin embargo, las clementinas necesitan el estímulo de la polinización para que se desarrolle el fruto, por lo que se clasifican como partenocárpicas facultativas (Vardi, 1988, 2000). Los genotipos de clementina evaluados en este trabajo han producido fruto en la colección protegida, por lo que el estímulo de la autopolinización es suficiente para que se desarrolle el fruto.

5. Conclusiones

El 68% de los genotipos estudiados de naranjo dulce son partenocárpicos obligados, el 4% son partenocárpicos facultativos y el 28% no son partenocárpicos.

El 39% de los genotipos estudiados de mandarino son partenocárpicos obligados, el 23% son partenocárpicos facultativos y el 21% son no partenocárpicos.

Todos los genotipos estudiados de limonero y de naranjo amargo son no partenocárpicos, sin embargo, algunos de estos poseen aptitud partenocárpica.

6. Bibliografía

ALEZA, P., CUENCA, J., JUÁREZ, J., PINA, J.A., NAVARRO, L. 2009. Mandarinos ‘Garbí’ y ‘Safor’, dos nuevos híbridos triploides obtenidos en el IVIA. *Levante Agrícola* 395: 85-87.

ASINS, M.J., JUAREZ, J., PINA, J.A., PUCHADES, J., CARBONELL, E.A., NAVARRO, L. 2002. Una nueva clementina de baja fertilidad llamada ‘Nulessín’. *Vida Rural* 157: 50-52.

BARKLEY, N.A., ROOSE, M.L., KRUEGER, R.R., FEDERICI, C.T. 2006. Assessing genetic diversity and population structure in a *Citrus* germplasm collection utilizing simple sequence repeat markers (SSRs). *Theoretical and Applied Genetics* 112: 1519-1531.

BARRET, H.C., RHODES, A.M. 1976. A numerical taxonomic study of the affinity relationships in cultivated *Citrus* and its close relatives. *Systematic Botany* 1: 105-136.

BAYER, R.J., MABBERLET, D.J., MORTON, C., MILLER, C.H., SHARMA, I.K., PFEIL, B.E., RICH, S., HITCHCOCK, R., SYKES, S. 2009. A molecular phylogeny of the orange subfamily (*Rutaceae: Aurantioideae*) using nine cpDNA sequences. *American Journal of Botany* 96(3): 668-685.

BICKNELL, R.A., KOLTUNOW, A.M. 2004. Understanding apomixis: Recent advances and remaining conundrums. *Plant Cell* 16: 228-245.

BONO, R., SOLER, J., VILLALBA, D., SALVIA, J., BELLVER, R., MARES, M., MÉNDEZ, J.V., GAVILÁ, L. 2006. Cuadro de Polinizaciones. El problema de la presencia de semillas en los frutos cítricos. *Ficha Técnica. Serie Citricultura: 5*. Conselleria d’Agricultura Pesca i Alimentació, Generalitat Valenciana.

CAMERON, J.W., SOOST, R.K., FROST, H.B. 1965. ‘Encore’ and ‘Pixie’, two new mandarin hybrids with unusually late seasons of use. *California Agricultural Experiment Station* 814: 8.

CIRAD. 2009. Datos del Banco de Germoplasma de Cítricos de Córcega. http://publications.cirad.fr/une_notice.php?dk=465275.

CORAZZA-NUNES, M.J., MACHADO, M.A., NUNES, W.M.C., CRISTOFANI, M., TRAGÓN, M. 2002. Assessment of genetic variability in grapefruits (*Citrus paradisi* Macf.) and pummelos (*C. maxima* (Burm.) Merr.) using RAPD and SSR markers. *Euphytica* 126(2): 169-176.

DAVIES, F.S., ABRIGO, L.G. 1994. *Citrus*. CABI Head Office, Wallingford, UK. 254 pp.

DENG, Z.N., GENTILE, A., NICOLOSI, E., CONTINELLA, G., TRIBULATO, E. 1996. Parentage determination of some citrus hybrids by molecular markers. *Proceedings of the 8th International Society of Citriculture* 2: 849-854.

DISTEFANO, G., CARUSO, M., LA MALFA, S., GENTILE, A., TRIBULATO, E. 2009. Histological and molecular analysis of pollen-pistil interaction in 'Clementine'. *Plant Cell Reports* 28: 1439-1451.

DOGV. Decreto 29/2002, de 26 de Febrero. Diario Oficial de la Generalitat Valenciana, 4 de Marzo de 2002: Medidas para limitar la polinización cruzada entre plantaciones de cítricos. Conselleria d'Agricultura Pesca i Alimentació, Generalitat Valenciana

DURÁN-VILA, N., ORTEGA, C., OLIVARES-FUSTER, O., NAVARRO, L. 2005. Crioconservación de germoplasma de cítricos. *Phytoma España* 170: 80-83.

FANG, D.Q., KRUEGER, R.R., ROOSE, M.L. 1998. Phylogenetic relationships among selected *Citrus* germplasm accessions revealed by inter-simple sequence repeat (ISRR) markers. *Journal of the American Society of Horticulture Science* 123: 612-617.

FANG, D.Q., ROOSE, M.L. 1997. Identification of closely related *Citrus* cultivars with inter-simple sequence repeats markers. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 408-417.

FANG, D.Q., ZANG, W.C., XIAO, S.Y. 1993. Studies on taxonomy and evolution of *Citrus* and its related genera by isozyme analysis. *Acta Phytotaxon Sinica* 31: 329-352 (En chino con resumen en inglés).

FAO. 2009a. FAOSTAT. Datos de producción de cultivos del año 2007. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>

FAO. 2009b. Tratado internacional sobre los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. <ftp://ftp.fao.org/ag/cgrfa/it/ITPGRs.pdf>

FEDERICI, C.T., FANG, D.Q., SCORA, R.W., ROOSE, M.L. 1998. Phylogenetic relationships within the genus *Citrus* (*Rutaceae*) and related genera as revealed by RFLP and RAPD analysis. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 812-822.

FOS, M., NUEZ, F., GARCIA-MARTINEZ, J.L. 2000. The gene pat-2, which induces natural parthenocarpy, alters the gibberellin content in unpollinated tomato ovaries. *Plant Physiology* 122: 471-480.

FOS, M., PROANO, K., NUEZ, F., GARCIA-MARTINEZ, J.L. 2001. Role of gibberellins in parthenocarpic fruit development induced by the genetic system pat-3/pat-4 in tomato. *Plant Physiology* 111: 545-550.

FREE, J.B. 1993. *Insect pollination of crops*. Academic Press, London, UK. 768 pp.

FRONEMAN, I.J., BREEDT, H.J., KOEKEMOER, P.J.J., VAN RENSBURG, P.J.J. 1996. Producing seedless *Citrus* cultivars with gamma irradiation. *Proceedings of the 8th International Citrus Congress* 1: 159-163.

FROST, H.B., SOOST, R.K. 1968. Seed production: Development of gametes and embryos. En REUTHER, W., BATCHELOR, L.D., WEBBER, H.J. (editores). *The Citrus Industry*. Volume 2. University of California, Berkeley, USA. 290-324 pp.

GARCIA-PAPI, M.A., GARCIA-MARTINEZ, J.L. 1984. Endogenous plant growth substances content in young fruits of seeded 'Clementine' mandarin as related to fruit set and development. *HortScience* 22: 265-274.

GUERRA, M., BEZERRA, K.G., BARROS, A.E., EHRENDORFER, F. 2000. Heterochromatin banding patterns in *Rutaceae-Aurantioideae*: A case of parallel chromosomal evolution. *American Journal of Botany* 87(5): 735-747.

GRIMANELLI, D., LEBLANC, O., PEROTTI, E., GROSSNIKLAUS, U. 2001. Developmental genetics of gametophytic apomixis. *Trends in Genetics* 17: 597-604.

HERRERO, R., ASINS, M.J., CARBONESS, E.A., NAVARRO, L. 1996. Genetic diversity in the orange subfamily *Aurantioideae* I. Intraespecies and intragenus genetic variability. *Theoretical and Applied Genetics* 92: 599-609.

HODGSON, R.W. 1967. Horticultural varieties of *Citrus*. En REUTHER, W., BATCHELOR, L.D., WEBBER, H.J. (editores). *The Citrus Industry*. Volume 1. University of California, Berkeley, USA. 431-591 pp.

INTERCITRUS. 2009. Datos de producción del sector agrario del año 2008. <http://www.intercitrus.org/ndsite.php?section=sectorCitricolaDatosDelSector>.

IWAMASA, M. 1966. Studies on the sterility in the genus *Citrus* with special reference to the seedlessness. *Bulletin of the Horticulture Research Station* 6: 1-81.

IWAMASA, M., IWASAKI, T. 1962. On the sterility phenomenon caused by low temperatures in the Mexican lime (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Bulletin of the Horticulture Research Station* 2: 25-46.

JACOBSEN, S.E., OLSZEWSKI, N.E. 1993. Mutations at the SPINDLY locus of *Arabidopsis* alter gibberellin signal transduction. *Plant Cell* 5: 887-896.

JENA, S.N., KUMAR, S., NAIR, N.K. 2009. Molecular phylogeny in *Indian Citrus* L. (*Rutaceae*) inferred through PCR-RFLP and trnL-trnF sequence data of chloroplast DNA. *Scientia Horticulturae* 119: 403-416.

JOHNSON, M.T. 2001. La producción de zumo de cítricos y la aplicación de tecnología al mercado de productos frescos. *Actas del Simposio sobre Cítricos China/FAO*: 79-86.

KEPIRO, J.L., ROOSE, M.L. 2007. Nucellar embryony. En KHAN, I.A. (editor). *Citrus Genetics, Breeding, and Biotechnology*. CABI Head Office, Wallingford, UK. 141-150 pp.

KIJAS, J.M.H., FOWLER, J.C.S., THOMAS, M.R. 1995. An evaluation of sequence tagged microsatellite site markers for genetic analysis within *Citrus* and related species. *Genome* 38: 349-355.

KOBAYASHI, S., IEDA, I., NAKATANI, M. 1981. Role of the primordium cell in nucellar embryogenesis in *Citrus*. *Proceedings of 4th International Citrus Congress* 1: 44-48.

- KREZDORN, A.H. 1973. Background material for a study of rootstocks. *Proceedings of the 1st International Citrus Short Course* 1: 168-176.
- KRUEGER, R.R., NAVARRO, L. 2007. *Citrus* germplasm resources and their use. En KHAN, I.A. (editor). *Citrus Genetics, Breeding, and Biotechnology*. CABI Head Office, Wallingford, UK. 45-140 pp.
- KRUG, C.A. 1943. Chromosomes numbers in the subfamily *Aurantioideae* with special reference to the genus *Citrus*. *Botanical Gazette* 48: 602-611.
- LI, W.B. 1992. Origin and development of the mandarins in China before the Song Dynasty (960-1297 a C). *Proceedings of the 7th International Citrus Congress* 1: 61-66.
- LIU, Y.Z., DENG, X.X. 2007. *Citrus* breeding and genetics in China. *Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology* 1: 23-28.
- LUPO, A., BROSH, P. 1991. Pollination in 'Murcot' cultivar of *Citrus* (*Rutaceae*), the influence on seed number and productivity. *Acta Horticulturae* 288: 275-277.
- LURO, F., LAIGRET, F., BOVÉ, J.M. 1992. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to *Citrus* genetics and taxonomy. *Proceedings of the 7th International Citrus Congress* 1: 225-228.
- LURO, F., RIST, D., OLLITRAULT, P. 2001. Evaluation of genetic relationships in *Citrus* genus by means of sequence tagged microsatellites. *Acta Horticulturae* 546: 537-542.
- MABBERLEY, D.J. 1998. Australian *Citreae* with notes on other *Aurantioideae* (*Rutaceae*). *Telopea* 7(4): 333-344.
- MACHADO, M.A., COLETTA, H.D., TRAGÓN, M.L.P.N., POMPEU J.J. 1996. Genetic relationship of Mediterranean mandarins (*Citrus deliciosa* Tenore) using RAPD markers. *Euphytica* 92: 321-326.
- MARM. 2009. Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos. <http://www.mapa.es/estadistica/pags/encuestacultivos/2009/ESPANAYCCAA.pdf>

MCGREGOR, S.E. 1976. *Insect pollination of cultivated crop plants*. Handbook Number 496. United States Department of Agriculture, Washington, USA. 411 pp.

MESEJO, C., MARTINEZ-FUENTES, A., REIG, C., AGUSTÍ, M. 2008. Gibberellic acid impairs fertilization in 'Clementine' mandarin under cross-pollination conditions. *Plant Science* 175(3): 267-271.

MORTON, C.M., GRANT, M., BLACKMORE, S. 2003. Phylogenetic relationships of the *Aurantioideae* inferred from chloroplast DNA sequence data. *American Journal of Botany* 90(10): 1463-1469.

NAKAMURA, M. 1943. Cytological and ecological studies on the genus *Citrus* with special referent to the occurrence of sterile pollen grain. *Memorial of the Faculty of Science and Agriculture* 27: 53-159.

NAVARRO, L. 1976. The *Citrus* variety improvement program in Spain. *Proceedings of the 7th Conference International Organization of Citrus Virologist* 1: 198-203.

NAVARRO, L. 2005. Necesidades y problemática de la mejora sanitaria y genética de los cítricos en España. *Phytoma España* 170: 2-5.

NAVARRO, L., ALEZA, P., JUÁREZ, J. 2006. Mejora de la calidad de los cítricos. En LLACER, G., DIEZ, M.J., CARRILLO, J.M., BADENES, M.L. (editores). *Mejora Genética de la Calidad de las Plantas*. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España. 581-596 pp.

NAVARRO, L., JUÁREZ, J., ALEZA, P., PINA, J.A., OLIVARES-FUSTER, O., CUENCA, J., JULVE, J.M. 2005a. Programa de obtención de híbridos triploides de mandarino en España. *Phytoma España* 170: 36-41.

NAVARRO, L., PINA, J.A., JUÁREZ, J., ARREGUI, J.M., ORTEGA, C., NAVARRO, A., BALLESTER-OLMOS, J.F., VIVES, M.C., MONTALT, R., DURÁN-VILA, N., GUERRI, J., MORENO, P., CAMBRA, M., MEDINA, A., ZARAGOZA, S. 2005b. El programa de mejora sanitaria de variedades de cítricos en España: 30 años de historia. *Phytoma España* 170: 14-23.

- NAVARRO, L., ROISTACHER, C.N., MURASHIGE, T. 1975. Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus-free *Citrus*. *Journal of American Society and Horticultural Science* 100: 471-479.
- NESUMI, H., NAKANO, M., YOSHIDA, T. 2001. Mode of inheritance on the abnormal development of impregnated ovules derived from 'Mukaku-kishu'. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 70: 403.
- NICOLOSI, E. 2007. Origin and taxonomy. En KHAN, I.A. (editor). *Citrus Genetics, Breeding, and Biotechnology*. CABI Head Office, Wallingford, UK. 19-43 pp.
- NICOLOSI, E., DENG, Z.N., GENTILE, A., MALFA, S.L., CONTINELLA, G., TRIBULATO, E. 2000. *Citrus* phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 1155-1166.
- NISHIURA, M., IWASAKI, T. 1963. Studies on the *Citrus* breeding I. Variation of seed formations in *Citrus* crossing. *Bulletin of the Horticulture Research Station* 2: 1-13 (En japonés con resumen en inglés).
- OLLITRAULT, P., DAMBIER, D., LURO, F., FROELICHER, Y. 2008. Ploidy manipulation for breeding seedless triploid *Citrus*. *Plant Breeding Reviews* 20: 323-354.
- OLLITRAULT, P., DAMBIER, D., MADEMBA-SY, F., VANEL, F., LURO, F., AUBERT, B. 1998. Biotechnology for triploid mandarin breeding. *Fruits* 53: 307-317.
- OLLITRAULT, P., FAURÉ, X. 1992. Système de reproduction et organisation de la diversité génétique dans le genre *Citrus*. *Actes du Complexe d'Espèces, Flux de Gènes et Ressources Génétiques des Plantes* 1: 133-151.
- OLLITRAULT, P., LURO, F., YAMAMOTO, M. 2007. Seedlessness and ploidy manipulations. En KHAN, I.A. (editor). *Citrus Genetics, Breeding, and Biotechnology*. CABI Head Office, Wallingford, UK. 197-233 pp.
- OMURA, M., UEDA, T., KITA, M., KOMATSU, A., TAKANOKURA, Y., SHIMADA, T., ENDO-INAGAKI, T., NESUMI, H., YOSHIDA, T. 2000. EST mapping in *Citrus*. *Proceedings of the 9th International Citrus Congress* 1: 71-74.

- OSAWA, I. 1912. Cytological and experimental studies in *Citrus*. *Journal of the College of Agriculture* 4: 83-116.
- PHILOUZE, J., MAISONNEUVE, B. 1978. Heredity of the natural ability to set parthenocarpic fruits in the Soviet variety 'Severianin'. *Tomato Genetics Cooperative* 28: 12-13.
- PUCHADES, J. 2002. *Influencia de la polinización en las características del fruto de C.V. 'Fortune'*. Trabajo Final de Carrera. Universidad Politécnica de Valencia.
- RAGHAVAN, V. 2003. Some reflections on double fertilization, from its discovery to the present. *New Phytologist* 159: 565-583.
- RAGHUVANSHI, S.S. 1962. Cytogenetical studies in genus *Citrus* IV: Evolution in genus *Citrus*. *Cytologia* 27: 172-188.
- RAZA, H., KHAN, M.M., KHAN, A.A. 2003. Seedlessness in *Citrus*. *International Journal of Agriculture and Biology* 3: 388-391.
- REBERS, M., KANETA, T., KAWAIDE, H., YAMAGUCHI, S., YANG, Y.Y., IMAI, R., SEKIMOTO, H., KAMIYA, Y. 1999. Regulation of gibberellin biosynthesis genes during flower and early fruit development of tomato. *Plant Journal* 17: 241-250.
- ROBINSON, R., CANTLIFFE, D., SHANNON, S. 1971. Morphactin-induced parthenocarpy in *Cucumber*. *Science* 171: 1251-1252.
- SAMUEL, R., EHRENDORFER, F., CHASE, M.W., GREGER, H. 2001. Phylogenetic analyses of *Aurantioideae* (*Rutaceae*) based on non-coding plastid DNA sequences and phytochemical features. *Plant Biology* 3: 77-87.
- SAVIDAN, Y. 2000. Apomixis: Genetics and breeding. *Plant Breeding Reviews* 18: 13-85.
- SCORA, R.W. 1975. On the history and origin of *Citrus*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 102: 369-375.
- SCORA, R.W. 1988. Biochemistry, taxonomy and evolution of modern cultivated *Citrus*. *Proceedings of the 6th International Society of Citriculture* 1: 277-289.

- SCORA, R.W., KUMAMOTO, F., SOOS, R.K., NAUER, E.M. 1982. Contribution to the origin of the grapefruit, *Citrus paradise* (Rutaceae). *Systematic Botany* 7: 170-177.
- SOOST, R.K. 1965. Incompatibility allele in the genus *Citrus*. *American Society for Horticultural Science* 87: 176-180.
- SOOST, R.K. 1969. The incompatibility gene system in *Citrus*. *Proceedings of the 1st International Citrus Symposium* 1: 189-190.
- SUTARTO, I., AGISIMANTO, D., SUPRIYANTO, A. 2009. Development of promising seedles *Citrus* mutants through gamma irradiation. En SHU, Q.Y. (editor). *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. 306-308 pp.
- SWINGLE, W.T., REECE, P.C. 1967. The botany of *Citrus* and its wild relatives. En REUTHER, W., BATCHELOR, L.D., WEBBER, H.J. (editores). *The Citrus Industry*. Volume 1. University of California, Berkeley, USA. 190-430 pp.
- SYKES, S.R. 2008. The effect on *Citrus* fruit of excluding pollinating insects at flowering and implications for breeding new seedles cultivars. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 83(6): 713-718.
- TALON, M., ZACARIAS, L., PRIMO-MILLO, E. 1992. Gibberellins and parthenocarpic ability in developing ovaries of seedless mandarins. *Plant Physiology* 99: 1575-1581.
- TALON, M., GMITTER, F.G.JR. 2008. *Citrus* genomics. *International Journal of Plant Genomics*: 528361. doi: 10.1155/2008/528361.
- TANAKA, T. 1977. Fundamental discussion of *Citrus* classification. *Studia Citrologica* 14: 1-6.
- TORRES, A.M., SOOST, R.K., DIEDENHOFEN, U. 1978. Leaf isozymes as genetic markers in *Citrus*. *American Journal of Botany* 65: 869-881.
- VARDI, A., ELHANATI, A., FRYDMAN-SHANI, A., NEUMANN, H. 1996. Strategies and considerations in mandarin improvement programmes. *Proceedings of the 8th International Citrus Congress* 1: 109-112.

VARDI, A., LEVIN, I., CARMI, N. 2008. Induction of seedlessness in *Citrus*: From classical techniques to emerging biotechnological approaches. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133(1): 117-126.

VARDI, A., NEUMANN, H., FRYDMAN-SHANI, A., YANIV, Y., SPIEGEL-ROY, P. 2000. Tentative model on the inheritance of juvenility, self-incompatibility and parthenocarpy. *Acta Horticulturae* 535: 199-205.

VARDI, A., SPIEGEL-ROY, P. 1988. A new approach to selection for seedlessness. *Proceedings of the 6th International Citrus Congress* 1: 131-134.

VITHANAGE, V. 1991. Effect of different pollen parents on seediness and quality of 'Ellendale' tangor. *Scientia Horticulturae* 48: 253-260.

WEBBER, H.J., REUTHER, W., LAWTON, W. 1967. History and development of the *Citrus* industry. En REUTHER, W., BATCHELOR, L.D., WEBBER, H.J. (editores). *The Citrus Industry*. Volume 1. University of California, Berkeley, USA. 1-39 pp.

WONG, C.Y. 1939. The influence of pollination on seed development in certain varieties of *Citrus*. *American Society for Horticultural Science* 37: 161-164.

YAMAMOTO, M., MATSUMOTO, R., OKUDAI, N., YAMADA, Y. 1997. Aborted anthers of *Citrus* result from gene-cytoplasmic male sterility. *Scientia Horticulturae* 70: 9-14.

YAMAMOTO, M., MATSUMOTO, R., YAMADA, Y. 1995. Relationship between sterility and seedlessness in *Citrus*. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* 64: 23-29.

ZARAGOZA, S. 2007. *Aproximación a la historia de los cítricos: Origen, dispersión y evolución de su uso y cultivo*. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

ZHANG, W.C. 1981. Thirty years achievements in *Citrus* varietal improvement in China. *International Society of Citriculture* 1: 51-55.

7. Anexos

Anexo 1. Genotipos del Banco de Germoplasma que no contienen semillas ni en la colección de campo ni en la colección protegida.

Clon	Variedad	Grupo	Nombre botánico	N ^o _c	N ^o _p
93	Marisol	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	0	0
17	Valles	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
19	Clausellina	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
53	Planellina	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
175	Owari Frost	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
195	Okitsu	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
224	Precoz Realon	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
225	Precoz Usa	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
226	Precoz	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
246	Konishi	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
247	Kanazawa	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
256	Tardia Picaña	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
264	Sadora	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
325	Miyamoto	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
326	Chahara	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
327	Ohura	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
328	Hashimoto	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
406	Ueno	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
407	Iwasaki	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
408	AVASA Pri -19	Mandarino	<i>C. unshiu</i> (Mak.) Marc.	0	0
210	Pixie	Mandarino híbrido	<i>C. nobilis</i> x <i>C. tangerina</i>	0	0
405	Kiyomi	Mandarino híbrido	<i>C. unshiu</i> x <i>C. sinensis</i>	0	0
31	Salustiana Burjasot	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
307	V. Late Masquefa	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
331	Bernalina	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
356	Barberina	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
368	Valencia Midnight	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
2	Navelate P-2	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
5	Navelate Girona	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
6	W. Navel Precoz	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
7	Navelina Ricart	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
45	W. Navel Foyos	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
55	Newhall	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
72	Navelate A.M.	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
123	Parent Navel	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
133	Navel Tardia Pego	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
157	Navelate Piquer	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
160	Navelate Burriana	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
174	Navel Workman	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
198	Lane Late	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
199	Fisher	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0

Clon	Variedad	Grupo	Nombre botánico	N ^o _c	N ^o _p
201	Apopka	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
211	Navel Cram	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
216	Navel Leng	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
222	W. Navel Frost	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
229	Navel Adrian	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
231	Ricalate	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
252	Navel Tarazona	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
266	Pinalate	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
269	Navel Sweet	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
272	Godayla	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
293	Navelina ENL-1	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
300	Caracara	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
324	Navel Morita	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
329	Navel Primavera Gil	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
351	Navel Barnfield	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
352	Navel Powell	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
357	N.Rohde Summer	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
426	R. Late Rustenburg	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
427	Guilleberg	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0
454	Navel Chislett	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	0	0

N^o_c: promedio del número de semillas en la colección de campo; N^o_p: promedio del número de semillas en la colección protegida; (B): Blanca; (N): Navel.

Anexo 2. Genotipos del Banco de Germoplasma que contienen semillas en la colección de campo pero no contienen semillas en la colección protegida.

Clon	Variedad	Grupo	Nombre botánico	N ^o _c	N ^o _p
16	Tomatera	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	3	0
22	Clemenules	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	21	0
39	Fina LA-1-158	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	3	0
52	Esbal	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	4	0
63	Guillermina F.	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	3	0
75	Clemencarte	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	4	0
223	Fina SRA-63	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	3	0
253	Bienvenida	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	3	0
350	Nour	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	5	0
189	Avana Apireno	Mandarino	<i>C. deliciosa</i> Ten.	10	0
74	Nova	Mandarino híbrido	<i>C. clementina</i> x (<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>)	3	0
84	Minneola	Mandarino híbrido	<i>C. paradisi</i> x <i>C. tangerina</i>	7	0
413	Simeto	Mandarino híbrido	<i>C. unshiu</i> x <i>C. deliciosa</i>	3	0
64	Castellana	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	3	0
360	Dahong	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	3	0

N^o_c: promedio del número de semillas en la colección de campo; N^o_p: promedio del número de semillas en la colección protegida; (B): Blanca.

Anexo 3. Genotipos del Banco de Germoplasma que contienen semillas en ambas colecciones.

Clon	Variedad	Grupo	Nombre botánico	N ^o _c	N ^o _p
49	Fino 74-L-08	Limonero	<i>C. limon</i> (L.) Burm f.	8	6
51	Verna 74-L-01	Limonero	<i>C. limon</i> (L.) Burm f.	ND	7
219	Lisbon Frost	Limonero	<i>C. limon</i> (L.) Burm f.	ND	8
220	Santa Teresa	Limonero	<i>C. limon</i> (L.) Burm f.	5	4
81	Temple	Mandarino	<i>C. temple</i> Hort. ex Y. Tan.	20	7
434	Dancy	Mandarino	<i>C. tangerina</i> Hort. ex Tan.	9	5
237	Tachibana	Mandarino	<i>C. tachibana</i> (Mak.) Tan.	8	7
239	Sunki	Mandarino	<i>C. sunki</i> Hort. ex Tan.	17	7
241	Shunkokan	Mandarino	<i>C. shunkokan</i> Hort. ex Tan.	24	9
390	Anana	Mandarino	<i>C. reticulata</i> Blanco	5	19
394	Emperor	Mandarino	<i>C. reticulata</i> Blanco	ND	6
411	Scarlet	Mandarino	<i>C. reticulata</i> Blanco	17	17
385	Cleopatra	Mandarino	<i>C. reshni</i> Hort. ex Tan.	22	19
193	Campeona	Mandarino	<i>C. nobilis</i> Lour.	9	5
477	King	Mandarino	<i>C. nobilis</i> Lour.	ND	8
154	M.Común	Mandarino	<i>C. deliciosa</i> Ten.	15	15
359	Daoxianensis	Mandarino	<i>C. daoxianensis</i> S.W.He et G.F.Liu	8	8
66	Soyma	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	16	5
459	Monreal	Mandarino	<i>C. clementina</i> Hort. ex Tan.	ND	12
100	Umatilla	Mandarino híbrido	<i>C. unshiu</i> x <i>C. sinensis</i>	ND	4
33	Kinnow	Mandarino híbrido	<i>C. nobilis</i> x <i>C. deliciosa</i>	22	7
155	Encore	Mandarino híbrido	<i>C. nobilis</i> x <i>C. deliciosa</i>	21	5
355	Clemelin	Mandarino híbrido	<i>C. clementina</i> x <i>C. sinensis</i>	ND	5
188	Palazzelli	Mandarino híbrido	<i>C. clementina</i> x <i>C. nobilis</i>	17	9
362	Daisy	Mandarino híbrido	(<i>C. clementina</i> x <i>C. tangerina</i>) x (<i>C. clementina</i> x <i>C. reticulata</i>)	20	3
108	Cajel A-2	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	15	9
111	Caliz Acrescente A-5	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	13	8
113	Calabacita	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	26	7
117	Sevillano A-11	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	27	5
128	Afin Verna N° 1	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	11	6
129	Afin Verna N° 2	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	24	2
130	Afin Verna N° 3	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	11	3
139	Bouquet De Fleurs	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	3	4
141	Clementina	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	23	15
183	Guo-Kuo-Cheng	Naranja Amargo	<i>C. aurantium</i> L.	30	16
11	Pineapple	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	11	8
15	Pajarita	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	6	14
29	Parson Brown	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	10	5
42	Cadena Punchosa	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	9	6
89	Temprana Soller	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	9	2
91	Canoneta	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	3	1
92	Fulla Menuda	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	15	14
97	Vera	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	6	5
102	Macetera	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	4	4
103	Torregrosa	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	12	11

Clon	Variedad	Grupo	Nombre botánico	N^o_c	N^o_p
166	Madame Vinous	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	8	2
270	Shamouti	Naranja Dulce (B)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	ND	10
467	Navel con semillas	Naranja Dulce (N)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	ND	6
36	Entrefina	Naranja Dulce (P)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	9	8
37	Doblefina	Naranja Dulce (P)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	4	3
54	Murtera	Naranja Dulce (P)	<i>C. sinensis</i> (L.) Osb.	5	4

N^o_c: promedio del número de semillas en la colección de campo; **N^o_p**: promedio del número de semillas en la colección protegida; **ND**: datos no disponibles; **(B)**: Blanca; **(N)**: Navel; **(P)**: Pigmentada.

Anexo 4. Datos de producción de semilla de genotipos de clementina en polinización manual (Bono et al., 2006).

		Parentales masculinos									
		Limón					Limón				
		Ellendale	Fortune	Fino	Verna	Moncada	Nadorcot	Nova	Ortanique	Salustiana	Valencia
Parentales femeninos	Marisol	2	8	5	4	8	9	6	0	0	2
	Clemenules	11	24	19	3	30	34	11	2	5	10
	Esbal	0	11	7	4	9	11	10	-	-	4
	Arrufatina	6	4	8	5	12	9	15	4		2
	Beatriz	6	20	12	9	27	19	18	1	4	-
	Loretina	-	15	7	2	21	17	17	4	5	20
	Oronules	6	13	2	4	14	10	6	8	-	5

Anexo 5. Modelo estadístico para la comparación de la producción de semillas.

$$y_{ijl} = m + P_i + G_j + e_{ijl}$$

siendo:

y_{ijl} = número de semillas/fruto

m = media de la población

P_i = efecto fijo del tipo de partenocarpia (2 niveles: partenocarpia facultativa y no partenocarpia)

G_j = efecto fijo del grupo (3 niveles: naranjo dulce, mandarinos y mandarinos híbridos)

e = error residual