

ARREGLO DE LOS EMBRIONES EN SEMILLAS POLIEMBRIÓNICAS DE MANDARINO ORTANIQUE

Óscar Esaú Quezada-Flores, Ángel Villegas-Monter, Serafín Cruz-Izquierdo y Guillermo Calderón-Zavala

RESUMEN

Se realizó un estudio morfológico de embriones basado en la posición que ocupan en las semillas de mandarino Ortanique (*Citrus reticulata* × *C. sinensis* L.), con el objetivo de describir los morfotipos existentes. El material vegetal fue obtenido de una huerta en producción en marzo de 2021, ubicada en el municipio de Cazon de Herrera, Veracruz, México, con coordenadas 20°41'52,7"N y 97°19'14,1"O. Se analizaron 120 semillas, obtenidas de cinco frutos de ocho plantas. Se extrajeron las semillas de cada fruto para el análisis; primero se observaron con el tegumento externo, después con el tegumento interno, y

con los embriones descubiertos. Posteriormente, se separaron individualmente; dicho proceso fue capturado mediante un microscopio estereoscópico digital para su posterior análisis, contrastando los distintos morfotipos. Se encontraron seis morfotipos de embriones en las semillas, que se denominaron: Dos Grupos (10%), Embriones Base (30%), Entrelazados (13,33%), Sencillo (10%), Micropildistante (3,33%) y Entrelazados-Base (33,33 %). Los embriones en las semillas presentan diferentes tendencias en morfotipo, posición y tamaño. Es posible que las diferencias se deban a los cuatro tipos de apomixis existentes.

Introducción

La apomixis o reproducción asexual mediante semillas cuenta con potencial en la agricultura ya que ayuda a fijar la heterocigosidad y vigor híbrido (Sailer *et al.*, 2016). En cítricos, la apomixis es común y causa poliembrionía (Koltunow *et al.*, 1996), que es la formación de más de un embrión por óvulo (embrión sinérgico y antipodal, poliembrionía de separación, embrión adventicio) (Carman, 1997). Los embriones apomícticos se originan de la nucela, la capa que rodea al saco embrionario. En cítricos, los embriones apomícticos son del tipo esporofítico nucelar, porque implican el desarrollo de embriones extra-numerales a partir de células

de la nucela del óvulo, sin que lleguen a formar un saco embrionario adicional. Dado el origen del tejido de la planta madre, los embriones nucelares pueden ser idénticos a la planta que le dio origen y se consideran esenciales para la propagación de plantas con prueba negativa a patógenos, por lo que ayudan a perpetuar variedades de interés y sirven como método de selección clonal en la producción de plantas de calidad (Xiang y Roose, 1988).

A pesar de este aspecto benéfico, la poliembrionía tiene limitaciones, entre las que destacan la competencia fisiológica que limita la viabilidad de los embriones. Se ha observado que, a medida que aumenta la cantidad de embriones en la semilla, disminuye la masa

media, se reduce su vigor y también el de las plántulas que generan; además, aumentan las anomalías morfológicas de los embriones. Sin embargo, se presenta una mayor supervivencia de la semilla como conjunto (Mendes-Rodríguez, *et al.*, 2012).

A nivel de mejoramiento genético, la poliembrionía puede ser considerada un problema, debido a que la cantidad de embriones apomícticos, fundamentales para la propagación clonal de genotipos conocidos, obstruye la identificación de los embriones híbridos, esenciales para continuar los programas de hibridación (Trapero, *et al.*, 2014).

Se ha reportado que la cantidad de embriones desarrollados a partir de la nucela define el

tamaño del embrión. En la naturaleza, la expresión de los distintos morfotipos tiene componentes genéticos y ambientales cuya interacción induce su aparición en diferentes frecuencias (Uma Shaanker, 1997), y se asume que podría ser un carácter distintivo de la forma de la semilla, aunque esto necesita ser definido. Los informes indican que la mayoría de los embriones cigóticos y nucelares se ubican en la región micropilar del óvulo, pero también pueden localizarse en las partes laterales y cercanas a la chalaza (Batygina y Vinogradova, 2007).

La poliembrionía también se ha caracterizado en cuanto al peso y tamaño de los embriones. Uma Shaanker (1997) argumenta que el tamaño da

PALABRAS CLAVE / Apomixis / Aposporia / Embriogénesis Adventicia /

Recibido: 10/07/2024. Modificado: 11/09/2024. Aceptado: 15/10/2024.

Óscar Esaú Quezada-Flores. Maestro en Ciencias en Fruticultura, Ing. Agrónomo, Autónoma Chapingo, México. Maestría en Fruticultura, Colegio de Postgraduados, México. Doctorando en Genética, Colegio de Postgraduados, México. e-mail: quezada.oscar@colpos.mx.

Ángel Villegas Monter (Autor de correspondencia). Doctor en Ciencias por la Universidad de Córdoba, España, Miembro de la Academia Mexicana de las Ciencias. Investigador Nacional Nivel II del CONAHACYT, México.

Serafín Cruz Izquierdo. Doctor en Mejora e Ingeniería Vegetal,

Universidad de Córdoba, España. Maestría en Ciencias en Genética, Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética, Colegio de Postgraduados, México. Ingeniero Agrónomo Fitotecnista, Universidad Autónoma Chapingo, México. Profesor Investigador, Colegio de Postgraduados, México. Miembro

del Sistema Nacional de Investigadoras e Investigadores. **Guillermo Calderón Zavala.** Ingeniero Agrónomo, Ph.D. en Fisiología de Frutales, Cornell University. Profesor Investigador Titular, Colegio de Postgraduados, México. Investigador Nacional Nivel II del CONAHACYT de México.

ARRANGEMENT OF EMBRYOS IN POLYEMBRYONIC SEEDS OF ORTANIQUE MANDARIN

Óscar Esaú Quezada-Flores, Ángel Villegas-Monter, Serafín Cruz-Izquierdo and Guillermo Calderón-Zavala

SUMMARY

A morphological study of embryos was conducted based on their position in the seeds of Ortanique mandarin (*Citrus reticulata* × *C. sinensis* L.), with the aim of describing the existing morphotypes. The plant material was obtained from a production orchard in March 2021, located in the municipality of Cazonas de Herrera, Veracruz, Mexico, with coordinates 20°41'52.7"N and 97°19'14.1"O. A total of 120 seeds were analyzed, obtained from five fruits of eight plants. The seeds were extracted from each fruit for analysis; first, they were observed with the external tegument, then with the internal tegument, and

with the embryos uncovered. Subsequently, they were separated individually; this process was captured using a digital stereoscopic microscope for further analysis, contrasting the different morphotypes. Six morphotypes of embryos were found in the seeds, which were designated as: Two Groups (10%), Base Embryos (30%), Intertwined (13.33%), Simple (10%), Micropildistant (3.33%), and Intertwined-Base (33.33%). The embryos in the seeds present different trends in morphotype, position, and size. The differences may be due to the four types of apomixis that exist.

ARRANJO DE EMBRIÕES EM SEMENTES POLIEMBRIÓNICAS DE TANGERINA ORTANIQUE

Óscar Esaú Quezada-Flores, Ángel Villegas-Monter, Serafín Cruz-Izquierdo e Guillermo Calderón-Zavala

RESUMO

Foi realizado um estudo morfológico de embriões baseado na posição que ocupam nas sementes de tangerina Ortanique (*Citrus reticulata* × *C. sinensis* L.), com o objetivo de descrever os morfotipos existentes. O material vegetal foi obtido de uma horta em produção em março de 2021, localizada no município de Cazonas de Herrera, Veracruz, México, com coordenadas 20°41'52,7"N e 97°19'14,1"O. Foram analisadas 120 sementes, obtidas de cinco frutos de oito plantas. As sementes foram extraídas de cada fruto para análise; primeiro foram observadas com o tegumento externo, depois com o tegumento interno e

com os embriões descobertos. Posteriormente, foram separadas individualmente; esse processo foi capturado por meio de um microscópio estereoscópico digital para posterior análise, contrastando os diferentes morfotipos. Foram encontrados seis morfotipos de embriões nas sementes, que foram denominados: Dois Grupos (10%), Embriões Base (30%), Entrelaçados (13,33%), Simples (10%), Micropildistante (3,33%) e Entrelaçados-Base (33,33%). Os embriões nas sementes apresentam diferentes tendências em morfotipo, posição e tamanho. É possível que as diferenças se devam aos quatro tipos de apomixia existentes.

indicio de su procedencia, mientras que, Kishore *et al.* (2012) señalan que la distribución de la biomasa varía dependiendo del número, y que el desarrollo de los embriones nucelares se caracteriza por ser asíncrono. Kishore (2014), menciona que la poliembrionía puede clasificarse en función de la fuente de origen (monoembriónico, poliembriónico, poliembrionía verdadera, falsa poliembrionía), la frecuencia de aparición y el nivel de ploidía. Otros investigadores han encontrado que el peso de los embriones de las semillas de distintos portainjertos no tiene relación con su origen genético (Sidhu *et al.*, 2024), un factor que está directamente relacionado con el tamaño de los embriones, la biomasa, etc. Por lo que se puede concluir que el tamaño de los embriones no está

determinado por el origen genético de los mismos.

A lo largo de los años, se ha intentado relacionar la especie y variedad, así como las características morfológicas de frutos, semillas y embriones con la poliembrionía o con las características de los embriones nucelares o cigóticos para predecir el origen sexual o asexual de las plántulas. Otros estudios han intentado seleccionar las características de las semillas poliembrionicas como un método posible para anticipar el origen cigótico o nucelar de las plántulas. Por ejemplo, la clasificación por tamaño y forma de las semillas se ha asociado con la producción de plántulas cigóticas. También se han desarrollado modelos de regresión logística que predicen plántulas sexuales (Villegas-Monter *et al.* 2022).

Sin embargo, hasta la fecha, no existe una clasificación o patrón reportado de los distintos morfotipos de los embriones en cítricos en relación con su posición dentro del saco embrionario; tampoco hay trabajos que señalen la relación entre esta posición y el tamaño de los embriones en conjunto. Más importante aún, no se conoce si el origen genético de los embriones podría tener relación con la disposición topológica (morfotipos), la forma o el tamaño. Tener esta información facilitaría la propagación clonal. Considerando lo anterior, el objetivo de esta investigación fue caracterizar el “arreglo” de los embriones en semillas de mandarina Ortanique, generar nomenclatura con base en la caracterización morfológica de los embriones y, con base en la literatura,

relacionar los morfotipos con los tipos de apomixis.

Materiales y Métodos

Obtención de frutos

Este estudio se llevó a cabo con semillas de mandarina Ortanique (*C. reticulata* × *C. sinensis*) provenientes de una huerta de polinización libre localizada en Cazonas de Herrera, Veracruz, México, en las coordenadas 20°42' latitud norte y 97°18' longitud oeste, y entre 80-120m de altitud (INEGI, 2010); con precipitación pluvial media anual de 2000 mm y temperatura media anual de 25°C (INAFED, 2021).

Se cosecharon frutos en dos épocas, marzo y septiembre de 2021. Se seleccionaron ocho árboles, y se recolectaron todos los frutos de cada árbol por

separado. De cada árbol, se eligieron cinco frutos al azar, obteniendo 40 frutos. Los frutos seleccionados se lavaron en agua con cloro al 5% durante 3 minutos y se secaron con un trapo esterilizado para su almacenamiento en bolsas plásticas nuevas a 4-7°C como indican la FAO y el INTA (2003) para mandarinas.

Obtención y descripción de las semillas

Las semillas de cada fruto se obtuvieron según la descripción de Villegas y Andrade (2005). Brevemente, se hizo un corte tipo “anillado” poco profundo por los costados de los frutos, con el propósito de no dañar las semillas, y se giraron las dos mitades en sentido opuesto hasta su separación. Las semillas se extrajeron manualmente y se contaron para obtener el número total y promedio de semillas por fruto. A continuación, se le retiró el mucilago, se lavaron en agua desionizada tratada con óxido de calcio (10g·l⁻¹ de agua) durante 10 minutos, y luego se lavaron tres veces con agua desionizada esterilizada. Una vez limpias, se almacenaron en frascos de vidrio y se mantuvieron en inmersión con agua desionizada y esterilizada a temperatura ambiente durante 24h. Cada frasco fue identificado previamente para mantener la trazabilidad de los árboles, frutos, semillas y embriones.

Obtención y descripción de las series de embriones

El arreglo topológico, tamaño y forma de 120 semillas y sus embriones se examinaron con la finalidad de obtener la descripción de morfotipos existentes. Los embriones se obtuvieron mediante disección de las semillas con bisturí del número 11 y pinzas de disección. Se utilizó un microscopio digital (LCD Digital Microscope 1000x Portatil G7000) con un aumento de 10X para retirar el tegumento externo e interno y separar los embriones. Una vez separados,

se procuró mantener la disposición de los embriones en varios planos para asegurar el registro preciso de su orientación con relación al micropilo, chalaza y rafe (Figuras 1 y 2). Los planos de orientación fueron transversal, sagital y coronal. El tamaño de la semilla se registró empleando una escala de hojas milimétricas, y la forma se definió con base en los lineamientos del IPGRI (2000).

Se analizaron los colores del tegumento externo, interno, de la chalaza y de los cotiledones utilizando los “Descriptoros para Cítricos *Citrus* spp.” elaborados por IPGRI (2000).

Resultados y Discusión

La distribución de semillas por fruto no fue normal, ya que se registraron de 0 a 30 semillas por fruto, con un promedio de 4,25 semillas. Se seleccionaron 120 semillas para el análisis de los morfotipos. Se encontraron cuatro de las siete formas de semilla reportadas en los lineamientos descritos por IPGRI (2000): esferoide, ovoide, cuneiforme y semi-deltoide. La forma predominante fue la ovoide, presente en casi todas las semillas de los distintos morfotipos, con excepción del arreglo “Dos Grupos”; la forma de semilla menos frecuente fue la semi-deltoide, que solo se presentó en el arreglo “Sencillo”. Las semillas se dividieron en tres tamaños: chicas ($X < 0,89\text{cm}$), medianas ($0,89\text{cm} > X < 1,16\text{cm}$) y grandes ($1,16\text{cm} > X < 1,44\text{cm}$).

Morfotipos de embriones

Los análisis morfo anatómicos fueron realizados en 120



Figura 1. Semilla con divisiones en el plano transversal y sagital.

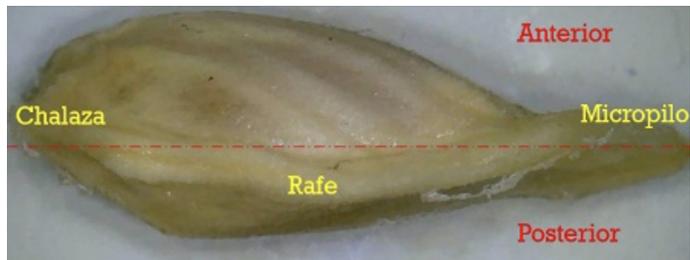


Figura 2. Semilla con división en el plano coronal.

semillas divididas en tres planos, para determinar la orientación de los embriones y describir el morfotipo correspondiente. Se encontraron seis morfotipos o arreglos de embriones, denominados: Dos Grupos (10%), Embriones Base (30%), Entrelazados (13,33%), Sencillo (10%), Micropildistante (3,33%) y Base-Entrelazados (33,33%). En el presente estudio, estos arreglos de embriones se proponen como “morfotipos”. Cada uno cuenta con características que los definen; las semillas con tegumento externo (TE) presentan forma específica en relación con su morfotipo. Al remover el TE, se puede ver el tegumento

interno, donde se detectan variaciones en la tonalidad de la chalaza (Tabla I).

Morfotipo dos grupos

Este morfotipo se caracteriza por tener dos grupos de embriones: el primer grupo (G1) cercano al micropilo y el segundo (G2) próximo a la chalaza. En ambos grupos, los embriones tienen las radículas orientadas hacia el micropilo. En el primer grupo, los embriones presentan las radículas unidas al área micropilar (Figura 3). En el segundo grupo, los embriones presentan sus radículas unidas al rafe y orientadas hacia el micropilo. Las semillas

TABLA I
FORMAS DE LAS SEMILLAS POR MORFOTIPO EN MANDARINO ORTANIQUE

Morfotipo	Forma de semilla	Color chalaza
Dos grupos	Esferoides	Café
Embriones base	Ovoides y cuneiformes	Café o rojiza (ocasional)
Entrelazados	Ovoide y Esferoide	Café o rojiza (ocasional)
Sencillo	Semi-deltoide y ovoide	Café
Micropildistante	Ovoides	Café
Entrelazados-Base	Ovoides	Rojiza o café (ocasional)

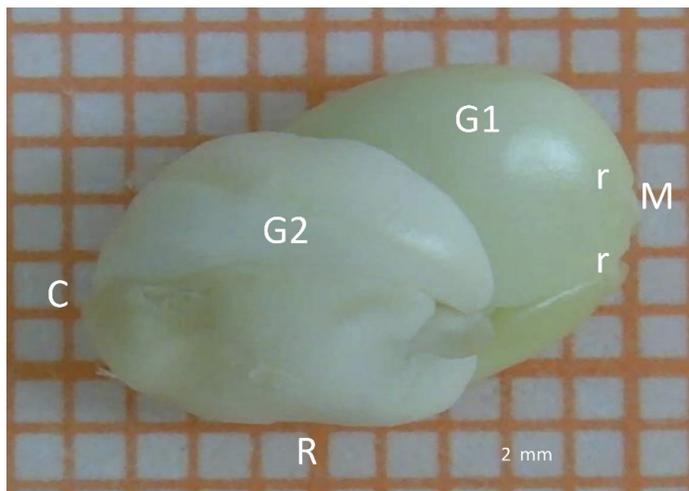


Figura 3. Morfotipo dos Grupos. Se presentan los dos conjuntos de embriones, G1 y G2 y se utilizan como referencia la chalaza (C), micrópilo (M) y rafe (R).

que presentan este morfotipo son de medianas a grandes, con forma esferoide (IPGRI, 2000); los frutos de donde provienen contienen entre 5 y 12 semillas, con un promedio de 4 embriones, de los cuales el G2 contiene entre 1 y 3 embriones y G1 de 2 a 4; los cotiledones son mayormente de color crema o blanco verdoso, y la chalaza es café (Tabla I).

La formación del morfotipo Dos Grupos podría relacionarse con la existencia de dos sacos embrionarios y, por consecuencia, varios embriones en cada saco. Sin embargo, no existen estudios que aborden este tema; Bacchi (1943) menciona que los embriones gemelos pueden formarse en diferentes sacos embrionarios dentro de la misma semilla en Citrus. Por otro lado, Crane (2001) indica que, en algunos casos, los sacos embrionarios reducidos y no reducidos pueden coexistir en la misma nucela, y que la capacidad de formar múltiples sacos embrionarios en el mismo óvulo aumenta la frecuencia de la poliembriónia. Este hecho también es planteado por Koltunow y Grossniklaus (2003), quienes señalan que el inicio exitoso de la embriogénesis en sacos embrionarios derivados de ambas vías puede dar lugar a una semilla poliembriónica. Para corroborar lo anterior, se deben

realizar estudios de seguimiento de distintas semillas en diferentes etapas de desarrollo en el fruto. Sin embargo, esto es difícil de realizar, ya que los métodos utilizados son destructivos; se requeriría algún equipo que permita el análisis de las semillas en desarrollo dentro del fruto sin dañarlo.

Morfotipo embriones base

Este morfotipo se encontró en 36 semillas (30%). Su principal característica es un embrión grande (alrededor del 60% del volumen de la semilla) que cuenta con un cotiledón que rodea a los demás embriones, que son de menor tamaño y tienen forma similar entre sí (Figura 4). Este morfotipo puede tener hasta ocho embriones viables.

Las semillas que presentan este morfotipo son principalmente chicas y medianas, con forma ovoide y, en algunos casos, cuneiformes (IPGRI, 2000); los frutos de donde se originan tienen un promedio de cuatro semillas con tres embriones. Los cotiledones son de color blanco verdoso (IPGRI, 2000); la chalaza, en la mayoría de los casos, es café y en pocos casos es rojiza (Tabla I).

El morfotipo de embriones base podría relacionarse con lo mencionado por Tisserat *et al.* (1979), quienes indican que la

poliembriónia puede deberse a la formación de embriones a partir de células de otros embriones (también llamado bipartición), de las sinérgidas y antípodas, células de la nucela, de los tegumentos e incluso de las hojas. Además, Koltunow y Grossniklaus (2003) mencionan que los embriones adventicios ocurren en una fase tardía del desarrollo del óvulo a partir de células del tegumento o de la nucela, y que, por lo general, la supervivencia del embrión depende del éxito de la fecundación del saco embrionario

adyacente derivado de la meiosis y de la capacidad del embrión adventicio de crecer lo suficiente como para acceder al endospermo nutritivo.

Morfotipo entrelazados

Este morfotipo se encontró en 16 semillas (13,33%). Su principal característica son los cotiledones de los distintos embriones entrelazados entre sí, de tal forma que muestran una disposición similar al arreglo de las hojas “opuesto distíco” (Figura 5). Este morfotipo

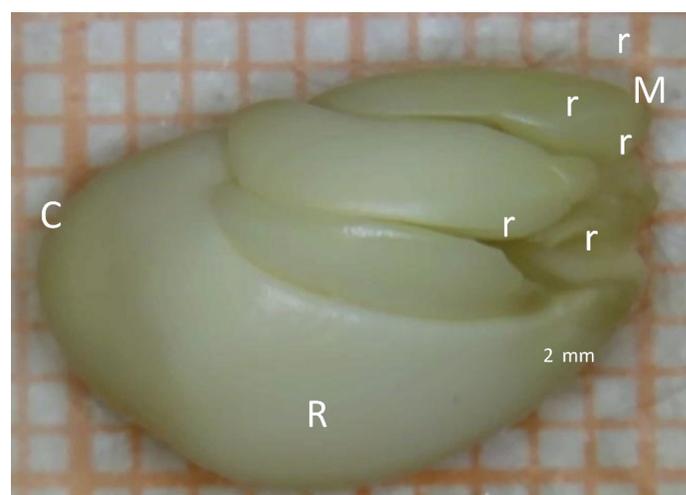


Figura 4. Morfotipo Embriones Base. Un embrión grande y varios pequeños cercanos al micropilo. Se utilizan como referencia la chalaza (C), micrópilo (M) y rafe (R).

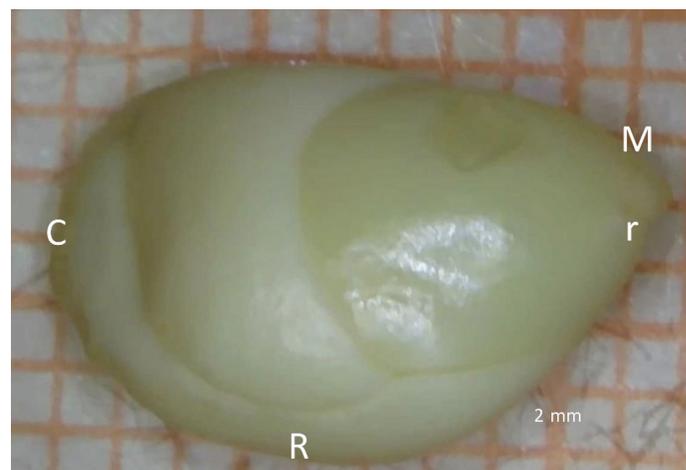


Figura 5. Morfotipo Entrelazados. Se presentan embriones con cotiledones entrelazados. Se utilizan como referencia la chalaza (C), micrópilo (M) y rafe (R).

puede tener hasta ocho embriones viables.

Las semillas que presentan este morfotipo son medianas, con forma ovoide y, en pocos casos, esferoides (IPGRI, 2000). Los frutos de los que provienen contienen, en promedio, siete semillas, cada una con cinco embriones como media; los cotiledones son de color blanco verdoso, y la chalaza es café en un 50% y rojiza en un 50% (Tabla 1).

Los embriones en el morfotipo entrelazado muestran una disposición similar a la de las hojas en el tallo (opuestas dísticas). Esto puede deberse a que se forman a partir de células de las hojas, como mencionan Tisserat *et al.* (1979). Johri *et al.* (1992) resaltan que en ambos casos podría haber un origen sexual en el embrión más próximo al micropilo y, a su vez, un origen apomictico en los más cercanos al tegumento interno.

Morfotipo sencillo

Este morfotipo se encontró en 12 semillas (10%). La característica principal es que presenta un embrión que abarca alrededor del 98% de la semilla, con dos cotiledones opuestos, como regularmente se percibe en las semillas de las dicotiledóneas no poliembrionicas. En ocasiones, se pueden observar cerca del micropilo uno o dos embriones viables, o, en su defecto, rudimentos de embrión, que se encuentran en los cuadrantes M1 y M2; los rudimentos son menores a 1mm de largo (Figura 6).

Las semillas que presentan este morfotipo son de medianas a grandes, en su mayoría con forma semi-deltaoide y, en algunos casos, ovoide (IPGRI, 2000). Los frutos de los que provienen tienen, en promedio, cinco semillas, cada una con dos embriones como media; los cotiledones son blancos y la chalaza es café (Tabla 1).

Dentro del morfotipo Sencillo se pueden encontrar rudimentos de embriones que no alcanzan a formarse completamente. Esto puede ser

debido a la falta de nutrientes al momento de la formación, como lo mencionan Johri *et al.* (1992). Los embriones cigóticos pueden o no sobrevivir; si no se produce la fecundación, el embrión adventicio crece obteniendo nutrientes de las células nucelares y tegumentarias en degradación.

Morfotipo micropildistante

Este morfotipo se encontró en cuatro semillas (3,33%). Su principal característica son embriones entrelazados de tamaños similares, la mayoría con la radícula cercana al micropilo (cuadrantes M1 y M2). Sin embargo, uno o dos embriones tienen la radícula alejada del micropilo (cuadrante C2), y las radículas se encuentran conectadas al rafe (Figura 7). Este morfotipo puede tener hasta seis embriones viables.

Las semillas con este morfotipo son grandes y de forma ovoide (IPGRI, 2000). Los frutos de los que provienen tienen cinco semillas en promedio, y cada una presenta cinco embriones como media. Los embriones son de color verdoso o blanco amarillento; la chalaza es café (Tabla 1).

La formación del morfotipo Micropildistante puede deberse al desarrollo de embriones por células de las antípodas, y a la conexión con el rafe para la nutrición, ya que los óvulos antrópicos cuentan con rafe dorsal, micropilo y chalaza (Saxton y Péringuey, 1910). El rafe funciona como vía principal de administración de nutrientes dentro de la semilla y tiene la posibilidad de favorecer el desarrollo de embriones tanto de las sinérgidas como de las antípodas (Johri *et al.*, 1992).

Morfotipo entrelazados-base

Este morfotipo se encontró en 36 semillas (33,33%), siendo el más frecuente, seguido del morfotipo Embriones Base. Sus rasgos principales son que presenta características de dos morfotipos, del Embriones Base y Entrelazados. Se caracteriza porque contiene

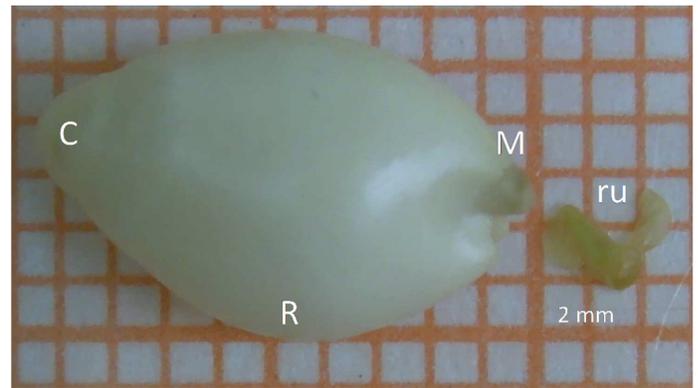


Figura 6. Morfotipo Sencillo. Se presenta un embrión grande y rudimentos (ru) en la zona del micropilo. Se utilizan como referencia la chalaza (C), micropilo (M) y rafe (R).

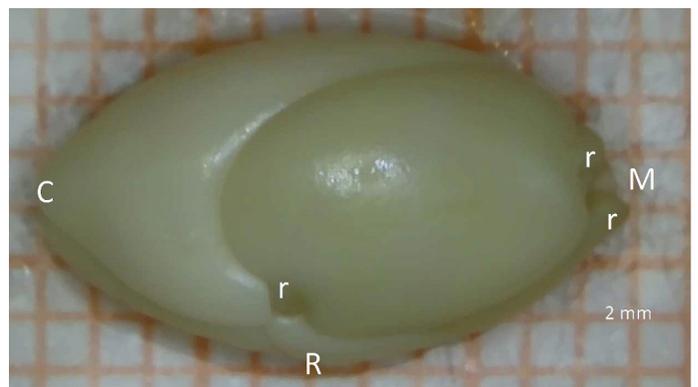


Figura 7. Morfotipo Micropildistante. Se presentan los embriones entrelazados con al menos una radícula alejada del micropilo y unida al rafe. Se utilizan como referencia la chalaza (C), micropilo (M) y rafe (R).

embriones en la base (cuadrantes M1 y M2) y embriones entrelazados en todos los cuadrantes; los embriones de la base siempre se encuentran más cercanos al micropilo que los embriones entrelazados (Figura 8). Este morfotipo tiene la mayor cantidad de embriones viables, hasta 12.

Las semillas con este morfotipo son principalmente medianas, de forma ovoide (IPGRI, 2000); los frutos de donde provienen tienen, en promedio, seis semillas y ocho embriones como media; los cotiledones son de color blanco verdoso o crema, y la chalaza es normalmente rojiza y, en algunos casos, café (Tabla 1).

Los embriones en el morfotipo Entrelazados Base muestran una disposición similar a la de

ambos morfotipos, por lo que se sugiere que el origen pueda estar relacionado con ambos.

De acuerdo con los morfotipos encontrados, es posible que, dependiendo del caso, se presenten distintos tipos de origen de poliembrionía. La embriónía adventicia tiene la posibilidad de generar un morfotipo como los embriones base, y la formación de varios sacos embrionarios puede dar origen al morfotipo Dos Grupos, como se señala en Koltunow (1993), donde se indica que para cítricos se presenta la embriónía adventicia. Sin embargo, Koltunow y Grossniklaus (2003), en un trabajo posterior, mencionan que los cítricos pueden presentar dos tipos de poliembrionía: aposporia y

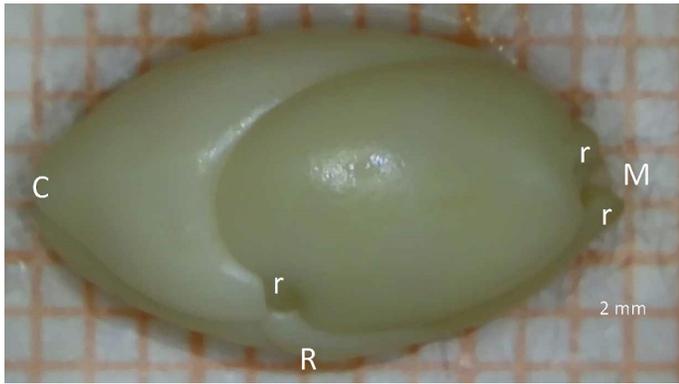


Figura 8. Morfotipo Entrelazados-base. Presenta dos conjuntos de embriones; uno con embriones entrelazados y otro con embriones en la base. Se utiliza como referencia la chalaza (C), micrópilo (M) y rafe (R).

embrionia adventicia. La caracterización de los morfotipos y su origen ayudará a entender por qué se presentan los embriones en las diferentes posiciones y tamaños, así como la posible relación existente con el genotipo.

Se menciona que múltiples embriones adventicios pueden desarrollarse de forma asincrónica dentro del mismo óvulo (Gustafsson, 1954), por lo que la competencia y el empaquetamiento afectan la morfología al desarrollarse en el espacio reducido de la semilla. Los embriones adventicios pueden dividirse en nucelares y tegumentarios, en función del lugar en donde se originen. Naumova (1993) indica que la organización temprana de los embriones adventicios difiere en algunas características de los cigóticos; es posible que la causa sea el espacio limitado y el campo de tensión mecánica en el saco embrionario. Esto apoya la idea de que existan distintos morfotipos con tendencias en el origen genético de cada uno de sus embriones.

Se requiere el estudio de las distintas especies de cítricos para definir los tipos de morfotipos con los que cuentan e intentar detectar cómo se presenta la apomixis en cada caso. De igual forma, deben analizarse en distintos ciclos de producción, ya que las condiciones son diferentes. Como sugieren Moreira *et al.* (1947),

las muestras de estudio deben incluir semillas extraídas de frutos de diferentes árboles, dado que existe variación anual en el grado de poliembriónia, lo que coincide con lo que reportan Andrade *et al.* (2004). Considerando esto, se vuelve necesario estudiar muestras de los diferentes cultivos en distintas épocas y años de cosecha. La poliembriónia muestra variaciones entre épocas, por lo que Koltunow y Grossniklaus (2003) señalan que los eventos apomícticos pueden ser facultativos, y que, dependiendo del tipo de apomixis, los eventos de reproducción sexual pueden ocurrir en el mismo óvulo o en diferentes óvulos de la misma planta apomíctica. Es recomendable realizar análisis genético de las plantas obtenidas de cada embrión para contrastarlas con los morfotipos y determinar si es posible identificar la relación entre morfotipos y posición con el origen genético.

Conclusiones

Los embriones en las semillas de Mandarino Ortanique se pueden agrupar en seis morfotipos. Se sugiere que el origen de los seis morfotipos esté relacionado con los cuatro tipos de apomixis existentes: diplosporia meiótica, diplosporia mitótica, aposporia y embrionia adventicia; para corroborarlo, se requieren análisis genéticos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para realizar esta investigación y al Vivero Cazones, por el material y el apoyo brindado.

REFERENCIAS

Andrade-Rodríguez M, Villegas-Monter A, Carrillo-Castañeda G, García-Velázquez A (2004) "Polyembryony and Identification of Volkamerian Lemon Zygotic and Nucellar Seedlings Using RAPD." *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 39: 551–559. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000600006>.

Bacchi O (1943) Cytological observations in Citrus. III. Megasporogenesis fertilization in polyembryony. *Botanical Gazzete* 105: 221–225. <https://doi.org/10.1086/335210>.

Batygina TB, Vinogradova GY (2007) Phenomenon of polyembryony. Genetic heterogeneity of seeds. *Russian Journal of Developmental Biology* 38: 126–151. <http://doi.org/10.1134/S1062360407030022>.

Carman J (1997) Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority, and polyembryony. *Biological Journal of the Linnean Society* 61: 51–94. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1997.tb01778.x>.

Crane CF (2001) *The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering*. CIMMYT Ciudad de México, México. https://www.researchgate.net/publication/258481384_The_Flowering_of_Apomixis_From_Mechanisms_to_Genetic_Engineering

FAO & INTA (2003) *Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas*. (FAO, Ed.) Roma, Italia. 87 pp. <https://www.fao.org/3/y4893s/y4893s06.htm>

Gustafsson A (1954) Apomixis in angiosperms II. *Lunds Universitets Arsskrift II* 43: 71–179.

INAFED (2021) *Compendio de información geográfica INAFED*. Obtenido de Cazones de Herrera: <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM30veracruz/municipios/30033a.html>

INEGI (2010) *Compendio de información geográfica municipal de*

los Estados Unidos Mexicanos. Veracruz de Ignacio de la Llave. Veracruz de Ignacio de la Llave: INEGI.

IPGRI (2000) *Descriptores para los cítricos. Citrus spp.* Internacional de Recursos Fitogenéticos. Roma. <https://cgspace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/61d99f3d-82db-42b0-9f72-2eac98b54593/content>.

Johri B, Ambegookar K, Srivostha P (1992) *Comparative Embryology of Angiosperms*. Springer. Berlin, Alemania. 1221 pp. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-76395-3>.

Kishore K, Monika N, Rinchen D, Boniface L, Brijesh P (2012) Polyembryony and seedling emergence traits in apomictic citrus. *Scientia Horticulturae* 138: 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.035>.

Kishore K (2014) Polyembryony. En: *Reproductive Biology of Plants*. Indian Institute of Horticultural Research, India. pp. 355–370. <https://doi.org/10.1201/b16535-16>.

Koltunow A, Grossniklaus U (2003) Apomixis: A Developmental Perspective. *Annual Review of Plant Biology* 54: 547–574. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.110901.160842>

Koltunow, A. M. (1993) Embryo Sacs and Embryos Formed Without Meiosis or Fertilization in Ovules. *The Plant Cell* 5: 1425–1437. <https://doi.org/10.1105/tpc.5.10.1425>.

Koltunow AM, Hidaka T, Robinson SP (1996) Polyembryony in Citrus (Accumulation of Seed Storage Proteins in Seeds and in Embryos Cultured in Vitro). *Plant Physiol* 110: 599–609. <https://doi.org/10.1104/pp.110.2.599>.

Mendes-Rodríguez C, Sampaio DS, Costa ME, de Souza Caetano AP, Ranal MA, Júnior NS, Oliveira PE (2012) Polyembryony increases embryo and seedling mortality but also enhances seed individual survival in *Handroanthus* species (Bignoniaceae). *Flora - Morphology, distribution, Functional Ecology of Plants* 207: 264–274. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2011.10.008>

Moreira S, Gurgel J, de Arruda LF (1947) Poliembriónia em citrus. *Bragantia* 7: 69–106. <https://doi.org/10.1590/S0006-8705194700300002>.

Naumova T (1993) *Apomixis in Angiosperms: Nucellar and Integumentary Embryony*. CRC Press, EE.UU. 160 pp.

- Sailer C, Schmid B, Grossniklaus U (2016) Apomixis allows the transgenerational fixation of phenotypes in hybrid plants. *Curr. Bio.* 26: 331–337. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.12.045>.
- Saxton W, Péringuey L (1910) The ovule of the Bruniaceae. *Transactions of the Royal Society of South Africa.* 27–32. <https://archive.org/details/bios-tor-167235/mode/2up?view=theater>
- Sidhu GS, Dhaliwal HS, Gaikwad PN, Vishal N (2024) Polyembryony and morpho-genetic characterization of zygotic seedlings through microsatellite markers in ten polyembryonic citrus rootstocks. *Seed Science and Technology* 52: 85-107. <https://doi.org/10.15258/sst.2024.52.1.09>
- Tisserat B, Esan EB, Murashige T (1979) Somatic embryogenesis in angiosperms. *Horticultural Reviews 1*: 1–78. <https://doi.org/10.1002/9781118060742.ch1>
- Trapero C, Barranco D, Martín A, Díez CM (2014) Occurrence and variability of sexual polyembryony in olive cultivars. *Scientia Horticulturae* 177: 43–46. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.07.015>
- Uma Shaanker RG (1997) Conflict between parent and offspring in plants: predictions, processes and evolutionary consequences. *Current Science* 72: 932–939. <https://www.jstor.org/stable/24099995>.
- Villegas-Monter A, Andrade-Rodríguez M (2005) “Secado y Almacenamiento de Semillas de Mandarino ‘Cleopatra.’” *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40: 79–85. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005000100011>
- Villegas-Monter A, Matínez-Ochoa EdC, Andrade-Rodríguez M, Villegas-Velázquez I (2022) “Citrus Polyembryony.” En *Citrus Research*, Eds. Mateus Pereira G and Scherer Santos J IntechOpen. Rijeka, Croacia. <https://doi.org/10.5772/intechopen.105994>.
- Xiang C, Roose ML (1988) Frequency and characteristics of nucellar and zygotic seedlings in 12 citrus rootstocks. *Scientia Horticulturae* 37: 47–59. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(88\)90150-1](https://doi.org/10.1016/0304-4238(88)90150-1).