

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Morpho-agronomic and molecular characterization of the 'Arrayana' mandarin in the piedmont of the Meta department (Colombia)

Javier Orlando Orduz-Rodríguez¹, Javier Monroy², Sandra Barrera³, Víctor Núñez⁴, Gustavo Ligarreto⁵

ABSTRACT

Due to the absence of varietal information for the tangerine (*Citrus reticulata* L.) 'Arrayana' in the piedmont plains of Meta (Colombia), morpho-agronomic and molecular characterization of 10-year-old commercial tangerine trees was carried out at the Research Center La Libertad of Corpoica in Villavicencio (Meta). Descriptors suggested by the International Genetic Resources Institute (IPGRI) were used for the morphological description, while for molecular characterization, we used the AFLP type molecular markers technique. The molecular variation detected by AFLP showed the same fragments for each of the accessions in ten individuals of the tangerine 'Arrayana', identifying genetically identical individuals, forming a group; which might be related to clonal propagation and nucellar features. Similarly, we detected uniform morpho-agronomic traits related to major horticultural characteristics, which indicates levels of homogeneity for classifying the population as a variety.

Keywords: Citrus, variety of farmer, tropical citrus, AFLP

RESUMEN

Debido a la ausencia de información varietal de la mandarina (*Citrus reticulata* L.) 'Arrayana' en el piedemonte Llanero del departamento del Meta (Colombia), se realizó una caracterización morfo-agronómica y molecular de árboles comerciales de mandarina de 10 años de edad del Centro de Investigación La Libertad de Corpoica ubicado en Villavicencio (Meta). Para la descripción morfológica se utilizaron los descriptores sugeridos por el Instituto Internacional de Recursos Genéticos (IPGRI), mientras que en la caracterización molecular, se utilizó la técnica de marcadores moleculares del tipo AFLP. La variación molecular detectada por AFLP mostró en los diez individuos de la mandarina 'Arrayana' los mismos fragmentos para cada una de las accesiones, identificando individuos genéticamente iguales formando un solo grupo, lo que estaría relacionado con la propagación clonal y con características nucleares. Igualmente, se detectó uniformidad en los caracteres morfo-agronómicos, relacionados con las principales características hortícolas, lo cual señala niveles de homogeneidad, que permiten clasificar la población como una variedad.

Palabras clave: Citrus, variedad de agricultor, citricultura tropical, AFLP

INTRODUCCIÓN

Dentro de los cítricos cultivados, el grupo de las mandarinas es el de mayor adaptación a las diferentes condiciones climáticas, desde las desérticas hasta las semitropicales (Anderson, 1996), debido principalmente a las diferencias ambientales de las regiones donde las variedades han sido seleccionadas. En este grupo se encuentra uno de los cítricos de mayor tolerancia al frío como es la mandarina Satsuma, hasta variedades que toleran muy bien el calor como es la mandarina King (Hodgson, 1967). En condiciones subtropicales, existen variedades de Satsuma que inician su recolección al inicio del otoño, mientras que 'King' puede demorar su recolección hasta la primavera o inicios del verano del año siguiente. Sin embargo, las variedades de mandarina son muy específicas en sus requerimientos climáticos

Fecha de recepción: 11/11/2011
Fecha de aceptación: 27/12/2011

¹ Centro de Investigación La Libertad, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica. Villavicencio (Colombia). jorduz@corpoica.org.co

² Semillas Miguel Sáenz. Bogotá (Colombia).

³ Laboratorio de Biología Molecular, Centro de Investigación Tibaitata, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica. Mosquera (Colombia).

⁴ Laboratorio de Biología Molecular, Centro de Investigación La Libertad, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – Corpoica. Villavicencio (Colombia).

⁵ Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá (Colombia).

para producir fruta de buena calidad (Anderson, 1996). Como ejemplo de lo anterior se reporta que la mandarina 'Clementina' presenta su mejor calidad en algunas regiones de España y Marruecos (climas mediterráneos), pero una mala apariencia externa y baja calidad en zonas húmedas subtropicales o tropicales (Davies y Albrigo, 1994). Otro ejemplo es la mandarina 'Ellendale', que obtiene su mejor calidad interna y presentación en la zona citrícola del río Uruguay entre Mesopotamia (Argentina) y la región del Salto en Uruguay (Anderson, 1996), pero no en otras regiones citricolas del hemisferio sur.

La producción y comercialización de mandarinas tiene importancia solamente en las regiones subtropicales siendo sobresaliente la producción y calidad de las mandarinas 'Clementinas' en la región del Mediterráneo (FAO, 2003), por lo que las principales variedades cultivadas fueron seleccionadas para estas condiciones de cultivo y para esos mercados. La base de la producción de mandarinas en condiciones tropicales se realiza con selecciones locales, o de algunas variedades o híbridos tipo mandarina introducidos de las regiones subtropicales. Por ejemplo, la variedad Ponkan en Brasil, es un material proveniente del Asia, donde se conoce como 'Nagpur' Santra en la India o también como mandarina 'Warnurco' (Davies y Albrigo, 1994). Sin embargo, la mayoría de las variedades importantes en el mercado de exportación de mandarina, no están adaptadas a los climas tropicales cálidos, y sus frutas en estas condiciones presentan baja acidez, textura gruesa y deficiente color de la corteza (Reuther, 1977).

Se calcula que pueden existir entre 10 a 12 mil hectáreas de mandarina en Colombia; siendo Santander el departamento con mayor área cultivada. Dentro de las variedades cultivadas sobresalen la mandarina 'Oneco' en el occidente del país y la mandarina 'Arrayana' en las regiones productoras del oriente colombiano, en especial de Cundinamarca, Boyacá y Meta. Otras variedades de mandarina cultivadas son la Dancy, La Reina y la Criolla las cuales se reportan como cultivadas en Santander (Morales y López, 2007). La importancia de la mandarina 'Arrayana' radica en que tiene la mayor demanda en el mercado de Bogotá y su área de influencia, tanto para su consumo en fresco como para jugo casero. Sin embargo a pesar de su importancia, son escasas las referencias de ella en la información técnica y científica en el país (Pérez-Arbelaez, 1933; Choucair, 1962; Moncada *et al.*, 1968; Ríos-Castaño y Camacho, 1969; Ríos-Castaño y Camacho, 1980; Ríos-Castaño, 1986; Ríos-Castaño, 1988; Ordúz y Fischer, 2007). La primera vez que se menciona la mandarina 'Arrayana' como variedad colombiana fue en la primera edición del *Boletín Técnico de Cítricos* de la Federación Nacional de Cafeteros en 1985 (Fedecafe, 1990). Este documento ubica esta variedad dentro del grupo de las mandarinas

nativas y recomiendan su cultivo entre los 0 a 1.800 msnm. Como características relevantes se menciona que posee una producción sobresaliente y que es la preferida en el mercado del centro del país (Colombia). En el *Manual de Fruticultura* del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, en el capítulo de cítricos, se presenta información de las variedades de mandarina Oneco nucelar, la ICA Jamundí y la ICA Bolo, y solo muestran fotos de frutos de la mandarina 'Arrayana' de Cundinamarca y Palmira, pero sin ningún comentario en el texto (Sánchez *et al.*, 1987). Años después, se publicó el acuerdo de competitividad de la cadena productiva de cítricos (IICA, 2000), en el cual se hace una relación de las variedades colombianas de mandarina en la cual, además de la Arrayana, están la Oneco, Criolla, Satsuma, la Clementina, ICA Bolo y la ICA Amaime.

Los cultivos comerciales de mandarina 'Arrayana' se establecieron en el Piedemonte Llanero en la década de 1980, como parte del programa de diversificación de la Federación Nacional de Cafeteros; aunque ya existían con anterioridad cultivos en pequeña escala de esta variedad en la región, que sirvieron como ejemplo de la adaptación de la variedad a estas condiciones ambientales; además de proporcionar el material vegetal para su multiplicación comercial.

A la información anterior, es necesario agregar que la mandarina 'Arrayana' fue introducida al Banco Nacional de Germoplasma de Cítricos en el C.I. Palmira, sólo hasta el año 1983 y no se encuentra reportada en el *Directorio Mundial de Variedades de Cítricos* (INRA-CIRAD, 2002). Por lo anterior se puede afirmar que, aun cuando, la mandarina 'Arrayana' es una variedad de agricultor que está dispersa en las principales zonas de producción de cítricos en Colombia, no está reconocida como variedad por la comunidad científica.

La identificación varietal es uno de los aspectos básicos para el estudio del material vegetal utilizado en la producción y su importancia aumenta cuando este se utiliza para la generación de conocimiento científico. La observación y descripción de las características morfológicas constituye el primer paso para lograr la identificación de una variedad y se utilizan para ello diferentes partes de la planta: tallo, hoja, flores, frutos o semillas, lo que permite precisar las principales características de las plantas y permite distinguirla de otras más o menos similares (Ortiz *et al.*, 2000). En agricultura y en la producción de frutas la identificación varietal ha sido una de las principales preocupaciones en el estudio del material vegetal y se ha abordado en cada época con la metodología e instrumentos disponibles.

La caracterización varietal de las variedades de cítricos se ha realizado con la ayuda de caracteres morfo-agronómi-

cos y recientemente con isoenzimas y proteínas de reserva. Estos marcadores presentan inconvenientes tales como: estar frecuentemente relacionados con el medio ambiente (variación fenotípica) y proporcionan información de una fracción restringida de la variación total del genoma utilizado. Por las anteriores razones se ha venido popularizando el uso de marcadores moleculares basados en polimorfismos de la molécula de ADN, que no son afectados por el medio ambiente y pueden detectar polimorfismos estables (Ligarreto *et al.*, 2000; Mosquera *et al.*, 2008).

Con el propósito de documentar las características fenotípicas y genéticas de la mandarina variedad Arrayana cultivada en el piedemonte llanero se realizó la descripción morfológica y el análisis molecular de plantas cultivadas en el C.I. La Libertad de Corpoica y que provienen del germoplasma cultivado desde su introducción a la región en la década de 1940. La información generada puede servir de base para estudios comparativos con otros clones de mandarina que tienen el mismo nombre en el país; la identificación de la cercanía genética de la variedad Arrayana con las otras variedades criollas de Colombia y para precisar el grado de variabilidad molecular del ADN de un grupo de plantas cultivadas en el C.I. La Libertad y por tanto determinar si las plantas corresponden a un clon (variedad) o si por el contrario hay diferencias entre ellas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la descripción morfológica de la variedad Arrayana se utilizaron los estados y los descriptores sugeridos por el Instituto Internacional de Recursos Genéticos (IPGRI, 2000), en la cual se describen las características de las plantas, hojas, flores, frutos y semillas; además se evaluó la susceptibilidad a problemas fitosanitarios.

El porcentaje de plantas nucelares en cítricos oscila desde cero en las especies cigóticas como el pummelo (*Citrus maxima* L.) y cultivares como la mandarina Clementina (*C. reticulata*) hasta el 100% en las mandarinas 'Dancy' y 'Kara' (híbrido de Satsuma 'Owari' y m. 'King') (Davies y Albrigo, 1994). Las mandarinas presentan altos niveles de multiplicación con embriones nucelares pero se desconoce el comportamiento reproductivo de la mandarina 'Arrayana'. Desde su llegada al piedemonte llanero la 'Arrayana' se ha multiplicado por semilla, de esta forma provienen los cultivos actuales, por lo mismo es importante identificar la característica de multiplicación nucelar, importante desde el punto de vista hortícola y sanitario.

Procedencia del material vegetal: La recolección del germoplasma se efectuó en el mes de junio del año 1995, en la finca Las Brisas ubicada a 10 km al noreste del municipio de Cumaral, en el departamento del

Meta, Colombia. Se tomaron yemas de varios árboles en un cultivo comercial de 10 años de edad, se llevaron al vivero de cítricos Piedemonte ubicado en el municipio de Restrepo y se injertaron sobre el patrón mandarino 'Cleopatra' (*Citrus reshni* Hort ex Tan.). El primer grupo de 300 plantas se trasplantaron en octubre de 1996 en el lote No. 2 del área de cítricos del Centro de Investigación La Libertad, Villavicencio (Meta); y 535 plantas en el lote No. 6 en el mes de abril de 1997.

Unidad experimental: Para la descripción de las plantas se realizaron observaciones en 15 árboles de mandarina 'Arrayana', de ocho años de edad injertada en el patrón 'Cleopatra', del lote No. 6 del C.I. La Libertad. Para las descripciones de hojas, frutos y flores se tomaron 3 árboles al azar; de cada árbol se evaluaron 10 hojas, flores y frutos para un total de 30 unidades; y 20 frutos para la descripción de las semillas. La evaluación de frutos se llevó a cabo con frutas de 8,5 a 9,0 meses de edad (después de la caída de pétalos) y se les determinó: peso, diámetro, longitud, forma (de la base y del ápice) y color de la piel. Los resultados de las variables cuantitativas fueron procesados usando estadística descriptiva (medias y error típico). Para el índice de color del epicarpio se utilizó la metodología propuesta por IPGRI (2000), en el cual: $I.C.C. = 1000 \times a / (L \times b)$. Siendo: a = componente verde / rojo con arreglo al sistema colorimétrico del laboratorio Hunter; b = azul / amarillo; y L = Luminosidad. En el cual un valor negativo del I.C.C. significa color verde / verde oscuro. Valor alrededor de cero significa color (intermedio) verde amarillo. Valor positivo bajo significa color amarillo y el valor positivo alto significa color amarillo naranja.

Condiciones del clima y suelo del sitio: El Centro de Investigación La Libertad de Corpoica se encuentra localizado en el municipio de Villavicencio, departamento del Meta, Colombia, en el Km 17 de la vía a Puerto López; a 04° 03' N, 73° 29' W y a 336 msnm. Las condiciones de clima promedio de 19 años corresponde a precipitaciones medias de 2.916 mm al año, la temperatura mínima promedio es de 21,8°C, el promedio de máximas es de 30,7°C y el promedio anual de 26,3°C. La acumulación de unidades de calor para los cítricos es de 4.927 al año, como sumatoria de temperaturas anuales superior a 12,5°C. El mes con menor precipitación es enero con 30,1 mm, y la precipitación más alta se presenta en mayo con 422,7 mm; la humedad relativa media es de 72,3% en la época seca y 82,7% en la temporada de lluvias; y un promedio anual de 79,2%. El brillo solar diario en promedio es de 5,2 h d⁻¹, el mes con mayor brillo es enero con 6,6 h d⁻¹; y los meses de menor brillo son abril y junio.

Los suelos para cítricos del C.I. La Libertad, están ubicados en la terraza alta y pertenecen a la clase IV

de acuerdo a la clasificación regional realizada por su aptitud de uso (Orduz y Baquero, 2003); son de baja fertilidad natural, presentan un alto contenido de cuarzo en la fracción de arena y en la fracción de arcilla niveles considerables de caolinita y óxidos de hierro. Presentan al igual, exceso de aluminio intercambiable, pH ácido (4,5 - 4,8), bajos niveles de materia orgánica, buen drenaje (niveles freáticos hasta de 3,5 m en época de invierno) y profundidad efectiva. Las texturas de estos suelos pueden ser francas, franco-arcillosas y franco-arenosas. Los lotes de mandarina fueron regados de forma manual en las dos primeras temporadas secas después del establecimiento.

Caracterización molecular de la mandarina 'Arrayana'

El trabajo con AFLP combina la especificidad, la resolución y poder de muestreo de las enzimas de digestión con la velocidad y practicidad de detección de polimorfismo vía PCR (Ferreira y Grattapaglia, 1998). Esta técnica es utilizada en muchas de las aplicaciones de los marcadores genéticos, en la cual está incluido el análisis de variabilidad, la búsqueda de marcadores en la proximidad de genes de mayor interés o en la cartografía genética (García-Mass y Graciano, 2000). Dentro de las ventajas que tiene el uso de los AFLP se pueden listar las siguientes: dispone de un número ilimitado de marcadores, presenta eficiencia elevada, polimorfismo muy alto y una repetitividad media a alta (Cervera y Simón, 2000).

Material vegetal. Se tomaron muestras vegetativas en plantas de mandarina del lote No. 6 del C.I. La Libertad; cinco brotes tiernos para cada una de diez plantas marcadas al azar. Las muestras se empaquetaron en bolsas individuales y se enviaron en un recipiente térmico al laboratorio de biotecnología del C.I. Tibaitatá ubicado en Mosquera (Cundinamarca), en donde se almacenaron en un cuarto frío.

El procedimiento de extracción de ADN nucleico de mandarina se realizó siguiendo el protocolo de fenol cloroformo (Rocha, 2002), con modificaciones realizadas por Barrera (2006). La pureza y la concentración del ADN ($\mu\text{g mL}^{-1}$), fue estimada por espectrofotometría y estas variables fueron evaluadas mediante la absorbancia a 260 nm y la relación OD260/OD280, utilizando en espectrofotómetro (Beckman DU530 Life science UV/Vis) calculadas con la siguiente ecuación: Cantidad de ADN = absorbancia 260 nm * $50\mu\text{g mL}^{-1}$ * factor de dilución. Se verificó la calidad del ADN nucleico en una electroforesis en gel de agarosa al 0,8%. Para realizar la técnica AFLP se tuvieron en cuenta datos obtenidos con el espectrofotómetro. La dilución para realizar la obtención de los datos anteriores se realizó

1:10. Para obtener una concentración uniforme de ADN se diluyeron las muestras a $25\text{ ng }\mu\text{L}^{-1}$ en buffer TE.

Análisis AFLP. La técnica AFLP se desarrolló con el Kit AFLP® *Analisis System I* (Invitrogen), siguiendo la indicaciones del fabricante y teniendo en cuenta las consideraciones de Vos *et al.* (1995). Para la amplificación selectiva se utilizó la combinación de "primers" E-AGG/M-CAG; E-AGG/M-CAA; E-AGC/M-CAA y E-ACA/M-CAG, dos de los cuales fueron reportados por Tapia *et al.* (2005), como las mejores combinaciones basadas en el alto número de bandas polimórficas obtenidas. La tinción y visualización del gel se hizo con la metodología de nitrato de plata.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfo-agronómica

Descripción del tipo de planta: Los árboles de mandarina 'Arrayana' tienen una altura promedio de $4,26 \pm 0,35\text{ m}$ y un diámetro de copa de $4,5 \pm 0,28\text{ m}$ (Figura 1), con hábito de crecimiento erecto y de forma esferoide, la ramificación es densa; la inserción de las ramas al tronco principal presenta un ángulo agudo. Los árboles son vigorosos, el volumen de copa fue de 40 m^3 . En el año de evaluación la producción fue de 128 kg de fruta por planta, mientras que el índice de eficiencia productiva fue de 2,95 kg de fruta por m^3 de copa. Las plantas iniciaron su producción en el quinto año después del trasplante produciendo 5 kg/planta, 40 kg en el sexto año y 65 kg en el séptimo año.



Figura 1. Árbol de mandarina 'Arrayana' sobre mandarina 'Cleopatra', edad 8 años. Terraza alta del piedemonte del Meta, Corpoica C.I. La Libertad

El tronco presentó un diámetro promedio de $17,37 \pm 0,68$ cm; la superficie es lisa (libre de espinas) y la relación entre el diámetro de la copa y el del patrón fue de 0,9 en promedio, lo que hace que la inserción sea casi imperceptible en campo. El color de la madera es marrón.

Descripción de las hojas: Las hojas son perennes, simples, de forma oval, ápice emarginado, base cuneada, margen crenado, de color verde oscuro en el anverso y verde más claro en el reverso. La longitud y anchura promedio de la lámina foliar es de $71,9 \pm 1,5$ mm y $45,4 \pm 9,6$ mm respectivamente, la relación entre longitud y ancho de la hoja es de 1,59 y el grosor de la lámina foliar es de 0,35 mm. Las hojas son brevipetioladas (el pecíolo es más corto que la lámina foliar), la unión entre el pecíolo y la lámina foliar es articulada, el pecíolo no presenta alas, mide menos de 10 mm y la sujeción de éste a la rama es recta. Los nervios en el haz son planos y se observaron en promedio $78 \pm 6,0$ glándulas oleaginosas por cm^2 en el envés.

Características de las flores: Las flores son solitarias, hermafroditas, pueden ser axilares y/o terminales, se contabilizaron cinco pétalos blancos que midieron $10,43 \pm 2,0$ mm de longitud y $3,9 \pm 1,0$ mm de anchura, su relación longitud/anchura fue de 2,67. El pedicelo presentó una longitud promedio de $5,87 \pm 2,0$ mm, las anteras son amarillas, con dehiscencia longitudinal y son más cortas en relación con el estigma (Figura 2). El estilo es recto, los estambres presentaron una longitud promedio de 1 mm. La floración principal se inició dos semanas después de iniciadas las precipitaciones; aunque pueden presentarse presencia de algunas flores aisladas en especial en el segundo semestre sin que produzcan fruta de valor comercial (Orduz *et al.*, 2010).



Figura 2. Brotación y floración de la mandarina 'Arrayana' en el inicio de la temporada de lluvias en el C.I. La Libertad, Villavicencio, Meta

Características de los frutos: La variedad presenta una época de producción intermedia, conocida así, porque la fruta está madura entre 8 a 9 meses después de la floración, la cosecha principal se inicia a finales de noviembre, y se puede prolongar hasta enero; las fechas de inicio y finalización de la cosecha se modifican de un año a otro, debido al comportamiento de la precipitación después de la temporada seca y su influencia sobre la fecha de floración (Orduz, 2007; Orduz y Fischer, 2007).

El peso promedio de la fruta en el momento de la cosecha comercial (8,5 meses después de la caída de pétalos) fue de $180,6 \pm 8,5$ g. La fruta presentó un diámetro longitudinal de $56,2 \pm 2,0$ mm y transversal de $78,6 \pm 3,0$ mm, la relación entre el diámetro y la altura del fruto fue de 1,4 (Figura 3). La corteza posee una estructura papilar en la superficie; en esta se contabilizaron 44 ± 5 glándulas oleaginosas/ cm^2 perceptibles al observador, el espesor



Figura 3. Fruto de la mandarina 'Arrayana' del Piedemonte llanero, Corpoica C.I. La Libertad, Villavicencio, Meta

de la corteza en la zona ecuatorial fue de $2,6 \text{ mm} \pm 0,4$, representando la corteza el 25% del peso total del fruto. El color del albedo es blanco y su adherencia al endocarpio es media, el fruto no presenta areola. El número promedio de gajos por fruto fue de $10,6 \pm 1,5$. Los gajos tenían una apariencia uniforme; presentando una adherencia media. El eje del fruto es hueco y su forma en corte transversal es irregular; la medida fue de $20,6 \pm 2,5 \text{ mm}$ (Figura 3). La sujeción del fruto a la rama del árbol es fuerte y el extremo correspondiente al estilo es abierto.

La pulpa es de color naranja oscuro, de firmeza blanda a media, textura carnosa y jugosa, las vesículas de jugo son finas y uniformes de tamaño medio (Figura 3). El fruto presentó un contenido promedio de jugo del $37,7\% \pm 1,2$; y $8,0 \pm 0,3\%$ de sólidos solubles totales, $0,76 \pm 0,3\%$ de acidez titulable (ácido cítrico) y una relación de madurez ($^{\circ}\text{brix/acidez}$) de 10,0 a 10,4; siendo menores a los frutos de mandarina Oneco en Tulio Ospina y Palmira que se han reportado como 11,0 y 11,3 respectivamente (Moncada *et al.*, 1968).

Descripción de las semillas: El fruto presentó en promedio cinco semillas poliembriónicas (siete embriones), de forma claviforme, superficie rugosa y de color crema, con una longitud y anchura promedio de $11,5 \pm 0,8 \text{ mm}$ y $6,6 \pm 0,3 \text{ mm}$ respectivamente y un peso de 0,21 g. El cotiledón es verde claro y la chalaza de color marrón claro.

Caracterización molecular

El método de extracción utilizado permitió obtener muestras de ADN de calidad sobresaliente para realizar el análisis de marcadores moleculares, en todos los individuos analizados, lo que indica que el protocolo utilizado por primera vez para esta especie, presentó un buen comportamiento para la extracción de ADN nuclear de mandarina, aspecto que es fundamental para la continuación del proceso.

El patrón de bandas generado, por las cuatro combinaciones de "primers" fue monomórfico, lo que indica que las combinaciones de primer no detectaron diferencias entre los loci en las diez plantas evaluadas (Figura 4); lo que señala la presencia de individuos genéticamente iguales formando un solo grupo, posiblemente por su posible característica nucelar cuando fue multiplicado por semilla y mantenida cuando se ha multiplicado por injerto; por lo que la población evaluada se puede considerar como de naturaleza clonal.

Los AFLP se han utilizado para la identificación de variedades en vid (*Vitis vinifera*), con buenos resultados (Cervera *et al.*, 1998) y con mandarinas (Tapia-Campos *et al.*, 2005), en el cual identificaron un alto grado de

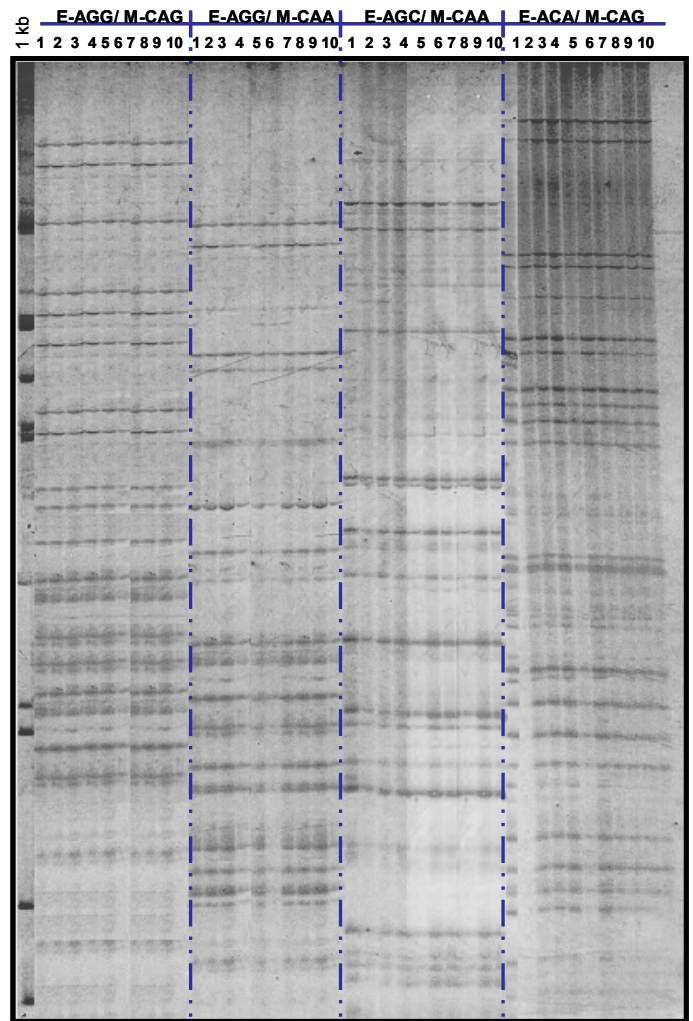


Figura 4. Patrón de bandas generado utilizando cuatro combinaciones de "primers" de AFLP en 10 plantas de mandarina 'Arrayana'

polimorfismo (86%) en la colección de germoplasma en Tamaulipas (México) y señalan que las mejores combinaciones de iniciadores AFLP fueron la Mse +CAG más Eco +ACA, y Mse +CAA más Eco +AGG. Aunque la prueba de Mantel no mostró una correlación positiva ($r = 0,31$), los autores sugieren que tanto la descripción morfológica como la caracterización molecular con AFLP son básicas para la caracterización del germoplasma de mandarinas.

En cuanto al uso de otros marcadores en cítricos, Coletta - Fillo *et al.* (2000), utilizaron RAPD para buscar polimorfismo con 19 accesiones de mandarina Ponkan de diferentes países y solo encontraron polimorfismo dentro de cinco accesiones, sugiriendo que ha habido una propagación clonal con diferentes nombres o que la metodología de RAPD no es la mejor para detectar alguna variabilidad genética proveniente de mutaciones. Sin embargo, RAPD, si ha encontrado polimorfismos

con géneros afines a cítricos como *Poncirus*, *Fortunella* o *Microctirus*, al igual que con ISSR con especies cultivadas de *Citrus* (Fang y Roose, 1997).

CONCLUSIONES

El material clonal de mandarina 'Arrayana' de Corpoica, C.I. La Libertad, posee homogeneidad morfológica y molecular; la fruta es reconocida por sus atributos gustativos, su apariencia externa y comercial, y presenta características de estabilidad que transmite a sus descendientes. Se puede considerar en este estudio con AFLP que el material denominado mandarina Arrayana en el Piedemonte Llanero es un clon estable y por consiguiente posee las condiciones exigidas para ser denominada como una variedad colombiana de mandarina

Es necesario realizar el análisis molecular en cultivos de mandarina 'Arrayana' de diferentes localidades en los

Llanos Orientales y de otras regiones de Colombia sobre esta material para comparar su cercanía genética; de la misma forma es necesario realizar una comparación molecular con las variedades de mandarina ICA Bolo, ICA Jamundi e ICA Amaime para conocer su cercanía genética teniendo en cuenta que todas pueden tener el mismo origen; al igual que precisar sus diferencias hortícolas o de calidad, lo que contribuiría a precisar la clasificación actual de las variedades de mandarina en el país.

AGRADECIMIENTOS

Al personal administrativo y de investigación del C.I. La Libertad de Corpoica en Villavicencio. A los señores: Capitolino Ciprian, Alfredo Pardo, David López y Heberth Velásquez, del programa de cítricos y frutas tropicales de La Libertad. A dos evaluadores anónimos; y a los colegas Diana Calderón, Salvador Rojas y Takumasa Kondo por sus contribuciones al mejoramiento del texto final.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson C. 1996. Variedades cultivadas en el Río Uruguay. En: Manual para productores de mandarina de la región del Río Uruguay. Buenos Aires: INTA. pp. 63-91.
- Barrera S. 2006. Estandarización de un protocolo de la técnica AFLP para caracterización molecular de palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq.) y lulo (*Solanum quitoense* Lam.) [Trabajo de grado]. Tunja, Colombia: Escuela de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.
- Cervera MT, Cabezas JA, Sancha JC, Martínez de Toda F, Martínez-Zapater JM. 1998. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. Case of study with accessions from Rioja. Spain. *Theor Appl Genet* 97(1-2):51-59.
- Cervera, M.T. y L. Simón. 2000. Empleo de marcadores moleculares en actividades económicas agroindustriales. En: Nuez F, Carrillo JM, editores. Los marcadores genéticos en la mejora vegetal. Valencia, España: Editorial U.P.V. pp. 561-579.
- Coletta-Filho H, Machado M, Tragón L Pompeu J. 2000. The use of random amplified polymorphic DNA to evaluate the genetic variability of Ponkan mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) accessions. *Genet Mol Biol* 23(1):169-172.
- Choucair K. 1962. Fruticultura colombiana. Tomo II. Medellín, Colombia: Editorial Bedout.
- Davies FS, Albrigo LG. 1994. Citrus. Wallingford: CAB International.
- FAO, 2003. Frutos cítricos frescos y elaborados. Estadísticas Anuales. Comité de Problemas de Productos Básicos. Grupo Intergubernamental sobre Productos Cítricos. Roma.
- Fang DQ, Roose ML. 1997. Identification of closely related citrus cultivars with inter-simple sequence markers. *Theor. Appl. Genet.* 95(3):408-417.
- Fedecafe, Federación Nacional de Cafeteros. 1990. El cultivo de los cítricos. 7a Ed. Manizales, Colombia: Litografía Cafetera.
- Ferreira ME, Grattapaglia D. 1998. Introducción al uso de marcadores moleculares en el análisis genético. Brasilia: Embrapa; Cenargen.
- García-Mass J, Graciano E. 2000. Marcadores de ADN: concepto, tipos, protocolos En: Nuez F, Carrillo JM, editores. Los marcadores genéticos en la mejora vegetal. Valencia, España: Editorial U.P.V. pp. 93-148.
- Hodgson RW. 1967. Horticultural varieties of citrus. En: Reuther W, Batchelor LD, Webber HD, editores. The citrus industry. Berkeley, CA: University of California Press. pp. 431-591.
- IICA. 2000. Acuerdo de competitividad de la cadena productiva de los cítricos. Colección de documentos IICA. Serie competitividad. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- INRA-CIRAD. 2002. Citrus of the world – A citrus directory. Córcega, Italia: Centro de Corcega.
- IPGRI. 2000. Descriptores para los cítricos. *Citrus spp.* Roma.
- Ligarreto GA, Espinosa N, Méndez MA. 2004. Recursos Genéticos y cultivo de ají y pimentón (*Capsicum* sp.). Bogotá: Fondo de Publicaciones, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia.
- Moncada J, Ríos-Castaño D, Torres R. 1968. Calidad de frutos cítricos en Colombia. *Agric Trop* 24:518-526.
- Mosquera T, Fernández C, Martínez L, Acuña A, Cuellar D. 2008. genética de la resistencia de la papa (*Solanum tuberosum*) a patógenos. *Estado de arte. Agron Colomb* 26(1):7-15.
- Morales J, López J. 2007. Aspectos básicos para el cultivo de mandarina (*Citrus reticulata*). Manual Técnico. Bogotá: Corpoica; Produmedios.
- Orduz JO. 2007. Estudios ecofisiológicos y caracterización morfológica y molecular de la mandarina Arrayana (*Citrus reticulata* Blanco) en el piedemonte llanero de Colombia [Tesis de doctorado]. Bogotá: Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia.
- Orduz JO, Baquero J. 2003. Aspectos básicos para el cultivo de los cítricos en el piedemonte llanero. *Rev Achagua* 7:7-20.

- Ordúz J, Fischer G. 2007. Balance hídrico e influencia del estrés hídrico en la inducción y desarrollo floral de la mandarina 'Arrayana' en el piedemonte llanero de Colombia. *Agron Colomb* 25(2):255-263.
- Ordúz J, Monroy H, Fischer G. 2010. Comportamiento fenológico de la mandarina 'Arrayana' en el piedemonte del Meta, Colombia. *Agron Colomb* 28(1):63-70.
- Ortiz JM, Aguinalde I, Martín JP. 2000. Identificación varietal. En: Nuez F, Carrillo JM, editores. *Los marcadores genéticos en la mejora vegetal*. Valencia, España: Editorial U.P.V. pp. 515-559.
- Pérez-Arbelaez E. 1933. Frutas de Cundinamarca. *Boletín de Agricultura*. Año VI, Nos. 3, 4 y 5 Bogotá: Ministerio de Industrias, República de Colombia. pp.183-268.
- Reuther W. 1977. Citrus. En: Alvim P, Kozłowski T, editores. *Ecophysiology of tropical crops*. New York, NY: Academic Press. pp. 409-439.
- Ríos-Castaño D, Camacho S. 1969. Mandarinas criollas en Colombia. *Agric Trop* 25(9):456-465.
- Ríos-Castaño D, Camacho S. 1980. Cítricos. En: *Frutales. Manual de Asistencia Técnica No. 4. Tomo 1*. Bogotá: ICA. 2a ed. pp. 23-124.
- Ríos-Castaño D. 1986. Mandarinas para el mercado colombiano. *Horticultura Moderna* 3:6-8.
- Ríos-Castaño D. 1988. Especies y variedades de cítricos de importancia comercial – Origen de las variedades comerciales en Colombia. En: *Fruticultura tropical*. 2a ed. Bogotá: Federación Nacional de Cafeteros. pp. 182-184.
- Rocha SP. 2002. Teoría y práctica para la extracción y purificación del ADN de palma de aceite. *Palmas* 23(3):9-17.
- Sánchez LA, Jaramillo C, Toro JC. 1987. Cítricos. *Fruticultura Colombiana. Manual de Asistencia Técnica No. 42*. Cali, Colombia: ICA; Sena.
- Vos P, Hogers R, Reijans M, Van de Lee T, Hornes M, Friters A, Pot J, Peleman J, Kupier M, Zabeau M. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res* 23(21):4407- 4414.
- Tapia-Campos E., Gutiérrez MA, Warburton ML, Santacruz A, Villegas A. 2005 Characterization of mandarin (*Citrus* spp.) using morphological and AFLP markers. *Interciencia* 30(11):687-693.