

COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUTO DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FISIOLOGÍA VEGETAL

TRATAMIENTOS PRECOSECHA CON REGULADORES DEL
CRECIMIENTO PARA RETARDAR SENESCENCIA EN FRUTOS
DE LIMÓN MEXICANO ALMACENADOS EN REFRIGERACIÓN

ROSARIO ÁLVAREZ ARMENTA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2007

La presente tesis titulada: **Tratamientos precosecha con reguladores del crecimiento para retardar senescencia en frutos de limón mexicano almacenados en refrigeración**, fue realizada por la alumna: **Rosario Álvarez Armenta** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS

RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD FISIOLOGÍA VEGETAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO _____
Dr. Crescenciano Saucedo Veloz

ASESORA _____
Dra. María Teresa Colinas León

ASESOR _____
Dr. Sergio Humberto Chávez Franco

ASESOR _____
Dr. Reginaldo Báez Sañudo

ASESOR _____
Dr. Víctor Manuel Medina Urrutia

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México, quien a través del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), me otorgó la beca para la realización de los estudios de Doctorado en Ciencias en el Programa de Fisiología Vegetal del Colegio de Postgraduados.

Al Colegio de Postgraduados y en particular al Programa de Fisiología Vegetal, por la oportunidad de realizar mis estudios en sus aulas y laboratorios.

Al Dr. Crescenciano Saucedo Veloz, Profesor Consejero y Director de tesis, por su aliento para la presentación de este trabajo.

Al Dr. Víctor Manuel Medina Urrutia porque su disponibilidad y valioso apoyo fueron esenciales en el trabajo de campo de la presente tesis, así como por sus valiosas sugerencias para la mejor presentación del trabajo final.

Al Dr. Sergio Humberto Chávez Franco, porque su incondicional dedicación, enseñanzas, interés sin límite y observaciones, fueron un invaluable apoyo para la culminación de este trabajo.

A la Dra. Ma. Teresa Colinas León por el decidido apoyo para el uso de materiales y equipo del Laboratorio de Usos múltiples del Departamento de Fitotecnia en la Universidad Autónoma Chapingo, así como por su accesibilidad y sugerencias durante la revisión del presente trabajo.

Al Dr. Reginaldo Báez Sañudo por sus sugerencias para mejorar el trabajo de investigación y por no permitir que la distancia fuese un obstáculo para la conclusión de este documento.

Al personal de los laboratorios de Tecnología Postcosecha del Colegio de Postgraduados (principalmente al Sr. Arturo López Veloz) y de Usos múltiples del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

Al Programa de Fruticultura del Campo Experimental Tecomán, INIFAP, por las facilidades prestadas para la realización del trabajo de campo y en especial a los señores Armando Rivera Zamora y Carlos Villegas Morales.

A las Secretarías Georgina Díaz Pineda y Ma. Del Rocío Cuellar Valdés, porque su trabajo y disposición son insustituibles eslabones entre los alumnos y la institución.

DEDICATORIA

A mis padres Ángel Álvarez Luna y Elvia Armenta Martínez, por que con su ejemplo siempre me inculcaron valores como la sinceridad, honestidad y por su apoyo incondicional.

Con amor a Miguel Ángel por su apoyo constante, sus valiosos consejos de la vida y por ser mi mejor amigo.

A mis hijos Elvia y Cristóbal Alejandro por su solidaridad y el amor que nos mantiene unidos como una pequeña y a la vez gran familia.

A mis hermanos María de los Ángeles, Ángel Aníbal y especialmente a David por el apoyo brindado. Gracias y espero que la vida les siga sonriendo.

A Fernando de Jesús Hernández García porque sus muestras de espontánea y desinteresada solidaridad nos alientan constantemente para seguir adelante.

A la Ing. Consuelo Paniagua Cruz por sus innumerables muestras de amistad y apoyo.

A Felipe Pérez, Rosendo Balois y Nora Meraz por su amistad, apoyo y por haber compartido inolvidables momentos en esta etapa de mi vida.

A mis amigos de ayer, de hoy y de siempre.

“Pensarás que veo el trabajo de toda mi vida con serena satisfacción, pero vistas de cerca, las cosas no son tan brillantes. No hay una sola idea de la cual pueda estar seguro. Ni siquiera estoy seguro de estar en el camino correcto”

Albert Einstein

CONTENIDO

PÁGINA

I. INTRODUCCIÓN	i
1.1. Importancia del cultivo	1
1.2. Volumen y destino de la fruta	1
1.3 Problemática	2
1.4 Justificación del trabajo	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Descripción botánica	5
2.2 Condiciones ambientales y época de floración	6
2.3 Duración del período de floración a cosecha	7
2.4 Etapas de crecimiento del fruto	7
2.5 Maduración y senescencia	9
2.6. Reguladores del crecimiento	11
2.7 Control de la maduración	13
2.8 Frigoconservación y daños por frío.	18
2.9 Síntomas de daños por frío	23
2.10 Pérdida fisiológica de Peso	26
2.11 Métodos de reducción de daños por frío	28
2.12 Compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos	28
III. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1. Definición de experimentos	30
3.1. 1.1.Experimento 1.	31
3.1. 1. 2. Objetivos	32
3.1. 1. 3 Sitio Experimental y Material Vegetal	33
3.1. 1. 4 Características de la huerta y manejo	34
3.1. 1. 5 Etiquetado de la fruta	34
3.1.1. 6 Recolección y manejo de la fruta en el laboratorio	35
3.1.1.7 Análisis estadístico	39
3.2.1.1 Experimento 2.	40
3.2.1.2. Objetivo General	42
3.2.1.3 Objetivos Particulares:	42
3.2.1.4. Sitio Experimental y Material Vegetal	43

3.2.1.5 Etiquetado de la fruta	43
3.2.1.6 Recolección y manejo de la fruta en el laboratorio	44
3.2.1.7. Tratamientos	46
3.2.1.8. Diseño estadístico	48
3.2.7. Metodologías de Evaluación	49
Pérdidas fisiológicas de peso:	49
Índice de Color	49
Sólidos Solubles Totales (SST)	50
Acidez Titulable	50
Acido Ascórbico	51
Índice de daños por frío	52
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
Experimento 1	53
4.1.1 Acido Cítrico	53
4.1.2. Sólidos Solubles Totales	55
4.1.3. Índice de Color	57
4.1.4 Porcentaje de pérdida fisiológica de peso	60
4.1.5. Contenido de Ácido Ascórbico	63
Experimento 2	67
4.2.1 Ácido cítrico	67
4.2.2. Sólidos Solubles Totales (SST)	70
4.2.3 Índice de Color	73
4.2.4. Pérdida fisiológica de peso	
4.2.5. Ácido Ascórbico	80
4.2.6. Índice de Daños por frío	83
V. CONCLUSIONES	86
Experimento 1	86
Experimento 2	87
VI. LITERATURA CITADA	89

ÍNDICE DE CUADROS

PÁGINA

Cuadro 1 Relación de experimentos establecidos	30
Cuadro 2 Tratamientos generados en campo y en laboratorio en el año 2003	37
Cuadro 3 Variables analizadas en el experimento del año 2003	37
Cuadro 4 del segundo experimento	46
Cuadro 5 Variables analizadas en el experimento del año 2004	48
Cuadro 6 Contenido de sólidos solubles totales en frutos de limón a diferentes concentraciones de ácido giberélico después de 34 y 42 días de almacenamiento	55
Cuadro 7 Pérdida fisiológica de Peso (%) en frutos de limón encerados y no encerados	60
Cuadro 8 Porcentaje de ácido ascórbico en los diferentes tratamientos de frutos de limón a los 35 y 42 días de almacenamiento	66

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Eventos relacionados con aplicación de los reguladores del crecimiento a temperatura: media del cultivo, refrigeración y período de comercialización en el primer año del experimento	38
Figura 2. Eventos relacionados con aplicación de los reguladores del crecimiento a temperatura: media del cultivo, refrigeración y período de comercialización en el segundo año del experimento	47
Figura 3. Cambios postcosecha del contenido de ácido cítrico en frutos de limón, con o sin cera, en respuesta a diferentes concentraciones de Ácido Giberélico (AG_3) en $mg \cdot L^{-1}$.	54
Figura 4. Cambios postcosecha del contenido de Sólidos Solubles Totales en frutos de limón, con o sin cera, en respuesta a la aplicación precosecha de diferentes concentraciones de AG_3 en $mg \cdot L^{-1}$.	57
Figura 5. Cambios de color en frutos de limón, con o sin cera, en respuesta a la aplicación precosecha de diferentes concentraciones de AG_3 en $mg \cdot L^{-1}$.	59
Figura 6. Pérdida de Peso en frutos de limón, con o sin cera, en respuesta a la aplicación precosecha de diferentes concentraciones de AG_3 en $mg \cdot L^{-1}$.	62
Figura 7. Cambios postcosecha del contenido de ácido ascórbico en frutos de limón, con o sin cera, en respuesta a diferentes concentraciones de AG_3 en $mg \cdot L^{-1}$.	64
Figura 8. Contenido de ácido cítrico en frutos de limón, tratados con AG_3 + Ácido Indolbutírico (AIB) a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha.	68
Figura 9. Contenido de ácido cítrico en frutos de limón, tratados con AG_3 + Benzil Adenina (BA) a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha.	70
Figura 10. Contenido de Sólidos Solubles Totales en frutos de limón, tratados con AG_3 + (AIB) a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha	72

Figura 11. Contenido de Sólidos Solubles Totales en frutos de limón, tratados con $AG_3 + (BA)$ a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha.	73
Figura 12. Índice de color en frutos de limón, tratados con $AG_3 + (AIB)$ a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha.	74
Figura 13. Índice de color en frutos de limón, tratados con $AG_3 + (BA)$ a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha.	76
Figura 14. Pérdida de peso en frutos de limón, tratados con $AG_3 + (AIB)$ a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha	79
Figura 15. Pérdida de peso en frutos de limón, tratados con $AG_3 + (BA)$ a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha	80
Figura 16. Contenido de ácido ascórbico en frutos de limón, tratados con $AG_3 + (AIB)$ a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha	81
Figura 17. Contenido de ácido ascórbico en frutos de limón, tratados con $AG_3 + (BA)$ a diferentes concentraciones en $mg \cdot L^{-1}$ aplicados en precosecha.	82
Figura 18. Daños por Frío en frutos de limón a 35 días de almacenamiento a $9^\circ C$.	84
Figura 19. Daños por Frío en frutos de limón a 35 días de almacenamiento a $9^\circ C$, más 7 días a $20^\circ C$	85

RESUMEN

Los experimentos se efectuaron en dos huertas comerciales de limón mexicano, ubicadas en Tecomán, Colima, México, durante los años 2003 y 2004. En ambos casos se determinaron los efectos de las aplicaciones precosecha, con diferentes concentraciones de reguladores del crecimiento, sobre el follaje de árboles de limón; en el primer año se probaron concentraciones de ácido giberélico (30, 20 y 10 mg·L⁻¹) y en el segundo año se aplicaron combinaciones de ácido giberélico, AG₃ (Biogib[®]), N⁶-benziladenina (BA) ^(SIGMA) y ácido-3-indolbutírico (AIB) ^(SIGMA). Las concentraciones usadas de AG₃ fueron 10 y 20 mg·L⁻¹ y en BA y AIB 5 y 15 mg·L⁻¹.

En ambos experimentos el efecto de los reguladores de crecimiento se evaluó durante la poscosecha al final de su almacenamiento refrigerado a 9 °C y posterior exposición por 7 días a 20 °C para simular condiciones de comercialización. Los parámetros considerados para determinar la acción de los reguladores de crecimiento exógenos fueron: índice de color; sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable, ácido ascórbico, daños por frío y pérdidas de peso.

En el primer experimento, los resultados obtenidos revelaron que el tratamiento 30 mg·L⁻¹ de AG₃ + cera, mantuvo mejores características de calidad al final de ambos períodos de almacenamiento. En el segundo año los resultados indicaron que las aspersiones de AG₃ (10 y 20 ppm) combinadas con 5 y 15 mg·L⁻¹ de BA o AIB, respectivamente, tuvieron un mayor retraso de la senescencia, principalmente durante los primeros 35 días de almacenamiento bajo estas condiciones de refrigeración. Después de ese período, en todos los tratamientos se observó una reducción en el contenido de vitamina C y acentuados cambios en la coloración del fruto.

Palabras clave: ácido giberélico, benziladenina, ácido indolbutírico, *Citrus aurantifolia*, daños por frío.

ABSTRACT

The experiments took place in two commercial orchards of Mexican lemon, located in Tecomán, Colima, Mexico, during years 2003 and 2004. In both cases the effects of the preharvest applications were determined, with different growth regulator concentrations, on the foliage of lemon trees; in the first year, concentrations of gibberellic acid (30, 20 and 10 mg·L⁻¹) were proved, and in the second year, combinations of Gibberellic acid (GA₃) (Biogib[®]), 6- (BA) ^(SIGMA) and Indole-3-butyric acid (IBA) ^(SIGMA) were applied. The used concentrations of AG₃ were 10 and 20 mg·L⁻¹ and in BA and IBA, 5 and 15 mg·L⁻¹.

In both experiments, the effect of the growth regulators was evaluated during the postharvest to finish the cold storage at 9 °C and its later exposure throughout 7 days at 20 °C. These conditions were realized to simulate the marketing conditions. The considered parameters to determine the action of the exogenous regulators of growth were: color index, total soluble solids (°Brix), titratable acidity, ascorbic acid, chilling injury and weight losses.

In the first experiment, the obtained results showed that the treatment 30 mg·L⁻¹ of AG₃ + wax, kept the best characteristics of quality at the finish of both storage times. In the second year, the results showed that AG₃ sprayings (10 and 20 ppm) combined with 5 and 15 mg·L⁻¹ of BA or IBA, respectively, caused a greater delay of the senescence, mainly during the first 35 days of storage under these conditions of refrigeration. After that period, in all the treatments it was observed a reduction in the C vitamin content and marked changes in the coloration of the fruit.

Key Words: gibberellic acid, Benzylaminopurine, Indole-3-butyric acid, *Citrus aurantifolia*, chilling injury.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Importancia del cultivo

México es el principal productor mundial de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) con más de 83,000 hectáreas plantadas, (ASERCA, 2002). Es el más versátil de los frutos cítricos en la alimentación, además de sus múltiples usos alimenticios y agroindustriales, presenta un gran valor nutracéutico debido a su alto contenido de Vitamina C (Santana, 2005).

1.2. Volumen y destino de la fruta

La producción del limón mexicano se estima en 1.2 millones de toneladas anuales (SAGARPA, 2004), de las cuales alrededor de 700 mil se destinan al mercado en fresco y el resto, que no cumple con los requisitos mínimos de calidad, se emplea en el sector industrial para la obtención de aceite esencial, terpenos, pectinas, agentes aromatizantes de alimentos y ácido cítrico, entre otros.

Solo el 35% de la producción total se comercializa como fruta fresca y únicamente para abastecer el mercado nacional, toda vez que la exportación es marginal o nula debido a problemas de calidad, no obstante que el mercado de los Estados Unidos, representado por una población de 22 millones de mexicanos, constituye un potencial de exportación estimado en 50 mil toneladas (Saucedo, 2005).

1.3 Problemática

Puesto que los frutos de limón mexicano se comercializan cuando su color es verde intenso y uniforme, entonces el color de la cáscara en los frutos cítricos es uno de los atributos de calidad de mayor importancia y constituye uno de los principales factores en la adquisición de los mismos (Mazzuz, 1996).

Debido a su alto grado de perecibilidad y condiciones de producción poco tecnificadas, los frutos de limón mexicano enfrentan diversos y serios problemas que afectan significativamente su calidad durante el manejo postcosecha. Entre las principales causas de su deterioro se incluyen el marchitamiento, las pérdidas de la textura, debido al estrés hídrico generado por pérdidas de agua a través de toda la superficie de la cáscara, así como diversos tipos de manchado externo originados por la senescencia avanzada y pudriciones causadas por el ataque de microorganismos.

1.4 Justificación del trabajo

La exportación de fruta de limón mexicano aún es incipiente y entre los problemas que limitan su exportación se encuentran la falta de financiamiento para actualizar y modernizar el manejo del cultivo, la inadecuada tecnología de manejo precosecha y postcosecha, la cual afecta significativamente la calidad, el escaso desarrollo de diferentes tipos de empaques, la falta de otras opciones de mercado, la deficiente

organización para comercializar una marca unificada a distintos mercados y en diferentes épocas, además de la falta de producto para operar la mayor parte del año, así como el desarrollo de variedades de limón con calidad para competir en el mercado de exportación.

Durante las fases de cosecha, de manejo de la fruta en campo y de las operaciones de manejo postcosecha (acondicionamiento, empaque, almacenamiento y transporte) resulta significativa la incidencia de frutos con deformaciones, daños físicos, desórdenes fisiológicos (como senescencia, oleocelosis, deficiencias nutricionales, daños por frío, cambios en la atmósfera interna) o por daños derivados de condiciones climatológicas adversas durante la cosecha. Aunado a lo anterior, se presentan pérdidas aceleradas del color verde, marchitamiento por elevadas pérdidas de humedad y cambios indeseables en la calidad organoléptica y nutricional (Medina-Urrutia y Robles-González, 2004).

De esta manera, se ha estimado que cerca del 70% de la fruta cosechada en el Estado de Colima resulta con lesiones por “oleocelosis” y pudriciones ocasionadas por enfermedades durante la cosecha y empaque, siendo muy elevada la proporción de fruta que se destina a la industrialización por efecto de los factores mencionados (Saucedo, 2005).

Así, la conjugación de todos estos factores limita el potencial de almacenamiento, la manipulación y el transporte del fruto, situación que se agudiza si consideramos que las normas de calidad actuales (SAGARPA, 2001) exigen la cosecha de frutos

dentro de un rango de madurez que se basa tanto en el color de la cáscara (verde oscuro, textura lisa y brillante) como de un diámetro mínimo promedio de 34 mm, que corresponde a la categoría 2.

Para solucionar el problema del rápido deterioro, de la corta vida de comercialización y el limitado potencial de almacenamiento al ambiente o refrigerado de los frutos de limón mexicano, se han desarrollado diversas tecnologías, tanto en el plano de la investigación como de su aplicación práctica. Entre las más empleadas se encuentran el uso de ceras, la refrigeración y la aplicación de reguladores de crecimiento tales como el ácido giberélico cuyo uso es el más generalizado mediante aplicaciones programadas en la etapa de precosecha, en combinación con el almacenamiento refrigerado en postcosecha.

De este modo, actualmente es bien conocido el efecto de los reguladores del crecimiento en frutos cítricos en el control de eventos fisiológicos como la floración (Agusti y Almela, 1991); en relación al crecimiento del fruto, en el caso de la mandarina 'Satsuma' las aplicaciones exógenas de ácido giberélico incrementan la formación de xilema y por lo tanto la capacidad del sistema de transporte (Guardiola, 1993). Asimismo, los reguladores del crecimiento influyen en algunas características de la cáscara (grosor y color) en frutos de mandarina 'Satsuma' (Iqbal y Karacali, 2004), por lo que, en este sentido, se ha señalado que las giberelinas exógenas retrasan los cambios en el metabolismo de pigmentos relacionados con el fenómeno de senescencia, tanto en frutos que permanecen en el árbol como en postcosecha de tangerina 'Mineola' (Greenberg *et al.*, 1992).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción botánica

El limón mexicano (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) y el limón 'Persa' (*Citrus latifolia* Tanaka) pertenecen al grupo de las limas ácidas (Saunt, 1992); el árbol de limón mexicano produce frutos de tamaño pequeño, cáscara lisa y delgada, numerosas semillas y jugo extremadamente ácido, mientras que los árboles de limón persa producen fruta de tamaño grande, cáscara rugosa, sin semilla y moderadamente ácidos.

Desde el punto de vista botánico los frutos de limón constituyen una baya característica denominada hesperidio; anatómicamente el pericarpio está compuesto por la cutícula, el epicarpio y los tejidos subepidérmicos, todos los cuales reciben el nombre de "flavedo" y en donde se lleva a efecto una alta actividad metabólica relacionada con los cambios en color, transporte de agua y gases y aquellos relacionados con la textura. El mesocarpio constituye la porción blanca de la cáscara, la cual es rica en pectinas y tejidos de parénquima y recibe el nombre de "Albedo"; en tanto que la capa delgada que rodea a la parte comestible o gajos, que a su vez contienen vesículas llenas de jugo, recibe el nombre de endocarpio (Burns *et al.*, 1994). En una descripción completa del fruto, realizada previamente por Schneider (1968), se determinó que la estructura del fruto está formada por pericarpio, vesículas, septos y eje. La capa epidermal externa es la principal

responsable de la síntesis de los elementos que componen tanto la cutícula como las ceras cuticulares que se acumulan en la parte interna (intracuticulares) y externa (epicuticulares) (Albrigo, 1986).

Las ceras epicuticulares constituyen la primera barrera externa de la superficie de un fruto y está constituida por una acumulación de compuestos alifáticos de cadena larga principalmente alcanos, ácidos grasos alcoholes, aldehídos, ésteres y compuestos relacionados (El-Otmani *et al.*, 1989; Báez *et al.*, 1993).

2.2 Condiciones ambientales y época de floración

Aunque el limón mexicano se cultiva en diferentes condiciones de clima y tipos de suelo, en México los climas más favorables para su crecimiento y producción son los trópicos cálidos con temperaturas que oscilan entre 24 °C y 30 °C. En el país existen superficies que reúnen las condiciones edafoclimáticas requeridas por este cítrico en la costa del pacífico, desde Oaxaca hasta Sinaloa (Medina-Urrutia, 1997). En Colima, esta planta crece, florece y fructifica durante prácticamente todo el año, ya que se ha observado que se presentan varios flujos de floración durante un período que se extiende desde noviembre hasta abril. La primera floración importante se inicia en noviembre cuando comienza el primer ciclo de riegos. La intensidad de esta floración aumenta en la medida en que se intensifica la duración del período de sequía, previo al primer riego. Después se presentan de dos a tres floraciones sucesivas a partir de diciembre, las cuales tienen relación con las temperaturas frescas de invierno (Medina-Urrutia *et al.*, 2001).

2.3 Duración del período de floración a cosecha

La calidad externa e interna de la fruta entre épocas de cosecha es variable, debido a las condiciones ambientales, al manejo de las plantaciones y al manejo rudo o cuidadoso de la fruta durante la cosecha, lo cual repercute en la duración de la vida de anaquel del fruto en postcosecha. Como consecuencia de las múltiples floraciones y las condiciones variables de clima, el período de cosecha se extiende de abril a octubre. Las cosechas que se obtienen entre abril y mayo provienen de floraciones de noviembre-diciembre por lo que tardan alrededor de 140 días en alcanzar su tamaño apropiado para el corte. Los frutos de las floraciones de primavera, en marzo y abril, tardan de 110 a 130 días hasta la cosecha. En cambio, los frutos de verano se desarrollan más rápidamente y alcanzan su tamaño final en 90 a 100 días. Estas diferencias en la duración del crecimiento y desarrollo en los frutos, se deben fundamentalmente al efecto de las temperaturas registradas en las diferentes épocas. Además, la posición de los frutos al exterior o al interior del árbol, influye en el período de maduración de los frutos, puesto que los frutos sombreados tardan más tiempo en terminar su desarrollo. Por otra parte, las condiciones de manejo del huerto también influyen en el crecimiento, en la maduración, así como en la calidad del fruto y en el manejo poscosecha (Medina-Urrutia, 1984).

2.4 Etapas de crecimiento del fruto

Bain en (1958) definió que el crecimiento del fruto de naranja 'Valencia' después del amarre del fruto se ajusta a una curva 'Sigmoidal Simple'. Al igual que los demás

cítricos, los frutos de limón mexicano se ajustan a este tipo de crecimiento, con tres fases bien definidas de la siguiente manera:

La fase I está determinada por los procesos de división celular, mediante los cuales se producen casi todas las células que contendrá el fruto maduro. La mayor parte de este tipo de crecimiento se efectúa en la pared del ovario hasta formarse la cáscara del fruto y cuyas células, en el exocarpio y en el endocarpio, se dividen continuamente.

Esta fase cuenta con dos mecanismos de diferenciación celular independientes que establecerán las características específicas de cada tipo de célula y tejido, y que darán lugar a las diferentes partes del fruto. La división celular continúa en la corteza hasta la maduración del fruto (Guardiola *et al.*, 1988). De acuerdo con diferentes autores, esta fase varía entre 4 y 9 semanas dependiendo de la especie y condiciones climáticas. García-Luis *et al.* (1985), reportaron ocho semanas de duración en esta fase para la naranja 'Valencia Late'.

La fase II corresponde al alargamiento o crecimiento celular y constituye un período en que los cambios anatómicos y fisiológicos ocurren con mayor rapidez. Hay un crecimiento en volumen del fruto que continúa hasta la fase de maduración, debido tanto al incremento del volumen de las células individuales, como a la expansión de la pulpa y al incremento del contenido de jugo en las vesículas.

La fase III se corresponde con la disminución de la velocidad del crecimiento del fruto y con numerosos cambios en la composición química, relacionados con el

proceso madurativo, con el desarrollo del aroma y el sabor de los frutos, a expensas de los constituyentes acumulados durante el proceso de desarrollo (Davies y Albrigo, 1998). En esta fase, se incrementan los compuestos nitrogenados y disminuye el ácido cítrico, a partir de un máximo obtenido en las etapas tempranas del desarrollo. Esta última etapa resulta de vital importancia para la calidad de los frutos cítricos, ya que diversos factores pueden afectar significativamente el tamaño, la acumulación de jugo, el color externo y el contenido de constituyentes químicos, tal como observaron Guardiola y Lázaro (1987) en frutos de mandarina 'Satsuma' (*Citrus reticulata*) y Laskowski *et al.* (2006) en naranja 'Salustiana' (*Citrus sinensis*).

2.5 Maduración y senescencia

Fisiológicamente, los frutos cítricos como el limón mexicano presentan un comportamiento no climatérico (Goldschmidt, 1997), por lo que su maduración puede ocurrir en el árbol (Monselise, 1986), sin presentar cambios significativos en la velocidad de respiración y en la producción de etileno. En este caso, la inducción de la actividad enzimática asociada con los cambios en color, sabor, textura y síntesis de aromas, parecen no estar coordinadas por la producción de etileno, sino con la disminución de los inhibidores de la maduración, tales como las auxinas, giberelinas y citocininas (Goldschmidt *et al.*, 1977; Ben-Yehoshua *et al.*, 1995). Una característica importante en el comportamiento fisiológico de estos frutos es su alta actividad respiratoria en la cáscara, en relación al resto de los tejidos, la cual de acuerdo con Murata (1997), resulta hasta diez veces más alta que la de las

vesículas, de ahí que sea en los tejidos de la cáscara donde se presentan los mayores cambios relacionados con la senescencia.

Dos de los principales factores de deterioro que afectan significativamente la calidad de los limones en postcosecha son las altas pérdidas de agua por transpiración que aceleran el marchitamiento de la cáscara y las pérdidas del color verde externo o amarillamiento. Ambos factores están relacionados con el fenómeno de senescencia que entre otros procesos involucra la disminución de la capacidad fotosintética, las pérdidas en el contenido de clorofila y los cambios en la permeabilidad de membrana, los cuales favorecen las pérdidas de agua de células y tejidos (Buchanan-Wollaston, 1997).

Ante estas condiciones, el encerado es una práctica postcosecha que tiene como objetivos restituir y aumentar las ceras naturales que se pierden, además de crear una atmósfera modificada que permita retrasar los procesos metabólicos y por lo tanto la evolución de la senescencia, pero también reducir las pérdidas de agua por transpiración y mejorar la apariencia de los frutos (McGuire y Hallman, 1995; Baldwin *et al.*, 1997). La efectividad del encerado depende del tipo de cera, del contenido de sólidos y del pH; al respecto, se ha señalado que la cera de carnauba es mucho más permeable a los gases y relativamente hidrofóbica por lo que presenta una buena barrera a la pérdida de humedad; por su parte, las cubiertas de polisacáridos son hidrofílicas y generalmente tienen más alta permeabilidad a vapor de agua (Hagenmaier y Shaw, 1992; Hagenmaier y Baker, 1993).

De este modo, varios autores han demostrado que el encerado del fruto, empleado durante el empacado, aumenta el dióxido de carbono y reduce el oxígeno al interior del fruto cítrico, lo que a su vez disminuye los procesos metabólicos (Ben-Yehoshua, 1969; El-Otmani *et al.*, 1986).

2.6. Reguladores del crecimiento

Antecedentes

En México, la mayor parte de la producción se presenta en los meses de junio a septiembre, época que coincide con los precios más bajos en el mercado nacional (ASERCA, 2002). La producción de los frutos es escasa en el resto del año, sobre todo en los meses de diciembre a abril, cuando se alcanzan los precios más altos y el cultivo es más rentable. Así, además de ser bajo el rendimiento, la calidad de los frutos no es adecuada a causa del manejo deficiente del cultivo (Medina-Urrutia *et al.*, 1993).

A partir de la década de los años 50 del siglo pasado, diversos investigadores como Coggins y Hield (1958) observaron que las aspersiones diluidas de ácido giberélico (AG_3) retardaron la pérdida de clorofila en naranja *Citrus sinensis* 'Navel'; posteriormente (Goldschmidt *et al.*, 1977), encontraron que en naranja 'Shamouti' (*Citrus sinensis* L. Osbeck) las aplicaciones de giberelinas y Benzil Adenina (BA), durante la etapa de senescencia, retrasan los efectos de cambio de color que el

etileno produce sobre la cáscara de estos frutos cítricos y además disminuyen sus tasas respiratorias.

En los cítricos, esta bien documentado por diversos investigadores, el efecto de los reguladores del crecimiento: giberelinas especialmente AG₃, auxinas (ácido indolacético) y citocininas en específico Benzil Adenina (BA), en el retraso del cambio de color de la cáscara y otras características de senescencia en frutos cítricos (Monselise, 1979); en naranja (Goldschmidt y Galili, 1974); en mandarina clementina (Guardiola *et al.*, 1981) y en limón (*Citrus limon* (L) Burm. f. cv. ('Lisbon') El-Zeftawi (1980). Ante esta situación, persiste la hipótesis de que la regulación de la senescencia de los frutos podría realizarse mediante la interacción y el antagonismo entre los niveles de AG₃ y BA, con los de ácido abscísico (ABA) y etileno (García-Luís *et al.*, 1986).

Los reguladores del crecimiento intervienen en la fructificación, en el crecimiento, en la maduración, en la senescencia, así como en el control de diversos desórdenes fisiológicos y en la calidad de la fruta de diversos cítricos, lo cual se ha venido estudiando desde hace varios años. Considerando que el crecimiento de los frutos pequeños se debe a la acumulación de materia seca y agua, resulta por ello importante el abastecimiento de fotosintatos y el efecto de competencia entre los frutos, durante las primeras etapas del crecimiento. La alta relación entre el rendimiento final y la cantidad de frutos por árbol, indica que la demanda de asimilados por el fruto es el principal factor limitante en el crecimiento. Por otra parte, el peso individual del fruto está inversamente relacionado a la cantidad de frutos por

árbol (Guardiola *et al.*, 1988), lo cual demuestra un efecto de competencia dado por la disponibilidad de fotosintatos y el crecimiento del fruto. Por ello, desde el punto de vista de los cambios estacionales en la composición de la hoja, los carbohidratos parecen ser el factor limitante en el crecimiento del fruto como la mandarina clementina, aunque en algunos casos la competencia por minerales también puede ser un factor de gran importancia en esta etapa (Van Rensburg *et al.*, 1996).

Debido a que el tamaño final alcanzado por los frutos es consecuencia del abastecimiento de metabolitos y la capacidad de demanda de los mismos, para incrementar el tamaño de los frutos es necesario realizar algunas prácticas de cultivo, tales como raleo, el anillado, las podas y la fertilización, así como también el uso de hormonas con el fin de incrementar la disponibilidad de metabolitos y con ello favorecer un mayor tamaño de frutos (Agustí y Almela, 1991). Por otro lado, Guardiola *et al.* (1993), reportaron que el crecimiento del fruto en mandarina 'Satsuma' (*Citrus unshiu* (Mak.) Marc.) y por tanto su tamaño final, se incrementaron por efecto de la aplicación de auxina sintética 2,4,5-T (ácido 2,4,5 triclorofenoxiacético), la cual tuvo un efecto específico en el aumento de los jugos vesiculares.

2.7 Control de la maduración

Muchos de los aspectos relacionados con la maduración de los frutos cítricos se encuentran bajo control hormonal. En los frutos, la coloración y la maduración

interna, a pesar de ser coincidentes en el tiempo, son dos procesos distintos y regulados, probablemente, por diferentes sustancias El-Zeftawi (1980).

En el caso de limón mexicano son pocos los estudios realizados sobre la eficiencia de la aplicación de giberelinas, solas o en combinación con auxinas y citocininas, respecto a la calidad y el control de la maduración.

La aplicación de AG₃, antes de que el fruto cambie de color, retrasa la degradación de las clorofilas y la acumulación de carotenoides en su corteza. Este efecto se halla asociado a un retardo de la senescencia, lo que permite retrasar la recolección del fruto sin pérdidas apreciables de su calidad. La adición de compuestos nitrogenados estimula esta acción del ácido giberélico (Coggins, 1986; Iglesias *et al.*, 2001).

También, se ha observado que las auxinas, en concentraciones determinadas, retardan la evolución de la maduración y la senescencia en diversos frutos de jitomate (Brady, 1987). Esta última respuesta de retraso en la maduración y senescencia, también se ha obtenido en mandarina Clementina (*Citrus reticulata* [Hort] Ex. Tanaka, cv. 'Nules', mediante la aplicación de diferentes reguladores en combinaciones de 0 y 10 ppm, de ácido giberélico AG₃ y de Benzil Adenina BA en concentraciones de 0 y 10 ppm. Al Realizar las aplicaciones el 15 y 30 de octubre, así como el 15 de noviembre, se observó que los tratamientos a través de los cuales se manifestaron los mejores resultados fueron los que se aplicaron a mediados de octubre (Báez, 1991).

Previamente (Coggins y Hield, 1958; Goldschmidt, 1997) reportaron que el AG₃, solo o en combinación con BA, permite lograr un retraso en la maduración y en la senescencia de cítricos; asimismo, (Fidelibus *et al.*, 2002^a) encontraron que las aspersiones foliares de AG₃ redujeron temporalmente el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) del jugo de la tangerina 'Sunburst', además de que los frutos presentaron una coloración más verde y la cáscara resultó más resistente a los daños por punción, en relación con los frutos de los árboles testigo.

Así pues, el efecto antagónico o sinérgico de los reguladores del crecimiento constituye uno de los aspectos importantes a considerar con respecto a tratamientos sobre el fruto de limón mexicano.

De acuerdo con García-Luis *et al.* (1985), las aplicaciones de AG₃ de 10 mg·L⁻¹, en frutos de mandarina 'Satsuma', no afectan el crecimiento del fruto pero previenen desórdenes fisiológicos de la cáscara, aumentan su resistencia y además reducen la velocidad de pérdidas de clorofila asociada con el proceso de maduración. Además García-Luis *et al.* (1986) han señalado, en estudios realizados sobre mandarina 'Satsuma' (*Citrus unshiu* (Mak.) Marc, que tanto las citocininas como las giberelinas muestran un efecto antagónico con respecto al etileno, principalmente en la degradación de clorofila en la cáscara de cítricos (flavedo y albedo), mientras que las citocininas sólo son capaces de antagonizar con el efecto del etileno). En concordancia con estas observaciones, la respuesta diferencial a la maduración de la cáscara de cítricos a las aplicaciones de AG₃ y citocininas, no se ve influida por

la composición de la cáscara y de esta manera, los efectos fisiológicos del AG₃ sobre la corteza (flavedo y albedo) de los frutos de mandarina 'Satsuma' pueden atribuirse a la interacción del AG₃ con la membrana celular (Iqbal y Karacali, 2004).

Por otro lado, diversos trabajos sugieren que los cambios de color en los frutos no climatéricos, los cuales producen bajas cantidades de etileno durante su maduración, que regulan la senescencia de los frutos, podrían llevarse a cabo mediante la interacción y el antagonismo entre los niveles tanto de ácido giberélico AG₃ y BA, como del Ácido Abscísico y el Etileno en la cáscara del fruto (Goldschmidt and Galili, 1974). De este modo, luego de la reducción natural de ácido giberélico endógeno, los cambios de color en la cáscara de los frutos pueden ser estimulados por los niveles basales de etileno endógeno, a través de la síntesis *de novo* de la clorofilasa. En éste sistema, el AG₃ parece jugar un papel como regulador de clorofila inhibiendo o reduciendo la síntesis y, eventualmente, controlando los tiempos de desaparición de la clorofila en el epicarpio de frutos de mandarina 'Satsuma' c.v. Okitsu (Iglesias *et al.*, 2001).

En otros estudios, se encontraron evidencias de que la aplicación de la auxina 2,4 D (ácido 2-4 diclorofenoxiacético) y de ácido giberélico (AG₃), retardaron significativamente los cambios en el color y en el ablandamiento de la cáscara de frutos de mandarina 'Clementina' y naranja 'Washington Navel' (El-Otmani y Coggins, 1991). Puesto que previenen la caída de frutos al evitar la degradación de las células en la zona de abscisión, la mezcla de estos reguladores retrasa la síntesis de enzimas hidrolíticas, tales como celulasa, la cual descompone la pared

celular y retarda el ablandamiento y la senescencia de la piel durante el almacenamiento postcosecha prolongado (Almeida *et al.*, 2004).

Por otro lado (Báez *et al.*, 1993) al realizar aplicaciones AG₃ y BA en mandarina Clementina (*Citrus clementina* [Hort]. Ex Tanaka) encontraron que la mezcla de estos reguladores es más eficiente en mantener la permeabilidad de la cutícula y además para evitar desórdenes fisiológicos, que cuando cada hormona se aplica individualmente, principalmente en los períodos iniciales de los cambios en color de los frutos, lo que resulta en un retraso en las pérdidas del color verde, además de reducir la incidencia de desórdenes fisiológicos.

Además, se ha reportado que el efecto de los reguladores del crecimiento sobre la senescencia se circunscribe al metabolismo de las ceras extra e intracuticulares en las capas exteriores del pericarpio; en este sentido, el AG₃ influye en la moderación de los cambios, así como en el aumento en el contenido de la cera epicuticular, así como en las cantidades de dióxido de carbono de la atmósfera interna del fruto en naranja 'navel', teniendo además como efecto la reducción de las pérdidas de peso y velocidad de respiración (El-Otmani *et al.*, 1986). Pese a lo anterior, se debe tener presente que estas ceras generalmente cambian en cantidad y composición durante la maduración y senescencia y se pierden por efecto de diversas operaciones inherentes al manejo postcosecha, como el lavado, cepillado y otros (Hall, 1981).

2.8 Frigoconservación y daños por frío.

El factor externo de mayor importancia que ayuda al control de la maduración del fruto es la temperatura; por esa razón, su manejo adecuado es fundamental para asegurar la conservación de los productos hortofrutícolas frescos (Thompson, 1996). Las temperaturas que usualmente se utilizan para la conservación, por lo general son ligeramente superiores a 0 °C. Sin embargo, a estas temperaturas y aun a temperaturas muy por arriba del punto de congelación, los frutos de origen tropical o subtropical sufren daños por frío DPF (Lyons *et al.*, 1979). Son muy numerosas las disfunciones celulares y las alteraciones fisiológicas y bioquímicas que induce el frío no congelante, pues generalmente estimula la tasa respiratoria y la emisión de etileno, reduce la fotosíntesis e interfiere en la producción de energía, aumenta la energía de activación, retrasa la fluidez del protoplasma, aumenta la permeabilidad de la membrana, inactiva algunas enzimas, desarregla la membrana y altera la estructura celular (Wang, 1982, 2000).

Nobel (1974) en estudios realizados en algunas especies sensibles al frío como frijol (*Phaseolus vulgaris* L) y jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), demostró que el frío disminuye la permeabilidad de la membrana de los cloroplastos expuestos a bajas temperaturas. Además, el efecto primario que da lugar a la incidencia de procesos fisiológicos y bioquímicos relacionados con la desintegración del sistema de membranas (tonoplasto), provoca la salida de solutos, la pérdida de compartimentalización, la disminución en la velocidad de la actividad oxidativa de la

mitocondria, incrementa la energía de activación de las enzimas asociadas, la reducción en la velocidad de fotosíntesis, la desorganización de la estructura celular y subcelular, la disfunción y pérdida del balance del metabolismo, la acumulación de sustancias tóxicas, así como la manifestación de otros síntomas característicos de los DPF (Markhart, 1986).

Asimismo, en la mayoría de los frutos tropicales y subtropicales como los pomelos, se presentan numerosos desórdenes fisiológicos por frío DPF cuando son almacenados durante períodos variables en el rango de entre 0 y 10 °C (Paull, 1990).

En síntesis, puede decirse que el daño por frío desencadena un proceso que se manifiesta en diversos desórdenes fisiológicos cuyas causas aún se desconocen, aunque existen ciertas evidencias de que la refrigeración puede imponer un estrés oxidativo sobre el tejido vegetal en especies susceptibles al frío, como es el caso de las mandarinas de los cultivares 'Nova' y 'Fortuna' (Sala, 1998).

Los síntomas asociados al estrés por bajas temperaturas varían en función de la especie, del tipo de tejido, del estado de madurez y del metabolismo relacionado con la maduración y la senescencia. Los síntomas de estrés se intensifican y se vuelven notorios, cuando el fruto es llevado a temperaturas superiores a las críticas (Morris, 1982). Los desórdenes fisiológicos postcosecha provocados por el frío en frutas y hortalizas almacenadas son muy diversos, aunque se pueden distinguir dos categorías que pueden coexistir y desarrollarse simultáneamente. La primera es de tipo cualitativo y consiste en anomalías del desarrollo o del metabolismo, como es el caso

de la maduración incompleta del tomate y papaya (Hardenburg *et al.*, 1990; Artés *et al.*, 2000).

La segunda categoría de DPF, la integran verdaderas enfermedades que presentan muy variadas manifestaciones como las depresiones de la piel o picado, las cuales afectan hasta el 60% de las especies de frutas y hortalizas de regiones tropicales y subtropicales.

Así por ejemplo, los síntomas de daños por frío en la mandarina Fortuna (*Citrus clementina* Hort Ex Tanaka x *C. reticulata* Blanco) que es una variedad tardía susceptible a desórdenes cuando se almacena a temperaturas inferiores a 10°C, incluyen excesivas pérdidas de peso, el picado superficial y la presencia de áreas necróticas. (Martínez-Javega *et al.*, 1992). En el limón (*Citrus limon* (L.) Burm. f.), se presentan otros desórdenes fisiológicos como la peteca, que se caracteriza por el desarrollo de lesiones necrosadas, hendidas, que afectan en un principio al albedo y, en casos severos, llega a manifestarse en el flavedo, además de que se alteran las concentraciones de calcio y potasio en la cáscara (Latorre, 1992). Las células que rodean las glándulas de aceite se rompen y en los tejidos afectados con peteca se encuentran en abundancia cristales de oxalato de calcio (Palma *et al.*, 1998; Undurraga *et al.*, 2006).

Además del desorden mencionado anteriormente, se presentan pardeamientos internos o superficiales (escaldadura) típicos de cítricos, granada, aguacate, piña y papa. También se observa con frecuencia el oscurecimiento de las membranas

carpelares o membranosis en frutos de limón (*Citrus limón*) y de granada (*Punica granatum*), además del debilitamiento en la resistencia a daños mecánicos (Hardenburg *et al.*, 1990; Artés, 1995; Artés *et al.*, 2000), e incluso un incremento en la deshidratación en jícama (*Pachyrhizus tuberosus*), después de dos semanas a temperatura inferior a 13 °C (Mercado-Silva y Cantwell 1998).

Una interpretación razonable sobre la aparición de pardeamientos en los tejidos vegetales que sufren daños por frío, es que son una consecuencia de desarreglos celulares producidos por la refrigeración sin necesidad de que ocurran daños mecánicos que incrementen la permeabilidad del tonoplasto. Ello posibilitaría la reacción entre compuestos fenólicos disueltos en la vacuola, con enzimas como la polifenol oxidasa presente en el citoplasma produciendo el pardeamiento (Côme y Corbineau, 1994; Artés y Artés-Hernández, 2003) y en la actividad de la fenilalanina amonio liasa, responsable de la biosíntesis de los sustratos fenólicos y de la polifenol oxidasa en cítricos como la mandarina 'Fortuna', sometidos a daños por frío (Martínez-Téllez y Lafuente, 1993).

Otra forma de cuantificar los DPF consiste en determinar la pérdida de electrolitos puesto que ésta se incrementa con el tiempo de exposición a temperaturas de estrés en frutos de *Citrus limon* (Vázquez *et al.*, 1998).

En general, los frutos de limón son muy sensibles al desorden fisiológico denominado daño por frío DPF; en esta especie se presenta cuando los frutos se almacenan a temperaturas inferiores a 10°C. Esto limita el empleo temperaturas

aún más bajas y/o mayores tiempos de almacenamiento, puesto que el limón resulta sensible a este desorden fisiológico aún a temperaturas de 10 ± 1 °C y 85-90% de humedad relativa, lo que se manifiesta como picado del flavedo y la membranosis (Wills *et al.*, 1998); Otros autores han observado que la temperatura crítica para limón (*Citrus limon* cultivar 'Eureka') es de 13°C, debido a que temperaturas inferiores propician desórdenes como manchado, picado y membranosis (Leguizamon *et al.*, 2001). Además, diversos autores indican que existen varios factores genéticos, fisiológicos y bioquímicos e incluso las condiciones térmicas del cultivo, que pueden favorecer los DPF (Watada, 1982; Marcellin y Ulrich, 1983; Luchsinger y Artés, 2000).

El efecto primario de las temperaturas de refrigeración inductoras de DPF, se manifiesta inmediatamente sobre la estructura y composición de las membranas vegetales, ya que aumenta la microviscosidad de la matriz lipídica y la rigidez de las membranas, las cuales adquieren una estructura gel-cristalina, redistribuyendo las proteínas integradas que son expulsadas de las zonas lipídicas rígidas. Los cambios en la temperatura del medio ambiente afectan también el funcionamiento de las enzimas y de los transportadores presentes en la matriz lipídicas de las membranas. Por lo anterior se alteran los intercambios a través de la membrana lo que modifica la permeabilidad y perturba las funciones celulares que, en los casos más graves, produce una pérdida de electrolitos y metabolitos entre los diversos compartimientos celulares y entre las células y el medio, llegando incluso a la ruptura de las

membranas, necrosis y muerte del órgano de la planta (Artés y Artés-Hernández 2003).

Con frecuencia, el frío moderado produce efectos directos y colapsantes sobre las membranas, con la consecuente alteración de la célula. La magnitud del daño depende de la intensidad y duración de la baja temperatura. Además, el tratamiento de frío también puede tener una acción más gradual y duradera, que conduce a una alteración inicial primaria e indirecta del metabolismo e incluso a un desequilibrio hídrico, que da lugar a una alteración secundaria cuyas consecuencias a pesar de poder ser reparables, dependen del estado fisiológico del fruto (Marcellin, 1992). De esta manera, se ha observado que los frutos inmaduros son más sensibles al frío que los maduros, independientemente de que sean climatéricos o no (Artés y Fernández-Trujillo, 1999).

Los reguladores del crecimiento siempre afectan procesos bioquímicos y fisiológicos y tanto su nivel como su balance son factores importantes que van a regular la resistencia al daño por frío (Wang, 1991).

2.9 Síntomas de daños por frío

Aunque no se conoce exactamente el desarrollo de los DPF, se sabe que estos tienen lugar en dos fases sucesivas. La primera se puede prolongar desde algunas horas (como en el caso de la banana o de la chirimoya) hasta algunos meses (manzana y pera), aunque lo más frecuente es una duración de aproximadamente dos semanas (como sucede en pepino, ejote, tomate o cítricos). Así, en un período

inicial donde las alteraciones son tan poco severas que no se manifiestan los síntomas, se constituye la fase umbral de inducción o fase de latencia y los productos pueden retornar a un estado normal por simple calentamiento superior a la temperatura crítica. La segunda fase tiene lugar cuando, superado el umbral de inducción, aparecen los síntomas y su establecimiento es ya irreversible, por lo que la aplicación de una elevación moderada de la temperatura solo contribuye a acelerar su desarrollo (Artés, 1995).

Entre los desórdenes correspondientes a DPF presentes en el limón mexicano, la oleocelosis y el picado, que ocurren más rápidamente en frutos golpeados y raspados, son los factores más importantes debido a que acondicionan o inducen la susceptibilidad de la fruta en el padecimiento de los desórdenes antes mencionados, lo cual demerita de manera importante su calidad en postcosecha.

La cáscara del limón mexicano, *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle, es delgada y delicada; por ello, cuando los frutos se someten a temperaturas de 7 y 10 °C, se presentan daños por frío aún cuando estén protegidos con emulsiones cerosas (Bosquez-Molina *et al.*, 2003). Además de los daños externos, también ocurren alteraciones internas que trastornan la respiración, provocando anaerobiosis, lo que trae consigo la acumulación de metabolitos como el acetaldehído y el etanol, los cuales en concentraciones relativamente altas resultan tóxicos a tejidos y confieren mal sabor a los frutos, por lo que pueden ser indicadores en la evaluación de las alteraciones organolépticas, fisiológicas y patológicas antes de que se manifiesten los síntomas de DPF (Couey, 1982).

La oleocelosis está reconocida como un desorden de la superficie de la cáscara del limón (*Citrus limon*) Obeland *et al.* (1996); Obeland *et al.* (1997), puesto que la refrigeración incrementa grandemente la liberación de d-limonina, el aceite esencial más abundante en los limones (Shaw, 1979) caracterizado por una decoloración café que se presenta como consecuencia de la liberación del aceite de las glándulas oleíferas sobre la cáscara de las frutas dañadas (Sinclair, 1984). En el caso del limón mexicano, este problema es ocasionado principalmente por las condiciones climatológicas que se presentan durante la cosecha, principalmente por la combinación de una alta humedad relativa y el manejo rudo de la fruta durante la cosecha. Este desorden es frecuente en frutos húmedos expuestos al sol, en frutos golpeados, etc. Si los aceites son liberados internamente conducen a un colapso del tejido y al desarrollo de síntomas del daño (Obeland, *et al.*, 1996).

El picado es un desorden de la cáscara que afecta la fruta almacenada en condiciones de elevadas temperaturas, después de haberse mantenido a baja temperatura. El desorden se caracteriza por las rupturas de las glándulas de aceite dispersas en la superficie de la fruta, inicia en áreas pequeñas que forman lesiones de color rojizo a negro, las células epidérmicas como consecuencia de la ruptura del tonoplasto se ha estudiado con amplitud en toronja, mandarina y naranja Valencia (Agustí, 2000). También se ha observado en otros cultivares, incluyendo las naranjas Washington 'Navel' y 'Valencia' cultivadas en Florida USA. Las picaduras ocurren de manera intermitentemente dependiendo de las condiciones ambientales y prácticas culturales y los daños ocurren con mayor severidad en la

fruta de tamaño grande. Las picaduras son causadas principalmente por los bajos niveles de oxígeno dentro de la fruta, por el alto contenido de humedad y por el mal manejo postcosecha.

Petracek *et al.* (1998) y Dou (2003), indican que los frutos de pomelo que resultan con picado incrementan sus concentraciones de dióxido de carbono y etanol, además de que muestran una disminución en las concentraciones de oxígeno. El contenido de acetaldehído y etanol del jugo cítrico depende de la variedad, del grado de madurez, del espesor del recubrimiento céreo, de la duración y de la temperatura de almacenamiento (Norman, 1977).

2.10 Pérdida fisiológica de Peso

La pérdida de agua es la principal causa de deterioro, ya que ésta no solo resulta en una pérdida directa de peso comercial del fruto, sino que también afecta su apariencia pues se presenta con síntomas de marchitamiento y endurecimiento de la piel, así como con manifestaciones de alteración en la calidad nutricional y reducción del ácido ascórbico. La tasa de transpiración es afectada por características morfológicas y anatómicas de la fruta como son la relación superficie/volumen, la etapa de maduración y la presencia de la cutícula selectiva, que les permite llevar a cabo el intercambio de agua y gases con el medio ambiente. Sin embargo, conforme se van presentando los signos de madurez y de senescencia, la permeabilidad de esta membrana se modifica, lo que repercute en

una disminución de la capacidad de retención del agua, todo lo cual se suma a los daños en la superficie ocasionados por el mal manejo durante la cosecha.

Además, es muy común que en los frutos almacenados se presente una reducción del peso al final del período de almacenamiento. Esto se debe a que después de la cosecha las pérdidas no pueden ser reemplazadas por la planta; no obstante, la transpiración es un proceso físico que puede ser controlado por el empleo de tratamientos al fruto, como es el caso de las ceras o por manipulación de las condiciones ambientales mediante el establecimiento de una alta humedad relativa (Kader, 1992).

2.10.1 Aplicación de ceras

La aplicación de compuestos cerosos es de gran interés porque influye en el mantenimiento de la calidad de la fruta durante el período de almacenamiento. En el caso de los frutos cítricos, esta aplicación tiene como finalidad modificar la atmósfera interna de los frutos, reducir su tasa de respiración y aminorar su deshidratación, lo que trae consigo una disminución en las pérdidas fisiológicas de peso y una mejora en la calidad postcosecha, lo cual se ha comprobado en mandarinas cv. 'Clemenules' (Pérez-Gago *et al.*, 2003). Además, los estudios de Meza-Rangel (2001) indican que las ceras reducen las manifestaciones de daños por frío en frutos de toronja 'Ruby Red' (*Citrus paradisi* Macf.) a temperaturas de 1.1 °C durante 17 días de almacenamiento.

Actualmente existe una gran variedad de ceras susceptibles de utilizarse como protectoras de las frutas; la cera de carnauba es relativamente hidrofóbica y presenta una buena barrera a la pérdida de humedad, mientras que las cubiertas de polisacáridos son hidrofílicas y por eso generalmente tienen más alta permeabilidad al vapor de agua (Hagenmaier y Shaw, 1992).

2.11 Métodos de reducción de daños por frío

El acondicionamiento del fruto a temperaturas moderadas, previas al almacenamiento frigorífico, puede aumentar la resistencia al frío. Esto podría estar relacionado, en algunos frutos, con un aumento de los ácidos grasos insaturados, de ácido abscísico, escualeno o poliaminas. Esta metodología de acondicionamiento se ha utilizado con éxito en pomelos, limas y limones (Aung *et al.*, 1998; Martínez-Jávega *et al.*, 1997).

2.12 Compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos

Las reacciones que involucran las especies activas de oxígeno son características intrínsecas de maduración y senescencia; ellas promueven los procesos de deterioro oxidativo que contribuyen a un deterioro general del metabolismo celular (Thompson *et al.*, 1987; del Río *et al.*, 1998). Los frutos desarrollan mecanismos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para eliminar las moléculas menos reactivas tales como O_2^- y H_2O_2 y de ese modo retardar la senescencia durante la poscosecha. Por ejemplo, en una reacción no enzimática, α -tocoferol actúa como un antioxidante para reducir los radicales oxi y el oxígeno simple. De manera similar,

los carotenoides actúan sobre el oxígeno simple ó *singlete* ($^1 O_2$) dentro de la matriz lipídica y actúan al igual que el ácido ascórbico sobre los peróxidos en un medio no lipídico; por lo tanto, mantienen la concentración de especies oxidantes reactivas en un nivel bajo y permiten la degradación autocatalítica de lípidos (Pastori y del Río, 1997; Mathieu *et al.*, 1998).

Los antioxidantes α -tocoferol, ácido ascórbico y, en menor grado, carotenoides, actúan en la reducción del daño oxidativo en los frutos senescentes. Esta acción es disminuida en gran parte después de la cosecha del fruto por las altas o bajas temperaturas, por la pérdida de humedad del fruto y por las alteradas atmósferas gaseosas circundantes (Hultin y Milner, 1978). Asimismo, durante la maduración se puede mantener un balance entre la producción de especies activas de oxígeno y su retiro por los sistemas antioxidantes; en cambio, durante la senescencia, la célula ya no puede mantener este equilibrio.

Por lo anterior, considerando la acelerada senescencia, la elevada sensibilidad a daños mecánicos, los diversos desórdenes fisiológicos, así como las fuertes pérdidas de agua por transpiración que se observan en los frutos de limón mexicano durante la postcosecha, se planteó el presente estudio con la finalidad de evaluar el efecto de la aplicación de reguladores del crecimiento sobre el control de los diversos factores causantes del deterioro y con esto reducir las pérdidas de calidad durante su manejo postcosecha. El ácido giberélico es un regulador del crecimiento vegetal, que retrasa los desórdenes fisiológicos de la cáscara inherentes a la senescencia a los cítricos (Davies, 1986). Investigaciones más recientes (Fidelibus

et al., 2002^b) consignan el efecto de este regulador en el mejoramiento de las características mecánicas de la cáscara como son resistencia a la ruptura, elasticidad y extensibilidad.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Definición de experimentos

Para el logro de los objetivos planteados, durante los años 2003 y 2004 (Cuadro 1) se establecieron dos experimentos:

Cuadro 1. Relación de experimentos establecidos

Experimento	Título	Año
1	Evaluación del efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG ₃) en pre-secha, en la calidad de los frutos de limón mexicano almacenados en refrigeración y en condiciones de comercialización.	2003
2	Evaluación de la combinación de los biorreguladores ácido giberélico, ácido indolbutírico y N ⁶ Benzil Adenina aplicados en precosecha, en la calidad de frutos de limón mexicano durante su almacenamiento en condiciones de refrigeración y comercialización.	2004

3.1.1. Experimento 1.

Evaluación del efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de ácido giberélico en precosecha, en la calidad de frutos de limón mexicano con y sin encerar y almacenados bajo refrigeración por diferentes periodos.

3.1.1.1 Importancia del ácido giberélico como retardante de la senescencia

La degradación de proteínas y la peroxidación de lípidos de la membrana, son los eventos más relevantes en el deterioro postcosecha de los frutos (Zhuang *et al.*, 1997). Estos daños conllevan entre otras consecuencias la pérdida de clorofila, estos cambios visuales posteriormente resultan en la muerte de la célula (Tania *et al.*, 2001).

El uso de los reguladores del crecimiento, como retardantes de senescencia se ha discutido ampliamente desde el primer informe de Coggins y Hield (1958) en donde se reporta que las giberelinas retrasan las pérdidas de clorofila en naranja 'Navel'.

Además en los frutos cítricos, la concentración de ceras epicuticulares se incrementa lentamente durante las primeras etapas del desarrollo y marcadamente durante la maduración y senescencia (El-Otmani y Coggins, 1985). La morfología de las ceras cambia de amorfa a cristalina durante el desarrollo del fruto, regresando a una apariencia amorfa en la maduración y principalmente en la senescencia (El-Otmani *et al.*, 1989).

En naranjas 'Navel' y 'Valencia' se observó que las ceras forman costras o placas en áreas determinadas inicialmente cristalinas, que progresivamente se rompen, dependiendo del estado hídrico y de la edad del fruto, desprendiéndose de la

superficie, lo cual provoca que finalmente esta capa de cera constituya de nuevo una estructura amorfa (El-Otmani *et al.* 1989).

Los compuestos hormonales reducen la acumulación de ceras epicuticulares asociadas a la maduración y senescencia. El-Otmani *et al.* (1986) indican que las aplicaciones precosecha de AG₃ reducen la deposición de cera en la superficie del fruto, debido a que este regulador modera el aumento en la cera epicuticular, así como los cambios en el contenido de dióxido de carbono de la atmósfera interna del fruto.

Del mismo modo, la permeabilidad de la cutícula se reduce durante el período de maduración y senescencia y la aplicación de AG₃ contrarresta este efecto (Báez, 1991).

3.1.1.2. Objetivos

1. Evaluar el efecto de la aplicación en diferentes dosis y periodos de AG₃ en árboles, sobre el mantenimiento de la calidad de frutos de limón mexicano almacenados bajo condiciones de refrigeración por diferentes periodos
2. Evaluar el efecto de la aplicación de cera de carnauba en frutos cosechados, para el efecto sobre el mantenimiento de la calidad de frutos de limón mexicano almacenados bajo condiciones de refrigeración por diferentes periodos.

3.1. 1. 3 Sitio Experimental y Material Vegetal

El estudio se efectuó en árboles adultos de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) de cuatro años de edad injertados sobre Macrofila (*Citrus macrophylla* Wester) en el ciclo 2003. Los árboles para el experimento se seleccionaron en base a su tamaño uniforme y apariencia, situados en una huerta de pequeña propiedad localizada en Cerro de Ortega (18°45'17" LN; 103°43'25" LW, a 20 m snm), en la región Suroccidental de Tecomán, Colima que presenta un Clima Bs1(h')w(w)i.

3.1.1.4 Características de la huerta y manejo

Los árboles se encontraban plantados a una distancia de 8 X 4 en un suelo arcilloso somero. Los árboles se irrigaron dos veces por semana utilizando un sistema de riego por micro aspersión; se aplicó una fertilización durante el mes de junio con 2.5 Kg de sulfato de amonio por árbol.

3.1.1.5 Etiquetado de la fruta

De cada uno de los 2 árboles por tratamiento se seleccionaron 10 racimos florales por árbol, previo al inicio de la aspersión. El etiquetado se realizó seleccionando racimos de la parte media y en la parte exterior del follaje de los árboles. Para distinguir fácilmente los racimos seleccionados, se utilizaron cintas de plástico rojo, azul y blanco de unos 40 cm de longitud donde se marcaron cada uno de los tratamientos con tinta indeleble.

Los frutos de la primera aplicación presentaron al momento de la aspersión un diámetro ecuatorial promedio de 22 mm y transversal de 25 mm, los de la segunda aplicación de 26 mm y 30 mm, respectivamente, y los de la tercera un diámetro ecuatorial de 30 mm y transversal de 36 mm.

3.1.1.6 Recolección y manejo de la fruta en el laboratorio

La cosecha se realizó el día 22 de julio de 2003 (103 días después de la antesis) y los frutos se trasladaron en un tiempo de 16 horas al laboratorio de Fisiología Postcosecha del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Texcoco, Estado de México, donde se lavaron y seleccionaron por tamaño, color y enseguida se realizó la primera evaluación de estos limones, a una temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 60 ± 5 de H. R. Posteriormente, los frutos de cada tratamiento se dividieron en dos lotes, uno de los cuales se trató con una cera a base de carnauba y otro sin tratamiento de cera, donde se conformaron los siguientes tratamientos:

3.1.1.7 Tratamientos

Las aplicaciones de AG_3 aplicados conformaron los tratamientos siguientes:

Tratamiento 1. Tres aplicaciones de ácido giberélico en concentraciones de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ cada una, realizadas a los 64, 78 y 92 días después de antesis tomado como el momento de apertura de la flor.

Tratamiento 2. Dos aplicaciones ácido giberélico en concentraciones de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, cada una a los 78 y 92 días después de antesis.

Tratamiento 3. Una aplicación ácido giberélico en concentraciones de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a los 92 días después de antesis.

Testigo. Un lote de frutos sin aplicación de ácido giberélico, los tratamientos se encuentran sintetizados en el (Cuadro 2).

Las aplicaciones en todos los casos se realizaron entre 7:00 y 9:00 A.M. para evitar la acción de viento.

En seguida los frutos de ambos lotes se almacenaron bajo refrigeración a 9°C; 85 – 90 % de humedad relativa durante 35 días, al cabo de este periodo se realizó la segunda evaluación, finalmente se transfirieron por una semana mas a $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura y 60 ± 5 de H. R.

Evaluándose en cada uno de ellos las variables fisiológicas, biofísicas y bioquímicas expuestas en el Cuadro 3.

Las metodologías seguidas en este experimento en las fases de campo y laboratorio se resumen en la Figura 1.

Cuadro 2 Tratamientos generados en campo y en laboratorio en el año 2003

En campo		En laboratorio		
Tratamiento	Concentración de AG ₃ (mg·L ⁻¹)	Condiciones de almacenamiento		
		Encerado	Temperatura (° C) y Humedad Relativa (%)	Tiempo Días
1	30	+ cera de carnauba	9 ± 2 y 85-90	35
			+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7
2	20	+ cera de carnauba	9 ± 2 y 85-90	35
			+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7
3	10	+ cera de carnauba	9 ± 2 y 85-90	35
			+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7
4	0	+ cera de carnauba	9 ± 2 y 85-90	35
			+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7
5	30	Sin cera	9 ± 2 y 85-90	35
			+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7
6	20	Sin cera	9 ± 2 y 85-90	35
			+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7
7	10	Sin cera	9 ± 2 y 85-90	35
			+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7
Testigo	0	Sin cera	9 ± 2 y 85-90	35
			+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7

Cuadro 3. Variables analizadas en el experimento del año 2003

Análisis	Fisiológicas	Biofísicas	Bioquímicas
Cáscara y pulpa	Pérdidas de Peso		
cáscara		Índice de cambio de color	
pulpa			acidez titulable (Ácido cítrico) sólidos solubles totales (SST)

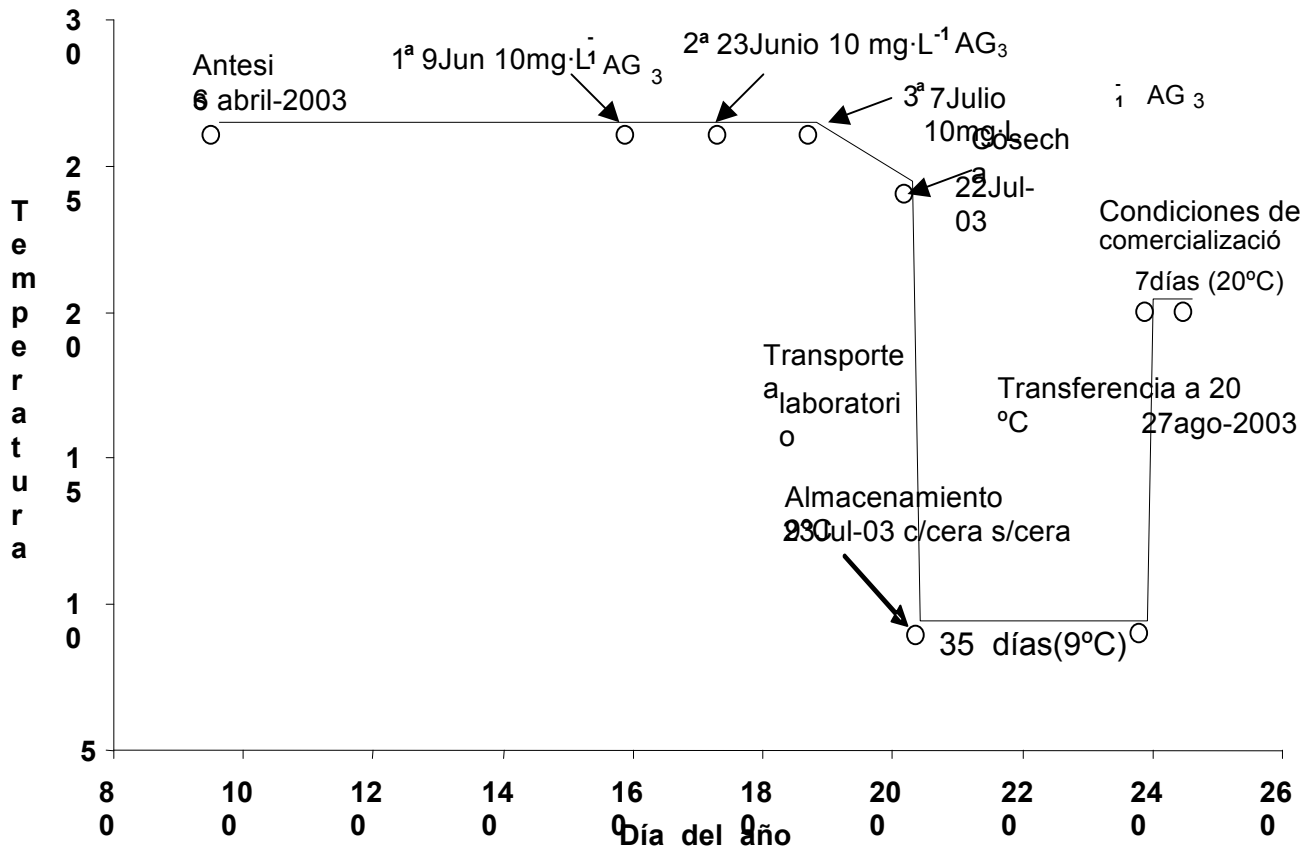


Figura 1 Eventos relacionados con aplicación de los reguladores del crecimiento a temperatura: media del cultivo, refrigeración y período de comercialización en el 1^{er} año del experimento.

3.1.1.8 Análisis estadístico

El análisis estadístico se analizó con el paquete SAS (System V9.1 Institute, 2003) para el análisis de los resultados se usó un diseño completamente al azar dentro de cada período de almacenamiento, cuya ecuación es: $Y_{ij} = \mu + T + E_{ij}$

donde:

Y_{ij} = Respuesta del i-ésimo tratamiento y j-ésima repetición

μ = Media general

T = Efecto del i-ésimo tratamiento

E_{ij} = Error experimental

i= Tratamiento

J = Repetición

En todos los tratamientos se tomaron siete frutos, como unidad experimental considerando 5 repeticiones en cada una. Se realizó un análisis de varianza y prueba de Tukey con un alpha de 5%.

3.2.1. Experimento 2.

Evaluación de la combinación de los biorreguladores: ácido giberélico, ácido indolbutírico y N6 Benzil Adenina aplicados en precosecha, en la calidad de frutos de limón mexicano durante su almacenamiento refrigerado.

3.2.1.1 Importancia de giberelinas, citocininas y auxinas en maduración y senescencia.

Las aplicaciones hormonales exógenas de giberelinas, citocininas y auxinas promueven la producción, calidad y extienden la vida postcosecha de la fruta. Sin embargo en el caso de limón mexicano son pocos los estudios realizados sobre la eficiencia de estas aplicaciones, ya sea solas o en combinación con la finalidad de retardar los síntomas de senescencia.

Las giberelinas son capaces de ser antagónicas tanto por la degradación de clorofila natural como inducida por etileno en la corteza (flavedo y albedo) de *Citrus*, mientras que las citoquininas sólo son capaces de antagonizar con el efecto del etileno (Eilati *et al.*, 1979). encontraron que BA. demora o retarda los cambios naturales del color en naranja verde cortada.

Los frutos de los árboles tratados con AG₃ generalmente fueron más verdes y con cáscaras más resistentes a la punción que los frutos de los árboles testigo (Fidelibus *et al.*, 2002^a)

La temprana aplicación de auxinas sintéticas incrementa el tamaño final del fruto más consistentemente (Monselise, 1979), además de que se estimula el

crecimiento inicial en la cáscara de mandarina 'Satsuma' (Guardiola y Lázaro, 1987), esto debido a que se promueve la división celular.

Autores como Tumminelli *et al.* (2004) consignan que los mejores efectos de las auxinas como el ácido diclorofenoxiacético (2,4-D), y el ácido giberélico retrasan mejor la senescencia indeseable de las naranjas de sangre de "Tarocco" cuando se aplican en octubre, que en otras épocas del año.

Aunque en menor medida, las citocininas (Benzil Adenina) también retrasa la coloración de los frutos. Esta manipulación de la carotenogénesis se debe principalmente a la protección de estas hormonas de la destrucción de los galactolípidos de los cloroplastos, que constituyen un elemento fundamental en la composición de la clorofila. (Goldschmidt *et al.*, 1977)

3.2.1.2. Objetivo General

Evaluar el efecto de la aplicación en diferentes dosis y periodos de biorreguladores con efecto hormonal en árboles, sobre la calidad de frutos de limón mexicano almacenados bajo condiciones de refrigeración por diferentes periodos.

3.2.1.3 Objetivos Particulares:

1. Evaluar la respuesta de aplicaciones precosecha con los reguladores: auxinas, giberelinas y citocininas, en diversas concentraciones, sobre la evolución de la senescencia de frutos de limón mexicano almacenados a una temperatura y tiempo crítico de almacenamiento refrigerado.
2. Evaluar el efecto de los tratamientos establecidos sobre los cambios en la calidad interna y externa de los frutos de limón mexicano tras el periodo de almacenamiento establecido y después de un tiempo de comercialización a temperatura ambiente.
3. Determinar la efectividad de los tratamientos establecidos en el control de daños por frío tras los periodos de almacenamiento establecidos.

3.2. 1.4. Sitio Experimental y Material Vegetal

El estudio se realizó en un huerta de propiedad privada, localizada en Cerro de Ortega (18°45'17" LN; 103°43'25" LW, a 20 m snm), región suroccidental de Tecomán, Colima, México; el sitio presenta un Clima Bs1(h')w(w)i. Se utilizaron árboles de 7 años de limón mexicano, seleccionados en base a su apariencia y tamaño uniforme de (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle) injertados sobre patrón de Macrofila (*Citrus macrophylla*, Wester).

3.2.1.5 Característica de la huerta y manejo

Los árboles se encuentran plantados a una distancia de 8X4 en suelo arcilloso y somero, se manejaron de acuerdo con las prácticas de cultivo normalmente aplicadas por el productor, que consistieron en riego, el cual se aplicó mediante un sistema de microaspersión dos veces a la semana, con un gasto de 50 L·h⁻¹ y una sola fertilización durante el mes de mayo con 2 kg de sulfato de amonio por árbol.

3.2.1.5 Etiquetado de la fruta

La antesis ocurrió el día 26 de marzo de 2004 y se tomó como base para establecer los periodos de aplicación; al momento de este evento fisiológico en cada uno de los 4 árboles por tratamiento se etiquetaron 10 racimos florales, previo al inicio de la

aspersión. El etiquetado se realizó seleccionando racimos de la parte media y en la parte exterior del follaje de los árboles. Para distinguir fácilmente los racimos, se utilizaron cintas de plástico rojo, azul y blanco de unos 40 cm de longitud, donde se marcaron cada uno de los tratamientos con tinta indeleble. En este experimento, de acuerdo a los tratamientos se tuvieron un total de **52 árboles**.

Los reguladores del crecimiento aplicados fueron: ácido giberélico (AG_3), marca comercial Bio Gib (10% ingrediente activo), Ácido-3-Indol butírico (AIB) y N^6 -benziladanina (BA), ambos marca Sigma (100% ingrediente activo) y como surfactante se utilizó el producto comercial "data plus".

En total se establecieron 12 tratamientos además de un Testigo sin AG_3 , BA ni AIB. (Cuadro 4). Para evitar la problemas de precipitación al realizar la mezcla con el AG_3 , previamente se disolvió el AIB en NaOH 0.1N y la BA en HCl 0.1N. Se realizó una sola aplicación a los 75 días después de la anthesis (frutos con 30 mm promedio de diámetro ecuatorial), utilizando para esto un aspersor de mochila con 5 litros de capacidad, misma cantidad de solución que se aplicó por árbol, dirigida a los racimos hasta el punto de goteo.

3.2.1.6 Recolección y manejo de la fruta en el laboratorio

La cosecha se realizó el día 16 de julio de 2004 (107 días después de la anthesis) y los frutos se trasladaron inmediatamente al Colegio de Postgraduados en Montecillo,

Texcoco, Estado de México en un tiempo de 18 horas, donde los frutos de cada árbol se seleccionaron por tamaño (promedio 35 mm de diámetro) y color verde intenso, y finalmente se lavaron, quedando constituido de esta forma cada tratamiento. Posteriormente, se lavaron y secaron al ambiente, después de lo cual se realizó la primera evaluación y finalmente se colocaron en charolas de unicel en el laboratorio de Fisiología Postcosecha a una temperatura de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 60 ± 5 de H. R. Los frutos con tratamiento se almacenaron en la cámara de refrigeración a 9°C y 85 – 90 % de humedad relativa durante 35 días. Después de este tiempo, se efectuó una segunda evaluación. Finalmente, estos frutos se transfirieron a condiciones de $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura y 60 ± 5 de H. R., y después de una semana de almacenamiento en estas condiciones, se hizo la tercera evaluación (a los 42 días de cosechada en cada uno de los tratamientos mencionados con anterioridad) cuadro 4

3.2.1.3. Tratamientos

Cuadro 4 Tratamientos del segundo experimento

Aplicaciones en campo		Condiciones de almacenamiento	
Tratamiento	Concentración de fitohormonas (mg·L ⁻¹)	Temperatura (° C) y Humedad Relativa (%)	Tiempo días
1	AG ₃ -0+AIB-5	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+ 7
2	AG ₃ -0+AIB-15	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
3	AG ₃ -10+AIB-5	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
4	AG ₃ -10+AIB-15	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
5	AG ₃ -20+AIB-5	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
6	AG ₃ -20+AIB-15	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
7	AG ₃ -0+BA-5	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
8	AG ₃ -0+BA-15	9 ± 2 y 85-90.	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
9	AG ₃ -10+BA-5	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
10	AG ₃ -10+BA-15	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
11	AG ₃ -20+BA-5	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
12	AG ₃ -20+BA-5	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7
Testigo	-----	9 ± 2 y 85-90	35
		+ (20 ± 2 y 60 ± 5)	+7

La metodología utilizada se resume en la Figura 2.

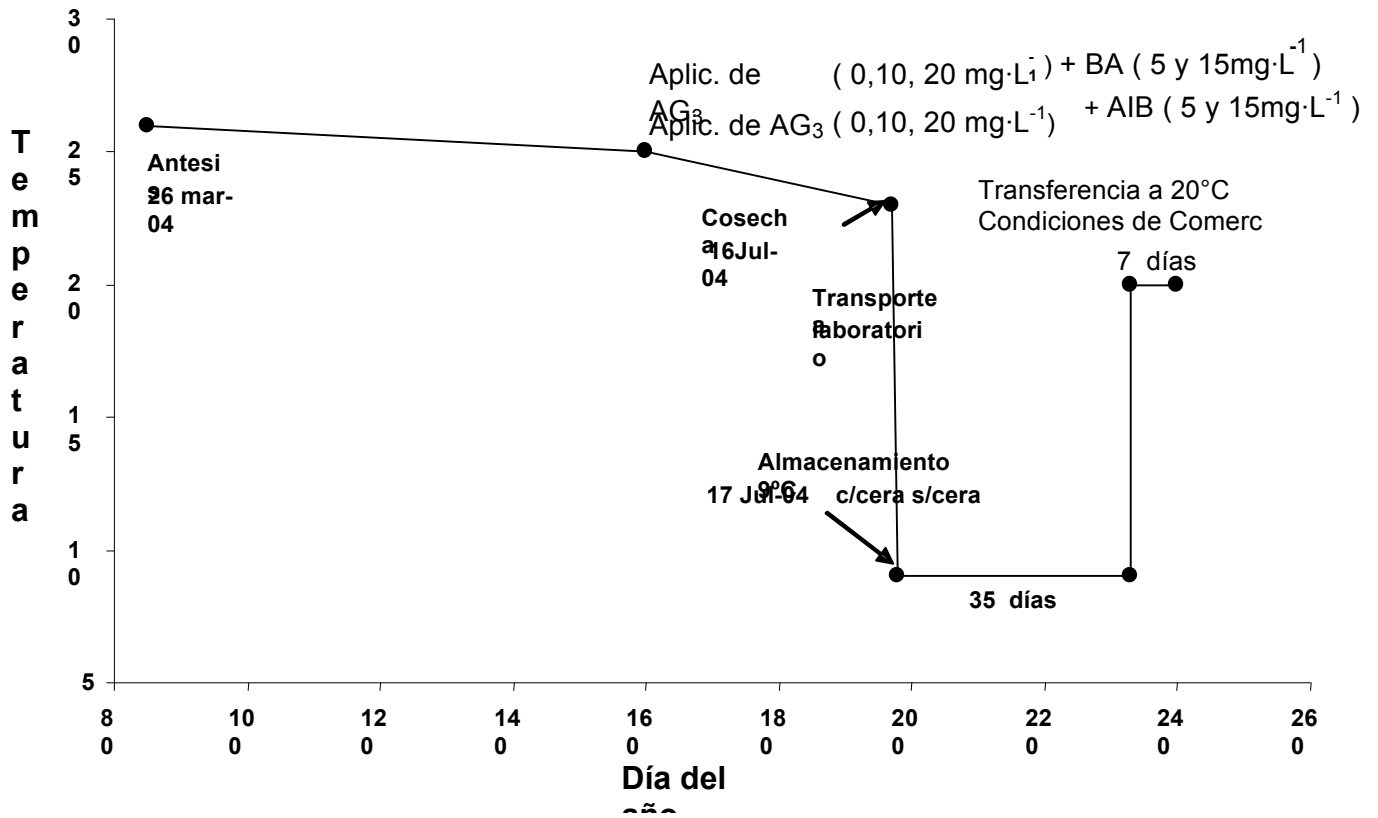


Figura 2 Eventos relacionados con aplicación de los reguladores a temperatura: media del cultivo, refrigeración y período de comercialización en el 2^{do} año del experimento en los frutos limón

Se analizaron las variables fisiológicas, biofísicas y bioquímicas mencionadas en el Cuadro 5.

Las metodologías se explican a continuación.

Cuadro 5. Variables analizadas en el experimento del año 2004

Análisis	Fisiológicas	Biofísicas	Bioquímicas
cáscara y pulpa	pérdidas de peso		
cáscara		índice de cambio de color	
pulpa			acidez titulable (ácido cítrico)
			sólidos solubles totales (SST)
	daños por frío		ácido ascórbico

3.2.5. Diseño estadístico

El diseño experimental empleado fue completamente al azar con tres concentraciones de ácido giberélico (0, 10 y 20 mg·L⁻¹) y dos concentraciones de N⁶ Benzil Adenina (5 y 15 mg·L⁻¹) o bien de ácido indol -3-butírico (5 y 15 mg·L⁻¹). La unidad experimental fue de 7 frutos con 5 repeticiones cada uno, analizando 12 tratamientos y el testigo.

3.2.7. Metodologías de Evaluación

Pérdidas fisiológicas de peso:

Se calcularon en base a las diferencias de peso entre el inicial y el obtenido dentro de cada periodo de análisis establecido. Para esto se utilizó una balanza digital marca Alsep modelo EY-2200 A, con una aproximación de 0.01g y los datos se reportaron como (% PFP), de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$PP \quad (\%) = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

PP = porcentaje de pérdida de peso

P_i= peso inicial del fruto (al día siguiente de cosecha)

P_f= peso del fruto al final del período de almacenamiento tomando dos fechas finales (35 y 42 días de almacenamiento).

Índice de Color

Se midieron los cambios en color de la cáscara mediante un colorímetro de reflexión Hunter Lab Modelo D 25 PC 2 y con los valores obtenidos se aplicó el índice de color para cítricos $IC = (1000 a) / (Lb)$ propuesto por Jiménez-Cuesta *et al.* (1981), que proporciona una alta correlación entre la apreciación visual y la

instrumental en el intervalo de colores comprendido entre el verde oscuro (valores más negativos) y el naranja intenso (valores más positivos).

Sólidos Solubles Totales (SST)

Esta variable se midió en base a °Brix, para lo cual se utilizó un refractómetro digital con sensor óptico y corrección de temperatura, sobre el cual se colocó una muestra de jugo de limón previamente extraído de los frutos según la metodología (AOAC, 1990). Los datos se reportaron como % SST.

Acidez Titulable

Se obtuvo de acuerdo al método AOAC (1990), para lo cual se tomó una alícuota de 2 mL de jugo a la que se le adicionaron dos gotas de fenoftaleína al 1%. La neutralización se realizó con NaOH 0.1N hasta el vire de color. Los datos se reportaron como % ácido cítrico, que es el ácido de mayor presencia en cítricos (Sinclair, 1984). El cálculo del % de ácido cítrico se realizó con base en la siguiente fórmula:

$$\text{Ácido Cítrico (\%)} : \frac{(\text{mL NaOH})(\text{N NaOH})(\text{Meq Ac})(100)}{\text{alícuota (mL)}}$$

Acido Ascórbico

(**Vitamina C**). Se obtuvo mediante el método colorimétrico del 2,6 diclorofenol - indofenol reportado por la AOAC (1984). El método se basa en el indicador redox 2,6 diclorofenol- indofenol. El exceso de indicador no reducido es de color rosa (en medio ácido). El contenido de ácido ascórbico se obtuvo mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Mg Ácido Ascórbico / 100 mL} = \frac{(B - Bf) - (M - Mf)}{[B (B- Bf) - (St - Sf)]} \times P \times 5$$

donde:

B = Absorbancia del blanco (515 nm)

FB = Absorbancia del patrón

M = Absorbancia de la muestra después de agregar cristales de ácido ascórbico

FM = Absorbancia de la muestra patrón

St = Absorbancia del estándar

FST= Absorbancia del patrón

P = Concentración del patrón utilizado expresado en $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$

Los datos se expresaron como mg de ácido ascórbico por 100 mL de jugo.

Índice de daños por frío

La sintomatología de los daños por frío (DPF) se manifestó por la aparición de manchas hundidas en la cáscara (epicarpio) de los frutos. Para su evaluación se aplicó la escala de 0 a 3 propuesta por Martínez-Téllez y Lafuente (1997), de acuerdo a los criterios siguientes: **0** = los frutos sin daño; **1** = frutos dañados ligeramente (0 a 10% de la superficie con zonas manchadas y hundidas); **2** = frutos con daños moderados (10 a 15% de la superficie con zonas manchadas y hundidas); **3** = frutos con daños severos (entre 15 y 25% de la superficie con zonas manchadas y hundidas). Los productos resultantes se suman y se dividen entre el número total de frutos del lote, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\mathbf{IDF = [(n)0+(n)1+(n)2+(n)3]/N}$$

donde:

IDF = Índice de Daños por frío

n= Número de frutos dañados

N = Número de frutos por grupo

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1

Evaluación del efecto de la aplicación de diferentes concentraciones de ácido giberélico en precosecha, en la calidad de frutos de limón mexicano con y sin encerar y almacenados bajo refrigeración por diferentes periodos.

4.1.1 Acido Cítrico

En el experimento no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos al momento de cosecha, no obstante que los frutos del testigo y del tratamiento $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ sin cera (Tratamiento 6), presentaron los más altos contenidos de ácido cítrico con 7.15 y 7.04 %, respectivamente (Figura 3). Estos resultados sugieren que al momento de cosecha no se presenta ningún efecto significativo en el contenido de ácido cítrico por la aplicación del ácido giberélico.

Después de 35 días de almacenamiento a 9°C se presentaron diferencias significativas entre tratamientos, siendo los frutos del tratamiento de $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AG_3 con cera (Tratamiento 1) en el que se presentaron los mayores contenidos de ácido cítrico (8.34 %), en tanto que en los frutos del testigo resultaron con la menor concentración (6.8 %). Esta misma tendencia se observó después de 7 días a 20°C , lo que implica que en el tratamiento con $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AG_3 + cera, se mantuvo en mayor proporción el contenido de dicho ácido, situación que se comprueba por la menor pérdida de este ácido durante el almacenamiento en el tratamiento $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AG_3 + cera (Figura 3).

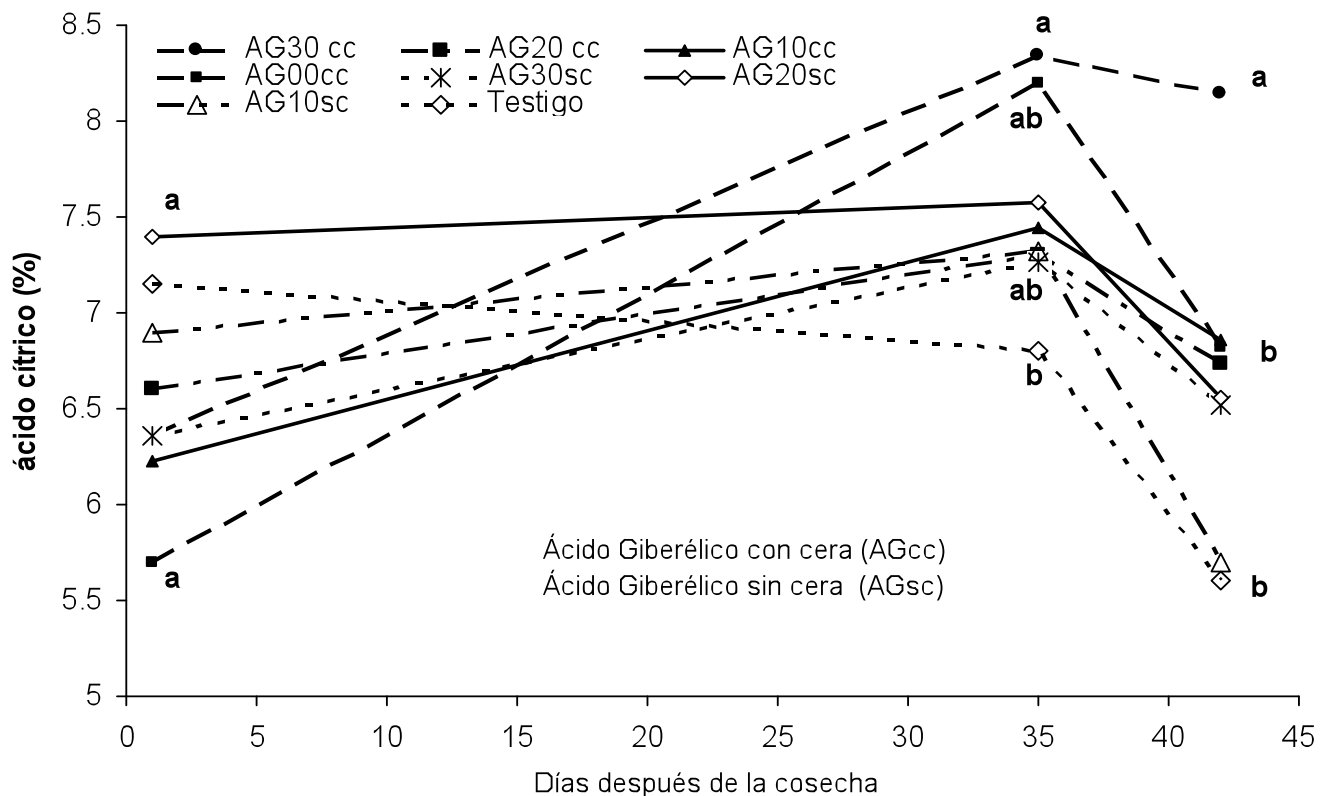


Figura 3. Cambios en poscosecha del el contenido de ácido cítrico en frutos de limón, con o sin cera, en respuesta a diferentes concentraciones de ácido giberélico en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aplicado en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey $P = 0.05$

Investigaciones previas de El Otmani y Coggins (1991) en frutos de mandarina ‘Clementina’ (*Citrus reticulata* Blanco) y naranja ‘Washington Navel’ (*Citrus sinensis*) con aplicaciones en precosecha de AG_3 y 2,4 D (2,4 ácido diclorofenoxi acético) reportaron decrementos en los contenidos de acidez titulable en el jugo de ambas variedades durante el período de almacenamiento principalmente entre la quinta y sexta semana.

4.1.2. Sólidos Solubles Totales

Al momento de cosecha el porcentaje de sólidos solubles totales presentó diferencias significativas entre tratamientos, correspondiendo los mayores valores a los de 30 mg·L⁻¹ con cera (Tratamiento 1) y sin cera (Tratamiento 5) resultando con valores de 8.98 % y 9.08 %, respectivamente, lo cual puede deberse al hecho de que las aplicaciones dirigidas a los frutos les confieren mayor poder de atracción de fotosintatos y por tanto mayor capacidad de concentrar azúcares (Cuadro 6).

Cuadro 6 Contenido de sólidos solubles totales en frutos limón, a diferentes concentraciones de ácido giberélico, después de 35 y 42 días de almacenamiento

Tratamiento	Cosecha	35 días	42 días
1	8.98 a	8.26 a	7.46 a
2	8.8 ab	7.36 ab	7.16 a
3	7.96 b	7.32 b	6.74 a
4	8.28 ab	7.12 b	6.78 a
5	9.08 a	7.66 ab	7.26 a
6	8.64 ab	7 b	6.86 a
7	7.96 b	7.24 b	7.1 a
Testigo	8.3 ab	7.16 b	6.78 a

Las medias seguidas por una letra diferente son significativamente diferentes dentro de las columnas, por la prueba de comparación de medias de Tukey, P≤0.05

Después de 35 días, un contenido mayor estadísticamente significativo sólo se presentó en el tratamiento 30 mg·L⁻¹ + cera (8.26 %); no observándose diferencias significativas después de la exposición a 20° C por una semana, variando los contenidos desde 6.7 % (testigo) a 7.46 % en el tratamiento 30 mg·L⁻¹ + cera tratamiento1 (Figura 4). De esta manera los frutos tratados con AG₃ sin cera presentaron la mayor pérdida de sólidos solubles durante el almacenamiento (Cuadro 6).

No existe un patrón bien definido de la influencia del ácido giberélico sobre el incremento del porcentaje de SST, al momento de la cosecha, algunos autores como Braddock, (1999) consigna un incremento en su contenido en frutos de naranja y El-Otmani y Coggins (1991) en frutos de naranja 'Washington navel' y mandarina 'Clementina'. Sin embargo Coggins (1969) no encontró efecto de este regulador en frutos de naranja.

Sin embargo otros autores como (Fidelibus *et al.* 2002^a) observaron que algunos tratamientos con AG₃ en frutos de naranja *Citrus sinensis* 'Hamlin', 'Pineapple' y 'Valencia' contenían la menor cantidad de sólidos solubles totales (°Brix) del jugo en la cosecha. Además Pozo *et al.* (2000) reportaron que las aspersiones con AG₃ redujeron temporalmente el Brix del jugo de la tangerina 'Sunburst'.

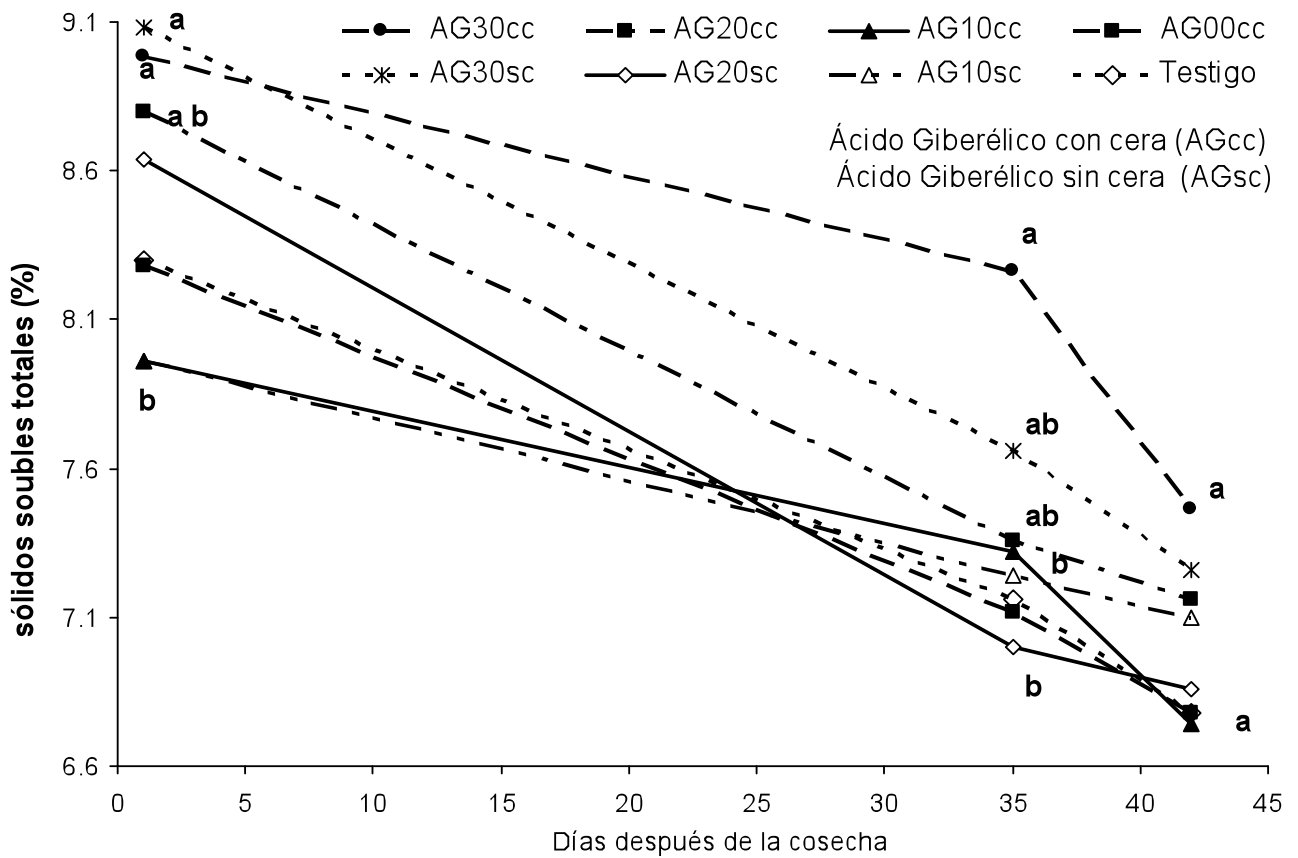


Figura 4. Cambios en postcosecha del contenido de sólidos solubles totales en frutos de limón, con con o sin cera, en respuesta a diferentes concentraciones de ácido giberélico en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aplicado en precosecha.

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey $P = 0.05$

4.1.3. Índice de Color

El índice de color de los frutos no presentó diferencias estadísticas significativas al momento de cosecha; sin embargo, los frutos de los tratamientos 1 y 5 con 30

mg·L⁻¹ de AG₃, con y sin cera, resultaron con valores más negativos (-15.18 y -14.72), (Figura 5) es decir, con mayor tonalidad verde, lo que de acuerdo con algunos investigadores es resultado de un efecto de retardo en la evolución de la senescencia y por tanto de la degradación de clorofila impuesta por el AG₃ (Coggins, 1981); asimismo, se tiene la hipótesis de que la regulación de la senescencia de los frutos puede llevarse a cabo mediante la interacción y el antagonismo entre los niveles de ácido giberélico y N^o benzil adenina y los de ácido abscísico y etileno en la piel del fruto (Goldschmidt y Galili, 1974). Además, otros autores como García-Luís, *et al.* (1986) han señalado que tanto las citocininas como las giberelinas muestran efecto antagónico con respecto a la hormona de maduración (etileno), principalmente en lo correspondiente a la degradación de clorofila en la cáscara de cítricos (flavedo y albedo). Por su parte Fidelibus *et al.* (2002^a) encontraron que aspersiones al follaje con AG₃ retrasaron temporalmente el cambio de color de la naranja 'Hamlin', 'Pineapple' y 'Valencia', y estos frutos presentaron una coloración más verde y la cáscara resultó más resistente a los daños por punción, en relación con los frutos de los árboles testigo.

Por otro lado, al final del periodo de almacenamiento refrigerado y la posterior exposición a temperatura de comercialización (20° C), los frutos del tratamiento con 30 mg·L⁻¹ con cera, presentaron los valores estadísticamente significativos de índice de color más negativos con -12.66 (verdes) y -8.2 (verde-amarillo), al final de estos periodos respectivamente; en tanto que los frutos de los tratamientos AG₃ 10 mg·L⁻¹ sin cera y testigo, obtuvieron los valores menos negativos con -4.96

(amarillo-verde) y -8.4 (verde- amarillo) a los 35 días a 9° C, así como -2.28 y -3.8 (amarillos) tras 7 días a 20° C, respectivamente, lo que implica un efecto positivo del AG₃ en retardar la degradación de clorofila durante el almacenamiento, principalmente en los frutos que además fueron tratados con cera (Figura 5).

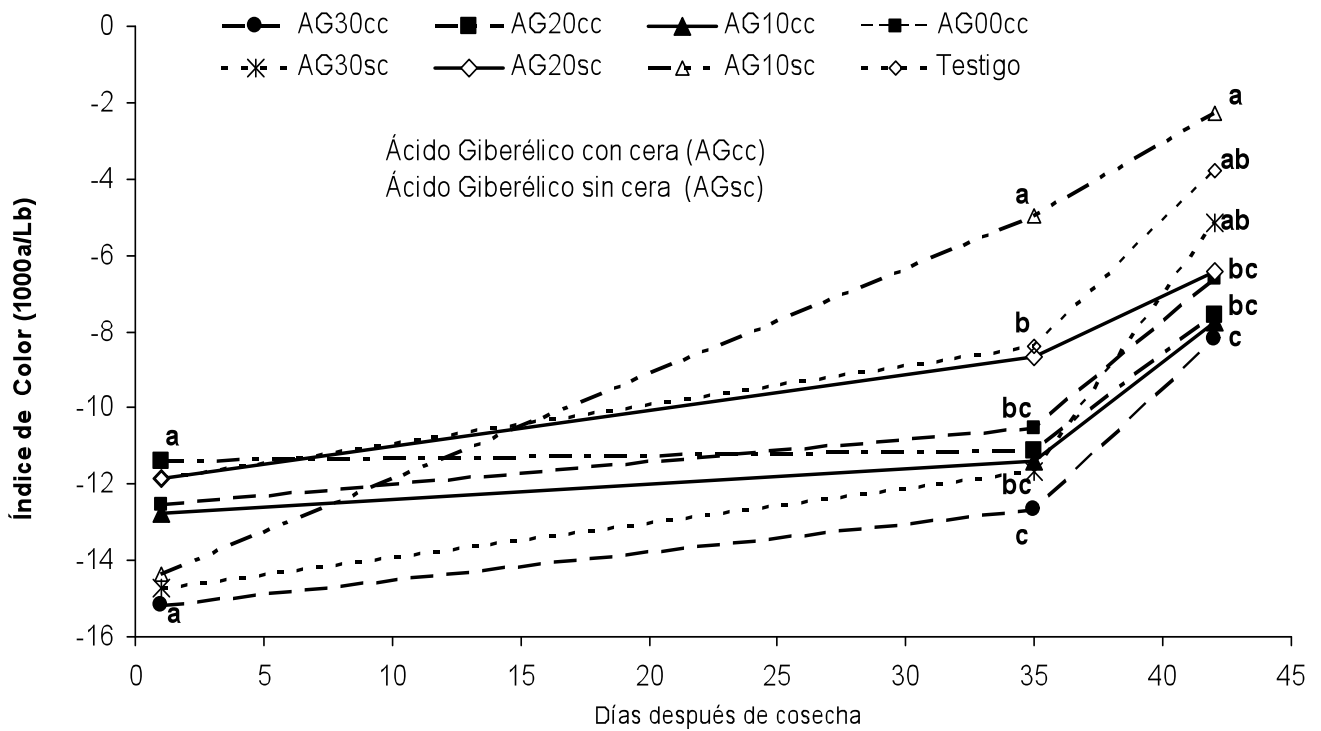


Figura 5. Cambios de Color en frutos de limón, con o sin cera, en respuesta a diferentes concentraciones de ácido giberélico en precosecha en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P =0.05

El-Otmani y Coggins (1991) observaron que las aplicaciones de AG_3 en mandarina ‘Clementina’ y en naranja ‘Washington Navel’ en precosecha retrasan la senescencia lo que significa que se mantiene por mayor tiempo la calidad externa e interna de los frutos tanto almacenados en el árbol como en el almacenamiento postcosecha.

4.1.4 Porcentaje de pérdida fisiológica de peso

Durante el almacenamiento, el principal efecto en la reducción de pérdidas de peso fue proporcionado por el recubrimiento de cera de carnauba, presentándose diferencias significativas entre frutos encerados y no encerados (Cuadro 7).

Cuadro 7. Pérdida fisiológica de peso (%) en frutos de limón encerados y no encerados a los 42 días de almacenamiento

Tratamiento Postcosecha	% pérdida de peso
Frutos sin cera	8.66 a
Frutos con cera	6.86 b

²Las medias seguidas por una letra diferente son significativamente diferentes dentro de las columnas, por la prueba de comparación de medias de Tukey, $P \leq 0.05$

Sin embargo, el tratamiento de AG_3 también ejerció un efecto estadísticamente significativo en la reducción de pérdidas de peso, tanto en frutos encerados como no encerados (Figura 6) y, principalmente, al final del periodo de almacenamiento a 20° C, en cuyo caso dichas pérdidas variaron entre 11.06 y 11.56 en los tratados con

AG₃ más cera contra 14.04 en aquellos con solo cera; asimismo en los frutos no encerados la variación fue de 13.22 a 14.72 en los de AG₃ y de 15.24 en el testigo (Figura 6). Se ha señalado que el encerado, con el compuesto (tipo de cera), concentración de sólidos y pH de la emulsión adecuados, incrementa el contenido de ceras epicuticulares (Saucedo, 2005), cuyo papel fisiológico es el de regular la velocidad de transpiración y mantener el balance de agua e intercambio de gases (Albrigo, 1986).

Por otro lado, el efecto en la reducción de las pérdidas de agua por transpiración, debido al AG₃, está dado por el retraso en la evolución de la senescencia de los frutos; al respecto Báez (1991) reporta que la aplicación de los fitorreguladores AG₃ 10 y BA en concentraciones de 10 ppm, redujeron la acumulación de ceras epicuticulares y por lo tanto retrasaron la evolución de la senescencia, asimismo se ha reportado que el AG₃, controla el avance de la senescencia al retrasar la síntesis de enzimas hidrolíticas, tales como la pectinmetilesterasa y la poligalacturonasa las cuales descomponen la pared celular, de la cáscara durante el almacenamiento postcosecha prolongado (Almeida *et al.*, 2004).

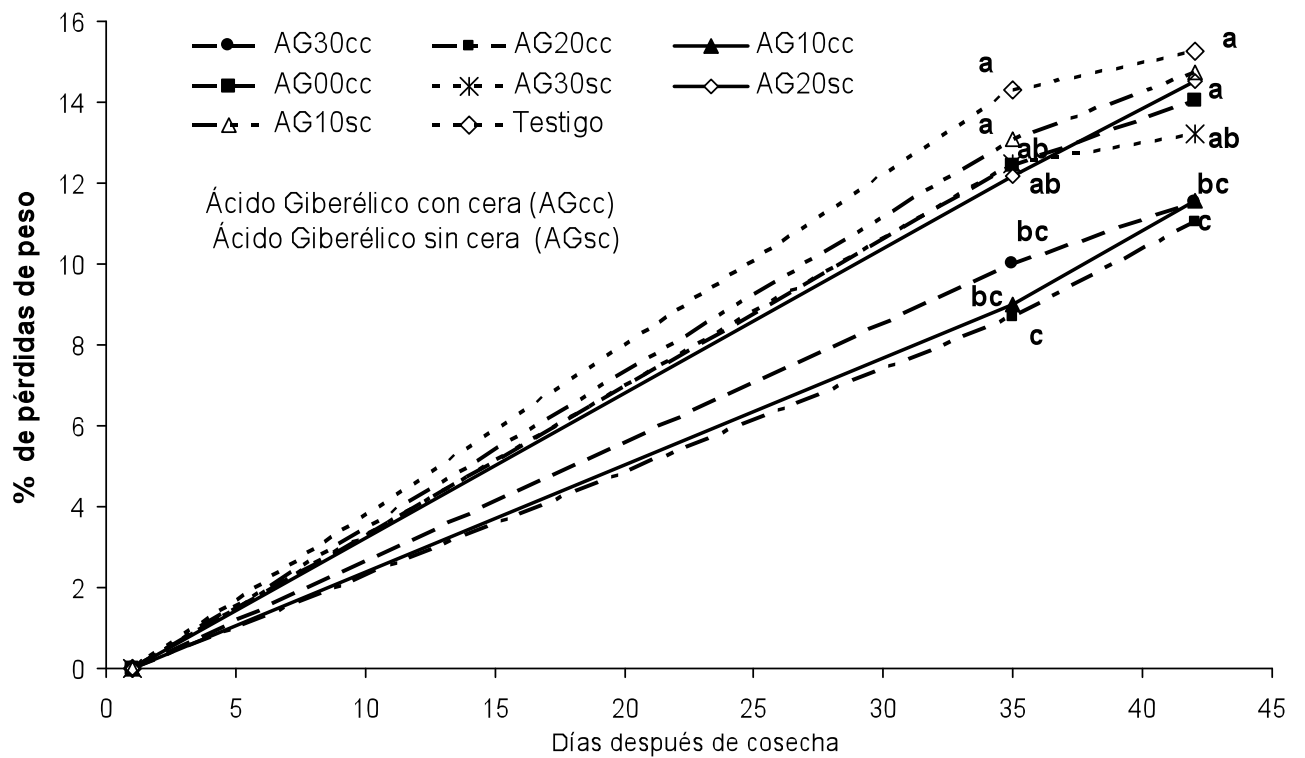


Figura 6. Pérdidas de peso en frutos de limón con, con o sin cera, en respuesta a diferentes concentraciones de ácido giberélico en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aplicado en precosecha.

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey $P=0.05$

En trabajos similares Fucik (1981) reporta que las aplicaciones de AG_3 reducen la pérdida de agua en frutos de toronja 'Ruby Red' cuando se almacenan durante 30 días en la postcosecha; asimismo la pared de la pulpa se conserva mejor en frutos de mandarina 'Satsuma' tratados con esta hormona (García-Luís *et al.*, 1985).

En investigaciones previas (Monselise y Sasson, 1977) encontraron que después de un prolongado período de almacenamiento, los frutos tratados con 2,4-D + AG_3 de árboles irrigados frecuentemente, tuvieron cáscaras más fuertes y resistentes y perdieron menor cantidad de agua.

Por su parte, Pozzan *et al.* (1993) observan que los frutos de naranja 'Navelinas' tratados con cera de carnauba, perdieron 3.5% de su peso. Así, considerando que los frutos del limón mexicano presentan una cáscara más delgada y delicada que los demás cítricos, la cual puede ser fácilmente afectada por factores físicos o bióticos, que deterioran la calidad del fruto y reducen su vida de anaquel, entonces, el limón mexicano es más sensible a pérdidas de peso que las naranjas, entre otros cítricos.

4.1.5. Contenido de Ácido Ascórbico

No se observaron diferencias estadísticas en el contenido de ácido ascórbico en el jugo de los frutos de limón mexicano al momento de cosecha, variando este entre 44.4 y 53.6 mg·100 mL⁻¹ de jugo.

Después de 35 días de almacenamiento refrigerado, los frutos de los tratamientos con 30 mg·L⁻¹ de AG₃, con y sin cera (tratamientos 1 y 5), presentaron significativamente el mayor contenido de dicho ácido (32.26 y 37.5 mg·100 mL⁻¹ respectivamente), respecto a los frutos de los tratamientos con 10mg·L⁻¹+ cera (Tratamiento 3) y el tratamiento 4 (0 mg·L⁻¹) de AG₃, en el que los frutos se asperjaron con agua + cera (28.2 mg·100 mL⁻¹) y el testigo con 25.9 mg·100 mL⁻¹, respectivamente (Figura 7).

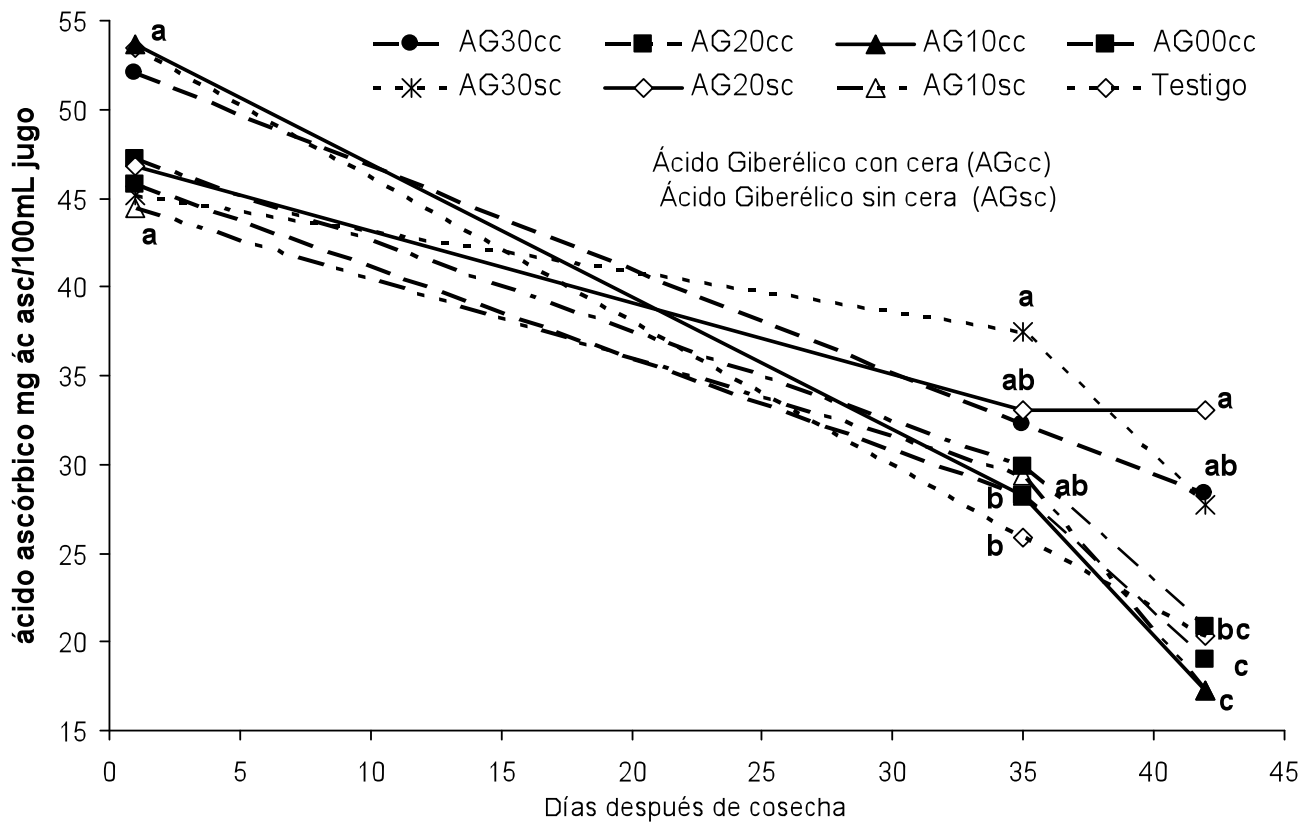


Figura 7. Cambios en postcosecha del contenido de ácido ascórbico en frutos de limón, con o sin cera, en respuesta a diferentes concentraciones de ácido giberélico en mg·L⁻¹ aplicado en precosecha.

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P=0.05

El mismo comportamiento se observó al concluir el periodo de exposición a 20° C, aunque con menores valores para el tratamiento 30 mg·L⁻¹ de AG₃, con y sin cera, cuyos valores fluctuaron entre 28.38 y 27.74, en comparación con el tratamiento con agua + cera (18.98) y el testigo con 20.3 mg·100 mL⁻¹.

Cabe señalar que después de 35 días de almacenamiento los frutos con el tratamiento 30 mg·L⁻¹ de AG₃, con y sin cera, presentaron las menores pérdidas de ácido ascórbico (45.4 y 38.6 %), siendo los frutos de los tratamientos agua + cera y los del testigo los que presentaron las mayores pérdidas (58.5 y 62.6 %), lo que permite establecer un efecto positivo del tratamiento con AG₃ en relación con la retención del contenido de ácido ascórbico al retardar la evolución de la senescencia en los frutos (Cuadro 8).

En este sentido, se ha señalado que la senescencia al promover la desorganización celular, favorece la oxidación del ácido ascórbico, probablemente por la activación de las enzimas polifenol oxidasa y ascorbato oxidasa (Mokady *et al.*, 1984); por su parte Baduí (1994) reporta que el ácido ascórbico es degradado a ácido dehidroascórbico en productos frescos debido a la acción de la ascórbico oxidasa.

Cuadro 8. Porcentajes de pérdida de ácido ascórbico en los diferentes tratamientos de frutos de limón a los 35 y 42 días de almacenamiento

Tratamiento	Cosecha (%)	35 días (%)	42 días (%)
1	0	37.9	45.4
2	0	36.7	55.9
3	0	47.4	67.7
4	0	38.4	58.5
5	0	17.0	38.6
6	0	29.5	29.4
7	0	33.8	61.1
Testigo	0	51.5	62.6

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 2

Evaluación de la combinación de los biorreguladores: ácido giberélico, ácido indolbutírico y benzil adenina aplicados en precosecha, en la calidad de frutos de limón mexicano durante su almacenamiento refrigerado.

4.2.1 Ácido cítrico

Al momento de cosecha se presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Figuras 8 y 9), siendo AG₃-20 + BA-15 (Tratamiento 12), AG₃-10+BA-15 (Tratamiento 10) y el testigo, los que alcanzaron las mayores concentraciones con 8.3, 8.1 y 7.8 % de ácido cítrico, respectivamente. En el resto de los tratamientos, las concentraciones de este compuesto variaron entre 6.4 y 7.1 %, no existiendo diferencias significativas entre estos últimos. Después de 35 días a 9° C, los tratamientos que incluyeron la combinación AG₃ + AIB, a excepción de AG₃-10+AIB-15, (Figura 9), presentaron significativamente los menores contenidos de ácido cítrico el cual varió de 6.4 a 6.6%, respecto a los que incluyeron la combinación AG₃+BA, además del testigo, que alcanzaron niveles de 7.0 a 7.9%, respectivamente. Tras el periodo de almacenamiento a 20 °C, los contenidos de ácido cítrico no presentaron diferencias estadísticas significativas, variando de 6.8 a 7.9%; Sin embargo, los tratamientos con AG₃-10+BA-15, AG₃-20+BA-15, mantuvieron los mayores valores (7.5 y 7.9%, respectivamente) (Figura 9).

Estos resultados sugieren un efecto sinérgico positivo entre el AG₃ y BA en relación con el retardo en la evolución del desarrollo de los frutos en la planta, lo que permitió mantener una mayor proporción de ácido cítrico al momento de cosecha; sin embargo, puesto que su contenido resultó estadísticamente similar al testigo, el cual presentó un valor de 7.2%, se asume que el tratamiento no afectó la acidez de los frutos. Al respecto El-Otmani y Coggins (1991) reportaron que aplicaciones precosecha

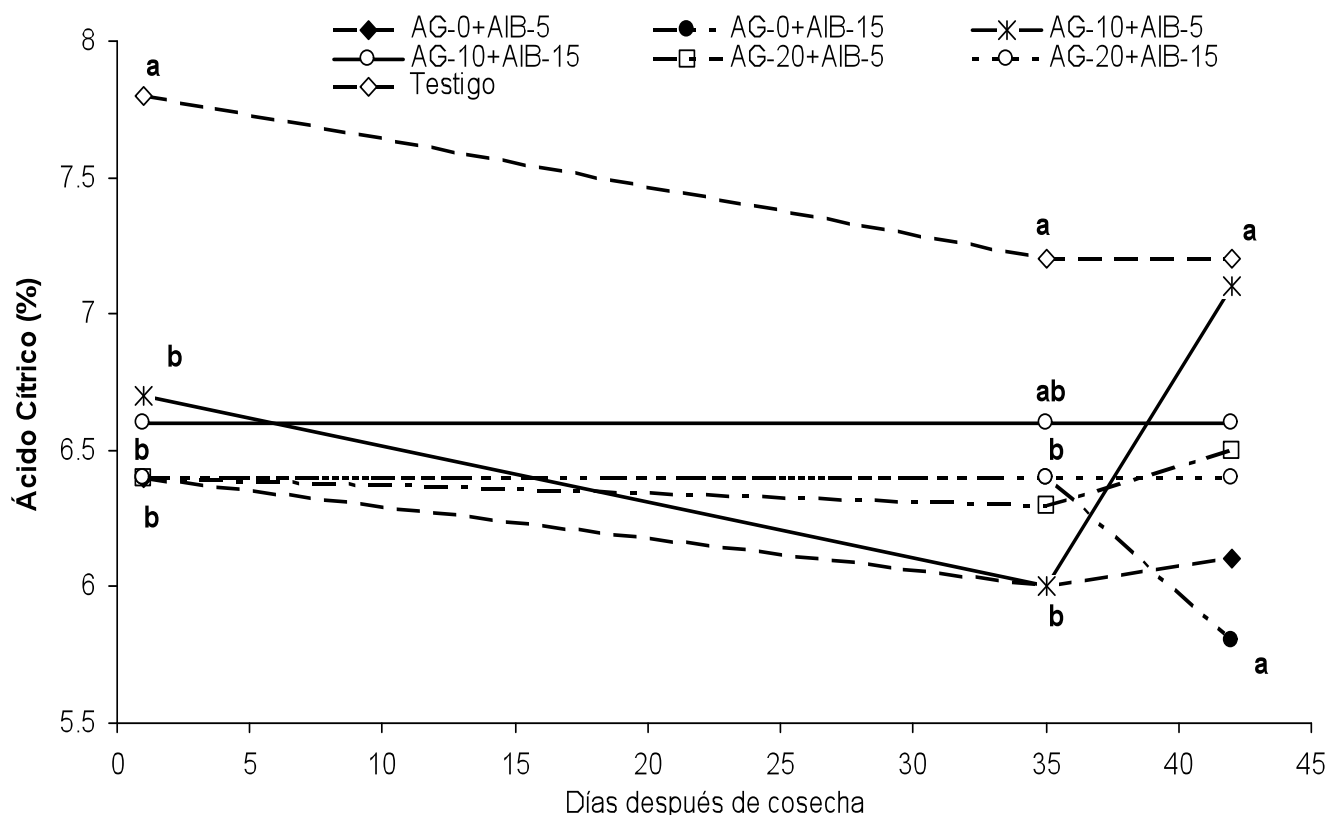


Figura 8 Contenido de ácido cítrico en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG₃) + ácido indolbutírico (AIB) a diferentes concentraciones en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P = 0.05

de AG₃ y 2,4-D, en árboles de mandarina y naranjo al momento de cosecha, así como durante su almacenamiento refrigerado, no afectaron la acidez titulable. Es de señalar que en todos los tratamientos el contenido de ácido cítrico tendió a disminuir en función del tiempo de almacenamiento; no obstante, este no fue en promedio superior a 2.8% al final del almacenamiento a 9° C y 5.6%, después del periodo de exposición a 20° C, situación que coincide con lo observado anteriormente por El-Otmani y Coggins (1991).

En el caso del ácido-3-indolbutírico no se conocen las concentraciones óptimas en cítricos para la obtención de buenos resultados en cuanto a condiciones de calidad de la fruta; en cuanto a las auxinas como 2,4-D, 2,4 5-T y ácido naftalanacético (ANA), las especie vegetales puede mostrar una variable sensibilidad en cada una de las etapas fenológicas y especies vegetales (Ratna y Lavania, 1985).

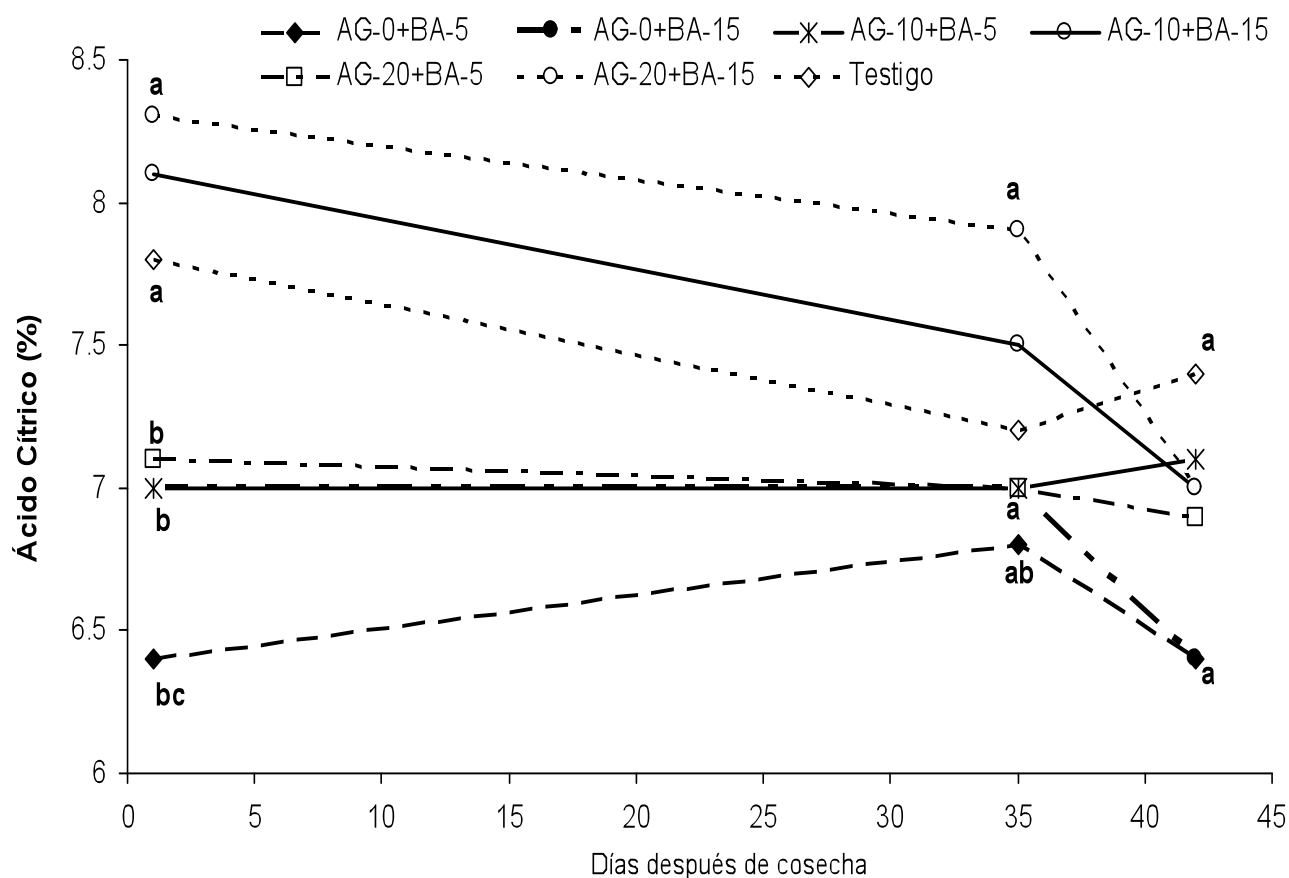


Figura 9. Contenido de ácido cítrico en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG) y Benzil Adenina (BA) a diferentes concentraciones en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P =0.05

4.2.2. Sólidos Solubles Totales (SST)

Al momento de la cosecha, únicamente los frutos donde se aplicó AG₃-20+BA-15 (Tratamiento 12), presentaron diferencias estadísticas significativas respecto al contenido de sólidos solubles totales. Los tratamientos que registraron el menor

contenido, con 7.2 % SST, contra 8.3 % SST, fueron los que recibieron la aplicación de AG₃-0 + BA-15 (Tratamiento 8). Por lo tanto, se observó un menor avance en el desarrollo de la maduración de los frutos procedentes de los árboles tratados con de la mezcla AG₃ + BA con respecto a los de AG₃ + AIB. Al final del periodo de almacenamiento refrigerado a condiciones de comercialización, no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, alcanzando promedios de 9 y 8.7 % SST (Figuras 10 y 11).

Durante el periodo de almacenamiento, en ambas condiciones, el contenido de sólidos solubles totales tendió a incrementarse en una proporción de 5.9% al final de 35 días de almacenamiento a 9° C y 8.2% y al final del periodo de exposición a 20° C, respecto al valor presentado al momento de la cosecha.

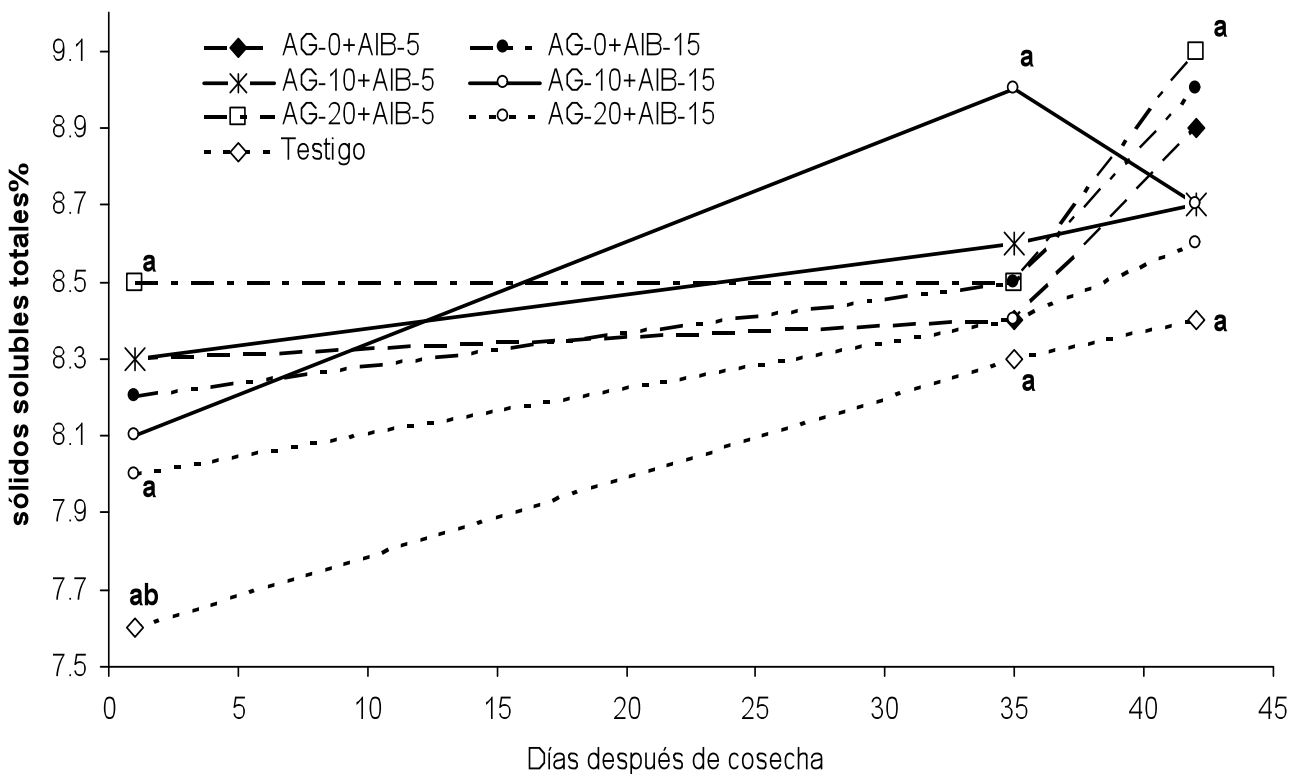


Figura 10 Contenido de sólidos solubles en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG₃) + ácido indolbutírico (AIB) a diferentes concentraciones en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P =0.05

En este sentido, se puede asumir que los tratamientos no afectaron el contenido de sólidos solubles totales durante el periodo de almacenamiento, situación que coincide con lo reportado por El-Otmani y Coggins (1991) y Báez (1991), quienes mostraron que los tratamientos con reguladores del crecimiento no afectaron el contenido de sólidos solubles totales en frutos de mandarina y naranja. No obstante, es de señalar que estos mismos investigadores no observaron cambios en esta variable al momento de cosecha, lo que no coincide con los resultados obtenidos en este experimento,

sobre todo en el tratamiento AG₃-20 + BA-15 (Figura 11), lo cual puede ser un indicio de que se manifiestan diferentes respuestas a los tratamientos hormonales de acuerdo con la especie de que se trate.

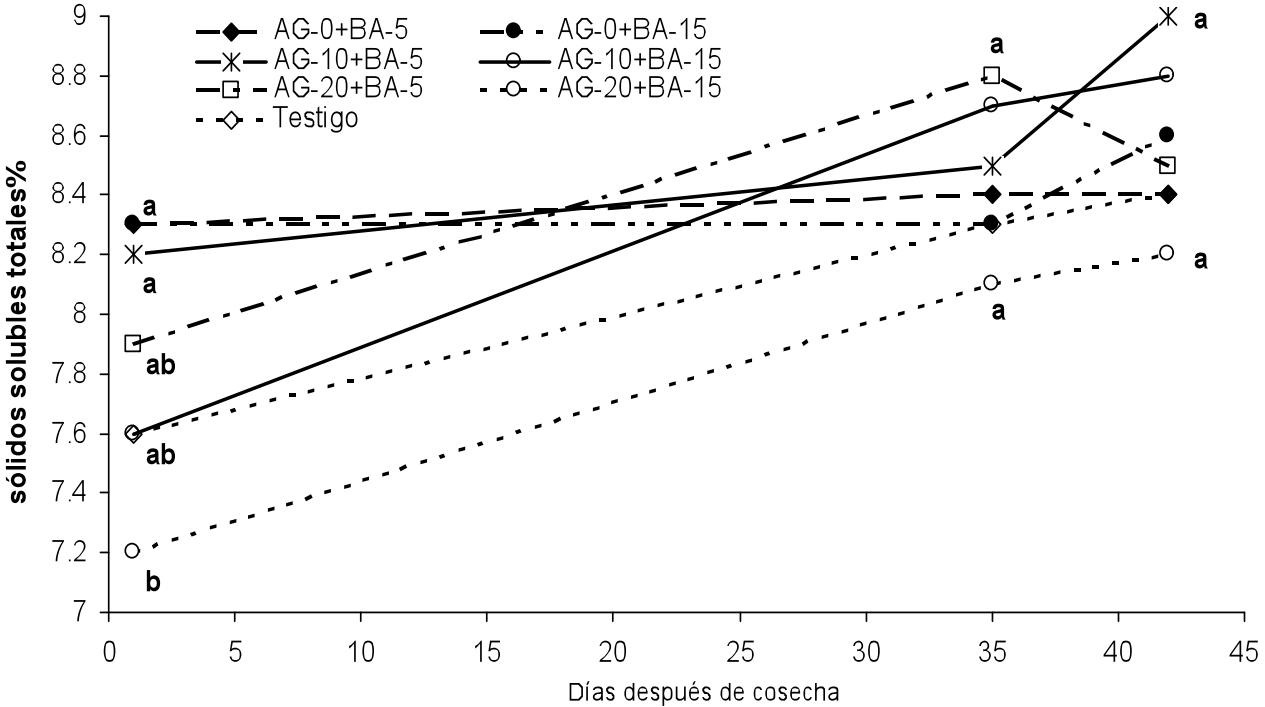


Figura 11. Contenido de sólidos solubles en frutos de limón tratados con ácido giberélico (AG₃) + Benzil Adenina (BA) a diferentes concentraciones en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P =0.05

4.2.3. Índice de Color

De acuerdo con las Figuras 12 y 13 al momento de la cosecha se presentaron diferencias estadísticas significativas en el índice de color (IC), sobre todo en los frutos con AG₃-20+BA-15 (Tratamiento 12), los cuales alcanzaron la tonalidad más

verde al presentar un valor de IC más negativo (-16.6) (Figura 13), aunque en general los frutos de la mezcla AG₃ + BA resultaron con los valores más negativos y por tanto con mayor intensidad de color verde; no así los frutos tratados con la mezcla de AG₃ + AIB que tendieron a valores menos negativo (-13.68) es decir, con color verde menos intenso (Figura 12), incluso similar al testigo (-13.3).

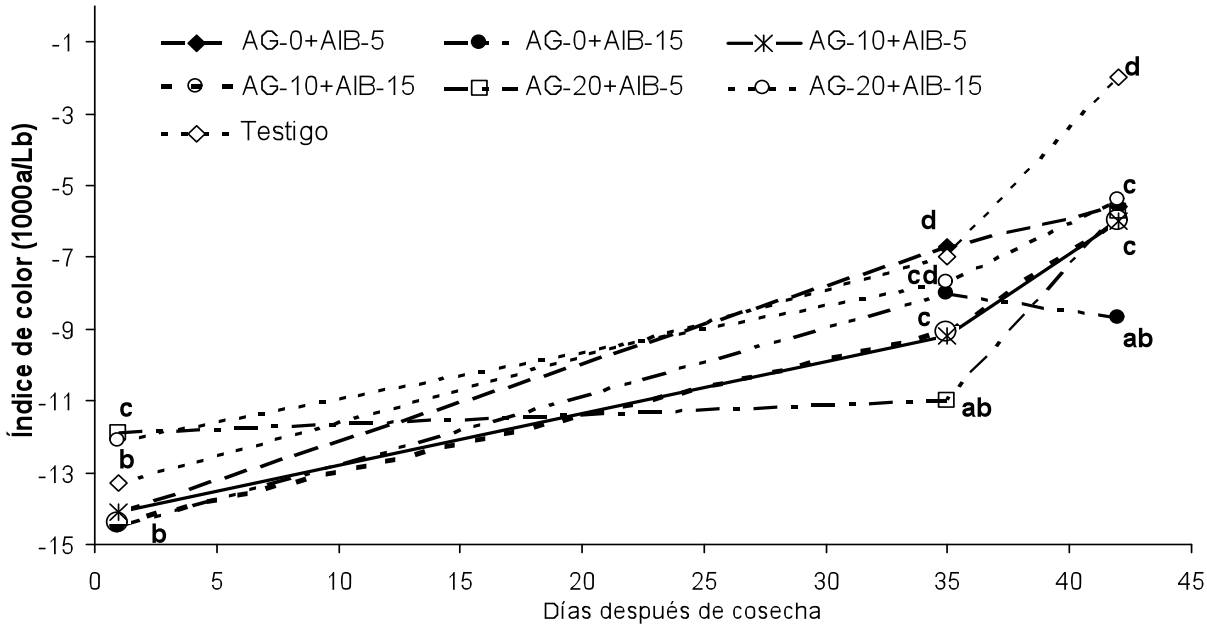


Figura 12. Índice de color en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG₃) + ácido indolbutírico (AIB) a diferentes concentraciones en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P =0.05.

El efecto de los tratamientos con AG₃ + BA permaneció durante los periodos de almacenamiento establecidos, aunque con valores menos negativos (-11.31 y 8.71) para 35 días a 9° C y 7 días a 20° C, respectivamente, siendo sin embargo menos

negativos los de AG₃ + AIB (-8.6 y -6.23, en el mismo orden) y el testigo (7.0 y 2.0) para los mismos periodos. Estos resultados permiten establecer un mejor control de las pérdidas de color verde por el tratamiento AG₃ + BA, sobre todo del correspondiente a AG₃-20 + BA-15, que presentó los menores cambios en color al final de los periodos de almacenamiento establecidos, es decir -13.8 y -9.9 para 35 a 9° C y 7 días a 20° C, respectivamente.

Las menores pérdidas de color verde generadas por la mezcla de AG₃ + BA presuponen un efecto sinérgico de ambos compuestos en el avance de la senescencia durante el desarrollo de los frutos en la planta y durante el almacenamiento. Al respecto, García-Luis *et al.* (1986) reportan que aplicaciones de AG₃ + BA retardan la degradación de clorofila en frutos de mandarina 'Satsuma'.

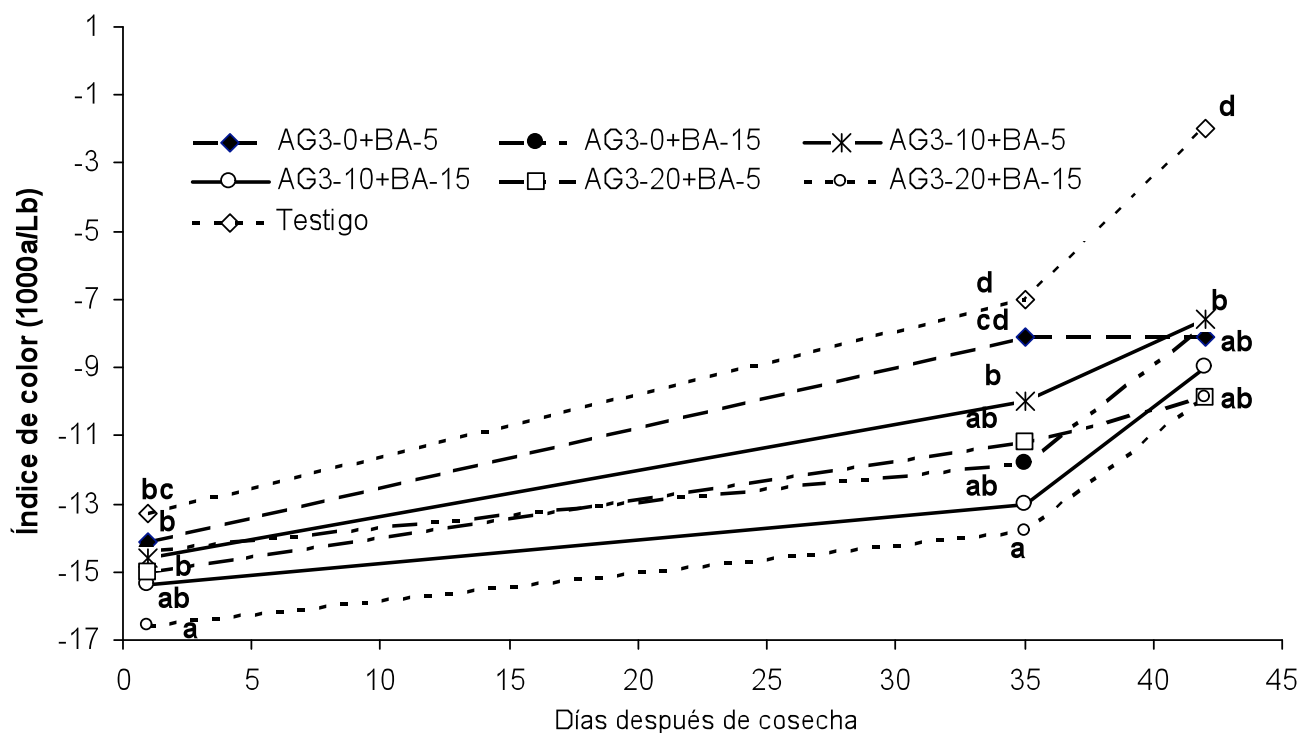


Figura 13. Índice de color en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG₃) + Benzil Adenina (BA) a diferentes concentraciones en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P = 0.05

Por otra parte Báez (1991) consignó que el uso de AG₃ + BA retrasa la coloración de 'Clementinas en la planta por un período comprendido entre uno y dos meses después de la aplicación; además, la mezcla de los dos compuestos hormonales fue más eficiente en el retraso de la coloración de los frutos que cuando se aplicaron individualmente.

En el caso de la aplicación de la mezcla AG₃ + AIB (Figura 12) donde no se presentó un efecto positivo en el retraso de la senescencia de los frutos y por tanto de las pérdidas de

color, es importante señalar que estos resultados difieren de los reportados El-Otmani y Coggins (1991), quienes aunque utilizando otras auxinas, encontraron que las aplicaciones precosecha de AG₃ (ácido giberélico), sólo o en combinación con 2,4-D (ácido 2-4 diclorofenoxiacético), retardaron significativamente los cambios en el color y el ablandamiento de la cáscara, de frutos de mandarina 'Clementina' y naranja 'Washington Navel', lo cual permite suponer un efecto de incompatibilidad entre AG₃ y el AIB.

García-Luis *et al.* (1986) y previamente Sites y Reitz (1950) encontraron que las aplicaciones de AG₃ + BA retardan la degradación de clorofila en frutos de mandarina 'Satsuma'. El etileno, en cambio, induce la degradación de cloroplastos a cromoplastos y con ello ocurre la degradación de la clorofila por hidrólisis y la síntesis de nuevos carotenoides característicos del fruto maduro (Stewart y Wheaton (1972). La clorofila es degradada por la enzima clorofilasa (Trebish *et al.*, 1993), por lo que Goldschmidt (1993) mostró que las naranjas 'Valencia' y 'Shamouti', tratadas con AG₃ a concentraciones de (30 mg.L⁻¹) y BA (30 mg.L⁻¹) con cáscara verde, necesitaron concentraciones más altas de ethephon para degradar su contenido de clorofila.

En cambio, los frutos con el tratamiento de la auxina (AIB) resultaron menos eficientes en el retardo del cambio de color y presentaron colores menos verdes, que los de aplicaciones de BA. Aún así, la mayor parte de estos tratamientos permanecieron más verdes que el testigo, mostrando diferencias estadísticas desde el primer día después de la cosecha y durante todo el período de análisis, lo cual sugiere una respuesta similar a lo reportado por El-Otmani y Coggins (1991) quienes señalan que las aplicaciones

precosecha de AG₃ (ácido giberélico), sólo o en combinación con 2,4-D, retardaron significativamente los cambios en el color y en el ablandamiento de la cáscara de frutos de mandarina 'Clementina' y naranja 'Washington Navel'.

4.2.4. Pérdida fisiológica de peso

En cuanto a las pérdidas de peso, tanto los tratamientos de AG₃ + BA como el de AG₃ + AIB, propiciaron las menores pérdidas de peso promedio al final de ambos periodos de almacenamiento. Los frutos con AG₃ + BA, perdieron 6.5% y 9.1% después de 35 días a 9° C + 7 días a 20° C, respectivamente, así como 6.6% y 9.6% para los de los tratamientos de AG₃+AIB (Figura 14), en el mismo orden. De esta manera, las pérdidas más altas correspondieron al testigo, con 10.7 y 14.4% en los mismos periodos. Es de resaltar que los tratamientos con AG₃-20+BA-15 y AG₃-10+BA-15 reportaron las menores pérdidas de peso ya que al final de 35 días a 9 ± 1°C alcanzaron un total de 6% de pérdidas y se elevaron hasta 8.0 y 8.3%, después de siete días en condiciones de comercialización (20 ± 2° C), respectivamente (Figura 15).

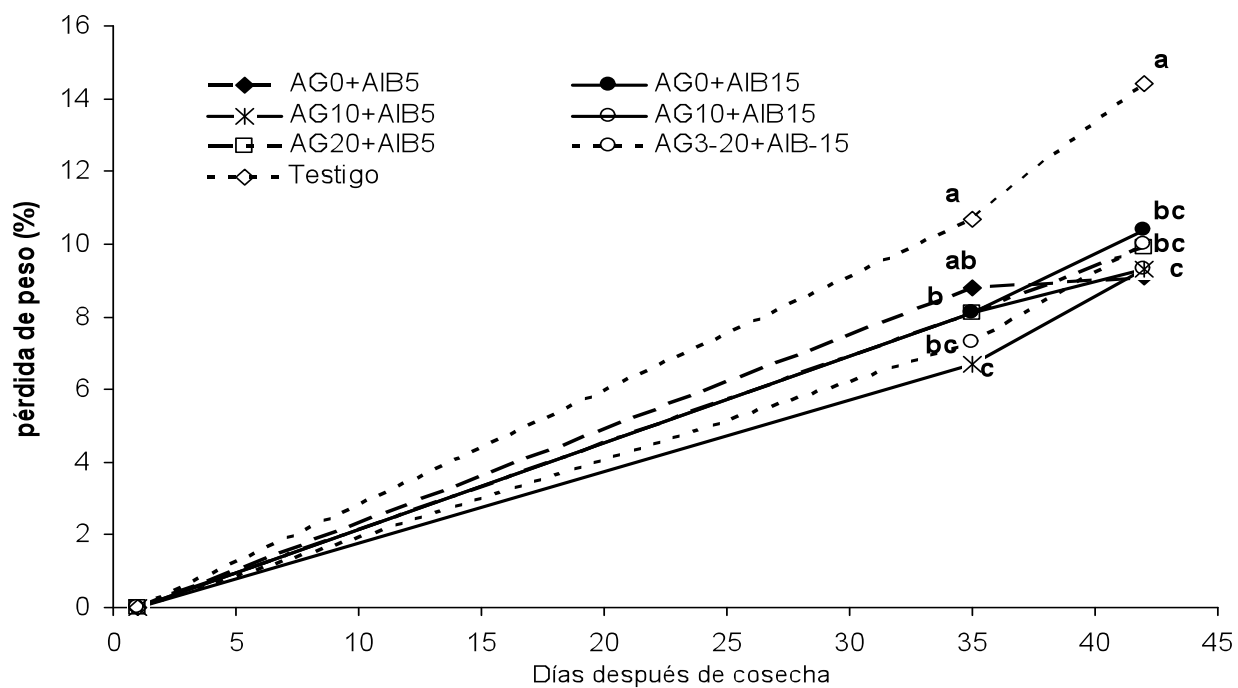


Figura 14 Pérdida de peso en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG₃) + ácido indolbutírico (AIB) a diferentes concentraciones en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P = 0.05

Estudios realizados por Báez *et al.* (1993) en mandarina Clementina, revelaron que las aplicaciones de AG₃ + BA, disminuyen las pérdidas de agua y por tanto las pérdidas de peso, mediante el control de la disminución en el peso de la cutícula y su contenido durante la maduración y la senescencia, además de contrarrestar el efecto de pérdida de la permeabilidad de las cutículas.

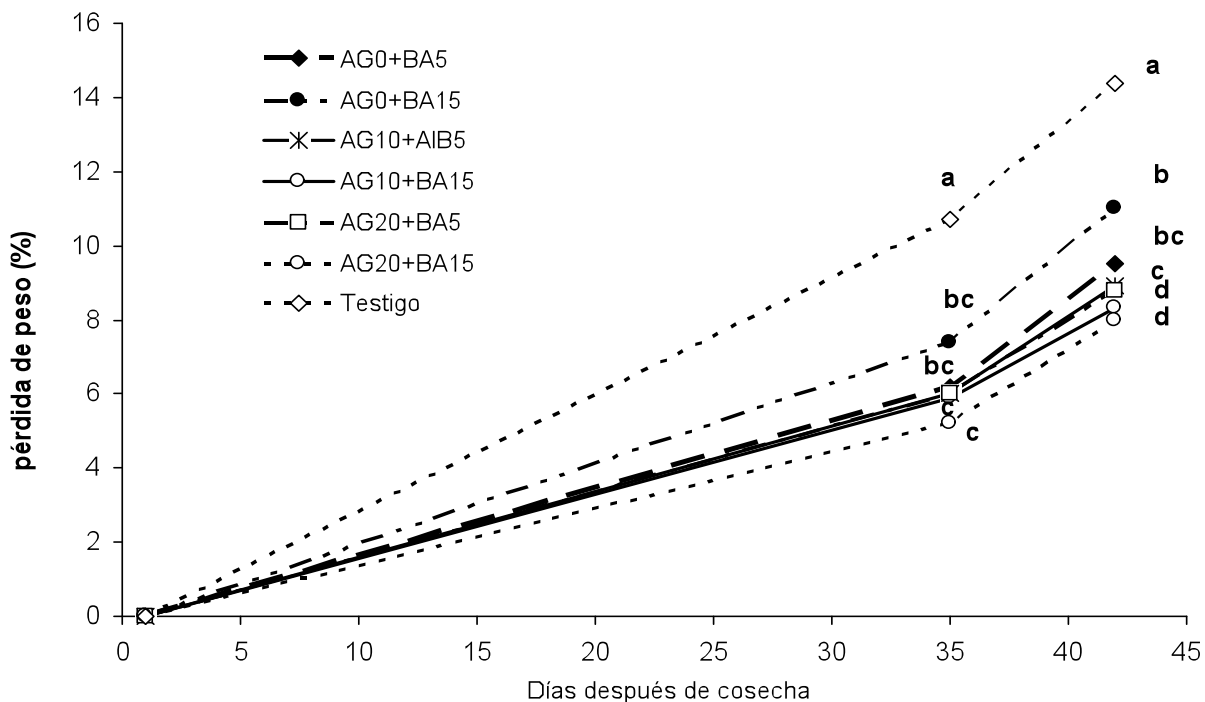


Figura 15 Pérdida de peso en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG)+Benzil Adenina (BA) a diferentes concentraciones en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey $P=0.05$

4.2.5. Ácido Ascórbico

En cuanto al contenido de ácido ascórbico, al inicio del experimento no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos (Figuras 16 y 17), aunque los valores mayores se presentaron en los frutos que recibieron los tratamientos 12 y 10 correspondientes a $\text{AG}_3\text{-20+BA-15}$ con $48.8 \text{ mg}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ y $\text{AG}_3\text{-10+BA-15}$ con un contenido de $46.2 \text{ mg}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$. A los 35 días de almacenamiento a 9°C , se observaron diferencias estadísticas significativas correspondiendo los valores mayores a los tratamientos $\text{AG}_3\text{-20+BA-15}$ ($43.3 \text{ mg}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$) y $\text{AG}_3\text{-10+BA-15}$ ($42.0 \text{ mg}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$); disminuyendo las

concentraciones de ácido ascórbico a 29.9 y 29.5 mg·100 mL⁻¹ de jugo para dichos tratamientos en el mismo orden, después de 7 días a 20° C (Figura 17).

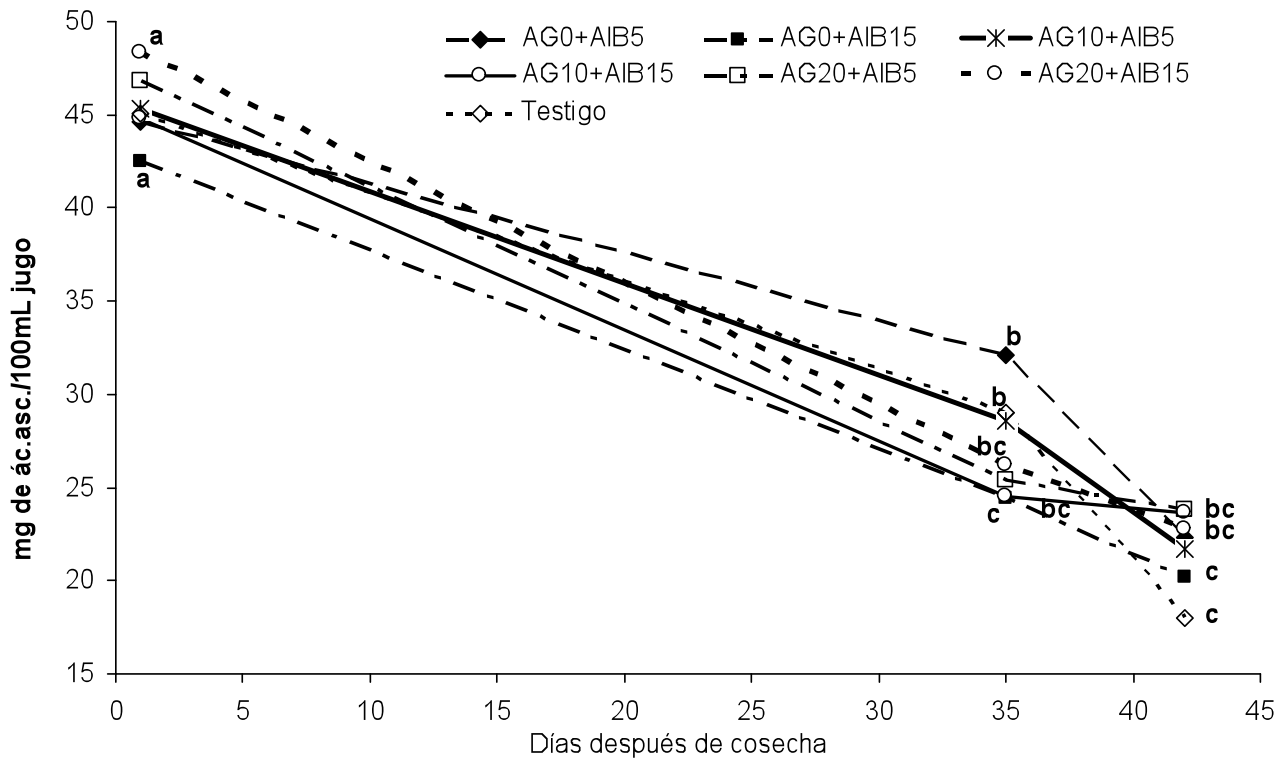


Figura 16. Contenido de ácido ascórbico en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG) + ácido indolbutírico (AIB) a diferentes concentraciones en mg·L⁻¹ aplicados en precosecha

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey P = 0.05

Las mayores pérdidas de ácido ascórbico correspondieron a los tratamientos AG0+AIB5 y AG0+AIB15 que presentaron al final del período de almacenamiento (42 días) valores de 22.3 y 20.2 mg·100 mL⁻¹, lo que representa un descenso de un 50 y 52.5% respecto a los contenidos iniciales, mientras que en el testigo, al final del período de almacenamiento, cuando alcanzaron niveles de 9.1 a los 35 días y 18.0 mg·100 mL⁻¹. En

el testigo además, el contenido de ácido ascórbico descendió en un 60% (Figura 16), lo que concuerda con las investigaciones de Husain *et al.* (2004) en las cuales encontró que después de 45 días de almacenamiento, el contenido de ácido ascórbico en cítricos descendió en 32%, descenso que ya había sido reportado por (Baduí, 1994) quien demostró que el ácido ascórbico en frutos frescos se pierde durante la maduración y senescencia al degradarse hasta ácido dehidroascórbico, por efecto de la enzima ascórbico oxidasa.

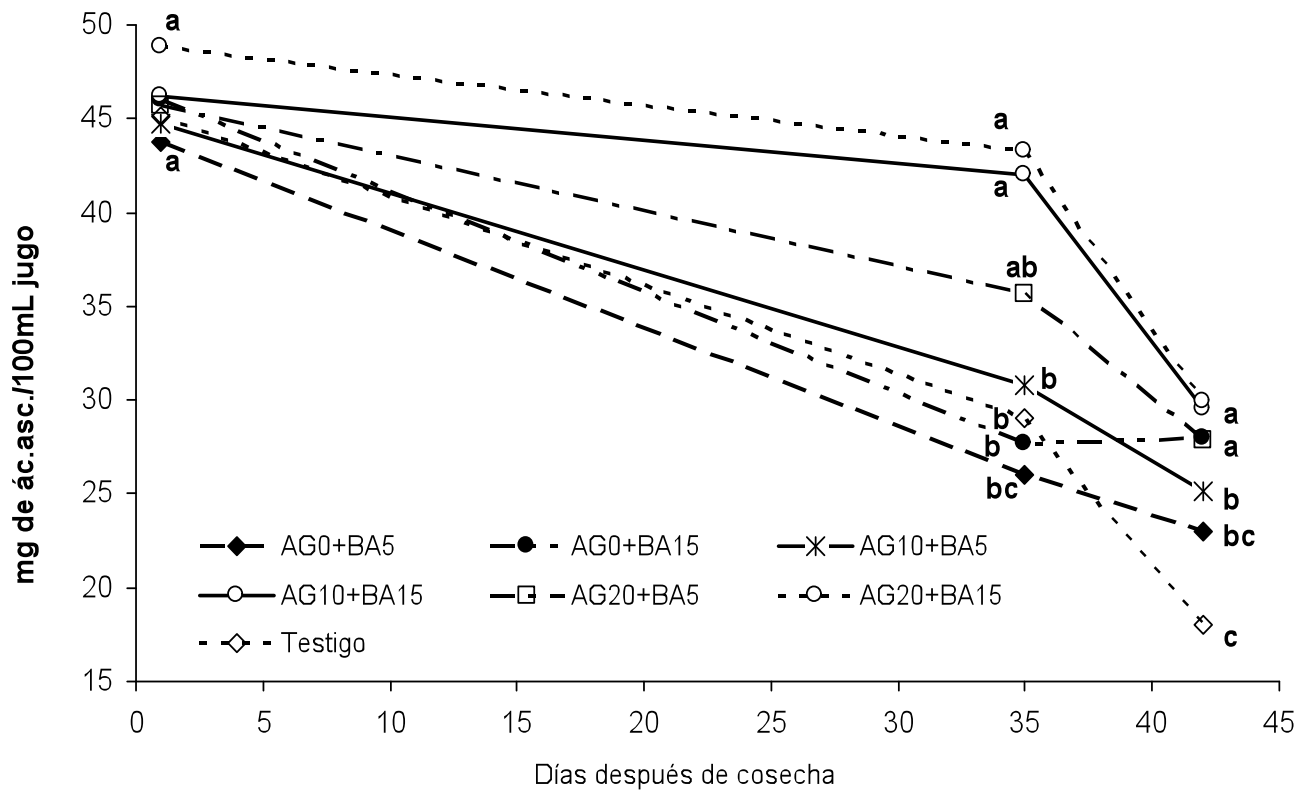


Figura 17 Contenido de ác. ascórbico en frutos de limón, tratados con ácido giberélico (AG) + Benzil Adenina (BA) a diferentes concentraciones en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Las medias seguidas por letras diferentes son significativamente diferentes dentro de las fechas en sentido vertical, por la prueba de separación de Tukey $P = 0.05$

4.2.6. Índice de Daños por frío

Durante el almacenamiento se presentó la incidencia de daños por frío, principalmente en los frutos del testigo, los cuales alcanzaron un total de 8%, después de 35 días a 9° C y se elevaron hasta 22% tras 7 días a 20° C, variando los daños de severos a moderados y ligeros. Al final de ambos periodos de almacenamiento la incidencia del desorden fisiológico fue de 4 y 4.1%, en el mismo orden, mencionado anteriormente. Es de señalar que los frutos del tratamiento AG₃-20+BA-15 presentaron la menor incidencia de daños con sólo 3% hasta la salida del almacenamiento a 20° C (Figuras 18 y 19). Estos resultados ponen de manifiesto un efecto positivo de los fitorreguladores con acción hormonal sobre el control de daños por frío en frutos de limón mexicano. A la fecha no se tiene claro el mecanismo por el cual éstos mitigan la incidencia de la alteración fisiológica; sin embargo, Wang (2000) indica que las altas humedades relativas son un método para reducir daños frío al prevenir las pérdidas de agua del producto. En este sentido, los resultados de pérdidas de peso revelaron una menor afectación de éstas en los frutos tratados con los reguladores del crecimiento y específicamente en el tratamiento 12 (AG₃-20+BA-15).

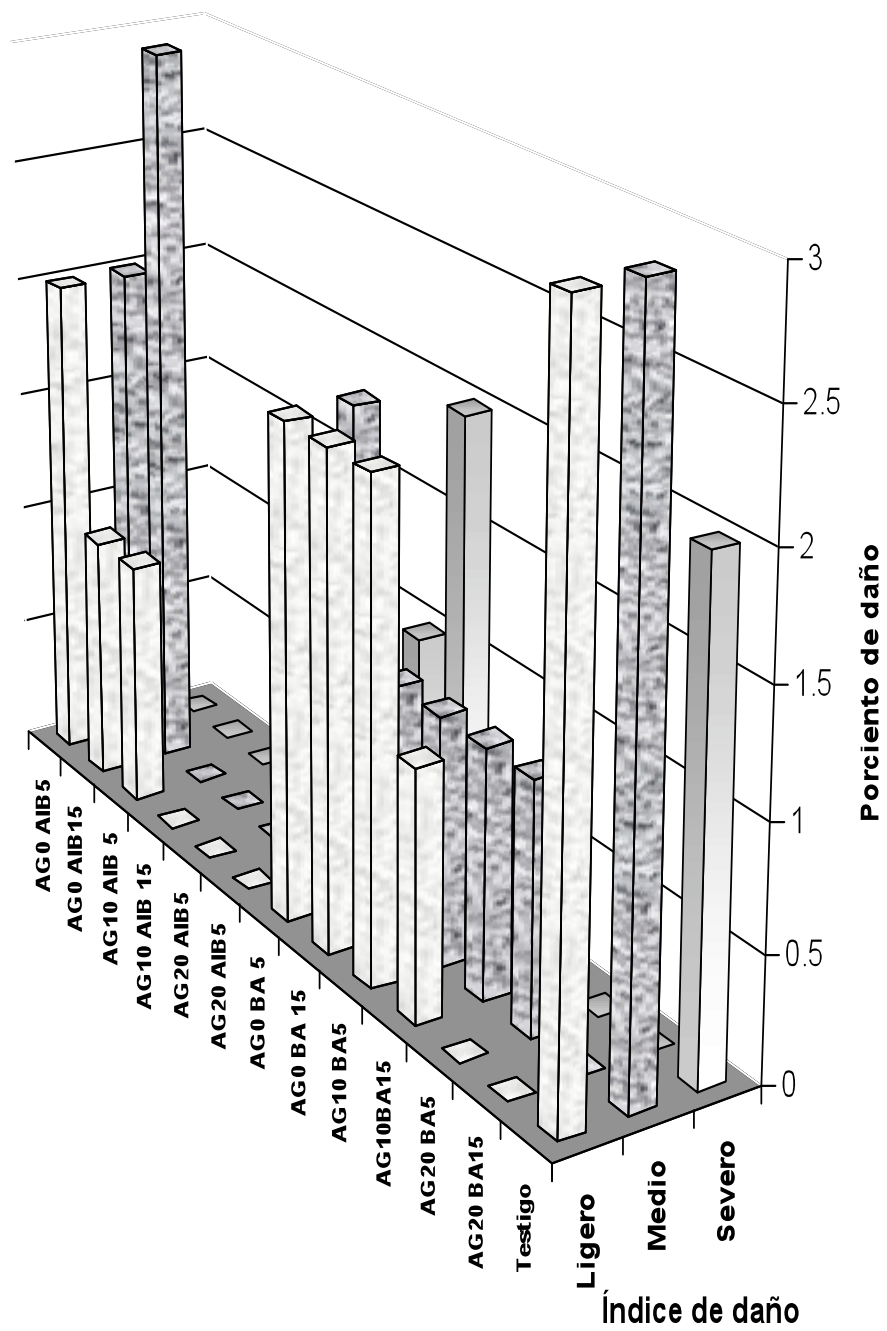


Fig 18. Evaluación de daños por frío en frutos de limón a los 35 días de almacenamiento a 9°C .

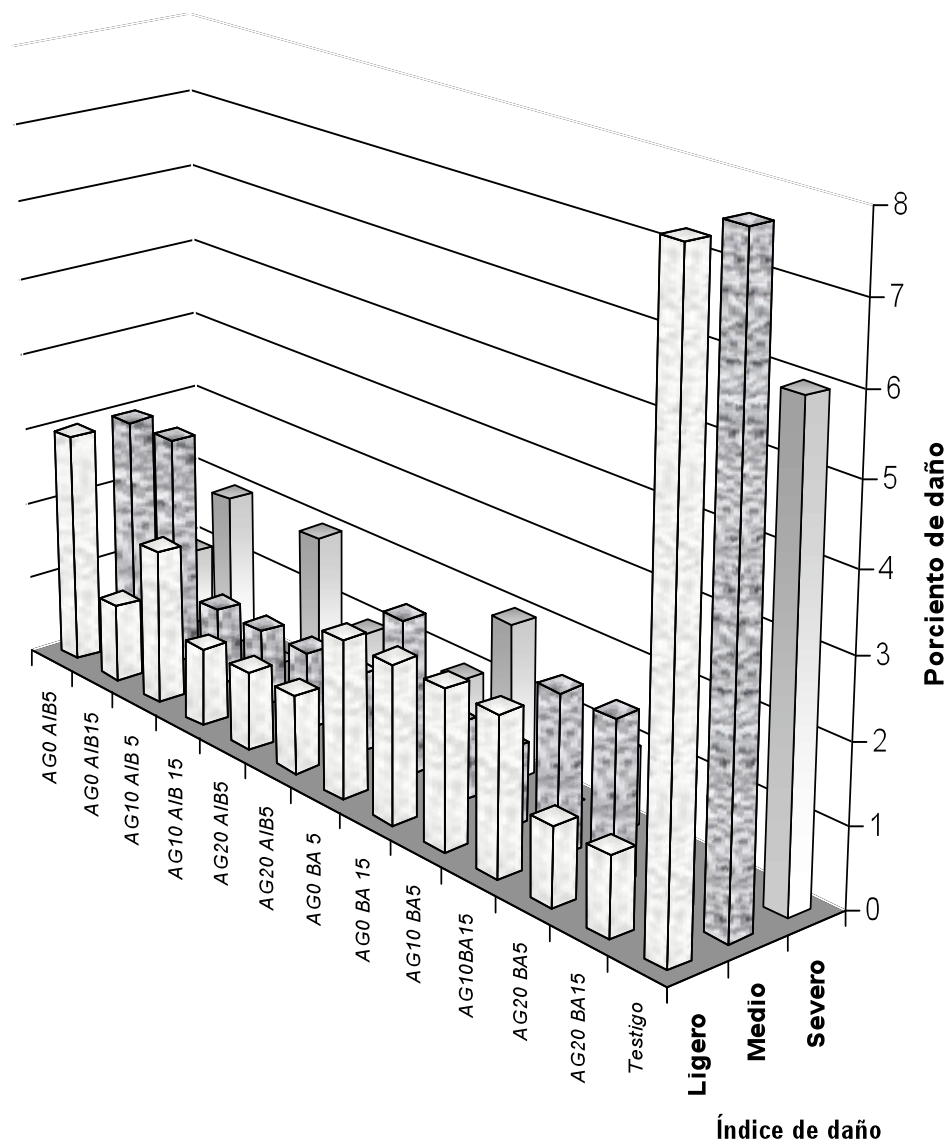


Fig.19. Evaluación de daños por frío en los diferentes tratamientos a los 42 días (35 días de almacenamiento a 9°C mas 7 días a 20°C)

V. CONCLUSIONES

Experimento 1

De acuerdo con los resultados obtenidos, se concluye que el tratamiento con $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AG_3 + cera (Tratamiento 1), permite el almacenamiento de los frutos de limón mexicano por 35 días a 9°C más 7 días a condiciones de comercialización (20°C), al presentar características de calidad más parecidas a las del momento de cosecha.

Dicho tratamiento mantiene en mayor proporción los niveles de ácido cítrico, sólidos solubles totales y contenido de ácido ascórbico; además de reducir significativamente las pérdidas de agua y la evolución del color de la cáscara.

Los frutos que presentaron cáscara de color verde, inducida por el AG_3 , presentaron un contenido menor de sólidos solubles totales en el jugo.

Experimento 2

Al momento de la cosecha se tiene un efecto de retardo en el desarrollo de los frutos por la aplicación de la mezcla de hormonas vegetales en precosecha, sobre todo en los tratamientos de AG₃ + BA, esto tiende a mantener una mayor proporción de ácido cítrico, menor cantidad de sólidos solubles totales, el índice de color más negativo (mayor tonalidad verde) y mayor contenido de ácido ascórbico.

Al finalizar los períodos de almacenamiento se presentó, en todos los tratamientos, un contenido similar de ácido ascórbico, pero no se presentaron cambios en la calidad interna evaluada a partir del contenido de ácido cítrico y SST; sin embargo, los tratamientos con reguladores del crecimiento, redujeron las pérdidas de ácido ascórbico tanto a la salida a 9°C como a los 7 días a 20 °C.

Las pérdidas de color resultaron menores en los tratamientos AG₃ + BA, siendo el tratamiento AG₃ 20 + BA15 el que al final de los dos períodos de almacenamiento mantuvo el color menos amarillento.

En cuanto a las pérdidas de peso los frutos que fueron tratados con reguladores de crecimiento, presentaron las menores pérdidas de peso, siendo asimismo menores en los tratamientos 12 y 10 con AG₃ 20 + BA15 y AG₃ 10 + BA15.

Los frutos presentaron daños por frío (DPF) con todos los tratamientos, siendo sin embargo menores en el tratamiento AG₃ 20 + BA15.

El tratamiento AG₃20 + BA15 presenta una opción viable para reducir las pérdidas de color, las pérdidas de peso, la incidencia de daños por frío, además de mantener la calidad interna por un período de 35 a 9°C y 7 días a 20°C.

El tratamiento AG₃20 + BA15 representa una opción viable para reducir las pérdidas de color, pérdidas de peso, incidencia de daños por frío, además de mantener la calidad interna por un período de 35 a 9°C y 7 días a 20°C.

VI. LITERATURA CITADA

Agustí-Fonfría M. y V. Almela-Orenga. 1991. Aplicación de fitorreguladores en citricultura. Edit. AEDOS Barcelona España.

Agustí, M. 2000. Citricultura. Ediciones Mundi-Prensa. Barcelona España 416pp.

Albrigo, L. G. 1986. Peel morphology and fruit blemishes. In Citrus flowering, fruit set and development. (Citrus short course) edited Ferguson, J.J. University of Florida. Institute of Food and Agr. Science pp 73-81

Almeida I. L.; J Domingos Rodrigues and E. Orika 2004. Application of Plant Growth Regulators at Pre-harvest for fruit Development of 'Pera' Oranges. Brazilian archives of and technology an international journal Vol. 47, n. 4 : 511-520

Artés, F. 1995. Innovaciones en los tratamientos físicos modulados para preservar la calidad de los productos hortofrutícolas en la postrecolección II tratamientos térmicos cíclicos. Rev. Esp. Ciencia Tecnol. Alim. 35: 45-64, 35: 139-149 y 35: 247-269.

Artés, F. and J. P. Fernández-Trujillo. 1999. Recent studies on postharvest behavior of peaches. Res. Develop. Agric. Food Chem. 3: 471-487.

Artés, F.; J. A. Tudela; and R. Villaescusa 2000. Thermal postharvest treatments for improving pomegranate quality and shelf life. Postharvest Biol. Technology 3: 245-251.

Artés F. y F. Artés-Hernández 2003. Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas. En Avances en ciencias y técnicas del frío-1. Editores A. López , A. Esnoz y F. Artés: Edit. UPCT y SECYTEF p 299-310.

ASERCA, 2002. Comercialización de los productos agropecuarios: limón mexicano. Apoyos y servicios a la comercialización agropecuaria en México SAGARPA. México, D.F. Vol. 101:1-30.

Association of Official Analytical Chemist (AOAC) 1984. Official methods of analysis. W. Horwitz (ed), 13th. Ed. Benjamín Franklin Station Washington, DC. USA. 1018 pp.

Association of Official Analytical Chemist (AOAC) 1990. Official methods of analysis. K. Herlich (ed), 15th. Ed. 22201. Wilson Blvd. Arlington, Virginia. USA. USA Vol II. 1298 p.

Aung, L.H.; D.M. Obenland; L..G. Houck, 1998. Conditioning and heat treatments influence flavedo soluble sugars of lemon. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 73(3): 399-402.

Baduí, S. 1994. Química de los alimentos. Alambra Mexicana. 648 p.

Báez-Sañudo, R. 1991. Cambios fisiológicos asociados a la maduración y senescencia de mandarina clementina (*Citrus clementina* Hort. Ext Tanaka). Tesis Doctoral. Universidad Politcnica de Valencia España.

Báez-Sañudo, R.; F.R. Tadeo; E. Primo-Millo and L. Zacarias 1993. Physiological and ultraestructural changes during the ripening and senescence of clementine mandarin. En Acta Horticulturae 343. pp. 18-24.

Bain, J.M. 1958. Morphology, anatomical and physiological changes in the developing fruit of the Valencia oranges. *Citrus sinensis* (L) Osbeck Austral. J. Bot. 6: 1-24.

Baldwin, E. A.; M. O. Nisperos; R. H. Hagenmaier and R. A. Baker 1997. Use of lipids in edible coating for food products. Food Technol. 51 (6): 56-62.

Ben-Yehoshua, S. 1969. Gas exchange, transpiration and the commercial deterioration in storage of orange fruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94: 524-528.

Ben-Yehoshua, S. V.; V. Rodov; D. Q. Fang and J. J. Kim. 1995. Preformed antifungal compounds of citrus fruits: Effect of postharvest treatments heat and growth regulators. J. Agric. Food Chemistry 43:1062-1066.

Bosquez-Molina, E.; J. Domínguez-Soberanes; L. Pérez- Flores; F. Díaz de León-Sánchez and J. Vernon-Carter. 2003. Effect of edible coatings on storage life of Mexican limes (*Citrus aurantifolia* Swingle) Harvested in two different periods. Acta Horticulturae 632: 329-335.

Brady C. J. 1987. Fruit ripening. Ann. Rev. Plant Physiol. 38: 155-178.

Braddock, R. J. 1999. Handbook of citrus by-products and processing technology. Wiley, N.Y.

Buchanan-Wollaston, V. 1997. The molecular biology of leaf senescence. Journal of Experimental Botany, Vol. 48; Num. 307. pp. 181-199.

Burns, J. K.; D.S. Achor and E. Echeverria, 1994. Carpellary outgrowth development in the endocarp of grapefruit *Citrus paradise* (Rutaceae). Amer. J. Bot. 81: 760-769.

Coggins, C. W. Jr. and H.Z. Hield 1958. Plant regulators. In: The Citrus Industry. Reuter, W., Batchelor, L.D. and Weber, J.H. (Eds). Univ. of California, Vol. II. 371-389.

Coggins, C. W. 1969. Giberellin research on citrus rind aging problems. Proc. First. Intl. Citrus Symp. 3:1177-1185.

Coggins, C. W. 1981. The influence of exogenous growth regulators on ring quality and internal quality of citrus fruit. In Proc. Soc. Citriculture, Vol 1; 214-216.

Coggins, C. W. 1986. Fruit development and senescence. In Citrus flowering, fruit set and development. Ed. By J.J. Ferguson. Fruit crops Dep; Fla. Coop. Ext. Serv.; Univ. of Fla. And Inst. Food Agric. Sci. USA. Pp. 15-20.

Cóme, D. y F. Coribenu 1994. Effets cellulaires et metaboliques du froid les produits végétaux Institute Intern. Froid Brest 5: 17-28.

Couey, H. M. 1982. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. HortScience 17: 162-165

Davies, F.S. 1986. Growth regulator improvement of postharvest quality. , p. 79-99, In Fresh Citrus Wardowski. S. Naagy and W. Grierson (eds). AVI Press, Westport, Conn.

Davies, F. S. and L. G. Albrigo 1998. Crop Production Science in Horticulture. 2^a Printed. CAB International. Printed in Great Britain. p. 221.

Del Río, L. A.; G. M. Pastori; J. M. Palma, L.M. Sandalio; F Sevilla; F. J. Corpas; A. Jiménez; E. López-Huertas; J. A. Hernández. 1998. The activated oxygen role of peroxisomes in senescence, Update on Biochemistry, Plant Physiol. 116:1195-1200.

Dou, H. 2003. Volatile differences of pitted and non-pitted 'Falgello'Tangerine and White 'Marsh' grapefruit. HortScience 38 (7): 1408-1409.

Eilati, S.K. Goldschmidt, E.E. and Monselise, S.P. 1969. Hormonal control of colour changes in orange peel. Experientia 25: 209-210.

El-Otmani, M.; C.W. Coggins and I.L. Eaks. 1986. Fruit Age and Gibberellic acid effect on epicuticular wax accumulation, respiration and internal atmosphere of navel orange fruit. J. Amer. Soc.Hort.Sci. 111: 228-232.

El-Otmani, M.; C. W. Coggins .1985. Fruit development and growth regulators effects on normal alkanes of “Washington” Navel orange fruit epicuticular wax. *J. Agric. Food Chem.* 33: 655-663.

El-Otmani M.; M..L. Arpia; C. W. Coggins; J..E. Pehrson and N..V. O’Connel 1989. Developmental changes in ‘Valencia’ Oranges fruit epicuticular wax in relation to fruit position on the tree. *Scientia Hort.*, 41: 69-81.

El-Otmani, M. and C. Coggins. 1991. Growth regulator effects on retention of quality of stored citrus fruits. *Scientia Horticulturae*, 45: 261-272

El-Zeftawi, B.M 1980. Effect of gibberellic acid and cycocel on colouring and sizing of lemon. *Scientia Horticulturae* 12:177-182

Fidelibus M. W.; F. S. Davies and C.A. Campbell 2002^a. Gibberellic acid application timing affect fruit quality of processing oranges. *HortScience*, Vol. 37(2): 353-357.

Fidelibus, M. W; A. A. Teixeira and F. S. Davies 2002^b. Mechanical properties of oranges peel and fruit treated pre-harvest with gibberellic acid ASABE (The American Society of Agricultural and Biological Engineers) Vol. 45(4): 1057–1062

Fucik, J. E .1981. The effect of preharvest foliar spray of 2,4-D and gibberellic acid on the postharvest storage characteristics of ‘Ruby Red’ grapefruit. *Proc. Int. Soc. Citriculture.* 1981. 221-224.

García-Luis, A. M.; M. Agustí; V. Almela; E. Romero and J.L. Guardiola. 1985. Effect of gibberellic acid on ripening and peel puffing in satsuma mandarin. *Scientia Hort.* 27: 75-86.

García-Luis A.; Fornes F. and J.L. Guardiola, 1986. Effects of gibberellin and citoquinins on natural and post-harvest, ethylene-induced pigmentation of Satsuma mandarin peel. *Physiol. Plantarum* 68: 271-274.

Goldschmit, E. E.; Y. Aharoni; S. K. Eilati; J. W. Riov; and S. P. Monselise. 1977. Differential counteraction of ethylene effects by gibberellin A₃ and N₆-benzyl adenine in senescing citrus peel. *Plant Physiology* 59: 193-195.

Goldschmidt, E. E; D. Galili. 1974 . The fate of endogenous, gibberellins and applied radioactive gibberellin A₃ during natural and ethylene-induced senescence in citrus peel. *Plant and Cell Physiol.* 15: 485-491.

Goldschmidt, E. E. 1997. Ripening of citrus and other non-climacteric fruits: a role for ethylene. *Acta Horticulturae.* 463: 335-340.

Greenberg, J. S, Y. Oren, G. Eshel and E. E. Goldschmidt. 1992. Gibberellin A₃ (GA₃) on Mineola tangelo;; extension of the harvest season and improvement of fruit quality. Proc Intl Soc.. Citricult. 456-458.

Guardiola, J. L.; M. Agustí; J. Barberá y A. Sanz. 1981. Influencia del ácido giberélico en la maduración y senescencia del fruto de mandarina clementina (*Citrus reticulata* Blanco). Rev. Agroquímica. Tec. Alimentos 21: 225-239.

Guardiola, J. L. and E. Lázaro, 1987. The effect of synthetic auxins on fruits growth and anatomical development in Satsuma mandarin. Scientia Horticulturae 31: 119-130.

Guardiola J. L.; V. Almela and M.T. Barrés. 1988. Dual of effect of auxins on fruit growth in 'Satsuma' mandarin. Scientia Horticulturae, 34: 228-237.

Guardiola J. L.; M. T. Barrés; C. Albertand and A. García-Luis 1993. Effects of exogenous growth regulators on fruit development in *Citrus unshiu*. Annals of Botany 71: 169-176.

Hagenmaier, R. D.; and P. Shaw. 1992. Gas permeability of fruit coating waxes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117: 105-109.

Hagenmaier R. D. and R. A. Baker 1993. Reduction in Gas Exchange of Citrus Fruit by Wax Coatings. J. Agric. Food Chem. 41: 283-287.

Hall, D. J. 1981. Innovations in citrus waxing an overview. Proc. Florida State. Hort. Science 94: 258-263.

Hardenburg. R. E.; A. E. Watada and C..Y. Wang 1990. The commercial storage of fruit and vegetables and florist and nursery stocks. Agricultural Handbook 66. Ed. USDA Washington. 130 p.

Hultin, H.O. and M. Milner 1978. Postharvest biology and biotechnology. West-port, CT. Food and nutrition Press.

Hussain I; Ahmed M; Khan M and I. Shakir. 2004. Effect of Uni-Packaging on the postharvest behavior of citrus fruits in N.W.F.P. Pakistan Journal of Nutrition 3 (6):333-339.

Iglesias J.; F. Tadeo; F. Legaz; E. Primo-Millo and M. Talón. 2001. In vivo sucrose stimulation of colour in citrus fruit epicarps: Interactions between nutritional and hormonal signals. Physiologia Plantarum 112: 244-250.

Iqbal N. and I. Karacali. 2004. Gibberellins contents in leafy fruitless of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*, Marc.) in relation to fruit quality. Pakistan Journal of Biological Science 7 (10):1814-1819.

Jiménez- Cuesta, M.; J. Cuquerella and J.M. Martínez-Javega. 1981. Determination of color index for fruit degreening. Proc. Int. Soc. Citriculture 2: 750-753.

Kader, A. A. 1992. Postharvest biology and technology: an overview. pp 15-20. Technical Ed. University of California. Division of Agriculture and Nature Resources Publication.

Laskowski, L.E.; A. García-Luis y J. Torres. 2006. Desarrollo del fruto de *Citrus sinensis* c.v. Salustiana. Bioagro 18(1): 15-23.

Latorre, B. 1992. Enfermedades de las plantas cultivadas. Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 626 p.

Leguizamon, G.; L. Luchsinger and B. Razeto 2001. Influence of harvest season, fruit maturity and storage temperature on the development of chilling injury in "Eureka" lemon fruit. In Acta Horticulturae 553: 297-300.

Lyons, J. M.; J. K. Raison and P. L. Steponkus. 1979. The plant membrane in response to low temperature: An overview. pp. 1-24. In: J.M. Lyons, D.Graham. and J.K. Raison (eds.) Low temperature stress in crops plants. Academic Press. London and New York.

Luchsinger, L. and F. Artés. 2000. Alleviating chilling injuries in stone fruit. En: Improving Postharvest Technologies for Fruits, Vegetables and Ornamentals. Edit Intern. Institute of Refrigeration. Eds: F. Artés. M.I. Gil y M.A. Conesa. II: 474-479.

Marcellin. P. 1992. Les maladies physiologiques du froid. En: Les végétaux et le froid. Ed. D. Côme. Edit. Hermann. Paris. 53-105.

Marcellin. P. and Ulrich. R. 1983. Comportement des fruits et légumes en conditions modulées et programmées. Int. J. Refrigeration. 6: 329-336.

Markhart, A. H. 1986. Chilling injury. A review of possible causes. HortScience 21: 1329-1333.

Martinez-Javega, J. M., C. Saucedo, M. A. Del Rio, M. Mateos. 1992. Influence of storage temperature and coating on the keeping quality of "Fortune" mandarins. Proc. Int. Soc. Citriculture, 3, 1102–1103.

Martínez-Jávega, J.M.; J. Cuquerella; M.A. Del Río and P. Navarro. 1997. Estudios de tratamientos cuarentenarios mediante el uso de bajas temperaturas en frutos cítricos. Reunión Internacional CYTED. Proyecto XI.10, La Habana (Cuba), p:15-23. Ed. C. Saucedo y R. Báez.

Martínez-Téllez M.A. and M.T. Lafuente. 1993. Chilling induced changes in phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo tissue. En Acta Horticulturae 343: 257-263.

Martínez-Téllez M.A. and M.T. Lafuente. 1997. Effect of high temperature conditioning on ethylene, phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase activities in flavedo of chilled 'fortune' mandarin fruit. J. Plant Physiol. Vol. 150: 674-678.

Mathieu, C.S.; P. Moreau; A. Frendo Puppo and M. Davies 1998. Direct detection of radicals in intact soybean nodules. Presence of nitric oxide leghemoglobin complexes. Free radicals Biology and Medicine 24: 1242-1249.

Mazzuz, C.F. 1996. Calidad de frutos cítricos. Manual para su gestión desde la recolección hasta la expedición. Coeditores: TECNIDEX. Técnicas de desinfección S.A. Ediciones de Horticultura S.L. España

McGuirre R.G and G.J. Hallman. 1995. Coating guavas with cellulose or carnauba-based emulsions interferes with postharvest ripening. Postharvest Biology and Technology, Wageningen, V.30, n.2, p. 294-295.

Medina-Urrutia V.M. 1984. Fenología del limón mexicano *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle em II Simposium sobre la agroindustria del limón Mexicano (Eds) J. Valdez-Verduzco, V.M. Medina-Urrutia y A. Saenz-Colin SARH-INIA Campo Experimental Tecomán. p. 133-149.

Medina-Urrutia. V.M.; S. Becerra-Rodríguez.; M. Robles-González. y M. Orozco-Santos y J. Orozco-Romero 1993. El cultivo del limón mexicano en Colima SARH INIFAP, Centro de Investigaciones del Pacífico Centro. Folleto para Productores Núm 5. Colima, Col., 38 p.

Medina-Urrutia V.M. 1997. Plan Nacional Estratégico de Investigación en limón mexicano y limón persa. SAGAR-INIFAP-Campo Experimental Tecomán Mimeografiado 86 p.

Medina-Urrutia V.M.; M. Robles-González; S. Becerra-Rodríguez.; J. Orozco-Romero; M. Orozco-Santos; M. Ovando-Cruz; X. Chávez-Contreras y F. Félix-Castro. 2001. El cultivo del limón mexicano Libro técnico #1 INIFAP, CIRPAC. Campo Experimental Tecomán 188 pp.

Medina-Urrutia V.M. y M. Robles-González. 2004. Situación actual y perspectivas del limón mexicano. 2º. Simposium Internacional de Citricultura, Puerto Escondido Oaxaca, México, 2004.

Mercado-Silva, E. and M. Cantwell. 1998. Quality changes in jícama roots stored at chilling and nonchilling temperatures. J. Food Qual. 3:211-221.

Meza-Rangel, J. 2001. Tecnologías para disminuir la sensibilidad al frío en frutos de toronja con cuarentenas por bajas temperaturas. Tesis Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados Texcoco, México 83 pp.

Mokady; U. Scogan and L. Lieberman. 1984. Stability of vitamin C in fruits and fruits blends. J. Science Food Agric. 35: 452-456.

Monselise, S..P. 1979. The use of growth regulators in citriculture; A review. Scientia Hort., 11: 152-162.

Monselise, S. P. and A. Sasson. 1977. Effects of orchard treatments on orange fruit quality and storage ability . International Citrus Congress (2nd : 1977 : Orlando, Florida), , International Society of Citriculture. 1: 232-237.

Monselise, S. P. 1986. Handbook of fruit set and development. Boca Raton Florida. 586 pp.

Morris, L..L. 1982. Chilling injury of tropical crops: an overview. HortScience 17(2): 161-162.

Murata, T. 1997. In Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits. Edit. Ski Mitra. CAB International. P. 26.

Nobel, P. S. 1974. Temperature dependence of the permeability of chloroplasts from chilling-sensitive and chilling resistant plants. Planta 115: 369-372.

Norman, S. M. 1977. The role of volatiles in storage of citrus fruit. Proc. In. Soc Citricult. 238-242.

Obeland, D. M.; D.C. Fouse; L.H. Aung and L.G. Houck. 1996. Release on d-limonene from non injured lemons treated with hot water and low temperature. J. HortScience 71: 389-394.

Obeland, D. M.; D.A. Margosan; L. G. Houck and L. H. Aung 1997. Essential oils and chilling injury in lemon En: HortScience, Vol. 32(1) 108-111.

Page, T. Griffiths G. and V. Buchanan-Wollaston 2001. Molecular and biochemical characterization of postharvest senescence in broccoli. Plant Physiology, February 2001, Vol. 125, pp. 718-727.

Palma, B., P. Undurraga, y J. Olaeta. 1998. Caracterización histológica como afección no parasitaria en frutos de limoneros. VII Congreso Latinoamericano de Botánica México, Distrito Federal. 18-24 de octubre. Sociedad Latinoamericana de Botánica, Ciudad de México, México.

Pastori, G.M. and L.A. del Río 1997. Natural senescence of pea leaves: Activated oxygen-mediated function for peroxisomes. Plant Physiology 113: 405-412.

Paull R.E. 1990. Chilling injury of crops of tropical and subtropic origin. pp 17-36 In: Wang C.Y. (ed), chilling injury horticultural crops. CRC. Boca Ratón, Florida.

Pérez-Gago, M.B.; C. Rojas y M.A. del Río 2003. Edible coating effect on postharvest quality of mandarins cv. 'Clemenules'. Acta Horticulturae 600: 91-93.

Petracek, P.; D.H. Dou and S. Pao. 1998. The influence of applied waxes on postharvest physiological behavior and pitting of grapefruit. Postharvest biology and Technology. 14: 99-106

Pozo, L., W.J. Kender y J.K. Burns. U. Hartmon on ripening and and A, Grant, 2000. Effects of gibberellic acid on ripening and rind puffin in sunburts mandarin, Proc. Fla. State Hort.Soc.113: 102-105.

Pozzan, M.A.; J. Cuquerella and P. Navarro 1993. Efecto de diferentes recubrimientos en la comercialización directa de naranja "Navelina". Acta del II Congreso Ibérico. S.E.C.H. 1993.

Ratna G.H. V. and M. L. Lavania. 1985. Vegetative growth and nutritional status as influenced by auxins and gibberellic acid, and their effect on fruit yield in lemon. *Scientia Horticulturae*, 26: 25-33.

SAGARPA. 2001. Nmx-FF-087-SCFI-2001 21/09/2001 31-39. PC-024-2005 Norma Oficial mexicana. Secretaría de Economía.

SAGARPA.2004. Sistemas.de.Información. Agropecuaria. (SIACON). Internet. <http://www.sagarpa.gob.mx>.

Sala J.M. 1998. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold stored mandarin fruit. *Postharvest Biology and Technology* 13: 255-261.

Santana O. 2005. El limón un agrío con mucha historia. *El jardín Actual* www.jardinactual.com

Saucedo-Veloz C. 2005. Sistemas de manejo Post-cosecha de limas ácidas (limón 'Persa' y limón 'Mexicano'. Actas del II Seminario internacional Post-cosecha de cítricos. Concordia entre Ríos-Argentina 17-20 de octubre 2005 p. 65-69.

Saunt J. 1992. Citrus varieties of the world. Sinclair International Limited. 40 Hellesdon Park Road, Hellesdon Hall Industrial Park, Norwich, NR9 5 DR, England 128 pag.

Schneider, H. 1968. The Anatomy of Citrus in: Reuther, Batchelor y Webber (eds). The Citrus Industry. Vol 2. university of California, Berkeley.

Shaw, P.E. 1979. Review of quantitative analysis of citrus essential oils. *J. Food Agr. Chem.* 27:246-257.

Sinclair, W. 1984. The Biochemistry and physiology of the lemon and other citrus fruits . University of California. Division of Agriculture and Natural Resources Pp 68-70.

Stewart; I and T.A. Wheaton 1972. Carotenoids in citrus: Their acumulation induced by ethylene. *J. Agr. Food Chemistry* 20: 448-449.

Thompson, A. K. 1996. Postharvest Technology of Fruit and Vegetables. Blackwell Science. Londres. P 158.

Thompson, J.E.; R.L. Ledge; R.F. Barber. 1987. The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytol.* 105:317-344.

Trebitsh-Sitrit T.; E.E. Goldschmidt and J. Riov. 1993. Ethylene induces de novo synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll- degrading enzyme, in Citrus fruit peel. *Prac. Natl Academic Science USA* 90: 9441-9445.

Tumminelli R. ; F. Conti; U. Maltés ; C. Pedrotti; E. Bordonaro. 2004. Efectos de 2,4-D, 2,4-DP, y de GA₃ en la pre-cosecha de la fruta y senescencia “de las naranjas de sangre del tarocco” en huertas sicilianas. Procedimientos del 5^{to} simposio postharvest internacional (Verona, Italia, del 6 al 11 de junio de 2004) Simposio postharvest internacional No. 5. Verona, ITALIE

Undurraga PM.; J. Olaeta C.; J. Retamales and A. Brito. 2006. Effect of dipping in calcium solutions on peteca (rind pitting) in lemons yellow and silver green harvested after a rainfall and cold stored. Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias, Casilla 747, Talca, Chile. *Agricultura técnica.*

Van Rensburg P. J. J.; S. Peng; B.N. Wolstenholme and J.L. Guardiola. 1996. Fruit size in the citrus: The action of and interaction between gibberellic acid on Citrus mandarin (Clementine) Clementine fruit growth and size. *Proc. Int. Soc. Citriculture Vol* (2): 961-969.

Vázquez, D.E.; J.M. Martínez-Jávega; A. Monterde 1998. Ethylene, phenylalanine ammoniolyase and electrolyte leakage on lemons or mandarins as affected by chilling stress. Conferencia in Congreso Internacional del Frío. Madrid España octubre.

Wang, C.Y. 1982. Physiological and biochemical responses of plants to chilling temperatures. *HortScience* 17: 173- 186.

Wang, C.Y. 1991. Reduction of chilling injury in fruits and vegetables. *Postharvest News and information.* 3:165-168.

Wang, C.Y. 2000. Postharvest techniques for reducing low temperature injury in chilling-sensitive commodities. En: *Improving Postharvest Technologies for fruits vegetables and ornamentals.* Edit Intern. Institute of Refrigeration Edits. F. Artés, M.A. Conesa II: 467-473

Watada, A.E. 1982. Chilling injury of horticultural crops: Introduction. *HortScience* 17(2):160.

Wills R, B.; Mc.Glasson; D. Graham and D. Joyce. 1998. An Introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. 4^a Edición CAB International. Sidney Australia.

Zhuang, H.; D. F. Hildebrand and M.M. Barth. 1997. Temperature influenced lipid peroxidation and deterioration in broccoli buds during postharvest storage. Postharvest Biology and Technology: 49-58.