



Instituto
Nacional de
Investigación
Agropecuaria

U R U G U A Y

Resultados de Investigación en Postcosecha de Frutos Cítricos

Jornada de Divulgación

Programa de Investigación
En Producción Cítrica
INIA Salto Grande

29 de Noviembre de 2019
Serie de Actividades de
Difusión N° 794



Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Integración de la Junta Directiva

D.M.T.V., Ph.D. José Luis Repetto - Presidente

Ing. Agr., Mag. Mariana Hill - Vicepresidenta



Ing. Agr. Rafael Secco



Ing. Agr. Alberto Bozzo

Ing. Agr. Alejandro Henry



Resultados de Investigación en Postcosecha de Frutos Cítricos

TABLA DE CONTENIDO

Aplicación de bajas temperaturas en la postcosecha de los frutos cítricos: factores involucrados en la tolerancia al daño por frío.....	2
Efecto de la composición mineral de la cáscara en la tolerancia al daño por frío postcosecha en naranjas	13
Evaluación del comportamiento postcosecha y principales antioxidantes presentes en la pulpa de mandarinas nacionales	22
Efecto de diferentes sales para el control de la podredumbre amarga de los cítricos	33

Aplicación de bajas temperaturas en la postcosecha de los frutos cítricos: factores involucrados en la tolerancia al daño por frío.

Joanna Lado^{1,2}, Pedro Pintos¹, Eleana Luque¹, Ana Inés Moltini^{1,2}, Giuliana Gambetta³, Matías Salvo⁴, Ana Arruabarrena^{1,4}.

¹Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande. Uruguay.

²Plataforma de Agroalimentos, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

³Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de la República.

⁴Unidad de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Contacto: jlado@inial.org.uy

1. Introducción

La presencia de las moscas de la fruta (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus*) en el territorio nacional conlleva la necesidad de un tratamiento cuarentenario para prevenir la aparición de larvas vivas en los frutos cítricos exportados a Estados Unidos. Los protocolos de exportación sugieren la posible adopción de tres tipos de tratamientos para los frutos cítricos: irradiación (rayos gamma), bromuro de metilo y bajas temperaturas (tratamiento de frío) (USDA-APHIS). Los ensayos realizados en INIA Salto Grande han demostrado que las bajas temperaturas constituyen la opción más recomendable como tratamiento cuarentenario, provocando cambios menores en el producto final y favoreciendo también un menor crecimiento de patógenos durante el transporte refrigerado.

Sin embargo, la mayoría de los frutos cítricos son sensibles a las bajas temperaturas, desarrollando diversos síntomas de daño en la piel, conocidos como daño por frío (DF), los cuales no afectan la calidad interna del producto, pero sí deterioran la calidad comercial del mismo (Lafuente y Zacarías, 2006). Por lo tanto, el conocimiento de los principales factores o características de la fruta asociadas con una mayor tolerancia a las bajas temperaturas, brindaría información muy valiosa a la hora de gestionar la fruta según los diferentes destinos. Durante la experiencia de exportación durante varios años Estados Unidos con aplicación de tratamiento de frío, se han observado diferentes tipos de daño y niveles de incidencia de DF, variando notablemente entre años, especies y variedades cítricas.

Actualmente, el proceso de aplicación de bajas temperaturas (pre-enfriado, transporte en contenedores, circulación de aire, etc.) es diferente entre empresas exportadoras; esto puede colaborar en las diferencias en los niveles de DF registrados, así como también son clave las diferentes condiciones ambientales y de manejo durante el desarrollo de los frutos. Diferentes trabajos han demostrado una asociación entre la "condición" de la cáscara (composición y estructura celular y del tejido) con la sensibilidad a diferentes desordenes fisiológicos (Holland et al., 2005; Holland, Nunes et al. 2012; Lado et al., 2015; Sanchez-Ballesta et al., 2006), entre ellos el DF. Es más, la capacidad antioxidante del

tejido se ha descrito como clave para contrarrestar los síntomas de DF en los cítricos (Lado et al., 2016; Lafuente et al., 2005; Sala y Lafuente, 2000).

Para las condiciones de Uruguay, aún se desconoce el posible impacto de las condiciones ambientales y de manejo durante el desarrollo y maduración del fruto sobre su sensibilidad a bajas temperaturas. Paralelamente, durante la postcosecha se pueden aplicar medidas que ayuden a mitigar o enlentecer el desarrollo de síntomas, entre las que destaca el encerado con diferentes recubrimientos (Dou, 2004; Obenland et al., 1997) y la aplicación de hormonas como las Giberelinas (GAs). A nivel experimental y en condiciones comerciales hemos demostrado un efecto positivo de las ceras en enlentecer y minimizar la aparición de síntomas de DF durante el almacenamiento refrigerado, sin observar diferencias entre el nivel de sólidos (12 y 18%) para un mismo tipo de composición (polietileno oxidado y goma laca) (Lado et al., 2016). Sin embargo, sí hemos observado un efecto de la composición de la cera sobre la ocurrencia de DF, dependiendo de la variedad en estudio (Fernández et al., 2019).

A continuación, se presenta un resumen de los principales resultados obtenidos en relación con el estudio de los factores que podrían influir en el desarrollo de tolerancia al daño por frío postcosecha y también un abordaje de los posibles mecanismos endógenos que regulan este proceso de respuesta. Pretendemos con estos trabajos aportar conocimientos sobre algunos manejos agronómicos a considerar para inducir en los frutos una mayor tolerancia a las bajas temperaturas, minimizando la incidencia de DF. Conociendo los factores protectores en una fruta más tolerante, sería posible en el momento de la cosecha, tomar decisiones sobre el destino comercial de dicho embarque. En este sentido, se evaluó la expresión relativa de tres genes llamados C-repeat binding factors (CBFs), los cuales han sido descritos como reguladores de las respuestas a bajas temperaturas en otras plantas (Miura y Furumoto, 2013; Shi et al., 2018). Aún se desconoce su posible rol en los cítricos y podrían servir como marcadores o indicadores de tolerancia o incluso como blanco para futuras modificaciones genéticas en busca de genotipos resistentes.

2. Materiales y Métodos.

2.1. *Evaluación de sensibilidad, efecto del sombreado de frutos y estudio de posibles mecanismos implicados en la tolerancia al daño por frío postcosecha*

Los frutos de las especies/variedades estudiadas fueron: limones (*Citrus limon*) cv. 'Lisbon' y cv. 'Meyer' (*C. limon* x *C. sinensis*), pomelos (*C. paradisi*) cv. 'Star Ruby' y cv. 'Marsh', y naranjas (*C. sinensis*) cv. 'Washington Navel', cv. 'Navelina' y cv. 'Salustiana' y mandarinas (*C. reticulata*) cv. 'Nova' y cv. 'Afourer' fueron cosechados en su madurez comercial. Se evaluó color externo y calidad interna (sólidos solubles y acidez) en cada caso y los frutos fueron almacenados a $1 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Los trabajos de evaluación de daño y expresión génica fueron realizados durante dos años, mostrándose resultados que resumen el comportamiento en ambos años de evaluaciones.

La incidencia de DF en la piel de los frutos se determinó mediante el índice de DF (IDF). Los frutos se clasificaron mediante una escala visual que contempla incidencia y severidad según el siguiente criterio: 0=sin daños visibles; 1= daños ligeros, abarcando

hasta un 10% de la superficie del fruto; 2=daños moderados, abarcando entre 10 y 50% de la superficie del fruto y 3= daños severos, abarcando más del 50% de la superficie del fruto (Lafuente et al., 1997; Figura 1). El IDF se calculó mediante la fórmula: \sum (número de frutos de cada categoría x valor de cada categoría) / número total de frutos examinados.

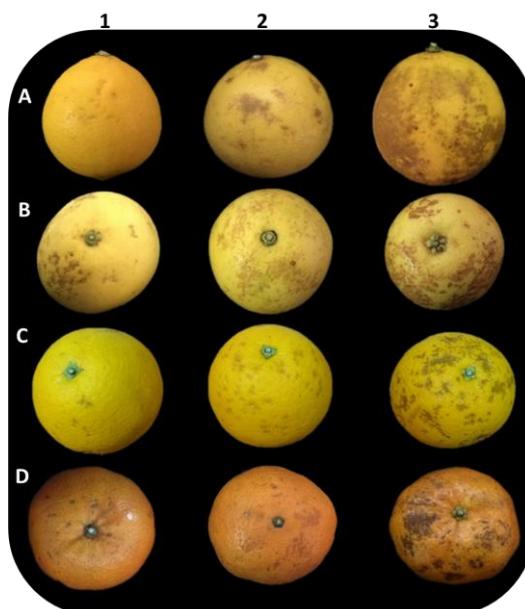


Figura 1. Representación de la escala de índice de daño por frío en Meyer (A), pomelo Marsh (B), naranja Valencia (C) y Mandarina Común(D).

Una vez cosechados y sin pasar por tratamientos de fungicidas ni encerado, los frutos fueron sometidos al **tratamiento cuarentenario según protocolo para EEUU** ("Treatment Manual, Plant Protection and Quarantine"; T107-A-1; USDA-APHIS) y simulando una **dobles cuarentena por frío** más la posterior vida mostrador de 7 días. El diseño experimental fue completamente aleatorio para todos los experimentos, con cinco repeticiones de 15 o 20 frutas por variedad, realizándose un ANOVA de los datos para evaluar el efecto de los tratamientos sobre el DF y una comparación de medias mediante la prueba Tukey ($p < 0,05$).

Para realizar el estudio se extrajo ARN del flavedo, se generó ADN copia y se aplicó la herramienta de PCR real time para cuantificar la expresión relativa de tres genes presentes en cítricos (*CBF1*, *CBF2* y *CBF3*). Estas evaluaciones se realizaron de forma paralela a la cuantificación de DF tras 1, 5, 14, 28, 35 y 58 días de almacenamiento a 1°C.

El análisis se dividió en dos etapas, una primera en donde se comparan cultivares sensibles/tolerantes, evaluándose la incidencia de DF y también la expresión de los tres genes *CBFs* durante el almacenamiento y una segunda etapa donde se seleccionan aquellos frutos más sensibles al daño para modificar la sensibilidad mediante un manejo postcosecha que consiste en cubrir los frutos de la luz durante su desarrollo en la planta (frutos tapados) (Lado et al., 2015), los cuales resultaron ser significativamente más resistentes al DF durante el almacenamiento. A continuación, se presenta un resumen breve de los principales resultados obtenidos.

3. Resultados

3.1. Sensibilidad diferencial al daño por frío y cambios en posibles genes reguladores

Para los dos tipos de limones evaluados (*Citrus limon* cv. 'Lisbon' y *Citrus meyeri* cv. 'Meyer'), se observaron diferencias significativas en sensibilidad al DF; mientras que Lisbon presentó un índice de daño muy bajo (0,28) tras 58 días de almacenamiento, en el caso del híbrido Meyer se observó una sensibilidad muy temprana (en algún año presentó daño ya a los 14 días de almacenamiento) y alcanzó un índice de daño elevado (1,24). Se destaca un buen comportamiento del cv. 'Lisbon', el cual se comportó como tolerante al daño durante los 58 días de almacenamiento a temperatura cuarentenaria.

Se evaluaron también los cambios en la expresión de genes *CBFs* durante diferentes tiempos de almacenamiento, observándose en la mayoría de los casos y principalmente en aquellos cultivares tolerantes al daño, una inducción temprana (1 o 5 días en frío) de estos genes. En el caso de limones, únicamente *CBF1* mostró cambios importantes en la expresión en Lisbon, mientras que Meyer mostró o una reducción o incluso ausencia de cambios en la expresión durante el almacenamiento, para los tres genes evaluados.

En los pomelos (*Citrus paradisi*) rojo Star Ruby y blanco Marsh ocurre algo similar a los limones; en el caso de Star Ruby resultó más tolerante al DF que Marsh, iniciándose los daños en forma posterior y registrando un IDF de 0,57 al finalizar el almacenamiento, en comparación con 1,81 en Marsh. En relación con la expresión de los genes, se observó un aumento en la expresión de *CBF1* y cambios menores en *CBF2* y *CBF3* tras 1 y 5 días de frío. Sin embargo, no se observaron cambios relevantes en la expresión de estos genes en pomelo Marsh, coincidiendo con las diferencias en DF observadas.

Se observaron diferencias en la sensibilidad al DF entre las naranjas (*Citrus sinensis*) evaluadas. W. Navel y Salustiana presentaron los mayores valores de IDF al finalizar los 58 días de almacenamiento, en comparación con un menor DF en Navelina. *CBF1* (en W. Navel y Navelina) y *CBF3* (en W. Navel) mostraron un aumento en su expresión en luego de 1 y 5 días de frío, lo cual no ocurrió en el cv. Salustiana (en donde se indujo únicamente *CBF2* tras 1 día de frío), coincidiendo con una alta incidencia de DF al finalizar el almacenamiento en el este último.

En el caso de las mandarinas, el comportamiento fue similar entre las estudiadas en cuanto al desarrollo de DF, siendo más intenso tras 58 días de almacenamiento, sin observarse síntomas a los 28 días (con excepción de daños leves en Clementina de Nules). En el mismo sentido, la expresión de los genes *CBFs* fue similar entre ellas, con una mayor expresión relativa en Afourer para los tres genes durante todo el período de almacenamiento. Cabe destacar que el único que registró una inducción durante el almacenamiento fue *CBF1*, mientras que *CBF2* y *CBF3* redujeron su expresión en todos los cultivares estudiados (datos no presentados). *CBF1* presentó una inducción en Nova y Afourer tras 1 y 5 días de frío, respectivamente, mientras que luego se mantuvo sin cambios. Para *CBF2* se observó una reducción importante de la expresión durante el

almacenamiento. *CBF3* mostró una mayor expresión siempre en Afourer, ya desde el momento de la cosecha, registrando una reducción posterior en su expresión.

3.2. Efecto del sombreado en la incidencia de daño por frío y en la expresión de genes reguladores de la respuesta a bajas temperaturas

Limones

Dentro de las especies y cultivares que resultaron más sensibles al DF postcosecha, como pomelos, limón y naranja Salustiana, se observó un efecto muy marcado del tapado de fruta durante el desarrollo en la planta. La ausencia de luz durante un período extenso de 3 meses de crecimiento y maduración del fruto parecería inducir tolerancia a las bajas temperaturas. Este efecto fue visible en limones sensibles como el cv. Meyer, en el cual se observó DF a partir de los 14 días de almacenamiento en frutos no tapados, y se retrasó hasta los 28 días en frutos tapados, coincidiendo en este punto de muestreo con una incidencia y severidad 50% menor en los frutos tapados (Cuadro 1, Figura 2). Por otro lado, el limón Lisbon mostró en general una buena tolerancia al daño por frío, y únicamente se observaron diferencias entre frutos tapados y no tapados tras 58 días en frío (Cuadro 1, Figura 2).

En el caso de los cambios a nivel de los genes reguladores, Lisbon registró una inducción de *CBF1* y *CBF3* en frutos tapados, siendo la misma de una magnitud menor en frutos no tapados. No se observaron cambios importantes en *CBF2* en etapas tempranas del almacenamiento. Por otro lado, Meyer mostró inducción de los tres genes en frutos tapados, lo que no ocurrió en frutos no tapados, con mayores cambios relativos en *CBF3* (Figura 3). *CBF2* no varió tampoco su expresión en este cultivar durante el almacenamiento (Figura 3).

Cuadro 1. Índice de daño por frío (IDF) durante el almacenamiento a 1°C en frutos de diferentes especies y variedades cítricas tapados y no tapados durante su desarrollo.

	5d	14d	28d	35d	58d
Limón					
Limon Lisbon No Tap	-	0,05 a	0,11 a	0,11 a	0,20 a
Limon Lisbon Tap	-	0,02 a	0,08 a	0,09 a	0,14 b
Limon Meyer No Tap	-	0,01 a	1,39 b	1,91 b	2,11 a
Limon Meyer Tap	-	-	0,64 ab	0,75 a	2,06 a
Pomelo					
Pomelo Marsh No Tap	-	0,53 a	1,55 a	2,50 a	2,90 a
Pomelo Marsh Tap	-	0,07 b	0,29 b	1,70 b	2,68 b
Pomelo Star Ruby No Tap	-	0,15 a	0,92 a	1,83 a	2,68 a
Pomelo Star Ruby Tap	-	0,00 b	0,13 b	1,00 b	1,20 b
Mandarinas e híbridos					
Nova No Tap	-	0,04 a	0,11 a	0,11 a	0,69 a
Nova Tap	-	0,01 a	0,01 a	0,01 a	0,11 b
Clementina No Tap	-	-	0,40 a	0,63 a	0,63 a
Clementina Tap	-	-	0,00 b	0,00 b	0,00 b
Afourer No tap	-	-	0,03 a	0,04 a	0,23 a
Afourer Tap	-	-	-	-	0,03 b
Naranja					

Salustiana No Tap	-	-	0,12 a	0,26 a	0,82 a
Salustiana Tap	-	-	-	-	-

Medias seguidas de igual letra entre No Tap y Tap no difieren significativamente ($p < 0,05$, Tukey).



Figura 2. Síntomas de DF en frutos tapados y no tapados de limones Lisbon y Meyer en cosecha y luego de 28 y 58 días a 1°C.

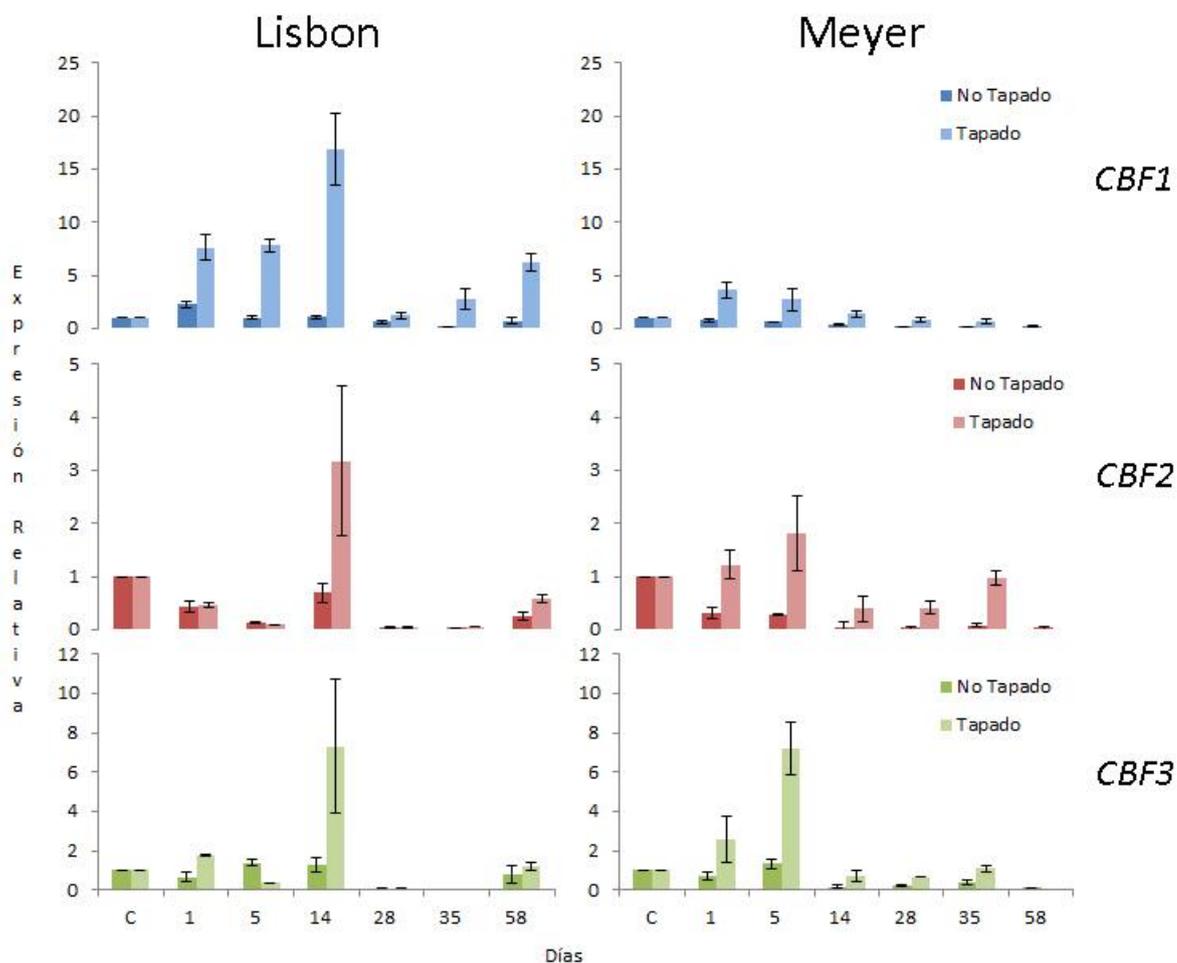


Figura 3. Expresión relativa de genes *CBF1*, *CBF2* y *CBF3* en frutos tapados y no tapados de limón Lisbon y Meyer durante el almacenamiento en frío. C: cosecha.

Pomelos

El pomelo rojo Star Ruby y el blanco Marsh se observó un efecto similar del tapado (Cuadro 1). En el caso de Marsh, la aparición de los primeros síntomas de daño ocurrió a los 14 días en frío, pero la incidencia y severidad siempre fue mayor en frutos no tapados durante todo el período de almacenamiento. El tapado de frutos permitió extender a 28 días el tiempo de almacenamiento sin síntomas importantes de daño. Algo similar ocurrió en Star Ruby, pero el daño se inició más tarde en frutos tapados, registrándose síntomas recién a partir de los 35 días, mientras que en los no tapados ya eran importantes tras 20 días en frío (Cuadro 1).

En el caso de los pomelos, los frutos de Star Ruby que se desarrollan en oscuridad responden con cambios tempranos y más intensos tras 1 día de almacenamiento en frío, principalmente para los genes *CBF1* y *CBF3*, no observándose ninguna inducción en *CBF2*. Sin embargo, esto no ocurrió en Marsh, en donde únicamente se registró un cambio en la expresión de *CBF1* en frutos no tapados.

Naranja

En Salustiana no se observaron diferencias en la coloración entre frutos tapados y frutos expuestos a la luz (Figura 4), existiendo una gran diferencia en la sensibilidad al DF. Los frutos tapados no registraron daños, mientras que los mismos fueron importantes en frutos no tapados, apareciendo tras 28 días de almacenamiento e intensificándose a los 58 días (Figura 4, Cuadro 1).



Figura 4. Síntomas de DF en frutos tapados y no tapados de naranja Salustiana en cosecha y luego de 28 y 58 días a 1°C.

Se observó un cambio importante en frutos tapados en la expresión de *CBF2*, a diferencia de lo observado en otras especies cítricas, y también en *CBF3* tras un día de almacenamiento (Figura 5). Esto no ocurrió en ningún momento en frutos no tapados, siendo más intenso el daño en estos últimos (Cuadro 1, Figura 4).

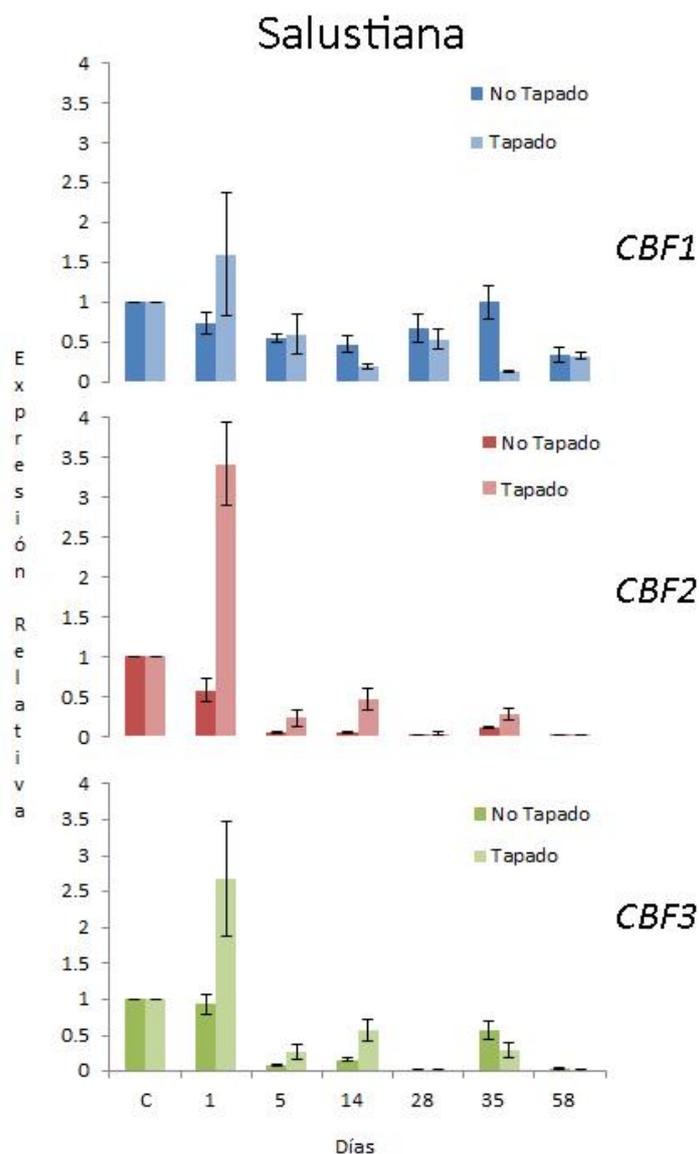


Figura 5. Expresión relativa de genes *CBF1*, *CBF2* y *CBF3* en frutos tapados y no tapados de naranja Salustiana durante el almacenamiento en frío. C: cosecha.

Mandarinas

En el caso de las mandarinas estudiadas (Nova, Clementina de Nules y Afourer), se observó nuevamente una menor incidencia de daño en frutos tapados, aunque la magnitud del efecto fue menor que en pomelos y limones. Cabe destacar que, en mandarinas, con excepción de Nova, se observó una coloración de la piel menos intensa, tanto el Clementina como en Afourer (Figura 6).

Se observó un retraso en el inicio de los síntomas de DF en Afourer y Nova y una menor

incidencia y severidad del daño durante todo el almacenamiento en Nova en los frutos tapados. En el caso de Clementina, los daños en los frutos no tapados se iniciaron tras 28 días de almacenamiento, intensificándose luego, mientras que los frutos tapados no presentaron síntomas de daño. En cuanto a los genes de regulación de la respuesta a bajas temperaturas no se observó un comportamiento claro en respuesta a las bajas temperaturas en mandarinas, con excepción de *CBF3* en Afourer que mostró una inducción (x2) tras un día de almacenamiento en frío, únicamente en frutos tapados.

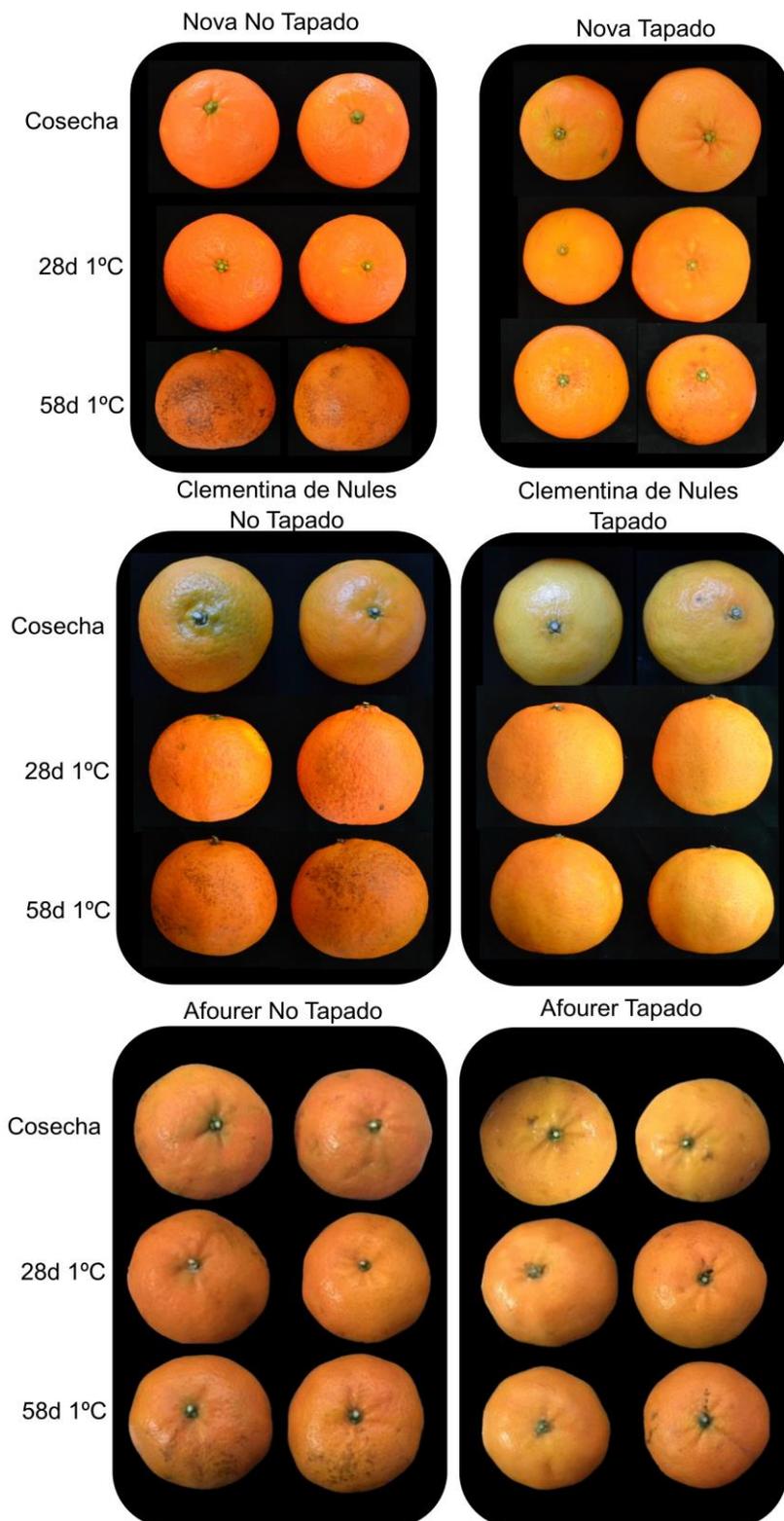


Figura 6. Síntomas de DF en frutos tapados y no tapados de mandarinas Nova, Clementina de Nules y Afourer en cosecha y luego de 28 y 58 días a 1°C.

Conclusiones

En la mayoría de las especies y cultivares estudiados (limones, naranjas y pomelos) existió una inducción temprana (1-5 días en frío) en la expresión de estos genes, con una reducción posterior durante el resto del almacenamiento. Esta inducción no se observa tan claramente en mandarinas, así como tampoco en los cultivares más sensibles al daño como limón Meyer y pomelo Marsh.

Los cultivares más tolerantes al daño (Lisbon, Navelina y Star Ruby) presentaron en general una inducción temprana de *CBF1* y *CBF3*, mientras que la expresión de *CBF2* parecería variar en forma independiente de la temperatura. La misma inducción se observó en frutos tapados de algunos cultivares, coincidiendo con un enlentecimiento o incluso ausencia de síntomas de DF.

En naranja Salustiana *CBF2* y *CBF3* podrían regular la respuesta al frío y la mayor tolerancia observada al daño en frutos tapados.

En limón Meyer y en el pomelo Marsh, no se observaron cambios importantes en la expresión de los tres genes en respuesta al frío, lo cual coincide con una mayor incidencia de DF en estos cultivares. Star Ruby mostró inducción temprana de los tres genes *CBFs* y una menor incidencia de daño en comparación con Marsh.

Los cambios en la expresión de los genes *CBFs* en frutos cítricos podrían constituirse como marcadores tempranos (1-5 días) de tolerancia al frío en almacenamiento extendido, con énfasis en *CBF1* y *CBF3*, aunque dependiendo siempre de la especie y cultivar. Aquellos más sensibles al frío muestran muy pocos o ausencia de cambios en la expresión de estos genes durante el almacenamiento.

Bibliografía

- Dou, H. (2004). Effect of Coating Application on Chilling Injury of Grapefruit Cultivars. *HortScience*, 39(3), 558–561.
- Fernández et al. (2019). Nuevos recubrimientos y efecto en la calidad postcosecha de frutos cítricos para exportación. Informe de Resultados, Red Sectorial para la Innovación en Postcosecha de Cítricos.
- Holland, N., Menezes, H. C., & Lafuente, M. T. (2005). Carbohydrate metabolism as related to high-temperature conditioning and peel disorders occurring during storage of citrus fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 8790–8796. <https://doi.org/10.1021/jf051293o>
- Holland, N., Nunes, F. L. D. S., de Medeiros, I. U. D., & Lafuente, M. T. (2012). High-temperature conditioning induces chilling tolerance in mandarin fruit: a cell wall approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(15), 3039–3045. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5721>
- Lado, J., Rodrigo, M. J., Cronje, P., & Zacarías, L. (2015). Involvement of lycopene in the induction of tolerance to chilling injury in grapefruit. *Postharvest Biology and Technology*, 100, 176–186. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.10.002>
- Lado, J., Rodrigo, M. J., López-Climent, M., Gómez-Cadenas, A., & Zacarías, L. (2016). Implication of the antioxidant system in chilling injury tolerance in the red peel of grapefruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 214–223. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.09.013>
- Lado, J. Pintos, P., Luque, E., Moltini Al. 2016. Aplicación de bajas temperaturas en la poscosecha

- de los frutos cítricos: Estrategias para minimizar el daño por frío. Poscosecha de Frutos Cítricos. SAD 770: 3-15.
- Lafuente, M., Zacarías, L., Sala, J., Sánchez-Ballesta, M. T., Gosalbes, M., Marcos, J., González-Candelas, L., Lluch, Y., & Granell, A. (2005). Understanding the basis of chilling injury in citrus fruit. *Acta Horticulturae*, 682, 831–842.
- Lafuente, M. T., Martínez-Téllez, M. A., & Zacarías, L. (1997). Abscisic Acid in the Response of ' Fortune ' Mandarins to Chilling . Effect of Maturity and High-Temperature Conditioning. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73, 494–502.
- Lafuente, María Teresa, & Zacarías, L. (2006). Postharvest physiological disorders in citrus fruit. *Stewart Postharvest Review*, 2(1), 1–9.
- Miura, K., & Furumoto, T. (2013). Cold signaling and cold response in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3), 5312–5337. <https://doi.org/10.3390/ijms14035312>
- Obenland, D., Margosan, D., Houck, L., & Aung, L. (1997). Essential oils and chilling injury in lemon. *HortScience*, 32(1), 108–111.
- Sala, J. M., & Lafuente, M. T. (2000). Catalase enzyme activity is related to tolerance of mandarin fruits to chilling. *Postharvest Biology and Technology*, 20(1), 81–89. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00115-0](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00115-0)
- Sánchez-Ballesta, M. T., Gosalbes, M. J., Rodrigo, M. J., Granell, A., Zacarías, L., & Lafuente, M. T. (2006). Characterization of a β -1,3-glucanase from citrus fruit as related to chilling-induced injury and ethylene production. *Postharvest Biology and Technology*, 40(2), 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.01.002>
- Shi, Y., Ding, Y., & Yang, S. (2018). Molecular Regulation of CBF Signaling in Cold Acclimation. *Trends in Plant Science*, xx, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.04.002>

Efecto de la composición mineral de la cáscara en la tolerancia al daño por frío postcosecha en naranjas

Matías Manzi¹, Fabiana Hernández^{1,2}, Pedro Pintos², Eleana Luque², Candela Yorrio², Joanna Lado².

¹Fertilidad de Suelos, Departamento de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía, Regional Norte, EEFAS, Universidad de la República.

²Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande. Uruguay.

Contacto mmanzi@fagro.edu.uy

1. Introducción

Las frutas cítricas son susceptibles a esas bajas temperaturas, lo que constituye una de las principales limitantes para la exportación a determinados mercados debido al desarrollo de daño por frío (DF) en el flavedo. Dicho desorden fisiológico consiste en la aparición de lesiones deprimidas que se ennegrecen con el paso del tiempo y deterioran la calidad cosmética, con la consecuente pérdida de la calidad comercial (Agustí et al., 2002; Lafuente y Zacarías, 2006). Las frutas cítricas son empacadas en Uruguay y desarrollan estas lesiones durante el transporte. La incidencia de DF está asociada con diversos factores como las condiciones ambientales y de manejo durante el desarrollo del fruto, el momento de cosecha, la propia temperatura y el período de almacenamiento (Agustí et al., 2002; Lafuente y Zacarías, 2006; Lado et al., 2014a).

Diversos trabajos demuestran un efecto de la composición mineral sobre la estructura de la piel de los cítricos (Agustí et al., 2002), así como un papel relevante de los nutrientes en la respuesta ante condiciones adversas como las bajas temperaturas (Zörb et al., 2014). En el caso de la piel de las frutas cítricas, la mayoría de los nutrientes [Nitrógeno (N), Fósforo (P), Calcio (Ca), Potasio (K) y Magnesio (Mg) y Boro (B)] influyen directamente en el desarrollo de diversos desórdenes fisiológicos (Cronje et al., 2011; Magwaza et al., 2013). Sin embargo, son los cationes (Ca, K, Mg) quienes han adquirido una especial relevancia por su efecto en la calidad de la fruta, la estabilidad frente a condiciones adversas (Cakmak, 2005; Farooq et al., 2008; Zörb et al., 2014).

Se ha determinado también que existe una influencia de los minerales sobre ciertas características morfológicas de la cáscara de los cítricos, especialmente el K en el espesor y rugosidad de la piel, o en el desarrollo de color (Erner et al., 2001; Alva et al., 2006). El K tiene un papel clave en numerosos procesos metabólicos primarios, como la asimilación de CO₂, el metabolismo de los carbohidratos, en la carga y descarga de los mismos al floema, el funcionamiento de diversas enzimas, en el mantenimiento del potencial osmótico y las relaciones hídricas (Alva et al., 2006; Ahmad y Maathuis, 2014; Zörb et al., 2014).

Por lo tanto, algunas de las mencionadas funciones de los nutrientes pueden estar implicadas en el desarrollo de DF en los frutos. Trabajos previos sugieren una relación entre el DF y la composición mineral, por lo tanto, la dinámica del K en el sistema suelo-planta afecta la concentración de K en los frutos, siendo dependiente de otros cationes como el Mg y el Ca. Así, el balance entre ellos resulta clave en la interpretación de los

niveles de la planta y sus posibles efectos en la fisiología (Moss y Higgins, 1974). Los niveles de K y Mg están inversamente correlacionados entre ellos en las diversas especies, incluyendo los cítricos (Mattos Junior et al., 2004; Alva et al., 2006). Desde décadas atrás se conoce que altos niveles de K inducen deficiencias de Mg en los cítricos (McColloch et al., 1957) y viceversa (Gerendás y Führs, 2013). Las relaciones entre el K, Mg y Ca han sido objeto de estudio bajo diferentes condiciones productivas y de calidad así como en el desarrollo de diversos desórdenes fisiológicos en fruto (Moss y Higgins, 1974; Cronje et al., 2011). En naranja 'Valencia' y 'W. Navel' la relación (K+Mg)/Ca en frutos se correlacionó con la acidez del fruto (Moss y Higgins, 1974). Sin embargo, para el caso específico del DF, la información nacional o internacional al respecto es escasa. En mandarina Satsuma cv 'Okitsu' se evidenciaron mayores niveles de K y menores de Ca en fruta asintomática luego de 30 días a 3°C, sugiriendo que una mayor relación Ca/K estaría vinculada a una alta incidencia de DF (Nuñez et al., 2015). De modo similar, en pomelo 'Marsh' se relacionó el contenido de cationes en el flavedo y el desarrollo de DF luego del almacenamiento durante 6 semanas a 4.5°C (Ezz y Awad, 2009). Los autores correlacionaron positivamente altos niveles de Ca y Mg con la incidencia de DF ($r= 0.86$ y 0.51 , respectivamente) mientras que los contenidos de K se correlacionaron inversamente ($r= -0.8$ en promedio).

En este trabajo, se resume la información generada en naranjas Salustiana y Navel, las cuales fueron sometidas a diferentes dosis de K y Mg con el fin de estudiar el efecto de estos nutrientes sobre el posterior comportamiento postcosecha de los frutos, en relación al desarrollo de DF.

2. Materiales y métodos

Para el presente experimento se utilizaron plantas adultas de naranjas (*Citrus sinensis*) cv 'Salustiana' y 'Navel', en un predio comercial de la zona de Quebracho, Paysandú. Con el objetivo de evaluar la influencia de los cationes K, Mg y Ca sobre el DF, se realizó un diseño completamente aleatorizado en campo, donde el K y Mg fueron aplicados en altas (200%), medias (100%) y bajas dosis (50%), de forma individual o combinada. Como referencia, las dosis medias (100%) consistieron en 90 y 70 kg K₂O/ha en 'Salustiana' y 'Navel', respectivamente y en 12.5 kg MgO/ha en los dos cultivares en el año 2017-18. Los 7 tratamientos resultantes fueron los siguientes: 1) 50%K; 2) 50% Mg; 3) 50% K + 50% Mg; 4) 200 % K; 5) 200 % Mg; 6) 200% K + 200% Mg y 7) CT (100% K + 100% Mg). La fuente de K fue KCl mientras que el Mg como MgSO₄. Las aplicaciones de dichos nutrientes se realizaron de forma manual y como complemento de la fertirrigación aportada por la quinta, desde brotación hasta fines de enero, con un intervalo aproximado de 10 días. Además, las plantas de los diferentes tratamientos recibieron fijas de N (100 kg N/ha en Navel y 140 kg N/ha en Salustiana) y 15 kg P₂O₅/ha en ambos cultivares.

Los frutos fueron cosechados según tratamiento y repetición (3), siendo almacenados en cámara a $1 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y 80-90% HR durante 8 semanas, simulando las condiciones de cuarentena. Posteriormente a ese período, la fruta se mantuvo una semana adicional en vida mostrador. Periódicamente se evaluó la presencia de DF en una escala de 0 (fruta sin daño visible) y 3 (fruta con más del 50% de la superficie dañada). A partir de dichos datos se obtuvo el porcentaje de frutos con daño (% DF) y el índice de DF (IDF), siendo para este último la ponderación del número de frutos en cada categoría de la escala.

Por otro lado, se analizó la concentración de K, Mg y Ca en el flavedo de la fruta. Con dichos datos se analizó la correlación entre los nutrientes en flavedo y el daño en almacenamiento. Además, se evaluaron variables de calidad como firmeza, color, y grosor de cáscara.

En cosecha, además, se evaluaron características de calidad de la fruta, como sólidos solubles, acidez, ratio, color y grosor de cáscara. Para cada variable se realizó un análisis de varianza unifactorial (ANOVA), mientras que la separación de medias entre tratamientos fue analizada mediante el test de Tukey ($p \leq 0.05$). Para el estudio de la asociación entre variables DF y nutrientes, se analizó el coeficiente de correlación de Pearson. Los análisis estadísticos fueron realizados con el software Infostat®.

3. Resultados

3.1 Calidad de fruta

La cosecha de ambas variedades fue realizada en el momento de madurez comercial de ambas variedades. Los datos referidos a su calidad, como °brix y acidez, se detallan en el cuadro 1. Además, se presenta el índice de color (ICC), el cual evidencia que los tratamientos de fertilización no modificaron el color de fruta en ambas variedades.

Cuadro 1. Índice de color (ICC), sólidos solubles (°Brix), acidez y ratio (°Brix/acidez) en cosecha de naranjas 'Salustiana' y 'Navel'.

Salustiana	ICC	°Brix	Acidez	Ratio
CT	4.5 ± 0.3 a	11.8	1.2	9.6
200% K	4.5 ± 0.2 a	11.9	1.2	10.2
50% K	4.7 ± 0.2 a	11.8	1.2	10.1
200% Mg	4.8 ± 0.1 a	11.7	1.1	10.7
50% Mg	5.0 ± 0.5 a	11.5	1.1	10.7
200+200	5.3 ± 0.2 a	11.9	1.2	10.2
50+50	5.2 ± 0.2 a	11.8	1.1	11.2

Navel	ICC	°Brix	Acidez	Ratio
CT	4.5 ± 0.2 a	10.3	1.1	9.4
200% K	3.7 ± 0.3 a	11.4	1.2	9.8
50% K	3.8 ± 0.3 a	11.5	1.2	9.9
200% Mg	5.3 ± 0.2 a	12.2	1.0	12.3
50% Mg	4.0 ± 0.2 a	11.8	1.0	12.2
200+200	4.5 ± 0.3 a	11.8	1.1	10.9
50+50	4.2 ± 0.2 a	11.8	1.1	11.2

Los datos corresponden a la media ± EE. Letras diferentes para cada nutriente indican diferencias significativas. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey $p \leq 0.05$.

Grosor de cáscara.

La aplicación de nutrientes indujo cambios en el grosor de la cáscara en el cultivar 'Navel'. En dicho cultivar, la aplicación de altas dosis de K (200%) incrementó el grosor de cáscara respecto al tratamiento control (100%) en un 18% (7.65 ± 0.18 y 6.45 ± 0.15 mm,

respectivamente). En 'Salustiana' en cambio, los diferentes tratamientos de fertilización presentaron igual espesor de cáscara comparado el tratamiento CT (Cuadro 2).

Cuadro 2. Grosor de cáscara (mm) en cosecha de naranjas 'Salustiana' y 'Navel'.

	Salustiana	Navel
CT	5.4 ± 0.2 a	6.5 ± 0.2 b
200% K	5.7 ± 0.1 a	7.7 ± 0.2 a
50% K	5.4 ± 0.2 a	7.1 ± 0.2 ab
200% Mg	5.6 ± 0.1 a	6.4 ± 0.1 b
50% Mg	5.9 ± 0.1 a	6.7 ± 0.2 ab
200+200	6.2 ± 0.1 a	6.6 ± 0.1 ab
50+50	5.7 ± 0.1 a	6.2 ± 0.1 b

Los datos corresponden a la media ± EE. Letras diferentes para cada nutriente indican diferencias significativas. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey $p \leq 0.05$.

3.3. Concentración de cationes en flavedo

La aplicación de fertilizantes provocó cambios en la concentración de nutrientes en el flavedo. Estos cambios ocurrieron únicamente en naranja 'Salustiana' para Mg y Ca. No se registraron cambios en el % de K en dicho cultivar, ni en ninguno de los tres nutrientes de la naranja 'Navel'.

Cuadro 3. Concentración de nutrientes K, Mg y Ca (expresado como % de MS) en flavedo de frutas de los cultivares 'Salustiana' y 'Navel' en cosecha.

	Salustiana			Navel		
	K	Mg	Ca	K	Mg	Ca
CT	1.19 ± 0.04 a	0.09 ± 0.00 ab	0.39 ± 0.01 ab	1.38 ± 0.06 a	0.08 ± 0.00 a	0.43 ± 0.02 a
200% K	1.24 ± 0.09 a	0.10 ± 0.01 ab	0.41 ± 0.02 ab	1.23 ± 0.12 a	0.11 ± 0.02 a	0.48 ± 0.06 a
50% K	1.12 ± 0.06 a	0.11 ± 0.01 a	0.44 ± 0.01 a	1.14 ± 0.09 a	0.11 ± 0.00 a	0.44 ± 0.03 a
200% Mg	1.30 ± 0.07 a	0.10 ± 0.01 ab	0.40 ± 0.03 ab	1.17 ± 0.05 a	0.09 ± 0.01 a	0.38 ± 0.02 a
50% Mg	1.14 ± 0.04 a	0.10 ± 0.00 ab	0.45 ± 0.03 a	1.10 ± 0.02 a	0.10 ± 0.01 a	0.40 ± 0.01 a
200%+200%	1.30 ± 0.11 a	0.09 ± 0.00 ab	0.33 ± 0.02 b	1.36 ± 0.08 a	0.08 ± 0.00 a	0.40 ± 0.02 a
50%+50%	1.38 ± 0.06 a	0.08 ± 0.00 b	0.32 ± 0.03 b	1.24 ± 0.12 a	0.10 ± 0.01 a	0.46 ± 0.07 a

Los datos corresponden a la media ± EE. Letras diferentes para cada nutriente indican diferencias significativas. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey $p \leq 0.05$.

3.4. Daño por frío en almacenamiento

De la evaluación del DF, expresado en este caso como IDF, evidenció un bajo nivel de daño por frío para ambas variedades en el año estudiado (2018). Se observaron diferencias entre los tratamientos únicamente luego de vida mostrador (58+7) en la naranja 'Salustiana', en el cual se pudo verificar mayores niveles de daño en el tratamiento 200% K. En cambio, para la naranja 'Navel', no se verificaron diferencias entre tratamientos a lo largo de todo el almacenamiento, verificándose un nivel muy bajo de daño aún en condiciones de un almacenamiento extenso.

Cuadro 4. Índice de daño por frío (escala de 0-3) en el almacenamiento durante 58 días a 0.5°C más 7 días en vida mostrador, para los cultivares Salustiana y Navel según tratamientos.

Salustiana	18	32	42	58	58+7
CT	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.1 ± 0.0 a	0.2 ± 0.1 a	0.3 ± 0.1 ab
200% K	0.1 ± 0.0 a	0.1 ± 0.0 a	0.3 ± 0.0 a	0.6 ± 0.1 a	0.7 ± 0.1 a
50% K	0.1 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.4 ± 0.1 a	0.5 ± 0.1 ab
200% Mg	0.1 ± 0.0 a	0.1 ± 0.1 a	0.1 ± 0.1 a	0.4 ± 0.0 a	0.5 ± 0.1 ab
50% Mg	0.0 ± 0.0 a	0.1 ± 0.0 a	0.2 ± 0.0 a	0.6 ± 0.1 a	0.6 ± 0.1 ab
200%+200%	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.2 ± 0.1 a	0.3 ± 0.2 a	0.4 ± 0.2 ab
50%+50%	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.1 ± 0.0 a	0.2 ± 0.0 a	0.2 ± 0.0 b

Navel	18	32	42	58	58+7
CT	0.0 ± 0.0 a	0.3 ± 0.1 a	0.3 ± 0.1 a	0.5 ± 0.2 a	0.6 ± 0.1 a
200% K	0.1 ± 0.1 a	0.2 ± 0.1 a	0.3 ± 0.1 a	0.4 ± 0.1 a	0.4 ± 0.1 a
50% K	0.0 ± 0.0 a	0.2 ± 0.1 a	0.4 ± 0.2 a	0.5 ± 0.1 a	0.5 ± 0.1 a
200% Mg	0.0 ± 0.0 a	0.2 ± 0.1 a	0.2 ± 0.1 a	0.3 ± 0.1 a	0.4 ± 0.1 a
50% Mg	0.0 ± 0.0 a	0.1 ± 0.1 a	0.3 ± 0.1 a	0.4 ± 0.2 a	0.5 ± 0.2 a
200%+200%	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.1 ± 0.0 a	0.1 ± 0.0 a	0.2 ± 0.0 a
50%+50%	0.0 ± 0.0 a	0.1 ± 0.0 a	0.1 ± 0.0 a	0.2 ± 0.0 a	0.2 ± 0.1 a

Datos corresponden a la media ± EE. Letras diferentes dentro del mismo día de almacenamiento indican diferencias significativas. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey $p \leq 0.05$.

A pesar de los datos anteriores, que señalan un muy bajo nivel de DF en almacenamiento, y escasas diferencias entre tratamientos tanto para el DF como para los niveles de nutrientes en flavedo, cuando se aparean los datos para el estudio de la correlación entre dichas variables, se verifican resultados interesantes. A modo de simplificación, se presentan las correlaciones entre los cationes, y algunas relaciones entre los mismos, respecto al IDF después de 28 días (Figura 1) y 58 días (Figura 2) de almacenamiento. En dichos gráficos se presenta el ajuste de un modelo lineal (ecuación y R^2) y así como la probabilidad de la correlación (p) y el coeficiente de correlación, el cual se considera en los casos que p es significativo ($p < 0,05$).

El estudio de la correlación entre los niveles de cationes (y sus relaciones) con el IDF luego de 28 días de almacenamiento (Figura 1), indica la no existencia de correlación entre dichas variables en este momento de valuación. Es importante tener en cuenta que este resultado se encuentra condicionado por el muy bajo nivel de DF registrado en esa fecha de almacenamiento (Cuadro 4). Sin embargo, al aumentar el IDF hacia fines del almacenamiento (día 58), se verifican correlaciones entre diversas variables y el DF (Figura 2). En este sentido, se encuentran correlaciones significativas para relaciones como el K/Mg K/Ca y K/(Mg+Ca). En estos casos, el coeficiente de correlación r oscila en torno a $r = -0.40$. Estos datos sugieren entonces, que podría existir una implicación de la relación entre los nutrientes respecto al desarrollo de DF, la cual debe ser confirmada en futuros años de trabajo con IDF variables. En todos los casos, se verifica que el catión K aparece en el numerador en dichas relaciones, mientras que el Mg y el Ca lo hacen como

denominador. Además, sugiere una estrecha relación entre los nutrientes, evidenciado por el hecho que cada catión individualmente, en la mayoría de los casos, no logró alcanzar correlaciones significativas. Además, se verifica un patrón común en la concentración de nutrientes (y sus relaciones) con el IDF en ambos cultivares, lo que demuestra, por lo menos, un mecanismo similar de desarrollo de DF al menos en estos dos cultivares de media estación. Los resultados son similares cuando se estudia la incidencia de DF (datos no presentados), debido a la muy alta asociación existente entre el IDF y el %DF.

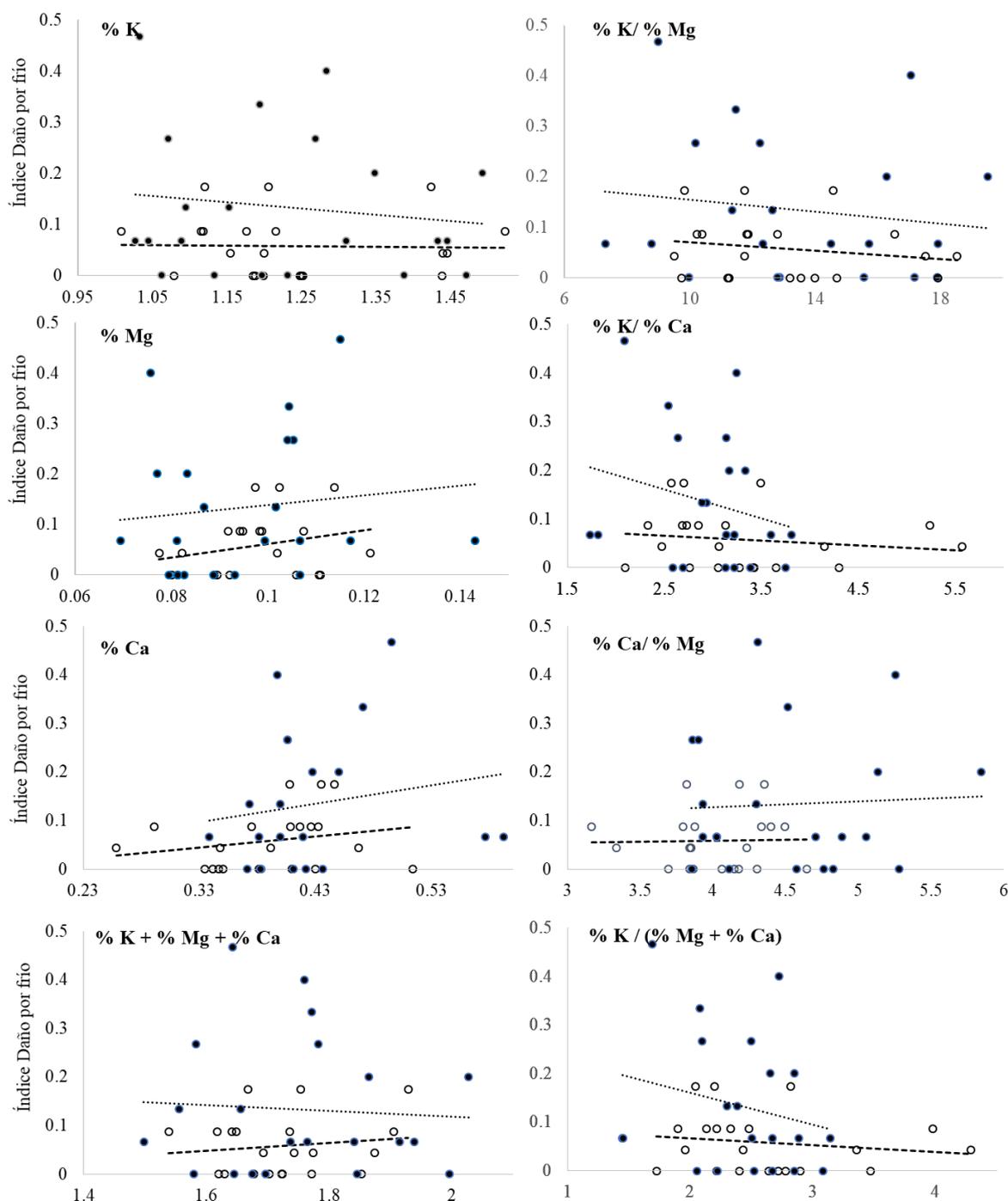


Figura 1. Correlación entre nutrientes y relación entre nutrientes respecto al índice de DF luego de 28 días de almacenamiento a 1°C en los cultivares Navel (negro) y Salustiana (blanco). Ninguna de las correlaciones estudiadas fue significativa ($p \leq 0.05$).

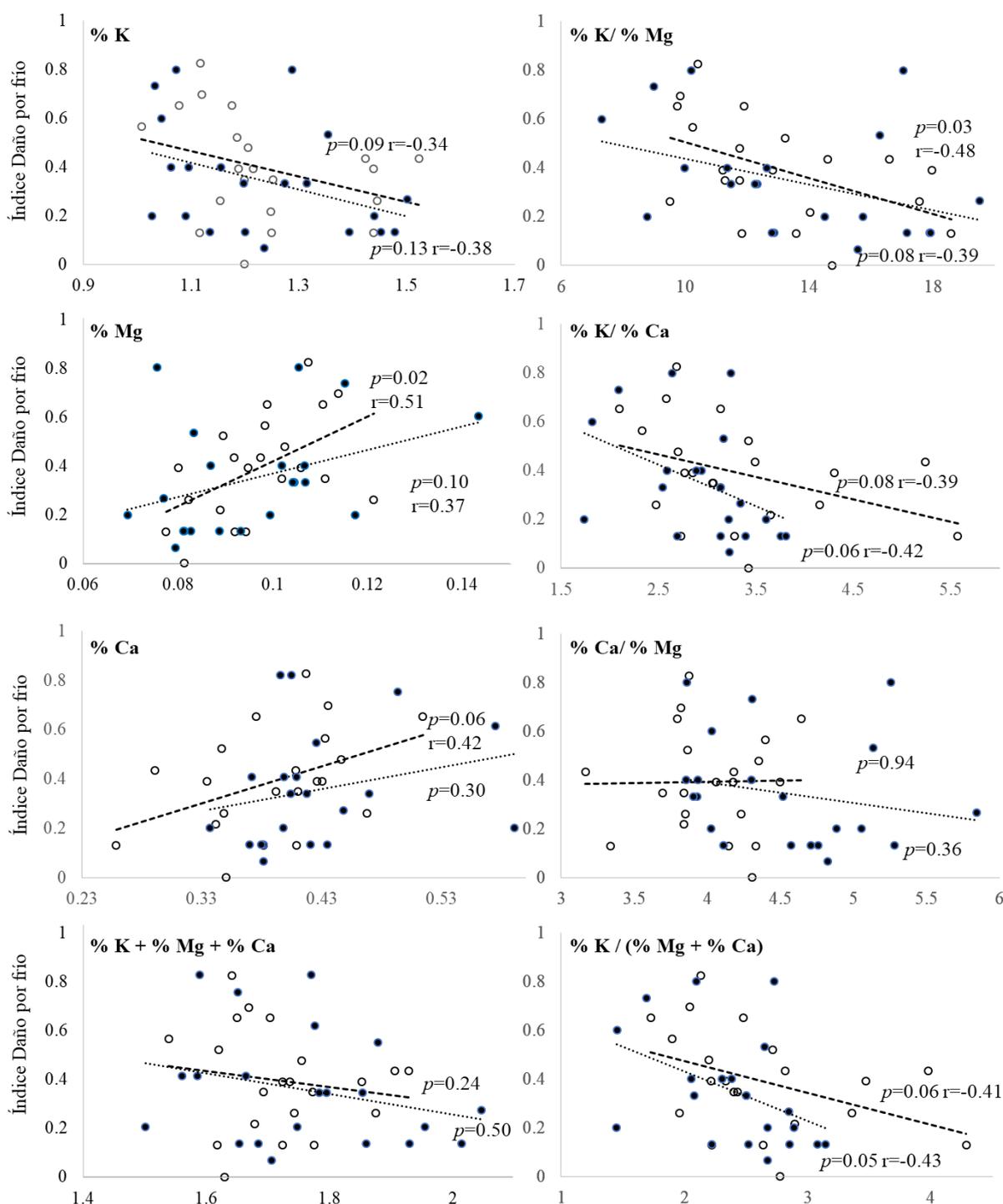


Figura 2. Correlación entre nutrientes y relación entre nutrientes respecto al índice de DF luego de 58 días de almacenamiento a 1°C en los cultivares Navel (negro) y Salustiana (blanco). p denota la significancia de la correlación de Pearson entre ambas variables. r representa el valor del coeficiente de correlación de Pearson.

Cuadro 5. Coeficiente de correlación (r) entre el grosor de cáscara y el DF (expresado como índice de DF e incidencia %DF) luego de 28 y 58 días de almacenamiento en ‘Salustiana’ y ‘Navel’

	Salustiana	Navel
IDF 28 días	0.17	0.91
% DF 28 días	0.31	0.86
IDF 58 días	0.78	0.36
% DF 58 días	0.43	0.33

Por otro lado, del análisis de correlación entre el grosor de cáscara y DF, se evidencia que no existe relación entre dichas variables. Esto, por tanto, descarta que el desarrollo de DF en postcosecha, esté vinculado al grosor de cáscara de la fruta en ambos cultivares.

Conclusiones

Luego de un primer año de evaluaciones, se evidencia que podría existir una relación entre el DF en postcosecha de naranjas ‘Salustiana’ y ‘Navel’ y la composición de cationes K, Mg y Ca en el flavedo de las frutas. Los datos sugieren que mayores relaciones K sobre Mg y/o Ca, se asocian con menores DF. Por otro lado, se establece que el grosor de cáscara no está relacionado con el desarrollo de DF en dichos cultivares. Estos resultados deben ser considerados de forma preliminar, atendiendo a la diversidad de factores que afectan el desarrollo del DF. Se continúa con estos trabajos de forma de obtener datos de varios años en condiciones ambientales contrastantes.

Bibliografía

- Agustí M, Martínez-Fuentes A, Mesejo C. (2002). Citrus fruit quality. Physiological basis and techniques of improvement. *Agrociencia* 6, 1–17.
- Alva A, Dirceu Mattos J, Paramasivam S, Patil B, Dou H, Sajwan K. (2006). Potassium management for optimizing Citrus production and quality. *International Journal of Fruit Science* 6, 93–116.
- Cakmak I. (2005). The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 168, 521–530.
- Cronje PJR, Barry GH, Huysamer M. (2011). Fruiting position during development of ‘Nules Clementine’ mandarin affects the concentration of K, Mg and Ca in the flavedo. *Scientia Horticulturae* 130, 829–837.
- Erner Y, Astzi B, Tagaru E, Hamou M. (2001). Potassium affects Citrus tree performance. The Volcani Center. Institute of Horticulture. *Department of Fruit Trees*, 405–414.
- Ezz TM, Awad RM. (2009). Relationship between mineral composition of the flavedo tissue of ‘Marsh’ grapefruit and chilling injury during low temperature storage. *Agriculture* 5, 892–898.
- Farooq M, Aziz T, Cheema ZA, Hussain M, Khaliq A. (2008). Activation of antioxidant system by KCl improves the chilling tolerance in hybrid maize. *Journal of Agronomy and Crop Science* 194, 438–448.
- Gerendás J, Fühns H. (2013). The significance of magnesium for crop quality. *Plant and Soil* 368, 101–128.
- Lado J, Rodrigo MJ, Cronje P, Zacarías L. (2014). Involvement of lycopene in the induction of tolerance to chilling injury in grapefruit. *Postharvest Biology and Technology* 100, 176–186.
- Lafuente MT, Zacarías L. (2006). Postharvest physiological disorders in citrus fruit. *Stewart Postharvest Review* 2, 1–9.
- Magwaza LS, Opara UL, Cronje PJR, Landahl S, Terry LA, Nicola BM. (2013). Nonchilling physiological rind disorders in citrus fruit. *Horticultural Reviews* 41, 131–176.

- Mattos Junior D, Quaggio JA, Cantarella H, de Carvalho SA. (2004). Superfícies de resposta do tangor 'Murcott' à fertilização com N, P e K. *Revista Brasileira de Fruticultura* 26, 164–167.
- McColloch RC, Bingham FT, Aldrich DG. (1957). Relation of soil potassium and magnesium to magnesium nutrition of Citrus. *Soil Science Society of America Journal* 21, 85.
- Moss GI, Higgins ML. (1974). Magnesium influences on the fruit quality of sweet orange. *Plant and Soil* 112, 103–112.
- Núñez F, Campo RM, Pascale D, Díaz LE, Solari J, Larrechart L, Mara H. (2015). Effect of storage temperature on rind pitting and fruit rot in Satsuma 'Okitsu', *Acta Horticulturae* 1065, 1541–1548.
- Zörb C, Senbayram M, Peiter E. (2014). Potassium in agriculture - Status and perspectives. *Journal of Plant Physiology* 171, 656–669.

Evaluación del comportamiento postcosecha y principales antioxidantes presentes en la pulpa de mandarinas nacionales

Joanna Lado^{1,2}; Ana Inés Moltini^{1,2}, Pedro Pintos¹, Eleana Luque¹, Virginia Ferrari², Facundo Ibáñez², Fernando Rivas¹.

¹Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande. Uruguay.

²Plataforma de Agroalimentos, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

1. Introducción

El desarrollo de nuevas variedades de cítricos conlleva, entre otras, la evaluación del comportamiento postcosecha. Dado el objetivo de la producción de cítricos uruguayos de exportación como fruta fresca, unido a los requisitos cuarentenarios de mercados consolidados y nuevos mercados, es clave conocer el desempeño de los frutos durante el almacenamiento, preferentemente en distintas condiciones. Así también, la caracterización nutraceutica y el potencial antioxidante de las nuevas variedades, cada vez es más valorada por los consumidores en los mercados de destino. En este sentido, se realizó también la cuantificación de los principales antioxidantes (carotenoides, compuestos fenólicos, flavonoides y vitamina C) en las variedades seleccionadas durante tres años diferentes y en el momento de madurez comercial de los frutos.

Cabe destacar que los resultados que a continuación se presentan son preliminares, evaluando el comportamiento durante tres años de cosecha, pero en todos los casos se trabajó con fruta en condiciones de manejo experimental (no comercial), lo cual es clave conocer para interpretar los resultados observados, siendo que el manejo precosecha determina en gran medida la calidad y comportamiento de los frutos durante su postcosecha.

A continuación, se brinda información sobre una selección de aquellos híbridos del programa de mejoramiento genético de cítricos INIA-FAgro que presentaron mejores perspectivas comerciales, evaluándose un total de 16 híbridos de mandarina diferentes. También se muestra una breve comparación de las nuevas variedades desarrolladas con materiales de referencia internacional como Afourer y Murcott.

2. Materiales y métodos

2.1 Material vegetal

Se seleccionaron los híbridos avanzados del programa de mejoramiento, así como sus parentales (Ellendale, Page, Mandarina Común y Satsuma) y cuatro variedades de referencia (Clementina, Nova, Afourer y Murcott). En este caso se priorizó el comportamiento postcosecha y la calidad de los híbridos de Ellendale x Page (F7P3, F3P8, F4P7 y F2P3) que será en los que se hará énfasis, dado que son los materiales que presentaron mejores perspectivas comerciales tanto para mercados de exportación como mercado interno.

2.2. Tratamiento postcosecha

En la postcosecha se realizó el pasaje por la minilínea de empaque (hipoclorito 200ppm, cascada con Philabuster 1000ppm y cera Brillocera UE18%), conservándose posteriormente en cámara a simulando transporte a EEUU (1.67°C) o Europa (5°C, en función a disponibilidad de fruta). En los casos en que la fruta no fue limitante se trabajó con 5 repeticiones de 23 frutas cada una.

2.3. Determinaciones de calidad de fruta

Previo al almacenamiento y al final de ensayo se realizan controles de calidad de la fruta tomando datos como color (ICC), deformación en mm (firmeza), % de jugo, sólidos solubles (°Brix), acidez titulable (%ac. cítrico). La firmeza se evaluó como la deformación del fruto al recibir una fuerza estable de 10N (1,02 Kg), utilizando el texturómetro y expresándose en mm. A continuación, se presenta una escala para su interpretación al tacto en mandarinas:

Duras <1,8 mm

Ideal 1,8-3,5 mm

Blandas >3,5 mm

En almacenamiento se evaluó la incidencia de DF y otras posibles manchas, estado y permanencia del cáliz, deshidratación y cualquier tipo de alteración a nivel de la cascara. También se contabilizó la incidencia de podridos. Para ambas temperaturas, se realizaron evaluaciones en cuatro fechas, 18 días simulando fin de tratamiento cuarentenario, 35 como una doble cuarentena, 58 días teniendo en cuenta la condición más exigente de viaje, y luego 7 días de vida mostrador a temperatura ambiente. Se presentan los resultados más exigentes en los híbridos seleccionados.

En el momento de la cosecha, se extrajo pulpa de los frutos la cual se congeló a -80°C para posterior extracción y cuantificación por espectrofotómetro de carotenoides, compuestos fenólicos, flavonoides totales y vitamina C. Esta última se determinó por HPLC (Alós et al., 2014).

3. Resultados y discusión

.

3.1. Comportamiento postcosecha

Del total de materiales evaluados, se presenta información de una selección atendiendo no sólo a aspectos de calidad sino también al comportamiento en campo y otras características u observaciones de interés.

Destacan los híbridos de Ellendale x Page, los cuales mostraron en general un buen comportamiento. Entre ellos destacan ampliamente **F3P8** y **F2P3**. Estos dos híbridos tienen gran tolerancia a la conservación, con buen desempeño tanto a 1 como a 5°C. Mantienen su frescura original y el cáliz en buen estado. No desarrollan ningún tipo de mancha ni signos de deshidratación. La pérdida de firmeza es reducida o mínima.

A continuación, se presenta una descripción del comportamiento y fotografías de los híbridos **F7P3**, **F4P7**, **F3P8** y **F2P3**, así como en algunos casos su comparación con variedades de referencia como Afourer y Murcott.

Cuadro 1. Datos de calidad externa (color, firmeza) e interna (% jugo, sólidos solubles, acidez y ratio) para las variedades de referencia, F7P3 y F4P7 en cosecha y durante la conservación 58 días a 1 y 5°C.

Variedad	Cosecha					
	ICC	% jugo	SS	% ac	ratio	Firmeza
Nova	8,1	45,6	11,8	0,8	14,4	1,2
Clementina	-0,8	37,1	10,9	0,8	13,2	1,9
Afourer	7,9	45	10,3	0,8	12,3	2,4
Avana	4,4	47,4	10,1	0,7	13,8	2,9
Murcott	4,9	53,5	12,1	0,84	14,4	1,6
F7P3*	-7,0	47,7	9,2	0,9	10,3	1,3
F4P7	7,5	54,0	11,1	0,7	15,0	2,4

*Fruta sometida a proceso de desverdizado (ver detalle en Figura 1).

Variedad	58 días a 1°C					58 días a 5°C				
	ICC	SS	% ac	ratio	Firmeza	ICC	SS	% ac	ratio	Firmeza
Nova	7,0	12,1	0,9	13,9	2,0	7,4	12,2	1	11,9	2,5
Clementina	4,5	11,9	0,8	14,6	3,6	5,2	12,0	0,8	14,1	3,9
Afourer	8,0	10,3	0,8	13,6	3,6					
Avana	5,3	10,4	0,7	15,0	5,2	6,36	10,9	0,6	17,3	4,0
Murcott	6,6	12,1	0,8	15,3	2,9	7,54	11,8	0,8	15,1	3,9
F7P3*	3,5	9,4	0,8	11,1	3,9	5,3	9,4	0,8	11,8	4,0
F4P7	6,17	11,1	0,65	17,2	3,7	6,9	11,8	0,7	17,3	3,8

*Fruta sometida a proceso de desverdizado (ver detalle en Figura 1).

F7P3.

Es una variedad temprana que alcanza su madurez comercial a nivel interno a principios-mediados de abril, siendo necesario, para el caso de estudio, un tratamiento de desverdizado para estimular la coloración. El comportamiento frente al etileno es bueno luego de 72h a 2ppm y 90%HR, aunque quizás requiera de 96h dependiendo del año y la respuesta a la hormona. El tratamiento con etileno no afecta la calidad interna, manteniéndose con los mismos valores de sólidos y acidez que en cosecha incluso luego de 58 días a 1 o 5°C. Se observa una evolución del color mucho más intensa cuanto mayor la temperatura de almacenamiento, alcanzando ICC de 3,5 y 5,3 a 1 y 5°C, respectivamente (Cuadro 1) y observándose diferencias claras en la coloración tras 35 días en frío y posterior vida mostrador (Figura 1). Destaca la evolución del color en vida mostrador, especialmente para aquellos frutos almacenados a 5°C. Es importante destacar que, luego de dos meses de conservación, existió una pérdida de firmeza importante durante el almacenamiento a ambas temperaturas, con valores de deformación mayores a 3,5mm. El comportamiento en vida mostrador es bueno, sin modificarse en forma importante las variables de calidad interna, aunque aparecen síntomas de deshidratado por lo que es clave regular la humedad durante este período. Es una variedad que se comporta mejor a 5°C que a 1°C, algo que podría estar asociado también con tratamiento de desverdizado. Se presentan datos de la evaluación realizada durante el año 2019.

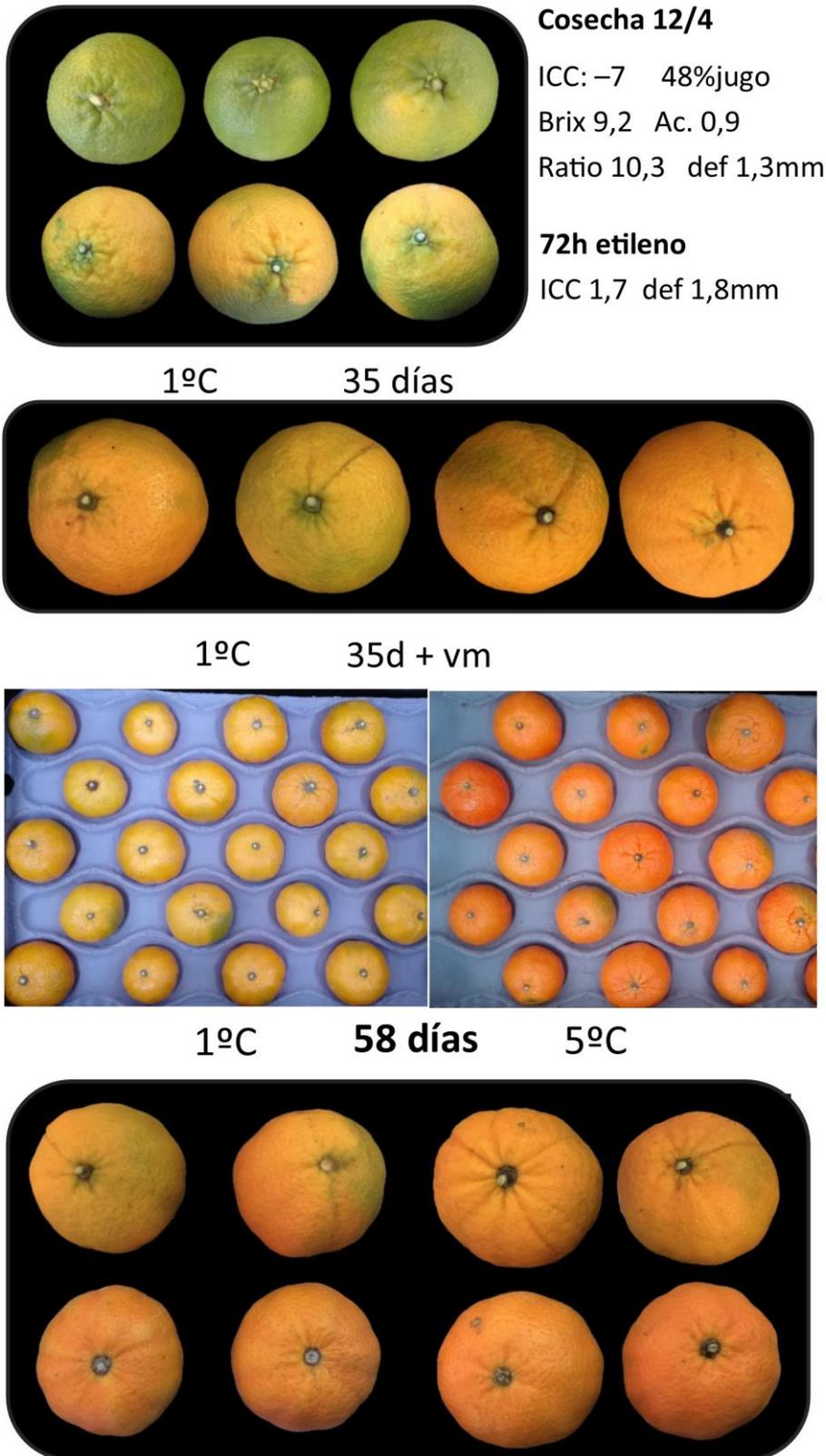


Figura 1. Comportamiento de F7P3 en desverdizado y almacenamiento a 1 y 5°C (2019).

F4P7

Esta variedad fue evaluada únicamente un año (2019), durante el cual mostró un muy buen comportamiento, manteniendo su frescura hasta el final del almacenamiento (58 días) e incluso luego de vida mostrador (Figura 2). No desarrolló este año ningún tipo de mancha ni DF, tampoco síntomas de deshidratación en el período de evaluación. Tiene una buena facilidad de pelado y muy buena aceptación entre los consumidores; mantiene un buen sabor durante dos meses de almacenamiento. La mayor limitante sería que tiende a ablandarse al tacto, visualizándose en un valor de firmeza mayor a 3,5 mm tanto a 1°C como a 5°C. Aún debe ser evaluada otros años para concluir acerca de su comportamiento global en postcosecha y más aún en condiciones de producción comercial.



Figura 2. Híbridos evaluados durante el almacenamiento postcosecha (sin desverdizado).

F3P8.

Esta variedad se comportó de forma muy destacada en postcosecha durante 3 años de evaluación (2017-2018-2019), sin manifestar ningún manchado, ni deshidratado ni daño por frío, manteniendo la frescura luego de dos meses de almacenamiento, incluso a 1°C. Muestra un buen comportamiento también a 5°C. Destaca su comportamiento en vida mostrador, en donde no se observa una pérdida de calidad ni deshidratado. Mantiene un recubrimiento céreo muy destacado y una firmeza entre 1,3 y 2,9mm (ideal) en todas las evaluaciones. Buen pelado y buena compacidad del gajo, se mantiene firme hasta el final y los gajos se separan muy bien al abrirlos, sin romperse. Bien valorada en las pruebas de consumidores lo que hace que sea una variedad que colma muy bien las expectativas a la hora de cubrir mercados de exportación. Su limitante podría centrarse en algún cambio en el sabor durante el almacenamiento extendido, ya que podría llegar a presentar un mayor contenido de acetaldehído y etanol, observaciones que deben ser validadas con cuantificación de acetaldehído y etanol así como una evaluación sensorial.

Se realizó una comparación con la variedad Afourer cosechada en fechas similares, mostrando una calidad externa superior, así como una coloración más homogénea (sin manchas verdes). Afourer presentó algunas manchas de DF leves, así como síntomas leves de deshidratado, los cuales estuvieron ausentes en F3P8 (Figura 3)



Figura 3. Comportamiento postcosecha de F3P8 en comparación con Afourer.

A continuación, se presentan resultados de la experiencia de conservación extendida para F3P8, la cual fue almacenada durante 120 días a 1°C, realizándose muestreos mensuales para evaluación de calidad externa e interna así como para la futura cuantificación de acetaldehído y etanol en jugo. Se evaluó también el posible efecto del portainjerto (trifolia vs. flying dragón) en la calidad y comportamiento postcosecha (Cuadro 2, Figura 4).

La calidad externa fue destacada durante todo el período, manteniendo la frescura y sin síntomas de deshidratación. No se observaron síntomas de manchados ni de DF. Mantuvo una elevada proporción de cálices verdes durante todo el período (Figura 4).

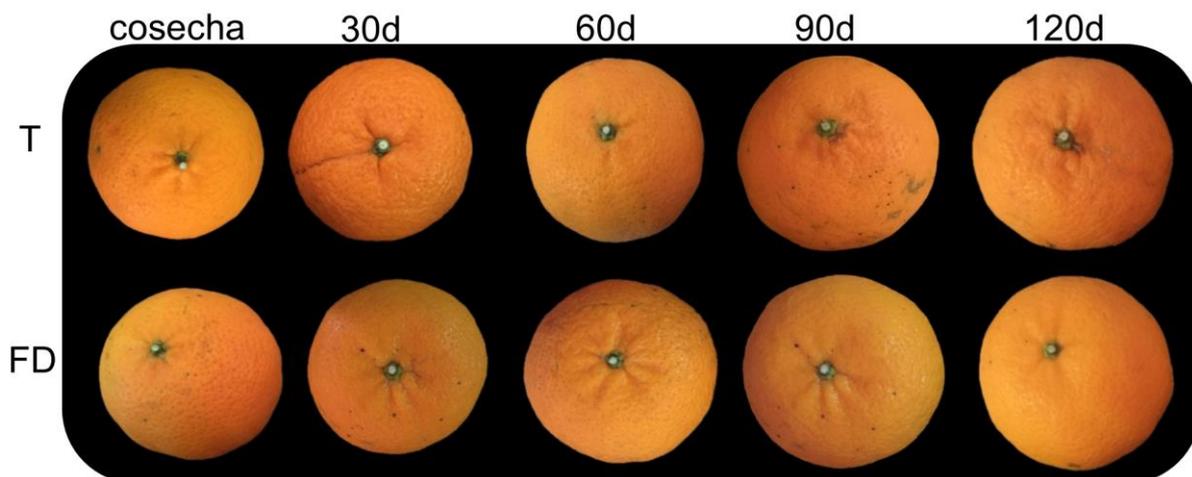


Figura 4. Calidad externa de F3P8 durante conservación extendida (120d) a 1°C. Se evaluó fruta proveniente de dos portainjertos diferentes (Trifolia-T y Flying Dragon-FD).

Cuadro 2. Calidad externa e interna en frutos de F3P8 provenientes de dos portainjertos (T-Trifolia y FD-Flying Dragon) durante conservación extendida por 4 meses (120 días) a 1°C.

	Momento	ICC	% jugo	SS	% ac	ratio	firmeza
F3P8 T	Cosecha 29/5	6,6	54,5	10,9	1,4	8,1	1,3
F3P8 FD	Cosecha 29/5	7,1	49,1	10,5	1,1	9,4	1,3
F3P8 T	30d	6,5	55,0	10,8	1,3	8,1	2,6
F3P8 FD	30d	6,9	55,1	11,0	1,1	9,8	2,3
F3P8 T	60d	6,3	54,6	11,3	1,4	8,1	2,8
F3P8 FD	60d	6,6	54,2	11,2	1,1	9,8	2,3
F3P8 T	90d	6,1	55,4	10,9	1,5	7,5	3,4
F3P8 FD	90d	6,1	53,2	11,3	1,2	9,5	2,7
F3P8 T	120d	6,9	55,5	11,4	1,3	8,9	4,2
F3P8 FD	120d	7,6	51,4	11,7	1,1	10,6	3,3

En el momento de cosecha, no se detectaron diferencias importantes entre frutos de diferentes portainjertos para calidad externa, con excepción del color (más intenso para FD en comparación con T). El ratio fue superior en FD que en Tr, asociado con una menor acidez (Cuadro 2).

Durante el almacenamiento en frío se observó un mayor ratio en todos los casos para FD, lo que estaría asociado a que trifolia tiende a mantener unos puntos más de acidez en el fruto, tanto en el momento de cosecha como durante todo el almacenamiento, lo que conlleva un menor ratio (dos puntos menos) para todas las fechas de evaluación (Cuadro 2). No se detectaron diferencias en cuanto al contenido de jugo entre ambos portainjertos durante toda la evaluación.

Destacamos que la firmeza se mantuvo en valores ideales (1,8-3,5mm de deformación de fruto) hasta los 90 días de almacenamiento, siendo mayor la firmeza (menor deformación de fruto) para FD que para trifolia (Cuadro 2). Los frutos se ablandan luego de 120 días en trifolia (4,2mm), manteniéndose en valores aún aceptables para flying dragon (3,3mm).

F2P3

Esta variedad presenta fruta muy firme (1,2 a 1,6mm de deformación en cosecha) y mantiene esta característica durante el almacenamiento tanto a 1°C como a 5°C e incluso tras el período de vida mostrador (Cuadro 3). Tolerancia bien el frío postcosecha, no desarrolla manchas ni síntomas de deshidratado en almacenamiento (Figura 5). En algún año puede presentar daños o manchados tras 2 meses de almacenamiento (únicamente visibles en frutos sobre flying dragon y no sobre trifolia). Se observa algo de rameado aunque predomina la buena apariencia general, fresca y firmeza durante la conservación. Al inicio de cosecha es más difícil su pelado, el cual se facilita a lo largo de la maduración natural o durante el almacenamiento en frío. Puede presentar algún síntoma de deshidratación próximo a la inserción peduncular y algún manchado a 1°C. Registra un muy buen sabor durante el almacenamiento, incluso luego de dos meses a 1°C.

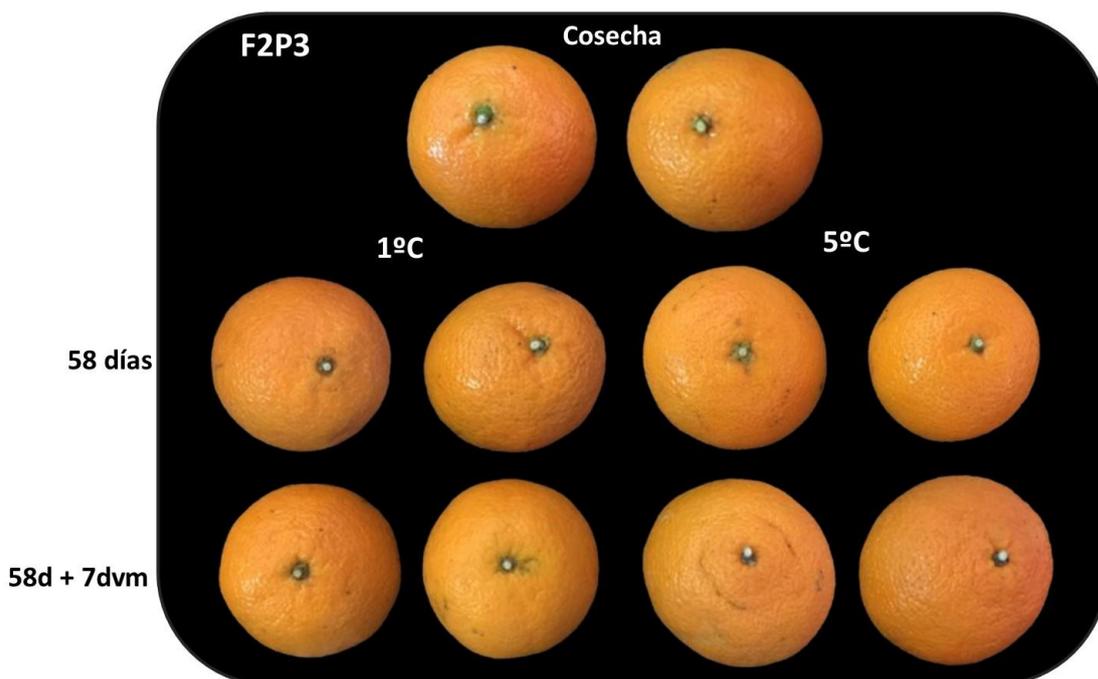


Figura 5. Calidad externa de F2P3-trifolia durante el almacenamiento a 1 y 5°C.

Se realizó también una comparación del comportamiento en conservación a 1°C entre F2P3 y Murcott, observándose un deterioro intenso de la calidad externa en Murcott, con aparición de diferentes manchas y deshidratación en la zona alrededor del pedúnculo (Figura 6). También en Murcott, se observó un ennegrecimiento más intenso del cáliz, una pérdida de firmeza más intensa, así como cambios en el sabor más importantes (observaciones no validadas con análisis sensorial).

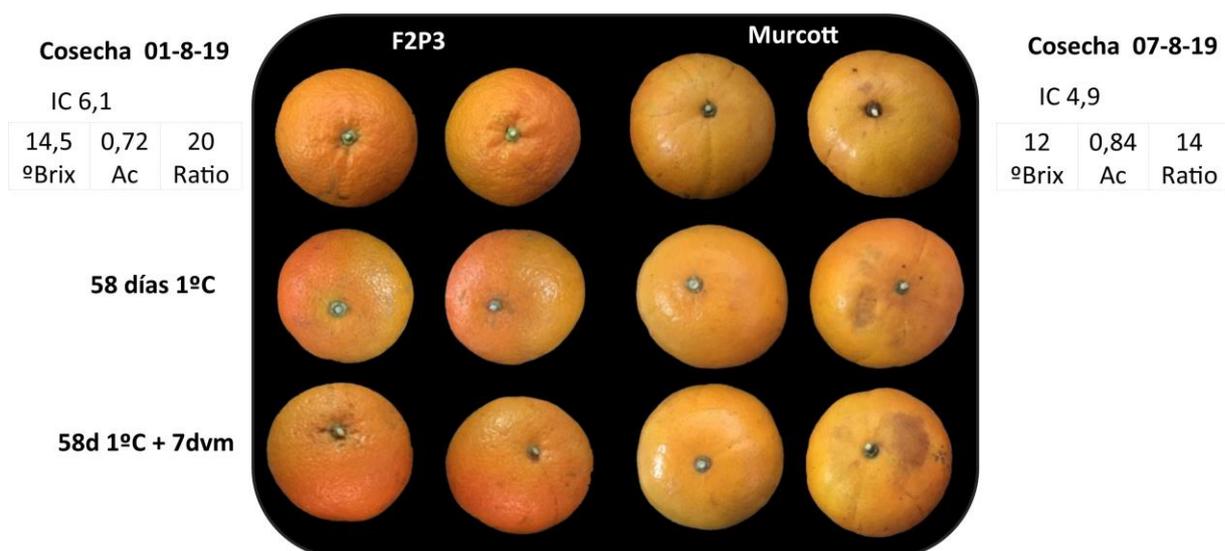


Figura 6. Comportamiento postcosecha de F2P3 en comparación con Murcott.

Cuadro 3. Datos de calidad externa e interna para F2P3 sobre dos portainjertos (T-trifolia y FD-Flying Dragon dos fechas de cosecha (31-7-19 y 8-8-2019) y durante el almacenamiento a 1 y 5°C y la posterior vida mostrador (7 días a temperatura ambiente).

			% jugo		% ac		ratio		firmeza		
	ICC		SS		SS		SS		SS		
C 1 31/07/2019											
F2P3 T	6,1	47,3	14,5	0,7	20,0	1,3					
F2P3 FD	7,4	50,2	14,6	0,8	18,3	1,4					
C2 08/08/2019											
F2P3 T	6,6	46,6	14,8	0,8	17,8	1,2					
F2P3 FD	7,1	47,8	14,2	0,9	16,7	1,6					

	58 días							58 + 7 días VM					
	ICC	% jugo	SS	% ac	ratio	firmeza	ICC	% jugo		% ac		ratio	firmeza
								SS	% ac	SS	% ac		
F2P3 T-C1	1°C	7,1	46,5	14,9	0,8	18,0	2,1	6,9	49,3	14,3	0,7	20,7	2,2
	5°C	7,5	44,5	14,5	0,7	19,7	3,0	7,9	45,2	14,8	0,6	24,1	2,9
F2P3 FD-C1	1°C	7,6	47,6	15,3	0,8	20,2	2,2	6,9	49,9	14,9	0,7	20,6	2,2
	5°C	8,2	51,1	15,3	0,9	17,7	3,2	7,9	49,2	14,8	0,6	23,0	2,7
F2P3 T-C2	1°C	7,4	42,9	14,4	0,9	15,4	2,3	6,9	43,5	12,5	0,6	19,9	3,1
	5°C	8,5	41,4	14,3	0,6	22,4	3,1	6,9	40,6	14,1	0,8	18,6	2,7
F2P3 FD-C2	1°C	8,0	42,0	14,0	0,9	16,1	2,9	7,0	46,2	14,4	0,7	19,3	2,8
	5°C	8,3	43,4	14,0	0,7	19,2	3,7	8,6	40,9	14,0	0,7	20,4	3,7

3.3. Principales antioxidantes presentes en la pulpa de híbridos de mandarina

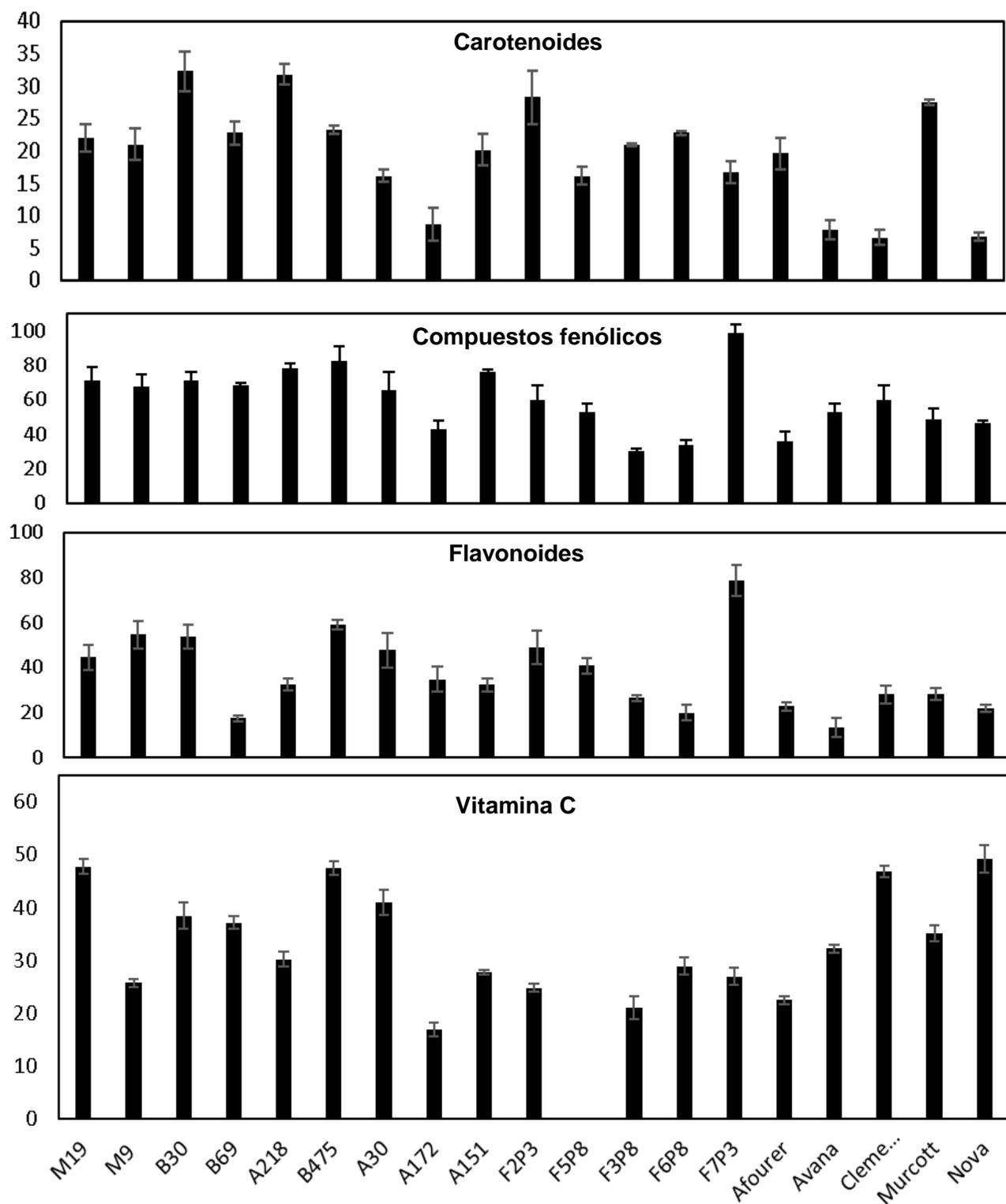


Figura 7. Contenido en la pulpa de carotenoides (μg eq. β -caroteno/g PF), compuestos fenólicos (meq ácido gálico/100g PF), flavonoides (mg hesperidina/100g PF) y vitamina C (g/100g PF) en diferentes híbridos de mandarina y en variedades de referencia (Afourer, Avana, Clementina de Nules, Murcott y Nova). Nota: No se cuenta con dato de vitamina C para F5P8, se encuentra en proceso de análisis.

Los híbridos evaluados presentaron niveles variables de antioxidantes en la pulpa, mostrando una gran diversidad (Figura 7). En cuanto al contenido de pigmentos naranjas carotenoides destacan B30, A218 y F2P3, así como también Murcott entre las variedades de referencia, con valores entre 27 y 32 $\mu\text{g/g}$ de pulpa.

El contenido de compuestos fenólicos es superior en los híbridos de Ellendale x Satsuma o Mandarina Común, siendo levemente inferior en los híbridos de Page. Nuevamente F2P3 muestra un contenido superior tanto en compuestos fenólicos como flavonoides en comparación con F3P8 o F6P8 que muestran valores bajos. Destaca el contenido de estos antioxidantes en F7P3 siendo un 100% superior que el promedio de todas las muestras evaluadas (Figura 7). Respecto a vitamina C, el contenido es mayor en B475 y M19 y menor en general para híbridos de Ellendale x Page. Destaca también el contenido en Clementina de Nules y Nova (Figura 7).

4. Conclusiones

Se evaluó el comportamiento de 16 materiales del programa de mejoramiento, seleccionando aquellos con comportamiento destacado para mercados de exportación o mercado interno: F7P3, F4P7, F3P8 y F2P3. Todas las variedades evaluadas muestran un buen comportamiento durante el almacenamiento. No presentaron en general daños por frío, aunque en el caso de F7P3 si recibe un tratamiento con etileno, es importante evaluar su comportamiento postcosecha en nuevos ensayos.

F4P7 presenta una calidad externa destacada durante el almacenamiento, buena tolerancia al frío cuarentenario y muy buen sabor, siendo la principal limitante durante este año la pérdida de firmeza luego de 58 días de almacenamiento.

F3P8 y F2P3 destacan por su buen comportamiento en calidad externa e interna durante el almacenamiento extendido, incluso con potencial para extender aún más el período de evaluación (ensayos en marcha). Mantienen la firmeza y calidad externa durante más de 58 días en frío, aunque F3P8 podría presentar cambios importantes en el sabor que deberían ser evaluados en profundidad. Destacar también la importancia de evaluar el comportamiento postcosecha en condiciones de manejo comerciales, por lo que se deberán extender estas evaluaciones cuando se disponga de material proveniente de quintas comerciales.

Existió una variabilidad interesante en la composición de antioxidantes entre los híbridos evaluados, destacando el contenido de carotenoides en B30, A218 y F2P3, el de compuestos fenólicos y flavonoides en F7P3 y el de vitamina C para M19 y B475. Entre las variedades de referencia, destaca Murcott por su contenido de carotenoides en pulpa, así como Clementina de Nules y Nova en vitamina C. Es importante destacar que muchos de los híbridos evaluados superan a las variedades de referencia en el contenido de antioxidantes, mejorando por lo tanto el aporte de estos compuestos a la dieta.

Bibliografía

Alós, E., Rodrigo, M. J., & Zacarías, L. (2014). Differential transcriptional regulation of L-ascorbic acid content in peel and pulp of citrus fruits during development and maturation. *Planta*, 239(5), 1113–1128. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2044-z>

Efecto de diferentes sales para el control de la podredumbre amarga de los cítricos

E. Pérez, M. Sbres, A. Guimaraens, O. Blanco, P. Alves.

Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande.

Contacto: elenaperez@inia.org.uy

Introducción

Galactomyces citri-aurantii E.E. Butler es el patógeno de postcosecha de cítricos más importantes luego de los hongos del género *Penicillium*. Provoca una podredumbre blanda debido a la excreción de endo-polygalacturonasa, sustancia que causa la maceración de los tejidos. Penetra en la fruta a través de heridas y la enfermedad se desarrolla muy rápido a temperaturas mayores a 10 °C y alta humedad relativa (92 a 98%). Dentro del parque varietal de Uruguay, afecta principalmente a mandarinas, fundamentalmente cuando son desverdizadas, y limones.

Debido a la restricción de los principales mercados en cuanto al uso de fungicidas de síntesis que se aplican a las importaciones de cítricos procedentes de terceros países, en la actualidad, no se cuenta con alternativas efectivas que contemplen a todos los mercados y/o no generen consecuencias negativas a mediano plazo. Por ejemplo, no existen alternativas para el mercado Unión Europea y para Estados Unidos solamente puede ser utilizado el propiconazole. El uso de un mismo principio activo en forma prolongada genera la proliferación de cepas resistentes y la pérdida de efectividad del fungicida.

Considerando los problemas mencionados, se están evaluando sales orgánicas e inorgánicas generalmente reconocidas como seguras (GRAS) que han demostrado ser efectivas en el control del patógeno (Li et al., 2019; Palou et al., 2018; Talibi et al., 2018; Duan et al., 2016; Talibi et al., 2011).

Para algunas sales, se realizaron trabajos *in vitro* para evaluar la actividad sobre *G. citri-aurantii*. Las sales seleccionadas, en las concentraciones más efectivas, se están probando en soluciones acuosas o incluidas en cera (experimentos de laboratorio a pequeña escala) sobre frutos de limón inoculados artificialmente. Posteriormente, se realizarán ensayos a nivel comercial para validar las alternativas promisorias.

Materiales y métodos

1. *Determinación de la mínima concentración inhibitoria.*

Se evaluaron cuatro sales consideradas promisorias (sorbato de potasio, metabisulfito de sodio, carbonato de sodio y ácido propiónico). La mínima concentración inhibitoria fue determinada por dilución en caldo en placas de 96 pocillos utilizando medio nutritivo PDB. Las sales fueron testadas en las concentraciones: 125, 250, 500, 1000, 2000 y 4000 ppm. Se utilizaron las cepas G0 y G7 sensible y resistente a propiconazole respectivamente. La absorbancia fue medida a 620 nm en tiempo 0, 24, 48 y 72 horas luego de iniciado el experimento.

2. Efecto de las sales en el desarrollo del hongo sobre frutos artificialmente inoculados

Basado en los ensayos de actividad *in vitro* y antecedentes bibliográficos se testaron soluciones acuosas de las sales metabisulfito de sodio (3%), ácido propiónico (3%) y ácido bórico (3%) y recubrimientos de cera con la inclusión de las sales carbonato de sodio (1%), metabisulfito de sodio (0.5%) y ácido propiónico (1%). Los testigos fueron solución acuosa y cera sin agregado de sales respectivamente. Se evaluó el efecto curativo y preventivo.

Se realizó un diseño en bloques completos al azar, con dos repeticiones y 30 frutas por tratamiento. Los frutos fueron lavados, desinfectados con hipoclorito de sodio (0.1%) y enjuagados con agua de grifo. Luego fueron colocados sobre mesada de laboratorio hasta su completo secado. Para evaluar el efecto curativo, los frutos fueron inoculados previo a la aplicación de los tratamientos y para evaluar el efecto preventivo en forma opuesta. Los frutos fueron inoculados mediante herida utilizando un pincho estéril de 2 mm de profundidad por 4 mm de ancho embebido de una suspensión de 10^6 astrosporas/ml de la cepa G0, que contenía cicloheximida (0.001%). Los tratamientos con cera fueron aplicados por aspersión. Cada repetición de cada tratamiento fue colocada en cajas de cartón dispuestas en soportes para fruta que fueron embolsados en forma individual para mantener las condiciones de humedad necesarias para el desarrollo del hongo. Para ello, cada bolsa fue asperjada con agua estéril previo a su uso.

Diariamente durante 7 días se evaluó el diámetro del crecimiento del hongo y el análisis de varianza fue realizado por separado para cada momento de tiempo utilizando el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS. Las medias fueron separadas por test de Tukey $P < 0.05$.

Resultados:

1. Determinación de la mínima concentración inhibitoria

Se obtuvieron resultados variables para la mínima concentración inhibitoria de las sales evaluadas. El mejor control se obtuvo para metabisulfito de sodio (500 ppm), seguido por carbonato de sodio y ácido propiónico (1000 ppm) y sorbato de potasio (4000 ppm). No hubo diferencias entre cepas.

2. Efecto curativo de las sales en suspensión

Cuadro 1. Efecto de las sales en suspensión sobre el desarrollo del hongo en frutos de limón artificialmente inoculados (efecto curativo) ¹				
Tratamiento	Tiempo desde la aplicación del tratamiento (en días) ^{2,3}			
	4	5	6	7
Ácido bórico (3%)	3.13 a	7.93 a	17.20 a	26.56 a
Testigo	17.00 b	33.50 b	49.63 b	65.16 b
Metabisulfito de sodio (3%)	18.10 b	32.76 b	47.46 b	62.43 b
Ácido propiónico (3%)	28.63 c	46.56 c	64.13 c	79.24 c

¹ Media del diámetro de 30 frutos en centímetros. ²No se observó crecimiento del hongo hasta el día 3 luego de aplicados los tratamientos. ³ Medias seguidas por la misma letra en la misma columna no difieren significativamente Tukey P<0.05.

3. Efecto preventivo de las sales en suspensión

Cuadro 2. Efecto de las sales en suspensión sobre el desarrollo del hongo en frutos de limón artificialmente inoculados (efecto preventivo) ¹				
Tratamiento	Tiempo desde la aplicación del tratamiento (en días) ^{2,3}			
	4	5	6	7
Ácido bórico (3%)	10.26 a	26.26 a	41.16 a	56.53 a
Testigo	21.90 b	38.73 b	55.33 b	70.76 b
Ácido propiónico (3%)	26.03 b	43.60 b	59.86 b	75.40b
Metabisulfito de sodio (3%)	26.76 b	44.03 b	62.16 b	77.18 b

¹ Media del diámetro de 30 frutos en centímetros. ²No se observó crecimiento del hongo hasta el día 3 luego de aplicados los tratamientos. ³ Medias seguidas por la misma letra en la misma columna no difieren significativamente Tukey P<0.05.

4. Efecto curativo de las sales incluidas en cera

Cuadro 3. Efecto de las sales incluidas en la cera sobre el desarrollo del hongo en frutos de limón artificialmente inoculados (efecto curativo) ¹				
Tratamiento	Tiempo desde la aplicación del tratamiento (en días) ^{2,3}			
	4	5	6	7
Ácido propiónico (1%)	5.10 a	12.96 a	23.00 a	33.30 a
Carbonato de sodio (1%)	17.70 b	34.56 b	49.26 b	64.20 b
Testigo	27.03 c	42.83 bc	58.36 bc	74.26 bc
Metabisulfito de sodio (0.5%)	28.96 c	46.73 c	62.56 c	77.56 c

¹ Media del diámetro de 30 frutos en centímetros. ²No se observó crecimiento del hongo hasta el día 3 luego de aplicados los tratamientos. ³ Medias seguidas por la misma letra en la misma columna no difieren significativamente Tukey P<0.05.

5. Efecto preventivo de las sales incluidas en cera

Cuadro 4. Efecto de las sales incluidas en la cera sobre el desarrollo del hongo en frutos de limón artificialmente inoculados (efecto preventivo) ¹				
Tratamiento	Tiempo desde la aplicación del tratamiento (en días) ^{2,3}			
	4	5	6	7
Ácido propiónico (1%)	7.93 a	19.23 a	33.56 a	49.06 a
Carbonato de sodio (1%)	18.73 b	33.50 b	49.93 b	65.88 b
Testigo	21.06 bc	37.13 b	53.10 b	69.66 b
Metabisulfito de sodio (0.5%)	24.06 c	39.50 b	56.53 b	72.20 b

¹ Media del diámetro de 30 frutos en centímetros. ²No se observó crecimiento del hongo hasta el día 3 luego de aplicados los tratamientos. ³ Medias seguidas por la misma letra en la misma columna no difieren significativamente Tukey P<0.05.

En las condiciones del experimento, ninguna de las sales inhibió completamente el desarrollo del hongo. Sin embargo, se observó un enlentecimiento en el crecimiento micelial aplicando ácido bórico en suspensión y ácido propiónico incluido en cera tanto cuando las aplicaciones se realizaron en forma curativa como preventiva. Nuestros resultados para el ácido bórico son consistentes con estudios previos para el control de podredumbre amarga (Talibi et al., 2011) y moho verde (Smilanick and Sorenson, 2001)

Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos, si se mantienen los resultados luego de repetidos los experimentos: a) estaremos en condiciones de evaluar el efecto del tratamiento en línea del ácido bórico aplicado en suspensión, seguido del uso de una cera con la inclusión de ácido propiónico, b) continuar con la evaluación de otras sales reconocidas como seguras que han demostrado por literatura ser potencialmente activas en el control del patógeno.

Bibliografía

- Duan XF, OuYang QL, Jing GX, Tao NG (2016) Effect of sodium dehydroacetate on the development of sour rot on Satsuma mandarin. *Food Control* 65:8–13. <https://doi-org.proxy.timbo.org.uy:88/10.1016/j.foodcont.2016.01.011>
- Li, L., Tang, X., Ouyang, Q., Tao, N., 2019. Combination of sodium dehydroacetate and sodium silicate reduces sour rot of citrus fruit Postharvest Biol. Technol. 151, 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.01.006>
- Palou, L. Taberner, V, Jerby N, de la Fuente I. 2018. Synergism between food additives and heat to reduce postharvest sour rot of Orange. Abstract. ICPP Congress Boston Julio 29 to August 3.
- Smilanick, J. and Sorenson, D. 2001. Control of postharvest decay of citrus fruit with calcium polysulfide. *Postharvest Biol. Technol.* 21:157-168.
- Talibi, I., Askarne, L., Boubaker, H., Boudyach, E.H., Aoumar, A.A. Ben, 2011. In vitro and in vivo antifungal activity of organic and inorganic salts against citrus sour rot agent *Geotrichum candidum*. *Plant pathol J.* 10(4) 138-145.