



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Estrategias precosecha para reducir el daño por frío en almacenamiento de naranjas: efecto de la nutrición catiónica y el ácido abscísico

Fabiana Paola HERNÁNDEZ MAZZINI

Magister en Ciencias Agrarias
opción Ciencias Vegetales

Diciembre, 2021

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Mariana Sotelo, Mónica Barbazán y Ana Cecilia Silveira, el 17 de diciembre de 2021. Autora: Fabiana Paola Hernández Mazzini. Director: Matías Jesús Manzi Fraga, codirectora: Joanna Lado Lindner.

Dedico este trabajo a...

MIS ANCESTRAS,

La vida pasó a través de ellas hasta llegar a mí... Y en su honor, con amor y respeto, la vivo y la viviré plenamente.

En especial a mi madre Raquel y a mi abuela Memé.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutor Matías Manzi y a mi tutora Joanna Lado por todos los conocimientos transmitidos, su apoyo total en el proceso de formación y su excelente trato basado en el respeto.

Agradezco al equipo de Poscosecha de INIA Salto Grande, por la colaboración en las actividades de campo y laboratorio.

Agradezco al equipo del Laboratorio de Fertilidad de Suelos por darme el espacio y las indicaciones para realizar los análisis mineralógicos.

Agradezco a las instituciones ANII y CSIC por las becas otorgadas, las cuales me permitieron desarrollar el trabajo con dedicación, como también al FMV, proyecto en el cual se enmarcó el trabajo.

Agradezco a mi *teacher* Silvina Coalla por la ayuda en la traducción de los resúmenes del español al inglés y a Inti Clavijo por su colaboración en la traducción del español al portugués.

Agradezco a mi familia: mi madre Raquel, mi padre Walter, mi abuela Memé, mis hermanos Danito y Pablito y a mis cuñadas Vicky y Gime, por su apoyo total, su confianza, y por festejar este logro como si fuera propio.

Agradezco a mis amigas y amigos de la vida: Ayrtonio, Yani, Vito, Gusi, Clarivel, Ine, Fede, Luli, Rami, Vale y Mica, porque tener pares como ustedes con quien poder SER no tiene precio. Salú por nuestras incontables charlas y momentos compartidos durante estos años de estudio.

Y, por último, y no menos importante, quiero agradecerle a mi novio, compañero y amigo: Gero, ¡que es lo más lindo que me pasó durante estos años de maestría! Estar juntos, caminando a la par, me hace feliz.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS	IV
TABLA DE CONTENIDO	V
1. <u>INTRODUCCIÓN GENERAL</u>	1
2. <u>CAPÍTULO 1: EFECTO DE LA APLICACIÓN PRECOSECHA DE ÁCIDO ABSCÍSI EN EL DAÑO POR FRÍO POSCOSECHA DE NARANJAS</u>	6
2.1. RESUMEN	8
2.2. ABSTRACT	9
2.3. RESUMO	10
2.4. INTRODUCCIÓN	11
2.5. MATERIALES Y MÉTODOS	13
2.5.1. <u>Material vegetal y condiciones del ensayo</u>	13
2.5.2. <u>Diseño experimental y material vegetal</u>	14
2.5.3. <u>Evaluación de daño por frío</u>	14
2.5.4. <u>Evaluaciones de la calidad del fruto</u>	14
2.5.5. <u>Análisis estadísticos</u>	15
2.6. RESULTADOS	16
2.6.1. <u>Daño por frío</u>	16
2.6.2. <u>Color externo y firmeza del fruto</u>	17
2.6.3. <u>Calidad interna del fruto</u>	19
2.7. DISCUSIÓN	20
2.8. CONCLUSIONES	22
2.9. AGRADECIMIENTOS	23
2.10. CONTRIBUCIÓN DE AUTORES/AS	23
2.11. REFERENCIAS	23
3. <u>CAPÍTULO 2: ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LOS CATIONES K, MG Y CA Y EL DAÑO POR FRÍO EN POSCOSECHA DE NARANJA SALUSTIANA</u>	32
3.1. RESUMEN	34
3.2. ABSTRACT	35
3.3. RESUMO	36
3.4. INTRODUCCIÓN	37

3.5.MATERIALES Y MÉTODOS	39
3.5.1.<u>Material vegetal y condiciones del ensayo</u>	39
3.5.2.<u>Diseño experimental</u>	40
3.5.3.<u>Análisis de minerales</u>	41
3.5.4.<u>Evaluaciones de daño por frío</u>	41
3.5.5.<u>Evaluaciones de la calidad del fruto</u>	41
3.5.6.<u>Análisis estadísticos</u>	42
3.6.RESULTADOS	42
3.6.1.<u>Concentración de K, Mg y Ca en flavedo</u>	42
3.6.2.<u>Concentración de K, Mg y Ca en hojas</u>	43
3.6.3.<u>Daño por frío en poscosecha</u>	44
3.6.4.<u>Correlación entre el DF y los cationes en flavedo y hoja</u>	46
3.6.5.<u>Calidad del fruto</u>	49
3.7.DISCUSIÓN	50
3.8.CONCLUSIONES	54
3.9.AGRADECIMIENTOS	54
3.10. CONTRIBUCIÓN DE LOS/LAS AUTORES/AS	54
3.11. REFERENCIAS	54
4.<u>DISCUSIÓN GENERAL</u>	61
5.<u>CONCLUSIONES GENERALES</u>	64
6.<u>BIBLIOGRAFÍA GENERAL</u>	65

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La presente tesis investiga mediante dos abordajes diferentes el efecto de la disponibilidad de nutrientes (K, Mg y Ca) y el efecto del ácido abscísico (ABA) en el desarrollo de daño por frío (DF) durante la poscosecha de frutos cítricos en dos de las variedades de naranja más plantadas en Uruguay: Salustiana y Washington Navel.

Este trabajo se divide en seis secciones. La primera comprende una introducción general que incluye el contexto y los antecedentes en los que se enmarca el tema de estudio. La segunda y tercera sección se corresponden con el primer y segundo capítulo, escritos como artículos científicos según el formato de la revista *Agrociencia* (Uruguay). En la cuarta y quinta sección se presentan la discusión general y las conclusiones globales del trabajo. En la sexta sección se cita la bibliografía utilizada en la introducción y discusión global.

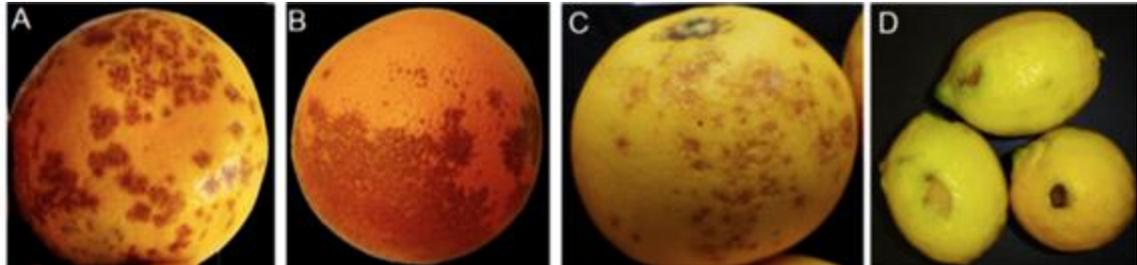
En Uruguay la citricultura es una actividad de gran importancia económica y social. Son 14.500 las hectáreas efectivas totales, de las cuales 6.100 son naranjos, 5.600, mandarinos, 2.700, limoneros y el resto, pomelos. En los departamentos de Salto y Paysandú se concentra el 90 % de la producción, que alcanza anualmente entre 200.000 y 300.000 toneladas de fruta (DIEA, 2021). El 50 % de dicha producción se corresponde con naranjas, 30 %, con mandarinas y 20 %, limones. El principal destino comercial de la producción es la exportación como fruta fresca (40-50 %). Más precisamente, en 2020 se exportó el 43 % de la producción, el 42 % se volcó en el mercado interno para consumo en fresco, mientras que un 15 % fue industrializada (DIEA, 2021). La exportación tiene como objetivo central obtener retornos económicos que puedan mantener y expandir el rubro, mientras que al mercado interno y la industria se envía la fruta descartada para la exportación. Históricamente la producción se volcó principalmente a los mercados del hemisferio norte en contra estación, especialmente a la Unión Europea. Sin embargo, desde la apertura del mercado de Estados Unidos en 2014, el de China en 2017 y el de Vietnam en 2019, las empresas citrícolas aumentaron sus volúmenes exportados a estos destinos, motivados por los mayores precios y menores aranceles, en comparación con los mercados tradicionales. En contrapartida, estos mercados tienen exigencias cuarentenarias de tratamientos de frío que buscan evitar el ingreso de larvas vivas de la mosca de la fruta (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus*), donde la plaga no está presente. El protocolo

(T107A1, APHIS, USDA) exige que la fruta debe viajar en condiciones de 35 °F (1,67 °C) durante 17 días. El tratamiento se lleva a cabo durante el transporte marítimo rumbo al país importador y en esas condiciones, si la temperatura varía durante el viaje de forma involuntaria, se debe iniciar el tratamiento desde el inicio, duplicando, en algunos casos, el tiempo de exposición y perjudicando la calidad del fruto cítrico debido a la sensibilidad que presenta en esas condiciones. Cabe destacar que las temperaturas requeridas son sensiblemente más bajas que las empleadas en los empaques con destino a la Unión Europea o Rusia, la cual se fija aproximadamente entre 5 y 6 °C.

El almacenamiento refrigerado es una herramienta muy utilizada en la poscosecha de frutas y hortalizas. Su uso logra mantener la calidad hasta el momento de su comercialización porque reduce la incidencia de patógenos y retrasa la senescencia natural (Martínez-Jávega, 2005). Las frutas y hortalizas de origen tropical, subtropical y templado desarrollan cambios negativos en su apariencia y/o textura, lo que se conoce como daño por frío (DF), al ser almacenadas a temperaturas menores a 10-12 °C, hecho que se traduce en pérdidas económicas. Los cítricos son originarios del sureste asiático, al sur de China y noreste de India (Wu et al., 2018) y su cultivo se extiende en regiones tropicales y subtropicales, por lo que son sensibles a las bajas temperaturas (Agustí et al., 2002). Este hecho es el principal cuello de botella a la hora de la comercialización, ya que las temperaturas cuarentenarias están dentro del rango de las que ocasionan DF a los frutos, lo que, sumado a los tiempos de exposición requeridos, puede determinar el desarrollo de síntomas (Lado et al., 2019, Alférez et al., 2005, Almela et al., 1992).

Los síntomas de DF se visualizan a nivel del flavedo y se expresan como zonas ennegrecidas, picados y/o hendiduras (Lafuente y Zacarías, 2006, Agustí et al., 2002). La sensibilidad al frío y la expresión de los síntomas varía según la especie y variedad. Entre las especies más sensibles del género *Citrus* se encuentran los limones, limas, pomelos y algunos híbridos de mandarina (Lafuente y Zacarías, 2006). Sin embargo, dentro de las naranjas existen variedades que presentan alta sensibilidad al frío.

Figura 1. Síntomas de daño por frío en diferentes especies cítricas: A) mandarina Satsuma, B) naranja Navel, C) pomelo Marsh, D) limón Lisbon (Lado et al., 2016).



Una de las principales limitantes es que el daño se desarrolla durante el transporte y se hace visible cuando llega a destino. La aparición de DF deteriora la calidad externa de la fruta y perjudica su calidad comercial, disminuyendo el precio por el aumento de costos de reclasificación y/o empaque e incluso por el rechazo del envío.

Las bajas temperaturas provocan la alteración de múltiples procesos metabólicos. El primer cambio ocurre a nivel de la membrana, afectando la permeabilidad al modificar la estructura de la matriz lipídica y provocando la disminución de la fluidez celular. Si la exposición a la condición de estrés es prolongada, la rigidez se incrementa y se generan trastornos funcionales en las proteínas, concluyendo con la ruptura de la propia membrana. Como consecuencia, surge una cascada de respuestas secundarias, tales como pérdida de turgencia, fuga de electrolitos, pérdida de energía metabólica, desintegración de los sistemas fotosintéticos y finalmente, la muerte celular. Además del efecto directo sobre las membranas y la pérdida de integridad, se genera un aumento de especies reactivas del oxígeno (ERO), lo que potencia el estrés oxidativo a nivel de los tejidos (Sevillano et al., 2009).

La incidencia de DF es muy variable entre años y ha sido relacionada con diversos factores. Los mecanismos involucrados difieren en función del cultivo, del tipo de órgano y de la etapa de desarrollo (Sevillano et al., 2009, Schirra, 1992). Por otro lado, las condiciones ambientales, como la radiación incidente (Lado et al., 2015), la temperatura, el viento (Almela et al., 1992), la humedad relativa (Pantastico et al., 1968), la nutrición mineral (Cakmak 2005, Slustky et al., 1981), la posición del fruto en la copa (Cronje et al., 2013) o el momento de cosecha (Loay y Dawood., 2019) modifican la condición de la cáscara e influyen en la ocurrencia de este desorden. Además, las condiciones de almacenamiento, como la temperatura de refrigeración

(Lado et al., 2019, González Aguilar et al., 2000) y el tiempo de exposición, están vinculadas al desarrollo del DF (Royo, 2010, Lafuente y Zacarías, 2006).

Se han evaluado diferentes alternativas para mitigar el DF, mayormente aplicadas en poscosecha. Entre las más destacadas están el pre-acondicionado a altas temperaturas (Porat et al., 2000, Martínez Jávega et al., 1997, Schirra, 1992), la inmersión en agua caliente (Holland et al., 2005), el calentamiento y enfriamiento intermitentes (Balaguera López y Palacios., 2018) y la aplicación de diferentes hormonas (Carvajal et al., 2017, Lado et al., 2014, Wang et al., 2013), así como también ceras y diferentes tipos de recubrimientos (Kellerman et al., 2014). Sin embargo, estas tecnologías han sido parcialmente incorporadas por el sector productivo, especialmente por el deterioro de la fruta cuando se usan altas temperaturas o por fitotoxicidad por el empleo de diferentes tratamientos (Ghasemnezhad et al., 2008). Además, es importante mencionar que estos manejos disminuyen el DF, pero no lo eliminan completamente. Se entiende que es un proceso multifactorial y los factores que interaccionan en la tolerancia de los frutos cítricos al DF no están completamente dilucidados. En ese sentido, diferentes investigaciones sugieren que los cambios durante el crecimiento y la maduración de la fruta se relacionan a la aparición del DF (Lado et al., 2019, Agustí et al., 2002).

Existe una relación entre la nutrición mineral y la ocurrencia de diferentes estreses (Zorb et al., 2014). Nutrientes como el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y boro (B) influyen en el desarrollo de trastornos a nivel de la cáscara de los frutos (Magwaza et al., 2013, Cronje, et al., 2011). Su disponibilidad ha sido asociada con diferentes desórdenes, tales como el *creasing* (Storey y Treeby, 2000), el rajado de frutos o *splitting* (Cronje, 2011), el picado o *pitting* (Alva et al., 2006), así como también con el DF (Ezz y Awad, 2009). Además, tanto el K como el Mg y el Ca tienen un impacto directo en la calidad de los frutos, ya que modifican las variables que la definen, entre ellas, azúcares (Mimoun et al., 2018), ácidos (Zhou et al., 2018), color externo (Erner et al., 2005), grosor de cáscara (Morgan et al., 2009) o firmeza (Stückrath et al., 2008).

El ácido abscísico (ABA) es una de las principales fitohormonas implicadas en las respuestas al estrés abiótico (Gómez-Cadenas et al., 2015). El ABA ha sido vinculado con la mejora en la respuesta de los vegetales en condiciones de estrés hídrico (Urano et al., 2009), salino (Rikin

et al., 1976) o térmico por la exposición a bajas temperaturas (Wang et al., 2020, Carvajal et al., 2017, Shinkawa et al., 2013). Este ácido promueve una mejora en la actividad antioxidante, lo que genera tolerancia ante las condiciones mencionadas (Muñoz et al., 2016, Buran et al., 2012).

Este trabajo busca vincular el efecto de factores precosecha sobre la incidencia de los DF en poscosecha a través de dos abordajes: el primero relacionado al efecto de los niveles de K, Mg y Ca y el segundo vinculado a la aplicación de ABA. Este doble enfoque intenta ser un punto de partida para conocer cómo algunos factores en precosecha pueden potenciar o reducir la tolerancia al DF de las naranjas en poscosecha. De esta manera, se intentan sentar las bases para posibles medidas de mitigación a ser aplicadas durante el desarrollo del fruto (precosecha).

Con base en lo expuesto, las hipótesis del trabajo son dos: 1) la concentración ([]) de K, [Mg] y [Ca] (y sus relaciones) en el flavedo de la fruta cítrica inciden en el DF en poscosecha y 2) el ABA aplicado en precosecha favorece la tolerancia de los frutos cítricos al DF en poscosecha.

El objetivo general de este trabajo es conocer el posible efecto de la nutrición catiónica y la aplicación precosecha de ABA en el desarrollo de síntomas de DF durante el almacenamiento refrigerado de naranjas Salustiana y Washington Navel. Para ello, se definen dos objetivos específicos: 1) evaluar el efecto de [K], [Mg] y [Ca] (y sus relaciones) en el flavedo sobre la incidencia del DF durante la poscosecha de naranja Salustiana y 2) evaluar el efecto del ABA aplicado en el desarrollo del fruto sobre la incidencia del DF durante la poscosecha de naranja Salustiana y Washington Navel.

2. CAPÍTULO 1: EFECTO DE LA APLICACIÓN PRECOSECHA DE ÁCIDO
ABSCÍSICO EN EL DAÑO POR FRÍO POSCOSECHA DE NARANJAS

**Efecto de la aplicación
precosecha de ácido abscísico
en el daño por frío poscosecha
de naranjas.**

**Effect of preharvest application
of abscisic acid on postharvest
chilling injury of oranges.**

**Efeito da aplicação pré-colheita
de ácido abscísico na injuria
pelo frio na pós-colheita de
laranjas.**

Correspondencia

Fabiana Hernández Mazzini
*fabianahernandezmazzini@gm
ail.com*

Recibida 15 noviembre 2021

Aceptada 17 diciembre 2021

Publicada dd month yyyy

Citación

Hernández-Mazzini, F.; Lado, J.; Pintos, P.; Manzi, M. Efecto de la aplicación precosecha de ácido abscísico en el daño por frío poscosecha de naranjas. Agrocienca Uruguay

Hernández-Mazzini, F.¹; Lado, J.¹; Pintos, P.²; Manzi, M.¹

¹ *Universidad de la República, Fertilidad de Suelos, Departamento e Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía, EEFAS, Udelar, Salto, Uruguay.*

² *Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa de Investigación en Citricultura, Salto, Uruguay*

2.1. RESUMEN

El daño por frío (DF) en cítricos es un desorden fisiológico que reduce la calidad cosmética y comercial de los frutos en la poscosecha. Las exigencias cuarentenarias que presentan algunos mercados (EE. UU., Asia) tienen como requisito la exposición de los frutos a temperaturas cercanas a 1 °C, provocando el desarrollo de DF en la cáscara del fruto (flavedo). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del ácido abscísico (ABA; 500 mg L⁻¹) y de un inhibidor de su biosíntesis (NDGA; 300 mg L⁻¹), aplicados tres veces durante el desarrollo del fruto, sobre la incidencia y severidad de DF poscosecha en frutos de naranjas Salustiana y Washington Navel almacenadas a 1 ± 0,5 °C. Se analizó la calidad de fruta a través de los parámetros de color externo, firmeza, sólidos solubles y acidez, tanto en cosecha como al finalizar el almacenamiento en frío. El tratamiento con ABA retrasó la aparición del DF durante la poscosecha en ambas variedades, redujo la incidencia entre 20 y 76 % y la severidad entre 18 % y 78 %. La aplicación de NDGA no mostró ningún efecto en el desarrollo de DF. Los datos sugieren que la reducción del DF observada es dependiente del tiempo e n almacenamiento refrigerado, así como de la sensibilidad varietal. El color y la firmeza, así como la calidad interna (sólidos solubles totales, acidez y SST/AT) en cosecha y poscosecha no fueron afectados por la aplicación de ABA ni de su inhibidor. Los resultados sugieren que la aplicación de ABA durante el desarrollo del fruto contribuye a reducir la incidencia y severidad del DF en almacenamiento.

Palabras clave: ABA, almacenamiento refrigerado, citrus

2.2. ABSTRACT

Chilling injury (CI) is a physiological disorder that reduces citrus fruit cosmetic and commercial quality during postharvest. The requirements present by certain markets (USA, Asia) include the exposure of fruit to very low temperatures, causing the development of CI in the fruit peel (flavedo). The aim of this work was to evaluate the effect of abscisic acid (ABA; 500 mg L⁻¹) and an inhibitor of its biosynthesis (NDGA; 300 mg L⁻¹), applied three times during fruit development, on the CI level during postharvest storage of Salustiana and Washington Navel oranges. CI was periodically evaluated in its incidence and severity for 58 days of storage at 1.0 °C. Fruit quality (colour, firmness, soluble solids and acidity) was analyzed at harvest and at the end of cold storage. ABA application delayed the appearance of CI during the postharvest in both varieties and reduced the incidence in between 20 and 76 % and the severity in between 18 % and 78 %. The application of NDGA did not show any detectable effect on CI. The data suggests that the ABA mediated reduction of damage is dependent on the length of the storage, as well as on the sensitivity of the variety to cold. Fruit color and firmness, as well as internal quality (soluble solids, acidity and TSS/AT) were not affected by the application of ABA or its inhibitor nor at harvest neither during postharvest. Results suggested that the application of ABA during fruit development in the field may contribute to reduce the CI during cold storage.

Keywords: ABA, cold storage, citrus

2.3. RESUMO

A injúria pelo frio (IF) em frutas cítricas é um distúrbio fisiológico que reduz a qualidade cosmética e comercial dos frutos na pós-colheita. Os requisitos de quarentena apresentados por alguns mercados (EUA, Ásia) exigem a exposição das frutas a temperaturas muito baixas, causando o desenvolvimento de IF na casca da fruta (flavedo). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de três aplicações de ácido abscísico (ABA; 500 mg L⁻¹) e de um inibidor de sua biossíntese (NDGA; 300 mg L⁻¹) aplicado três vezes durante o desenvolvimento do fruto na pós-colheita da IF em frutos das laranjas Salustiana e Washington Navel. A IF foi avaliada periodicamente por meio da severidade e incidência de IF em frutos armazenados a 1,0 °C. A qualidade dos frutos (cor, firmeza, sólidos solúveis e acidez) foi analisada na colheita e no final do armazenamento refrigerado. O tratamento com ABA retardou o aparecimento da IF durante a pós-colheita em ambas as variedades, reduzindo a incidência entre 20 e 76 % e a severidade entre 18 e 78 %. A aplicação de NDGA não apresentou efeito na IF. Os dados sugerem que a redução de danos mediada por ABA depende do tempo de armazenamento refrigerado, bem como da sensibilidade da variedade ao frio. A cor externa e a firmeza bem como a qualidade interna (sólidos solúveis, acidez e SST/AT) dos frutos na colheita e pós-colheita não foram afetadas pela aplicação do ABA ou de seu inibidor. Os resultados sugerem que a aplicação do ABA durante o desenvolvimento do fruto no campo pode reduzir o IF no armazenamento.

Palavras chave: ABA, armazenamento refrigerado, citrus

2.4. INTRODUCCIÓN

Los frutos cítricos, debido a su origen tropical y subtropical, cuando son expuestos a temperaturas cercanas a 1 °C desarrollan un desorden fisiológico denominado daño por frío (DF). Si bien los síntomas varían entre especies y variedades, en la mayoría de los casos aparecen como una lesión ennegrecida y deprimida a nivel del flavedo del fruto⁽¹⁾⁽²⁾ que afecta su calidad cosmética y perjudica la comercialización. En ese sentido, durante el transporte de fruta cítrica a países como EE. UU. o del sudeste asiático, las temperaturas próximas a 1 °C, requeridas en tratamientos cuarentenarios, promueven la aparición de este desorden. Diferentes trabajos sugieren que los cambios fisiológicos que atraviesa el fruto durante el crecimiento y desarrollo, así como también durante la poscosecha, se relacionan con la susceptibilidad a desarrollar DF⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾. El desarrollo de DF es dependiente de la especie, siendo los limones, limas y pomelos las especies más sensibles, seguidos por híbridos de mandarinas y naranjas⁽⁶⁾⁽⁷⁾. Sin embargo, la sensibilidad intraespecie es variable⁽⁸⁾. Además, se sugiere que también participan otros factores como la radiación incidente⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾, la incidencia del viento y la temperatura previos a la cosecha⁽¹⁾, la humedad relativa⁽¹¹⁾, el momento de cosecha⁽¹²⁾ y la adición de coberturas y ceras⁽¹³⁾, así como el tiempo en el almacenamiento⁽⁸⁾. En ese sentido, la diversidad de factores vinculados dificulta el entendimiento de los mecanismos que subyacen en la tolerancia/susceptibilidad de los frutos al DF. Los tejidos expuestos a las bajas temperaturas modifican la permeabilidad y fluidez de la membrana debido al cambio en la composición de los lípidos. A su vez, la estructura de la pared sufre modificaciones asociadas al metabolismo de carbohidratos (CHO). Además, se originan alteraciones en la biosíntesis de proteínas y hormonas, así como también de osmolitos protectores y antioxidantes. La capacidad de neutralizar las especies reactivas del oxígeno (ERO) se reduce⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾.

El ABA es reconocido como una de las principales hormonas vinculadas a las respuestas de las plantas frente a condiciones de estrés⁽¹⁶⁾. Su aplicación exógena es una herramienta comúnmente utilizada para demostrar su rol en las plantas⁽¹⁷⁾. El ABA está relacionado con la respuesta a diversas condiciones estresantes como las temperaturas extremas o el déficit hídrico, promoviendo la tolerancia de las plantas ante dichas condiciones⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾. El ácido nordihidroguaiarético (NDGA), por su parte, también se ha empleado para evidenciar el efecto del ácido abscísico (ABA)⁽²⁰⁾ por ser un inhibidor específico de la biosíntesis del ABA⁽²¹⁾⁽²²⁾.

Aplicaciones exógenas de ABA han sido empleadas para inducir tolerancia al DF en diferentes especies, como en el caso de algunas gramíneas⁽²³⁾, especies hortícolas tales como zuchini⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾, pepino⁽²⁶⁾ y albahaca⁽²⁷⁾ y en otras especies como son la vid⁽²²⁾⁽²⁸⁾, el algodón⁽²⁹⁾ o el tabaco⁽³⁰⁾. Dichas aplicaciones demostraron ser efectivas en inducir el sistema antioxidante⁽³¹⁾, reduciendo las ERO⁽³²⁾, lo que lleva a una disminución de los síntomas de DF en órganos como los frutos⁽³³⁾. En pomelos se ha sugerido que el ABA podría estar relacionado con una mayor tolerancia al DF debido a los cambios en los niveles endógenos durante la maduración y su relación con el DF de fruta cosechada en diferentes momentos del desarrollo del fruto⁽³⁴⁾. Resultados similares, pero vinculados al ABA exógeno, se han descrito en hojas expuestas a temperaturas extremas, por debajo de 0 °C⁽³⁵⁾. Sin embargo, en frutos de mandarina Fortune no se verificó una relación entre el nivel de ABA endógeno en cosecha y el DF poscosecha⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾. No obstante, la aplicación de ABA podría ser una estrategia de preparación para inducir tolerancia ante la exposición a situaciones de estrés, actuando, así, como un estímulo para la aclimatación a dichas condiciones⁽³⁸⁾.

El ABA también se ha vinculado con el desarrollo de la coloración de los frutos. Existen reportes del efecto promotor del color en manzana⁽³⁹⁾, frutilla⁽⁴⁰⁾ y cereza⁽⁴¹⁾, y existe vasta información en variedades de la especie *Vitis vinifera*⁽⁴²⁾. En los cítricos, la concentración de del ABA en el flavedo aumenta a lo largo de la maduración y alcanza su máximo en el momento del cambio de color⁽⁴³⁾⁽⁴⁴⁾, aunque el desarrollo completo del color ocurre después de una disminución en los niveles de la hormona⁽⁴⁵⁾. Las variedades de maduración temprana, que en general presentan menor coloración, se han asociado a menores concentraciones de ABA endógeno durante el desarrollo del color en el flavedo, en comparación con aquellas de maduración tardía, de coloración más intensa⁽⁴⁵⁾. La aplicación exógena de ABA durante la precosecha acelera y favorece el color externo del fruto en variedades tempranas de mandarina Jinshuigan⁽²⁰⁾, mandarina Satsuma⁽⁴⁶⁾ y de naranja Navel M7⁽⁴⁷⁾, debido al incremento en las concentraciones de carotenoides en el flavedo y a la degradación de clorofilas.

En el mismo sentido, la aplicación de NDGA induce menores niveles de pigmentos carotenoides y, por lo tanto, menor color. Los carotenoides que confieren el color al flavedo son, a su vez, precursores de la biosíntesis de ABA⁽⁴⁸⁾, por lo que existe entre ellos un fuerte vínculo⁽⁴⁹⁾. Los carotenoides, además de originar el color, poseen un fuerte poder antioxidante⁽⁵⁰⁾, lo que ha sido relacionado con cítricos con un menor DF⁽⁸⁾⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾.

Aplicaciones de ABA durante la precosecha de frutos cítricos se asociaron con cambios en variables que definen la calidad interna. Su aplicación exógena redujo la acidez del jugo en mandarina Jinshuigan y naranja Navel M7⁽²⁰⁾⁽⁴⁷⁾, aunque otros reportes no encontraron efecto en el tangor Miyauchi lyokan⁽⁵¹⁾, sugiriendo un efecto dependiente del genotipo. Por otro lado, reportes en frutos de otras especies sugieren que los contenidos de azúcares, así como también la relación SST/AT, se incrementan ante aplicaciones de ABA durante la maduración⁽²⁰⁾⁽⁴⁷⁾⁽⁵¹⁾. De igual forma, existen reportes opuestos respecto a la firmeza del fruto: en frutos como mango y cereza, la firmeza se reduce en respuesta a la aplicación de ABA, posiblemente por el aumento de la actividad de enzimas que degradan la pared celular⁽⁵²⁾; sin embargo, en vid⁽⁴²⁾, banana y frutilla⁽⁴⁰⁾⁽⁵²⁾ la firmeza aumentó en frutos tratados con ABA.

Basado en los antecedentes, se sugiere que el ABA podría estar involucrado en la inducción de respuestas protectoras al estrés por frío en los frutos cítricos. De esta forma, podría favorecerse la tolerancia al DF desarrollado durante el almacenamiento poscosecha a baja temperatura. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del ABA y del NDGA aplicados en la precosecha sobre el DF durante el almacenamiento refrigerado de naranja Salustiana y Washington Navel.

2.5. MATERIALES Y MÉTODOS

2.5.1. Material vegetal y condiciones del ensayo

El trabajo se realizó con frutos de plantas adultas de las variedades de naranja Salustiana y Washington Navel (*Citrus sinensis*) injertadas sobre *Poncirus trifoliata* (L.), durante la zafra 2018-2019. Las plantas con disponibilidad de fertirriego fueron seleccionadas por su vigor, homogeneidad y estado sanitario. El marco de plantación fue de 5 * 5 m con una densidad de 397 plantas ha⁻¹. El predio comercial está ubicado en la zona de Quebracho en el departamento de Paysandú (Uruguay).

2.5.2. Diseño experimental y material vegetal

Se realizó un diseño completamente aleatorizado (DCA) con tres tratamientos, tres repeticiones por tratamiento y cuya unidad experimental fueron tres árboles. En cada árbol se seleccionaron 60 frutas al azar, 20 por tratamiento. Cada tratamiento recibió uno de los dos productos: 1) ABA (500 mg L⁻¹, Valent Bioscience, Protone 10 %), 2) NDGA (300 mg L⁻¹, Sigma Aldrich) y el tratamiento control (CT) recibió agua destilada. En todos los casos se utilizó un tensioactivo no iónico (Tritón X-100) al 0,5 %. Cada fruta fue sumergida en la solución correspondiente durante 20 s en tres momentos del período de crecimiento: fruto verde maduro (VM, 08/04/2019), fruto en cambio de color (CC, 31/05/2019) y fruto totalmente coloreado (TC, 19/06/2019). La variedad W. Navel se cosechó el 19/06/2019 y la Salustiana, el 26/06/2019. Una vez cosechados, los frutos fueron almacenados a 1,0 ± 0,5 °C y 80 - 90 % HR durante ocho semanas. Al finalizar ese período se mantuvo la fruta una semana adicional en condiciones de vida mostrador a temperatura ambiente (20,0 ± 1,0 °C).

2.5.3. Evaluación de daño por frío

El DF se determinó periódicamente evaluando los síntomas visibles en 46 frutos por repetición y 3 repeticiones por tratamiento. Se evaluó la incidencia y la severidad del DF. La incidencia del DF se calculó como el porcentaje de frutos con síntomas de daño (% DF), mientras que la severidad se obtuvo a través del índice de DF (IDF). Para el IDF la fruta se categorizó según el DF en una escala de 0 a 3, donde 0 corresponde con fruta sin daño visible; 1, con fruta cuya superficie dañada es menor al 10 %; 2, entre 10 % y 50 % y 3, se le asigna a fruta con más del 50 %. El IDF se calculó con un promedio ponderado, en el cual se sumó el número de frutas en cada categoría, se multiplicó por el puntaje de cada categoría y luego se dividió entre el total de frutas evaluadas⁽⁵³⁾.

2.5.4. Evaluaciones de la calidad del fruto

Las variables de calidad de fruta se evaluaron durante su crecimiento y desarrollo, en el momento de la cosecha y al final del período de almacenamiento. Durante el período de crecimiento (08/04/19 hasta cosecha) la variable medida periódicamente fue el color externo. En la cosecha comercial, además del color externo, se evaluó la firmeza y la calidad interna de la fruta a través de las variables sólidos solubles totales (SST) y acidez titulable (AT) y la

relación entre ambas (SST/AT). Al final del almacenamiento refrigerado (58 d) se evaluaron el color externo y la firmeza.

El color se determinó a través de un colorímetro (Konica Minolta CR-400, Tokio, Japón) con un iluminante D65, en el que se obtuvieron los valores de L, a, b de la escala Hunter Lab⁽⁵⁴⁾. Con base en tres mediciones por fruto en la zona ecuatorial y a 20 frutos por repetición, se calculó el índice de color a través de la fórmula: $ICC = 1000*a/(L*b)$. La firmeza de 20 frutos por repetición se determinó con un analizador de textura (Stable Micro Systems, TA-XT plus, Inglaterra) cuantificándose la deformación del fruto (mm) con un plato de compresión de 75 mm de diámetro a razón de $1,0 \text{ mm s}^{-1}$. La deformación se expresó en milímetros (mm) después de aplicada una fuerza constante de 10 N en la zona ecuatorial de la fruta.

Para la calidad interna de frutos se utilizaron 10 frutos por repetición. Los SST (° brix) se determinaron usando un refractómetro digital (Atago DBX-55, Atago Co. Ltd, Tokio, Japón) y los datos resultantes se corrigieron por temperatura ($[Brix \text{ }^\circ + (T \text{ }^\circ - 20 \text{ }^\circ\text{C}) * 0,05]$). La AT se determinó mediante la titulación directa de una muestra de 10 ml de jugo con NaOH (0,1 N) y fenolftaleína como reactivo indicador del cambio de pH, estableciéndose el gasto a través de la observación del viraje de color a un pH de 8,1. Se determinó la relación entre los SST y la AT. Además, se cuantificó para cada variable la variación (%) entre las mediciones en cosecha y al final del almacenamiento refrigerado.

2.5.5. Análisis estadísticos

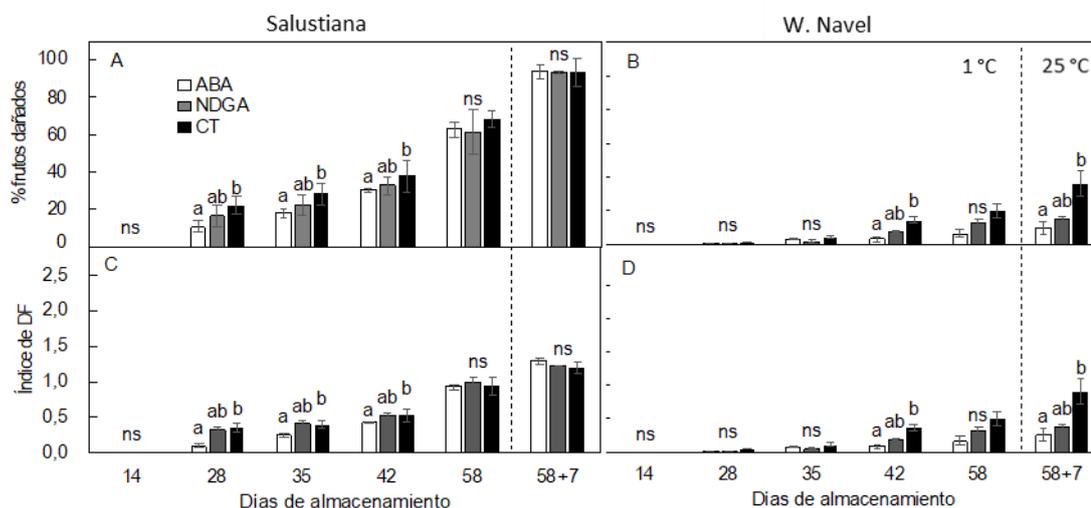
Los análisis estadísticos se realizaron con el software Infostat®, interfaz en R, versión 4.3.0.⁽⁵⁵⁾. Las variables continuas con distribución normal se estudiaron a través de análisis de varianza unifactorial, mediante el modelo lineal general (ANAVA) con el test de Tukey-Kramer como comparación de medias. Las variables con distribución diferente a la normal se analizaron a través del modelo Kruskal-Wallis, mientras que para los análisis de correlaciones se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Todos los análisis se hicieron con un nivel de significancia de $0,05(\alpha)$.

2.6. RESULTADOS

2.6.1. Daño por frío

La incidencia y la severidad del DF aumentaron progresivamente durante el almacenamiento refrigerado en ambas variedades, comenzando a aparecer síntomas visibles a los 28 d de almacenamiento (Fig. 1). El porcentaje de frutos con daño alcanzó valores máximos al final del almacenamiento, cercanos al 95 % en Salustiana, en promedio, para todos los tratamientos, y entre 21 % y 55 % en W. Navel. Respecto a la severidad, Salustiana registró mayores niveles de daño en comparación con W. Navel en todas las fechas de evaluación a partir de los 28 d de almacenamiento (Fig. 1A y 1C). En Salustiana, las aplicaciones de ABA fueron efectivas en disminuir la incidencia en un 51 % a los 28 d de almacenamiento, un 36 % a los 35 d y un 20 % a los 42 d, comparado a los frutos CT (Fig. 1A). Del mismo modo, la severidad en los frutos del tratamiento ABA fue menor a los 28, 35 y 42 d de almacenamiento (70 %, 38 % y 18 %, respectivamente), comparado a los frutos CT (Fig. 1C). En W. Navel, los frutos con aplicaciones de ABA presentaron similares valores de incidencia y severidad que los frutos CT a lo largo de todo el período de almacenamiento, excepto a los 42 d y 58 d más 7 d de vida mostrador, donde presentaron reducciones del orden de entre 76 y 61 % en la incidencia y entre 78 y 71 % en la severidad (Fig. 1B y 1D). Las aplicaciones de NDGA no tuvieron efecto en modificar los niveles de DF en ninguna de las dos variedades en comparación con los frutos CT y los del tratamiento ABA.

Figura 1. Incidencia (A y B) y severidad (C y D) de daño por frío en almacenamiento durante 58 días a $1,0 \pm 0,5$ °C más siete días en vida mostrador, según tratamientos, en las variedades Salustiana y W. Navel.



Los datos corresponden a la media \pm EE. Ns (no significativo), datos no presentan diferencias significativas entre tratamientos y en cada variedad. Comparación de medias realizada mediante el test de Kruskal Wallis ($p \leq 0,05$).

2.6.2. Color externo y firmeza del fruto

Durante el período de crecimiento de frutos se registró un desarrollo progresivo del color, desde fruto con tonalidades verdes (ICC = -13) hasta frutos anaranjados con ICC en el rango de siete y nueve. A pesar de estos cambios, no se registraron diferencias en el color en ambas variedades (Tabla 1). Los frutos con aplicaciones de ABA y NDGA presentaron similar color externo en cosecha, registrando valores de ICC promedio de ocho en Salustiana e ICC promedio de siete en W. Navel (Tabla 2). De modo similar, tampoco se registraron diferencias en la coloración luego de 58 d de almacenamiento refrigerado en ninguna de las dos variedades (Tabla 2).

La firmeza, evaluada como la resistencia a la deformación, presentó similares valores entre los frutos de cada variedad en los diferentes tratamientos al momento de cosecha. En términos generales, al final del almacenamiento en frío la deformación aumentó en el rango del 40 % para Salustiana y del 60 % en W. Navel respecto a los valores obtenidos en cosecha. A pesar de esto, no se verificaron efectos de las aplicaciones de ABA y NDGA en cada variedad en la firmeza de ambas variedades (Tabla 2).

Tabla 1. Evolución del color externo del fruto (ICC) de las variedades Salustiana y W. Navel, en los momentos: verde madura (VM), cambio de color (CC) y totalmente coloreado (TC), según tratamientos.

Fecha	Tratamiento	Salustiana	W. Navel
VM	CT	-13,1 ± 0,7 ns	-13,4 ± 1,0 ns
	NGDA	-12,8 ± 0,6	-13,8 ± 0,2
	ABA	-13,1 ± 0,3	-14,7 ± 0,4
CC	CT	0,2 ± 0,2 ns	0,6 ± 0,9 ns
	NGDA	0,4 ± 0,2	-0,2 ± 0,5
	ABA	0,1 ± 0,2	-0,6 ± 0,7
TC	CT	7,4 ± 0,1 ns	4,9 ± 0,7 ns
	NDGA	7,4 ± 0,2	4,7 ± 0,4
	ABA	7,6 ± 0,2	4,5 ± 0,3

Los datos corresponden a la media ± EE. Ns (no significativo); los datos no presentan diferencias significativas entre tratamientos según momento de evaluación. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$).

Tabla 2. Color externo del fruto (ICC) y firmeza (mm) de las variedades Salustiana y W. Navel en el momento de la cosecha y a los 58 días de almacenamiento a $1,0 \pm 0,5$ °C de almacenamiento refrigerado, según tratamientos.

Momento	Tratamientos	Salustiana		W. Navel	
		ICC	Firmeza (mm)	ICC	Firmeza (mm)
Cosecha	CT	8,3 ± 0,1 ns	1,36 ± 0,05 ns	6,9 ± 0,2 ns	1,52 ± 0,08 ns
	NDGA	8,2 ± 0,2	1,42 ± 0,04	6,8 ± 0,1	1,37 ± 0,12
	ABA	8,4 ± 0,2	1,38 ± 0,05	7,2 ± 0,3	1,46 ± 0,05
58 días	CT	9,8 ± 0,2 ns	2,37 ± 0,10 ns	7,5 ± 0,5 ns	3,38 ± 0,37 ns
	NDGA	9,7 ± 0,3	2,47 ± 0,05	7,3 ± 0,0	2,82 ± 0,16
	ABA	9,8 ± 0,1	2,42 ± 0,06	7,4 ± 0,8	3,13 ± 0,20

Los datos corresponden a la media ± EE. Ns (no significativo), datos no presentan diferencias significativas entre tratamientos según momento de evaluación. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$).

2.6.3. Calidad interna del fruto

En cosecha se analizaron las variables que definen la calidad interna: SST, acidez y SST/AT (Tabla 3). Las aplicaciones de ABA y del inhibidor NDGA realizados en precosecha no modificaron la calidad interna de los frutos ni en la variedad Salustiana ni en W. Navel.

Tabla 3. Sólidos solubles totales (° brix), acidez (%), SST/AT en el momento de la cosecha, en las naranjas Salustiana y W. Navel, según tratamientos.

Variedad	Tratamientos	SST	Acidez	SST/AT
Salustiana	CT	10,65 ± 0,50 ns	0,74 ± 0,02 ns	14,35 ± 0,52 ns
	NDGA	9,93 ± 0,27	0,70 ± 0,02	14,12 ± 0,10
	ABA	10,47 ± 0,31	0,75 ± 0,03	13,97 ± 0,39
W. Navel	CT	9,73 ± 0,35 ns	0,62 ± 0,03 ns	15,70 ± 0,65 ns
	NDGA	10,47 ± 0,12	0,61 ± 0,03	17,33 ± 0,72
	ABA	10,30 ± 0,40	0,64 ± 0,03	16,03 ± 0,58

Los datos corresponden a la media ± EE. Ns (no significativo), datos no presentan diferencias significativas entre tratamientos. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$).

2.7. DISCUSIÓN

Bajo las condiciones ensayadas, las aplicaciones precosecha de ABA en frutos de naranja redujeron la incidencia y severidad del DF en poscosecha, efecto que se visualizó como dependiente del tiempo de almacenamiento y de la variedad. Así, la reducción del DF por efecto del ABA parece ser relevante cuando los niveles de DF son bajos, como en las primeras semanas de conservación en Salustiana o al final del almacenamiento en W. Navel. Sin embargo, a mayor tiempo de exposición a bajas temperaturas, el efecto positivo del ABA se pierde, como ocurre en Salustiana luego de 42 d de almacenamiento. Por lo tanto, estos resultados sugieren que el ABA es capaz de retrasar la aparición del DF, pero no de reducirlo por completo, ya que finalmente se termina manifestando. Los presentes datos están en concordancia con otras especies como trigo⁽²³⁾, algodón⁽²⁹⁾, albahaca⁽²⁷⁾, zuchini⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾, pepino⁽²⁶⁾ y vid⁽²⁷⁾⁽⁴¹⁾, en los que se demuestra que el ABA está vinculado al desarrollo del DF y es capaz de inducir, al menos en parte, una tolerancia a las bajas temperaturas.

Este ensayo fue desarrollado en condiciones productivas comerciales con una marcada influencia de factores ambientales, por lo que el efecto de la aplicación de ABA se sugiere como transitorio⁽²¹⁾. Las aplicaciones de ABA realizadas en tres momentos de crecimiento del fruto demuestran que es posible modificar la tolerancia de este a futuros eventos de estrés por baja temperatura. Aún resta establecer el momento de aplicación en el cual se lograría el mayor efecto.

Este es el primer reporte del efecto positivo de las aplicaciones de ABA en precosecha en frutos cítricos con objetivo de reducir el DF poscosecha. Los reportes de falta de efecto o aumento de DF por aplicaciones de ABA durante la poscosecha en las mandarinas Fortune y Hernandina⁽⁵⁶⁾, así como la limitada asociación entre el ABA endógeno en cosecha y el DF⁽³⁴⁾, probablemente hayan reducido el interés en el estudio de este tema. En ese sentido, el efecto del ABA puede estar relacionado con una inducción del sistema antioxidante, el cual podría presentar componentes con mayor funcionalidad en los frutos en etapas inmaduras⁽¹²⁾ y en aquellos tejidos más jóvenes⁽⁵⁷⁾. La tolerancia a condiciones de bajas temperaturas en poscosecha se ha asociado a una mayor funcionalidad y activación de enzimas antioxidantes. Esto redundaría en la reducción del daño oxidativo, evidenciado por un descenso en las ERO,

malondialdehído (MDA) y en la fuga de electrolitos⁽¹²⁾⁽³⁴⁾. Además, se ha reportado que otras condiciones como la nutrición mineral⁽⁵⁸⁾⁽⁵⁹⁾, el metabolismo de carbohidratos⁽²⁸⁾ y de lípidos⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾ y la presencia de compuestos antioxidantes⁽¹⁶⁾⁽⁵⁶⁾⁽⁶²⁾, así como también el efecto que ejercen otras hormonas⁽³³⁾⁽⁶³⁾, afectan el desarrollo del DF. Globalmente se sugiere que la etapa de maduración de la fruta cítrica en el árbol es determinante si se pretende intervenir de forma oportuna para reducir el DF.

La aplicación de ABA en el desarrollo del fruto no afectó el desarrollo del color en variedades de naranja Salustiana y W. Navel. La biosíntesis de carotenoides en plantas está conectada con la del ABA⁽⁴⁸⁾ y se trata de compuestos que presentan una alta capacidad antioxidante que ejercen protección sobre el potencial daño de algunas ERO y eso redundaría en un menor daño en las membranas⁽⁵⁰⁾. En cítricos existen reportes de mejoras en el color ante aplicaciones de ABA en precosecha en genotipos de maduración temprana⁽²⁰⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁴⁷⁾. Sin embargo, los resultados de este trabajo sugieren que el efecto de la hormona sobre el desarrollo del color parece ser dependiente del genotipo y del período de madurez de la fruta. Las variedades de media estación presentan mayor concentración de ABA en el flavedo en comparación con las de cosecha temprana, siendo este uno de los factores que parece repercutir en la toma de coloración de la cáscara del fruto⁽⁴⁵⁾. Los datos obtenidos sugieren que el ABA exógeno no mejora sustancialmente la coloración en este tipo de variedades; sin embargo, sí lo hace en aquellas de cosecha temprana⁽²⁰⁾⁽⁴⁶⁾⁽⁴⁷⁾.

En el presente trabajo se observó que la aplicación de ABA no modificó la calidad interna de la fruta. Los azúcares, ácidos y SST/AT del fruto permanecieron invariables al momento de cosecha ante la adición de la hormona en precosecha (Tabla 3). Los reportes previos no son concluyentes en establecer el efecto de este tipo de aplicaciones en cítricos: la acidez se mantuvo estable en la naranja Navel M7⁽⁴⁷⁾ y el tangor Miyauchi Iyokan⁽⁶⁴⁾ luego de aplicaciones precosecha de ABA, aunque disminuyó en la mandarina Jinshuigan con un consecuente incremento en la relación SST/AT debido a la degradación de los ácidos orgánicos⁽²⁰⁾. El ABA también aumenta la concentración de sacarosa, glucosa, fructuosa y rafinosa del fruto⁽²⁸⁾⁽⁴⁷⁾⁽⁵¹⁾. La aplicación de ABA en Salustiana y W. Navel tampoco afectó la firmeza de la fruta, de forma similar a lo descrito en vid⁽⁴²⁾. Sin embargo, en frutos como mango, banana⁽⁵²⁾ y frutilla⁽⁴⁰⁾, el ABA aumentó la actividad de enzimas pectinasa, celulasa y poligalacturonasa, lo que lleva a la desintegración de las estructuras de la pared celular y la consiguiente disminución de la firmeza

de los tejidos⁽⁶⁵⁾⁽⁶⁶⁾. Por lo tanto, en algunas especies el ABA favorece los cambios asociados con la maduración. En el caso del zuchini y el arándano, el ABA exógeno se vincula con mayor firmeza, efecto mediado por la síntesis de moléculas osmoprotectoras, tales como azúcares y prolina⁽²⁴⁾⁽⁶⁷⁾; por lo tanto, el efecto de las aplicaciones de ABA en la firmeza del fruto es dependiente de la especie, incluso de la variedad en estudio.

El efecto de las aplicaciones con el inhibidor de la síntesis de ABA (NDGA) no generaron resultados opuestos a los de ABA, como ha sido reportado en relación al color de frutos⁽²⁰⁾⁽⁴⁷⁾⁽⁶⁹⁾. Esta discrepancia podría estar relacionada con el efecto temporal del producto y el cese de su eficacia⁽²¹⁾. Por otro lado, en condiciones de inhibición de la vía de síntesis de ABA por inhibición de la enzima NCED se podrían aportar cantidades significativas de ABA libre desde sus formas conjugadas como el ABA-glucosyl ester⁽⁷⁰⁾. Si bien se espera un descenso en los niveles de ABA por efecto del NDGA, dichos procesos podrían estar enmascarados por la activación de dichas vías alternativas.

2.8. CONCLUSIONES

En las condiciones de este trabajo, el ABA aplicado a los frutos en desarrollo retrasó la aparición y redujo la incidencia y severidad del DF en poscosecha de variedades de naranja de media estación como Salustiana o W. Navel. Se destacó la relevancia durante los primeros 30 días de almacenamiento refrigerado. Además, las aplicaciones precosecha de ABA no afectaron la calidad interna (SST, AT y SST/AT) ni la firmeza o el color externo del fruto. Por lo tanto, el efecto del ABA podría integrarse dentro de un paquete de manejo comercial que, junto a otras medidas, mejoren el comportamiento de la fruta en poscosecha y en condición de estrés por frío. El abordaje de un desorden fisiológico que se manifiesta durante la poscosecha desde el manejo del fruto en el campo resultaría una alternativa muy promisorio para contribuir a reducir el DF en los cítricos.

2.9. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la ANII por la financiación de la beca de posgrado (código POS_FMV_2018_1_1007816) y del proyecto FMV (código _1_2017_1_135612), así como a la CSIC-Udelar por la beca de finalización (código BFPM_2021_1#47322861) y el proyecto ID65, que permitieron la realización del trabajo. También agradecemos la colaboración de equipo de poscosecha de frutas de INIA SG, quienes participaron de los trabajos de campo y evaluaciones en laboratorio.

2.10. CONTRIBUCIÓN DE AUTORES/AS

Matías Manzi y Joanna Lado concibieron y diseñaron el experimento. Todos/as los/las autores/as recopilaron los datos. Fabiana Hernández-Mazzini realizó el análisis de los datos y escribió el manuscrito. Matías Manzi y Joanna Lado revisaron y corrigieron el manuscrito.

2.11. REFERENCIAS

1. Almela V, Agustí M, Pons J. Rind spots in Fortune mandarin. Origin and control. *Journal of Plant Physiology*. 1992;85:60–3.
2. Lado J, Alós E, Manzi M, Cronje PJR, Gómez-Cadenas A, Rodrigo MJ, Zacarías, L. Light regulation of carotenoid biosynthesis in the peel of mandarin and sweet orange fruits. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:1–16.
3. Zacarías L, Cronje P, Palou L. Postharvest technology of citrus fruits [Internet]. *The Genus Citrus*. Elsevier Inc. 2020. 421–46. Consultado 3 abril 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812163-4.00021-8>.
4. Agustí M, Martínez-Fuentes A, Mesejo C. Citrus fruit quality, physiological basis and techniques of improvement. *Agrociencia*. 2002;VI(2):1–16.
5. Ashebre KM. Pre-harvest and post-harvest factors affecting citrus fruit and post-harvest treatments. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 2015;5(23):19–29.

6. Martínez Jávega MJ. Estado actual de las aplicaciones de frío en la poscosecha de cítricos. Eds. López A, Esnoz A, Artés. Actas del I Congreso Español de Ciencias y Técnicas del Frío; 2002: Avances en Ciencias y Técnicas del Frío-I. 433-442.
7. Lafuente MT, Zacarías L. Postharvest physiological disorders in citrus fruit. Stewart Postharvest Solutions Limited. 2006;1(2):1-9.
8. Rey F, Zacarías L, Rodrigo MJ. Carotenoids, vitamin C, and antioxidant capacity in the peel of mandarin fruit in relation to the susceptibility to chilling injury during postharvest cold storage. *Antioxidants*. 2020;9(12):1-21.
9. Lado J, Cronje P, Rodrigo MJ, Zacarías L. Resistance to chilling injury in red, lycopene-accumulating tissue of cold-stored grapefruits. *Acta Horticulturae*. 2015;1079:249-55.
10. Lado J, Cronje P, Alquézar B, Page A, Manzi M, Gómez-Cadenas A, Anthony D, Zacarías L, Rodrigo MJ. Fruit shading enhances peel color, carotenes accumulation and chromoplast differentiation in red grapefruit. *Physiologia Plantarum*. 2015;154(4):469-84.
11. Pantastico EB, Soule J, Grierson W. Chilling injury in tropical and subtropical fruits: II. Limes and grapefruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1968;12:171-83.
12. Loay AA, Dawood HD. Chilling injury, fruit color maturity stages, and antioxidant enzyme activities of lemon Baladi CV fruits under cold storage stress. *Scientia Horticulturae*. 2019;257:1-7.
13. Kellerman M, Erasmus A, Cronje PJR, Fourie PH. Thiabendazole residue loading in dip, drench and wax coating applications to control green mould and chilling injury on citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2014;96:78-87.
14. Lado J, Gurree A, Zacarías L, Rodrigo MJ. Influence of the storage temperature on volatile emission, carotenoid content and chilling injury development in Star Ruby red grapefruit. *Food Chemistry*. 2019;295:72-81.
15. Sevillano L, Sanchez-Ballest MT, Romojaro F, Flores FB. Physiological, hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. *Postharvest*

technologies applied to reduce its impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2009;89(4):555–73.

16. Gómez-Cadenas A, Vives V, Zandalinas SI, Manzi M, Sánchez-Pérez AM, Pérez-Clemente RM, Arbona, V. Abscisic acid: A versatile phytohormone in plant signaling and beyond. *Current Protein & Peptide Science*. 2015;16:413–34.

17. Finkelstein R. Abscisic acid synthesis and response. *American Society of Plant Biologists*. 2013;11:1–36.

18. Manzi M, Lado J, Rodrigo MJ, Zacarías L, Arbona V, Gómez-Cadenas A. Root ABA accumulation in long-term water-stressed plants is sustained by hormone transport from aerial organs. *Plant Cell Physiology*. 2015;56(12):2457-246.

19. Romero P, Rodrigo MJ, Alférez F, Ballester AR, González-Candelas L, Zacarías L, Lafuente MT. Unraveling molecular responses to moderate dehydration in harvested fruit of sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) using a fruit-specific ABA-deficient mutant. *Journal of Experimental Botany*. 2012;63(7):2753–67.

20. Wang X, Yin W, Wu J, Chai L, Yi H. Effects of exogenous abscisic acid on the expression of citrus fruit ripening-related genes and fruit ripening. *Scientia Horticulturae*. 2016;201:175–83.

21. Zhang M, Yuan B, Leng P. The role of ABA in triggering ethylene biosynthesis and ripening of tomato fruit. *Journal of Experimental Botany*. 2009;60(6):1579–88.

22. Karimi R, Ershadi A, Nejad AR, Khanizadeh S. Abscisic acid alleviates the deleterious effects of cold stress on Sultana grapevine (*Vitis vinifera* L.) plants by improving the anti-oxidant activity and photosynthetic capacity of leaves. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2016;91(4):386–95.

23. Li X, Cai J, Liu F, Dai T, Cao. W, Jiang D. Exogenous abscisic acid application during grain filling in winter wheat improves cold tolerance of offsprings seedlings. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2014;200:467–78.

24. Carvajal F, Palma F, Jiménez-Muñoz R, Jamilena M, Pulido A, Garrido D. Unraveling the role of abscisic acid in chilling tolerance of zucchini during postharvest cold storage. *Postharvest Biology and Technology*. 2017;133:26–35.
25. Wang CY. Effect of abscisic acid on chilling injury of zucchini squash. *Journal of Plant Growth Regulation*. 1991;10(1):101–5.
26. Rikin A, Blumenfeld A, Richmond E. Chilling resistance as affected by stressing environments and abscisic acid. *Botanical Gazette*. 1976;137(4):307–12.
27. Satpute A, Meyering B, Albrecht U. Preharvest abscisic acid application to alleviate chilling injury of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) during cold storage. *Horticultural Science*. 2019;54(1):155–61.
28. Wang H, Blakeslee JJ, Jones MLML, Chapin LJLJ, Dami IEIE. Exogenous abscisic acid enhances physiological, metabolic, and transcriptional cold acclimation responses in greenhouse-grown grapevines. *Plant Science*. 2020;293:1–13.
29. Rikin A, Atsmon D, Gitler C. Chilling injury in cotton (*Gossypium hirsutum*): Effects of antimicrotubular drugs. *Plant Cell Physiology*. 1980;21(5):829–37.
30. Bornman CH, Jansson E. *Nicotiana tabacum* callus studies. X. ABA increases resistance to cold damage. *Physiologia Plantarum*. 1980;48(4):491–3.
31. Wang GJ, Miao W, Wang JY, Ma DR, Li JQ, Chen WF. Effects of exogenous abscisic acid on antioxidant system in weedy and cultivated rice with different chilling sensitivity under chilling stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 2013;199(3):200–8.
32. Xue-Xuan X, Hong-Bo S, Yuan-Yuan M, Gang X, Jun-Na S, Dong-Gang G, Cheng-Jiang R. Biotechnological implications from abscisic acid (ABA) roles in cold stress and leaf senescence as an important signal for improving plant sustainable survival under abiotic-stressed conditions. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2010;30(3):222–30.

33. Chaiprasart P, Gemma H, Iwahori S. Reduction of chilling injury in stored banana fruits by jasmonic acid derivative and abscisic acid treatment. *International Society for Horticultural Science*. 2002;575:689–96.
34. Kawada K. Some physiological and biochemical aspects of chilling injury of Grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) with emphasis on growth regulators. University of Florida. 1980. 125 p.
35. Melgoza FJ, Kusakabe A, Nelson SD, Melgar JC. Exogenous applications of abscisic acid increase freeze tolerance in citrus trees. *International Journal of Fruit Science*. 2014;14(4):376–87.
36. Lafuente MT, Martínez-Téllez A, Zacarías L. 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*. 1997;73:494–502.
37. Lafuente MT, Sala JM. Abscisic acid levels and the influence of ethylene, humidity and storage temperature on the incidence of postharvest rind staining of Navelina orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2002;25(1):49–57.
38. Buer VJ, Prescher A, Baier M. Cold-priming of chloroplast ROS signaling is developmentally regulated and is locally controlled at the thylakoid membrane. *Scientific Reports*. 2019;9(1):1–14.
39. Sato H, Otagaki S, Ono Y, Shiratake K, Matsumoto S. Upregulation of MdMYB110a is responsible for ABA-mediated coloration of type 2 red-fleshed apples. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2018;94(1):33–40.
40. Jiang Y, Joyce DC. ABA effects on ethylene production, PAL activity, anthocyanin and phenolic contents of strawberry fruit. *Plant Growth Regulation*. 2003;39(2):171–4.
41. Tijero V, Teribia N, Muñoz P, Munné-Bosch S. Implication of abscisic acid on ripening and quality in sweet cherries: Differential effects during pre- and post-harvest. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7:1–15.

42. Peppi MC, Fidelibus MW, Dokoozian N. Abscisic acid application timing and concentration affect firmness, pigmentation, and color of Flame seedless grapes. *HortScience*. 2006;41(6):1440–5.
43. Gambetta G, Martínez-Fuentes A, Bentancur O, Mesejo C, Reig C, Gravina A, Agustí M. Hormonal and nutritional changes in the flavedo regulating rind color development in sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osb.]. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2012;31(3):273–82.
44. Romero P, Lafuente MT, Rodrigo MJ. A sweet orange mutant impaired in carotenoid biosynthesis and reduced ABA levels results in altered molecular responses along peel ripening. *Scientific Reports*. 2019;9(1):1–16.
45. Richardson RG, Cowan AK. Abscisic acid content of Citrus flavedo in relation to colour development. *Journal of Horticultural Sciences*. 1995;70(5):769–73.
46. Ma G, Zhang L, Kudaka R, Inaba H, Furuya T, Kitamura M, Kitaya Y, Yamamoto R, Yahata M, Matsumoto H, Kato M. Exogenous application of ABA and NAA alleviates the delayed coloring caused by puffing inhibitor in citrus fruit. *Cells*. 2021;10(2):1–13.
47. Rehman M, Singh Z, Khurshid T. Pre-harvest spray application of abscisic acid (S-ABA) regulates fruit colour development and quality in early maturing M7 Navel orange. *Scientia Horticulturae*. 2018;229:1–9.
48. Milborrow B V. The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: A review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. *Journal of Experimental Botany*. 2001;52(359):1145–64.
49. Simpson K, Fuentes P, Quiroz-Iturra L, Flores-Ortiz C, Contreras R, Handford M, Stange C. Unraveling the induction of phytoene synthase 2 (DcPSY2) expression by salt stress and abscisic acid in *Daucus carota*. *Simpson. Journal of Experimental Botany*. 2018;69(16):4113–26.
50. Di Mascio P, Kaiser S, Sies H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1989;274(2):532–8.

51. Kojima K, Yamada Y, Yamamoto M. Effect of abscisic acid injection on sugar and organic acid contents of citrus fruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 1995;64(1):17–21.
52. Setha S. Roles of abscisic acid in fruit ripening. *Walailak Journal of Science and Technology*. 2012;9(4):297–308.
53. Salvo M, Rey F, Arruabarrena A, Gambetta G, Rodrigo MJ, Zacarías L, Lado J. Transcriptional analysis of C-repeat binding factors in fruit of citrus species with differential sensitivity to chilling injury during postharvest storage. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(2):1–20.
54. Jiménez Cuesta M, Cuquerella J, Martínez-Javega JM. Determination of a color index for citrus fruit degreening. En: K. Matsumoto (editor). *Proceedings of the International Society of Citriculture*. 1981 Nov 9-12; Tokyo, Japón. 1982. p. 750-753.
55. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. *Infostat Software estadístico [Internet]*. Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba FCA. 2015 s.p. Consultado 12 de julio 2020. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>.
56. Gosalbes MJ, Zacarías L, Lafuente MT, Gosalbes JM, Zacarías L, Lafuente TM. Characterization of the expression of an oxygenase involved in chilling-induced damage in citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 2004;33(3):219–28.
57. Chen L, Dodd IC, Davies WJ, Wilkinson S. Ethylene limits abscisic acid- or soil drying-induced stomatal closure in aged wheat leaves. *Plant, Cell & Environment*. 2013;36(10):1850–9.
58. Ezz TM, Awad RM. Relationship between mineral composition of the flavedo tissue of Marsh grapefruit and chilling injury during low temperature storage. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 2009;5(6):892–8.
59. Slutzky B, González-Abreu A, Berdam I. Chilling injury related to mineral composition of grapefruit and limes during cold storage. En: K. Matsumoto (editor). *Proceedings of the International Society of Citriculture*. 1981 Nov 9-12; Tokyo, Japón. 1981. p. 779–82.

60. Wolfe J. Chilling injury in plants - the role of membrane lipid fluidity. *Plant, Cell & Environment* 1978;1(4):241–7.
61. Wismer WV. Sugar accumulation and membrane related changes in two cultivars of potato tubers stored at low temperature. 1995. 148 p.
62. Martínez-Téllez MA, Lafuente MT. Chilling-induced changes in phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities in citrus flavedo tissue. *Acta Horticulturae*. 1993;92(343):257–63.
63. Eremina M, Rozhon W, Poppenberger B. Hormonal control of cold stress responses in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2016;73(4):797–810.
64. Kojima K, Yamada Y, Yamamoto M. Distribution of ABA and IAA within a developing Valencia orange fruit and its parts. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 1994;63(2):335–9.
65. Kou X, Yang S, Chai L, Wu C, Zhou J, Liu Y, Xue Z. Abscisic acid and fruit ripening: Multifaceted analysis of the effect of abscisic acid on fleshy fruit ripening. *Scientia Horticulturae*. 2021;281:1–11.
66. Gan Z, Shan N, Fei L, Wan C, Chen J. Isolation of the 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase (NCED) gene from kiwifruit and its effects on postharvest softening and ripening. *Scientia Horticulturae*. 2020;261:1–9.
67. Buran TJ, Sandhu AK, Azeredo AM, Bent AH, Williamson JG, Gu L. Effects of exogenous abscisic acid on fruit quality, antioxidant capacities, and phytochemical contents of southern high bush blueberries. *Food Chemistry*. 2012;132(3):1375–81.
68. Priest DM, Ambrose SJ, Vaistij FE, Elias L, Higgins GS, Ross ARS, Abrams SR, Bowles DJ. Use of the glucosyltransferase UGT71B6 to disturb abscisic acid homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Journal*. 2006;46(3):492–502.
69. Creelman RA, Bell E, Mullet JE. Involvement of a lipoxygenase-like enzyme in abscisic acid biosynthesis. *Journal of Plant Physiology*. 1992;99(3):1258–60.

70. Jiang F, Hartung W. Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): The factors regulating the intensity of the ABA signal. *Journal of Experimental Botany*. 2008;59(1):37–43.

3. CAPÍTULO 2: ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LOS CATIONES K, MG Y
CA Y EL DAÑO POR FRÍO EN POSCOSECHA DE NARANJA SALUSTIANA

Estudio de la relación entre los cationes K, Mg y Ca y el daño por frío en poscosecha de naranja Salustiana

Study of the relationship between cations K, Mg and Ca and cold damage in postharvest Salustiana orange

Correspondencia

Fabiana Hernández
Mazzini

fabianahernandezmazzini@gmail.com

Recibida 15 noviembre
2021

Aceptada 17 diciembre
2021

Publicada dd month yyyy

Citación

HernándezMazzini, F.; Lado, J.; Pintos, P.; Manzi, M. Estudio de la relación entre los cationes K, Mg y Ca y el daño por frío en poscosecha de naranja Salustiana Agrociencia Uruguay.

Estudo da relação entre os cátions K, Mg e Ca e a injúria pelo frio em pós-colheita de laranja Salustiana

Hernández-Mazzini, F.¹; Lado, J.¹; Pintos, P.²; Manzi, M.¹

¹ Universidad de la Republica, Facultad de Agronomía, Departamento e Suelos y Aguas, Fertilidad de Suelos, EEFAS, Salto, Uruguay.

² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Programa de Investigación en Citricultura, Salto, Uruguay

3.1. RESUMEN

En las frutas cítricas el uso de bajas temperaturas puede generar un desorden fisiológico denominado daño por frío (DF). Durante el transporte marítimo, en el que las frutas cítricas se exponen a temperaturas menores a las óptimas, particularmente por la necesidad de realizar tratamientos cuarentenarios, se pueden generar manchas en el flavedo que provocan la pérdida de calidad comercial. Diversos factores pueden influir en la aparición del DF, desde la genética hasta las condiciones pre y poscosecha. Entre ellos, la nutrición mineral, especialmente los cationes potasio (K), magnesio (Mg) y calcio (Ca) podrían influir en la calidad de la cáscara de la fruta y la aparición de diversos desórdenes fisiológicos en frutos cítricos. El presente trabajo evaluó la relación entre la concentración ([]) de K, [Mg] y [Ca] en el flavedo de la naranja Salustiana (*Citrus sinensis*) en el momento de la cosecha y el DF observado durante el almacenamiento a $1,0 \pm 0,5$ °C. Se aplicaron diferentes dosis de K y Mg en campo y se determinó su concentración en hoja en otoño y en flavedo en cosecha. Durante el almacenamiento se determinó la incidencia y la severidad de DF hasta los 58 días más 7 días a temperatura ambiente. El DF aumentó en la medida en que se incrementó el tiempo en almacenamiento. Los distintos tratamientos de fertilización disminuyeron el DF poscosecha en la naranja Salustiana, logrando descensos de entre 20 y 30 % en la incidencia y de entre 40 y 35 % en la severidad. Sin embargo, no se verificaron correlaciones entre la [K], [Mg] y [Ca] en el flavedo en cosecha y el desarrollo de DF poscosecha. La [K] foliar se relacionó inversamente con el DF registrado. Los resultados sugieren que la tolerancia al DF poscosecha es afectado por la disponibilidad de estos cationes, siendo el K el principal. No obstante, la concentración de estos en el flavedo en cosecha no constituye un indicador relacionado al DF para las condiciones de este estudio.

Palabras clave: almacenamiento refrigerado, citrus, nutrición mineral

3.2. ABSTRACT

In citrus fruit, the application of low temperatures during transport and storage might induce a physiological disorder known as chilling injury (CI). CI is characterized by black and brown depressed spots on the flavedo that cause a loss of commercial quality. The development of CI depends on several factors including genotype as well as pre and postharvest conditions. In this regard, mineral nutrients such as potassium (K), magnesium (Mg) and calcium (Ca) are involved in the appearance of many physiological disorders in the peel of oranges. The present work evaluates the relationship between concentration ([]) of K, [Mg] and [Ca] at harvest in the flavedo of Salustiana orange (*Citrus sinensis*) with the CI during cold storage at 1.0 ± 0.5 °C. Different doses of K and Mg were applied to the soil during a single season. The [K] and [Mg] in the leaf in autumn and in flavedo at harvest were determined. During cold storage, the severity and incidence of CI were determined after 58 days plus 7 days at room temperature. CI increased as the storage time increased. The different fertilization treatments decreased post-harvest CI in Salustiana orange, achieving decreases in between 20 and 30 % in incidence and in between 40 and 35 % in severity. However, there was not correlation between the [K], [Mg] and [Ca] in the flavedo at harvest time and the development of post-harvest CI. However, the foliar [K] was inversely related to post harvest CI incidence. The results suggest that the tolerance to post harvest CI varies in response to the availability of these cations, being K the main contributing factor. However, under these conditions, their concentration in the flavedo at harvest appears not to be an indicator of CI sensitivity.

Keywords: citrus, cold storage, mineral nutrition

3.3. RESUMO

Em frutas cítricas o emprego de baixas temperaturas pode gerar um distúrbio fisiológico denominado injúria pelo frio (IF). Durante o transporte marítimo a fruta fica exposta ao frio, gerando manchas no sabor e causando a perda da qualidade comercial do produto. Vários fatores podem influenciar o aparecimento da IF, desde a genética até as condições pré e pós-colheita. Dentre eles, a nutrição mineral, principalmente os cátions potássio (K), magnésio (Mg) e cálcio (Ca), têm um papel fundamental na qualidade da casca da fruta e no aparecimento de diversos distúrbios fisiológicos. O presente trabalho avaliou a relação entre a concentração ([]) de K, [Mg] e [Ca] no flavedo da laranja Salustiana (*Citrus sinensis*) com o IF observado durante o armazenamento a $1,0 \pm 0,5$ °C. Diferentes doses desses nutrientes foram aplicadas no campo, sendo determinada sua concentração na folha no outono e no flavedo na colheita. Durante o armazenamento, a severidade e a incidência de IF foram determinadas até 58 dias mais sete dias em temperatura ambiente. O IF aumentou conforme o tempo de armazenamento aumentou. O IF aumentou à medida que o tempo de armazenamento aumentou. Os diferentes tratamentos de adubação diminuíram a IF pós-colheita na laranja Salustiana, alcançando decréscimos entre 20 e 30 % na incidência e entre 40 e 35 % na severidade. Mais não foram verificadas correlações entre [K], [Mg] e [Ca] no flavedo na colheita com o desenvolvimento de IF. Por outro lado, a [K] foliar foi inversamente relacionada à IF registrada na pós-colheita. Os resultados sugerem que a tolerância ao IF pós-colheita é afetada pela disponibilidade desses cátions, sendo o K o principal fator que afeta o desenvolvimento do IF. Embora sua concentração em flavedo na colheita não constitua um indicador relacionado ao IF para as condições deste estudo.

Palavras chave: armazenamento refrigerado, citros, nutrição mineral

3.4 INTRODUCCIÓN

La aplicación de bajas temperaturas en poscosecha es una herramienta fundamental para mantener y extender la calidad de los vegetales. A pesar de esto, pueden provocar un desorden fisiológico que perjudica la calidad comercial. Las frutas cítricas son sensibles a las bajas temperaturas, lo que promueve la aparición de síntomas conocidos como daño por frío (DF). El DF en frutos cítricos habitualmente se expresa a nivel del flavedo como pequeñas manchas hundidas de color marrón rojizo a negro⁽¹⁾⁽²⁾. Diversos factores han sido relacionados con la susceptibilidad o tolerancia del fruto a desarrollar DF. Se ha sugerido que factores internos de la planta están relacionados con la aparición de DF durante la poscosecha, desde las características que imprimen la especie y variedad⁽³⁾, así como también mecanismos que operan durante los cambios fisiológicos que atraviesa el fruto en sus diferentes etapas⁽⁴⁾⁽⁵⁾. No obstante, el DF también ha sido relacionado con factores ambientales y de manejo como la radiación incidente⁽⁶⁾, la temperatura⁽¹⁾, la posición del fruto en la copa⁽⁷⁾, la humedad relativa⁽⁸⁾, el momento de cosecha⁽⁹⁾ y las condiciones y/o manejos durante el almacenamiento⁽⁴⁾⁽¹⁰⁾, entre otros. Identificar estos factores durante la precosecha permite intervenir oportunamente para producir frutos con menor predisposición a los desórdenes en la poscosecha⁽¹¹⁾⁽¹²⁾.

Los minerales influyen en la respuesta que tienen los tejidos ante condiciones adversas como las bajas temperaturas⁽¹³⁾. En el caso de los frutos cítricos, la disponibilidad de cationes en el flavedo parece estar involucrada con el desarrollo de DF⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾. En ese sentido, la composición de los tejidos que conforman la cáscara del fruto puede minimizar el daño oxidativo provocado por las especies reactivas al oxígeno (ERO) y reducir la incidencia del DF una vez que los frutos son expuestos a bajas temperaturas⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾. Las concentraciones de K, Mg y Ca, han sido ampliamente estudiadas en relación a la productividad y a la calidad externa e interna de los frutos, como también por su relación con la ocurrencia de diferentes desórdenes fisiológicos⁽⁷⁾⁽¹⁸⁾. Los cationes se han asociado con diferentes desórdenes fisiológicos en frutos, entre ellos, el rajado (*splitting*) en naranjas y mandarinas⁽¹⁹⁾, el colapso del albedo (*creasing*) en naranja Valencia, el picado (*pitting*) en naranja Shamouti⁽²⁰⁾ o con la peteca en limón⁽²¹⁾. A su vez, la mayor presencia de Ca en el albedo y flavedo de naranja favorecen una menor incidencia de *creasing*⁽²²⁾.

Los diferentes niveles de K, Mg y Ca son clave para ejercer protección en las membranas celulares, las primeras estructuras afectadas por las bajas temperaturas⁽²³⁾. La disponibilidad de los cationes en los tejidos está determinada, entre otras cosas, por la dinámica de absorción que presenta cada uno, así como también por las relaciones de competencia que mantienen entre ellos⁽²⁴⁾. Existen relaciones antagónicas entre el K con el Ca y el Mg, en las que una concentración excesiva de un catión puede reducir la absorción del otro⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾; antagonismo que también se ha descrito en los cítricos⁽²⁷⁾.

El K actúa en numerosas funciones esenciales del ciclo de vida vegetal, desempeñando un papel relevante en la protección de las membranas celulares⁽²⁸⁾. Su rol se asocia a la modulación de numerosos procesos celulares, tales como la activación enzimática, la síntesis de proteínas, la regulación estomática y la turgencia, la estabilización del pH celular, la fotosíntesis y el transporte de metabolitos⁽²⁰⁾⁽²⁹⁾. Además, proporciona tolerancia al estrés abiótico, disminuyendo en gran medida la producción de ERO a través de la reducción de la actividad de las NAD(P)H oxidasas, manteniendo el transporte de electrones en el proceso fotosintético⁽²⁸⁾. La disponibilidad de K afecta el metabolismo de carbohidratos (CHO), por lo que, ante deficiencias de este catión, se reduce su síntesis, así como también su carga en floema⁽³⁰⁾. En síntesis, el efecto protector del K se vincula al funcionamiento adecuado de numerosas funciones del metabolismo primario, permitiendo mantener, en última instancia, la homeostasis iónica y el equilibrio celular⁽³⁰⁾.

El Mg, por su parte, posee un papel central en la fotosíntesis y participa en el balance energético celular, así como en la regulación de los niveles de ERO. También está implicado en el proceso de exportación de CHO por floema y en la síntesis de proteínas⁽³¹⁾. Su deficiencia afecta la cadena de transporte de electrones en la fotosíntesis, lo que contribuye a la disminución de la asimilación de CO₂⁽³²⁾.

El Ca actúa de forma diferencial dependiendo de su ubicación: funciona como molécula señalizadora en numerosos procesos celulares y, por otro lado, es parte estructural de la pared celular⁽³³⁾. En este rol, reduce la pérdida de solutos, mantiene la permeabilidad de la membrana y retrasa la tasa de ablandamiento de los tejidos. Participa en los procesos de madurez y senescencia de los frutos a través del enlentecimiento de la tasa de producción de etileno y de la disminución de la respiración⁽³³⁾.

Los altos niveles de K favorecen un mayor tamaño de fruto, incrementan el grosor y la rugosidad de la piel⁽²⁰⁾⁽³⁵⁾, así como también la firmeza⁽¹⁶⁾. Además, el Mg y el K se han correlacionado de forma positiva con los ácidos orgánicos⁽²⁰⁾⁽³⁶⁾. Por otro lado, si bien la disponibilidad de K influye en el metabolismo de los carbohidratos en las plantas⁽³⁷⁾, no se conoce claramente su posible relación con los sólidos solubles totales (SST) del fruto. Algunos estudios indican que aumentan bajo deficiencia de K⁽³⁹⁾, mientras que otros indican lo opuesto⁽²⁷⁾, debido al posible efecto de dilución durante el aumento de tamaño del fruto. En lo que respecta al color externo, alta disponibilidad de K induce frutos con color deficiente en la cáscara⁽⁴⁰⁾. Sin embargo, en naranja Maltaise se ha reportado lo contrario⁽³⁸⁾. El Ca, por su parte, ha sido correlacionado positivamente con la firmeza de diversos frutos⁽⁴¹⁾.

El DF ha sido relacionado con la concentración de cationes en la cáscara de cítricos. En ese sentido, en mandarina⁽⁴²⁾, pomelo⁽¹⁴⁾, limón y naranja⁽⁴³⁾ se encontró una relación positiva entre el Ca y el Mg y el desarrollo del DF, y, de forma inversa, con los contenidos de K. Relaciones tales como K-Ca y K-Mg fueron vinculadas con tejido dañado por bajas temperaturas y, por el contrario, Ca-Mg, con tejido asintomático⁽¹⁴⁾. Aplicaciones foliares de Ca y K en precosecha reducen el DF en la piel del fruto⁽¹⁵⁾⁽⁴⁴⁾. Además, se han reportado otros aspectos vinculados al DF y la disponibilidad de nutrientes; tal es el caso del grosor de cáscara, el cual se relacionó inversamente en frutos del tangor Ortanique con menor desarrollo de DF⁽⁴⁴⁾.

En función de lo expuesto, se hipotetiza que la [K], [Mg] y [Ca] en el flavedo de la fruta incide en el desarrollo de DF durante el almacenamiento poscosecha. En ese sentido, este trabajo planteó generar variabilidad en la disponibilidad de los mencionados nutrientes y estudiar si existe relación entre las [K], [Mg] y [Ca] en el flavedo y el nivel de DF observado durante el almacenamiento de frutos de naranja Salustiana a temperaturas de $1,0 \pm 0,5$ °C.

3.5. MATERIALES Y MÉTODOS

3.5.1. Material vegetal y condiciones del ensayo

El trabajo se realizó con frutos de plantas adultas de naranjo (*Citrus sinensis*) de la variedad Salustiana, injertadas sobre *Poncirus trifoliata* (L.), en un predio comercial ubicado en Quebracho en el departamento de Paysandú (Uruguay), durante la zafra 2018-2019. Las plantas fueron seleccionadas por su vigor, homogeneidad y estado sanitario. El marco de

plantación fue de 5×5 m con una densidad de 397 plantas ha^{-1} . El suelo predominante es un Argisol del grupo desaturados lixiviados, perteneciente a la Unidad Algorta. Se caracterizó por tener textura franco arenosa (83 % de arena, 15 % de arcilla y 2 % de limo) en los primeros 20 cm de suelo. Los niveles de K, Mg, Ca y N-NO_3 disponibles fueron de 0,21; 0,58 y 1,24 cmolc kg^{-1} de suelo y 1,02 ppm de N-NO_3 , respectivamente, previo al inicio del ensayo.

3.5.2. Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado en campo (DCA), cuya unidad experimental fueron 5 árboles, y se definieron tres repeticiones por tratamiento. Con el fin de generar variabilidad en las concentraciones de minerales en las plantas, se aplicaron K y Mg de forma combinada en dosis altas (200 %), medias (100 %) y bajas (50 %). Los siete 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) control (CT, 100 % K + 100 % Mg). La fuente de K fue cloruro de potasio (KCl), mientras que la de Mg fue sulfato de magnesio (MgSO_4). El tratamiento CT se correspondió con el programa de fertilización de la (144 kg ha^{-1} de K_2O y $9,3 \text{ kg ha}^{-1}$ de MgO). Adicionalmente, todos los tratamientos recibieron la misma cantidad de nitrógeno y fósforo (140 kg N ha^{-1} y $15 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$). Estas dosis constituyeron el agregado de nutrientes base que se distribuyó por fertirriego. Para los tratamientos de dosis altas, que excedían el aporte por fertirriego (considerado como 100 %), la diferencia fue agregada de forma manual y en cobertura. Por el contrario, en tratamientos con menores dosis de algún nutriente (50 %), en la línea de riego se colocó una canilla que evitaba uno de los dos riegos semanales con fertilizantes. El período de fertilización fue desde inicio de la brotación en agosto hasta fines de enero. En el caso de los complementos de fertilizantes manuales, fueron agregados en diez aplicaciones, cada una con igual dosis, con una frecuencia aproximada de diez días. El riego fue realizado a demanda según la evapotranspiración potencial (ETP) con siete riegos semanales de duración variable. La cosecha de frutos se realizó el 26/06/2019, los cuales fueron inmediatamente almacenados a $1,0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ y 80 - 90 % HR durante ocho semanas. Al finalizar ese período se mantuvo la fruta una semana adicional en condiciones de vida mostrador ($20,0 \pm 1,0 \text{ }^\circ\text{C}$).

3.5.3. Análisis de minerales

Se cuantificaron los cationes K, Mg y Ca en tejido foliar y en flavedo de fruto. Para el análisis foliar se utilizaron hojas intermedias (lámina y pecíolo) de 6-8 meses de emergencia desde brotación, provenientes de ramas no fructíferas de la brotación de la primavera de acuerdo a las recomendaciones para cítricos⁽⁴⁵⁾. Se seleccionaron 12 hojas por árbol, sin síntomas visibles de problemas sanitarios ni roturas, de todos los cuadrantes de la copa para obtener una muestra por repetición. Para la determinación mineral en flavedo se utilizaron 10 frutos de cada repetición y tratamiento en el momento de cosecha. Se colectaron muestras de la zona ecuatorial de la fruta de aproximadamente 1 mm de espesor, evitando la extracción de albedo. Para ambos tejidos, hojas y flavedo, las muestras se secaron a 65 °C, luego se molieron y homogeneizaron. El K, Mg y Ca se determinó por el método de absorción y emisión atómica⁽⁴⁶⁾.

3.5.4. Evaluaciones de daño por frío

Durante el almacenamiento se determinó periódicamente el DF, evaluando los síntomas visibles en 138 frutos por repetición. Se evaluó la incidencia y la severidad del DF. La incidencia del DF se calculó como el porcentaje de frutos con síntomas de daño (% DF), mientras que la severidad se obtuvo a través del índice de DF (IDF). El IDF la fruta se categorizó según el DF en una escala de 0 a 3, donde 0 corresponde a fruta sin daño visible; 1, a fruta cuya superficie dañada es menor al 10 %; 2, entre 10 % y 50 % y 3 se le asigna a fruta con más del 50 %. El IDF se calculó con un promedio ponderado, en el cual se sumó el número de frutas en cada categoría multiplicado por el puntaje de cada categoría y luego se dividió entre el total de frutas evaluadas⁽⁴⁾.

3.5.5. Evaluaciones de la calidad del fruto

En cosecha se evaluaron las variables de calidad de fruta: color externo, firmeza y calidad interna [SST, acidez titulable (AT) y SST/AT]. Al final del almacenamiento refrigerado (58 d) se volvió a evaluar el color externo y la firmeza del fruto. El color fue determinado con un colorímetro (Konica Minolta CR400, iluminante D65, Tokio, Japón), donde se obtuvieron los parámetros L, a y b de la escala Hunter Lab y fue expresado mediante el índice de color de los cítricos (ICC)⁽⁴⁷⁾. El ICC se calculó como $ICC = 1000 \cdot a / (L \cdot b)$, con base en tres mediciones por fruto en la zona ecuatorial y en 20 frutos por repetición. La firmeza se determinó con un

anализador de textura (Stable Micro Systems TAXT plus, punta de prueba P/75, Inglaterra), evaluado en 10 frutos por repetición, cuantificándose la deformación del fruto en mm con un plato de compresión de 75 mm de diámetro a razón de 1 mm s⁻¹. La deformación se expresó en mm después de aplicada una fuerza constante de 10 N en la zona ecuatorial de la fruta. Por su parte, para la calidad interna se utilizaron 10 frutos por repetición. Los SST (° Brix) determinaron a 20 °C usando un refractómetro digital (Atago DBX55, Atago Co. Ltd, Tokio, Japón) y los datos resultantes se corrigieron por temperatura [° Brix + (T ° - 20 °C) * 0,05]. La AT se estimó mediante la titulación directa de una muestra de 10 mL de jugo con NaOH (0,1 N) y fenolftaleína como reactivo indicador del cambio de pH, estableciéndose el gasto a través de la observación del viraje de color a un pH de 8,1. De la relación entre los SST y la acidez se determinó la relación SST/AT.

3.5.6. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron con el *Software* Infostat ®, versión 4.3.0.⁽⁴⁸⁾. Las variables continuas con distribución normal se analizaron a través de un análisis de varianza unifactorial, mediante el modelo lineal general (ANAVA) y se aplicó el test de *Tukey-Kramer* para la separación de medias. Las variables con distribución diferente a la normal se analizaron a través del modelo *Kruskal Wallis* y en los análisis de correlaciones se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Todos los análisis se hicieron con un nivel de significancia de 0,05(α) para determinar las diferencias entre las medias.

3.6. RESULTADOS

3.6.1. Concentración de K, Mg y Ca en flavedo

En la tabla 1 se presenta la concentración de nutrientes en el flavedo al momento de cosecha. Entre los nutrientes evaluados, el K presentó los mayores valores, seguido por el Ca y, finalmente, el Mg. La [K] varió hasta un 28 % entre los diferentes tratamientos de fertilización, siendo el tratamiento 200 % + 200 % el que obtuvo mayor concentración y que se diferenció del CT y de los tratamientos con 50 % K, 50 y 200 % Mg. La [Ca] fue similar en el tratamiento 200 % K y el CT y se diferenciaron únicamente del tratamiento con mayor cantidad combinada de K y Mg. En el caso de la [Mg] en flavedo, fue similar entre los diferentes tratamientos de fertilización (Tabla 1).

Tabla 1. Concentración de K, Mg y Ca (expresado como % de MS) en flavedo de frutas de naranja Salustiana en el momento de la cosecha, según tratamientos.

Cosecha	[K]	[Mg]	[Ca]
CT	1,36 ± 0,02 b	0,10 ± 0,01 ns	0,39 ± 0,04 a
50 % K	1,46 ± 0,04 b	0,11 ± 0,01	0,30 ± 0,03 ab
200 % K	1,58 ± 0,07 ab	0,12 ± 0,00	0,38 ± 0,02 a
50 % Mg	1,42 ± 0,03 b	0,10 ± 0,01	0,31 ± 0,01 ab
200 % Mg	1,42 ± 0,04 b	0,11 ± 0,01	0,35 ± 0,01 ab
50 % K + 50 % Mg	1,56 ± 0,20 ab	0,09 ± 0,00	0,33 ± 0,01 ab
200 % K + 200 % Mg	1,90 ± 0,05 a	0,11 ± 0,00	0,26 ± 0,02 b

Los datos corresponden a la media ± EE. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos; ns: no significativo. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$).

3.6.2. Concentración de K, Mg y Ca en hojas

El agregado de diferentes dosis de K y Mg solas o en combinación generó cambios en la [Ca] en las hojas, sin modificar las concentraciones de K y Mg (Tabla 2). En el caso del Ca, el tratamiento 200 % + 200 % presentó mayores concentraciones de Ca respecto al tratamiento 50 % Mg. Además, el catión Ca fue el que presentó las mayores concentraciones foliares, seguido por el K y el Mg (Tabla 2).

Tabla 2. Concentración foliar de K, Mg y Ca (expresado como % de materia seca) en naranja Salustiana, según tratamiento.

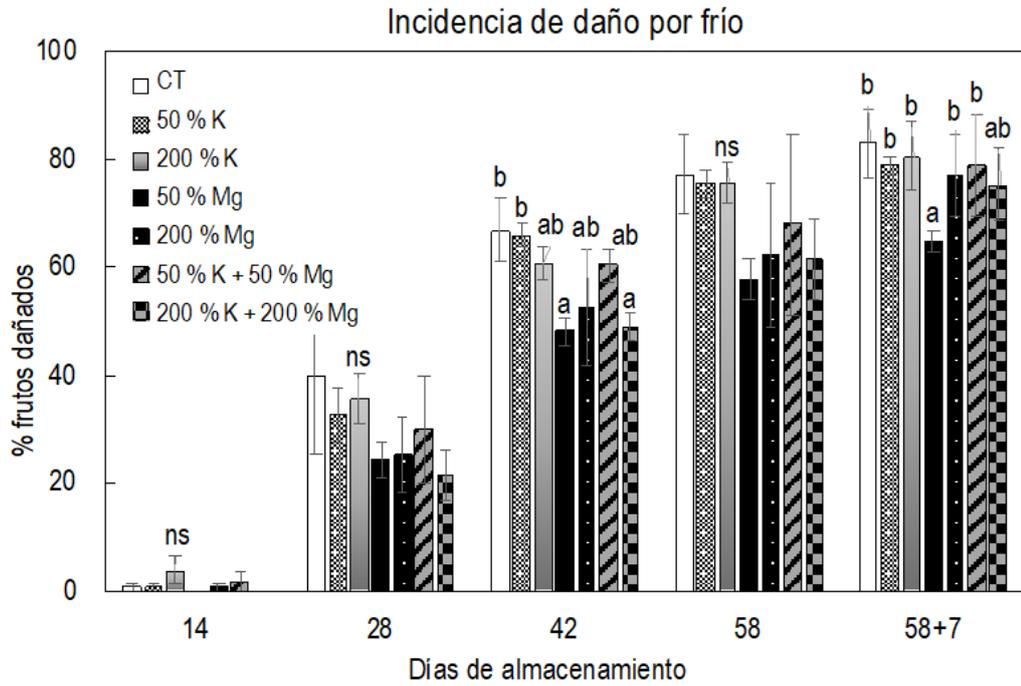
Cosecha	[K]	[Mg]	[Ca]
CT	1,51 ± 0,04 ns	0,33 ± 0,01 ns	2,11 ± 0,08 ab
50 % K	1,41 ± 0,04	0,35 ± 0,01	2,11 ± 0,04 ab
200 % K	1,56 ± 0,10	0,36 ± 0,01	2,05 ± 0,03 ab
50 % Mg	1,52 ± 0,06	0,34 ± 0,01	1,86 ± 0,06 b
200 % Mg	1,49 ± 0,08	0,36 ± 0,02	2,11 ± 0,09 ab
50 % K + 50 % Mg	1,47 ± 0,06	0,34 ± 0,01	2,12 ± 0,04 ab
200 % K + 200 % Mg	1,50 ± 0,07	0,36 ± 0,02	2,32 ± 0,04 a

Los datos corresponden a la media ± EE. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. ns: no significativo. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$).

3.6.3. Daño por frío en poscosecha

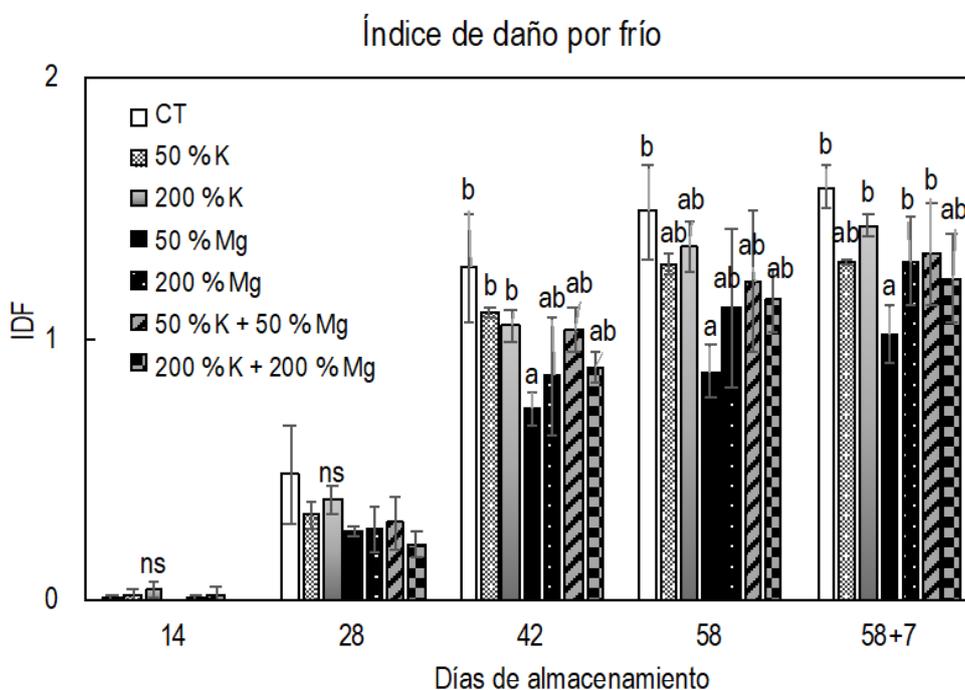
El DF evaluado a través de la incidencia (% de frutos con daños) y severidad (IDF, escala de 0 a 3) aumentó en la medida en que transcurrió el tiempo de almacenamiento a 1 °C. A los 14 d de almacenamiento el daño fue imperceptible, registrando valores próximos a cero para ambas variables. Posteriormente, aumentó de forma progresiva; a los 28 d se detectaron síntomas en todos los tratamientos y a los 42 d la mayoría presentó una incidencia cercana al 60 % y un IDF próximo a 1 (Figs. 1 y 2). Al finalizar el almacenamiento refrigerado (58 d), la incidencia ascendió al 60-75 % y la severidad se situó entre 1 y 1,5 (Figs. 1 y 2). Además, se registraron diferencias en la incidencia entre tratamientos a partir de los 42 d de almacenamiento refrigerado. En ese momento, el tratamiento 50 % Mg y el tratamiento 200 % Mg + 200 % K presentaron el menor valor de incidencia (cercano al 40 %) comparado con los frutos del tratamiento CT y del tratamiento 50 % K. A los 58 d no se registran diferencias entre tratamientos y a los 58 + 7 d el tratamiento 50 % Mg presentó menor % de frutos con daño en comparación con el resto de los tratamientos a excepción del 200 % K + 200 % Mg (Fig. 2) En el IDF, dichas diferencias se mantuvieron hasta el final del almacenamiento (58 + 7) cuando el tratamiento 50 % Mg presentó una severidad de 23 % menor que el CT (Fig. 1). En el caso del índice DF las diferencias entre tratamientos se mantienen desde los 42 d hasta los 58 + 7 d de almacenamiento (Fig. 2)

Figura 1. Incidencia de daño por frío (% frutos dañados) en frutos de naranja Salustiana durante 58 días de almacenamiento a $1,0 \pm 0,5$ °C y siete días en vida mostrador según tratamiento.



Los datos corresponden a la media \pm EE. Medias con una letra común no son significativamente diferentes entre tratamientos y dentro de cada momento de evaluación; ns: no significativo. Comparación de medias realizada mediante el test de Kruskal Wallis ($p \leq 0,05$).

Figura 2. Índice de daño por frío (IDF) en frutos de la naranja Salustiana durante 58 días de almacenamiento a $1,0 \pm 0,5$ °C y siete días en vida mostrador, según tratamientos.



Los datos corresponden a la media \pm EE. Medias con una letra común no son significativamente diferentes entre tratamientos y dentro de cada momento de evaluación; ns: no significativo. Comparación de medias realizada mediante el test de Kruskal Wallis ($p \leq 0,05$).

3.6.4. Correlación entre el DF y los cationes en flavedo y hoja

Se estudiaron las posibles asociaciones entre la [K], [Mg] y [Ca] en flavedo en cosecha, con la incidencia y severidad durante el almacenamiento. No se evidenciaron relaciones significativas entre el DF con la concentración de dichos cationes en el flavedo para ninguna de las fechas evaluadas (Tabla 3). Al considerar la concentración de cationes en hojas no se visualizaron correlaciones significativas a los 28 d. Sin embargo, se observaron correlaciones significativas ($p \leq 0,05$) e inversas entre la [K] y las relaciones [K]-[Mg], [K]-[Ca], [K]-([Ca] + [Mg]) y ([K] + [Mg])-[Ca] con el DF (% DF y IDF) a partir de los 42 d de almacenamiento y hasta los 58 d de almacenamiento más 7 días en temperatura ambiente. La magnitud de la asociación varió entre 0,61 y 0,41 (Tabla 4).

Tabla 3. Asociación a través del coeficiente de *Pearson* (*r*), entre el DF (IDF y % DF) a los 28, 42, 58 y 58 + 7 días en almacenamiento con las [K], [Mg] y [Ca] y las relaciones [K]-[Mg], [Ca]-[Mg], [K]-[Ca], [K]-([Ca] + [Mg]) y ([K] + [Mg])-[Ca] en el flavedo del fruto cuantificado en cosecha en el cultivar Salustiana.

Días de almacenamiento	Cationes en flavedo	p (% DF)	p (IDF)	r (% DF)	r (IDF)
28	[K]	0,81	0,55	- 0,05	- 0,14
28	[Mg]	0,97	0,89	- 0,01	0,03
28	[Ca]	0,34	0,22	0,22	0,28
28	[K]/[Mg]	0,91	0,66	- 0,02	- 0,10
28	[Ca]/[Mg]	0,35	0,26	0,21	0,26
28	[K]/[Ca]	0,58	0,37	- 0,13	- 0,21
28	[K]/([Ca]+[Mg])	0,61	0,39	- 0,12	- 0,20
28	([K]+[Mg])/[Ca]	0,57	0,36	- 0,13	- 0,21
42	[K]	0,21	0,53	- 0,28	- 0,14
42	[Mg]	0,85	0,89	- 0,04	- 0,03
42	[Ca]	0,29	0,25	0,24	0,26
42	[K]/[Mg]	0,37	0,70	- 0,20	- 0,09
42	[Ca]/[Mg]	0,24	0,20	0,27	0,29
42	[K]/[Ca]	0,21	0,42	- 0,29	- 0,18
42	[K]/([Ca]+[Mg])	0,20	0,43	- 0,29	- 0,18
42	([K]+[Mg])/[Ca]	0,20	0,41	- 0,29	- 0,19
58	[K]	0,58	0,69	0,13	0,09
58	[Mg]	0,89	0,92	- 0,03	- 0,02
58	[Ca]	0,34	0,30	0,22	0,23
58	[K]/[Mg]	0,62	0,73	0,12	0,08
58	[Ca]/[Mg]	0,23	0,28	0,32	0,24
58	[K]/[Ca]	0,93	0,87	- 0,02	- 0,04
58	[K]/([Ca]+[Mg])	0,99	0,92	- 0,01	- 0,02
58	([K]+[Mg])/[Ca]	0,91	0,85	- 0,03	- 0,04
58 + 7	[K]	0,17	0,21	0,31	0,29
58 + 7	[Mg]	0,97	0,61	0,01	- 0,12
58 + 7	[Ca]	0,67	0,99	0,10	0,04
58 + 7	[K]/[Mg]	0,35	0,25	0,21	0,26
58 + 7	[Ca]/[Mg]	0,72	0,73	0,08	0,08
58 + 7	[K]/[Ca]	0,53	0,39	0,14	0,20
58 + 7	[K]/([Ca]+[Mg])	0,20	0,35	- 0,29	0,21
58 + 7	([K]+[Mg])/[Ca]	0,54	0,40	0,14	0,19

Correlaciones calculadas a través del coeficiente de *Pearson*. *Correlaciones significativas entre las variables ($p \leq 0,05$).

Tabla 4. Asociación a través del coeficiente de Pearson(r), entre el DF (IDF y % DF) a los 28, 42, 58 y 58 + 7 días en almacenamiento con las [K], [Mg] y [Ca] y, las relaciones [K]-[Mg], [Ca]-[Mg], [K]-[Ca], [K]-([Ca] + [Mg]) y ([K] + [Mg])-[Ca] en los tejidos de hoja en el cultivar Salustiana.

Días de almacenamiento	Cationes en hoja	p (% DF)	p (IDF)	r (% DF)	r (IDF)
28	[K]	0,08	0,11	- 0,39	- 0,36
28	[Mg]	0,83	0,97	0,05	0,01
28	[Ca]	0,73	0,62	- 0,08	- 0,12
28	[K]/[Mg]	0,23	0,32	- 0,27	- 0,23
28	[Ca]/[Mg]	0,77	0,76	- 0,07	- 0,07
28	[K]/[Ca]	0,34	0,46	- 0,22	- 0,17
28	[K]/([Ca]+[Mg])	0,29	0,40	- 0,24	- 0,20
28	([K]+[Mg])/[Ca]	0,42	0,54	- 0,18	- 0,54
42	[K]	0,06	0,07	- 0,41	- 0,39
42	[Mg]	0,91	0,99	0,02	- 0,02
42	[Ca]	0,39	0,27	0,19	0,25
42	[K]/[Mg]	0,23	0,30	- 0,27	- 0,24
42	[Ca]/[Mg]	0,32	0,17	0,23	0,31
42	[K]/[Ca]	0,06	0,05 *	- 0,41	- 0,43
42	[K]/([Ca]+[Mg])	0,05 *	0,04 *	- 0,43	- 0,44
42	([K]+[Mg])/[Ca]	0,05 *	0,04 *	- 0,42	- 0,45
58	[K]	0,01 *	0,02 *	- 0,53	- 0,50
58	[Mg]	0,45	0,38	0,17	0,20
58	[Ca]	0,64	0,27	0,11	0,25
58	[K]/[Mg]	0,03 *	0,04 *	- 0,47	- 0,45
58	[Ca]/[Mg]	0,98	0,60	0,01	0,12
58	[K]/[Ca]	0,05 *	0,02 *	- 0,43	- 0,50
58	[K]/([Ca]+[Mg])	0,03 *	0,01 *	- 0,47	- 0,53
58	([K]+[Mg])/[Ca]	0,06	0,03 *	- 0,41	- 0,49
58 + 7	[K]	0,01 *	0,05 *	- 0,56	- 0,42
58 + 7	[Mg]	0,29	0,64	0,24	0,11
58 + 7	[Ca]	0,17	0,38	0,17	0,20
58 + 7	[K]/[Mg]	0,01 *	0,10	- 0,57	- 0,37
58 + 7	[Ca]/[Mg]	0,74	0,63	0,08	0,11
58 + 7	[K]/[Ca]	0,01 *	0,05 *	- 0,60	- 0,42
58 + 7	[K]/([Ca]+[Mg])	0,01 *	0,04 *	- 0,61	- 0,43
58 + 7	([K]+[Mg])/[Ca]	0,01 *	0,06	- 0,57	- 0,41

Correlaciones calculadas a través del coeficiente de Pearson. *Correlaciones significativas entre las variables ($p \leq 0,05$).

3.6.5. Calidad del fruto

El color externo en cosecha presentó diferencias entre tratamientos, siendo mayor en los frutos del tratamiento de mayor [K] y [Mg] aplicado en conjunto (200 % + 200 %) en comparación con el tratamiento CT. Luego de 58 d de almacenamiento refrigerado el ICC aumentó en comparación a cosecha, sin detectar diferencias entre tratamientos (Tabla 5). La firmeza, definida como la resistencia a la deformación, no presentó diferencias entre tratamientos en el momento de la cosecha. Luego de 58 d de almacenamiento, la firmeza se redujo un 53 %, en promedio, considerando todos los tratamientos, comparado con el momento de cosecha. Además, después de 58 d de almacenamiento, el tratamiento 200 % de K presentó diferencias respecto a los frutos del tratamiento 50 % Mg, siendo el de alto K un 22 % menos firme que el de bajo Mg (Tabla 5). En lo que respecta al grosor de la cáscara del fruto, no fue afectado por las diferentes dosis de nutriente agregados (Tabla 6). En el mismo sentido, no se detectaron correlaciones significativas entre el grosor de cáscara y la incidencia o severidad del DF a los 28 d ($p = 0,40$) ni a los 58 d ($p = 0,26$). Los diferentes tratamientos de fertilización no modificaron las variables de calidad interna como los SST, la AT ni la relación SST/AT (Tabla 6).

Tabla 5. Color externo (ICC) y firmeza (mm) de la variedad Salustiana en el momento de la cosecha y a los 58 d de almacenamiento refrigerado, según tratamiento.

Cosecha	ICC		Firmeza	
	Cosecha	58 días	Cosecha	58 días
CT	6,85 ± 0,09 b	9,20 ± 0,70 ns	1,29 ± 0,02 ns	2,53 ± 0,07 ab
50 % K	7,59 ± 0,30 ab	9,88 ± 0,45	1,27 ± 0,05	2,72 ± 0,17 ab
200 % K	7,40 ± 0,47 ab	9,72 ± 0,48	1,27 ± 0,02	2,99 ± 0,17 b
50 % Mg	7,58 ± 0,17 ab	9,73 ± 0,25	1,16 ± 0,11	2,33 ± 0,22 a
200 % Mg	7,48 ± 0,10 ab	10,44 ± 0,40	1,17 ± 0,00	2,70 ± 0,07 ab
50 % K + 50 % Mg	8,02 ± 0,44 ab	10,33 ± 0,16	1,18 ± 0,06	2,80 ± 0,08 ab
200 % K + 200 % Mg	8,56 ± 0,20 a	10,34 ± 0,44	1,36 ± 0,05	2,81 ± 0,09 ab

Los datos corresponden a la media ± EE. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada momento de evaluación (cosecha y 58 días). ns: no significativo. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$).

Tabla 6. SST (° Brix), AT (%), SST/AT y grosor de cáscara (mm) en el momento de la cosecha de naranja Salustiana, según tratamiento.

Tratamientos	SST	Acidez	SST/Acidez	Grosor de cáscara
CT	10,09 ± 0,19 ns	0,78 ± 0,03 ns	13,00 ± 0,42 ns	6,27 ± 0,10 ns
50 % K	9,93 ± 0,42	0,78 ± 0,01	12,78 ± 0,40	6,40 ± 0,29
200 % K	10,05 ± 0,14	0,78 ± 0,02	12,95 ± 0,41	6,77 ± 0,16
50 % Mg	10,54 ± 0,41	0,81 ± 0,02	13,10 ± 0,69	6,73 ± 0,30
200 % Mg	10,95 ± 0,45	0,71 ± 0,02	15,43 ± 1,03	7,31 ± 0,23
50 % K + 50 % Mg	10,51 ± 0,63	0,79 ± 0,02	13,32 ± 0,66	6,65 ± 0,30
200 % K + 200 % Mg	9,83 ± 0,21	0,78 ± 0,01	12,65 ± 0,46	6,70 ± 0,30

Los datos corresponden a la media ± EE. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos. ns: no significativo. Comparación de medias realizada mediante el test de Tukey-Kramer ($p \leq 0,05$).

3.7. DISCUSIÓN

La nutrición mineral es fundamental para el funcionamiento óptimo de las plantas, por su involucramiento en procesos fisiológicos y bioquímicos esenciales⁽¹⁵⁾⁽²⁵⁾⁽³⁹⁾. Los cationes K, Mg y Ca, particularmente, se destacan por su influencia en la productividad y calidad de la fruta cítrica⁽²⁷⁾⁽⁴⁹⁾. En ese sentido, modificaciones en estos cationes se han asociado a diversos desórdenes fisiológicos en frutos, tales como el rajado⁽⁷⁾, el *creasing* o el *pitting*⁽²⁰⁾. El DF no es la excepción, ya que su aparición también se vincula con algunos cambios en la concentración de minerales en la cáscara de frutos de pomelos⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾. Sin embargo, no se conoce la influencia de estos en la ocurrencia del desorden ni cómo varía esta posible respuesta entre especies y variedades cítricas. Por ese motivo, este trabajo apunta a comprender si existe efecto entre la [K], [Mg] y [Ca] en el flavedo de frutos de naranja y la aparición del DF durante la poscosecha. Con ese fin se aplicaron diferentes dosis de K y Mg para generar variabilidad de concentración de estos cationes en planta, esperando generar modificaciones también en los frutos.

La [K], [Mg] y [Ca] en el flavedo del fruto en cosecha fue afectada por la aplicación de diferentes dosis de nutrientes. No se verificó una asociación entre las dosis agregadas en cada tratamiento con los cambios de concentración de dichos cationes en el flavedo. Contrariamente, la incidencia y severidad de DF durante el almacenamiento de frutos fueron afectadas por el agregado de diferentes cantidades de cationes. Así, por ejemplo, un menor DF se asoció con el tratamiento que recibió menor agregado individual de Mg (50 % Mg). Sin embargo, las concentraciones de nutrientes en el flavedo no se asociaron con el DF a los 28, 42, 58 ni a los

58+7 d de almacenamiento. Por otro lado, sí se evidenciaron relaciones entre los cationes foliares con el DF. A 42 d, 58 d y 58 + 7 d de almacenamiento se encontraron relaciones inversas entre la [K], [K]-[Mg], [K]-[Ca], [K]-([Ca] + [Mg]) y ([K] + [Mg])-[Ca] con la incidencia y severidad del DF. La falta de asociación entre estas variables en etapas tempranas del almacenamiento, como a los 28 d, podría estar relacionada con el bajo nivel de DF registrado y la ausencia de diferencias entre tratamientos en esta fecha de evaluación.

Trabajos previos en pomelo mencionan determinadas situaciones en donde la disponibilidad de nutrientes se asocia con menor incidencia de DF⁽¹⁴⁾, debido, probablemente, a que el tejido presentara mayor plasticidad en las membranas frente a condiciones de estrés como las bajas temperaturas. En ese sentido, la adecuada disponibilidad de K, Mg y Ca permite adaptarse ante condiciones de estrés⁽¹³⁾⁽¹⁶⁾. Sin embargo, los resultados parecen manifestar que la abundancia de K en relación al Mg y Ca se vincularía con el menor desarrollo de DF. Resultados similares se han reportado en flavedo de pomelo Marsh almacenado a 4,5 °C, en donde menores relaciones [K]-[Ca] y [K]-[Mg] se asociaron con tejido sintomático⁽¹⁴⁾. Esto remarca la importancia no solo de las cantidades óptimas de cationes en planta y fruto, sino la relación entre la [K] sobre las [Ca] y [Mg].

La existencia de correlaciones entre el DF con la [K] y las relaciones [K]-[Mg], [K]-[Ca], [K]-([Ca] + [Mg]) y ([K] + [Mg])-[Ca] en hoja, pero no en fruto, que se desprende de los resultados pone de manifiesto que podrían existir diferentes dinámicas de dichos nutrientes en distintos órganos y tejidos⁽⁵⁰⁾⁽⁵¹⁾. El análisis foliar es una herramienta muy utilizada en cítricos como indicador del estado nutricional. Aproximadamente entre los 6 y 8 meses desde brotación, los minerales en las hojas mantienen su concentración estable, permitiendo la toma de muestras y su correlación con la producción⁽⁵²⁾⁽⁵³⁾. Los análisis mineralógicos en los frutos no se han usado con este mismo fin; motivo de ello podría ser la constante variación de la concentración de nutrientes en el flavedo y fruto, con una sostenida reducción en la [K], [Mg] y [Ca] conforme avanza la maduración⁽⁵³⁾. Durante el crecimiento y desarrollo del fruto ocurren procesos de expansión celular y ganancia de materia seca⁽⁵⁴⁾, lo que induce cambios en las concentraciones de nutrientes en las células del flavedo. Esta dilución parece ser más importante que la disponibilidad variable de nutrientes entre tratamientos. Así, por ejemplo, no se verificaron diferencias en la [K] en flavedo entre los tratamientos contrastantes de 50 % y 200 % K, así

como tampoco en la [Mg] en los tratamientos 50 % y 200 % Mg. Sin embargo, es importante mencionar que las respuestas a estos cambios son lentos y difícilmente ocurren en el mismo ciclo productivo⁽⁵⁵⁾. En definitiva, sería deseable lograr un trabajo más detallado (etapas de desarrollo del fruto) y extendido (mayor número de años) para determinar un posible momento óptimo de determinación de nutrientes en la cáscara del fruto, con el fin de aportar algún indicador relacionado con la tolerancia al DF poscosecha. En la misma línea, a pesar de no ser el órgano afectado por las bajas temperaturas, los niveles de nutrientes en las hojas también podrían constituir un posible indicador útil de la tolerancia al DF si los resultados de futuras investigaciones así lo confirman.

Los resultados obtenidos podrían analizarse considerando, entonces, las diferentes dinámicas de los cationes en los tejidos del fruto. Los procesos fisiológicos y bioquímicos que ocurren en un fruto determinan variaciones en las concentraciones de minerales durante el crecimiento y desarrollo del órgano. Si bien son escasos los reportes, los cambios estacionales de los minerales en un fruto entero pueden variar en comparación con lo que ocurre en sus partes por separado: pulpa, albedo y flavedo. Durante la etapa I de crecimiento del fruto, la mayoría del tejido se corresponde con la cáscara y en ese momento la concentración de la mayoría de los minerales disminuye, para luego permanecer constante o disminuir levemente durante las etapas II y III, excepto el catión Ca⁽⁵⁶⁾. En la etapa II, el proceso de expansión celular se ve acompañado de un aumento del K, que regula el potencial osmótico⁽⁵⁷⁾. El Mg, por su parte, permanece en alta concentración en la etapa I y II en la cáscara, para luego disminuir⁽⁵⁴⁾. Específicamente en el flavedo, se ha descrito que la [K], [Mg] y [Ca], en términos generales, disminuye con la madurez por el efecto de dilución ya mencionado⁽⁵³⁾.

La información disponible sugiere que sería durante el crecimiento y maduración del fruto cuando el flavedo determina en gran medida su susceptibilidad/tolerancia a las bajas temperaturas de poscosecha⁽⁴⁾⁽⁵⁾. En este sentido, los resultados obtenidos en este trabajo, analizados bajo el contexto de la dinámica de los nutrientes en el flavedo⁽⁵¹⁾⁽⁵³⁾, sugieren que el momento de la cosecha no sería el más adecuado para establecer la concentración de cationes como posible indicador de sensibilidad/tolerancia al DF. Sin embargo, los resultados obtenidos parecen indicar la existencia de variación en la incidencia del problema en función de cambios en la nutrición catiónica de las plantas.

La adición diferencial de cationes realizada durante un año de trabajo no generó modificaciones en variables de calidad externa (color y firmeza) e interna (SST, AT y SST/AT). En ese sentido, el Mg y el K, se han correlacionado de forma positiva con los ácidos orgánicos⁽²⁰⁾⁽³⁶⁾. Los resultados indican que no se verifican cambios en la acidez por la adición de diferentes dosis de estos nutrientes. Tampoco parecerían variar durante este año los azúcares del fruto. Sin embargo, el efecto de los minerales sobre esta variable aún no ha sido dilucidado totalmente⁽³⁸⁾. Así, se refuerza la idea de que el cambio en la concentración de nutrientes por el agregado de fertilizantes tenga mayor influencia en ensayos de largo plazo, motivo por el cual se necesitaría un mayor número de años para obtener efectos sobre estas variables.

Se verificó un mayor color anaranjado (ICC) en los tratamientos con mayor disponibilidad de K y Mg en forma conjunta en comparación con el CT, similar a lo reportado en naranja Maltaise⁽³⁸⁾. En lo que respecta a la firmeza de la fruta, esta varió en función de los tratamientos, en los que 200 % K presentó menor firmeza en comparación con 50 % Mg tras finalizar el almacenamiento refrigerado. Sin embargo, en mandarina Fortune se han reportado resultados opuestos, en los que altos niveles de K generan frutos más firmes⁽¹⁶⁾. Además, frutos fertilizados con dosis altas de K desarrollan mayor grosor de cáscara⁽³⁵⁾ y eso podría determinar mayor firmeza. Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los cambios en la fertilización no modifican el grosor de cáscara en el momento de la cosecha ni tampoco se evidencia un vínculo entre grosor de cáscara y desarrollo de DF. Sin embargo una asociación inversa ha sido reportada en el tangor Ortanique⁽⁴⁴⁾, por lo que podría existir una respuesta dependiente de la especie y de la variedad. Nuestros resultados en naranja Salustiana no sustentan la relación entre las variables.

Se sugiere, por un lado, que la aparición del DF estaría mayormente relacionado a cuestiones bioquímicas del fruto⁽⁷²⁾ y, por otro, que el hallazgo de respuestas en variables como las de calidad interna y externa podrían evidenciarse en ciclos subsiguientes, debido a que un año de trabajo no sería suficiente para concluir en un sistema donde interaccionan plantas perennes en una condición de ambiente y suelo específicas.

3.8. CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que la tolerancia al DF en poscosecha varía en respuesta a la fertilización con K y Mg, a través de las modificaciones de las [K], [Mg] y [Ca] en planta y de las relaciones entre ellos. Sin embargo, esta asociación entre el DF y los niveles de nutrientes no fue verificada en el flavedo, tejido donde ocurre el daño. Los cambios en los niveles de DF se correlacionaron con variaciones en la concentración de cationes en hojas. La [K] foliar se relacionó inversamente con el DF registrado en poscosecha, lo que pone de manifiesto el efecto de estos nutrientes, en especial del K en vínculo con el Mg y Ca ($[K]-[Mg]$, $[K]-[Ca]$, $[K]-([Ca] + [Mg])$ y $([K] + [Mg])-[Ca]$) sobre el DF. No obstante, resulta importante conocer en detalle la dinámica que presentan los cationes en el tejido en el cual se desarrolla el DF (el flavedo del fruto). Para ello, sería valioso evaluar los cambios en ciclos sucesivos y en otras etapas de desarrollo del fruto, para encontrar si existe un momento específico en que sean potenciales indicadores de DF poscosecha.

3.9. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la ANII por la financiación de la beca de posgrado (código POS_FMV_2018_1_1007816) y del proyecto FMV (código _1_2017_1_135612), así como a la CSIC-Udelar por beca de finalización (código BFPM_2021_1#47322861) y el proyecto ID65, que permitieron la realización del trabajo. También agradecemos la colaboración de equipo de poscosecha de frutas de INIA SG, quienes participaron de los trabajos de campo y evaluaciones en laboratorio.

3.10. CONTRIBUCIÓN DE LOS/LAS AUTORES/AS

Matías Manzi y Joanna Lado concibieron y diseñaron el experimento. Todos/as los/las autores/as recopilaron los datos. Fabiana Hernández-Mazzini realizó el análisis de los datos y escribió el manuscrito. Matías Manzi y Joanna Lado revisaron y corrigieron el manuscrito.

3.11. REFERENCIAS

1. Almela V, Agustí M, Pons J. Rind spots in Fortune mandarin. Origin and control. *Physiologia Plantarum*. 1992;85:60–3.
2. Alférez F, Sala JM, Sanchez-Ballesta MT, Mulas M, Lafuente T, Zacarías L. A comparative study of the postharvest performance of an ABA-deficient mutant of oranges I. Physiological and quality aspects. *Postharvest Biology and Technology*. 2005;37:222–31.
3. Martínez Jávega MJ. Estado actual de las aplicaciones de frío en la poscosecha de cítricos. Eds. López A, Esnoz A, Artés. *Actas del I Congreso Español de Ciencias y Técnicas del Frío; 2002: Avances en Ciencias y Técnicas del Frío-I*. 433-442.
4. Lado J, Alós E, Manzi M, Cronje PJR, Gómez-Cadenas A, Rodrigo MJ, Zacarías L. Light regulation of carotenoid biosynthesis in the peel of mandarin and sweet orange fruits. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:1–16.
5. Agustí M, Martínez-Fuentes A, Mesejo C. Citrus fruit quality, physiological basis and techniques of improvement. *Agrociencia*. 2002;VI(2):1–16.
6. Lado J, Cronje P, Alquézar B, Page A, Manzi M, Gómez-Cadenas A, Stead AD, Zacarías L, Rodrigo MJ. Fruit shading enhances peel color, carotenes accumulation and chromoplast differentiation in red grapefruit. *Physiologia Plantarum*. 2015;154(4):469-84.
7. Cronje PJR, Barry GH, Huysamer M. Fruiting position during development of “Nules Clementine” mandarin affects the concentration of K, Mg and Ca in the flavedo. *Scientia Horticulturae*. 2011;130(4):829–37.
8. Pantastico EB, Soule J, Grierson W. Chilling injury in tropical and subtropical fruits: II. Limes and grapefruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1968;12:171–83.
9. Loay AA, Dawood HD. Chilling injury, fruit color maturity stages, and antioxidant enzyme activities of lemon Baladi CV fruits under cold storage stress. *Scientia Horticulturae*. 2019;257:1–7.
10. Lafuente MT, Zacarías L. Postharvest physiological disorders in citrus fruit. *Stewart Postharvest Solutions Limited*. 2006;1(2):1–9.

11. Gonzalez-Aguilar GA, Zacarías L, Perez-amador MA, Carbonell J, Lafuente MT. Polyamine content and chilling susceptibility are affected by seasonal changes in temperature and by conditioning temperature in cold-stored Fortune mandarin fruit. *Physiologia Plantarum*. 2000;108:140–6.
12. Ferguson IB, Volz R, Woolf A. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 1999;15(3):255–62.
13. Zörb C, Senbayram M, Peiter E. Potassium in agriculture status and perspectives. *Journal of Plant Physiology*. 2014;171(9):656–69.
14. Ezz TM, Awad RM. Relationship between mineral composition of the flavedo tissue of Marsh grapefruit and chilling injury during low temperature storage. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 2009;5(6):892–8.
15. Slutzky B, Gonzáles-Abreu A, Berdam I. Chilling injury related to mineral composition of grapefruit and limes during cold storage. En: K. Matsumoto (editor). *Proceedings of the International Society of Citriculture*. 1981 Nov 9-12; Tokyo, Japón. 1981. p. 779–82.
16. El-Hilali F, AitOubahou A, Remah A, Akhayat O. Effect of preharvest spray of Ca and K on quality, peel pitting and peroxidases activity of Fortune mandarin fruit in low temperature storage. *Acta Horticulturae*. 2004;632:309–15.
17. Lado J, María Jesús R, Lorenzo Z. La importancia de los pigmentos en la tolerancia a bajas temperaturas de los frutos cítricos. *Revista INIA Uruguay*. 2016;44:39–41.
18. Moss G, Higgins M. Magnesium influences on the fruit quality of sweet orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Plant and Soil*. 1974;41:103–12.
19. Bar-Akiva A. Effect of potassium nutrition on fruit splitting in Valencia orange. *HortScience*. 1975;70(1):85–9.
20. Alva AK, Dirceu MJ, Paramasivam S, Patil B, Dou K, Sajwan K. Potassium management for optimizing citrus production and quality potassium management for optimizing citrus production and quality. *International Journal of Fruit Science*. 2006;6(1):3–43.

21. Storey R, Treeby MT. CryoSEM study of the early symptoms of peteca in Lisbon lemons. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2002;77(5):551–6.
22. Storey R, Treeby MT. Seasonal changes in nutrient concentrations of navel orange fruit. *Scientia Horticulturae*. 2000;84:67–82.
23. Lado J, Manzi M, Sainz M, Sotelo M, Zacarias L. Involvement of plant hormones in cold stress tolerance. En: Golam JA, Jing-Quan Y. *Plant hormones under challenging Environmental Factors*. China. Springer. 2016. 23-49
24. McColloch RC, Bingham FT, Aldrich DG. Relation of soil potassium and magnesium to magnesium nutrition of citrus. *Soil Science Society of America Journal*. 1957;21(1):85–8.
25. Farhat N, Elkhouni A, Zorrig W, Smaoui A, Abdelly C, Rabhi M. Effects of magnesium deficiency on photosynthesis and carbohydrate partitioning. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2016;38:1–10.
26. Nguyen H, Maneepong S, Suraninpong P. Effects of potassium, calcium, and magnesium ratios in soil on their uptake and fruit quality of pummelo. *The Journal of Agricultural Science*. 2017;9(12):110-121.
27. Mattos Junior D, Quaggio JA, Cantarella H, Carvalho SA de. Superfícies de resposta do tangor “Murcott” à fertilização com N, P e K. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2004;26(1):164–7.
28. Cakmak I. The role of potassium in alleviating detrimental effects of abiotic stresses in plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2005;168(4):521–30.
29. Tränkner M, Tavakol E, Jákl B. Functioning of potassium and magnesium in photosynthesis, photosynthate translocation and photoprotection. *Physiologia Plantarum*. 2018;163(3):414–31.
30. Hasanuzzaman M, Bhuyan MH, Kamrun NK, Hossain MS, Al MJ, Hossen MS, Chowdhury Masud AA, Moumita, Fujita M. Potassium: A vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. *Agronomy*. 2018;8(3):31.

31. Cakmak I, Yazici AM. Magnesium: A forgotten element in crop production. *Better Crops*. 2010;94(2):23–5.
32. Tang N, Li Y, Chen LS. Magnesium deficiency induced impairment of photosynthesis in leaves of fruiting *Citrus reticulata* trees accompanied by upregulation of antioxidant metabolism to avoid photooxidative damage. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2012;175(5):784–93.
33. Ferguson IB. Calcium in plant senescence and fruit ripening. *Plant, Cell & Environment* 1984;7:477–89.
34. Marcelle RD. Mineral nutrition and plant quality. *Acta Horticulturae*. 1995;383:219–26.
35. Morgan KT, Rouse RE, Roka FM, Futch SH, Zekri M. Leaf and fruit mineral content and peel thickness of Hamlin orange. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*. 2005;118:19–21.
36. Zhou Y, He W, Zheng W, Tan Q, Xie Z, Zheng C, Hu C. Fruit sugar and organic acid were significantly related to fruit Mg of six citrus cultivars. *Food Chemistry*. 2018;259:278–85.
37. Lavon R, Goldschmidt EE, Salomon R, Frank A. Effect of potassium, magnesium, and calcium deficiencies on carbohydrate pools and metabolism in citrus leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1995;120(1):54–8.
38. Mimoun M, Dbara S, Lahmar K, Marchand M. Effects of potassium nutrition on fruit yield and quality of Maltese citrus (*Citrus sinensis* L.). *Acta Horticulturae*. 2018;1217:225–30.
39. Fernández A, De Guzman C. Quality and nutrition of pummelo as influenced by potassium. *Journal of Environmental Science and Engineering*. 2013;97–105.
40. Emer Y, Artzi B, Tagari E, Hamou M. Potassium affects citrus tree performance. The Volcani Center, Institute of Horticulture, Department of Fruit Trees. 2005;405–14.
41. Stückrath R, Quevedo R, De La Fuente L, Hernández A, Sepúlveda V. Effect of foliar application of calcium on the quality of blueberry fruits. *Journal of Plant Nutrition*. 2008;31(7):1299–312.

42. Nuñez F, Campo R, Pascale D, Díaz LE, Solari J, Leticia L, Mara H. Effect of storage temperature on rind pitting and fruit rot in satsuma Okitsu. *Acta Horticulturae*. 2015;1065:1541–8.
43. Storey R, Treeby MT. Nutrient uptake into navel oranges during fruit development. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2002;77:91–9.
44. Cronje PJR, Zacarías L, Alférez F. Susceptibility to postharvest peel pitting in citrus fruits as related to albedo thickness, water loss and phospholipase activity. *Postharvest Biology and Technology*. 2017;123:77–82.
45. Sanz A, Monerri C, González-Ferrer J, Guardiola JL. Changes in carbohydrates and mineral elements in Citrus leaves during flowering and fruit set. *Physiologia Plantarum*. 1987;69(1):93–8.
46. Isaac RA, Kerber JD. Atomic absorption and flame photometry: techniques and uses in soil, plant and water analysis. *Instrumental methods for analysis of soils and plant tissue*. 1971;17–37.
47. Jiménez Cuesta M, Cuquerella J, Martínez Javega JM. Determination of a color index for citrus fruit degreening. En: K. Matsumoto (editor). *Proceedings of the International Society of Citriculture*. 1981 Nov 9-12; Tokyo, Japón. 1982. p. 750-753.
48. Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW. Infostat Software estadístico [Internet]. Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba FCA Consultado 12 julio 2020. 2015 s.p. Disponible en: <http://www.infostat.com.ar>.
49. Marais H. Aspects of mineral nutrition affecting fruit quality of Nadorcott mandarin. 2017. 144 p.
50. Mirsoleimani A, Shahsavar AR, Kholdebarin B. Seasonal changes of mineral nutrient concentrations of leaves and stems of “kinnow” mandarin trees in relation to alternate bearing. *International Journal of Fruit Science*. 2014;14(2):117–32.

51. Fu XZ, Xie F, Cao L, Ling LL, Chun CP, Peng LZ. Changes in mineral nutrition during fruit growth and development of Seike and Newhall navel orange as a guide for fertilization. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 2019;41(5):1–11.
52. Embleton T, Jones W, Labanouskas C. Leaf analysis as a diagnostic tool and guide to fertilization. En: Reuther W (ed). 1973. 475 p. *The citrus industry*. Berkeley, University of California. 183-210.
53. Mansour R. Determination of nutritional composition in citrus fruits (*C. aurantium*) during maturity. *Nutrition & Food Science*. 2018;49:299317.
54. Xiao JX, Yan X, Peng SA, Fang YW. Seasonal changes of mineral nutrients in fruit and leaves of Newhall and Skagg's Bonanza navel oranges. *Journal of Plant Nutrition*. 2007;30(5):671–90.
55. Martínez-Alcántara B, Quiñones A, Primo-Millo E, Legaz F. Efecto del aporte estacional del abono nitrogenado en cítricos. *Vida Rural*. 2009;(38–43).
56. Paramasivam S, Alva AK, Hostler KH, Easterwood GW, Southwell J. Fruit nutrient accumulation of four orange varieties during fruit development. *Journal of Plant Nutrition*. 2000;23(3):313–27.
57. Marschner H. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. Academic press. 2012;650p.
58. Habibi F, Ramezani A, Guillén F, Serrano M, Valero D. Susceptibility of blood orange cultivars to chilling injury based on antioxidant system and physiological and biochemical responses at different storage temperatures. *Foods*. 2020;9(1609):1–17.

4. DISCUSIÓN GENERAL

La producción de cítricos en Uruguay tiene como objetivo principal la exportación y, bajo este escenario, el manejo pre y poscosecha resultan fundamentales para alcanzar un producto de calidad en los mercados internacionales. La apertura y consolidación de nuevos mercados implica períodos de tiempo extendido de transporte, en los que la fruta debe viajar en condiciones de muy bajas temperaturas. En el caso de EE. UU., el viaje oscila entre 20 y 30 días y para los mercados asiáticos ese tiempo se duplica. La sensibilidad de los cítricos a las bajas temperaturas marca un desafío, en el que la generación de conocimiento y tecnologías de manejo para minimizarlo son clave. Entendiendo al DF como un proceso multifactorial influenciado por factores pre y poscosecha (Salvo et al., 2021, Zacarías et al., 2020, Lado et al., 2019), esta investigación enfoca el estudio en el período pre cosecha, abordando efectos hormonales (ABA exógeno) y nutricionales (fertilización con K y Mg).

La aplicación de ABA en precosecha disminuyó los síntomas de DF en naranja, reduciendo el número de frutos con daño, así como la proporción de daños moderados y graves. Sin embargo, el efecto depende del tiempo en el que el fruto está expuesto a bajas temperaturas y de la sensibilidad varietal. Las aplicaciones de ABA se traducen en un menor desarrollo de DF, especialmente en situaciones con menor incidencia del problema, como en las primeras semanas de conservación en Salustiana o al final del almacenamiento en W. Navel. Este efecto no se observa cuando los niveles de DF son más intensos. Estudios recientes demuestran que no solo la aclimatación puede inducir tolerancia a las bajas temperaturas, sino que también podría favorecerse bajo la existencia de eventos de estrés breves y únicos. Este efecto llamado *priming* no modifica la sensibilidad al frío de forma permanente, sino que genera a nivel celular "memoria" por un tiempo determinando y variable (Baier et al., 2018). Los compuestos más importantes en este proceso son las ERO, enzimas antioxidantes, hormonas vegetales, especialmente jasmonatos, salicilatos y ABA, así como también otras moléculas de señalización. La modificación de la tolerancia puede asociarse a diferentes procesos de señalización que provocan una reorganización a nivel metabólico, preparando los tejidos para una futura situación de estrés, como las bajas temperaturas (Baier et al., 2018).

Las aplicaciones de ABA han sido vinculadas a la mitigación del DF en numerosas especies (Wang et al., 2020, Karimi et al., 2016, Li y Dami, 2016, Zhang y Dami, 2012). A pesar de su efecto en la aparición del DF, no se observaron cambios en la calidad externa o interna de los frutos tratados. Si bien existen numerosos trabajos en diferentes especies que describen el efecto del ABA en variables de calidad, no existe un consenso en relación a la respuesta a esta hormona (Kou et al., 2021, Gan et al., 2020, Rehman et al., 2018, Setha, 2012, Peppi et al., 2006). Por otro lado, la aplicación de un inhibidor de la biosíntesis de ABA (NDGA) no generó resultados opuestos a los de ABA, ni en la calidad del fruto ni en el desarrollo de DF. Las células vegetales presentan diferentes fuentes de suministro de ABA, por lo que ante la inhibición de la enzima NCED debido a la adición de NDGA podrían incrementarse el desdoblamiento y la liberación de ABA desde su forma conjugada (Jian y Hartung, 2008). Por otro lado, dado que las aplicaciones se realizaron individualmente al fruto, no es posible descartar un posible transporte de ABA desde otros tejidos, como se ha descrito en cítricos (Manzi et al., 2015). Además, el efecto del ABA se sugiere dependiente del momento de aplicación: en cítricos su cuantificación durante la poscosecha no se relacionó con el DF (Lafuente et al., 1997); sin embargo, su uso durante la precosecha generó cambios en parámetros de calidad del fruto (Rehman et al., 2018). El efecto de la aplicación de ABA o NGDA puede ser temporal, como fue descrito para tomate, en el que se observó que el ABA actúa temporalmente y reduce su eficacia a medida que pasan los días luego de aplicado (Zhang et al., 2009).

La importancia de un equilibrio mineral en los frutos podría ser un factor especialmente relevante para la manifestación de este desorden fisiológico en frutos cítricos (Nuñez et al., 2015, Ezz y Awad, 2009, Slutzky et al., 1981). Como consecuencia del agregado de diferentes dosis de los cationes K y Mg de forma individual y en combinación, se modificó la concentración de estos tanto en la hoja como en el flavedo del fruto de las naranjas en estudio, aunque no se observó una correlación entre el desarrollo de DF durante el período de almacenamiento y la concentración de estos cationes en la cáscara del fruto. Por el contrario, se verificó la existencia de una asociación entre la concentración de cationes en la hoja y el DF, especialmente hacia el final del almacenamiento. Se hallaron relaciones inversas entre la [K], [K]-[Mg], [K]-[Ca], [K]-([Ca] + [Mg]) y ([K] + [Mg])-[Ca] con el % DF y el IDF a los 42 d, 58 d y 58 d de almacenamiento

más 7 días en temperatura ambiente. En todos los casos, la [K] siempre surge como numerador en la relación, indicando la relación directa e inversa entre este catión y el DF.

Se considera que podría existir una relación de nutrientes en el tejido que favorece la tolerancia al frío, quizás vinculada con una mayor plasticidad de las membranas celulares, condición más favorable en respuesta a las bajas temperaturas. El K, Mg y Ca mejoran la respuesta de la cáscara del fruto ante condiciones de estrés (Zorb et al., 2014, El-Hilali et al., 2004): el K y el Mg, debido a su intervención en numerosas funciones primarias que contribuyen al metabolismo y el Ca, otorgando firmeza a los tejidos por ser parte de la estructura celular en conjunto con CHO estructurales (Ferguson, 1984). Además, sinérgicamente, los cationes promueven la homeostasis iónica frente a diferentes condiciones de estrés (Hasanuzzaman et al., 2018). La existencia de correlaciones con los cationes de la hoja, pero no en el fruto, evidencian la importancia que podrían tener las dinámicas de los minerales en el flavedo. Cabe mencionar que el análisis foliar, herramienta extensamente utilizada en cítricos, constituye un indicador de productividad en especies de este género (Sanz et al., 1987, Embleton et al., 1973). Su uso, en un momento específico del ciclo vegetal, se basa en que existe un conocimiento previo de la estabilidad de concentraciones de minerales en ese tejido. En el caso del flavedo, resultados recientes muestran que las concentraciones de K, Mg y Ca presentan tendencias decrecientes durante el período de maduración en fruta cítrica (Mansour, 2018). Sin embargo, se desconoce cómo responde dicha variabilidad ante diferentes niveles de disponibilidad de nutrientes, condición que podría revelar cuán clave sería conocer los niveles en el momento de la cosecha o en su defecto, en otros momentos del crecimiento y desarrollo del fruto. En conjunto con dichas variaciones, el proceso de dilución que ocurre durante la fase de expansión celular podría interferir en el hallazgo de correlaciones entre el desarrollo de DF y las [K], [Mg] y [Ca] en el fruto (Mansour, 2018).

La calidad interna de la fruta (SST, AT y SST/AT) no fue modificada por la fertilización catiónica diferencial en este trabajo. Se ha visto que el Mg y K se correlacionan positivamente con la acidez de la fruta (Alva et al., 2006) y, en lo que refiere a los SST, aún no se conoce la respuesta a la fertilización mineral (Mimoun et al., 2018, Ashraf et al., 2010, Ritenour et al., 2003). En la firmeza y color externo se registraron algunos cambios; sin embargo, no se evidencian patrones claros de respuesta en función de los nutrientes. El color se vio modificado en el momento de

la cosecha únicamente entre el tratamiento de K y Mg en dosis elevadas (200 % + 200 %), similar a lo reportado por Mimoun et al. (2018) en naranja Maltaise. La firmeza fue menor ante el agregado individual de 200 % K. Finalmente, la relación entre el grosor de cáscara y el DF no está establecida y parece ser dependiente del genotipo (Habibi et al., 2020, Cronje et al., 2017) y en el caso de Salustiana en las condiciones ensayadas parece no haber relación entre ambas variables.

5. CONCLUSIONES GENERALES

En síntesis, los resultados obtenidos en variedades de naranja de media estación indican que la aplicación de ABA al fruto retrasa la aparición y reduce la incidencia y severidad del DF durante la poscosecha. Además, las aplicaciones precosecha de ABA no modifican la calidad de la fruta, ni interna (SST, AT y SST/AT) ni externa (firmeza o el color del fruto), en las naranjas Salustiana y W. Navel. Si bien el efecto en la minimización del DF decrece a lo largo del almacenamiento, puede ser relevante para almacenamientos o transportes cercanos a los 30 días. En resumen, este trabajo sugiere que el ABA aplicado en precosecha minimiza el DF en poscosecha, por lo cual su aplicación podría ser interesante para reducir el problema a nivel comercial. Sin embargo, es deseable avanzar en optimizar el momento exacto de aplicación para lograr mayor eficiencia del ABA, así como ajustar y la frecuencia de aplicación de la hormona y establecer los efectos que pudiera presentar el ABA aplicado en planta entera.

La modificación de la fertilización al suelo parecería afectar el desarrollo de DF en naranjas, lo que confirma que el desarrollo de DF es afectado por la nutrición mineral. En el caso de los cationes, se sugiere que la tolerancia al DF en poscosecha varía en respuesta a la fertilización diferencial con K y Mg. Sin embargo, la falta de asociación entre el DF y la concentración de dichos cationes en flavedo imposibilita la construcción de un indicador predictivo del DF, requiriéndose un mayor número de años de estudio. El hallazgo de correlaciones con los cationes foliares, en específico, el vínculo del K con el Mg y Ca, pone de manifiesto la importancia de este indicador (estado nutricional de la hoja) y sustenta la necesidad de conocer la dinámica de estos cationes en el flavedo, con el fin de determinar el momento clave para su determinación.

El abordaje desde el campo de un desorden fisiológico que se manifiesta en la poscosecha resulta clave para consolidar herramientas de manejo que minimicen el DF en los cítricos. El enfoque individual de cada trabajo (hormonal y nutricional) busca entender un desorden fisiológico multifactorial como es el DF. Actualmente no existen manejos en campo para abordar este problema en los cítricos, por lo que, desde el punto de vista comercial, la aplicación hormonal en precosecha y/o el manejo nutricional que aporten a reducir el DF podrían convertirse en herramientas fácilmente incorporadas por el sector productivo. Continuar con trabajos futuros evaluando estas estrategias de forma combinada resulta promisorio para encontrar posibles efectos sinérgicos entre los dos enfoques.

6. BIBLIOGRAFÍA GENERAL

1. Baier M, Bittner A, Prescher A, Van Buer J. 2019. Preparing plants for improved cold tolerance by priming. *Plant, Cell & Environment*. 42(3), 782800. doi: 10.1111/pce.13394.
2. Balaguera-López E, Palacios O. 2018. Comportamiento poscosecha de frutos de mandarina (*Citrus reticulata* Blanco var. Arrayana): efecto de diferentes tratamientos térmicos. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 12(2): 369–78.
3. Cronje PJ, Barry GH, Huysamer M. 2013. Canopy Position Affects Pigment Expression and Accumulation of Flavonoid Carbohydrates of Nules Clementine Mandarin Fruit, Thereby Affecting Rind Condition. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 138:217–224.
4. DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuarias). 2021. Producción [En línea]. En: Anuario estadístico agropecuario 2021. Montevideo: MGAP (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca). Consultado 10 noviembre 2021. Disponible en: <https://www.gub.uy/ministerioganaderiaagriculturapesca/comunicacion/publicaciones/anuarioestadisticoagropecuario2021>.
5. Ghasemnezhad M, Marsh K, Shilton R., Wolf M, Babalar A. 2008. Effect of hot water treatments on chilling injury and heat damage in satsuma mandarins: Antioxidant

- enzymes and vacuolar ATPase and pyrophosphatase. *Postharvest Biology and Technology*, 48(3): 364-371.
6. Holland N, Menezes HC, Lafuente MT. 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(22): 8790–6.
 7. Magwaza LS, Opara UL, Cronje, PJ, Landahl S, Terry LA, Nicolai BM. 2013. Nonchilling physiological rind disorders in Citrus fruit: A review. *Horticultural Reviews*. 41: 131-176.
 8. Martínez Jávega JM, Cuquerella J, Del Río MA, Navarro P. 1997. En: Reunión Internacional CYTED (Proyecto XI.10, 1997, La Habana, Cuba). Estudios de tratamientos cuarentenarios mediante el uso de bajas temperaturas en frutos cítricos. Valencia, España. Ed. C. Saucedo y R. Báez. 1523.
 9. Muñoz P, Tijero V, Teribia N, Bosch SM, Munné-Bosch S. Abscisic acid, a key phytohormone for antioxidant production in sweet cherries. 2016. En: Associação Portuguesa de Horticultura (APH), editores. IX Simpósio Ibérico de Maturação e Pós-Colheita, L. isboa, Portugal, 2-4 nov. 2016;28:59–66.
 10. Royo C. 2010. Respuesta de los frutos cítricos a las bajas temperaturas: estudio mediante micromatrices. 153 p.
 11. Porat R, Pavoncello D, Peretz J, Benyehoshua S, Lurie S. 2000. Effects of various heat treatments on the induction of cold tolerance and on the postharvest qualities of “Star Ruby” grapefruit. *Postharvest Biology and Technology*. 18(2): 159–65.
 12. Salvo M, Rey F, Arruabarrena A, Gambetta G, Rodrigo MJ, Zacarías L, Lado J. 2021. Transcriptional analysis of repeat binding factors in fruit of citrus species with differential sensitivity to chilling injury during postharvest storage. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(2), 804. 120. <https://doi.org/10.3390/ijms22020804>.
 13. Schirra M. 1992. Behaviour of “Star Ruby” grapefruits under chilling and nonchilling storage temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 2(4): 315–27.

14. Urano K, Maruyama K, Ogata Y, Morishita Y, Takeda M, Sakurai N, Suzuki H, Saito K, Shibata D, Kobayashi M, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2009. Characterization of the ABA regulated global responses to dehydration in *Arabidopsis* by metabolomics. *Plant Journal*, 57(6): 1065–78.
15. Wu GA, Terol J, Ibanez V, LópezGarcía A, Pérez-Román E, Borredá C, Domingo C, Tadeo FR, Carbonell-Caballero J, Alonso R, Curk F, Du D, Ollitrault P, Roose ML, Dopazo J, Gmitter FG, Rokhsar DS, Talon M. 2018. Genomics of the origin and evolution of Citrus. *Nature*, 554(7692): 311–6.
16. Zacarías L, Cronje P, Palou LI. 2020. Postharvest technology of citrus fruits. En: Talón M, Caruso M. Gmitter JrFG. (Eds.). *The Genus citrus*. Woodhead Publishing. Elsevier. 421446.