

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EFFECTO DEL ANILLADO DE TRONCO EN EL CAMBIO DE COLOR DE
MANDARINA 'CLEMENTINA DE NULES' (*Citrus reticulata*)**

por

Virginia PEREIRA das NEVES

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo.**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2014**

Tesis aprobada por:

Director:

Ing. Agr. Dra. Giuliana Gambetta

Ing. Agr. MSc. Alfredo Gravina

Ing. Agr. Ana Paula Mautone

Fecha: 28 de julio de 2014

Autor:

Virginia PEREIRA das NEVES

AGRADECIMIENTOS

A mi familia y Marcelo por acompañarme en todo el trascurso de la carrera y por impulsarme siempre a seguir adelante.

A mis amigos y al equipo de Ecofisiología de citrus: Florencia, Carolina, Santiago y Natalia por su amistad y su colaboración en los trabajos realizados.

A mis tutores Giuliana y Alfredo, por los aportes y correcciones a lo largo de este trabajo, y a Ana Paula por ser parte del tribul.

Al Ingeniero Agrónomo Alejandro Klisich por su aporte en los conocimientos de estadística.

A mis compañeros, docentes y funcionarios de Facultad de Agronomía.

Al establecimiento 'Frutícola Libertad' y al personal, por el apoyo brindado.

A la empresa Milagro S.A, especialmente al Ingeniero Agrónomo Pablo Zócalo por poner a disposición el packing para el tratamiento de desverdizado de los frutos.

TABLA DE CONTENIDO

| | Página |
|--|--------|
| PÁGINA DE APROBACIÓN..... | II |
| AGRADECIMIENTOS. | III |
| LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES..... | VI |
| 1. <u>INTRODUCCIÓN</u> | 1 |
| 2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> | 4 |
| 2.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS FRUTOS CÍTRICOS. | 4 |
| 2.2. CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL FRUTO..... | 4 |
| 2.3. MADURACIÓN INTERNA Y EXTERNA..... | 6 |
| 2.3.1. <u>Maduración interna</u> | 6 |
| 2.3.2. <u>Maduración externa</u> | 8 |
| 2.4. FACTORES ENDÓGENOS Y EXÓGENOS QUE REGULAN EL DESARROLLO DEL COLOR..... | 8 |
| 2.4.1. <u>Factores hormonales</u> | 8 |
| 2.4.1.1. Etileno..... | 8 |
| 2.4.1.2. Ácido Abscísico (ABA)..... | 9 |
| 2.4.1.3. Giberelinas (Gas)..... | 10 |
| 2.4.1.4. Citoquininas..... | 13 |
| 2.4.1.5. Auxinas..... | 13 |
| 2.4.2. <u>Factores nutricionales</u> | 14 |
| 2.4.2.1. Carbohidratos..... | 14 |
| 2.4.2.2. Nitrógeno..... | 15 |
| 2.4.3. <u>Factores ambientales vinculados al proceso de maduración</u> | 16 |
| 2.4.3.1. Temperatura..... | 16 |
| 2.5. TECNOLOGÍA PARA ADELANTAR EL CAMBIO DE COLOR..... | 17 |
| 2.5.1. <u>Precosecha</u> | 17 |
| 2.5.2. <u>Poscosecha</u> | 19 |

| | |
|--|----|
| 2.6. EFECTO DEL ANILLADO DE OTOÑO EN LA FLORACIÓN..... | 20 |
| 3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> | 21 |
| 3.1. EVALUACIÓN DE COLOR Y TAMAÑO DE LOS FRUTOS..... | 22 |
| 3.2. EVALUACIÓN DE CALIDAD INTERNA..... | 24 |
| 3.3. COSECHA DE FRUTOS..... | 24 |
| 3.4. DESVERDIZADO DE FRUTOS..... | 24 |
| 3.5. EVALUACIÓN DE FLORACIÓN Y BROTACIÓN..... | 25 |
| 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 25 |
| 4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> | 26 |
| 4.1. EVALUACIÓN DE COLOR Y TAMAÑO DE LOS FRUTOS..... | 26 |
| 4.1.1. <u>Color</u> | 26 |
| 4.1.2. <u>Tamaño de frutos</u> | 32 |
| 4.2. EVOLUCIÓN DE CALIDAD INTERNA..... | 33 |
| 4.3. COSECHA DE FRUTOS..... | 35 |
| 4.4. COLOR EN PLANTA DE EMPAQUE..... | 36 |
| 4.5. FLORACIÓN Y BROTACIÓN..... | 38 |
| 5. <u>CONCLUSIONES</u> | 41 |
| 6. <u>RESUMEN</u> | 42 |
| 7. <u>SUMMARY</u> | 44 |
| 8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> | 45 |

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

| Cuadro No. | Página |
|---|--------|
| 1. Intensidad de coloración (variable C), Luminosidad, ángulo HUE de los frutos de mandarina ‘Clementina de Nules’ de árboles anillados (1: 15 mar, 2: 6 abr), y testigos durante la fase II de crecimiento del fruto, al momento de la primera cosecha (29/04/2013)..... | 29 |
| 2. Calidad interna de los frutos de mandarina ‘Clementina de Nules’ provenientes de árboles anillados y sin anillar todos los tratamientos en primera cosecha (29/04/2013)..... | 34 |
| 3. Variables de color C, L y H de los frutos de de mandarina ‘Clementina de Nules’ luego del tratamiento de desverdizado de la primera cosecha (29 abr). | 37 |
| 4. Intensidad de floración y brotación (17/10/2013) en árboles de mandarina ‘Clemenitna de Nules’ testigos y anillados durante la fase II de crecimiento de frutos, y carga de frutos de los diferentes tratamientos y testigo del ciclo anterior..... | 38 |

Figura No.

1. Imagen del tratamiento de anillado simple (izquierda) y doble (derecha)..... 21
2. Determinación del color con colorímetro digital (izquierda). Círculo cromático (derecha): eje horizontal (*a*), eje vertical (*b*), C o croma y ángulo hue..... 23
3. Fotografía de medición de calibre de los frutos a campo..... 23
4. Evolución del color de los frutos de mandarina ‘Clementina de Nules’ en árboles anillados (A) y no anillados (Testigo), durante el transcurso del experimento. Fecha de anillado: 1: 15 mar, 2: 6 abr. A) Ángulo Hue (*h*) y B) intensidad de coloración, croma (C)..... 27
5. Promedio de temperaturas diarias desde la instalación del experimento hasta cosecha, la línea roja indica 18°C..... 28
6. Árboles de mandarina ‘Clementina de Nules’ testigo y con tratamientos de anillado de tronco durante la fase II de crecimiento de fruto..... 31
7. Evolución del diámetro ecuatorial de frutos (mm) de mandarina ‘Clementina de nules’ provenientes de árboles testigos y anillados (1: 15 mar, 2: 6 abr)..... 32
8. Evolución de sólidos solubles totales (A) y acidez (B) de frutos de mandarina ‘Clementina de Nules’ provenientes de árboles anillados (A1: 15 mar, A2: 6 abr) y sin anillar (Testigo) durante

| | |
|---|----|
| todo el período de estudio..... | 34 |
| 9. Porcentaje de los frutos cosechados de mandarina ‘Clementina de Nules’ en primera (29/4/13) y segunda fecha (9/5/13) de todos los tratamientos realizados y testigo..... | 36 |
| 10. Distribución de tipos de brotes por tratamientos de mandarina ‘Clementina de Nules’..... | 40 |

1. INTRODUCCIÓN

La producción de fruta cítrica en Uruguay se destina, desde hace 40 años, a la exportación para consumo en fresco y en menor proporción para consumo interno e industria. La superficie en producción es de 16250 ha efectivas; en 2012 la producción total fue de 330649 toneladas, de las cuales el 28 % se exportó, el 43 % se destinó al mercado interno y pérdidas de frutos ocasionadas por las intensas heladas del 2012 y el 28 % a la industria (URUGUAY. MGAP.DIEA, 2013).

El 85 % de la producción del país se encuentra en la zona norte y el 15 % en la zona sur. Las especies cítricas predominantes son las naranjas y mandarinas, ocupando el 50 % y el 38 % de las hectáreas efectivas, respectivamente; en tercer lugar se sitúan los limones, que representan el 11 % y muy por debajo los pomelos, que ocupan el 1 % (URUGUAY. MGAP.DIEA, 2013).

El mercado mundial de fruta cítrica exige ciertos estándares de calidad que es necesario alcanzar para su comercialización, destacándose externamente tamaño, color, forma, ausencia de daños y grosor de piel, e internamente, sabor, azúcares, acidez, pulpa ligera y ausencia de semillas, de suma importancia para obtener mejores precios de comercialización.

En las variedades de ciclo corto, la maduración interna se alcanza antes de que la piel adquiera el color característico. Esto lleva a que en nuestro país, las mandarinas Satsumas y Clementinas sean desverdizadas en cámaras de etileno en planta de empaque. Durante este proceso, se produce un envejecimiento de la piel, como consecuencia, una menor vida de los frutos durante el transporte a los mercados destino (Plaza et al., 2004).

La disminución de la temperatura del aire y especialmente del suelo son los factores exógenos determinantes del inicio del cambio de color (Young y Erickson 1961, Soonen et al. 1979, Gambetta et al. 2010, Mesejo et al. 2012). En experimentos realizados en las condiciones productivas de España y Uruguay, el umbral de temperatura para que el proceso se desarrolle, se encontró en 20-23°C con citrange Carrizo como portainjerto y en 18°C para *P.trifoliata*. La disminución de la temperatura del suelo mediante la colocación de mallas reflectantes, o mediante la cobertura con cal bajo la copa de los árboles, ha permitido un leve adelanto en el cambio de color (Gambetta et al. 2010, Mesejo et al. 2012) y “en algunos casos, la disminución del tiempo de desverdizado¹”. Sin embargo, en Uruguay, el efecto fue más reducido, debido a que la disminución de la temperatura del suelo no siempre se logra por debajo de los umbrales asociados a la reducción del metabolismo del portainjerto, y adicionalmente, la necesidad de reponer el material tras las lluvias y el aumento del pH del suelo, la convierten en una práctica de manejo de difícil aplicación.

Dentro de los factores endógenos, se ha demostrado que la disminución de la concentración de giberelinas y la acumulación de carbohidratos en el flavedo de los frutos, promueven el cambio de color (Gambetta et al., 2012). Se ha probado que una mayor disponibilidad de fotoasimilados para el fruto, lo que determina una mayor acumulación de azúcares reductores en el tejido (Huff 1983, 1984, Fidelibus et al. 2008) y un menor aporte de nitrógeno (Huff 1984, Iglesias et al. 2001), estimulan el proceso.

Ajustar medidas de manejo que permitan incrementar el contenido de carbohidratos en los frutos, se presenta como una alternativa promisoriosa para mejorar la coloración de éstos en el árbol. En ese sentido, el anillado de tronco

¹ Gambetta, G. 2013. Com. personal.

o ramas, es una práctica agronómica de amplio uso en la citricultura, fundamentalmente aplicada post-floración, para la mejora del cuajado en variedades de bajo índice de partenocarpia (Gravina et al. 1997, Goren et al. 2003). El anillado interrumpe transitoriamente el floema, promoviendo el incremento de los carbohidratos en hojas y ramas de cítricos, aumentando su disponibilidad para los frutitos en desarrollo y como consecuencia, incrementando el cuajado (Rivas et al., 2006). Se plantea como hipótesis, que si el anillado se realiza previo a la maduración de los frutos, puede promover el aumento de carbohidratos en la piel y como consecuencia estimular la toma de color.

El objetivo principal del presente trabajo fue determinar si el anillado de tronco, realizado en mandarina 'Clementina de Nules' (*Citrus reticulata* Bl.), en etapas próximas al cambio de color, adelanta este proceso e incrementa el porcentaje de frutos cosechados en fechas tempranas. Asimismo se planteó determinar si el anillado mejora la coloración de los frutos luego del desverdizado en cámara de etileno y evaluar si se altera en la planta el retorno floral en la primavera siguiente.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS FRUTOS CÍTRICOS

Los frutos se clasifican en climatéricos y no climatéricos, dependiendo básicamente del patrón respiratorio y de la producción de etileno (Oetiker y Yang, 1995). Los frutos climatéricos presentan un incremento de la tasa respiratoria, acompañado de una síntesis autocatalítica de etileno; se caracterizan por acumular almidón durante su crecimiento y al momento de la maduración lo transforman en monosacáridos (glucosa y fructosa principalmente), es el caso de manzanas y peras, entre otros. Los frutos no climatéricos como los cítricos acumulan directamente azúcares simples durante todo su crecimiento, esto explica que al momento de la maduración no exista un incremento importante en la tasa respiratoria (Ascón-Bieto y Talón, 2008), la actividad respiratoria es lenta y constante durante la maduración, con una ligera disminución en post-cosecha (Aharoni 1968, Reid et al. 1973, Goldschmidt 1997).

El fruto cítrico es un tipo especial de baya, denominada hesperidio, está compuesto por flavedo o exocarpo, que es el tejido más externo y se caracteriza por una coloración verde cuando el fruto aún no alcanza su madurez, cambiando luego a naranja o amarillo, dependiendo de la especie. El mesocarpo o albedo es un tejido blanco esponjoso formado por células parenquimáticas y el endocarpo o pulpa está constituido por los gajos. Éstos, internamente están formados por vesículas procedentes de la pared dorsal de los carpelos; estas vesículas contienen el jugo, además de un pedúnculo por el que se nutren.

2.2. CRECIMIENTO Y DESARROLLO DEL FRUTO

El crecimiento de los frutos cítricos sigue una curva sigmoide, donde se diferencian claramente tres fases (Bain, 1958). La fase I comienza en la antesis y continúa hasta el final de la caída fisiológica de los frutos; en esta etapa, caracterizada por la división celular, se observa un rápido crecimiento, debido al aumento del número de células de la mayoría de los tejidos. El crecimiento de la cáscara ocurre principalmente por un incremento en el número de células del exocarpo y un engrosamiento de las paredes del mesocarpo. En el endocarpo ocurre la división celular de los septos y paredes tangenciales de los lóculos (Bain 1958, Agustí et al. 2003).

La fase II ocurre desde el fin de la caída fisiológica hasta poco tiempo antes del cambio de color del fruto; la duración de este período puede ser de dos o tres, hasta cinco o seis meses, dependiendo si son variedades precoces o tardías. En esta etapa no ocurre prácticamente división celular excepto en el exocarpo y el aumento de tamaño se da por el desarrollo de los lóculos, donde en su interior, la vesículas de jugo alcanzan su máximo volumen y longitud debido al incremento de éste (Burns et al. 1992, Agustí 2003).

En la última etapa, el crecimiento de la corteza puede ser importante o muy poco perceptible, dependiendo del cultivar que se trate (Agustí, 2003). La coloración de la piel del fruto cambia como consecuencia de la degradación enzimática de las clorofilas del flavedo, dándose simultáneamente la síntesis de carotenoides (Gross 1981, Alós et al. 2006).

El tamaño de los frutos está afectado por factores endógenos y exógenos. Entre los primeros, luego del factor genético propio del cultivar, el número de frutos por planta, relacionado inversamente con el tamaño, es el factor preponderante (Guardiola, 1992). Una alta presencia de frutos determina mayor competencia por nutrientes y fotoasimilados limitando el crecimiento

individual, y por tanto un menor tamaño final del fruto. El tipo de brote también puede afectarlo, en la medida que se ha demostrado que brotes con hojas presentan mayor velocidad de crecimiento respecto a los que no lo presentan (daCunha Barros y Gravina, 2006). Dentro de los factores exógenos, las temperaturas extremas producen abscisión de frutos, si ésta no es excesiva, determina un mayor tamaño por fruto debido a una mayor disponibilidad de fotoasimilados para aquellos que permanecen en la planta. El tipo de suelo también podría condicionar el tamaño; los suelos arenosos determinarían frutos de mayor tamaño, con respecto a suelos arcillosos y francos. Las prácticas culturales son otros aspecto que afectan la tasa de crecimiento, donde el riego y aplicaciones de fertilizantes en dosis adecuadas son fundamentales para el crecimiento de frutos (Agustí, 2003).

2.3. MADURACIÓN INTERNA Y EXTERNA

En los frutos cítricos el exocarpo y mesocarpo no están conectados vascularmente al endocarpo, lo que podría estar explicando la relativa independencia entre la maduración de ambos tejidos (Monselise, 1977). Sin embargo, en la mayoría de los casos coinciden en el tiempo, a excepción de las mandarinas tempranas tales como las Satsumas y Clementinas y alguna mandarina de media estación como la 'Ellendale'.

2.3.1. Maduración interna

Los frutos cítricos contienen mayoritariamente agua, azúcares y ácidos orgánicos, principalmente ácido cítrico. Durante la maduración, el contenido de sólidos solubles totales (SST) aumenta, mientras que la acidez disminuye (Holland et al., 1999) debido a la metabolización del ácido cítrico; adicionalmente durante este período ocurre biosíntesis de carotenoides (Goldschmidt, 2000). Alrededor de tres cuartas partes del total de los SST en el jugo de los frutos cítricos son azúcares, principalmente sacarosa, glucosa y

fructosa (Soule y Grierson, 1978). El patrón estacional de acidez de naranjas y mandarinas muestra una rápida disminución al principio de la temporada, con una disminución gradual a partir de entonces.

El índice de madurez es la relación entre los SST y la acidez titulable, también denominado 'ratio'. Este indicador de la madurez interna de los frutos, se incrementa a medida que avanza el proceso de maduración (Soule y Grierson, 1978). Se ha citado que el anillado de tronco realizado de 2 a 4 semanas luego de finalizada la caída fisiológica, da como resultado frutos con mayores niveles de 'ratio'. Sin embargo, el efecto del incremento de los SST se pierde al realizar el anillado dos años consecutivos (Peng y Rabe, 1996).

El porcentaje de jugo es otra de las variables a considerar para la comercialización de los cítricos. En estudios previos se ha demostrado que las naranjas tempranas y de media estación, a principios de otoño contienen alrededor de 50 % de jugo y éste se incrementa alrededor de 7 a 8 % en los próximos meses (Soule y Grierson, 1978). Asimismo, en variedades propensas al bufado, las aplicaciones de ácido giberélico previo al cambio de color de los frutos, incrementan el porcentaje de jugo y mejoran la calidad, permitiendo de esta manera mayor conservación de los frutos en el árbol, aproximadamente dos meses y medio después de la maduración de los frutos (García-Luis et al., 1985).

2.3.2. Maduración externa

La maduración externa de los frutos ocurre una vez culminada la etapa de crecimiento de los mismos. En las dos primeras fases de crecimiento del fruto, las clorofilas son los pigmentos preponderantes; durante la fase III ocurre la transformación de cloroplastos del exocarpo en cromoplastos, conjuntamente con la degradación de clorofilas y la síntesis de carotenoides (Gross 1981, Goldschmidt 2000). En la piel del fruto, la degradación de clorofilas es irregular,

siendo más rápida en la zona estilar con respecto a la peduncular (Huff, 1984). El cambio de color de los frutos y su reverdecimiento son procesos reversibles, relacionados a las condiciones ambientales y nutricionales (Huff 1983, Agustí 2003)

El desarrollo del color en el flavedo de naranjas y mandarinas, es consecuencia de la acumulación de carotenoides oxigenados (Gross 1981, Rodrigo et al. 2003). La concentración y composición de carotenoides en el flavedo varía notablemente entre especies y cultivares, y a su vez depende de las condiciones ambientales (Gross, 1977). Se ha demostrado que el pigmento preponderante en la piel de naranjas y mandarinas maduras es el 9 cis-violaxantina (Gross 1981, Rodrigo et al. 2003, 2006). Otros pigmentos importantes en esta etapa son la β -citaurina y β -criptoxantina, que aun en bajas concentraciones confieren una coloración intensa (Gross, 1981).

Kato et al. (2004) estudiando la asociación entre la expresión de genes y la acumulación de carotenoides durante el proceso de maduración de fruta en naranja 'Valencia' y mandarina Satsuma, reportan un aumento en la expresión de los genes CitPSY, CitPDS, CitZDS, CitLCYb, CitHYb y CitZEP, lo que se asocia a una acumulación de xantofilas en el flavedo y en el jugo del fruto.

2.4. FACTORES ENDÓGENOS Y EXÓGENOS QUE REGULAN EL

DESARROLLO DEL COLOR

2.4.1. Factores hormonales

2.4.1.1. Etileno

Los frutos cítricos presentan una tasa basal de producción de etileno muy baja, la que varía a lo largo del desarrollo del fruto (Goldschmidt et al., 1993). En naranja 'Valencia' se demostró que frutos jóvenes, durante la fase I se comportan como frutos climatéricos, produciendo altos niveles de etileno y

de forma autocatalítica; sin embargo, desde la fase II y durante la maduración, los frutos pierden esta capacidad y se comportan como no climatéricos, manteniendo los niveles de producción de etileno bajos y constantes (Katz et al., 2004).

Las aplicaciones de etileno promueven el cambio de color de los frutos y su senescencia (Goldschmidt et al., 1993).

La pérdida de clorofila ocurre naturalmente durante la senescencia de tejidos vegetativos y durante la maduración de los frutos. El etileno parece influir en el desverdizado de los cítricos estimulando la síntesis de novo de la clorofilasa (Shimokawa et al. 1978, Trebitsh et al. 1993, Yamauchi et al. 1997). Adicionalmente, la aplicación de etileno disminuye la síntesis de clorofila, a través de la represión de la enzima magnesio quelatasa (Fuji et al., 2007).

Se ha citado que el tratamiento con etileno aumenta el contenido de carotenoides en el flavedo de los frutos, a través del aumento del fitoeno, fitoflueno y violaxantina (Rodrigo y Zacarías, 2007).

Fuji et al. (2007) demostraron que el etileno reprime la mayoría de los genes involucrados en la transcripción de la fotosíntesis y la biosíntesis de cloroplastos, y por otro lado, induce la transcripción de genes involucrados en la biosíntesis de los carotenoides, afectando directamente la composición de éstos en los frutos. En frutos de naranja 'Navelate', el etileno exógeno reproduce y acelera los cambios que naturalmente ocurren durante la maduración, promoviendo el cambio de color a través del estímulo de la ruta de biosíntesis de carotenoides (Rodrigo y Zacarías, 2007).

2.4.1.2. Ácido abscísico (ABA)

Durante la maduración, la concentración de ABA se incrementa en el flavedo de los frutos (Goldschmidt 1976, Rodrigo et al. 2003). Sin embargo, algunos estudios realizados en naranjas determinan que el aumento de los

niveles endógenos, coincide con el inicio de la coloración de los frutos, pero el pleno desarrollo del color sólo se produce después del descenso de los niveles de ABA (Richardson y Cowan 1995, Gambetta 2009).

Rasmussen (1974) demostró que cuando el ABA se inyecta al pedúnculo del fruto, se produce un incremento en la síntesis de etileno y que aplicaciones exógenas de ABA aumentan el contenido endógeno de etileno en el flavedo, sin afectar el contenido en el albedo, ni la producción de etileno en este último.

El anillado del pedúnculo de frutos de naranja 'W. navel', retrasa la toma de color, a pesar de mantener más altas concentraciones de ABA en el flavedo con respecto a los frutos sin anillar, por lo que se sugiere que el ABA no sería el factor desencadenante del cambio de color de los frutos cítricos (Gambetta et al., 2012).

2.4.1.3. Giberelinas (GAs)

El rol antisenescente de las giberelinas, ha sido ampliamente estudiado. La aplicación exógena de ácido giberélico retrasa la toma de color de los frutos cítricos (García-Luis et al. 1992, Fidelibus et al. 2008), estimulando la biosíntesis de clorofila (Lewis y Coggins 1964, Fujii et al. 2008) y reprimiendo su degradación (García-Luis et al., 1985), al mismo tiempo que inhibe la ruta de síntesis de carotenoides (Alós et al., 2006). Recientemente, se ha probado que la concentración de GAs activas (GA_1 y GA_4) aumenta en la fase II del crecimiento del fruto y posteriormente disminuye en la piel del mismo durante el cambio de color. En el mismo sentido, frutos con el pedúnculo anillado, que mantienen altas concentraciones de estas giberelinas en el flavedo, no logran cambiar de color (Gambetta et al., 2012).

Dentro de los primeros reportes sobre aplicaciones de ácido giberélico a los frutos, se cita que los frutos tratados con GA_3 luego de la cosecha, tardan un

período de dos meses para alcanzar una coloración adecuada, mientras que los frutos sin tratar completan el proceso en tres semanas (Eilati et al., 1969). Con aplicaciones de ácido giberélico realizadas a frutos presentes en las plantas y frutos ya cosechados, se encontró que los primeros prácticamente no cambiaron de color durante meses, debido a la mayor capacidad de traslocación, mientras que los frutos cosechados tuvieron un cambio lento y constante en el color, probablemente debido a la menor traslocación (Goldschmidt y Eilati, 1970). El máximo retraso en la toma de color de mandarina Clementina con aplicaciones de ácido giberélico (GA_3) se da cuando se realizan al comienza la degradación de clorofilas, y ocurre a una tasa constante en un período aproximado de 45 días; la acumulación de carotenoides ocurre 10 días después del inicio de la degradación de clorofilas (García-Luis et al., 1992).

Recientemente, se ha probado que el efecto de la aplicación de GA_3 a frutos de mandarina 'Clementina', se debe a que estimula la transcripción de la magnesio quelatasa, promoviendo la síntesis de la clorofila, reprime la transcripción de la feofórbido oxigenasa, reduciendo su degradación y la síntesis de la mayoría de las enzimas de la ruta de biosíntesis de carotenoides (Fujii et al., 2008), es decir que, a nivel de expresión génica, tiene un efecto opuesto a la aplicación de etileno (Fujii et al., 2007). En el mismo sentido Rodrigo y Zacarías (2007) indican que el GA_3 retrasa el desverdizado de frutos en naranja 'Navelate' y reduce la expresión de genes de enzimas que estimulan la biosíntesis de carotenoides, reduciendo la acumulación de fitoeno, fitoflueno y citraurina, inducida por el etileno. De igual manera, las aplicaciones de GA_3 retrasan la acumulación de carotenoides y afectan la composición de los mismos en frutos de mandarina Clementina; los autores encontraron que carotenoides como la luteína, α -caroteno, β -caroteno, todos los E-violaxantinas y neoxantina, que se encuentran presentes en frutos de color verde se

mantuvieron por más tiempo en los frutos tratados, mientras que se redujo la acumulación de fitoeno y de β,β -xantofilas, (9-cis) violaxantina (Alós et al., 2006).

En reportes más antiguos, se sugirió que el efecto que ejercen las GAs como inhibidoras en el proceso de toma de color en frutos cítricos, podría ser superado por el etileno (Eilati et al., 1969). Sin embargo, Trebitsh et al. (1993) reportan que el GA_3 contrarresta el aumento de la actividad clorofilasa inducido por el etileno, lo que significa que tiene una influencia negativa en la pérdida de clorofila de los frutos. Por otro lado, estudios previos demuestran que la clorofilasa no sería la única responsable de la regulación de la clorofila en el proceso de maduración natural de frutos de naranja 'Valencia', dado que el nivel de clorofilasa es bajo y constante durante el desarrollo natural del fruto, sin aumentar significativamente con el cambio de color. Los autores sugieren que es necesaria la degradación gradual de la clorofila durante la maduración, y que los bajos niveles de producción de etileno contribuirían al cambio de color, que estaría dado por un balance negativo entre la síntesis y la degradación de la clorofila (Jacob-Wilk et al., 1999).

Coincidiendo con las investigaciones anteriores asociadas a aplicaciones de GA_3 , Gambetta et al. (2012) demostraron que las concentraciones endógenas de giberelinas deben disminuir en el flavedo de los frutos para permitir el cambio de color de los mismos, por lo que sugieren que las giberelinas podrían ser las responsables de la regulación endógena del cambio de color.

Las giberelinas parecen estar relacionadas a otros factores endógenos, en la medida que los frutos tratados con GA_3 tienen menor concentración de SST que los frutos control, debido principalmente a los azúcares reductores (Gambetta et al. 2005, 2010, Fidelibus et al. 2008). De igual manera, el GA_3 mantiene un menor gradiente de sacarosa desde el albedo hacia el flavedo de

los frutos, lo que también estaría retrasando el cambio de color (Fidelibus et al., 2008). En frutos con pedúnculo anillado, con mayor concentración de giberelinas en el flavedo, se determinó una menor concentración de azúcares, mayor concentración de ABA y nitrógeno, sin diferencias en la producción de etileno, lo que sugiere que las GAs estarían relacionadas con la traslocación de azúcares, la acumulación de ácido abscísico y la retención de nitrógeno, pero no estarían implicadas en la regulación de la producción de etileno (Gambetta et al., 2012).

2.4.1.4. Citoquininas

La información respecto de la acción de las citoquininas sobre el cambio de color de los frutos cítricos es escasa y poco consistente. Van Staden et al. (1988) han citado que las aplicaciones de benciladenina retrasan el cambio de color del flavedo de naranjas, previniendo el aumento del ácido abscísico y del etileno y manteniendo los niveles de giberelinas. Coincidiendo con los autores anteriores, Eilati et al. (1969), Nagar (1993) indican que las citoquininas retrasan el cambio de color de los frutos, disminuyendo la tasa de degradación de clorofila y retrasando la senescencia de los mismos.

Por otro lado, se reporta que la N6-benciladenina disminuye la pérdida de clorofila inducida por la aplicación de etileno, pero no reduce la actividad de la clorofilasa (Trebitsh et al., 1993). Contrariamente, en mandarina Satsuma, las citoquininas (benciladenina y cinetina) no afectaron la degradación de clorofila (García-Luis et al., 1986).

2.4.1.5. Auxinas

La información sobre el efecto de las auxinas en la maduración de los frutos se centra en el retraso de la senescencia y abscisión pre-cosecha de éstos. Frenkel y Dick (1973) citaron que las aplicaciones exógenas retrasan la senescencia de los frutos y Agustí et al. (2006) demostraron que es posible

retrasar la abscisión de los frutos, disminuyendo la caída pre-cosecha de cultivares de naranja 'Washington' navel y 'Navelate'.

2.4.2. Factores nutricionales

2.4.2.1. Carbohidratos

Durante la fase I del crecimiento del fruto, éste consume carbohidratos para sustentar la división celular, mientras que a partir de la fase II, se convierte en una fosa de almacenamiento (Mehouachi et al., 1995). La concentración de sacarosa, glucosa y fructosa aumenta en la piel y en la pulpa durante la maduración.

Los carbohidratos tienen influencia en el cambio de color de la piel, existiendo una correlación negativa entre las concentraciones de clorofila y los azúcares del flavedo (Huff, 1984). El agregado de sacarosa in vivo a frutos de mandarina Satsuma, incrementó el contenido endógeno de éstos y estimuló el cambio de color, y se correlacionó negativamente con el contenido de nitrógeno en el flavedo de los frutos (Iglesias et al., 2001).

Las defoliaciones de las hojas cercanas al fruto, que impidieron la acumulación de sacarosa y la pérdida de nitrógeno en la piel de los mismos, no permitieron el cambio de color, es decir, que estos componentes estarían afectando la transformación de cloroplastos a cromoplastos (Iglesias et al., 2001).

Los azúcares reductores están más fuertemente asociados al cambio de color de los frutos cítricos que la sacarosa (Huff 1984, Sala et al. 1992, Fidelibus et al. 2008, Gambetta et al. 2012). Así, Holland et al. (1999) encontraron pocos cambios en los niveles de sacarosa en el flavedo de mandarina 'Fortune' durante el período de maduración, mientras que la concentración de fructosa y glucosa aumentó notablemente. Fidelibus et al.

(2008) citaron una relación inversa entre la coloración verde de la cáscara y el contenido de fructosa y glucosa en el albedo.

En condiciones *in vitro*, altas concentraciones de sacarosa en el medio de cultivo, promueven el desverdizado, e inhiben el reverdecimiento de discos de flavedo (Huff, 1984). En éstos, los cloroplastos se convierten en cromoplastos, principalmente debido a la acumulación de azúcares en el flavedo y el proceso inverso ocurre al reducir los azúcares del medio (Huff, 1984).

2.4.2.2. Nitrógeno

La presencia de este mineral en el fruto se encuentra en forma de aminoácidos, aminas, péptidos y proteínas (Agustí, 2003). El metabolismo del nitrógeno parece estar modulando negativamente la toma de color de los frutos cítricos, aunque no sería el factor desencadenante del proceso (Huff, 1984). Mediante experimentos *in vitro*, se ha demostrado que, contrariamente a lo que sucede con la sacarosa, en discos de flavedo colocados en un medio nutritivo, el nitrógeno inhibe la degradación de cloroplastos (Huff, 1983, 1984). En medios de cultivos con nitrógeno y sacarosa, el efecto de ésta fue menor con respecto a medios nutritivos únicamente con sacarosa (Huff, 1984).

A nivel endógeno, la concentración de N del flavedo disminuye durante el cambio de color (Iglesias et al. 2001, Gambetta et al. 2012), y la aplicación exógena de nitratos lo retrasa (Jones y Embleton 1959, Huff 1983, Lee y Chapman 1988, Sala et al. 1992), inhibiendo la degradación de clorofilas y retrasando la ruta de síntesis de carotenoides (Alós et al., 2006).

Asimismo, Gambetta et al. (2012) demostraron que al anillar el pedúnculo de los frutos, se retrasa el cambio de color, y dos meses después de realizado el tratamiento, éstos presentaron mayor concentración de N en el

flavedo que los frutos control, confirmando una asociación negativa entre la concentración de nitrógeno en la piel de los frutos y su coloración.

2.4.3 Factores ambientales vinculados al proceso de maduración

2.4.3.1. Temperatura

Estudios realizados en diferentes especies y cultivares, han demostrado que el cambio de color de los frutos cítricos se da cuando desciende la temperatura (Stearns y Young 1942, Erikson 1960, Young y Erikson 1961, Mesejo et al. 2012). Por otro lado los frutos de plantas creciendo en condiciones tropicales, no logran alcanzar la coloración completa (Erickson 1960, Reuther y Ríos-Castaño 1969). El descenso de la temperatura del aire y del suelo, trae como consecuencia una menor actividad radicular, por lo que disminuye la síntesis de giberelinas (Eilati et al., 1969) y la tasa de absorción de nitrógeno (Chapman y Parker, 1942) y por lo tanto se da un menor transporte hacia los frutos (Wallace, 1953), permitiendo el cambio de color. En este período de bajas temperaturas, el crecimiento vegetativo disminuye, por lo que la fosa más demandante es el fruto quien recibe un mayor aporte de carbohidratos.

Cuando las temperaturas aumentan, la actividad radicular se retoma y con ella la síntesis de giberelinas, así como la absorción y transporte de nitrógeno; en estas condiciones si el fruto permanece aún en la planta ocurre el reverdecimiento del mismo (Agustí, 2003).

En experimentos realizados durante 2 meses con plantas de naranjo dulce a diferentes temperaturas diurnas y nocturnas, se encontró que en los frutos de aquellas plantas expuestas a temperaturas diurnas de 20°C y nocturnas de 5°C se obtuvo mejor coloración y menor concentración de clorofilas, con respecto a las que fueron expuestas a temperaturas de 30°C y 10°C diurna y nocturna, respectivamente (Erickon, 1960).

En el mismo sentido, Young y Erickson (1961) reportan que temperaturas de aire diurnas de 20°C y nocturnas de 7°C, y con 12°C de temperatura del suelo, se logró la coloración naranja brillante característica del cultivar; temperaturas del suelo o del aire más altas dan lugar a frutos verdes. Como resultado de las bajas temperaturas se ha citado que en pomelo ocurre acumulación de azúcares reductores y estos azúcares desaparecen cuando las temperaturas son más cálidas (Purvis y Grierson, 1982).

El cambio de color en respuesta a las bajas temperaturas, estaría explicado además, por los cambios ocurridos en el contenido de sacarosa y nitrógeno en la corteza de los frutos (Huff, 1983).

Se ha citado que el umbral de temperatura para que el proceso se desarrolle, se encuentra entre 20°C y 23 °C con Citrange 'Carrizo' como portainjerto y en 18 °C para *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. El descenso de la temperatura del suelo mediante la colocación de mallas reflectantes o mediante la cobertura con cal bajo la copa de los árboles, ha permitido un leve adelanto en el cambio de color (Gambetta et al. 2010, Mesejo et al. 2012). Sin embargo, los resultados experimentales en las condiciones de Uruguay no han logrado resultados comercialmente viables. Estudios realizado por Gambetta (2009) indican que luego de un mes a temperaturas por debajo de 13°C, se logró el inicio de cambio de color en naranja 'Valencia late' estudiando color de los frutos mediante el índice de color (ICC).

2.5. TECNOLOGÍA PARA ADELANTAR EL CAMBIO DE COLOR

2.5.1. Precosecha

A diferencia de lo que ocurre con las medidas de manejo desarrolladas para retrasar la toma de color en campo, no se ha logrado ajustar medidas consistentes que permitan adelantar el cambio de color de los frutos en la planta.

Una de las alternativas sería la aplicación foliar de compuestos que liberan etileno; en este sentido se ha probado que la aplicación de ethephon, 20 o 25 días previos al cambio de color de los frutos, promueve su coloración, pero provoca alta defoliación de las plantas (Young et al. 1974, Pons et al. 1992). En la actualidad no es una práctica ampliamente utilizada a nivel comercial.

Por otro lado, se ha estudiado la aplicación de inhibidores de la síntesis o acción de las giberelinas, como el prohexadione de calcio. Los resultados son promisorios pero inconsistentes entre cultivares; Barry y van Wyk (2004) estudiaron la aplicación de prohexadione de calcio a concentraciones de 1000 mg l⁻¹ aproximadamente dos semanas antes de la cosecha, logrando una mejor coloración de la corteza de naranja 'Navelina', probablemente debido a una reducción en la concentración de giberelinas en la parte aérea de las plantas, y un incremento en el contenido total de carotenoides. De igual manera, aplicaciones de prohexadione de Ca en concentraciones de 200 y 400 mg l⁻¹ de producto activo en 'Clementina de Nules' y 'Navelina', aumentaron significativamente el color de la cáscara mediante el incremento de carotenoides y disminución de la concentración de clorofila en el flavedo de la fruta. Este resultado se observó antes y después del tratamiento de desverdizado con etileno para todos los citrus probados (Barry y Le-Roux, 2008).

Otra medida de manejo probada para adelantar la coloración de los frutos cítricos, es el anillado de tronco. El anillado es una práctica que consiste en la interrupción temporaria del transporte floemático entre la parte aérea de la planta y el sistema radicular. En consecuencia se deja mayor disponibilidad de carbohidratos por encima del corte; esta técnica se originó en citricultura para su uso en cultivares de comportamiento improductivo con el objetivo de aumentar el cuajado (Agustí, 2003). Peng y Rabe (1996) reportaron un efecto positivo del anillado de tronco realizado de 2 a 5 semanas luego de fin de

caída fisiológica de los frutos de mandarina Satsuma. Cuando el anillado se realizó de 8 a 11 semanas post caída la fisiológica, no mejoraron la coloración de la fruta y redujeron el vigor del árbol.

2.5.2. Poscosecha

En las variedades de ciclo corto, la maduración interna se alcanza antes de que la piel adquiera el color característico; esto lleva a que deban ser desverdizadas en cámaras de etileno en la planta de empaque. Durante este proceso, se produce un envejecimiento de la piel, lo que lleva a una menor vida de los frutos (Plaza et al., 2004), afectándose durante el transporte a los mercados destino. En nuestro país se utiliza etileno en muy bajas concentraciones (2 mg l^{-1} aproximadamente) para el proceso de desverdizado principalmente en Satsumas y Clementinas. En el primer reporte sobre el efecto del etileno, se demostró que diferentes concentraciones aplicadas al aire (1 en 1.0×10^3 o 1 en 2.0×10^5 respectivamente), producen el mismo efecto en la pérdida de coloración verde, aproximadamente 5 a 8 días post tratamiento. En este experimento el etileno aumentó la tasa de respiración de los limones (Denny, 1924).

Barry y van Wyk (2006) estudiaron la exposición de la fruta a un 'shock' de baja temperatura y su efecto en la coloración. Los resultados fueron inconsistentes y su efecto se relacionó con la temperatura a la que estuvieron expuestas durante el período previo a la cosecha. En "Clementina de Nules", se logró mejorar la coloración de frutas expuestas a 2°C durante 30 minutos y luego a 4°C durante 6 horas, con respecto al control, logrando la misma coloración que la fruta tratada con etileno, independientemente del color inicial de la fruta. Las concentraciones de carotenoides fueron similares entre la fruta desverdizada y la fruta expuesta al frío, y casi el doble de la fruta no tratada. Con respecto a la clorofila, en la fruta que recibió el tratamiento de frío, los niveles fueron nueve veces menores a los de la fruta sin tratar. Sin embargo, en

naranja navel, el tratamiento no mejoró la coloración, probablemente debido a que ya se había dado el descenso de la temperatura durante la precosecha.

2.6. EFECTO DEL ANILLADO DE OTOÑO EN LA FLORACIÓN

Se ha citado que el anillado realizado en otoño incrementa casi tres veces la intensidad de floración y la acumulación de almidón en las ramas (Goldschmidt et al., 1985). Asimismo, se determinó que la eliminación de la fruta en los tratamientos en los que se realizó anillado, incrementó aún más la floración, logrando un aumento de siete veces con respecto al control.

La aplicación de GA₃ provocó un pequeño pero significativo aumento en los niveles de almidón en hojas de ramas anilladas y sin anillar. Con estos resultados, los autores proponen que los carbohidratos cumplen un importante papel en el control de la floración en cítricos, además del conocido efecto de las giberelinas en el proceso, y que estos actuarían como factores independientes (Goldschmidt et al., 1985). Sin embargo, Martínez-Fuentes et al. (2010), Monerri et al. (2011) confirmaron que no existe una relación causa-efecto entre la concentración de azúcares solubles o almidón en las hojas y la floración.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en un establecimiento ubicado en la localidad de Libertad, San José, en un cuadro de mandarina 'Clementina de Nules' (*Citrus reticulata* Bl.), injertada sobre 'Trifolia' (*Poncirus trifoliata* L.Raf). Se seleccionaron 24 plantas en buen estado sanitario, similar tamaño y en condiciones no limitantes de fertilización y riego, con un marco de plantación de 5.5 m entre fila por 3 m entre plantas.

El diseño experimental fue de bloques completos al azar, la unidad experimental fue el árbol. Se realizaron 3 tratamientos de anillado de tronco y se dejó un tratamiento testigo (árboles sin anillar), con 6 repeticiones cada uno de ellos. El tratamiento 1 se identificó como anillado en primera fecha (15 de marzo 2013, 45 días previos a la primera fecha de cosecha), el tratamiento 2, anillado en segunda fecha (6 de abril 2013, 23 días previos a la cosecha) y el tratamiento 3 en ambas fechas (15 de marzo y 6 de abril, Figura 1).



Anillado simple



Anillado doble

Figura 1. Imagen del tratamiento de anillado simple (izquierda) y doble (derecha).

Desde el inicio del experimento hasta la cosecha, se registró la temperatura del aire, con un sensor Thermochron® (iButton DS-1921G-F5, Dallas Semiconductors, EUA), colocado en la copa de un árbol y programado para el registro horario de la temperatura.

3.1. EVALUACIÓN DEL COLOR Y TAMAÑO DE LOS FRUTOS

A partir de la instalación del experimento se midió el color de la piel de los frutos en todos los tratamientos, continuando con las mismas aproximadamente cada 10 a 15 días hasta concluir con las mediciones de campo, una vez realizada la primera cosecha de los frutos. En todos los casos, el tamaño de muestra fue de 20 frutos por árbol, efectuando 2 mediciones en la zona ecuatorial del fruto con colorímetro digital (PCE-TCR 200), (Figura 2). Se utilizó el sistema CIE L^*a^*b , donde:

L: luminosidad, indica evolución de negro a blanco (de 0 a 100)

a: indica evolución de verde a rojo en el círculo cromático (de negativo a positivo)

b: indica evolución de azul a amarillo en el círculo cromático (de negativo a positivo)

A partir de estas variables se calcularon las variables C y h, donde:

C: croma, tinta o intensidad de la coloración, indica la distancia desde el eje L al punto cromático ($c = \sqrt{a^2 + b^2}$)

h: ángulo Hue, representa la tonalidad e indica el ángulo entre el eje +a y la posición del color ($h = \text{ArcTg}(a;b)$).

El color de los frutos se presentó y analizó de acuerdo a las variables L^*C^*h (Figura 2). Se consideró cambio de color de los frutos, cuando la variable a alcanzó el valor 0, es decir, para un valor de ángulo Hue de 90°.

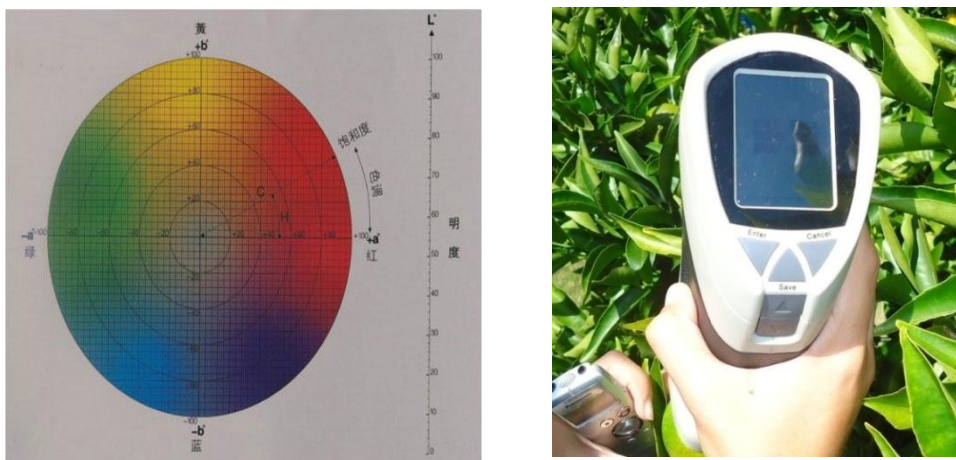


Figura 2. Determinación del color con colorímetro digital (izquierda). Círculo cromático (derecha): eje horizontal (a), eje vertical (b), C o croma y ángulo Hue.

En las mismas fechas en las que se evaluó el color en campo de los frutos, se midió el diámetro ecuatorial de 20 frutos por planta con calibre digital Mitutoyo absolute digimatic, modelo CD- 6" CX-B (Figura 3).



Figura 3. Fotografía de medición de calibre de los frutos a campo.

3.2. EVALUACIÓN DE CALIDAD INTERNA

La evolución de la calidad interna se determinó con una muestra de 5 frutos por repetición, tomada en 5 fechas a partir de la instalación del experimento (15/03), hasta la última cosecha (9/5). Los sólidos solubles totales se determinaron con refractómetro digital (°Brix). La acidez titulable (%) se analizó con 10 mL de jugo, por valoración con NaOH (0.1 N) y 3 gotas de fenolftaleína (1% en etanol 95%) como solución indicadora. Se calculó el índice de madurez ('ratio') mediante la relación SST: acidez titulable. El porcentaje de jugo se determinó considerando el peso de los frutos y el del jugo.

3.3. COSECHA DE FRUTOS

Las cosechas se realizaron en dos fechas, en base a criterios comerciales de color y madurez interna (29 de abril y 09 de mayo). En la primera fecha se cosecharon los frutos que habían alcanzado el color estándar mínimo para iniciar el tratamiento de desverdizado, y en la segunda se recolectaron todos los frutos restantes. En ambas fechas se cuantificó el número de frutos por tratamiento y se estimó el porcentaje de frutos cosechados en cada fecha en relación al total de frutos del árbol. Adicionalmente se tomó una muestra de 5 frutos por repetición para determinar la madurez interna.

3.4. DESVERDIZADO DE FRUTOS

Para el desverdizado, se seleccionó una muestra de 50 frutos por planta de cada tratamiento. Se trasladó la fruta en cajas de cartón a planta de empaque; previo al ingreso a cámara de desverdizado se les realizó tratamiento fitosanitario con Imazalil sulfato (7.5 mg l^{-1}) y 2.4.D (Citrus fix, 2.0 mg l^{-1}). Las condiciones de desverdizado de acuerdo al estándar utilizado comercialmente fueron de $1\text{-}3 \text{ mg l}^{-1}$ de etileno, $\text{CO}_2 < 0.2 \%$, temperatura $18\text{-}22^\circ\text{C}$ y humedad relativa 90-95%. El tiempo de desverdizado para ambas fechas de cosecha fue

aproximadamente de 75 horas; se midió el color de la piel de 10 frutos al momento de entrada y 5 frutos al momento de salida de la cámara del desverdizado para ambas fechas de cosecha.

3.5. EVALUACIÓN DE FLORACIÓN Y BROTAÇÃO

A mediados de octubre, en plena floración (50 % de flores en antesis) se cuantificó la floración y brotación en dos ramas por árbol, conteniendo al menos 150 nudos cada una, identificando en cada rama el tipo de brote y número de hojas y flores presentes en los brotes correspondientes.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables continuas como color y diámetro de frutos se analizaron ajustando modelos lineales generalizados (ANOVA); se consideró el efecto anidado de las diferentes fechas dentro de los tratamientos, con el programa RStudio; las medias de los efectos significativos fueron comparadas usando la prueba Tukey. El porcentaje de frutos cosechados en ambas fechas se analizó estadísticamente con un modelo lineal generalizado asumiendo distribución binomial, con el programa estadístico INFOSTAT (versión 2013), interfase con R (versión 3.0.1). Para la separación de medias se utilizó el test DGC. Las variables color luego del tratamiento de desverdizado, calidad interna, intensidad de floración, intensidad de brotación y distribución por tipo de brotes se analizaron utilizando modelos lineales generalizados y distribución binomial, con el programa SAS Institute (versión 9.2) la comparación de medias fue realizada usando la prueba Tukey.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. EVOLUCIÓN DE COLOR Y TAMAÑO DE LOS FRUTOS

4.1.1. Color

El color de los frutos permaneció prácticamente constante hasta fin de marzo; a partir de ese momento el ángulo Hue disminuyó notablemente en todos los tratamientos (Figura 4-A). Dicha respuesta en color se observó luego de un período de una semana con temperaturas próximas o por debajo de 18 °C (Figura 5) lo que podría haber desencadenado el inicio del cambio de color como consecuencia de una disminución en el metabolismo de la planta. El viraje de color (Hue = 90°), recién se alcanzó 6 semanas después de dicho registro (29 abril), cuando la mayoría de los días la temperatura media se mantuvo por debajo del umbral. Estos resultados coinciden con los reportados por Gambetta et al. (2010) en el sur del país.

El valor de luminosidad (L) varió entre 45 y 55, sin diferencias significativas entre tratamientos, durante las primeras semanas del experimento (datos no presentados), alcanzando valores cercanos a 60 en el momento de la primera cosecha (Cuadro 1). La intensidad de la coloración (C) fue aumentando gradualmente durante todo el período evaluado (Figura 4-B).

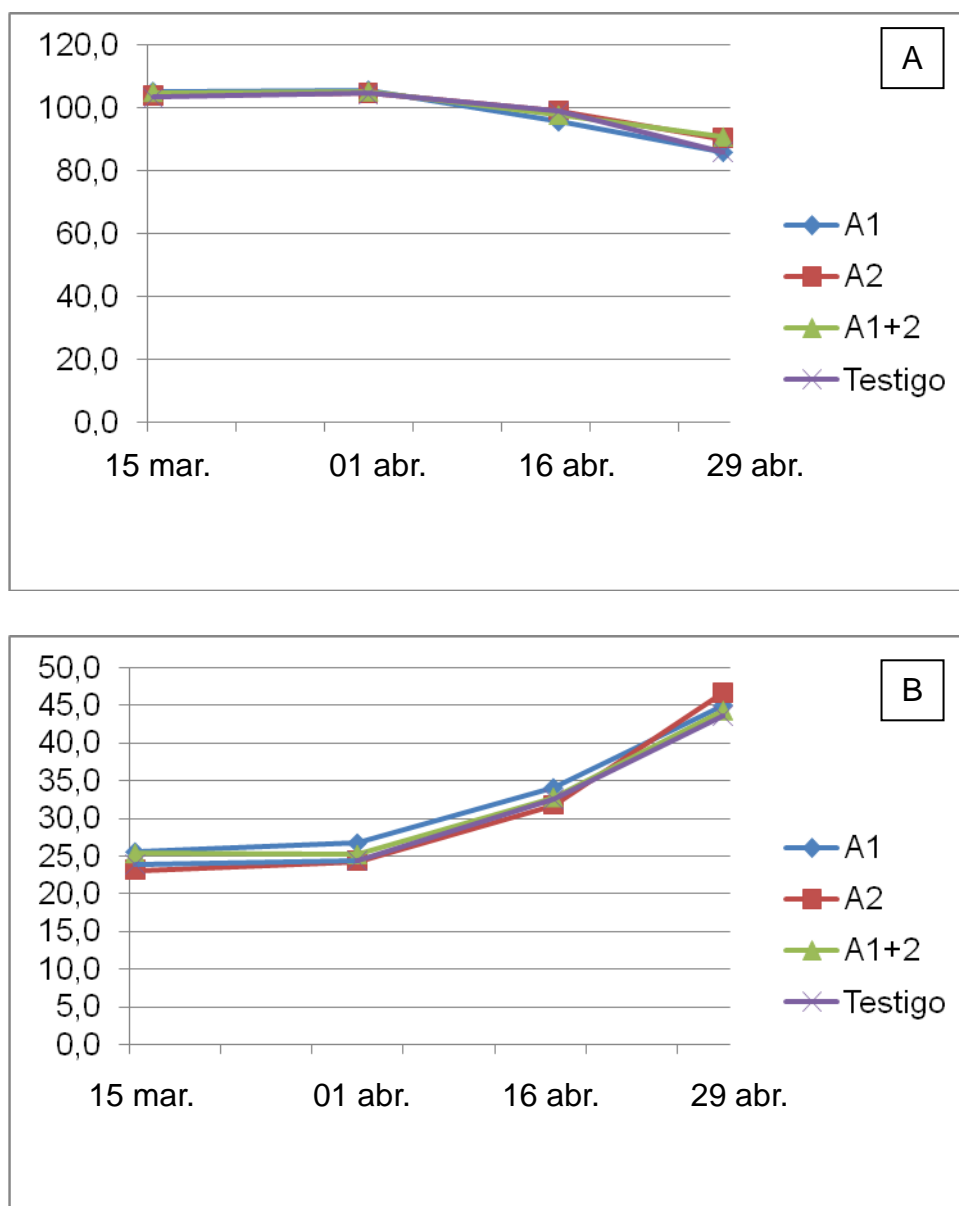


Figura 4. Evolución del color de los frutos de mandarina ‘Clementina de Nules’ en árboles anillados (A) y no anillados (Testigo), durante el transcurso del experimento. Fecha de anillado: 1: 15 marzo, 2: 6 abril. A) Ángulo Hue (h) y B) intensidad de coloración, croma (C).

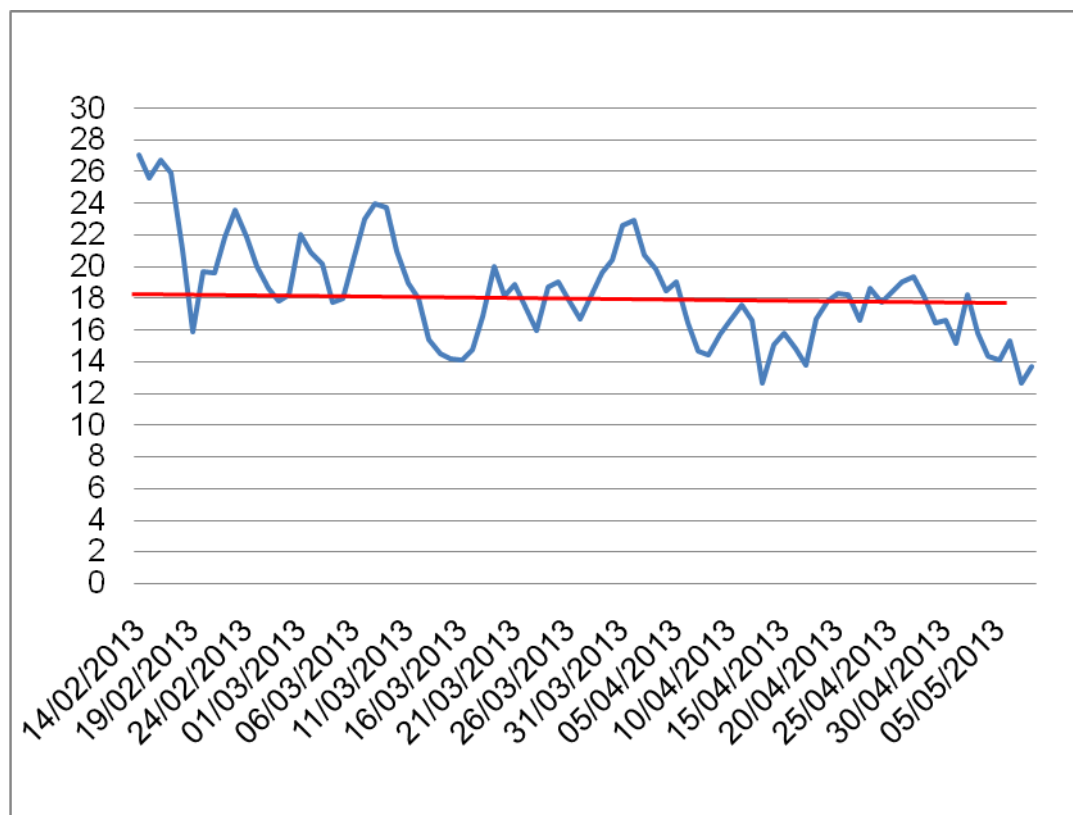


Figura 5. Promedio de temperaturas diarias del aire desde la instalación del experimento hasta la cosecha, la línea roja indica 18°C.

El cambio de color de los frutos cítricos está muy ligado al descenso de la temperatura (Stearns y Young 1942, Erikson 1960, Young y Erikson 1961, Mesejo et al. 2012). Esta disminución de la temperatura del aire y del suelo, reduce el metabolismo general y la actividad radicular de las plantas, disminuyendo de esta manera la síntesis y transporte de giberelinas (Eilati et al., 1969) y la absorción de nitrógeno (Chapman y Parker, 1942). El umbral de temperaturas citado como disparador del inicio de cambio de color de Clementinas injertadas sobre Citrange 'Carrizo' es entre 20°C y 23°C (Mesejo et al., 2012) y sobre 'Trifolia' es 18°C (Gambetta et al., 2010).

El tratamiento de anillado de tronco realizado 45 días previos a la cosecha (Anillado 1), adelantó el inicio del cambio de color con respecto a los demás tratamientos. Así en la tercera fecha de muestreo (16 de abril), los frutos provenientes de árboles con este tratamiento, alcanzaron valores de 61.7 de L, 34.1 de C y 95,7° de Hue, respecto a 59.8, 32.6 y 99.0° de L, C y Hue, respectivamente, en los frutos testigo.

Al momento de la primera cosecha, los frutos de los árboles anillados en primera o en segunda fecha, 45 o 23 días antes de la cosecha, presentaron una coloración significativamente más intensa (representado por la variable C) para valores similares de L y ángulo Hue, que el resto de los tratamientos. Los frutos de árboles con anillado doble presentaron una intensidad de coloración (C) intermedia (Cuadro 1, Figura 6). Considerando en forma conjunta las variables C y el ángulo Hue, que para un mismo valor de luminosidad (L) determinan globalmente el color, los frutos de árboles anillados en primera fecha lograron mejor coloración que los restantes tratamientos.

Cuadro 1. Intensidad de coloración (variable C), Luminosidad y ángulo Hue de los frutos de mandarina 'Clementina de Nules' de árboles anillados (1: 15 marzo, 2: 6 abril), y testigos durante la fase II de crecimiento del fruto, al momento de la primera cosecha (29/04/2013).

| Tratamientos | C | L | hue |
|-----------------------|----------|----------|------------|
| Anillado 1 (15 marzo) | 45 a | 61.8 a | 85.9 a |
| Anillado 2 (6 abril) | 46.7 a | 61.3 a | 90.3 a |
| Anillado 1+2 | 44.4 b | 60.8 a | 90.8 a |
| Testigo (sin anillar) | 43.7 c | 59.9 a | 86.1a |

Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)



Testigo



Anillado 1 (15 marzo)



Anillado 2 (6 abril)



Doble Anillado 1 + 2

Figura 6. Árboles de mandarina 'Clementina de Nules' testigo y con tratamientos de anillado de tronco durante la fase II de crecimiento de fruto.

En síntesis, el anillado de tronco realizado próximo al cambio de color (sobre finales de la fase II de crecimiento de los frutos), mejoró la coloración de

los estos en campo; la realización de anillados dobles (en ambas fecha) mejoró solo la intensidad del coloración de los frutos con respecto al testigo, pero éstos no alcanzaron la coloración de los frutos provenientes de árboles con un solo anillado. El tratamiento de anillado doble, que tuvo que realizarse en un período corto de tiempo (22 días), debido a un adelanto en la maduración interna, no alcanzó las expectativas de mejorar la coloración de la piel de los frutos en 'Clementina de Nules' con respecto a los anillados simples. Estudios anteriores reportan un efecto positivo del anillado sobre el color de los frutos cuando éste se realiza más tempranamente, al inicio de la fase II del crecimiento de los frutos (de 2 a 5 semanas luego de fin de caída fisiológica), y este efecto se pierde a partir de las 8 semanas post caída fisiológica (Peng y Rabe, 1996).

4.1.2. Tamaño de frutos

El tamaño de los frutos no fue afectado por los tratamientos de anillado de tronco. En la Figura 7 se observa la evolución del diámetro promedio de éstos desde la instalación del experimento hasta la cosecha.

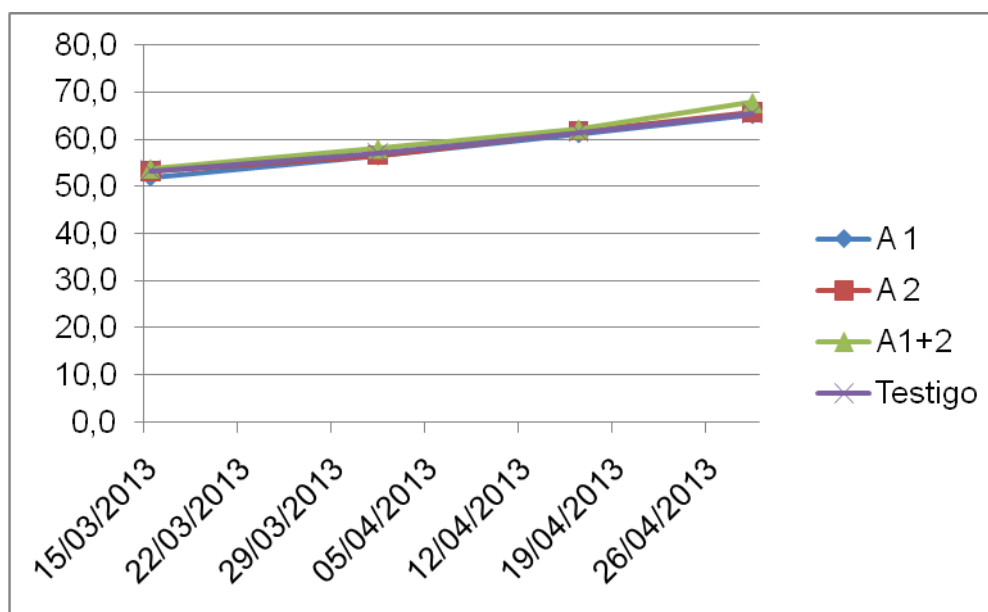
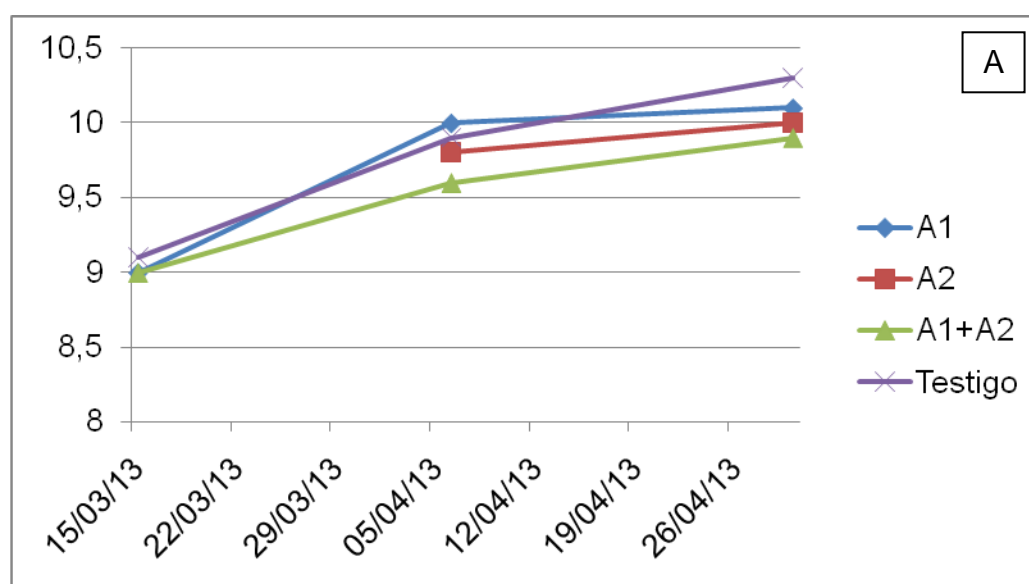


Figura 7. Evolución del diámetro ecuatorial de frutos (mm) de mandarina 'Clementina de nules' provenientes de árboles testigos y anillados (1: 15 marzo, 2: 6 abril).

El anillado de tronco incrementa la disponibilidad de carbohidratos en la parte aérea de la planta (Agustí 2003, Rivas et al. 2006). Dentro de los factores endógenos que afectan el tamaño de los frutos se encuentra la disponibilidad de fotoasimilados (Agustí, 2003); sin embargo, en este experimento, los tratamientos de anillados no mejoraron el tamaño de los frutos.

4.2. EVOLUCIÓN DE CALIDAD INTERNA

Los tratamientos de anillado de tronco no afectaron significativamente la evolución de la madurez interna de los frutos desde el inicio del experimento hasta la cosecha de los mismos (Figura 8-A y B, Figura 9, Cuadro 2). Estos resultados se diferencian de lo citado por Peng y Rabe (1996) quienes reportan que el anillado de tronco realizado 2 a 4 semanas luego de fin de caída fisiológica, los frutos alcanzan mayor 'ratio', debido al incremento de sólidos solubles totales, con respecto a frutos de ramas sin anillar en durante dos años consecutivos.



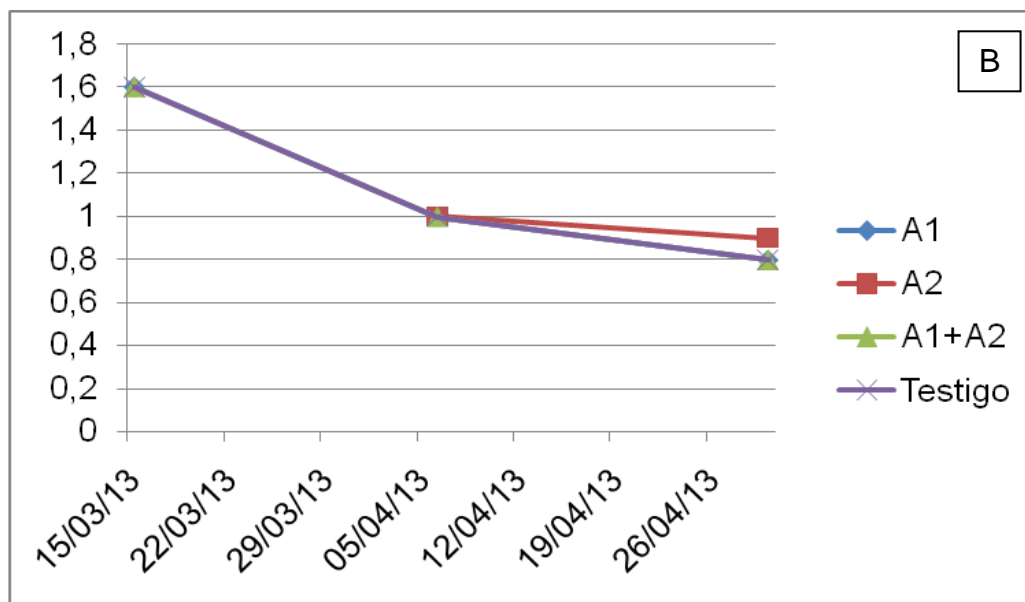


Figura 8. Evolución de sólidos solubles totales (A) y acidez (B) de frutos de mandarina 'Clementina de Nules' provenientes de árboles anillados (A1: 15 marzo, A2: 6 abril) y sin anillar (Testigo) durante todo el período de estudio.

Cuadro 2. Calidad interna de los frutos de mandarina 'Clementina de Nules' provenientes de árboles anillados y sin anillar todos los tratamientos en primera cosecha (29/04/2013).

| Tratamientos | Sólidos solubles | Ácido titulable | Ratio (SS/AT) |
|---------------------|-------------------------|------------------------|----------------------|
| Anillado 1 | 10.13 a | 0.83 a | 13.34 a |
| Anillado 2 | 10.00 a | 0.86 a | 11.57 a |
| Anillado 1+2 | 9.86 a | 0.84 a | 11.74 a |
| Testigo | 10.26 a | 0.81 a | 12.76 a |

Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

4.3. COSECHA DE FRUTOS

El anillado 1 (15 de marzo) incrementó el porcentaje de frutos cosechados en primera fecha, pasando de 40 % en el testigo a 50% en anillado, diferenciándose significativamente del resto de los tratamientos (Figura 9). En la segunda fecha de cosecha, en todos los tratamientos, exceptuando el anillado 1, se cosechó el 60% de los frutos, diferenciándose significativamente de este último.

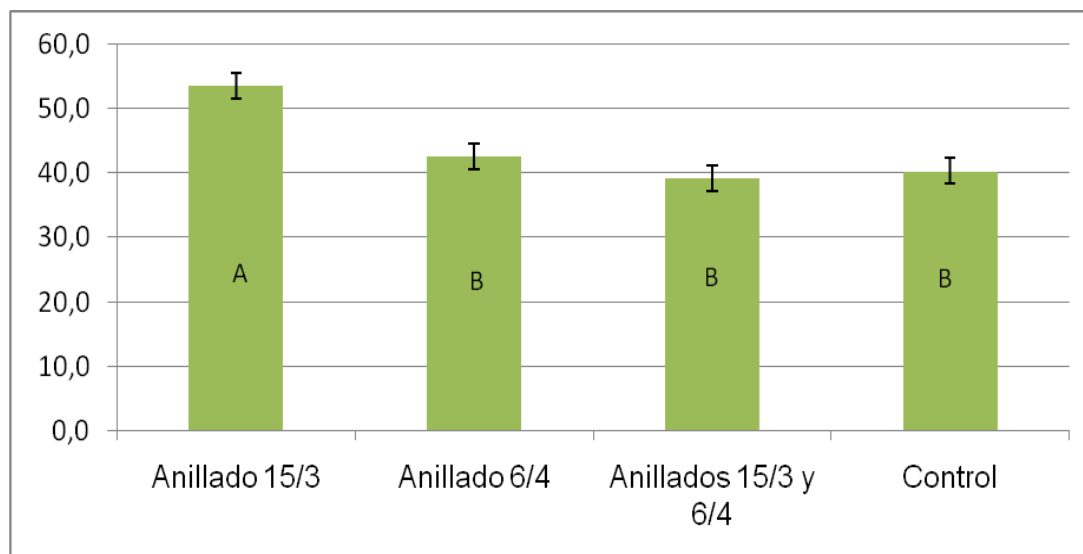


Figura 9. Porcentaje de los frutos cosechados de mandarina ‘Clementina de Nules’ en primera (29/4/13) de todos los tratamientos realizados y testigo.

Los resultados confirman que el anillado realizado más temprano tiene un leve efecto en adelantar el cambio de color de los frutos, permitiendo incrementar un 13 % el porcentaje de frutos cosechados en la primera fecha con respecto al testigo. El anillado realizado 22 días más tarde, si bien mejoró el C no alcanzó la misma coloración (Hue 90.3°, respecto a 85.9°) (Cuadro 1), y por lo tanto el porcentaje de frutos cosechados temprano fue menor (Figura 9). El doble anillado, mostró un comportamiento similar al testigo.

4.4. COLOR EN PLANTA DE EMPAQUE

En la medida que los frutos cosechados en primera fecha, se seleccionaron por color, no se encontraron diferencias en ninguna de las variables analizadas previo al ingreso de cámara de desverdizado.

Luego de 75 horas de tratamiento de desverdizado, prácticamente no existieron diferencias significativas entre los frutos provenientes de árboles testigo y anillados. Aunque los frutos de árboles anillados en segunda fecha,

presentaron significativamente mayor intensidad de color (C) que los frutos de árboles testigos y anillados en primera fecha (Cuadro 3), para un mismo valor de L y ángulo Hue. Los frutos de los otros dos tratamientos no lograron diferenciarse significativamente del testigo.

Cuadro 3. Variables de color C, L y H de los frutos de de mandarina 'Clementina de Nules' luego del tratamiento de desverdizado de la primera cosecha (29 abril).

| Tratamientos | C | L | hue |
|---------------------|----------|----------|------------|
| Anillado 1 | 54.74 b | 66.02 ab | 64.81 a |
| Anillado 2 | 56.10 a | 65.05 b | 65.15 a |
| Anillado 1+2 | 55.23 ab | 66.63 a | 67.47 a |
| Testigo | 54.74 b | 65.31 ab | 65.54 a |

Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Los resultados de la segunda cosecha indican que no existen diferencias significativas para las mismas variables al ingreso ni al egreso de la cámara de desverdizado. Esto sugiere que el cambio de color ya se había iniciado en la planta en la mayoría de los frutos, probablemente debido a la disminución del metabolismo general de las plantas causada por el descenso de la temperatura del aire (Figura 5). En este tipo de cultivares, que madura internamente antes de adquirir la coloración requerida, el tratamiento de desverdizado con etileno sigue siendo necesario para cumplir con la exigencia de color. Este tratamiento estimula la síntesis de novo de la proteína clorofilasa (Shimokawa et al. 1978, Trebitsh et al. 1993, Yamauchi et al. 1997) y, además disminuye la síntesis de clorofila, a través de la represión de la enzima

magnesio quelatasa (Fujii et al., 2007). Adicionalmente, el etileno aumenta el contenido de carotenoides en el flavedo de los frutos, aumentando el fitoeno, fitoflueno y violaxantina por un lado (Rodrigo y Zacarías, 2007).

4.5. FLORACIÓN Y BROTACIÓN

La intensidad de brotación y floración fue muy variable pero ubicándose en niveles bajos en todas las plantas del experimento. En este trabajo no se pudo constatar un efecto del tratamiento de anillado sobre la floración siguiente a diferencia de lo citado por Goldschmidt et al. (1985), quienes indicaron que el anillado realizado en otoño incrementa el número de flores por rama y el porcentaje de brotes reproductivos en la siguiente primavera.

Las diferencias parecen responder, en términos generales, al número de frutos del ciclo anterior, utilizada como co-variable para el análisis de floración y brotación (Cuadro 4). Los tratamientos de anillados no afectaron significativamente la intensidad de floración ni la brotación.

Cuadro 4. Intensidad de floración y brotación (17/10/2013) en árboles de mandarina 'Clemenitna de Nules' testigos y anillados durante la fase II de crecimiento de frutos, y carga de frutos de los diferentes tratamientos y testigo del ciclo anterior.

| Tratamientos | Carga de frutos ciclo anterior | Floración (F/100 nudos) | Brotación (Br/100 nudos) |
|---------------------|---|--|---|
| Anillado 1 | 515 | 13 a | 34 a |
| Anillado 2 | 399 | 26 a | 33 a |
| Anillado 1+2 | 455 | 27 a | 46 a |

| | | | |
|---|-----|-------|------|
| Testigo | 460 | 18 a | 35 a |
| Coeficiente de Variación | | 65.29 | 48.8 |
| Significancia estadística ($p \leq 0,05$) | | ns | ns |

Letras diferentes en columnas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$). Ns: No significativo

La distribución por tipo de brotes en las ramas de los árboles anillados y testigos, tampoco se diferenció significativamente para valores de ($p \leq 0,05$), aunque el anillado 1 y el doble anillado tendieron a incrementar el porcentaje de brotes vegetativos con respecto al testigo, mientras que el anillado 2, tendió a disminuirlos, incrementando el porcentaje de flores solitarias con respecto a éste (Figura 10).

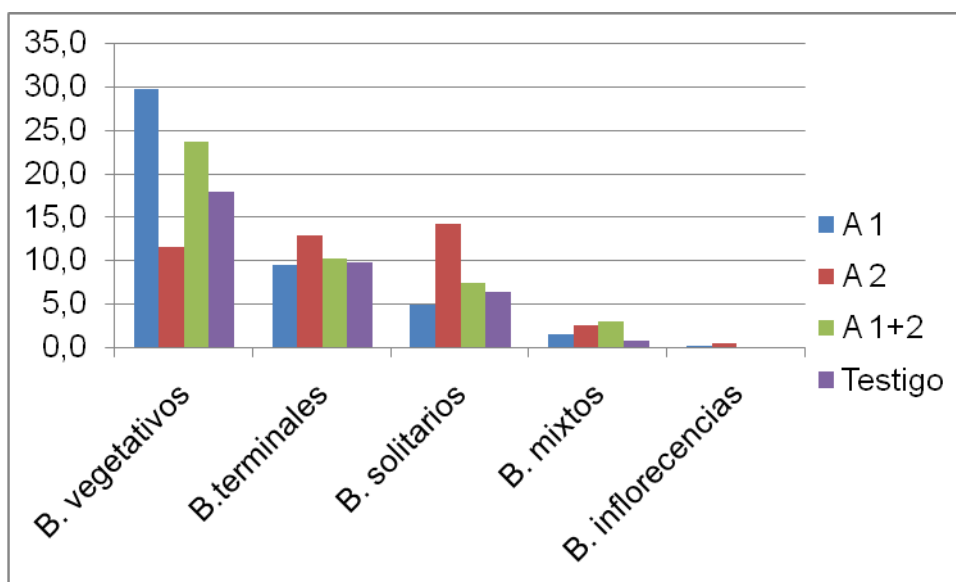


Figura 10. Distribución de tipos de brotes por tratamientos de mandarina 'Clemenitna de Nules'

Con estos resultados no se pudo comprobar el incremento en la intensidad de floración, reportado por Goldschmidt et al. (1985), como consecuencia del anillado de tronco realizado en otoño. Se ha citado que el anillado incrementa transitoriamente el contenido de azúcares en la parte aérea de la planta (Ruiz et al. 2001, Iglesias et al. 2003), pero también, que no existe una relación causa-efecto entre la concentración de azúcares solubles o almidón en las hojas y la floración (Martínez-Fuentes et al. 2010, Monerri et al. 2011), lo que podría explicar nuestros resultados.

5. CONCLUSIONES

Los frutos provenientes de árboles anillados en una sola fecha, en etapas próximas al cambio de color, lograron una coloración más intensa que los provenientes de árboles control y con doble anillado.

El anillado de tronco realizado 45 días previos a la cosecha, adelantó la toma de color y permitió incrementar el porcentaje de frutos recolectados en la primera fecha.

Los tratamientos de anillado de tronco no afectaron el tamaño de los frutos, la evolución de la madurez interna, ni la intensidad de brotación, floración y distribución por tipo de brotes en la primavera siguiente.

6. RESUMEN

El color de los frutos es una característica de gran importancia para su comercialización. En los cítricos, el cambio de color que se da a partir del otoño se relaciona, a nivel hormonal, en forma positiva con el etileno y negativa con las giberelinas; a nivel nutricional, se asocia positivamente a la disponibilidad de azúcares y negativamente a la de nitrógeno. En mandarinas tempranas como Satsumas y Clementinas, la madurez interna no coincide con el cambio de coloración de la piel, por esta razón es necesario su desverdizado poscosecha en cámara de etileno. El objetivo de este trabajo fue evaluar diferentes fechas de anillado de tronco como medida individual, o combinada, en etapas próximas al inicio de cambio de color de los frutos, para mejorar la coloración de los éstos en campo e incrementar el porcentaje de frutos cosechados temprano. Se seleccionó un cuadro de mandarina 'Clementina de Nules' injertado sobre *P. trifoliata* con fertirriego. Se seleccionaron 24 árboles, utilizando 6 para cada tratamiento: anillado en primera fecha (15 de marzo), en segunda fecha (6 de abril), doble anillado (en ambas fechas) y testigo sin anillar. Se midió la evolución del color, tamaño y calidad interna de los frutos. La primera cosecha (29 de abril) se realizó por color y en la segunda (9 de mayo) se cosecharon los frutos remanentes. Se cuantificó el número de frutos y se calculó el porcentaje de frutos cosechados en cada fecha. Se evaluó el color a la entrada y salida del desverdizado. En la primavera se midió la intensidad de brotación y floración. El anillado en primera fecha adelantó el cambio de color de los frutos, logrando al momento de la cosecha mayor intensidad de coloración (C), para un mismo ángulo Hue que los frutos de árboles testigos. Como consecuencia se incrementó el porcentaje de frutos cosechados temprano, pasando de 40 % en el testigo a 50% en el anillado, diferenciándose significativamente del resto de los tratamientos. El anillado de tronco no afectó el tamaño de los frutos, ni su calidad interna. La intensidad de brotación y floración fue variable, pero

ubicándose en niveles bajos en todos los tratamientos, no se constatándose un efecto del anillado sobre la intensidad de floración.

Palabras clave: Anillado de tronco; Color de frutos; Mandarina 'Clementina de Nules'; Desverdizado con etileno.

7. SUMMARY

Fruit color is a very important commercialization characteristic. In *Citrus*, peel color development begins in autumn as a consequence of temperature reduction. At hormonal level, a positive relation with ethylene and a negative one with gibberellins have been demonstrated; at nutritional level, peel color has been positively related to sugars and negatively to nitrogen. In early mandarin cultivars such as Satsumas and Clementines, internal maturation does not occur at the same time of peel color, so post-harvest fruit degreening with ethylene is necessary. The main objective of this experiment was to study the effect of two different trunk girdling dates and their combination, on improving peel color and increasing the percentage of early harvested fruits. The experiment was carried out in a commercial orchard of 'Nules Clementine' mandarin, grafted on *P. trifoliata* under fertirrigation conditions. Twenty four trees were selected, using 6 trees per treatment: trunk girdling in the first date (March 15th), in the second date (April 6th), double girdling (in both dates) and Control (without girdling). Fruit color, fruit size and internal maturation were measured from the beginning of the experiment until harvest. Fruit were harvested in two dates; in the first one (April 29th) they were selected by color, and in the second one (May 9th) all remained fruits were harvested. In both dates, fruit number per tree and internal maturation were determined, and fruit percentage picked in each date was calculated. Fruit color before and after degreening, sprouting and flowering intensity in the following spring were also evaluated. Peel colouration was achieved earlier with trunk girdling performed in the first date, reaching higher color intensity (C), for the same Hue angle that control fruits. As a consequence, the percentage of fruits picked in the first harvest increased from 40% in control trees to 50% in girdled trees. Fruit size and internal maturation were not affected by trunk girdling. Sprouting and flowering intensity was low in general, and varied between treatments, but no significant effect of trunk girdling was found.

Keywords: Trunk girdling; Fruit color; 'Nules Clementine' Mandarin; Degreening with ethylene.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. AGUSTÍ, M. 2003. Citricultura. 2ª ed. Madrid, Mundi-Prensa. 422 p.
2. _____.; MARTÍNEZ-FUENTES, A.; MESEJO, C.; JUAN, M.; ALMELA, V. 2003. Cuajado y desarrollo de los frutos cítricos. Valencia, Generalitat Valenciana. 80 p. (Serie de Divulgación Técnica no. 55).
3. _____.; JUAN, M.; MARTÍNEZ-FUENTES, A.; MESEJO, C.; REIG, C.; ALMEDA, V. 2006. Application of 2, 4 dichlorophenoxypropionic acid and acid 2-ethylhexyl ester reduces mature fruit abscission in Citrus navel cultivars. Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 81 (3): 532-536.
4. AHARONI, Y. 1968. Respiration of oranges and grapefruit harvested at different stages of development. Plant Physiology. 43: 99-102.
5. ALÓS, E.; CERCÓS, M.; RODRIGO, M. J.; ZACARÍAS, L.; TALÓN, M. 2006. Regulation of color break in citrus fruits. Changes in pigment profiling and gene expression induced by gibberellins and nitrate, two ripening retardants. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 54: 4888-4895.
6. AZCÓN-BIETO, J.; TALÓN, M. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal. 2a.ed. Madrid, McGraw-Hill. 651 p.
7. BAIN, J. M. 1958. Morphological, anatomical; and physiological changes in the developing fruit of the 'Valencia' orange, (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). Australian Journal of Botany. 6: 1-24.
8. BARRY, G. H.; VAN WYK, A. A. 2004. Novel approaches to rind colour enhancement of citrus. Proceedings International Society of Citriculture. 3: 1076-1079.

9. _____.; _____. 2006. Low-temperature cold shock may induce rind colour development of 'Nules Clementine' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 40: 82-88.
10. _____.; LE-ROUX, S. 2008. Preharvest manipulation of chloro-chromoplast transformation in *Citrus* rinds by gibberellin-biosynthesis inhibitor Prohexadione-calcium. In: International Citrus Congress (10th., 2008, Wuhan, China). *Proceedings*. Wuhan, International Society of Citriculture. pp. 826-827.
11. BURNS, J. K.; ACHOR, D. S.; ECHEVERRIA, E. 1992. Ultrastructural studies on the ontogeny of grapefruit juice vesicles (*Citrus paradise* Macf. Cv Star Ruby). *International Journal Plant Sciences*. 153: 14-25.
12. CHAPMAN, H. D.; PARKER, E. R. 1942. Weekly absorption of nitrate by young bearing orange trees growing out of doors in solution cultures. *Plant Physiology*. 17: 336-376.
13. DACUNHA BARROS, M.; GRAVINA, A. 2006. Influencia del tipo de brote en el cuajado y tamaño final de fruto en tangor 'Ortanique'. *Agrociencia* (Montevideo). 10 (1): 37-46.
14. DENNY, F. E. 1924. Hastening the coloration of lemons. *Journal of Agricultural Research*. 27 (10): 757-770.
15. EILATI, S. K.; GOLDSCHMIDT, E. E.; MONSELISE, S. P. 1969. Hormonal control of colour change in orange peel. *Experientia*. 25: 209-210.
16. ERICKSON, L. C. 1960. Colour development in Valencia oranges. *Proceedings Journal of the American Society of Horticultural Science*. 75: 257-261.

24. _____.; MARTÍNEZ-FUENTES, A.; BENTANCUR, O.; MESEJO, C.; REING, C.; GRAVINA, A.; AGUSTÍ, M. 2012. Hormonal and nutritional changes in the flavedo regulating rind color development in sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osb.]. *Journal of Plant Growth Regulation*. 31: 273–282.
25. GARCÍA-LUIS, A.; AGUSTÍ, M.; ALMELA, V.; ROMERO, E.; GUARDIOLA, J. 1985. Effect of gibberellic acid on ripening and peel puffing in “Satsuma” mandarin. *Scientia Horticulturae*. 27: 75-86.
26. _____.; FORNÉS, F.; GUARDIOLA, J. 1986. Effects of gibberellin A3 and citoquinins on natural and post-harvest, ethylene-induced pigmentation of Satsuma mandarin peel. *Plant Physiology*. 68: 271-274.
27. _____.; HERRERO-VILLÉN, A.; GUARDIOLA, J. 1992. Effects of applications of gibberellic acid on late growth, maturation and pigmentation of the Clementine mandarin. *Scientia Horticulturae*. 49: 71-82.
28. GOLDSCHMIDT, E. E. 1976. Endogenous growth substances of citrus tissues. *Scientia Horticulturae*. 11: 95-99.
29. _____. 1997. Ripening of citrus and other non-climacteric fruits: a role for ethylene. *Acta Horticulturae*. no. 463: 335-340.
30. _____. 2000. Maturation of citrus fruit: hormonal and molecular regulation of chlorophyll breakdown and other processes. *Proceedings International Society of Citriculture*. 1: 364-366.
31. _____.; EILATI, S. 1970. Gibberellin-treated Shamouti oranges: Effects on coloration and translocation within peel of fruits attached to or detached from the tree. *Botanical Gazette*. 131: 116-122.

32. _____.; ASCHTENAZI, N.; HERZANO, Y.; SCHAFFER, A.; MONSELISE, S. 1985. A role for carbohydrate levels in the control of flowering in citrus. *Scientia Horticulturae*. 26: 159-166.
33. _____.; HUBERMAN, M.; GOREN, R. 1993. Probing the role of endogenous ethylene in the degreening of citrus fruit with ethylene antagonist. *Journal of Plant Growth Regulation*. 12: 325-329.
34. GOREN, R.; HUBERMAN, M.; GOLDSCHIDT, E. 2003. Girding physiological and horticultural aspects. *Horticultural Reviews*. 30: 1-36.
35. GRAVINA, A.; ARBIZA, H.; ARIAS, M.; RONCA, F. 1997. Estudio de la floración en el tangor 'Ellendale' (*Citrus sinensis* L.Osb. x *C.reticulata* Bl.) y su relación con el cuajado de frutos y productividad. *Agrociencia* (Montevideo). 1 (1): 55-59.
36. GROSS, J. 1977. Carotenoid pigments in citrus. In: Nagy, S.; Shaw, P. E.; Vedhuis, M. K. eds. *Citrus science and technology*. Westport, Connecticut, AVI. v.1, pp. 302-354.
37. _____. 1981. Pigment changes in the flavedo of Dancy tangerine (*Citrus reticulata*) during ripening. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. Bd. 103: 451-457.
38. GUARDIOLA, J. L. 1992. Fruit set and growth. In: *International Seminar on Citrus – Physiology* (2nd., 1992, Bebedouro). Proceedings. Sao Paulo, Brazil, FUNEP. pp. 1-30.
39. HOLLAND, N.; SALA, J.; MENEZES, H.; LAFUENTE, M. 1999. Carbohydrate content and metabolism as related to maturity and chilling sensitivity of Cv. Fortune mandarins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 2513-2518.

40. HUFF, A. 1983. Nutritional control of reegreening and degreening in *Citrus* peel segments. *Plant Physiology*. 73: 243-249.
41. _____. 1984. Sugar regulation of pastid interconversions in the epicarp of citrus fruit. *Plant Physiology*. 76: 307-312.
42. IGLESIAS, D.; TADEO, F.; LEGAZ, F.; PRIMO-MILHO, E.; TALÓN, M. 2001. In vivo sucrose stimulation of colour change in citrus fruit epicarps; interactions between nutritional and hormonal signals. *Physiology Plantarum*. 112: 244-250.
43. _____.; _____.; PRIMO-MILHO, E.; TALÓN, M. 2003. Fruit set dependence on carbohydrate availability in citrus trees. *Tree Physiology*. 23: 199–204.
44. JACOB-WILK, D.; HOLLAND, D.; GOLDSCMIDT, E.; RIOV, J.; EYAL, Y. 1999. Chlorophyll breakdown by chlorophyllase; isolation and functional expression of the *Chlase1* gene from ethylene-treated citrus fruit and its regulation during development. *Plant Journal*. 20: 653-661.
45. JONES, W. W.; EMBLETON, T. W. 1959. The visual effect of nitrogen nutrition on fruit quality of 'Valencia' oranges. *Proceedings American Society for Horticultural Science*. 73: 234-236.
46. KATO, M.; IKOMA, Y.; MATSUMOTO, H.; SUGIURA, M.; HYODO, H.; YANO, M. 2004. Accumulation of carotenoids and expression of carotenoid biosynthetic genes during maturation in citrus fruit. *Plant Physiology*. 134: 824–837.
47. KATZ, E.; MARTÍNEZ-LAGUNAS, P.; RIOV, J.; WEISS, D.; GOLDSCMIDT, E. 2004. Molecular and physiological evidence suggests the existence of a system II-like pathway of ethylene production in non-climacteric citrus fruit. *Planta*. 219: 243-252.

48. LEE, L. S.; CHAPMAN, J. C. 1988. Yield and fruit quality responses of Ellendale mandarins to different nitrogen and potassium fertiliser rates. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 28: 143-148.
49. LEWIS, L. N.; COGGINS, C. W. 1964. The inhibition of carotenoid accumulation in navel oranges by gibberellin A3, as measured by thin layer chromatography. *Plant and Cell Physiology*. 5: 457-463.
50. MARTÍNEZ-FUENTES, A.; MESEJO, C.; REIG, C.; AGUSTÍ, M. 2010. Timing of the inhibitory effect of fruit ton return bloom of "Valencia" sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Journal of the Science of Food Agriculture*. 90: 1936-1943.
51. MEHOUACHI, J.; SERNA, D.; ZARAGOZA, S.; AGUSTÍ, M.; TALÓN, M.; PRIMO-MILLO, E. 1995. Defoliation increases fruit abscission and reduces carbohydrate levels in developing fruits and woody tissues of *Citrus unshiu*. *Plant Science*. 107: 189-197.
52. MESEJO, C.; GAMBETTA, G.; GRAVINA, A.; MARTÍNEZ-FUENTES, A.; REIG, C.; AGUSTÍ, M. 2012. Relationship between soil temperature and fruit colour development of 'Clemenpons' Clementine mandarin (*Citrus clementina* Hort ex. Tan). *Journal of the Science of Food and Agriculturae*. 92: 520-525.
53. MONERRI, C.; FORTUNATO-ALMEIDA, A.; MOLINA, R. V.; NEBAUER, S. G.; GARCIA-LUIS, A.; GUARDIOLA, J. L. 2011. Relation of carbohydrate reserves with the forthcoming crop, flower formation and photosynthetic rate, in the alternate bearing 'Salustiana' sweet orange (*Citrus sinensis* L.). *Scientia Horticulturae*. 129: 71-78.

54. MONSELISE, S. P. 1977. Citrus fruit development, endogenous systems, and external regulation. *Proceedings International Society of Citriculture*. 2: 6664-668.
55. NAGAR, N. 1993. Effect of plant growth regulators on the natural and ethylene induced pigmentation in Kinnow mandarin peels. *Biologia Plantarum*. 35: 633-636.
56. OETIKER, J. H.; YANG, S. F. 1995. The role of ethylene in fruit ripening. *Acta Horticulturae*. no. 398: 167-177.
57. PENG, H.; RABE, E. 1996. Effect of summer trunk girdling on fruit quality maturation, yield, fruit size and tree performance in "Mihowase" Satsuma. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 71: 581-589.
58. PLAZA, P.; SANBRUNO, A.; USALL, J.; LAMARCA, N.; TORRES, R.; PONS, J.; VIÑAS, I. 2004. Integration of curing treatments with degreening to control the main postharvest diseases of clementine mandarins. *Postharvest Biology and Technology*. 34 (1):29-37.
59. PONS, J.; ALMELA, V.; JUAN, M.; AGUSTÍ, M. 1992. Use of ethephon to promote colour development in early ripening clementine cultivars. In: *International Citrus Congress (7th, 1992, Catania, Italia)*. *Proceedings*. s.l., International Society of Citriculture. v.1, pp. 459-462.
60. PURVIS, A.; GRIERSON, W. 1982. Accumulation of reducing sugar and resistance of grapefruit peel to chilling injury as related to winter temperatures. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 107(1): 139-142.
61. RASMUSSEN, G. 1974. Cellulase activity in separation zones of citrus fruit treated with abscisic acid under normal and hypobaric atmospheres. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 99: 229-231.

62. REID, M. S.; RODHES, M. J. C.; HULME A. C. 1973. Changes in ethylene and co₂ during the ripening of apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 24: 971-979.
63. REUTHER, W.; RIOS-CASTAÑO, D. 1969. Comparisons of growth, maturation and composition of citrus fruit in subtropical California and tropical Colombia. In: *International Citrus Symposium (1st, 1969, California, USA)*. Proceedings. s.l., International Society of Citriculture. v.1, pp. 277-283.
64. RICHARDSON, G.; COWAN, A. 1995. Abscisc acid content of citrus flavedo in relation to colour development. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 70 (5): 769-773.
65. RIVAS, F.; ERNER, Y.; ALÓS, E.; JUAN, M.; ALMEDA, V.; AGUSTÍ, M. 2006. Girdling increases carbohydrate availability and fruit-set in citrus cultivars irrespective of parthenocarpic ability. *Journal Horticultural Science and Biotechnology*. 81: 289–295.
66. RODRIGO, M. J.; MARCOS, J. F.; ALFÉREZ, F.; MALLENT, M. D.; ZACARÍAS, L. 2003. Characterization of Pinalate, a novel *Citrus sinensis* mutant with a fruit-specific alteration that results in yellow pigmentation and decreased ABA content. *Journal of Experimental Botany*. 54 (383): 727-738.
67. _____; ALQUEZAR, B.; ZACARÍAS, L. 2006. Cloning and characterization of two 9-cis-epoxycarotene dioxygenase genes, differentially regulated during fruit maturation and under stress conditions, from orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). *Journal of Experimental Botany*. 57 (3): 633-643.
68. _____; ZACARÍAS, L. 2007. Effect of postharvest ethylene treatment on carotenoid accumulation and the expression of carotenoid biosynthetic genes in the flavedo of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 43: 14–22.

69. RUIZ, R.; GARCÍA-LUIS, A.; MONERRI, C.; GUARDIOLA, J.L. 2001. Carbohydrate availability in relation to fruitlet abscission in *Citrus*. *Annals of Botany*. 87: 805-812.
70. SALA, J. M.; CUÑAT, P.; COLLADO, M.; MONCHOLI, V. 1992. Effect on nitrogenous fertilization (quantity and nitrogen form) in precocity of colour change of 'Navelina' oranges. *Proceedings International Society of Citriculture*. 2: 598-602.
71. SHIMOKAWA, K.; SHIMADA, S.; YAEO, K. 1978. Ethylene-enhanced chlorophyllase activity during defreezing of *Citrus unshiumarc.* *Scientia Horticulturae*. 8: 129-135.
72. SOONEN, H.; LENZ, F.; GROSS, J. 1979. Influence of root temperature on carotenoid development in the peel of *Citrus unshiu* (Marc.) and *Citrus madurensis* (Lour.). *Gartenbauwissenschaft*. 44: 49-52.
73. SOULE, J.; GRIERSON, W. 1978. Citrus maturity and packinghouse procedures. Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences University of Florida. 355 p.
74. STERMS, C. R.; YOUNG, G. T.; 1942. The relation of climatic conditions to color development in citrus fruit. *Proceedings Florida State Horticultural Society*. 56: 39-61.
75. TREBITSH, T.; GOLDSCHMIDT, E.; RIOV, J. 1993. Ethylene induces de novo synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll degrading enzyme, in citrus fruit peel. *Proceedings National Academy of Sciences*. 90: 9441-9445.
76. URUGUAY. MINISTERIO DE GANADERÍA, AGRICULTURA Y PESCA. DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES ESTADÍSTICAS AGROPECUARIAS. 2013. Encuesta cítrica "primavera 2012". Montevideo. 28 p.

77. VAN STADEN, J.; COOK, E. L.; NOODÉN, L. D. 1988. Cytokinins and senescence. In: Noodén, L. D.; Leopold, A. C. eds. Senescence and aging in plants. San Diego, CA, Academic Press. pp. 281-328.
78. WALLACE, A. 1953 Nitrogen absorption and translocation by citrus cuttings at different root temperatures. Proceedings American Society for Horticultural Science. 61: 89-94.
79. YAMAUCHI, N.; AKIYAMA, Y.; KAKO, S.; HASHINAGA, F. 1997 Chlorophyll degradation in Wase satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) Marc. 1 fruit with on-tree maturation and ethylene treatment. Scientia Horticulturae. 71: 35-42.
80. YOUNG, L.; ERICKSON, L. 1961. Influence of temperature on color change in Valencia orange. Proceedings American Society for Horticultural Science. 78: 197-200.
81. YOUNG, R. H.; JAHN, O. L.; SMOOT, J. J. 1974 Coloring and loosening of citrus fruit with Ethephon. Proceedings Florida State Horticulturae Society. 87: 24-28.